



**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL**

**CICATA-IPN**

**CENTRO DE INVESTIGACION EN CIENCIA APLICADA Y TECNOLOGÍA AVANZADA DEL  
INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL**

**UNIDAD LEGARIA**

**POSGRADO EN TECNOLOGIA AVANZADA**

**Síntesis de nanofibras a partir de biomateriales por  
electrospinning como acarreadores de componentes  
activos**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTORA EN TECNOLOGÍA AVANZADA**

**Presenta**

**JULIA COLIN OROZCO**

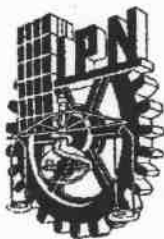
**Directores**

**Dr. Martín G. Zapata Torres**

**Dra. Ruth Pedroza Islas**



**Junio 2013**



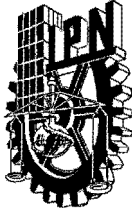
**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

*CARTA CESIÓN DE DERECHOS*

En la Ciudad de México, D.F. el día 21 del mes de Junio del año 2013, la que suscribe Julia Colín Orozco alumna del Programa de Doctorado en Tecnología Avanzada, con número de registro B091898, adscrita al CICATA-IPN, manifiesta que es la autora intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del Dr. Martín Guadalupe Zapata Torres y la Dra. Ruth Pedroza Islas y cede los derechos del trabajo titulado “Síntesis de nanofibras a partir de biomateriales por electrospinning como acarreadores de componentes activos”, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso de la autora y/o directores del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a las siguientes direcciones [jcolino0800@alumno.ipn.mx](mailto:jcolino0800@alumno.ipn.mx); [jucolin\\_oro@yahoo.com.mx](mailto:jucolin_oro@yahoo.com.mx). Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

  
**JULIA COLIN OROZCO**  
Nombre y firma



# INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

## ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de México D.F. siendo las 14:00 horas del día 21 del mes de Junio del 2013 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICATA-Legaria para examinar la tesis titulada:

Síntesis de nanofibras a partir de biomateriales por electrospinning como acarreadores de componentes activos

Presentada por el alumno:

Colín	Orozco	Julia
Apellido paterno	Apellido materno	Nombre(s)
		Con registro: B 0 9 1 8 9 8

aspirante de:

Doctorado en Tecnología Avanzada

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

### LA COMISIÓN REVISORA

Directores de tesis

Dr. Martín Guadalupe Zapata  
Torres

Dra. Ruth Pedroza Islas

Dr. José Luis Fernández Muñoz

Dr. José Antonio Irán Díaz Góngora

Dr. Miguel Ángel Aguilar Méndez

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES



Dr. José Antonio Calderón Arenas  
CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIA  
APLICADA Y TECNOLOGÍA AVANZADA  
DEL I.P.N.

---

## *A MI FAMILIA*

*Por todos*

*los momentos gratos que hemos y seguiremos pasando  
juntos, con cariño, admiración y respeto les dedico este  
trabajo.*

---

---

# AGRADECIMIENTOS

*No tengo palabras para expresar tanta gratitud a tu desinteresada ayuda.....Gracias Ruth Pedroza!*

*Al Dr. Martín Zapata Torres por su amabilidad, apoyo y confianza*

*Al Dr. Geonel Rodríguez Gattorno por sus consejos y ayuda*

*A Erick, Enrique, Joaquín, Efraín y Carmen Tellez,  
Gracias compañeros y amigos*

*A Licha, Cuco, Mónica Centeno y Abel Tinoco por el apoyo y amistad que siempre me han brindado*

*A Sonia Ortega, no puedo decirte otra cosa más que, Gracias!*

*A la Dra. Delia Quintana por su confianza y amistad*

*A Ponchito, Isabel Contreras y Sr. Miguel por el apoyo técnico y su amabilidad.*

*A Leticia Cardona, Pablo Méndez y Laura Vega por su disposición, paciencia y ayuda*

---

---

*Al comité revisor: Dr. José Antonio Díaz Góngora, Dr. Miguel Ángel Aguilar Méndez y Dr. José Luis Fernández Muñoz*

*A la Universidad Iberoamericana por haberme tratado como parte de su comunidad estudiantil y en la cual conocí a personas que han formado parte de mi vida profesional y personal a las que agradezco su amistad, consejos, ayuda, ánimo y compañía: **Judith Rivera Bolaños, Eduardo Arias, Francisco López, Héctor Cejudo, Dora Luz Villagómez, Rubén Moreno, Mayela de la Rosa, Hermila Reyes, Alberto Gallo, Mónica y Ruth Pedroza***

*A Ricardo y Elena gracias por ser un gran apoyo y poder contar siempre con ustedes*

*A CONACyT por la beca otorgada para la realización de estudios de doctorado*

---

---

# RECONOCIMIENTO

Este trabajo de tesis se llevó a cabo en el Laboratorio de Biopolímeros de la Universidad Iberoamericana y en el Laboratorio de Materiales Funcionales del CICATA-IPN, Unidad Legaria como parte del proyecto de investigación científica financiado por el Instituto de Ciencia y Tecnología del Distrito Federal, con clave PICTSA11-18. Convenio No.

ICYTDF/278/2011.

---

# ÍNDICE GENERAL

	Pág.
Índice	<i>i</i>
Índice de figuras	<i>ii</i>
Índice de tablas	<i>iii</i>
Resumen	<i>iv</i>
Abstract	<i>v</i>
Introducción	1
Objetivos	3
Justificación	4
Hipótesis	5
<b>CAPÍTULO 1. Biomateriales</b>	<b>6</b>
<b>1 Generalidades</b>	<b>6</b>
<b>1.1 Polímeros</b>	<b>8</b>
<b>1.1.1 Polímeros sintéticos</b>	<b>8</b>
<b>1.1.2 Polímeros naturales</b>	<b>10</b>
<b>1.1.2.1 Polisacáridos</b>	<b>11</b>
<b>1.1.2.2 Proteínas</b>	<b>11</b>
<b>1.1.3 Interacción proteína-polisacárido</b>	<b>13</b>
<b>1.3 Métodos de encapsulación para la protección y liberación de componentes activos</b>	<b>15</b>
<b>1.3.1 Métodos químicos</b>	<b>15</b>
<b>1.3.1.1 Coacervación compleja</b>	<b>15</b>
<b>1.3.1.2 Polimerización interfacial</b>	<b>16</b>
<b>1.3.1.3 Gelificación iónica</b>	<b>16</b>
<b>1.3.1.4 Incompatibilidad polimérica</b>	<b>16</b>
<b>1.3.1.5 Atrapamiento de liposomas</b>	<b>16</b>
<b>1.3.2 Métodos físicos</b>	<b>17</b>



1.3.2.1 Secado por aspersión	17
1.3.2.2 Extrusión	17
1.3.2.3 Encapsulación por lecho fluidizado	17
<b>CAPÍTULO 2. Electrospinning</b>	19
2. Teoría y Proceso	19
2.1 Componentes del equipo de electrospinning	20
2.2 Síntesis de nanofibras empleando electrospinning	21
2.3 Parámetros de control en el proceso electrospinning	22
2.3.1 Parámetros de la solución y su efecto sobre morfología de las fibras	22
2.3.1.1 Peso molecular y viscosidad de la solución	22
2.3.1.2 Tensión superficial	23
2.3.1.3 Conductividad de la solución	24
2.3.1.4 Efecto dieléctrico del solvente	24
2.3.2 Parámetros de procesamiento y morfología de las fibras	25
2.3.2.1 Voltaje	25
2.3.2.2 Velocidad de inyección	26
2.3.2.3 Distancia entre la punta de la aguja y el colector	26
2.3.2.4 Diámetro de la aguja de la jeringa	27
2.3.2.5 Parámetros ambientales	27
2.4 Aplicaciones de las Nanofibras	28
2.4.1 Aplicaciones biomédicas	28
2.4.2 Filtración	29
2.4.3 Aplicaciones ópticas y eléctricas	29
2.4.4 Liberación de fármacos	29
2.5 Nanofibras sintetizadas a partir de polímeros naturales y sintéticos	30
<b>CAPÍTULO 3. Desarrollo experimental</b>	36
3. Materiales y Métodos	36
3.1 Preparación de las soluciones poliméricas	
3.2 Proceso de electrospinning	37
3.3 Propiedades de las soluciones	37

<b>3.3.1</b> Viscosidad, Conductividad eléctrica, Tensión superficial y pH.	37
<b>3.4.</b> Técnicas de caracterización	38
<b>3.4.1</b> Microscopia Electrónica de Barrido (MEB)	38
<b>3.4.2</b> Propiedades mecánicas de las fibras	38
<b>3.4.3</b> Análisis termogravimétrico (TG)	38
<b>3.4.5</b> Espectroscopia infrarroja por transformadas de Fourier (FTIR)	39
<b>3.4.6</b> Difracción de Rayos X (XRD)	39
<b>CAPÍTULO 4.</b> Resultados y discusión	40
<b>4.1</b> Influencia de la variación de parámetros en la microestructura de nanofibras obtenidas de la combinación de pectina de bajo metoxilo, WPI y PEO	40
<b>CAPÍTULO 5.</b> Influencia de la concentración de PEO/WPI sobre la obtención de nanofibras por electrospinning	44
<b>5.1</b> Propiedades de las soluciones y su relación con la formación de fibras	44
<b>5.2</b> Efecto de las diferentes proporciones de PEO/WPI sobre las propiedades mecánicas	52
<b>5.3</b> Análisis termogravimétrico (TG y DTG)	54
<b>5.4</b> Análisis de Espectroscopia infrarroja por transformadas de Fourier	58
<b>5.5</b> Difracción de rayo X	61
<b>CAPÍTULO 6.</b> Nanofibras obtenidas de la mezcla de PEO/WPI como portadoras de sustancias activas	63
<b>6.1.</b> Microestructura de nanofibras con extracto de Romero ( <i>Rosmarinus officinalis</i> ) encapsulado	63
<b>6.2</b> Estabilidad térmica de fibras de PEO/WPI con extracto de Romero	66
<b>6.3</b> Interacción entre la mezclas de PEO/WPI y extracto de Romero	68
<b>CONCLUSIONES</b>	71
<b>RECOMENDACIONES</b>	73
<b>REFERENCIAS</b>	74
<b>APENDICE A</b>	80
<b>ANEXO I</b>	81



# ÍNDICE DE FIGURAS

<b>CAPÍTULO 1</b>	Pág.
<b>Figura 1.1</b> Estructura química del óxido de polietileno.	10
<b>Figura 1.2</b> a) Molécula de un aminoácido y b) Estructura de una proteína.	13
<b>CAPÍTULO 2</b>	
<b>Figura 2.1</b> Componentes del equipo de electrospinning.	20
<b>Figura 2.2</b> Efecto de la viscosidad de las soluciones poliméricas sobre la morfología de la nanofibras.	23
<b>Figura 2.3</b> Aplicaciones potenciales de las fibras de polímeros para electrospinning	30
<b>CAPÍTULO 4</b>	
<b>Figura 4.1.</b> Micrografías de fibras de (a) PEO <sub>80</sub> ( LMP <sub>80</sub> WPI <sub>20</sub> ) <sub>20</sub> , (b) PEO <sub>60</sub> ( LMP <sub>60</sub> WPI <sub>40</sub> ) <sub>40</sub> y (c) PEO al 5% a una distancia entre la punta de la aguja y el colector de 12 cm.	41
<b>Figura 4.2.</b> Micrografías de fibras de (a) PEO <sub>80</sub> ( LMP <sub>80</sub> WPI <sub>20</sub> ) <sub>20</sub> , (b) PEO <sub>70</sub> ( LMP <sub>70</sub> WPI <sub>30</sub> ) <sub>30</sub> y (c) PEO al 5% a una distancia entre la punta de la aguja y el colector de 15 cm.	42
<b>Figura 4.3.</b> Comparación del diámetro de las fibras por el efecto de la distancia de inyección	43
<b>CAPITULO 5</b>	
<b>Figura 5.1.</b> Viscosidad, conductividad y tensión superficial como función del promedio de diámetro de diámetro de las mezclas de PEO/WPI	47
<b>Figura 5.2.</b> Morfología de nanofibras obtenidas de diferentes mezclas de PEO/WPI: a) PEO <sub>100</sub> WPI <sub>0</sub> , b) PEO <sub>80</sub> WPI <sub>20</sub> , c) PEO <sub>70</sub> WPI <sub>30</sub> , d) PEO <sub>60</sub> WPI <sub>40</sub> , e) PEO <sub>50</sub> WPI <sub>50</sub> , f) PEO <sub>40</sub> WPI <sub>60</sub> , g) PEO <sub>30</sub> WPI <sub>70</sub> y h) PEO <sub>20</sub> WPI <sub>80</sub>	50
<b>Figura 5.3.</b> Propiedades mecánicas de nanofibras como función de la proporción PEO/WPI	54
<b>Figura 5.4.</b> (a) Análisis termogravimétrico y ( b) primera derivada ( $dm/dT$ ) de las nanofibras obtenidas de las diferentes mezclas de PEO/WPI: a) PEO polvo, b) PEO <sub>100</sub> WPI <sub>0</sub> , c) PEO <sub>80</sub> WPI <sub>20</sub> , d) PEO <sub>70</sub> WPI <sub>30</sub> , e) PEO <sub>60</sub> WPI <sub>40</sub> , f) PEO <sub>50</sub> WPI <sub>50</sub> , g) PEO <sub>40</sub> WPI <sub>60</sub> , h) PEO <sub>30</sub> WPI <sub>70</sub> 30, i) PEO <sub>20</sub> WPI <sub>80</sub> y f) WPI polvo.	56
<b>Figura 5.5.</b> Comparación de la composición de las dispersiones y las fibras electrodepositadas obtenidas mediante la deconvolución de las curvas de TGA.	58
<b>Figura 5.6.</b> Espectros FTIR de nanofibras obtenidas con diferentes proporciones de PEO/WPI: a) PEO polvo, b) PEO <sub>100</sub> WPI <sub>0</sub> , c) PEO <sub>80</sub> WPI <sub>20</sub> , d) PEO <sub>70</sub> WPI <sub>30</sub> , e)	60

---

PEO <sub>60</sub> WPI <sub>40</sub> , f) PEO <sub>50</sub> WPI <sub>50</sub> , g) PEO <sub>40</sub> WPI <sub>60</sub> , h) PEO <sub>30</sub> WPI <sub>70</sub> , i) PEO <sub>20</sub> WPI <sub>80</sub> and(j) WPI polvo	
<b>Figura 5.7.</b> Difractogramas de rayos x para WPI; nanofibras PEO <sub>20</sub> WPI <sub>80</sub> , PEO <sub>50</sub> WPI <sub>50</sub> y PEO <sub>80</sub> WPI <sub>20</sub> y PEO	61
<b>CAPÍTULO 6</b>	
<b>Figura 6.1.</b> Microestructura de nanofibras con extracto de romero ( <i>Rosmarinus officinalis</i> ) encapsulado: a)PEO <sub>40</sub> /WPI <sub>60</sub> , b) PEO <sub>50</sub> /WPI <sub>50</sub> , C) PEO <sub>60</sub> /WPI <sub>40</sub>	65
<b>Figura 6.2.</b> Curvas de TG (A) y DTG (B) de nanofibras obtenidas de la mezcla de PEO/WPI + Ext (2%): a) PEO <sub>40</sub> WPI <sub>60</sub> , b) PEO <sub>50</sub> WPI <sub>50</sub> , c) PEO <sub>60</sub> WPI <sub>40</sub> .	66
<b>Figura 6.3.</b> Comparación de espectros FTIR de nanofibras con y sin extracto de romero encapsulado: a) PEO polvo, b)PEO <sub>40</sub> WPI <sub>60</sub> , c) PEO <sub>50</sub> WPI <sub>50</sub> , d) PEO <sub>60</sub> WPI <sub>40</sub> , e) PEO <sub>40</sub> WPI <sub>60</sub> + Ext (2%), f) PEO <sub>50</sub> WPI <sub>50</sub> + Ext(2%), g) PEO <sub>60</sub> WPI <sub>40</sub> + Ext(2%) y h) WPI polvo.	68

# ÍNDICE DE TABLAS

<b>CAPÍTULO 2</b>	Pág.
<b>Tabla 2.1</b> Nanofibras sintetizadas a partir de polímeros por la técnica de electrospinning y algunas de sus aplicaciones	35
<b>CAPÍTULO 4</b>	
<b>Tabla 4.1.</b> Propiedades de las mezclas PEO: (LMP/WPI) y PEO.	41
<b>CAPÍTULO 5</b>	
<b>Tabla 5.1.</b> Valores de pH de las diferentes soluciones poliméricas de PEO/WPI	45
<b>Tabla 5.2.</b> Principales Frecuencias de los espectros FTIR de PEO y WPI y sus asignaciones	60

# RESUMEN

En este estudio se realizó la síntesis de nanofibras de biomateriales mediante de electrospinning. Los resultados reportan la influencia de la viscosidad y conductividad, así como la distancia entre la punta aguja y el colector y voltaje aplicado sobre la morfología de fibras producidas mediante electrospinning. Se prepararon soluciones de pectina de bajo metóxilo (LMP) y proteína aislada de suero de leche (WPI) al 7 y 10% respectivamente; se mezclaron en proporciones de LMP<sub>80</sub>WPI<sub>20</sub>, LMP<sub>70</sub>WPI<sub>30</sub>, LMP<sub>60</sub>WPI<sub>40</sub> y LMP<sub>50</sub>WPI<sub>50</sub>. Posteriormente las mezclas LMP-WPI fueron combinadas con óxido de polietileno (PEO) al 5% en diferentes proporciones en relación al PEO (80:20, 70:30, 60:40, 50:50). Las soluciones fueron inyectadas a una velocidad de 80 mL/h con un voltaje de 15-30 kV y a una distancia de 12 y 15 cm entre la punta de la aguja y el colector. Se obtuvieron fibras de diferentes morfologías, con diámetros del orden de nanómetros a micrómetros. Por otro lado, también se desarrollaron nanofibras de proteína aislada de suero de leche (WPI) y óxido de polietileno (PEO). Se prepararon dispersiones variando la concentración de PEO/WPI (100:0, 70:30, 60:40, 50:50, 40:60, 30:70, 20:80 y 0:100) y se evaluó la viscosidad, conductividad y tensión superficial para cada una de las diferentes proporciones empleadas, así como el efecto que tiene la variación de proporción de mezclas en las propiedades mecánicas y morfología de las fibras. Los resultados indican que a valores de viscosidad altos se favorece el crecimiento de fibras suaves y lisas con diámetros promedio que van de  $227 \pm 36.22$  a  $264 \pm 66.11$  nm, mientras que las soluciones de baja viscosidad ( $<415$  cP), baja tensión superficial ( $< 55$  mN/m) y alta conductividad ( $> 527 \mu\text{Scm}^{-1}$ ), promueven la formación de “perlas”. Las fibras obtenidas de las mezclas PEO<sub>70</sub>WPI<sub>30</sub> con PEO<sub>100</sub>WPI<sub>0</sub> fueron estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ) en cuanto al módulo de Young, mientras que para la resistencia a la tracción y la elongación no existieron diferencias significativas entre tratamientos. Las nanofibras obtenidas de las combinaciones PEO<sub>60</sub>WPI<sub>40</sub> y PEO<sub>50</sub>WPI<sub>50</sub> fueron térmicamente estables. Los resultados de FTIR revelaron la interacción interpolimérica favoreciendo la formación de fibras. Además, se determinó el efecto de la adición de un componente activo en las características de las nanofibras observando un incremento en el diámetro de las fibras.

# ABSTRACT

This study was conducted in the synthesis of biomaterials nanofibers by electrospinning. The results reported the influence of viscosity and conductivity, as well as the distance between the needle tip and the collector and applied voltage on the morphology of fibers produced by electrospinning. Solutions of low methoxyl pectin (LMP) and whey protein isolate (WPI) were prepared at 7 and 10%, respectively; these were mixed in proportions LMP<sub>80</sub>WPI<sub>20</sub>, LMP<sub>70</sub>WPI<sub>30</sub>, LMP<sub>60</sub>WPI<sub>40</sub> and LMP<sub>50</sub>WPI<sub>50</sub>. Subsequently, mixtures of LMP-WPI were combined with poly (ethylene oxide) (PEO) at 5% varying the proportion relative to PEO (80:20, 70:30, 60:40, 50:50). The solutions were injected at a rate of 80 mL/h with a voltage of 15 to 30 kV and a gap distance of 12 and 15 cm from the tip of the needle to the collector. Fibers with different morphologies were obtained with diameter order from nanometers to micrometers. On the other hand, whey protein isolate (WPI) and poly ethylene oxide (PEO) nanofibers were developed. The viscosity, conductivity, surface tension, mechanical properties and morphology were studied as function of the PEO/WPI ratio (100:0, 70:30, 60:40, 50:50, 40:60, 30:70, 20:80 y 0:100). The results show that at higher viscosity values, the growth of soft and smooth fibers with diameters going from  $227 \pm 36.32$  to  $264 \pm 66.11$  nm is favored, while the solutions with low viscosity ( $< 415$  cP), low surface tension ( $< 55$  nM/m) and high conductivity ( $> 527 \mu\text{Scm}^{-1}$ ) promote the formation of beads. The fibers obtained from PEO<sub>70</sub>WPI<sub>30</sub> with PEO<sub>100</sub>WPI<sub>0</sub> mixtures were statistically different ( $p < 0.05$ ) according to Young module, while there were no meaningful differences between treatments for the stress at break and strain at break. The nanofibers obtained from the PEO<sub>60</sub>WPI<sub>40</sub> and PEO<sub>50</sub>WPI<sub>50</sub> combinations were thermally stable. The FTIR results revealed the interpolymeric interaction favoring the formation of fibers. Furthermore, the effect of addition of an active component in the characteristics of the nanofibers observing an increase in fiber diameter was determined.



# INTRODUCCIÓN

Recientemente, ha incrementado la demanda por la elaboración de nuevas nanoestructuras con diferentes morfologías como lo son: nanopartículas, nanocables, nanorods, nanotubos y nanofibras, dichas estructuras han sido sintetizadas utilizando diferentes métodos tal como autoensamblaje, síntesis mediante platilla porosa, fase de separación, litografía, electrospinning, etc. (Ramakrishna, *et al.* 2005; Nirmala, *et al.* 2013).

En particular, el electrospinning ha sido ampliamente estudiado debido a que es una técnica eficiente para la elaboración de fibras de tamaño nanométrico (Aluigi *et al.* 2008). Para la síntesis de las fibras se aplica un alto voltaje el cual genera un campo eléctrico entre un capilar y el colector; las cargas generadas se distribuyen uniformemente sobre la superficie de la gota de la solución polimérica experimentando una deformación de forma esférica a cónica, llamada cono de Taylor. Cuando las fuerzas electrostáticas superan la tensión superficial, la solución es expulsada y antes de llegar al sustrato se solidifica debido a la evaporación del solvente, y así el polímero es colectado como una red interconectada de nanofibras (Yang *et al.* 2007).

El creciente interés por la utilización de nanofibras se debe a sus propiedades físicas, mecánicas y eléctricas asociadas a su alta porosidad y a que conforme disminuyen sus dimensiones, el área superficial incrementa lo que indica que existe mayor proporción de átomos sobre la superficie y por lo tanto sus propiedades mejoran obteniendo materiales aptos para ser aplicados en diversas áreas como biomedicina, farmacéutica y recientemente en la ciencia de los alimentos (Fernandez *et al.* 2009; Nirmala, *et al.* 2013). En el área de los alimentos ha sido impulsado por la necesidad de crear sistemas de encapsulación con propiedades de barrera y mecánicas mejoradas; y debido a las dimensiones que presentan

---

las nanofibras ofrecen un gran potencial de mejorar significativamente la solubilidad y la biodisponibilidad de muchos ingredientes funcionales (Yuan *et al.* 2008).

Diversas investigaciones han reportado la obtención de nanofibras de diferentes polímeros naturales y sintéticos (Woerdeman *et al.* 2005; Alborzi *et al.* 2009; Moon and Farris, 2009; Torres-Guiner *et al.* 2009). Actualmente, se continúa con la producción de fibras de polímeros que sean biodegradables y biocompatibles, no obstante, el electrospinning suele ser un tanto complicado debido a que la morfología de las fibras depende de parámetros de proceso como tipo de polímero, concentración de la solución, fuerza de campo eléctrico aplicado, distancia de deposición y tiempo de deposición, etc. Es por ello, que surge el creciente interés por seguir con el estudio de la relación que existe entre la composición de las soluciones poliméricas, variables de proceso y la microestructura, para la creación de nuevos diseños y fabricación de nanoestructuras como sistemas de encapsulación, debido a estos antecedentes en este trabajo se tiene como objetivo sintetizar nanofibras de biomateriales mediante la técnica de electrospinning como acarreadores de componentes activos.

# OBJETIVO GENERAL

Sintetizar nanofibras de biomateriales mediante la técnica electrospinning, como acarreadores de compuestos activos.

# OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar los parámetros de síntesis de nanofibras mediante la interacción de proteína-polisacárido
- Determinar los parámetros de síntesis de la combinación de polímeros sintéticos y naturales
- Determinar la relación entre la composición de las mezclas entre el polímero sintético (PEO) y el aislado de proteína de suero lácteo (WPI); y la distribución del diámetro y morfología de las fibras
- Determinar el efecto de la adición de un componente activo en las características de las nanofibras

# JUSTIFICACIÓN

Los biopolímeros pueden ser utilizados para proteger y liberar componentes bioactivos en sistemas alimenticios o como sustitutos de grasas en los alimentos mediante la simulación de las propiedades reológicas y sensoriales. Ha habido un considerable interés en la formación de nuevas matrices de biopolímeros a partir de proteínas y/o polisacáridos, éstas moléculas han sido ampliamente utilizadas para la obtención de hidrogeles para su aplicación en sistemas alimenticios, sin embargo, es esencial disminuir el tamaño de la matriz para permitir su incorporación sin afectar las cualidades sensoriales de los alimentos y más importante aún, que al disminuir el tamaño de la matriz en el orden de micrómetros a nanómetros se puedan crear nuevos materiales que sirvan como portadores de sustancias activas con propiedades mecánicas mejoradas. Existe una amplia variedad de procesos que han sido desarrollados para preparar micropartículas basadas en la interacción de polímeros naturales, las técnicas más comunes y utilizadas han sido secado por aspersión, emulsiones o coacervación, etc. sin embargo, estas técnicas requieren de calentamiento o agentes orgánicos durante su procesamiento, lo que conlleva a la destrucción de los nutrientes encapsulados aunado a los problemas de toxicidad asociados con agentes residuales orgánicos. Por lo tanto, se está optando por el uso de nuevas tecnologías que no impliquen la aplicación de condiciones severas o el uso de solventes tóxicos y que den lugar a partículas de tamaño nanométrico. Por ejemplo, el electropinning que es un método simple y versátil para producir fibras a través de la aplicación de fuerzas electrostáticas a una solución polimérica por lo que no se requiere temperatura durante el proceso. El creciente interés por la utilización de este método se debe a que produce fibras de tamaño nanométrico y a sus propiedades físicas, mecánicas y eléctricas asociadas a su alta área superficial y porosidad. Es por ello, que la ciencia de los alimentos se ha enfocado en esta técnica para desarrollar, modificar y/o transportar de forma eficaz componentes activos para protegerlos de las condiciones a las que pueden estar sometidos durante su procesamiento.

# HIPÓTESIS

Es posible la obtención de nanofibras a través de la combinación de proteína aislada de suero de leche, pectina de bajo metoxilo y óxido de polietileno para ser utilizadas como acarreadores de componentes activos.

# CAPÍTULO 1

## *Biomateriales*

### *1. Generalidades*

**E**l término biomaterial se emplea para describir materiales que constituyen partes de implantes médicos, dispositivos extracorpóreos, y desechables que se han utilizado en medicina, cirugía, odontología y medicina veterinaria, así como en todos los aspectos de la atención de salud de los pacientes. Más concretamente, se ha definido como cualquier sustancia que no sea un medicamento o combinación de sustancias, sintéticas o de origen animal, que pueden ser utilizados por cualquier periodo de tiempo, como parte de un sistema que trata, aumenta o reemplaza cualquier tejido, órgano o función del cuerpo (Dee *et al.* 2002; Ratner *et al.* 2004).

Los biomateriales son una sustancia no viable, es decir, es incapaz de crecer y desarrollarse independientemente, utilizada como dispositivos médicos destinados a interactuar con sistemas biológicos. Estos materiales necesitan ciertas características como eficiencia y confiabilidad; para poder proporcionar una combinación adecuada de sus propiedades químicas, físicas, mecánicas y biológicas para ser empleados dentro de un medio fisiológico (Dee *et al.* 2002). Recientemente, los biomateriales han sido empleados en el área de la ingeniería de tejidos, materiales inteligentes, cultivos de tejidos, sistemas de administración de fármacos, órganos artificiales y materiales biomiméticos además de las aplicaciones médicas tradicionales.

Los biomateriales más utilizados en aplicaciones biomédicas se encuentran: los metales, cerámicos y polímeros, ya que estos materiales poseen diferentes arreglos atómicos y presentan diversas propiedades estructurales, físicas, químicas y mecánicas haciendo de ellos una alternativa más para su aplicación en el cuerpo humano. Por ejemplo, los metales poseen propiedades mecánicas como alta resistencia, coeficiente de elasticidad y resistencia a la fatiga por lo que los hace materiales muy atractivos para aplicaciones en sistemas biomédicos de carga, sin embargo los metales tienden a degradarse mediante un proceso de corrosión que liberan iones, componentes químicos e insolubles que pueden causar reacciones biológicas adversas. Por otro lado, los cerámicos son biomateriales muy deseables debido a su propiedades de compatibilidad, bioactivos, bioinertes y biodegradables, no obstante presentan desventajas ya que son frágiles y tienen baja resistencia, etc. (Niinomi, 2002; Boretos y Eden, 1984; Williams, 1987). Por otro lado, los polímeros también son materiales que son muy utilizados en biomedicina debido a que se usan en dispositivos cardiovasculares, como materiales reconstructivos en el área de ingeniería de tejidos así como en sistemas de administración de fármacos, etc.

Existen algunas restricciones sobre los materiales que pueden ser considerados como biomateriales. Primero y ante todo, un biomaterial debe ser biocompatible, no debe provocar una respuesta adversa del cuerpo, y viceversa; debe ser no tóxico y no carcinogénico. Además, debe poseer propiedades físicas y mecánicas adecuadas para que tengan la capacidad de aumentar o reemplazar a tejidos corporales, así mismo, un

---

biomaterial debe ser capaz de formar diferentes estructuras, tener un costo relativamente bajo, así como una fácil disponibilidad (Ratner *et al.* 2004).

## **1.1 Polímeros**

Los polímeros son macromoléculas, que se caracterizan por tener una unidad llamada monómero, que se repite a lo largo de la molécula, éstos interactúan entre sí mediante enlaces secundarios débiles como puentes de hidrógeno, interacciones de van der Waals para formar su estructura de entrelazamiento. Los polímeros presentan propiedades térmicas y eléctricas débiles a causa del enlace covalente interatómico dentro de las moléculas. (Ratner *et al.* 2004; Mcmurry y Fay, 2009)

Los polímeros se han usado ampliamente en medicina y biotecnología para la elaboración de dispositivos quirúrgicos, implantes, sistemas de administración y liberación de fármacos, portadores de enzimas, células inmovilizadas, biosensores, materiales dentales y aplicaciones de ingeniería de tejidos, etc. Dada esta versatilidad se requiere la producción de polímeros con diferentes estructuras, composición, propiedades fisicoquímicas, interfaciales, biomiméticas que sean apropiadas para cumplir con una aplicación en específica (Nikalje *et al.* 2010; Ratner *et al.* 2004)

Las principales ventajas que presentan los polímeros comparados con metales y cerámicos es la fácil manipulación ya que se pueden obtener diversas estructuras como: membranas, películas, fibras, geles, hidrogeles, capsulas, esferas, partículas, estructuras en 3-D (scaffolds), facilidad de procesamiento, costo y disponibilidad. Los polímeros representan el grupo más grande, en cuanto su aplicación en biomateriales y dependiendo de su origen, se les ha clasificado en polímeros sintéticos y naturales (Dee *et al.* 2002; Ratner *et al.* 2004).

### **1.1.1 Polímeros sintéticos**

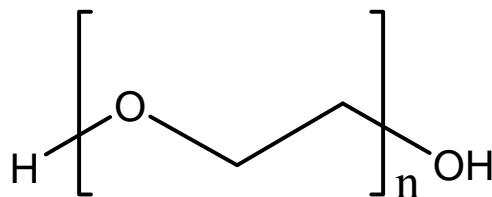
Los polímeros sintéticos son compuestos orgánicos que se obtienen mediante reacciones de polimerización. Éstos contienen normalmente entre uno y tres tipos de unidades diferentes que se repiten. Cuando se parte de un solo tipo de molécula se habla de homopolimerización, en cambio cuando son dos o más moléculas diferentes las que se



repiten en la cadena se habla de copolimerización. Las moléculas de polímero que resultan llegan a poseer desde algunos cientos hasta muchos miles de unidades de monómeros incorporadas en una cadena larga, no obstante, los polímeros sintéticos son mucho menos complejos que los biopolímeros, debido a que las unidades monoméricas de partida suelen ser menores y más simples. Hay un gran número de materiales poliméricos sintéticos que se han empleado como implantes, dentro los que destacan los acrílicos, poliamidas, poliésteres, polietileno, polisiloxanos y poliuretanos (Mcmurry y Fay, 2009).

Otra gama de biomateriales que se obtienen a partir polímeros sintéticos hidrófobos destacan: el caucho de silicona (SR), polietileno (PE), polipropileno (PP), politereftalato de etileno (PET), polietrafluoroetileno (PTFE) y polimetilmetacrilato (PMMA); algunos materiales polares como policloruro de vinilo (PVC) y copoliácido lactiglicólico (PLGA), además de materiales solubles en agua como él: polietilenglicol (PEG o PEO), o los que son hidrolíticamente inestables y se degradan en el cuerpo mientras que otros pueden permanecer en él (Ratner *et al.* 2004).

Un polímero sintético de interés, el óxido de polietileno (PEO), cuya estructura química se muestra en la Figura 1.1, es una resina que se obtiene de la polimerización catalítica de óxido de etileno. Se encuentran disponibles en diferentes pesos moleculares que van de 200 a  $7 \times 10^6$  Daltons. El PEO de bajo peso molecular ( $MV < 20,000$ ) son también referidos a PEGs y son líquidos incoloros o ceras sólidas dependiendo de su peso molecular mientras que con alto peso molecular ( $MV > 20,000$ ) son sólidos termoplásticos ligeramente cristalinos. Se representan con la fórmula  $(OCH_2CH_2)_n$  (Figura 1.1). La unidad repetitiva del PEO contiene una cadena con dos grupos terminales, -H y -OH (Dhawan *et al.* 2005) y una unidad de etileno hidrofóbico y con un oxígeno hidrofílico.



**Figura 1.1** Estructura química del óxido de polietileno.

El PEO es un polímero biodegradable y biocompatible, se caracteriza por sus propiedades de retención de agua, floculante, espesante, lubricante, dispersante y de liberación sostenida. Es ampliamente utilizado en muchas aplicaciones farmacéuticas (Demet *et al.* 2004, Chia-Chi Su y Hun-HweiShen, 2008), debido a que es soluble en agua, no iónico, no tóxico, no irritante y no genera residuos, ni sedimentos o compuestos gaseosos. Dadas sus aplicaciones en la industria farmacéutica, y su estudio en diversas investigaciones que se reportan en la literatura, adquiere interés para preparar liposomas, nanopartículas, micropartículas e hidrogeles y recientemente como sistemas de liberación de fármacos.

### ***1.1.2 Polímeros naturales***

Otros de los polímeros que adquieren interés en el campo de los biomateriales son los naturales. Generalmente, el procedimiento de síntesis de ellos implica reacciones de polimerización catalizada por enzimas de monómeros activados, de esta manera el crecimiento de la cadena ocurre dentro de las células por procesos metabólicos complejos. Existe una amplia variedad de polímeros naturales donde destacan los polisacáridos como la celulosa y el almidón. Los polímeros naturales presentan una unidad repetitiva que son pequeñas moléculas de azúcar. Por ejemplo; en las proteínas el monómero que la forma son los aminoácidos, mientras que los ácidos nucleicos crecen a partir de nucleótidos (Fennema, 2000).

### **1.1.2.1 Polisacáridos**

Los polisacáridos son polímeros cuyos constituyentes son los monosacáridos, los cuales se unen repetitivamente mediante enlaces glucosídicos, su peso molecular se eleva dependiendo del número de residuos o unidades de monosacáridos que contenga su estructura. Estas moléculas modifican y controlan la movilidad del agua en sistemas que forman los alimentos, al mismo tiempo que el agua juega un papel importante en las propiedades físicas y funcionales del alimento. En la naturaleza existe una amplia gama de polisacáridos, que actúan como hidratos de carbono de almacenamiento en diferentes partes de la planta como almidón, celulosa, glucógeno, quitosano, alginato y pectina, etc. (Fennema, 2000).

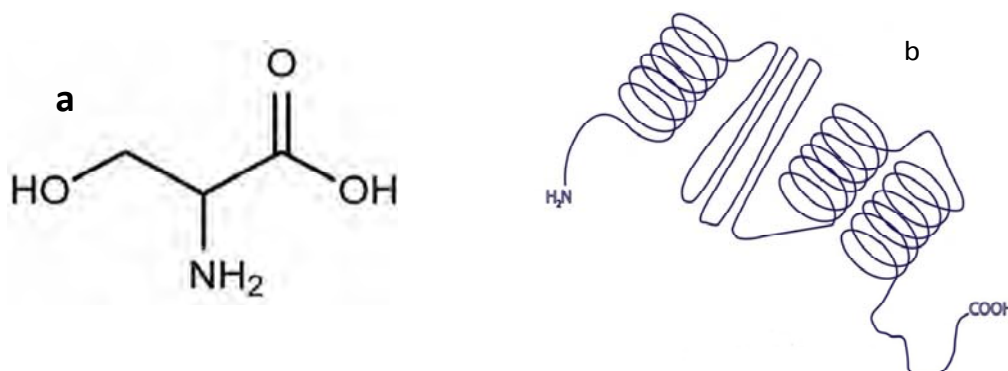
En particular, la pectina es una molécula lineal con regiones que comprenden  $\alpha$ -1,4 de ácido galacturónico parcialmente esterificado con regiones ramificadas que contienen principalmente ramnosa, galactosa, xilosa, arabinosa y ácido galacturónico. Una molécula de pectina contiene cerca de 250 a 750 unidades de ácido galacturónico que corresponde a un peso molecular de 50,000 a 150,000 daltons. La pectina de bajo metóxilo su grado de esterificación es menor al 50%, cada anillo de la cadena posee un grupo carboxilo (-COOH) que puede estar esterificado con un metanol produciendo grupos éster metílicos, promoviendo la formación de redes, resultando la formación de geles. La pectina es ampliamente utilizada como gelificante y agentes estabilizantes en alimentos (Willats *et al.* 2006)

### **1.1.2.2 Proteínas**

Las proteínas son biopolímeros muy complejos que juegan un papel fundamental en los sistemas biológicos, están constituidas de hasta 20 aminoácidos diferentes, unidos por enlaces peptídicos. La diversidad funcional de las proteínas se debe especialmente a su composición química. Existe una gran diversidad de proteínas que son ampliamente utilizadas en la industria alimentaria debido a sus propiedades funcionales que están relacionadas con sus características estructurales y fisicoquímicas (Fennema, 2000). Por ejemplo, la proteína aislada de suero lácteo es un subproducto de la elaboración de queso, y las proteínas del suero son técnicamente definidas como aquellas que permanecen en el

suero de la leche después de la coagulación de las caseínas a pH de 4.6 y a una temperatura de 20°C (Dangaran *et al.* 2009).

Las proteínas del suero comprenden a un grupo de proteínas, principalmente  $\beta$ -lactoglobulina,  $\alpha$ -lactoalbumina, albumina de suero de bovino (BSA) e inmunoglobulinas. La proteína aislada de suero de leche representa más del 90% de proteína, es obtenida a través de ultrafiltración e intercambio iónico (Wang *et al.* 2012). La  $\beta$ -lactoglobulina posee una estructura secundaria, tiene un peso molecular de 18.3 kDa consta de 160 aminoácidos dependiendo de las variante genética y comprende del 48-58% del total de las proteínas del suero. La segunda proteína del suero más abundante es la  $\alpha$ -lactoalbumina comprende del 13 -19% del total de las proteínas del suero, con un peso molecular de 14.2 kDa. La BSA consta de una sola cadena larga con de un peso molecular de 66 kDa, finalmente las inmunoglobinas son una mezcla de proteínas y son muy termolabiles (Dangaran, *et al.* 2009). La proteína aislada de suero de leche es una proteína de gran interés debido a sus excelentes propiedades funcionales, alto contenido en aminoácidos esenciales y disponibilidad (Wei-Wei *et al.* 2011; Mahamadou *et al.* 2007). El WPI tiene buenas propiedades de actividad superficial y ha sido ampliamente utilizado en la industria alimentaria como emulsificante, estabilizador, gelificante y agente espumante, blanqueador o potenciador del sabor (Mott, 1999, Duoxia *et al.* 2012). Diversas investigaciones han utilizado WPI para producir emulsiones estables así como películas transparentes (Kaya and Kaya, 2000), flexibles, incoloras e inodoras las que han mostrado ser excelentes barreras al oxígeno (Pérez-Gago and Krochta, 2001) y humedad (Mahamadou *et al.* 2007), inhibiendo la degradación de los componentes funcionales inestables que protegen (Duoxia *et al.* 2012).



**Figura 1.2.** a) Molécula de un aminoácido y b) Estructura de una proteína.

Hoy en día, se está estudiando el desarrollo, caracterización y aplicaciones de nuevos biomateriales combinando las propiedades de dos diferentes polímeros naturales como portadores de componentes activos. Las interacciones biopolímero-biopolímero desempeñan un papel cada vez más importante en la investigación de la ciencia de los alimentos y biotecnología, debido a que influyen en la formación de la microestructura de la mayoría de los sistemas poliméricos, determinando en gran medida su textura, estabilidad mecánica y consistencia (Espinosa-Andrews *et al.* 2010). De ahí la importancia de considerar las interacciones que ocurren entre proteína-polisacáridos.

### **1.1.3 Interacción proteína-polisacárido**

Aunque los polímeros naturales tienen muchas características deseables necesarias para su aplicación, la mayoría de los polímeros naturales tienen limitadas aplicaciones debido a su difícil manipulación (Moon y Farris, 2009). Por lo que, el conocimiento de las interacciones entre biopolímeros en soluciones como proteínas y polisacáridos, es de importancia fundamental en sistemas biológicos. Generalmente, la fase de comportamiento de sistemas biopolímero-biopolímero-agua juega un papel importante en la química de coloides, ya que en la mayoría de los casos los biopolímeros mezclados en soluciones, son inestables y se pueden formar fases de separación de dos formas distintas (Schmitt *et al.* 1998).

Cuando las proteínas y polisacáridos son mezclados en un medio acuoso se presentan dos tipos de interacciones, incompatibilidad termodinámica (fase de separación segregativa) o compatibilidad termodinámica (fase de separación asociativa) principalmente depende de

las cargas eléctricas de ambos biopolímeros y por lo tanto de factores que los afectan como pH y la fuerza iónica, si la mezcla presenta diferentes condiciones, sus propiedades funcionales son completamente diferentes (Turgeon y Laneuville, 2009). Weinbreck *et al.* (2004), describe que la mezcla de dos biopolímeros en solución se pueden formar tres comportamientos diferentes: miscibilidad, incompatibilidad termodinámica y formación de complejos. El aumento de la concentración de biopolímeros y exceso de una concentración crítica, éstos pueden llegar a ser parcialmente miscibles. Las fuerzas de repulsión neta entre las dos especies en solución a un nivel molecular causa una separación espontánea del sistema en dos distintas fases, fenómeno es conocido como incompatibilidad termodinámica.

En general, la incompatibilidad ocurre a altas concentraciones y altas fuerzas iónicas, cuando ambas moléculas tienen cargas similares, resulta una repulsión electrostática entre moléculas y se forman dos diferentes fases, una rica en proteína y otra rica en polisacáridos. Por otro lado, la compatibilidad termodinámica también conocida como fase asociativa o complejos de coacervación ocurre relativamente a bajas concentraciones (< 3 a 4% de sólidos totales) baja fuerza iónica (<0.4M), y cuando ambas moléculas tienen cargas eléctricas opuestas. Esto ocurre entre el punto isoeléctrico de las proteínas pI y el pKa de los polisacáridos, bajo tales condiciones las moléculas se atraen espontáneamente y se separan en dos fases, una fase rica en proteína y polisacáridos y la otra pobre en biopolímeros pero rica en solventes. En la fase rica en biopolímeros están unidos por fuerzas electrostáticas y pueden tomar la forma de un coacervado o precipitado (Turgeon y Laneuville, 2009).

El objetivo del estudio de las interacciones entre proteína y polisacáridos, es debido a que forman una matriz que sirve como portador de ingredientes alimentarios, micronutrientes, aromas, sabores, etc. En las últimas décadas, la demanda de los consumidores en el ámbito del consumo de los alimentos ha cambiado considerablemente, hoy en día los alimentos no están destinados a satisfacer sólo el hambre, sino también para prevenir enfermedades relacionadas con las deficiencias nutricionales (Betoret *et al.* 2011). Una de las maneras más efectivas para ayudar a este problema es fortificando y enriqueciendo los alimentos para incrementar la ingesta de nutrientes específicos que no están presentes en la dieta. No

obstante, muchos micronutrientes son sensibles al calor, oxígeno, humedad y luz (Alborzi *et al.* 2009). Hay un grupo de tecnologías que han sido utilizadas para formar microestructuras destinadas para evitar el deterioro de los compuestos fisiológicamente activos, como a continuación se describen.

### ***1.3 Métodos de encapsulación para la protección y liberación de componentes activos***

La microencapsulación se le considera como una forma de protección, en donde es posible envasar, separar y almacenar materiales en escala microscópica para su liberación posterior bajo condiciones controladas. Dentro del término de microencapsulación, se incluyen las microcápsulas, micropartículas, nanocápsulas con sustancias activas atrapadas (Re, 1998).

Una característica de los componentes alimenticios activos es que son de rápida inactivación o degradación por lo tanto, muchos de los componentes bioactivos de los alimentos se beneficiarían de un procedimiento de microencapsulación que retarda los procesos de degradación y/o evita la degradación hasta la liberación del producto en el lugar donde se requiere la adsorción. Un importante requerimiento es que el sistema de encapsulación proteja los componentes bioactivos de la degradación química (oxidación o hidrólisis) y lo mantenga con sus características funcionales. Otro punto importante es que el sistema de encapsulación permita un eficiente atrapamiento de la molécula a proteger. Así mismo, un eficiente empaquetamiento dependerá del tipo de molécula que se elija como componente activo y el material específico que servirá como vehículo. Muchas técnicas de encapsulación han sido propuestas pero ninguna se ha considerado como un procedimiento aplicable para componentes alimenticios como lípidos, vitaminas, péptidos, ácidos grasos, antioxidantes, minerales o células vivas, etc. (de Vos *et al.*, 2010). A continuación se describen los métodos físicos y químicos que se han utilizado para la microencapsulación de sustancias activas.

#### ***1.3.1 Métodos químicos***

##### ***1.3.1.1 Coacervación compleja***

Es un proceso de separación de fases que ocurre de forma espontánea, cuando en un medio acuoso se mezclan dos o más polímeros que presentan carga opuesta (policación y polianión), como consecuencia de la atracción electrostática entre ellos (Saez *et al.* 2007).

### 1.3.1.2 Polimerización interfacial

Es un proceso donde se polimeriza un monómero en la interfase de dos sustancias inmiscibles, formando una membrana que dará lugar a la pared de la microcápsula. Se distinguen tres pasos en su preparación:

- 1) Dispersión de una solución acuosa de un reactante soluble en agua en una fase orgánica (aceite) para producir una emulsión agua o aceite.
- 2) Formación de una membrana polimérica en la superficie de las gotas de agua iniciada por la adición de un reactante soluble en aceite a la emulsión
- 3) Separación de las microcápsulas de la fase orgánica y su transferencia en agua para dar una suspensión acuosa (Saez *et al.* 2007; Yañez *et al.* 2002)

### 1.3.1.3. Gelificación iónica

Es un proceso que se emplea para inmovilizar células, donde se utiliza principalmente alginato como componente de la membrana y la combinación con iones divalentes como el calcio, para inducir la gelificación (Saez *et al.* 2007; Yañez *et al.* 2002).

### 1.3.1.4 Incompatibilidad polimérica

En este método se utiliza el fenómeno de separación de fases en una mezcla de dos polímeros químicamente diferentes e incompatibles en un mismo solvente. La incompatibilidad polimérica es el que induce la separación de fases. El material a encapsular interactuará sólo con uno de los dos polímeros el cual se adsorbe en la superficie del material a encapsular formando una película que lo engloba (Yañez *et al.* 2002).

### 1.3.1.5 Atrapamiento de liposomas.

Los liposomas son partículas microscópicas preparadas a base de lípidos y agua. Son estructuras compuestas de una bicapa de lípidos que engloba un volumen acuoso, es decir, encapsula (King, 1995). Se elaboran con moléculas anfifílicas que poseen sitios hidrofóbicos (ácidos grasos, fosfolípidos, etc) y sitios hidrófilicos (colina, serina, inositol, etc). Su mayor aplicación se ha encontrado en la industria farmacéutica como sistemas de liberación de fármacos para el organismo.



### **1.3.2 Métodos físicos**

#### *1.3.2.1 Secado por aspersión*

El proceso consiste de la preparación de la emulsión o suspensión del material a encapsular en una solución de encapsulante, la atomización y la deshidratación de las partículas atomizadas. La adecuada selección del atomizador y el agente encapsulante, son factores crítico en este método. Una de las grandes ventajas de este proceso, además de su simplicidad, es que es apropiado para materiales sensibles al calor, y es por ello que se ha empleado para encapsular ingredientes alimenticios por ser un proceso económico (Risch, 1995; Re, 1998).

#### *1.3.2.2 Extrusión*

La microencapsulación mediante extrusión involucra el paso de una emulsión del material activo y el material protector a través de alta presión, este método constituye el segundo proceso más usado, después del secado por aspersión (Yañez *et al.* 2002; de Vos *et al.* 2010).

#### *1.3.2.3 Encapsulación por lecho fluidizado*

Este método físico consiste en suspender partículas sólidas en aire a alta velocidad dentro de una cámara con temperatura y humedad controlada, donde el material encapsulante es atomizado. La cantidad de partículas cubiertas dependerá de la longitud de la cámara y del tiempo de residencia dentro de ésta. La técnica es aplicable a coberturas que funden fácilmente como aceites vegetales hidrogenados, estearinas, ácidos grasos, emulsificantes, ceras o coberturas solubles (almidones, gomas y maltodextrinas) (Yañez *et al.* 2002).

La selección del método estará en función de los costos, propiedades del material a encapsular, tamaño de las microcápsulas, su aplicación y de los mecanismos de liberación (Re, 1998; Brazel, 1999; Popplewell *et al.* 2001). La mayoría de estos métodos se han utilizado en el área de alimentos para la protección y/o acarreadores de sustancias activas, sin embargo, el uso de estas técnicas implica el uso de condiciones extremas que hace

sensibles a los componentes bioactivos a perder su funcionalidad. En últimas fechas, la tecnología de electrospinning ha llegado a ser muy popular debido a que con este método se pueden producir nanofibras de biomateriales poliméricos con morfología controlada, utilizando un equipo simple.

Las nanofibras son hebras largas y finas que tienen diámetros en un rango de nanómetros (10-100nm), pueden sintetizarse a partir de polímeros sintéticos y naturales, biodegradables y biocompatibles por lo tanto son más disponibles para el cuerpo humano. El interés por la producción de estas fibras ha incrementado debido a que tienen diversas aplicaciones en las áreas de biomedicina, farmacéuticas, cosméticas y en alimentos (Yong, *et al.* 2009; Sill, *et al.* 2008).

También existe un especial interés en el uso de nanofibras, debido a sus características especiales, en particular su alta área superficial específica, ya que conforme disminuyen las dimensiones de los materiales aumenta la proporción área/volumen, es decir, cuando el área superficial es alta existe un reacomodo de los átomos que se encuentran en la superficie y por lo tanto sus propiedades se ven mejoradas, que pueden ser consideradas como nanoefectos. Algunos de estos nanos efectos incluyen la eficiencia cuántica, actividad superficial elevada, alta conductividad térmica y eléctrica, mayor proporción resistencia-peso y superparamagnetismo (Schiffman y Schauer, 2008).

De acuerdo a todas las ventajas que poseen las nanofibras obtenidas mediante la técnica de electrospinning, en el siguiente capítulo se describe el proceso de síntesis así como sus parámetros de control.

# CAPÍTULO 2

## *Electrospinning*

### *2. Teoría y Proceso*

**E**l electrospinning es definido como un proceso mediante el cual un polímero en solución o fundido puede ser hilado en fibras de tamaño nanométrico utilizando una diferencia de alto voltaje (Subbiah *et al.* 2004; Frenot y Chronakis, 2003). Esta descripción genérica cubre una amplia gama de fibras con diámetros de tamaño del orden submicrometros que son normalmente producidas por electrospinning (Subbiah *et al.* 2004). Se han reportado tamaños de fibras del orden de entre 100 nm y 1 micras, la cual son tamaños más comunes de obtener, aunque se han obtenido fibras de tamaño tan pequeño como 30 nm y tan grande como de 10 micras (Huang *et al.*, 2003). La técnica de electrospinning es muy simple, versátil y de fácil adaptabilidad a nivel laboratorio e industrial, debido a que el equipo es de fácil construcción y su configuración básica ha satisfecho las necesidades y condiciones experimentales de diversos grupos de investigación.

En la actualidad, las nanofibras han atraído la atención de los investigadores debido a sus pronunciadas características entre las que destacan su alta área superficial, tamaño de poro pequeño, y la posibilidad de producir estructuras tridimensionales todo esto debido a su

---

diminuto tamaño, es por ello que se han desarrollado materiales avanzados que cuentan con sofisticadas aplicaciones (Huang *et al.*, 2003).

### 2.1 Componentes del equipo de electrospinning

El equipo de electrospinning cuenta con un sistema de inyección compuesto por una bomba de infusión la cual se encarga de empujar la solución polimérica hacia la aguja con una velocidad determinada. Por otro lado, la bomba de infusión se coloca una jeringa de plástico que sirve como reservorio de la solución y una aguja que funciona como electrodo positivo; con la bomba de infusión se controla la velocidad de desplazamiento permitiendo así que el flujo de inyección sea constante durante el depósito. La generación de alto voltaje la proporciona una fuente de poder con un rango de operación de 0-30 kV, de esta fuente salen dos polaridades, una positiva que va conectada a una aguja que funciona como un capilar en la que a través de esta el líquido es inyectado para ser electrodepositado y polaridad negativa va conectada al sustrato colector donde se deposita el producto hilado. Dicho colector básicamente consiste una placa metálica conductora, generalmente se utiliza una hoja de papel aluminio (Figura 2.1) (Li y Xia, 2004; Frenot y Chronakis, 2003; Sill y von Recum, 2008).

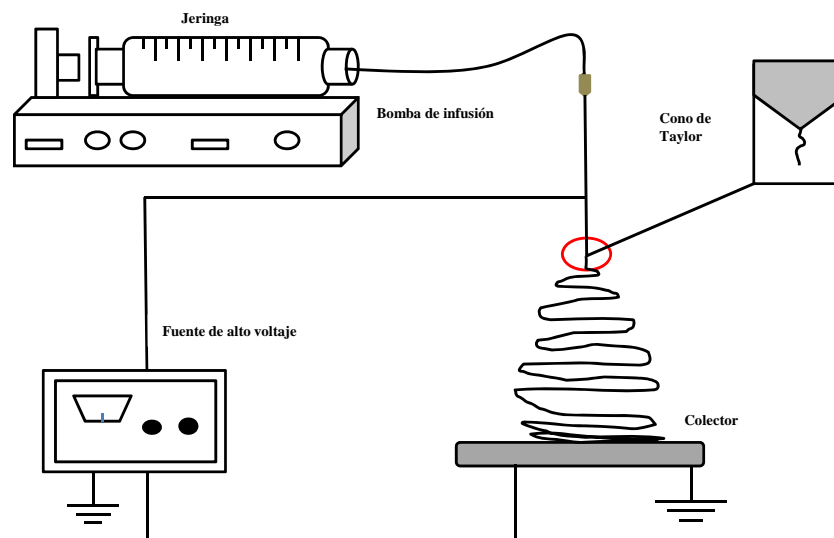


Figura 2.1 Componentes del equipo de electrospinning.

## ***2.2 Síntesis de nanofibras empleando electrospinning***

El principio básico del proceso de electrospinning consiste en aplicar una diferencia de potencial a una solución polimérica. Primero la solución se deposita en una jeringa de inyecciones que, mediante un tubo de plástico, se conecta a una aguja que funciona como un capilar. Una bomba de infusión unida al émbolo de la jeringa genera una presión y un flujo constante de la solución pasa a través del tubo conectado a la aguja. La fibra se forma al producirse una gota de la solución del polímero en la punta de la aguja que se ha formado como consecuencia del bombeo la cual se electrifica fuertemente, y las cargas inducidas se distribuyen uniformemente sobre su superficie. En consecuencia, la gota experimenta dos tipos de fuerzas electrostáticas: la fuerza de repulsión entre las cargas superficiales y la fuerza coulombica ejercida por el campo eléctrico externo debido a la acción de estas interacciones, la gota se distorsiona adquiriendo una forma cónica, conocido como cono de Taylor (Figura 2.1) (Rutledge y Fridrikh, 2007)

La configuración del sistema de electrospinning también tiene un efecto sobre la microestructura de las fibras, es por ello que los grupos de investigación han modificado la configuración básica del equipo de electrospinning para adaptarse a sus necesidades y a las condiciones experimentales. Algunos investigadores han diseñado instalado unas placas paralelas para el control de las variables y cuantificar la electrohidrodinámica del proceso, en otros casos se han usado dos electrodos para reducir el efecto del campo electrostático haciéndolo más estable en la punta de la guja y el colector (Subbiah, *et al.* 2004).

## ***2.3 Parámetros de control en el proceso de electrospinning***

Diversas investigaciones han llevado a cabo estudios teóricos para entender el proceso electrospinning y se han producido de forma simultánea esfuerzos para caracterizar la estructura, así como la morfología de las nanofibras en función de los parámetros del proceso y las características del material. La producción de nanofibras empleando la técnica de electrospinning se ve influenciado por las fuerzas electrostáticas y el comportamiento viscoelástico del polímero, de ahí que se genera la importancia de caracterizar las propiedades de las fibras en función de los parámetros de proceso, así como de las

propiedades de las soluciones debido a que tendrán gran influencia sobre la estructura y propiedades de las nanofibras.

### **2.3.1 Parámetros de la solución y su efecto sobre morfología de las fibras**

#### *2.3.1.1 Peso molecular y viscosidad de la solución*

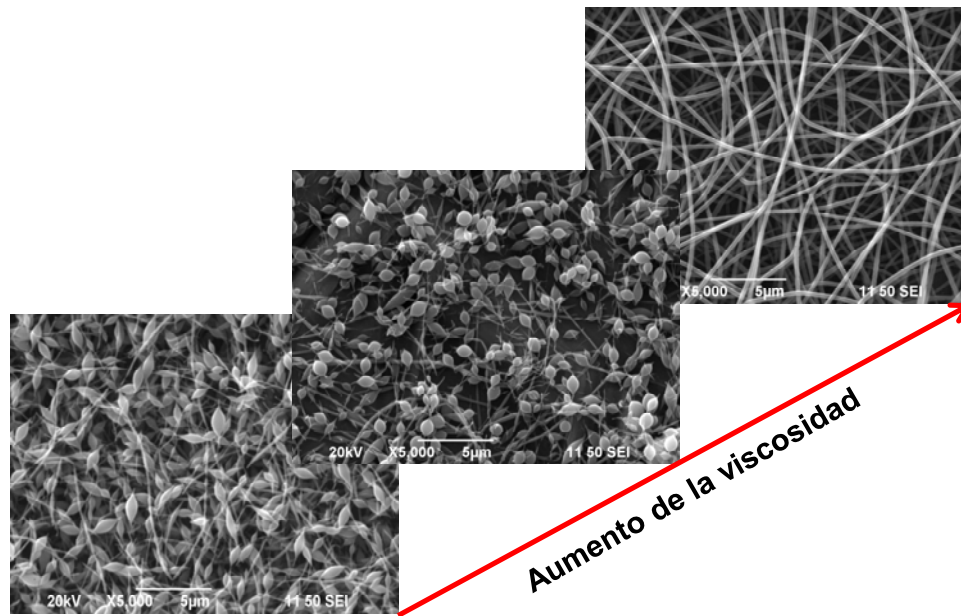
Una de las condiciones que se requieren para la síntesis de nanofibras es que la solución debe estar provista de un polímero con suficiente peso molecular para que proporcione suficiente viscosidad. Generalmente, cuando un polímero de alto peso molecular es disuelto en un solvente, su viscosidad será más alta que la solución del mismo polímero pero de un peso molecular más bajo. El peso molecular del polímero representa la longitud de la cadena del polímero la cual tiene efecto sobre la viscosidad de la solución debido a que la longitud del polímero determina la cantidad de interacciones del polímero en el solvente (Ramakrishna *et al.* 2005).

Por otro lado, la concentración del polímero determinará la espinibilidad de la solución, es decir, determina si se forma o no la fibra debido a que si la solución se encuentra demasiado diluida la fibra se rompe en gotas antes de alcanzar el colector, por el contrario, si la solución es demasiado concentrada las fibras no pueden ser formadas debido a su alta viscosidad la cual dificulta el paso a través del capilar (Sill y von Recum, 2008).

Doshi y Reneker (1995) encontraron que en soluciones de diferentes concentraciones PEO/agua con viscosidades menores a 800 cps la fibras se rompen en gotas mientras que con viscosidades mayores 4000 cps es demasiado viscoso para su electrodeposición, es por ello que se debe contar con un rango óptimo de concentraciones del polímero para que pueda formar la fibra cuando todos los parámetros se mantengan constantes.

Por otra parte, se ha reportado que a baja viscosidad, se pueden formar fibras con “perlas” a lo largo de la fibra, mientras que cuando incrementa la viscosidad hay un cambio gradual en la forma de las “perlas”, de esféricas a forma de listón hasta que se forman fibras largas y finas (Figura 2.2). Con el incremento de la viscosidad, el diámetro de la fibra también incrementa esto puede ser debido a que la solución presenta una resistencia a las cargas para ser alargada, así mismo cuando la viscosidad incrementa significa que existe una cantidad más alta de interacciones de las cadenas entre los polímeros que componen la

solución y las cargas sobre el flujo hacen que la solución sea completamente alargada con las moléculas del solvente distribuidas entre la cadena del polímero. Al incrementar la viscosidad, el diámetro de la fibra también incrementa, esto probablemente sea debido a la gran resistencia de la solución para ser alargada por el efecto de las cargas sobre el flujo (Bhardwaj y Kundu 2010).



**Figura 2.2** Efecto de la viscosidad de las soluciones poliméricas sobre la morfología de la nanofibras.

### 2.3.1.2 Tensión superficial

Otra de las propiedades que juega un papel importante en la formación de nanofibras es la tensión superficial y está determinada por el solvente, así que diferentes solventes pueden proporcionar diferentes tensiones superficiales. Generalmente a una alta tensión superficial de la solución se inhibe el proceso de electrospinning debido a la inestabilidad del flujo, mientras que una baja tensión superficial ayuda a que la inyección de la solución ocurra a un campo eléctrico más bajo, sin embargo no necesariamente una tensión superficial baja del solvente ayuda a que se forme la fibra, básicamente la tensión superficial determina los límites inferior y superior de la ventana del electrospinning si todas las variables se mantienen constantes (Bhardwaj y Kundu, 2010).

### 2.3.1.3 Conductividad de la solución

La conductividad de la solución está determinada principalmente por el tipo de polímero, solvente y la disponibilidad de sales ionizables. Se ha encontrado que con el incremento de la conductividad eléctrica existe una disminución significativa en el diámetro de las fibras mientras que con una baja conductividad de la solución se produce una elongación insuficiente del flujo, provocando la formación de “perlas” (Bhardwaj y Kundu 2010). Se ha reportado que la conductividad juega un papel menos importante, no obstante puede influir en el tamaño de la fibra de 1 a 2 órdenes de magnitud. La disponibilidad de iones cargados en la disolución es un requisito indispensable para hacer electrohilable una disolución, las soluciones con alta conductividad tendrán una mayor capacidad de transporte de carga que las soluciones con baja conductividad, además al incrementar la capacidad de carga del líquido, incrementa el efecto del campo eléctrico. Así mismo, cuando la conductividad es más alta se obtienen nanofibras de diámetro más pequeño (Sill y von Recum, 2008).

Debido a que el electrospinning implica el estiramiento de la solución causado por la repulsión de las cargas sobre su superficie, si la solución no se encuentra completamente estirada se formaran “perlas” a lo largo de la fibra. Es posible añadir electrolitos a una disolución para hacerla más conductora y, por ende, más electrohilable produciendo fibras lisas y largas, además de que las fibras tendrán un diámetro más pequeño. Cuando la solución es preparada usando solventes de mayor conductividad también se producen fibras sin defectos (Bhardwaj y Kundu, 2010).

### 2.3.1.4 Efecto dieléctrico del solvente

La constante dieléctrica de un solvente tiene un efecto significativo sobre el electrospinning. Generalmente, una solución con una propiedad dieléctrica más grande reduce la formación de “perlas” y así como el diámetro de las fibras. La inestabilidad del flujo del electrospinning también incrementa cuando la constante dieléctrica es más alta, esto hace que haya una reducción en el diámetro de la fibra. Si el solvente tiene una constante dieléctrica más alta mejora la electrospinnibilidad de la solución y la interacción entre las mezclas tal como la solubilidad del polímero tendría un impacto sobre la morfología de las fibras resultantes (Ramakrishna *et al.* 2005).



Deitzel *et al.* (2001) evaluaron los efectos sobre la morfología de las fibras formadas que a su consideración son los dos parámetros más importantes del procesamiento, el voltaje y la concentración de la solución, ellos encontraron que el voltaje aplicado está fuertemente correlacionado con la formación de los defectos de las fibras mientras que la concentración de la solución tiene un efecto importante sobre el tamaño de la fibra debido a que con el incremento de la concentración de la solución incrementa el diámetro de fibra de acuerdo con la relación de la ley de la potencia. Además, han encontrado que las soluciones con altas concentraciones se produce una distribución binomial del tamaño de las fibras, por otra parte encontraron evidencia que los efectos electrostáticos influyen en la morfología de las fibras y puede producirse estructuras heterogéneas o tridimensionales.

### **2.3.2 Parámetros de procesamiento y su efecto sobre la morfología de las fibras**

#### **2.3.2.1 Voltaje**

El voltaje es un parámetro crucial para el electrospinning debido a que induce las cargas necesarias a la solución y junto con el campo eléctrico se produzca una fuerza electrostática para que sobrepase la tensión superficial y de inicio el proceso de electrospinning (Bhardwaj y Kundu, 2010). La fuerza del voltaje aplicado controla la formación de fibras de varias micras de diámetro a decenas de nanómetros, la intensidad de campo subóptimo podría provocar defectos en las fibras hiladas o incluso el fracaso de la formación del flujo de la solución (Sill y von Recum, 2008). Al aplicar el voltaje la solución que se concentra en la punta de la aguja, desciende y se distorsiona formando el cono de Taylor. A mayor alto voltaje y dependiendo de la velocidad de inyección hace que el cono de Taylor sea más estable, consecuentemente las fuerzas Coulombicas provocarán que la solución se alargue (Bhardwaj y Kundu, 2010).

La morfología de las fibras también se ve influenciada por el voltaje aplicado y el campo eléctrico; cuando se aplica un voltaje bajo se producirá un mayor estiramiento de la solución debido a las fuerzas Coulombicas en el flujo y a su vez se producirá un campo eléctrico más fuerte y como consecuencia se producirán fibras de menor diámetro y la evaporación del solvente será más rápido. Otro efecto que puede surgir es que cuando una solución de baja viscosidad se le aplica un voltaje alto puede favorecer la formación de un

flujo secundario durante el electrospinning produciendo fibras de menor diámetro. El tiempo de trayectoria del flujo es otro factor que tiene influencia en el diámetro de la fibra, a mayor trayectoria permite que la fibra se alargue y se alongue antes de que llegue al colector por lo que a más bajo voltaje la aceleración del jet se reduce y el campo eléctrico es más débil incrementando el tiempo de trayectoria del jet favoreciendo la formación de fibras finas. (Bhardwaj y Kundu 2010; Subbiah, *et al.* 2004).

#### 2.3.2.2 *Velocidad de inyección*

La velocidad de inyección determina la cantidad de solución disponible para el proceso, así que para un determinado voltaje habrá una velocidad de inyección de tal forma que el cono de Taylor se mantenga estable. Al aumentar la velocidad de inyección sufre un aumento el diámetro de la fibra debido a que se encuentra disponible mayor volumen de solución, y a su vez el solvente no tiene tiempo para evaporarse pudiendo provocar que las fibras se fundan cuando llegan al colector, por lo tanto es deseable una baja velocidad de inyección para que el solvente tenga suficiente tiempo para evaporarse (Bhardwaj y Kundu 2010; Ramakrishna *et al.* 2005; Sill y von Recum, 2008).

#### 2.3.2.3 *Distancia entre la punta de la aguja y el colector*

La estructura y la morfología de las fibras también se ve afectada por la distancia entre el capilar y el colector debido a su dependencia por el tiempo de deposición, tasa de evaporación y la fuerza del campo eléctrico (Subbiah *et al.* 2004). Este parámetro se ha examinado como otro enfoque para controlar los diámetros de las fibras y se ha reportado que se requiere una distancia mínima para dar a las fibras tiempo suficiente para secarse antes de llegar al colector, sin embargo, también se ha reportado que dependiendo de las propiedades de la solución, el efecto de la variación de la distancia de inyección puede o no tener efecto significativo sobre la morfología de la fibra. En algunos casos, cambiando la distancia no tienen efecto significativo sobre el diámetro de la fibra, no obstante cuando la distancia es demasiado baja se forman “perlas”, disminuyendo la distancia tiene el mismo efecto que cuando se incrementa el voltaje causando un aumento en la fuerza del campo eléctrico, si la fuerza del campo es demasiado alto, el incremento de la inestabilidad del flujo puede fomentar la formación de “perlas”. En cambio, si la distancia es tal que la fuerza del campo es de un valor óptimo se forman menos perlas debido a que el campo

electrostático provee suficiente fuerza de estiramiento para el flujo. También incrementando la distancia se obtiene una disminución en promedio del diámetro de la fibra, a una distancia mayor hay una trayectoria más grande para la solución y la solución es estirada antes de que se deposite sobre el colector pero si la distancia es demasiado alta las fibras no son depositadas sobre el colector (Ramakrishna *et al.* 2005; Bhardwaj y Kundu 2010).

#### 2.3.2.4 Diámetro de la aguja de la jeringa

El diámetro interno de la aguja de la jeringa también tiene cierto efecto sobre el proceso de electrospinning, un diámetro interno más pequeño disminuye el diámetro de las fibras y se reduce el atascamiento debido a que se expone menor cantidad de solución en la punta de la aguja, pero si es demasiado pequeño el diámetro no puede ser posible la extrusión de la gota de la solución en el orificio de la aguja. Cuando el tamaño de la gota es disminuido, la tensión superficial de la gota incrementa y cuando se aplica un mismo voltaje se requiere una gran fuerza Coulombica para que el jet inicie y como resultado la aceleración del flujo disminuye permitiendo más tiempo para que la solución sea alargada y elongada antes de que llegue al colector (Bhardwaj y Kundu 2010).

#### 2.3.2.5 Parámetros ambientales

Además de los parámetros de procesamiento y de solución también hay parámetros ambientales que influyen en la formación de la fibra, dentro de los cuales destacan: la humedad y temperatura. Generalmente, el electrospinning se lleva a cabo a temperatura ambiente pero cuando la temperatura ambiental aumenta la conductividad de la solución incrementa, mientras que la viscosidad y la tensión superficial disminuyen. La temperatura de las soluciones para el electrospinning también tiene efectos sobre la morfología de las fibras, por ejemplo a altas temperaturas la viscosidad disminuye por lo que aumenta la movilidad de las moléculas del polímero debido al incremento de temperatura, además las fuerzas Coulombicas pueden ejercer una gran fuerza de estiramiento en la solución resultando una fibra de diámetro más pequeño, sin embargo se ha reportado que a alta temperatura provoca la formación de poros sobre la superficie de la fibra (Ramakrishna *et al.* 2005).

Por otro lado, cuando las soluciones son preparadas con polímeros solubles en agua y solventes miscibles, el vapor de agua aumenta e incrementa la humedad relativa provocando la formación de “perlas”, y en algunos casos las fibras se adhieren entre sí debido al solvente residual. Si el polímero es hidrófobo y se disuelve en un solvente orgánico con alta volatilidad incrementa la humedad relativa y por tanto aumenta el número de nanoporos sobre la superficie de la fibra y en algunos casos el interior de la fibra será altamente porosa (Lin *et al.* 2012).

A pesar de que suele ser laborioso el proceso de obtención de nanofibras, en la actualidad, las nanofibras han cautivado la atención de los investigadores a nivel mundial debido principalmente a sus propiedades mejoradas, necesarias para ser aplicadas en diversas áreas científicas, tal es así que ya han sido reportadas diversas aplicaciones. A continuación se describen algunos ejemplos.

## **2.4 Aplicaciones de las Nanofibras**

### *2.4.1 Aplicaciones biomédicas*

Desde el punto de vista biológico, casi todos los tejidos y órganos humanos se depositan en forma de nanofibras o estructuras fibrosas, por ejemplo los huesos, dentina, colágeno, cartílago y piel, todos ellos se caracterizan por sus estructuras bien organizadas realineadas en escala nanométrica. La investigación en lo referente a nanofibras de polímeros mediante electrospinning se ha enfocado principalmente en la bioingeniería debido a que tiene un gran potencial para ser aplicadas en diversas áreas biomédicas como prótesis médicas, ya que las fibras pueden ser depositada como una película porosa delgada sobre un tejido duro prostético que funciona como una interfase entre la prótesis y los tejidos del huésped, así mismo las fibras también se pueden utilizar para el tratamiento de heridas o quemaduras de la piel humana, con la ayuda del campo eléctrico las fibras de polímeros biodegradables pueden ser pulverizados o hilados directamente sobre la herida de la piel para formar un apósito la cual puede permitir que las heridas se curen mediante el crecimiento normal de la piel y eliminar la formación de tejido cicatrizante que se produce con el tratamiento tradicional (Huang *et al.* 2003). La ingeniería de tejidos también ha prestado gran interés en la elaboración de soportes con biopolímeros sintéticos y/o nanofibras de polímeros biodegradables que puedan imitar la estructura y funciones biológicas de la matriz

extracelular. Su principal reto es la creación de soportes tridimensionales reproducibles y biocompatibles para el crecimiento celular interno para la reparación de tejidos (Huang, *et al.* 2003; Venugopal y Ramakrishna, 2005).

#### 2.4.2 Filtración

La filtración es un proceso muy común en muchos sectores industriales y normalmente se utilizan materiales fibrosos para optimizar su uso. La finura de las fibras juega un papel importante en la eficiencia de la filtración. Las películas producidas a partir de fibras preparadas por electrospinning podrían ser una solución en los casos en que hay que separar micropartículas. De esta forma, se mejoraría la filtración atrapando las partículas más pequeñas en los filtros constituidos por nanofibras (Huang, *et al.* 2003; Venugopal y Ramakrishna, 2005).

#### 2.4.3 Aplicaciones ópticas y eléctricas

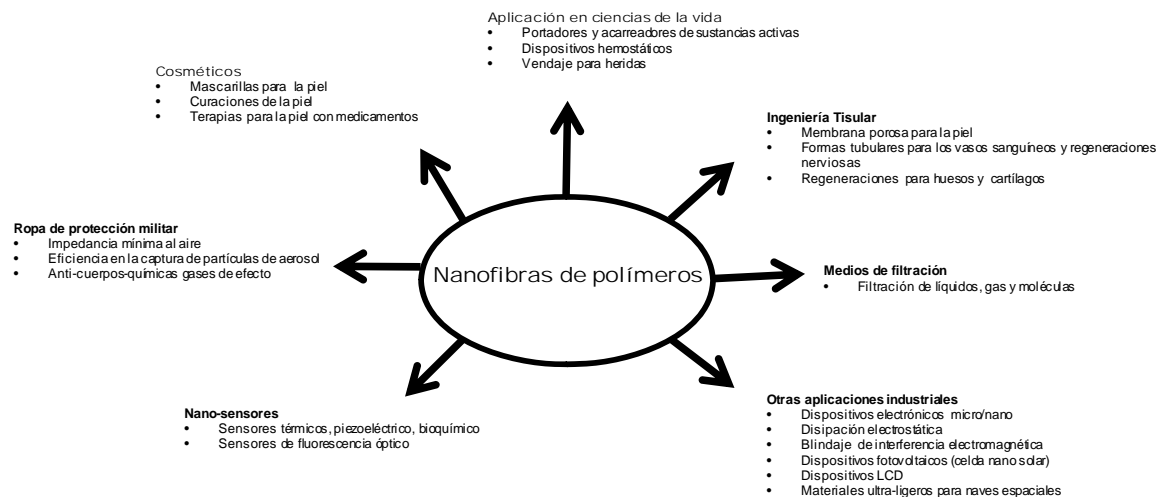
Se ha intentado producir dispositivos electrónicos pequeños y baterías de alto rendimiento con electrodos porosos a partir de nanofibras hechas por electrospinning con polímeros conductores. El principio de estas baterías es que la velocidad de reacción electroquímica es función de la superficie del electrodo. Este tipo de membranas también pueden ser útiles para aplicaciones en las que sea necesaria la disipación electrostática, la protección de la corrosión, el aislamiento electromagnético, etc.

#### 2.4.4 Liberación de fármacos

Un factor muy importante en la medicina ha sido que la liberación de fármacos sea fisiológicamente más aceptable. En general, cuando las dimensiones del fármaco son más pequeñas así como el material de recubrimiento sea más apto para que el fármaco sea absorbido mejor por el cuerpo humano. Es así que la liberación de fármacos con nanofibras se basa en el principio de que la velocidad de disolución de una partícula incrementa con el incremento del área superficial tanto el fármaco como el portador. Se ha reportado que las nanofibras poliméricas electrodepositadas destinadas para composiciones farmacéuticas pueden ser diseñadas para proporcionar una disolución rápida, inmediata, retardada o modificada. Cuando se mezcla el fármaco con el material portador para el electrospinning los probables productos nanoestructurados serán: a) El fármaco como partículas adheridas a la superficie del soporte en forma de fibra, b) El fármaco y el portador forman fibras, así que el producto final será de dos clases de nanofibras entrelazados entre sí, c) La mezcla

del material acarreador y el fármaco integrado en una clase de fibras conteniendo ambos componentes y d) El material electrodepositado es de forma tubular en la que las partículas del fármaco se encapsulan (Huang *et al.* 2003).

En la Figura 2.3 se presenta un esquema de las diferentes aplicaciones que pueden presentar las nanofibras, como se observa el empleo de éstas es muy amplio pero es bien sabido que aún algunas se encuentran en etapa de exploración sobre todo el estudio de la administración de fármacos, todavía no se ha determinado la eficiencia y un modo de liberación después de la producción (Huang *et al.* 2003).



**Figura 2.3** Aplicaciones potenciales de las fibras de polímeros para electrospinning

## 2.5 Nanofibras sintetizadas a partir de polímeros naturales y sintéticos

En la actualidad ya se han reportado diversa publicaciones de nanofibras de polímeros sintéticos y/o naturales obtenidas mediante electrospinning. Jian-Wei *et al.* (2006), realizaron un estudio en la que combinaron alginato de sodio y óxido de polietileno (PEO) evaluaron parámetros de la soluciones como viscosidad, conductividad y tensión superficial así como morfología y propiedades mecánicas. Reportando que el diámetro de la fibra

incrementa con el aumento de la concentración del polímero 46 nm (1%) a 228 nm (3%), producidas a un voltaje de 15 kV, distancia entre la guja y el colector de 20 cm y a una velocidad de flujo de 0.5 mL/h. A concentraciones de 1-2% se observaron la presencia de “perlas”, mientras que a 3% de concentración se obtuvieron fibras lisas. La viscosidad y tensión superficial incremento, y la conductividad disminuyó con la disminución de la concentración de alginato de sodio. El incremento de la viscosidad favoreció la formación de fibras lisas sin protuberancias, mientras que el incremento en la tensión superficial y la disminución de la conductividad mostraron un efecto opuesto.

Mientras que Moon *et al.* (2009), también elaboraron nanofibras de alginato de sodio y oxido de polietileno con el propósito de mejorar la morfología y propiedades mecánicas de las nanofibras donde variaron las concentraciones de 7-10% (p/v) de PEO y del 1-3% (p/v) de alginato de sodio, variando las proporciones de NaAlg/PEO (30:70-70:30). A partir de un voltaje aplicado de 9-10 kV, velocidad de flujo de 0.003-0.006 mL/min y a una distancia entre la aguja y la el colector de 10-12 cm, se obtuvieron nanofibras finas y suaves con diámetros de  $139 \pm 24.1$  a  $190 \pm 18.3$  nm a una concentración de 6-7.2% y una proporción de NaAlg/PEO de 30:70-50:50. Los diámetros de las nanofibras disminuyeron con el incremento de la conductividad en relación a la concentración de alginato de sodio, mejorando también sus propiedades mecánicas.

Por otro lado, Yang *et al.* (2007), elaboraron nanofibras de la combinación de gelatina y acetato de polivinilo (Ge/PVA) mediante la técnica de electrospinnig para el uso potencial de la administración de fármacos, en la que encapsularon un componente aromático de la frambuesa, en la que reportan que al incrementar la proporción de PVA de 0-100% la viscosidad aumenta de 400- 3000 mPa.s, provocando un incremento en el diámetro de la fibra, concordando con Jian-Wei, *et al.* (2006). Además, la adición de PVA ayudo a mejorar las propiedades mecánicas de las nanofibras. La liberación del componente de la frambuesa fue observado durante la primera hora alcanzando una meseta después de las dos horas, concluyendo que la tasa de liberación del componente aromático podría adaptarse por la relación Ge/PVA.

Otro estudio realizado por Wongsasulak *et al.*, (2007) obtuvieron exitosamente nanofibras para aplicaciones médicas de albumina de huevo (EA) y oxido de polietileno (PEO) usando

como solvente ácido fórmico debido a que es un solvente ideal para la producción de fibras de polímeros que contienen grupos amino (proteínas).

Las nanofibras fueron obtenidas a una velocidad de flujo de 1.8 mL/min, con un voltaje de 22 kV y una distancia de la aguja al colector de 15 cm, a una concentración total de polímeros del 5%; obteniendo nanofibras con diámetros de  $188 \pm 21$ ,  $289 \pm 33$ ,  $470 \pm 32$  y  $202 \pm 20$  nm para proporciones de EA:PEO 1:0.1, 1:0.3, 1:0.6 y 0.1, respectivamente. Además, reportan que no hubo diferencias significativas en la morfología de las nanofibras.

En el 2008, Torres-Giner, *et al.*, han estudiado el efecto de las diversas variables del proceso de electrospinnig sobre el diámetro de las nanofibras de zeína utilizando como solvente etanol. Estos autores mencionan que el factor de mayor significancia que influencia en el tamaño de la fibra es la concentración del polímero, debido a que fueron más gruesas con el incremento de la concentración.

A concentraciones de 25 a 40 % de zeína se obtuvieron fibras de diámetros de alrededor de 200nm, mientras que a concentraciones del 5-12% de zeína los diámetros se presentaron diámetros de 100 a 200 nm, respectivamente. El espesor fue más pequeños a una concentración de 25 a 40 % de Zeína, mostrando en promedio diámetros de alrededor de 200nm, mientras que a concentraciones de 5-12% de Zeína los diámetros de las fibras fueron de 100 a 200 nm, respectivamente. Los diámetros de las fibras incrementaron drásticamente cuando se utilizó una concentración mayor de 40% obteniendo diámetros mayores de 1000 nm como consecuencia de la alta viscosidad de la solución. Reportan no tener ninguna influencia la velocidad de inyección sobre el tamaño de las nanofibras ya que permanecieron en promedio con 200 nm de grosor a velocidades de 0.1 a 0.45 mL/h.

En cuanto al efecto de voltaje aplicado (7 a 17 kV) sobre el tamaño de las nanofibras, se incrementa gradual y continuamente conforme se aumentó el voltaje, no observaron variaciones en su morfología excepto que regularmente las nanofibras fueron más gruesas y tubulares. Los cambios observados por la variación de la distancia entre la guja y el colector fue la disminución de los diámetros de las fibras especialmente a valores mayores a 13 cm, debido a que los diámetros disminuyeron drásticamente de 250 nm a 150 nm cuando excedían dicho valor. Además también reportan que bajo condiciones acidas la



viscosidad de la solución aumenta debido a la aglomeración de las proteínas, produciendo fibras en forma de lámina, mientras que en condiciones alcalinas la oligomerización de la proteína previene el proceso.

A partir del estudio realizado por Torres-Giner, *et al.* (2008), Fernandez *et al.* (2009), encapsulan  $\beta$ -caroteno en nanofibras elaboradas a partir de zeína mediante electrospinnig utilizando como solvente agua /etanol. Los estudios de microestructura mostraron morfologías en forma de cintas mezclados con formas cilíndricas, el grosor de la nanofibras de zeína pura estuvieron por debajo del rango de micrómetros aproximándose al nanorango (250-100 nm). Las nanofibras de zeína con  $\beta$ -caroteno fueron más gruesas comparadas con las fibras sin caroteno obtenidas bajo las mismas condiciones (voltaje 12 kV, velocidad de flujo 0.25 mL/h, distancia entre la aguja y el colector de 10 cm), sin embargo se presentaron alteraciones morfológicas inducidas por la presencia de  $\beta$ -caroteno debido a que no se disuelve completamente, parcialmente se dispersa en la solución acuosa zeína/alcohol, posiblemente contribuyendo al engrosamiento de la nanofibra por la aglomeración de la molécula bioactiva. Por otro lado, cuando se expuso el componente encapsulado a la irradiación UV-vis, presentó buena protección contra la oxidación, concluyendo que la técnica de electrospinnig es una técnica capaz de producir micro y nanofibras de biopolímeros que pueden tener un potencial en la industria del procesamiento de alimentos.

Varios autores han reportado que no se obtienen nanofibras mediante electrospinnig con dispersiones de un solo biopolímero, debido a la falta de entanglements, además las dispersiones de biopolímeros en agua y otros solventes fuertemente polares conduce la formación de geles, incluso a bajas concentraciones la cual pueden suprimir la formación de fibras; solo se han reportado de la mezcla de biopolímero-polímero (Wongsasulak, *et al.* 2007).

En el 2009, Moon y Farris, produjeron nanofibras de soluciones de gelatina/agua con y sin adición de alginato de sodio. Las nanofibras de soluciones gelatina/agua mostraron buena morfología con un tamaño promedio de  $291 \pm 67$  nm a una concentración de 18%, mientras que a una concentración del 20% el tamaño de las nanofibras fue de  $414 \pm 52$  nm depositadas con un voltaje de 12 kV, tamaños similares se observaron cuando incorporaron

alginato de sodio, ya que a una concentración de 15 y 18% de gelatina y 0.1, 0.5, 1.0, 2,0% de alginato de sodio, se obtuvieron nanofibras con un diámetro de  $252 \pm 102$  y  $347 \pm 74$  nm respectivamente, además el tamaño promedio de estas nanofibras disminuyó debido al aumento de la fuerza de tracción al incrementar el voltaje (12-15 kV) y por la alta viscosidad de las soluciones producida por el aumento del contenido de alginato de sodio (> 1%).

El interés por la producción de estas fibras va en aumento que como ya se ha mencionado tienen diversas aplicaciones en las áreas de biomedicina, farmacéuticas, cosméticas y en alimentos (Yong, *et al.*, 2009; Sill *et al.* 2008). En el área de alimentos el interés por la producción de nanofibras de polímeros naturales ha incrementado, ya que las nanofibras han sido desarrolladas por la necesidad de contar con materiales de empaque con propiedades mecánicas mejoradas, con la finalidad de proporcionarles estabilidad a aquellos ingredientes alimenticios sensibles a la humedad, oxidación y condiciones extremas que sufren durante su procesamiento, así como para encapsular ingredientes nutraceúticos en biopolímeros que forman matrices funcionales, proporcionándoles estabilidad y permitiendo la liberación del componente activo (Fernandez *et al.* 2009).

En la Tabla 2.1 se muestran otros estudios de la obtención nanofibras sintetizadas a partir de polímeros sintéticos y naturales así como sus aplicaciones.

**Tabla 2.1** Nanofibras sintetizadas a partir de polímeros por la técnica de electrospinning y algunas de sus aplicaciones

<i>Polímero</i>	<i>Aplicaciones</i>	<i>Referencia</i>
Gelatina	Soportes para cicatrización de heridas	Huang <i>et al.</i> (2004)
Colágeno/Quitosano	Biomateriales	Chen <i>et al.</i> (2007)
Celulosa	Membranas de afinidad	Ma <i>et al.</i> (2005)
Ácido hialurónico	Implantes médicos	Um <i>et al.</i> (2004)
Quitosano/PEO	Soportes para ingeniería de tejidos, liberación de fármacos, cicatrización de heridas	Duan <i>et al.</i> (2004)
poliglicolida (PGA)	Soportes para ingeniería de tejidos	Boland <i>et al.</i> (2004)
Poliestireno (PS)	Ingeniería de los tejidos de la piel	Sun <i>et al.</i> (2005)
poli( $\epsilon$ -caprolactona) (PCL)	Ingeniería de tejidos óseos	Yoshimoto <i>et al.</i> (2003)
poliuretano (PU)	Soportes para cicatrización de heridas	Khil <i>et al.</i> (2003)

Sin lugar a dudas, ya se han hecho importantes avances en el uso de nanofibras para aplicaciones biomédicas. Existen más de 50 diferentes polímeros que han formado fibras exitosamente pero la mayoría de ellos se refieren a polímeros sintéticos disueltos en solventes orgánicos tóxicos, los ejemplos de la aplicación del electrospinning en polímeros naturales son escasos aunado a que algunos biopolímeros no son capaces de formar nanofibras por sí solos y se ha tenido la necesidad de combinarlos con polímeros sintéticos que sean biodegradables y biocompatibles (Lu *et al.* 2006). En la actualidad, se está haciendo hincapié en el diseño de biomateriales proactivos, con propiedades funcionales específicas, la investigación científica continúa explorando formulaciones innovadoras y/o la modificación de los materiales ya existentes, por lo que existen nuevos retos y oportunidades.

# CAPÍTULO 3

## *Desarrollo experimental*

### 3. Materiales y Métodos

#### *3.1 Preparación de las soluciones poliméricas*

La proteína aislada de suero de leche (WPI) con 90 % de proteína fue obtenida de Davisco Foods International, Inc. (USA). El óxido de polietileno (PEO, 300 kDa), fue adquirido de Sigma-Aldrich (USA). Como solvente se utilizó agua bidestilada. Se prepararon dispersiones de PEO a una concentración de 9 wt % y de WPI 10 wt % y se dejaron en refrigeración durante 12 h para su completa hidratación. El WPI fue desnaturizado 85 °C por 30 min. Se prepararon mezclas de las dispersiones poliméricas, variando la proporción de PEO y WPI para tener las siguientes concentraciones en peso de polímeros: 100:0, 80:20, 70:30, 60:40, 50:50, 40:60, 30:70, 20:80 y 0:100. Las mezclas fueron mantenidas a temperatura ambiente (20 °C) en agitación constante durante 3 h previo al electrospinning.

### **3.2 Proceso de Electrospinning**

El equipo de electrohilado utilizado se esquematiza en la figura 1. Consiste en una fuente de alto voltaje (Model 210-30P, Bertan Assoc Inc., USA), una bomba de infusión para controlar la tasa de flujo (Model NE-300. New Era Pump Systems, Inc., USA), una jeringa de 5 mL con una aguja de acero inoxidable con un diámetro interno de 0.64 mm (25G) (Terumo Corporation, Philippines) y un conector a tierra. El equipo se colocó en una cámara de acrílico para reducir el efecto de las corrientes de aire sobre la trayectoria del flujo electro-depositado. La solución polimérica fue cargada en la jeringa y en la punta de acero inoxidable se aplicó un voltaje de 19-23 kV. La velocidad de flujo fue de 0.05 mL/h y la distancia de la punta de la aguja al colector de 20 cm. Experimentos preliminares permitieron el establecimiento del flujo y la distancia de la aguja al círculo de 4 cm de diámetro de papel aluminio usado como colector (datos no mostrados). Los experimentos se realizaron a temperatura ambiente (20 °C).

### **3.3 Propiedades de las soluciones**

#### **3.3.1 Viscosidad, Conductividad eléctrica, Tensión superficial y pH.**

La viscosidad de las soluciones fue determinada con un viscosímetro rotatorio digital (Modelo HA DV-II+Pro, Brookfield Engineering Laboratories, Inc. USA). La temperatura de las soluciones fue ajustada a  $25 \pm 2$  °C. La conductividad eléctrica de las dispersiones fue determinada usando un conductímetro digital (Corning, Pinnacle M541, Suiza). La calibración fue realizada con una solución estándar de NaCl (1000  $\mu$ S/cm). El pH fue medido con un potenciómetro (Conductronic, S.A. Mod. pH10, USA). La tensión superficial de las soluciones poliméricas fue determinada por el método del anillo Du Noüy usando un tensiómetro semiautomático (Modelo SurfaceTensiomat 21, Fisher Scientific, Canadá). El diámetro del anillo de Platino-Iridium fue de 1.9 cm y una circunferencia media de 5.90 cm. Se utilizaron 50 mL de cada solución y se colocaron en un contenedor de vidrio. El anillo Du Noüy se sumergió en la solución abajo del menisco y entonces se retiró de la solución con un esfuerzo vertical. La tensión superficial (mN/m) fue registrada como la fuerza máxima antes de que el anillo atravesase el menisco de la solución (Wongsasulak, *et al.*, 2010). Para todas las propiedades medidas las soluciones fueron

ajustadas a una temperatura de temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  y los resultados son el promedio de tres mediciones.

### **3.4. Técnicas de caracterización**

#### ***3.4.1 Microscopia Electrónica de Barrido (MEB)***

La morfología de las nanofibras fue observada en un microscopio electrónico de barrido (SEM) (JEOL JSM-6390LV. Akishima, Japón). El colector de aluminio con fibras depositadas fue adherido al porta muestra con cinta carbón doble adhesiva y fue cubierto con Au/Pd durante 2 min en un evaporador Desk IV CTC Parker Modelo Standard (Denton Vacuum LLC. NJ EUA). La distribución de diámetros de las fibras fue determinado por análisis de imágenes (Scandium, Universal SEM Imagingplatform, Image, JEOL, EUA) a partir de 100 fibras/muestra.

#### ***3.4.2 Propiedades mecánicas de las fibras***

El comportamiento mecánico de las fibras se determinó con un texturómetro TA.XT plus (TextureAnalyser, Stable Microsystems, UK) provisto de unas pinzas de tensión (Stable Micro Systems, UK) de acuerdo con el protocolo de la norma ISO-527. Se tomaron muestras rectangulares (20 x 20 mm). Se determinó el esfuerzo tensil a la ruptura y la elongación a la ruptura; la prueba se corrió a una velocidad de 1 mm/min. Los resultados fueron obtenidos del promedio de tres repeticiones y analizados para sus diferencias estadísticas por análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de rangos múltiples de Tukey, por medio del programa Minitab 16 (MinitabStatistical Software Inc. EUA). Un valor de  $p < 0.05$  fue considerado significativamente diferente. Los datos se expresaron como la media  $\pm$  SD.

#### ***3.4.3 Análisis termogravimétrico (TG)***

Se determinó el cambio de peso de las fibras en función de la temperatura usando un analizador termogravimétrico (TGAQ 5000, TA Instrument, Inc. USA). Las muestras se colocaron en la balanza del sistema (0.5-1 $\mu\text{g}$ ) y calentadas de 25 a 700 $^\circ\text{C}$  en porta muestra de platino (platinum-HT) a una velocidad de calentamiento de 7  $^\circ\text{C}/\text{min}$  con una atmósfera

de nitrógeno con una velocidad de flujo de 50 mL/min. Las determinaciones se hicieron por triplicado.

#### ***3.4.5 Espectroscopia infrarroja por transformadas de Fourier (FTIR)***

Para determinar la composición y las posibles interacciones de los componentes de las fibras, se registraron los espectros infra-rojo de las fibras, usando un espectrofotómetro (FT-IR, Modelo SpectrumOne, Perkin Elmer, USA) operado a una longitud de onda de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ . Las muestras fueron prensadas en pellets de KBr. Cada medición fue un promedio de 16 scans.

#### ***3.4.6 Difracción de Rayos X (XRD)***

La estructura cristalina de las muestras se determinó utilizando un difractómetro de rayos-X (BRUCKER D8, Alemania). Los difractogramas se adquirieron en el rango de  $10^\circ$  a  $60^\circ$  en  $2\theta$  con un paso de  $0.02^\circ$ .

# CAPÍTULO 4

## *Resultados y discusión*

### *4.1 Influencia de la variación de parámetros en la microestructura de nanofibras obtenidas de la combinación de pectina de bajo metoxilo, WPI y PEO*

Las nanofibras obtenidas a partir de polisacáridos y proteínas han mostrado tener gran potencial en muchas aplicaciones biomédicas. Atendiendo a algunos de los parámetros importantes en la elaboración de nanofibras, en esta parte del trabajo se estudió la influencia de la variación del alto voltaje, de la distancia entre la punta de la aguja y el colector así de como diferentes proporciones de mezclas de proteína aislada de suero de leche y pectina de bajo metoxilo, adicionadas con diversas cantidades de óxido de polietileno sobre la morfología y características microestructurales de las nanofibras obtenidas.

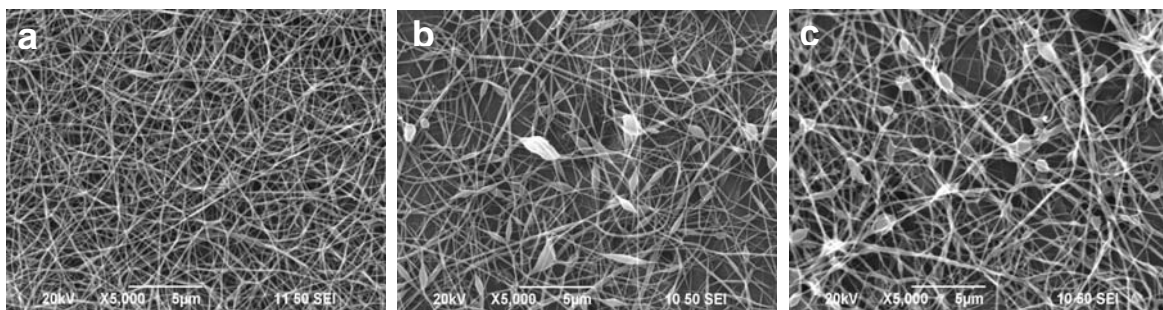
En la tabla 4.1 se muestran los valores de viscosidad y conductividad de las soluciones en estudio, observando que la mezcla 4 fue la solución que presentó mayor valor de viscosidad (11000 cps) y de conductividad (627 $\mu$ s/cm) mientras que para la mezcla 1, 2 y 3 mostraron menores valores de estos parámetros. La solución de PEO al 5% tuvo una viscosidad de 2500 cps y una conductividad de 85 $\mu$ s/cm.



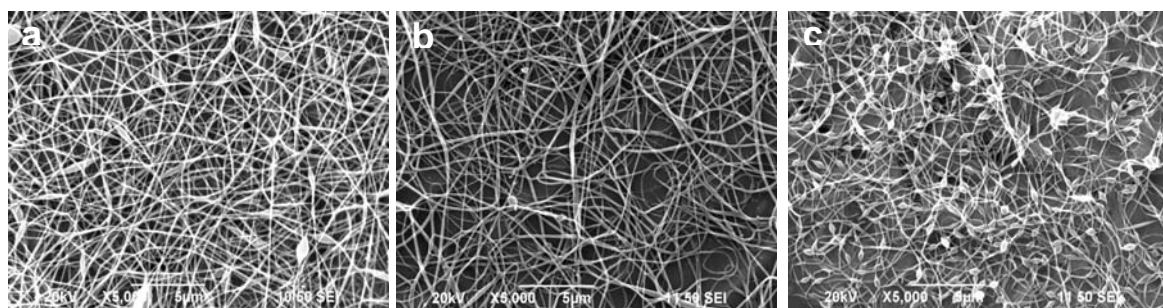
**Tabla 4.1.** Propiedades de las mezclas PEO: (LMP/WPI) y PEO.

Mezcla	Proporciones	Viscosidad (cps)	Conductividad ( $\mu\text{s/cm}$ )
1	PEO <sub>80</sub> (LMP <sub>80</sub> WPI <sub>20</sub> ) <sub>20</sub>	4250	372
2	PEO <sub>70</sub> (LMP <sub>70</sub> WPI <sub>30</sub> ) <sub>30</sub>	4500	442
3	PEO <sub>60</sub> (LMP <sub>60</sub> WPI <sub>40</sub> ) <sub>40</sub>	3666	468
4	PEO <sub>50</sub> (LMP <sub>50</sub> WPI <sub>50</sub> ) <sub>50</sub>	11000	627
5	PEO <sub>100</sub> WPI <sub>0</sub>	2500	85

En la figura 4.1 se observan las nanofibras obtenidas a partir de las mezclas de PEO y LMP-WPI así como de PEO solo, procesadas a una distancia entre la punta de la aguja y el colector de 12 cm. De la mezcla 1 se obtuvieron nanofibras y largas mientras que en la mezcla 3 y con PEO solo al 5% se pueden apreciar gotas o perlas a lo largo de las fibras.



**Figura 4.1.** Micrografías de fibras de (a) PEO<sub>80</sub>(LMP<sub>80</sub>WPI<sub>20</sub>)<sub>20</sub>, (b) PEO<sub>60</sub>(LMP<sub>60</sub>WPI<sub>40</sub>)<sub>40</sub> y (c) PEO al 5% a una distancia entre la punta de la aguja y el colector de 12 cm.

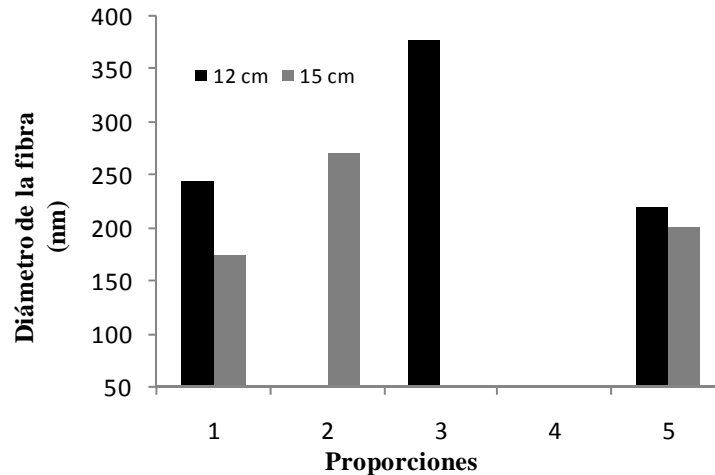


**Figura 4.2.** Micrografías de fibras de (a) PEO<sub>80</sub>(LMP<sub>80</sub>WPI<sub>20</sub>)<sub>20</sub>, (b) PEO<sub>70</sub>(LMP<sub>70</sub>WPI<sub>30</sub>)<sub>30</sub> y (c) PEO al 5% a una distancia entre la punta de la aguja y el colector de 15 cm.

En la figura 4.2 se pueden apreciar las microestructuras de las soluciones inyectadas a una distancia de 15 cm, se puede observar que no hubo diferencias notables en la morfología de las fibras a 12 y 15 cm de distancia entre la aguja y el colector de las mezcla 1 pero si se

notan cambios en cuanto al diámetro de la fibra ya que hubo un ligero aumento en el diámetro de la fibra; a una distancia de 12 cm las fibras tienen diámetros en un rango de 58 a 243 nm mientras que a 15 cm de inyección que tuvieron diámetros de 50 a 173 nm (figura 3). En la mezcla 3 (figura 4.1b) inyectada a una distancia de 12 cm se obtuvieron fibras con diámetros que van de 60 a 376 nm además de que se observan gotas a lo largo de las fibras; en la mezcla 2 (figura 4.2b) a 15 cm, las fibras tuvieron un diámetro en un rango de 60 a 270 nm. Por otro lado, en las fibras obtenidas con PEO al 5% (figura 4.1c y figura 4.2c) se observa que a una distancia de 12 cm las fibras son largas y rugosas mientras que a 15 cm las fibras son más lisas sin embargo, en ambos casos se presentaron gotas, teniendo diámetros de 29 a 219 nm y 40 a 200 nm, respectivamente (figura 4.3). Se pudiera pensar que la presencia de gotas a lo largo de la fibra también se debe al efecto de la conductividad de la solución ya que se ha encontrado que con el incremento de la conductividad hay una disminución significativa en el diámetro de las nanofibras mientras que con baja conductividad se presenta una elongación insuficiente del flujo produciendo gotas en las fibras. Se ha reportado la obtención de nanofibras de la combinación de alginato de sodio y PEO con una conductividad de 690, 1230, 1730 y 2290  $\mu\text{S}/\text{cm}$  (Moon *et al.* 2009). Por otro lado, también se ha informado que la tensión superficial no tiene ninguna relación concluyente con la morfología sin embargo si influye con la estabilidad del flujo (Bhardwaj y Kundu, 2010).

En la mezcla 2 a 12 cm de distancia y en la mezcla 3 a 15 cm de distancia sólo se produjo un electrospinning impidiendo la formación de fibras. De la mezcla 4 a 12 y 15 cm de distancia, no se pudieron formar nanofibras debido a su alta viscosidad, siendo un parámetro que juega un papel importante debido a que se ha encontrado que con baja viscosidad no se forman fibras continuas y con viscosidades muy altas es difícil la expulsión de la solución polimérica por lo que hay que buscar la viscosidad óptima para el electrospinning. Se ha reportado que las viscosidades máximas para el hilado están en el rango de 1 a 215 poise sin embargo todo dependerá del tipo y peso molecular del material.



**Figura 4.3.** Comparación del diámetro de las fibras por el efecto de la distancia de inyección

El elemento crucial en el electrospinning es la aplicación de alto voltaje a la solución debido a que induce las cargas necesarias en la solución y junto con el campo eléctrico externo, da lugar al inicio del proceso de electrospinning. En este caso fueron requeridos 30 kV para que el cono de Taylor fuera estable, pero esto tuvo una influencia en la morfología de las fibras obtenidas ya que a un voltaje alto se produjo un estiramiento más grande de la solución ya que tuvo un efecto en la reducción del diámetro de la fibra como se observa en la figura 4.1a, sin embargo, también puede haber una tendencia a la formación de gotas a lo largo de la fibra (beads) (figuras 4.1b, 4.1c y 4.2c).

A pesar de que ya se ha descrito que en algunos casos, variando la distancia entre la punta de la aguja y el colector no tiene efecto significativo sobre formación y morfología de la fibra, en este caso si se tuvo una influencia en el tiempo de flujo y la fuerza del campo eléctrico, aunado a las propiedades de la solución es por ello que no se formaron fibras de las diferentes mezclas y distancias. Probablemente, la tensión superficial de las soluciones era demasiado alta ya que se inhibió del proceso de electrospinning, como sucedió con la mezcla  $\text{PEO}_{50}(\text{LMP}_{50}\text{PEO}_{50})_{50}$ . Además de que no se logró la formación de una película fibrosa que fuera capaz de desprenderse del sustrato.

Entonces, es fundamental diseñar un proceso controlado de las variables principales en la fabricación de nano y micro fibras de polímeros, optimizando su producción.

# CAPÍTULO 5

## *Influencia de la concentración de PEO/WPI sobre la obtención de nanofibras por electrospinning*

### *5.1 Propiedades de las soluciones y su relación con la formación de fibras*

La viscosidad, conductividad y tensión superficial de las soluciones juegan un papel decisivo en el proceso de electrohilado, estos parámetros definen en buena medida la morfología y tamaño de las fibras (Moon *et al.* 2009). En la figura 4.1 se muestran los valores de estos parámetros observando que la solución de PEO<sub>100</sub>WPI<sub>0</sub> es la de mayor viscosidad ( $9233 \pm 113.7$  cP), disminuyendo conforme aumentó la presencia de WPI en las soluciones, hasta un mínimo de  $76 \pm 1.66$  cP (PEO<sub>0</sub>WPI<sub>100</sub>). Es notable la disminución abrupta de la viscosidad cuando se adicionó 20 % de WPI a la mezcla ( $3233 \pm$

11.5 cP), sugiriendo una respuesta sinérgica probablemente debido a algún tipo de interacción entre el PEO y el WPI, a pesar de que por el pH de la mezcla (8.12) el WPI se encuentra cargado negativamente (Tabla 5.1). Dado que la solución original de WPI fue sometida a un tratamiento térmico de desnaturalización, se produjo el desdoblamiento de la proteína exponiendo sus grupos aminoacídicos residuales, lo que favorece la elasticidad del polímero y la formación de fibras por el aumento de la interacción interpolimérica (Vega-Lugo y Lim, 2012).

**Tabla 5.1.** Valores de pH de las diferentes soluciones poliméricas de PEO/WPI

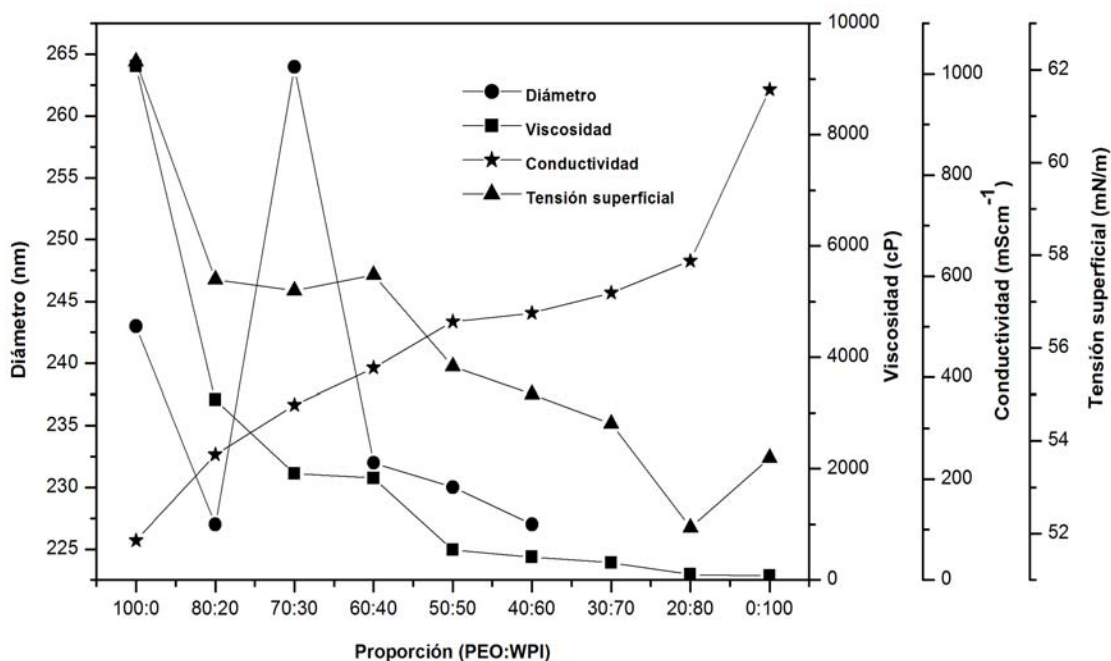
<b>Mezcla</b>	<b>pH</b>
PEO <sub>100</sub> WPI <sub>0</sub>	8.16
PEO <sub>80</sub> WPI <sub>20</sub>	8.12
PEO <sub>70</sub> WPI <sub>30</sub>	7.81
PEO <sub>60</sub> WPI <sub>20</sub>	7.53
PEO <sub>50</sub> WPI <sub>50</sub>	7.52
PEO <sub>40</sub> WPI <sub>60</sub>	7.28
PEO <sub>30</sub> WPI <sub>70</sub>	7.24
PEO <sub>20</sub> WPI <sub>80</sub>	7.16
PEO <sub>0</sub> WPI <sub>100</sub>	7.04

Esto también se reflejó en los valores de conductividad (figura 5.1), pasando de  $78 \pm 0.2 \mu\text{S cm}^{-1}$  para la solución PEO<sub>100</sub>WPI<sub>0</sub> a  $248 \pm 4.2 \mu\text{S cm}^{-1}$  para la mezcla PEO<sub>80</sub>WPI<sub>20</sub>. A partir de esta proporción y hasta la de PEO<sub>50</sub>WPI<sub>50</sub>, la conductividad creció prácticamente linealmente, mientras que la viscosidad disminuyó a  $1913 \pm 41.6 \text{ cP}$  para la mezcla PEO<sub>70</sub>WPI<sub>30</sub>, para mantenerse prácticamente sin cambio en la mezcla PEO<sub>60</sub>WPI<sub>40</sub>. A partir de que se tuvo una proporción equivalente entre los polímeros, PEO<sub>50</sub>WPI<sub>50</sub>, el comportamiento de los cambios en los parámetros medidos, se modificó, esto es, la

---

viscosidad pasó de  $1833 \pm 15.3$  cP a  $541 \pm 2.3$  cP y la conductividad alcanzó  $510 \pm 2.5$   $\mu\text{S cm}^{-1}$ . A mayor proporción de WPI en la mezcla, menor viscosidad, mientras que la conductividad fue incrementándose.

Otro factor importante en el proceso de electrospinning es la tensión superficial, este parámetro que es definido como la cantidad de energía necesaria para disminuir su superficie por unidad de área es una función del solvente (Ramakrishna *et al.* 2005). En el electrospinning, cuando el campo eléctrico alcanza un valor crítico en el que las fuerzas eléctricas repulsivas sobrepasan las fuerzas de la tensión superficial, el jet cargado de la solución es expulsado formando el cono de Taylor (Ziani *et al.* 2001). Se observó que al incrementarse la conductividad se redujo la tensión superficial, así el valor más bajo ( $52.13 \pm 1.24$  mN/m) fue para la solución con  $\text{PEO}_{20}\text{WPI}_{80}$  cuya conductividad fue de  $630 \pm 8.32$   $\mu\text{S cm}^{-1}$  mientras que la solución  $\text{PEO}_{100}\text{WPI}_0$  mostró el valor más alto de tensión superficial ( $62.17 \pm 0.49$  mN/m) y el menor de conductividad (figura 5.2). Cuando el porcentaje de PEO en la mezcla varió entre 80 y 60%, el valor de tensión superficial prácticamente se mantuvo sin cambio ( $57.57 \pm 0.60$  a  $57.23 \pm 0.35$  mN/m), a partir de la mezcla  $\text{PEO}_{50}\text{WPI}_{50}$  y hasta la combinación  $\text{PEO}_{20}\text{WPI}_{80}$  la tensión superficial disminuyó proporcionalmente con el incremento de la proporción de WPI en la mezcla (figura 5.2).



**Figura 5.1.** Viscosidad, conductividad y tensión superficial como función del promedio de diámetro de diámetro de las mezclas de PEO/WPI

La distribución del diámetro de las fibras obtenidas de las soluciones con diferentes combinaciones de PEO y WPI se observan en la figura 5.2. No hay una tendencia en cuanto al diámetro de las fibras obtenidas de las mezclas PEO<sub>100</sub>WPI<sub>0</sub>, PEO<sub>80</sub>WPI<sub>20</sub> y PEO<sub>70</sub>WPI<sub>30</sub> teniendo un promedio de diámetro de  $243 \pm 47.03$ ,  $227 \pm 36.32$  y  $264 \pm 66.11$  nm, respectivamente. Las fibras obtenidas de la mezcla PEO<sub>70</sub>WPI<sub>30</sub> presentaron un promedio de diámetro mayor ( $264 \pm 66.11$  nm), a partir de la combinación PEO<sub>60</sub>WPI<sub>40</sub>, PEO<sub>50</sub>WPI<sub>50</sub> y PEO<sub>40</sub>WPI<sub>60</sub> hubo una disminución lineal del tamaño de diámetro,  $232 \pm 35.29$ ,  $230 \pm 63.10$  y  $227 \pm 67$  nm, respectivamente.

La desnaturalización de la proteína promovió la formación de las fibras debido a los enlaces intra e intermoleculares de los grupos amino, carboxílicos e hidroxilo que

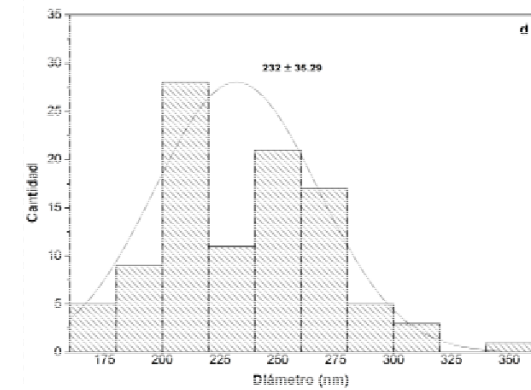
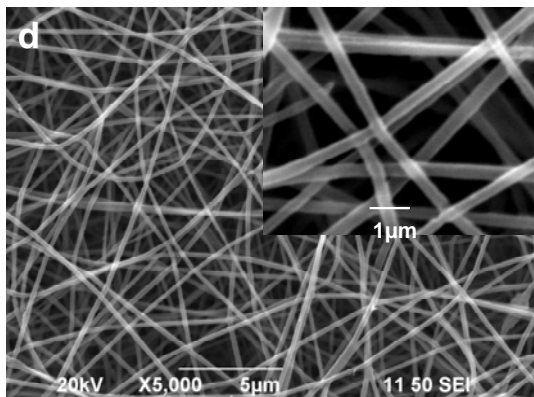
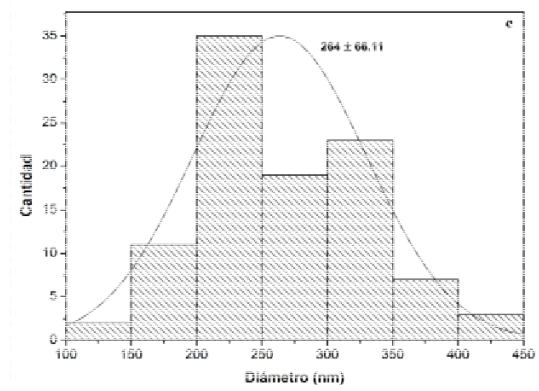
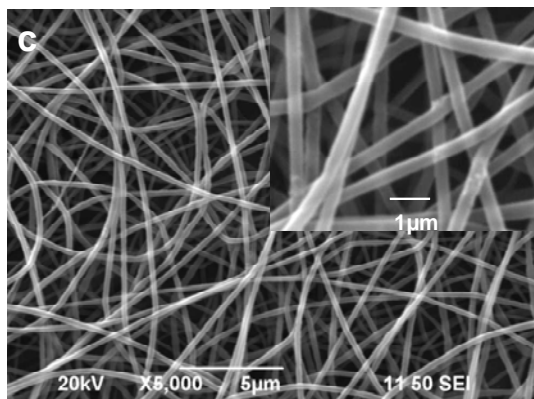
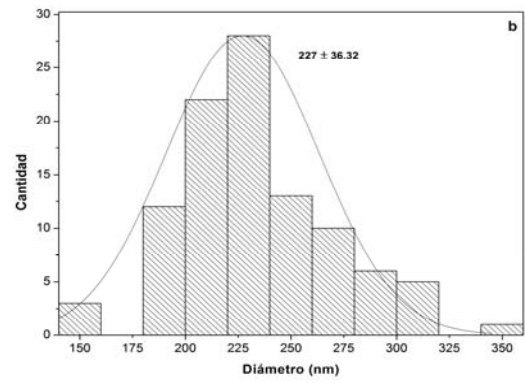
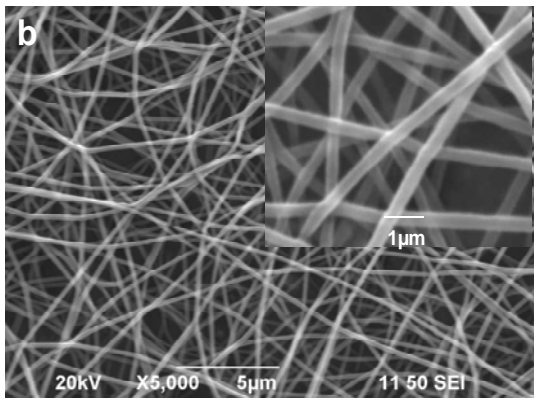
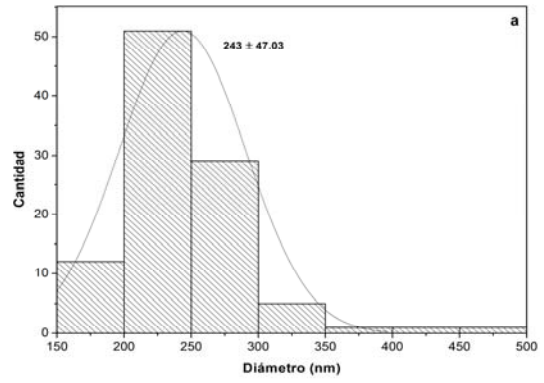
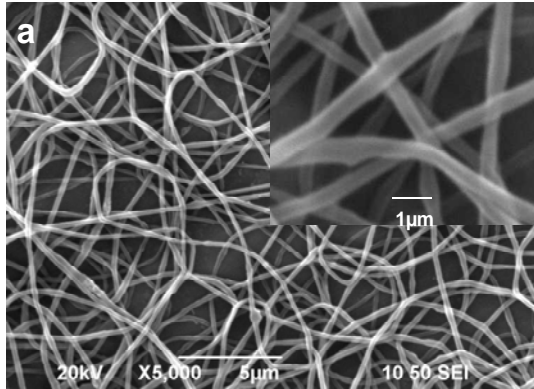
contribuyen a la estructura  $\alpha$ -hélice de la proteína, además de la formación de puentes de hidrógeno con las moléculas de PEO (Liu *et al.* 2010). Al mismo tiempo, se favorece la ionización y por tanto la conductividad aumenta, lo que se ve reflejado en el nivel de elongación del jet durante el proceso de electrospinning; no se produjo un exceso de cargas superficiales en la solución que impidiera el estiramiento de la fibra, al contrario de lo que mencionan Vega-Lugo y Lim, (2012), ya que el PEO es un polímero neutro y las mezclas de PEO y WPI estaban en un ambiente de pH de neutro a ligeramente alcalino (Tabla 5.1).

No obstante, las fibras obtenidas con las soluciones PEO<sub>30</sub>WPI<sub>70</sub> y PEO<sub>20</sub>WPI<sub>80</sub> presentaron defectos en su morfología con un promedio de diámetro de  $648 \pm 121.20$  nm y  $561 \pm 110.18$  nm, respectivamente (figuras 5.2 g y h). Estos defectos pudieron deberse a que la solución no pudo ser completamente estirada durante la electroeyección. No obstante, a pesar de que estas mezclas presentaron valores de conductividad más altos, estos defectos pudieron deberse a la baja viscosidad de sus dispersiones (311 y 102 cP) ya que también se ha reportado que a baja viscosidad generalmente las interacciones entre las cadenas de los polímeros se reducen, incrementando la probabilidad de que se formen “perlas”.

Existe controversia al respecto de la viscosidad necesaria para la formación de fibras. Doshi y Reneker (1995), elaboraron fibras de PEO con un peso molecular de 1,450,000 gramos/mol utilizando como disolvente agua a diferentes concentraciones; observaron que las soluciones con una viscosidad menor a 800 cP, formaban beads, mientras que con viscosidades mayores a 4000 cP no era posible lograr la electroeyección. Fong *et al.* (1999) también estudiaron soluciones de PEO a diferentes viscosidades, reportando que el



rango de viscosidades entre 100 y 20000 cP es adecuado para la formación de fibras uniformes por electrohilado. Otros investigadores han reportado que los valores máximos de viscosidad, para el proceso de electrohilado, se encuentran en un rango de 100 a 21500 cP (Huang *et al.* 2004), aunque parece haber cierta tendencia que confirma que viscosidades bajas, por ejemplo menores a 100 cP no favorecen la formación de fibras. Tal fue el caso de la dispersión de WPI ( $76 \pm 1.66$  cP), con la que no pudieron formarse fibras. Aunado a ello, se ha reportado la incapacidad de formar fibras de dispersiones de biopolímeros puros, por la falta de “entanglements” debido al bajo peso molecular, además de la propiedad de algunas dispersiones de polímeros naturales en agua de formar geles, lo que impide el flujo de la solución a través de la aguja para la electrodeposición (Wongsasulak *et al.* 2007).



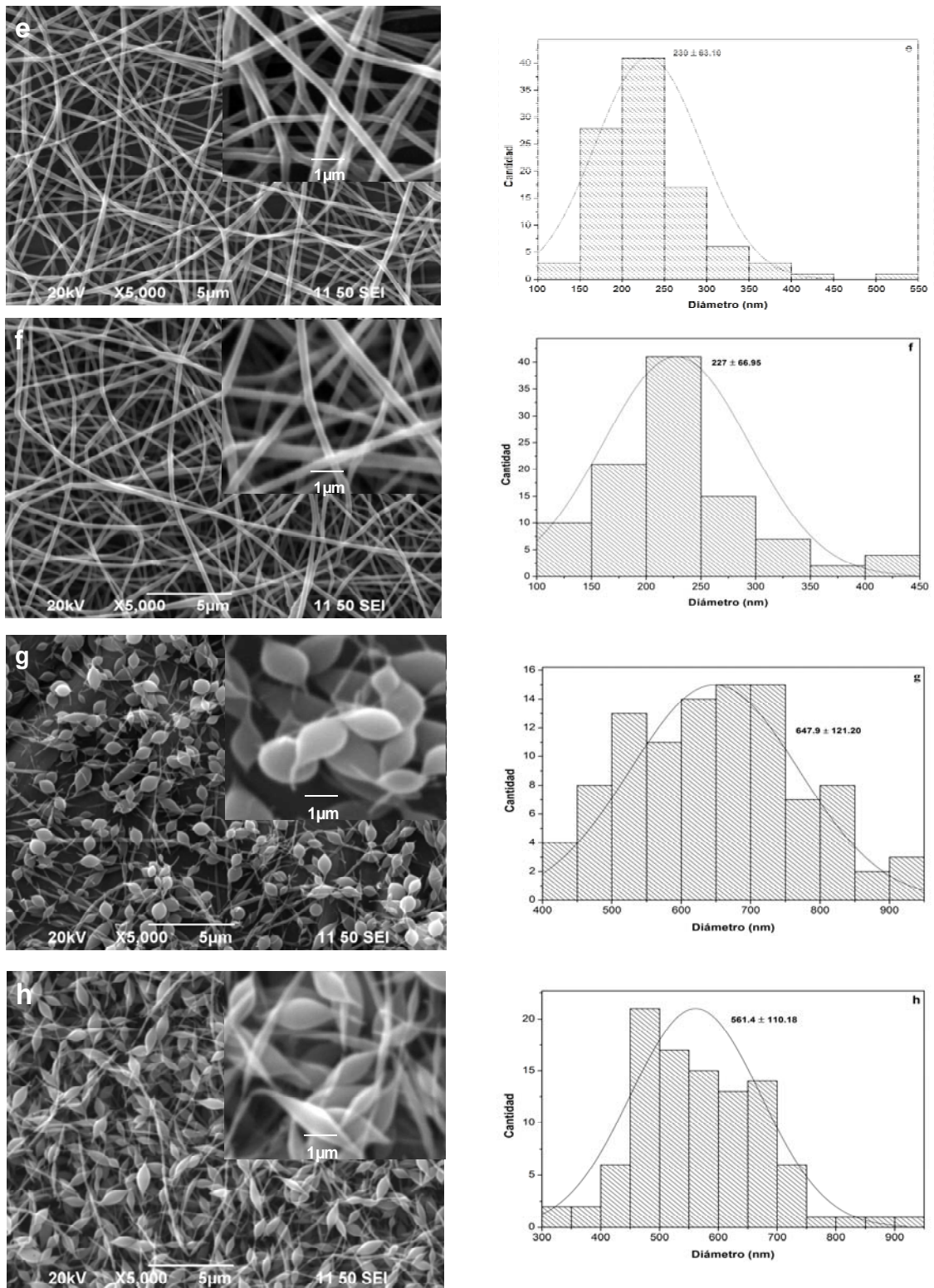


Figura 5.2. Morfología de nanofibras obtenidas de diferentes mezclas de PEO/WPI: a) PEO<sub>100</sub>WPI<sub>0</sub>, b) PEO<sub>80</sub>WPI<sub>20</sub>, c) PEO<sub>70</sub>WPI<sub>30</sub>, d) PEO<sub>60</sub>WPI<sub>40</sub>, e) PEO<sub>50</sub>WPI<sub>50</sub>, f) PEO<sub>40</sub>WPI<sub>60</sub>, g) PEO<sub>30</sub>WPI<sub>70</sub> y h) PEO<sub>20</sub>WPI<sub>80</sub>

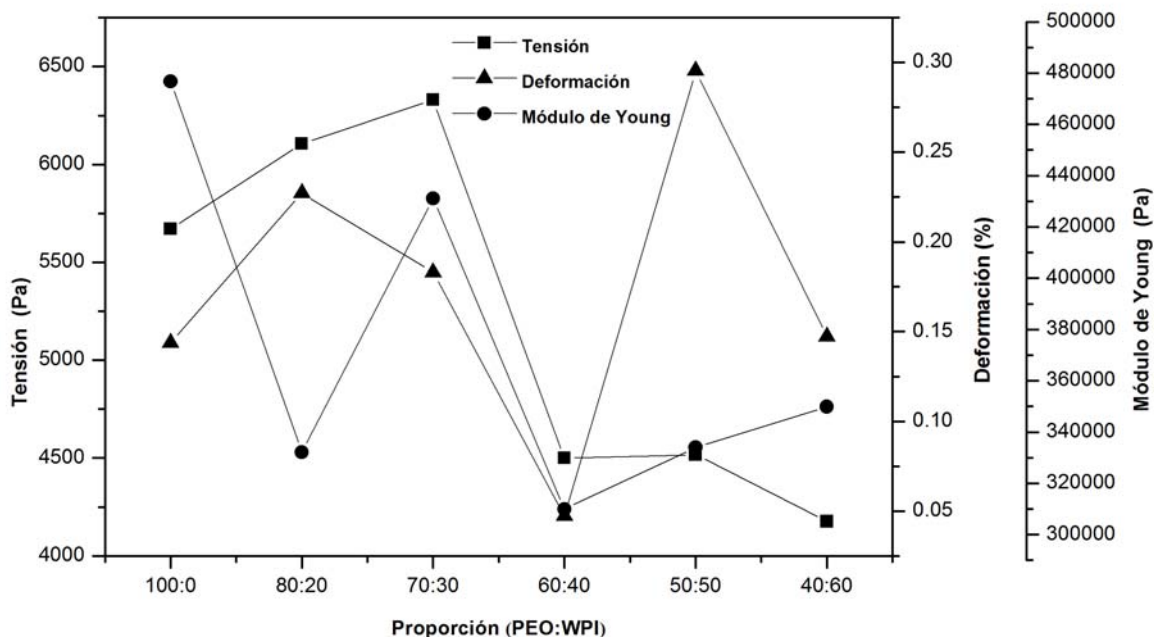
## 5.2. Efecto de las diferentes proporciones de PEO/WPI sobre las propiedades mecánicas

La resistencia a la tracción y la elongación son parámetros muy importantes para el área de desarrollo de materiales en base a micro y nano fibras, sin embargo la interpretación comparativa de estos es generalmente muy difícil cuando no se dispone de forma simultánea de la densidad de fibras, diámetro promedio y distribución de diámetros. En la figura 5.3 se muestran los valores obtenidos de la resistencia a la tracción, la elongación y el módulo de Young para las mezclas PEO/WPI que presentaron buena morfología. Se observa que la resistencia a la tracción es relativamente más alta en fibras ricas en PEO (100, 80 y 70%); a partir de la adición de 40% de WPI esta variable sufre un descenso considerable. Por otro lado, en la elongación de la fibras no se observa una tendencia por las proporciones de los componentes, pero las fibras obtenidas de la mezcla PEO<sub>50</sub>WPI<sub>50</sub> presentaron el valor más alto de elongación (0.2954 ).

En cuanto al módulo de Young, las nanofibras obtenidas de la solución de PEO<sub>100</sub>WPI<sub>0</sub> presentaron el módulo más alto ( $476800 \pm 49500$ ). Al combinar PEO con WPI, la mezcla PEO<sub>70</sub>WPI<sub>30</sub> presentó un módulo de Young y fuerza de tracción más altos ( $431100 \pm 5000$  y  $6330 \pm 1677$  Pa) comparados con las demás mezclas de PEO/WPI, la cual pudiera estar relacionado al promedio de diámetro más alto ( $264 \pm 66.11$  nm) (figuras 5.2 y 5.3). Las fibras obtenidas de las mezclas PEO<sub>70</sub>WPI<sub>30</sub> con PEO<sub>100</sub>WPI<sub>0</sub> fueron estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ), mientras que para la resistencia a la tracción y la elongación no existieron diferencias significativas entre tratamientos. Así que, la adición de un 70% de

PEO mejoró las propiedades mecánicas de las nanofibras, tal vez sea porque existen más entanglements e interacciones más fuertes entre las cadenas de la mezcla de polímeros.

Las propiedades mecánicas de las fibras pueden ser afectadas por varios parámetros tal como composición, interacción entre los componentes y las condiciones de procesamiento (Lu *et al.* 2006), como se observó en las fibras obtenidas con las soluciones PEO<sub>20</sub>WPI<sub>80</sub> y PEO<sub>30</sub>WPI<sub>70</sub> cuyas sus propiedades mecánicas no pudieron determinarse dada su fragilidad al presentar una densidad muy alta de “perlas”. Es posible que al tener una mayor proporción de WPI con un menor peso molecular que el PEO, se debilitaran las interacciones entre los dos componentes. Hay que añadir que una de las condiciones necesarias para que se electrohile una solución polimérica, es que el polímero tenga el suficiente peso molecular, ya que determina la cantidad de interacciones polímero-polímero (Ji *et al.* 2007). Lu *et al.*, (2006) reportaron que las fibras de alginato de sodio/PEO que presentaron “perlas”, tuvieron valores de elongación más altos en comparación con las fibras de morfología uniforme ya que dicha estructura en forma de cadena puede deformarse y estirarse a lo largo de la dirección del esfuerzo presentando una elongación más alta, no obstante, la resistencia a la tracción fue inferior en fibras con “perlas”. Por el contrario, Huang *et al.*, (2004) reportan que las fibras que presentan “perlas” en las fibras reducen considerablemente la fuerza cohesiva de las fibras produciéndose propiedades mecánicas muy pobres.

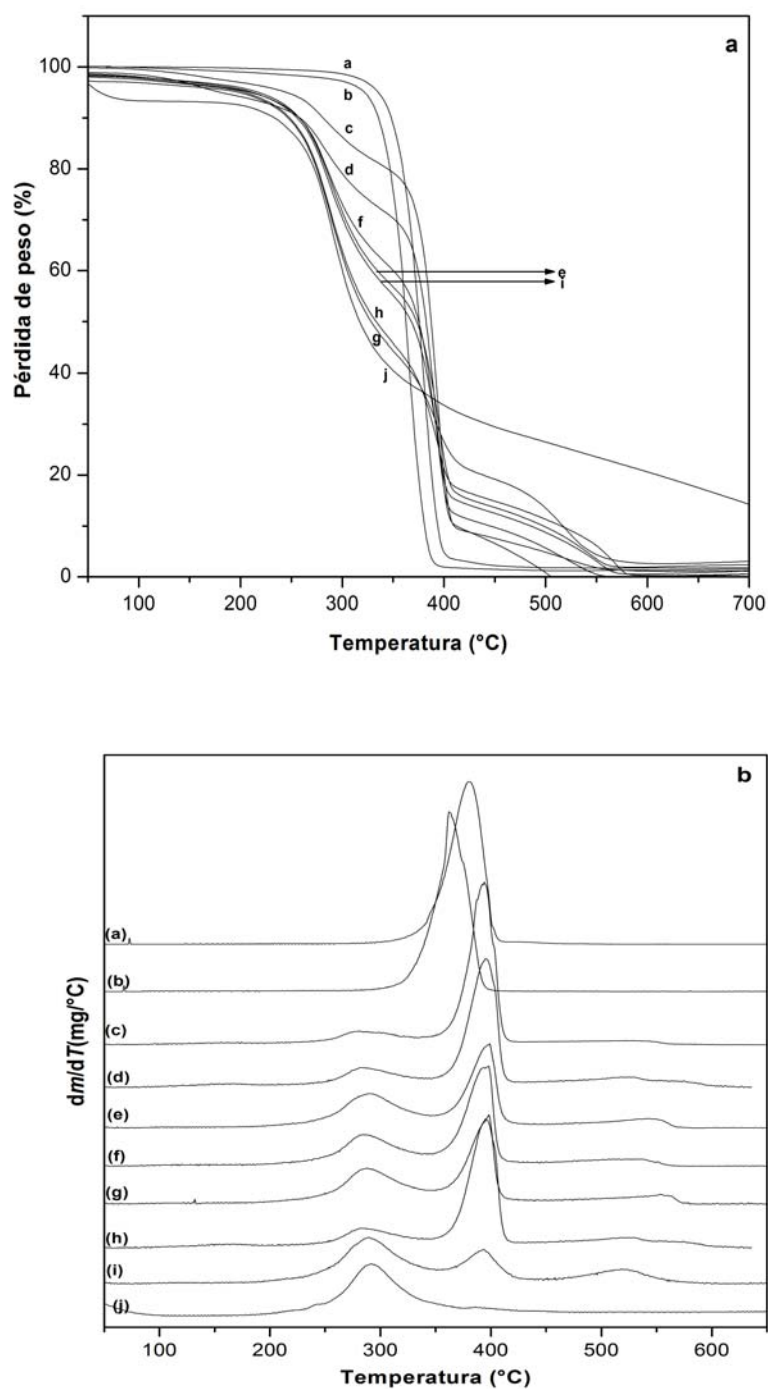


**Figura 5.3.** Propiedades mecánicas de nanofibras como función de la proporción PEO/WPI

### 5.3 Análisis termogravimétrico (TG y DTG)

Las curvas termogravimétricas de pérdida de peso de las nanofibras de las diferentes mezclas de PEO/WPI y de los materiales solos (PEO y WPI) en función de la temperatura, se muestran en la figura 5.4a. Se observa que el PEO puro en polvo se descompone en una sola etapa en un rango de temperaturas de 300 a 406 °C, con una velocidad de descomposición máxima a la temperatura de 380°C y una pérdida de masa de 97 % (Figura 5.4a). En las fibras obtenidas de la solución de PEO<sub>100</sub>WPI<sub>0</sub> se encontró una temperatura máxima de degradación de 362 °C, esto es 18 °C menor que el PEO puro en polvo, presentando una pérdida de masa de 98 %. El WPI empieza con una rápida pérdida de masa inicial de alrededor del 7 %, probablemente asociada a un proceso de deshidratación

de agua fisisorbida y alcanza una temperatura máxima de degradación a los 292 °C, y va en un rango de 250-330 °C con un 68.26 % de pérdida de masa, producto de la descomposición (Figura 5.4 a y b).



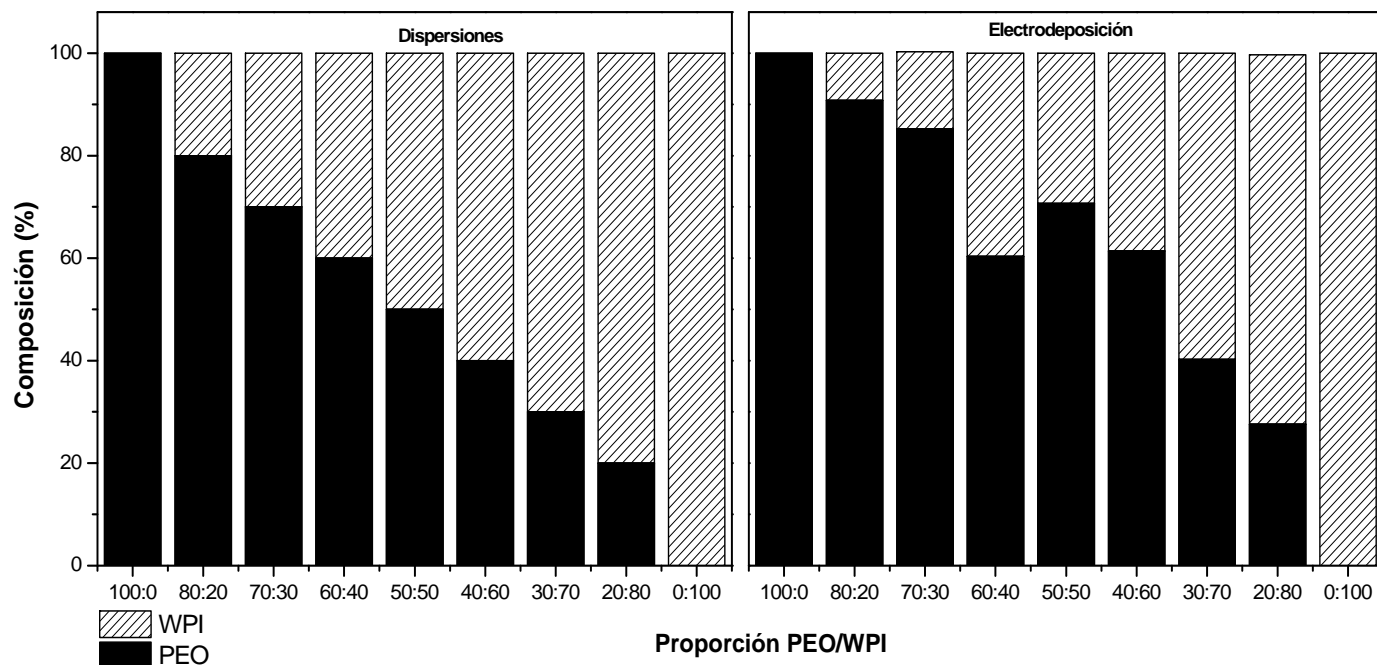
**Figura 5.4.** (a) Análisis termogravimétrico y (b) primera derivada ( $dm/dT$ ) de las nanofibras obtenidas de las diferentes mezclas de PEO/WPI: a) PEO polvo, b) PEO<sub>100</sub>WPI<sub>0</sub>, c) PEO<sub>80</sub>WPI<sub>20</sub>, d) PEO<sub>70</sub>WPI<sub>30</sub>, e) PEO<sub>60</sub>WPI<sub>40</sub>, f) PEO<sub>50</sub>WPI<sub>50</sub>, g) PEO<sub>40</sub>WPI<sub>60</sub>, h) PEO<sub>30</sub>WPI<sub>70</sub> 30, i) PEO<sub>20</sub>WPI<sub>80</sub> y f) WPI polvo.



Las fibras con diferentes proporciones de PEO y WPI, exhibieron dos etapas principales de descomposición, que pueden ser más claramente distinguidas en las curvas de la primera derivada de TGA (Figura 5.4b). Las fibras compuestas mostraron las temperaturas de pérdida de peso características de sus componentes, es decir, de 250 a 330 °C y 350 a 400 °C. Es de notar que la temperatura de descomposición máxima de las fibras al combinarse con PEO/WPI en las diferentes proporciones no corresponden con exactitud a las temperaturas de sus componentes, sino que hay un desfase (Figura 5.4b). Cuando el PEO es mezclado con WPI su pico de temperatura de degradación es más elevado que el de las fibras de PEO<sub>100</sub>WPI<sub>0</sub> o el de PEO puro en polvo. Por su parte, el pico de temperatura máxima de degradación del WPI, cuando se combina con PEO, es menor al de su contraparte sin mezclar. Estas variaciones podrían atribuirse a la proporción en que estos compuestos se encuentran en las fibras y a sus diferentes capacidades de formar puentes de hidrógeno mejorando su estabilidad térmica. Las nanofibras obtenidas de las combinaciones PEO<sub>60</sub>WPI<sub>40</sub> y PEO<sub>50</sub>WPI<sub>50</sub> fueron térmicamente más estables.

En la figura 5.5 se muestra la comparación de las concentraciones de las dispersiones de los biopolímeros y de las concentraciones reales de las fibras electrodepositadas, calculadas mediante la integración del área de los picos por deconvolución de los termogramas diferenciales, observando que existen desviaciones en las concentraciones de PEO y WPI en las fibras. Por ejemplo, las fibras obtenidas con las mezclas PEO<sub>50</sub>WPI<sub>50</sub> contienen  $\approx 20$  % más de PEO y  $\approx 20$  % menos de WPI que las soluciones originales, indicando que el PEO se concentra en la superficie de la nanofibras tal como lo reporta Wonsasulak *et al.* (2007)(ANEXO I). Este comportamiento puede ser resultado del mismo proceso de

electrospinning; en las proximidades del cono de Taylor puede ocurrir pérdida de la homogeneidad en la dispersión como resultado de la redistribución de cargas debido al potencial aplicado al electrodo; aquí debemos recordar que WPI al poseer mayor carga probablemente sea más afectado que PEO durante el proceso de electrospinning.



**Figura 5.5.** Comparación de la composición de las dispersiones y las fibras electrodepositadas obtenidas mediante la deconvolución de las curvas de TGA.

#### *5.4 Análisis de Espectroscopia infrarroja por transformadas de Fourier*

En la figura 5.6 se muestran los espectros de FTIR de fibras electrodepositadas empleando diferentes mezclas de: PEO/WPI, así como PEO y WPI solos. Las principales frecuencias y sus asignaciones en el espectro de PEO y WPI se encuentran enlistadas en la Tabla 5.2. Se observa que la muestra que contiene solo PEO presenta tres bandas características de absorción en 2888, 1099, 960 y 842  $\text{cm}^{-1}$ . La banda a 842  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a la vibración

---

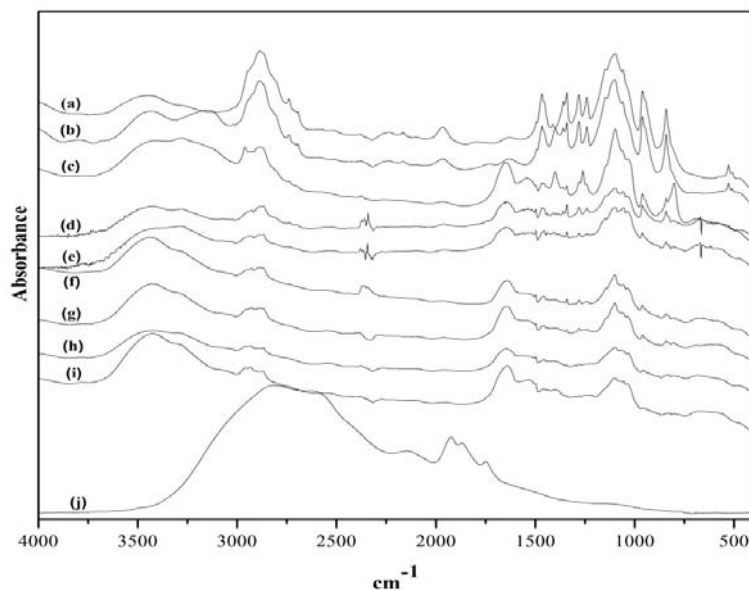
de estiramiento del enlace molecular C-O-C y el de C-C. Las bandas en 960, 1099 y 2888  $\text{cm}^{-1}$  se atribuyen al estiramiento, balanceo y torsión del grupo metileno ( $\text{CH}_2$ ) (Silverstein *et al.* 1991) (Figura 5.6a). El espectro de las fibras de  $\text{PEO}_{100}\text{WPI}_0$  mostró una banda adicional a 3142  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde a grupos OH producto de la interacción con las moléculas del agua (Figura 5.6b).

Por otro lado, en el espectro de WPI puro se observaron picos característicos a 3402, 1650, 1520  $\text{cm}^{-1}$ . El pico de absorción de 3402  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a vibraciones de estiramiento de N-H de aminas primarias, mientras que las absorciones en 1650 y 1520  $\text{cm}^{-1}$  se atribuyen a la vibración de flexión (tijera) del enlace N-H (Figura 4.6j) (Silverstein *et al.* 1991; Barth, 2007). En los espectros de las nanofibras de las diferentes mezclas PEO/WPI predominan las bandas a 3420 y 1650  $\text{cm}^{-1}$  representando al grupo de estiramiento carbonilo ( $-\text{C}=\text{O}$ ) y vibraciones de estiramiento de N-H de los grupos de amino, respectivamente (Su *et al.* 2011) (Figura 5.6c-i).

Llama la atención el hecho de que aún en pequeñas cantidades de PEO en WPI predominan las bandas del primero. Esto parece soportar los resultados de TGA que indican que en la composición real de las fibras predomina el PEO. No se descarta tampoco la idea de que el PEO pueda estar recubriendo al WPI lo cual pudiera disminuir parcialmente la intensidad de las bandas de este último.

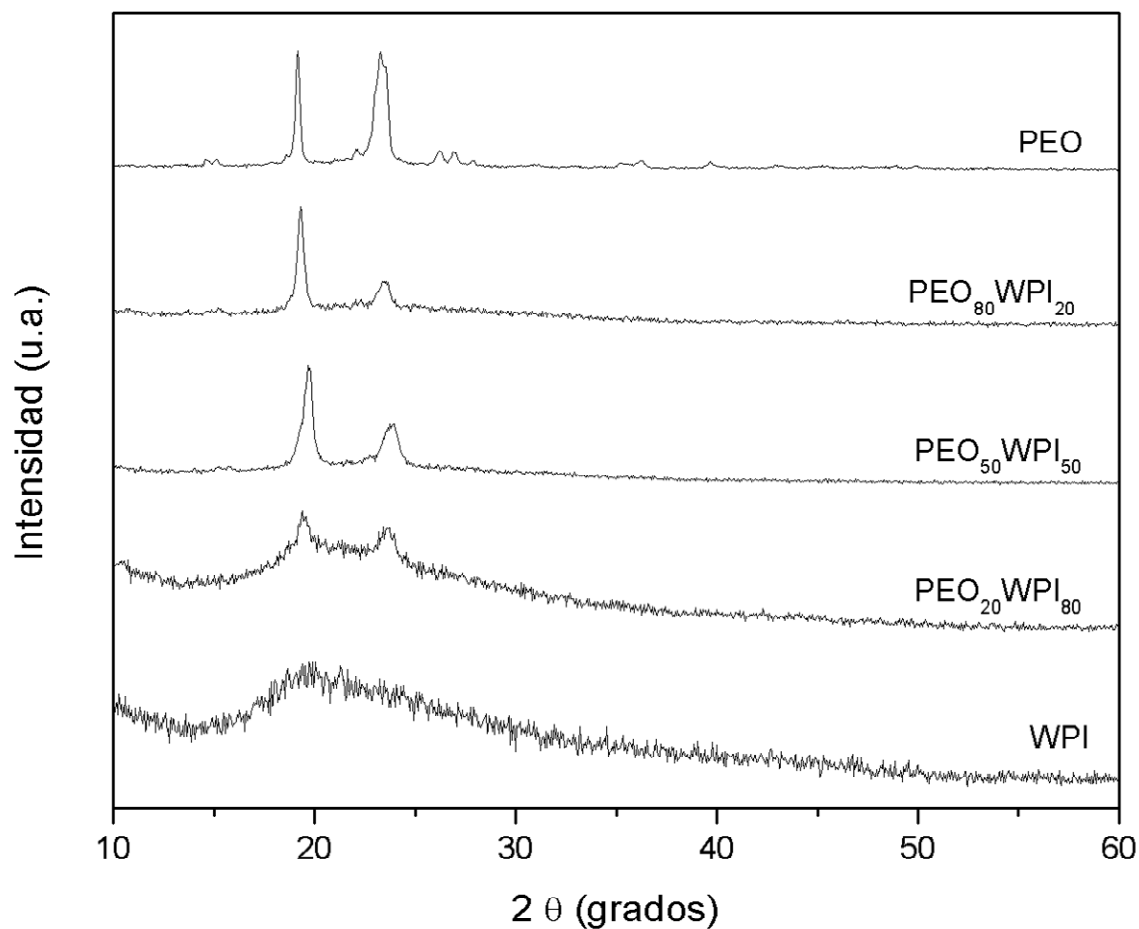
**Tabla 5.2.** Principales Frecuencias de los espectros FTIR de PEO y WPI y sus asignaciones

Frecuencias ( $\text{cm}^{-1}$ )	Asignaciones	
	PEO	WPI
3402		N-H stretching, Amine I
3300, 3070		Amide A and B; NH stretching
2888	CH <sub>2</sub> extensión	N-H tijera
1520, 1650		Amide I; C = O stretching, N-H scissoring
1466	-CH <sub>2</sub> tijera	
1550		Amide II; N-H, C-N, C-O, C-C stretching
1400-1200		Amide III; N-H, C-N, C-O, C-C stretching
1394		C-O-H
1342	-CH <sub>2</sub> wagging	
1241, 1281	-CH <sub>2</sub> twisting	
960, 1099	-CH <sub>2</sub> rocking, -CH <sub>2</sub> twisting	
842	C-O-C stretching, C-C stretching	



**Figura 5.6.** Espectros FTIR de nanofibras obtenidas con diferentes proporciones de PEO/WPI: a) PEO polvo, b) PEO<sub>100</sub>WPI<sub>0</sub>, c) PEO<sub>80</sub>WPI<sub>20</sub>, d) PEO<sub>70</sub>WPI<sub>30</sub>, e) PEO<sub>60</sub>WPI<sub>40</sub>, f) PEO<sub>50</sub>WPI<sub>50</sub>, g) PEO<sub>40</sub>WPI<sub>60</sub>, h) PEO<sub>30</sub>WPI<sub>70</sub>, i) PEO<sub>20</sub>WPI<sub>80</sub> and(j) WPI polvo

### 5.5 Difracción de rayos x



**Figura 5.7.** Difractogramas de rayos x para WPI; nanofibras PEO<sub>20</sub>WPI<sub>80</sub>, PEO<sub>50</sub>WPI<sub>50</sub> y PEO<sub>80</sub>WPI<sub>20</sub> y PEO

La Figura 5.7. Se muestran los difractogramas de rayos X de las nanofibras obtenidas con las soluciones PEO<sub>20</sub>WPI<sub>80</sub>, PEO<sub>50</sub>WPI<sub>50</sub> y PEO<sub>80</sub>WPI<sub>20</sub>; así como los obtenidos a los estándares de WPI y PEO. Se puede notar que el estándar de WPI presenta un espectro característico de una estructura amorfa, mientras que el estándar del PEO presenta picos bien resueltos en el rango de 15° a 30°. En los difractogramas de las nanofibras se pueden

observar picos intensos a  $19.30^\circ$  y  $23.50^\circ$ . El pico situado en  $2\theta=19.30^\circ$  está relacionado con el plano cristalográfico (120); y el pico en  $2\theta=23.50^\circ$  puede corresponder a varios planos: (032), (132), (112), (212), (004) y (124) (Burba *et al.* 2007). Es de hacer notar que a medida que se va incrementando la cantidad de PEO en las nanofibras, va aumentando la cristalinidad; esto se evidencia por el incremento en la intensidad en los picos, así como en la pérdida del halo amorfo correspondiente al WPI.

# CAPÍTULO 6

*Nanofibras obtenidas de la mezcla de PEO/WPI como portadoras de sustancias activas*

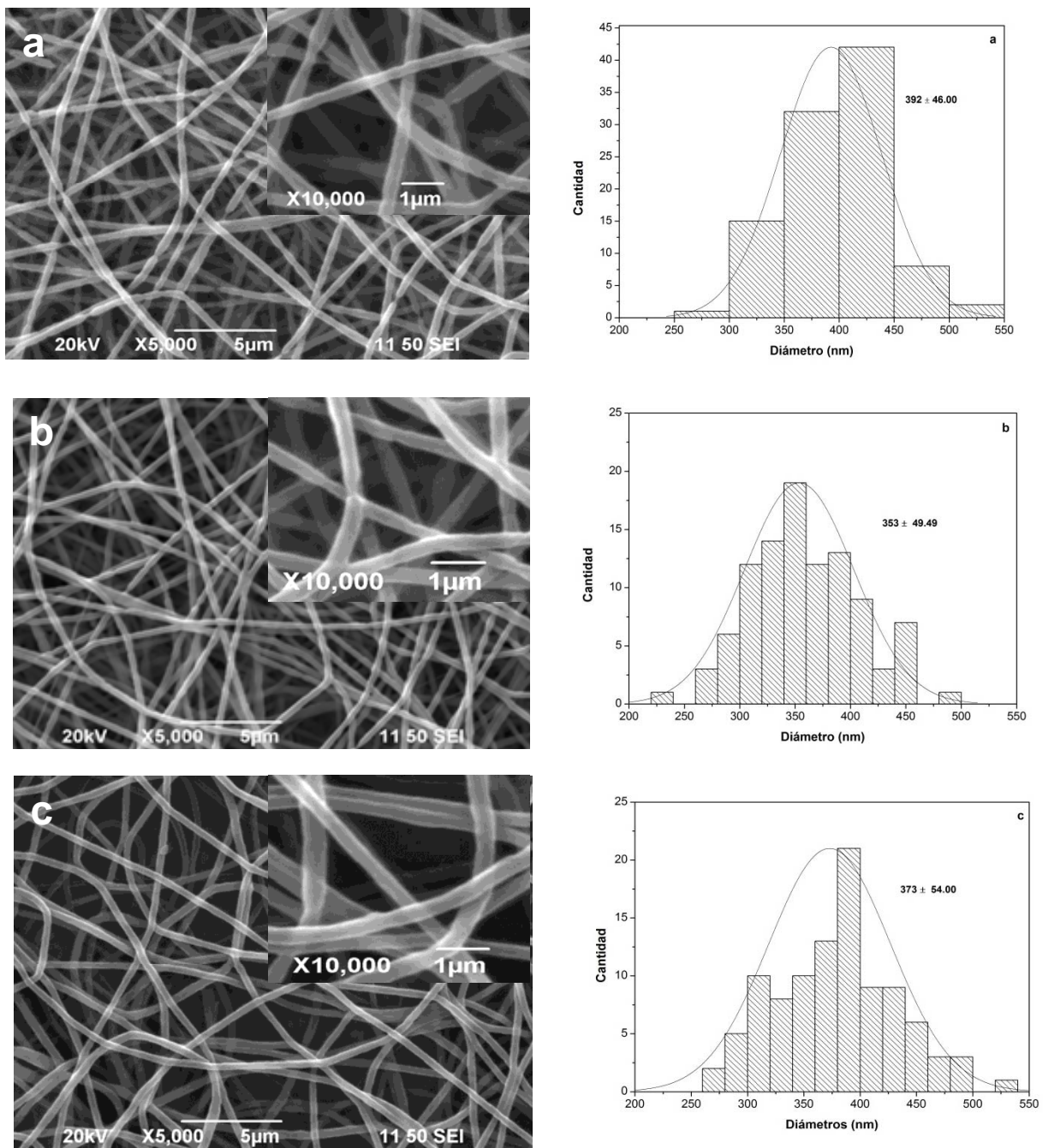
## **6.1. Microestructura de nanofibras con extracto de Romero (*Rosmarinus officinalis*) encapsulado**

**E**n los últimos años las plantas medicinales han adquirido gran importancia en terapias alternativas o complementarias. Las plantas con acción medicinal o funcional tienen la característica común de poseer un elevado contenido en sustancias o principios activos, con propiedades químicas, bioquímicas u organolépticas muy específicas, que permiten su utilización con fines terapéuticos, aromáticos y dietéticos. El extracto de romero (*R. officinalis* L.) es una de las plantas cuyas propiedades cubre estos aspectos y que más investigaciones ha generado dadas sus propiedades químicas y sus posibles aplicaciones medicinales e industriales (Ávila-Sosa *et al.* 2011).

En la planta de romero se han reportado diversos compuestos químicos los cuales han sido agrupados de manera general por diversos autores en ácidos fenólicos, flavonoides, aceite esencial, ácidos triterpénicos y alcoholes triterpénicos. Se ha identificado la presencia de  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, canfeno, ésteres terpénicos como el 1,8-cineol, alcanfor, linalol, verbinol, terpineol, carnosol, rosmanol, isorosmanol, 3-octanona, isobanil-acetato y  $\beta$ -cariofileno; los ácidos vanílico, caféico, clorogénico, rosmarínico, carnósico, ursólico, oleanólico, butilínico, betulínico, betulina,  $\alpha$ -amirina,  $\beta$ -amirina, borneol, y acetato de bornilo (Ávila-Sosa *et al.* 2011). Debido a todas sus características benéficas, se requiere que se proteja de todas aquellas condiciones ambientales extremas, es por ello que se estudiará el comportamiento de encapsulación e interacción con las fibras obtenidas de tres diferentes mezclas de PEO/WPI estudiadas en el capítulo anterior.

En la figura 6.1 se muestra la microestructura de las nanofibras obtenidas a partir de tres diferentes mezclas de PEO/WPI y extracto de romero. Se puede observar que las fibras presentan una superficie lisa y uniforme, no se aprecian defectos ni partículas que pudieran haberse formado por la adición del extracto o como resultado de la separación de fases durante el proceso de electrospinning lo que indica una buena compatibilidad entre los componentes. Sin embargo, las fibras con extracto de romero añadido presentaron un mayor tamaño de diámetro comparados con las fibras obtenidas sin extracto añadido. La fibras obtenidas de la mezcla PEO<sub>40</sub>/WPI<sub>60</sub> presentaron promedios de diámetros de  $392 \pm 46.00$  nm, mientras que para las fibras la mezcla de PEO<sub>50</sub>/WPI<sub>50</sub> fue de  $353 \pm 49.49$  nm y finalmente el tamaño de las fibras de la combinación PEO<sub>60</sub>/WPI<sub>40</sub> fueron de  $373 \pm 54.00$ nm. El incremento en el diámetro de las fibras puede ser atribuido a la adición del extracto de Romero la cual proporciono mayor viscosidad a la solución polimérica.



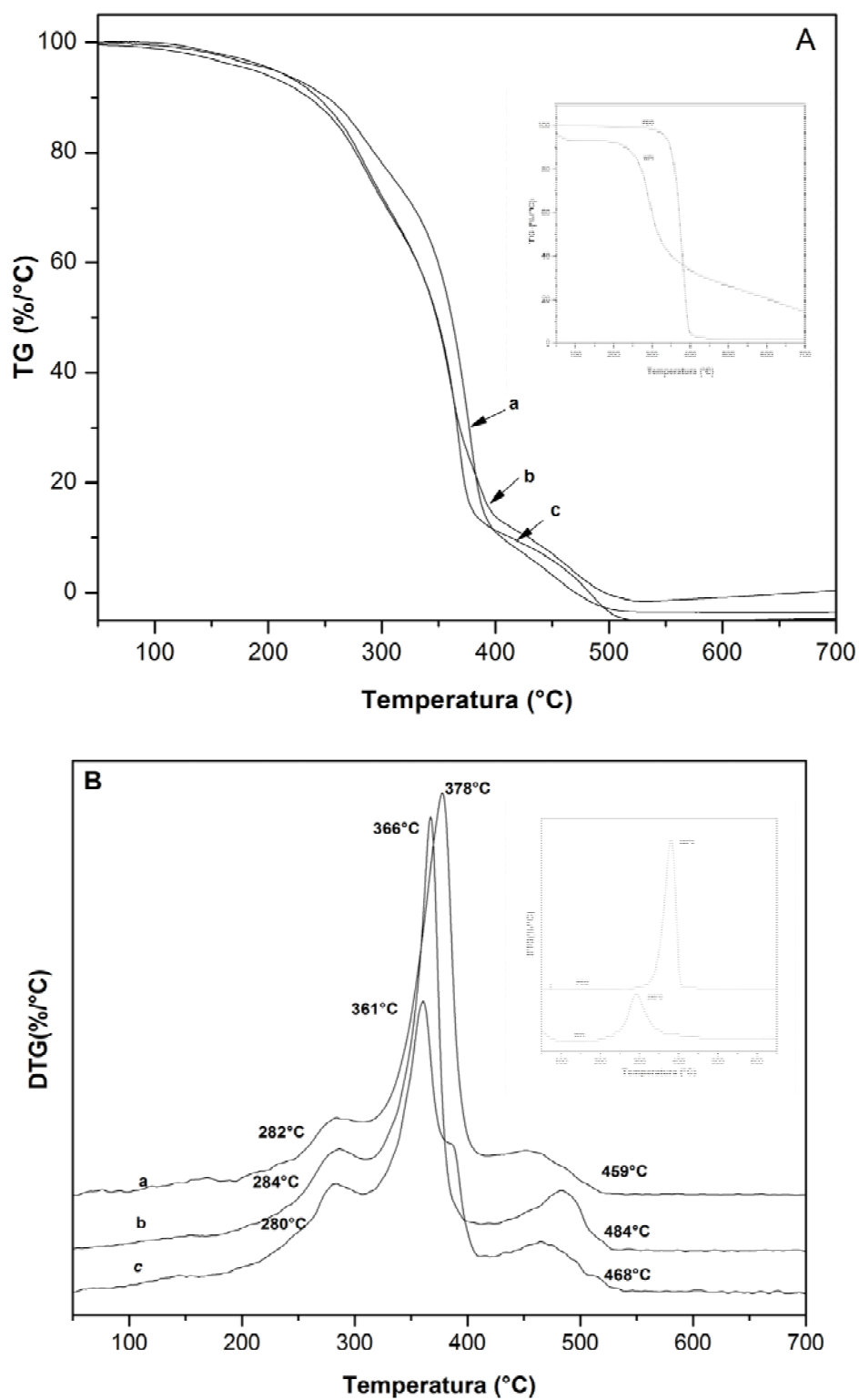


**Figura 6.1.** Microestructura de nanofibras con extracto de romero (*Rosmarinus officinalis*) encapsulado: a) PEO<sub>40</sub>/WPI<sub>60</sub>, b) PEO<sub>50</sub>/WPI<sub>50</sub>, c) PEO<sub>60</sub>/WPI<sub>40</sub>

## 6.2 Estabilidad térmica de fibras de PEO/WPI con extracto de romero

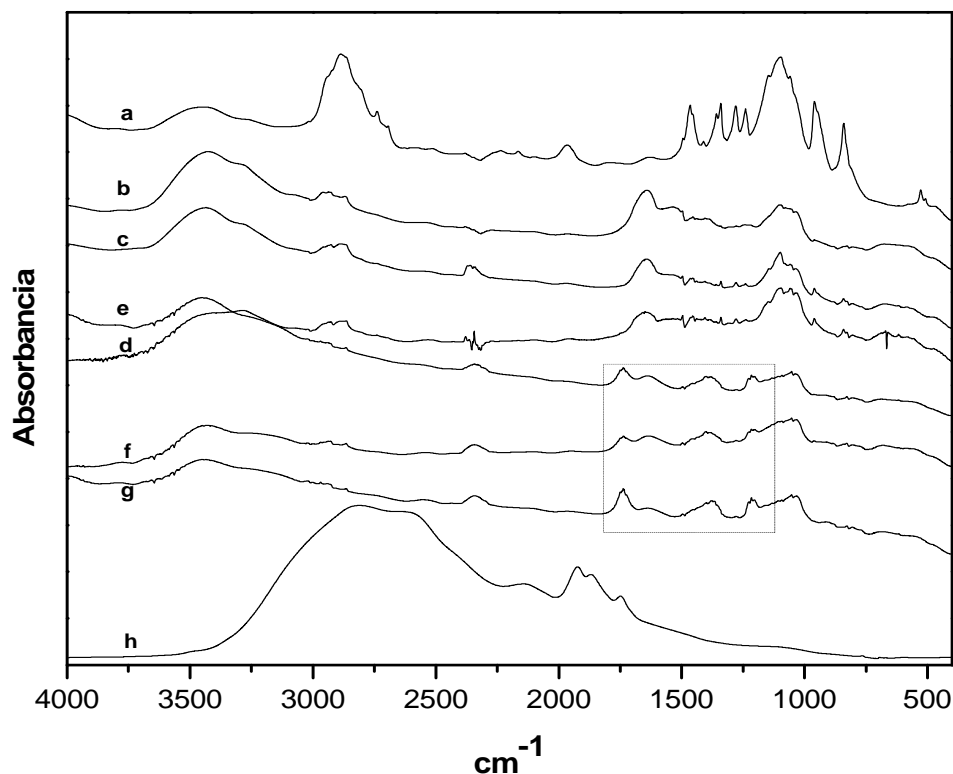
Las curvas de Tg y DTG de PEO/WPI con extracto de romero incorporado se muestran en la figura 6.2A y 6.2B. Se observa que el proceso de degradación de las tres diferentes mezclas está caracterizado por cuatro etapas. En la etapa inicial hubo una ligera pérdida de peso de las fibras, que corresponde a la deshidratación debido a la pérdida de agua o evaporación del solvente en las nanofibras y ocurre en un rango de temperatura de 34 -200 °C para las tres muestras analizadas. El primer pico de las mezclas (PEO/WPI + Ext) que se observa en una segunda etapa de la reacción está asociado a la degradación del WPI, que es el componente de más bajo peso molecular y se encuentra en este caso entre 280 y 284 °C. En la tercera etapa se exhibe la temperatura máxima de descomposición de las mezclas de 378, 366 y 361°C para PEO<sub>40</sub>WPI<sub>60</sub>, PEO<sub>50</sub>WPI<sub>50</sub> y PEO<sub>60</sub>WPI<sub>60</sub>, respectivamente. Finalmente, después de la descomposición se aprecia la cuarta etapa donde se observan picos con temperaturas máximas de entre 459 - 484°C pertenecientes a los residuos carbonaceos.

De acuerdo a los resultados obtenidos indican que en las fibras obtenidas de las diferentes mezclas de PEO/WPI con extracto de romero añadido disminuyen su estabilidad térmica comparada con las fibras obtenidas sin la adición de extracto. Se observa que la adición del extracto se produjo el desplazamiento del pico máximo de temperaturas a temperaturas más bajas indicando la disminución de la estabilidad térmica de las fibras (Figura 6.2B). Se ha descrito que la interacción entre el PEO con otros polímeros influye en las propiedades térmicas de las fibras como resultado de las diferentes interacciones intra e intermoleculares como los puentes de hidrógeno la cual proveen estabilidad a los componentes debido a que permiten que la energía térmica sea distribuida sobre diferentes enlaces, sin embargo al introducir un componente más dentro de una matriz provoca que existan regiones menos ordenadas con el incremento de la temperatura por lo que al incrementarse estas regiones la movilidad de los polímeros disminuyen y debilita los puentes de hidrógeno provocando la reducción de la estabilidad térmica (Aji *et al.* 2012) .



**Figura 6.2.** Curvas de TG (A) y DTG (B) de nanofibras obtenidas de la mezcla de PEO/WPI + Ext (2%): a) PEO<sub>40</sub>WPI<sub>60</sub>, b) PEO<sub>50</sub>WPI<sub>50</sub>, c) PEO<sub>60</sub>WPI<sub>40</sub>.

### 6.3 Interacción entre la mezclas de PEO/WPI y extracto de Romero



**Figura 6.3.** Comparación de espectros FTIR de nanofibras con y sin extracto de romero encapsulado: a) PEO polvo, b) PEO<sub>40</sub>WPI<sub>60</sub>, c) PEO<sub>50</sub>WPI<sub>50</sub>, d) PEO<sub>60</sub>WPI<sub>40</sub>, e) PEO<sub>40</sub>WPI<sub>60</sub> + Ext (2%), f) PEO<sub>50</sub>WPI<sub>50</sub> + Ext(2%), g) PEO<sub>60</sub>WPI<sub>40</sub> + Ext(2%) y h) WPI polvo.

Los espectros del FTIR de las fibras compuestas de tres diferentes proporciones de PEO/WPI con extracto de romero encapsulado se muestran en la figura 6.3. Los resultados indican que la estructura química de los biopolímeros parecen ser diferentes comparados con las nanofibras obtenidas sin extracto, así como de sus componentes individuales, además, se observa que disminuyó la intensidad de las bandas características del PEO así como del WPI corroborando nuevamente la interacción entre la estructura química de los componentes la cual provocó alteraciones en determinadas bandas del espectro.

En los espectros de las fibras obtenidas de las mezclas de PEO<sub>40</sub>WPI<sub>60</sub>, PEO<sub>50</sub>WPI<sub>50</sub>, PEO<sub>60</sub>WPI<sub>40</sub> con 2% de extracto de romero encapsulado no se observan diferencias apreciables entre ellas (Figuras e-g) no obstante, se puede observar claramente la presencia de bandas adicionales en la región de entre 1150-1800 cm<sup>-1</sup> como producto de la asociación de PEO/WPI y el extracto adicionado. En estas regiones se pueden presentar vibraciones de estiramiento y flexión de anillos aromáticos C-C/C-H que son principalmente caracterizados en las regiones 1606 - 1381 cm<sup>-1</sup>, además las vibraciones de flexión de C-H en el anillo y OH en el alcohol fenólico que se encuentran dentro de las regiones 1308 - 1174 cm<sup>-1</sup> (Neo *et al.* 2013). También se observan picos entre 1700 - 1600 cm<sup>-1</sup> la cual corresponde a la banda de amida I provocados por las vibraciones de estiramiento de los grupos carbonilo del enlace peptídico de la proteína y el pico del éter (1100 cm<sup>-1</sup>) inducidos por las vibraciones de estiramiento del éter de la cadena del PEO (Vega-Lugo y Lim, 2012).

Diversas investigaciones ya han reportado la existencia de compatibilidad entre los polímeros que sirven como acarreadores de componentes activos y el fármaco agregados debido a la formación de puentes de hidrógeno entre los componentes. Torres-Giner *et al.* (2009) también han reportado un nuevo grupo de bandas en el rango de 1000 y 1200 cm<sup>-1</sup> en la estructura molecular de fibras de zeína/chitosan encapsulando ácido trifluoracético como agente antimicrobial.

La compatibilidad entre los componentes tiene gran influencia tanto en la formación de la fibra como durante el proceso de electrospinning así como en la estabilidad de las membranas fibrosas. Las interacciones entre los fármacos y los polímeros promueven una mezcla a nivel molecular en las fibras la cual se refleja en una buena compatibilidad entre ellos y por lo tanto favorece la estabilidad de las membranas fibrosas (Karthikeyan *et al.* 2012). En este caso, el PEO, WPI y la molécula del extracto de romero han interactuado mediante los grupos hidroxilo libres que actúan como donantes de protones de los puentes de hidrógeno y los grupos carbonilo que son receptores potenciales de protones (Jiang *et al.* 2012)



# CONCLUSIONES

Con la combinación de proteína-polisacárido no se obtuvieron nanofibras, no obstante con la adición de PEO mejora la espinibilidad.

Al variar la proporción de mezcla se producen fibras con diferentes morfologías todo esto dependiendo de diversas variables como voltaje aplicado, distancia entre la punta de la aguja y el colector, velocidad de inyección etc.

Fue posible sintetizar fibras de la combinación de proteína aislada de suero de leche y óxido de polietileno mediante electrospinning, con diferentes morfologías dependiendo de la proporción PEO/WPI y con diámetros en el rango de nanómetros.

La viscosidad, conductividad y tensión superficial jugaron un papel decisivo en el proceso de electrospinning. La viscosidad disminuyó conforme incremento la cantidad de WPI comprobando la interacción que se presentó entre PEO y WPI. En cuanto a la conductividad se observó un comportamiento inverso, cuando incremento la proporción de WPI la conductividad también incremento. Finalmente, la tensión superficial se redujo cuanto mayor fue la conductividad.

No se observó una tendencia en cuanto al tamaño de diámetro de la fibras obtenidas, teniendo un promedio de diámetro de ~ 230 nm. En las mezclas que contenían entre 70 y 80 % de WPI presentaron defectos en su morfología.

Se observó que la resistencia a la tracción es relativamente más alta en fibras ricas en PEO mientras que en la elongación de las fibras no se observó una tendencia por las diferentes proporciones de los componentes.

Los análisis del análisis termogravimétrico y la espectroscopia infrarroja mostraron que en las fibras predomina el PEO por su probable concentración en la superficie de la fibra recubriendo al WPI.

Por otro lado, se determinó el efecto de la adición de un componente activo en las características de las nanofibras. Las fibras obtenidas presentaron una superficie lisa y uniforme, no se aprecian defectos, además presentaron un mayor tamaño de diámetro comparados con las fibras obtenidas sin extracto añadido.

De acuerdo a los resultados obtenidos del análisis termogravimétrico indican que en las fibras obtenidas de las diferentes mezclas de PEO/WPI con extracto de romero añadido disminuyen su estabilidad térmica comparada con las fibras obtenidas sin la adición de extracto.

Los resultados de la espectroscopia infrarroja mostraron que la estructura química de los biopolímeros parecen ser diferentes comparados con las nanofibras obtenidas sin extracto, se observa que disminuyó la intensidad de las bandas características del PEO así como del WPI corroborando nuevamente la interacción entre la estructura química de los componentes la cual provocó alteraciones en determinadas bandas del espectro.

Finalmente, la hipótesis planteada al inicio de este trabajo se cumplió para un sistema polimérico sintético/natural. Mientras en el sistema proteína-polisacárido-PEO sólo se logró el depósito sobre el sustrato sin la formación de una membrana entretejida que pudiera dependerse para una mejor caracterización, es necesario continuar con los estudios para determinar los parámetros de síntesis de la combinación de polímeros naturales.



# RECOMENDACIONES

**E**l trabajo desarrollado durante este proyecto de tesis permitió establecer parámetros de obtención de fibras de tamaño nanométricos de la combinación de biomateriales para la encapsulación de sustancias activas. Derivado de los resultados y las perspectivas del proyecto es evidente que se tiene un alcance muy importante dado las diversas aplicaciones se le pueden dar. Sin embargo, se recomienda profundizar en el estudio en cuanto a la combinación de polímeros naturales así como profundizar en la eficiencia de encapsulación.

---

# REFERENCIAS

Agrawal, C.M. (1998). Reconstructing the Human Body Using Biomaterials, *JOM*, Jan. p 31–35.

Aji, I.S., Zainudin, E.S., Khalina, A., Sapuan, S.M., Khairul, M.D. (2012). Thermal property determination of hybridized kenaf/PALF reinforced HDPE composite by thermogravimetric analysis. *J Therm Anal Calorim.* 109:893-900.

Alborzi, S., Lim, Loong-Tak and Kakuda, Y. (2009). Electrospinning of sodium alginate-pectin ultrafine fibers. *Food chemistry.* 75:100-107.

Aluigi, A., Vineis, C., Varesano, A., Mazzuchetti, G., Ferrero, F. and Tonin, C. (2008). Structure and properties of keratin/PEO blend nanofibers. *European Polymer Journal.* 44:2465-2475.

Ávila-Sosa, R., Navarro-Cruz, A. R., Vera-López, O., Dávila-Márquez, R.M., Melgoza-Palma, N. y Meza-Pluma, R. (2011). Romero (*Rosmarinus officinalis* L.): Una revisión de sus usos no culinarios. *Ciencia y Mar*, XV(43):23-36.

Barth, A. (2007). Infrared spectroscopy of proteins. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1767:1073-1101.

Betoret, E. Betoret, N., Vidal, D. and Fito, P. (2011). Functional foods development: Trends and technologies. *Trends in Food Science and Technology.* 22(9): 498-508

Bhardwaj, N. and Kundu, S.C. (2010). A fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnology Advances.* Doi:10.1016/j.biotechadv.2010.01.004.

Boland ED, Telemeco TA, Simson Dg, Wnek GE, Bowlin GL. (2004). Utilizing acid pretreatment and electrospinning to improve biocompatibility of poly(glycolic acid) for tissue engineering. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 71B:144-52

Boretos, J.W., Eden, M. Contemporary Biomaterials, Material and Host Response, Clinical Applications, New Technology and Legal Aspects. Noyes Publications, Park Ridge, NJ (1984), pp. 232–233.

Chen Z, Mo X, Quingn F. (2007). Electrospinning of collagen-chitosan complex. *Mater Lett.* 61:3490-4

- Chia-Chi Su, Yun-Hwei Shen. (2008). Effects of poly(ethylene oxide) adsorption on the dispersion of smectites. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 312: 1–6.
- Christopher, M. Burba, Roger French and Brian Grady, *Electrochimica Acta* 53:1548-1555 (2007).
- De Vos, P., Faas, M.M.m Spasojevic, M., Sikkema, J.(2010). Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive foods components. *International Dairy Journal*, 20:292-302.
- Dee, K.C., Pauleo, D.A., Bizios, R. (2002). *An Introduction to Tissue-Biomaterial Interactions*. Wiley, John & Sons, Incorporated. Chapter 1, pp 1-13.
- Demet, M., Fatmanur, K., koichi, I., Yusuf, Y. and Oguz, O. (2004). Swelling and elasticity of hydrogels based on poly(ethylene oxide) macroinimer. *Polym Int* 53:237–242.
- Duan B, Dong C, Yuan X, Yao K. (2004). Elctrospinning of chitosan solutions in acetic acid with poly(ethylene oxide). *J Biomater Sci Polym Ed* 15:797-811
- Duoxia X., Xiaoya W., Junping J., Fang Y., Yanxiang G. (2012). Impact of whey protein e Beet pectin conjugation on the physicochemical stability of b-carotene emulsions. *Food Hydrocolloids* 28: 258-266.
- Espinosa-Andrews, H., Sandoval-Castilla, O., Vázquez-Torres, H., Vernon-Carter, E.J., Lobato-Caballeros, C. (2010). Determination of the gum Arabic-chitosan interactions by Fourier Transform Infrared Spectroscopy and characterization of the microstructure and rheological features of their coacervates. *Carbohydrates Polymer*, 79:541-546.
- Fennema, O. (2000 ). *Química de los Alimentos*. 2ª Ed., Acribia, Capítulo 1.
- Fernandez, A., Torres-Guiner, S. and Lagaron, J.M. (2009). Novel route to stabilization of biactive antioxidants by encapsulation in electrospun fibers of zein prolamine. *Food Hydrocolloids*. 23:1427-1432.
- Fong, H., Chun, I. and Reneker, D.H. (1999). Beaded nanofibers formed during electrospinning. *Polymer* 40 : 4585–4592.
- Frenot, A. and Chronakis,I.S. (2003). Polymer nanofibers assembled by electrospinnig. *Current Opinion in Colloid and Interface science*. 8:64-75.
- Huang, Zheng-Ming, Zhang, Y.Z., Ramakrishna, s. Lim, C.T. (2004). electrospinning and mechanical characterization of gelatin nanofibers. *Polymer* 45:5361-5368.

- Ji, Y., Ghosh, K., Shu, X.Z., Li, B., Sokolov, J.C., Prestwich, G.D., Clark, R.A.F., Rafailovich, M.H. (2007). Electrospun three-dimensional hyaluronic acid nanofibrous scaffolds. *Biomaterials* 27 :3782–3792.
- Jiang, Y-N., Mo, H-Y., Yu, D-G. (2012). Electrospun drug-loaded core–sheath PVP/zein nanofibers for biphasic drug release. *International Journal of Pharmaceutics* 438: 232–239.
- Jian-Wei Lu, Yong-Liang Zhu, Zhao-Xia Guo, Ping Hu and Jian Yu (2006). Electrospinning of sodium alginate with poly(ethylene oxide). *Polymer* 47:8026-8031
- Karthikeyan, K., Guhathakarta, S., Rajaram, R., Korrapati, P.S. (2012). Electrospun zein/eudragit nanofibers based dual drug delivery system for the simultaneous delivery of aceclofenac and pantoprazole. *International Journal of Pharmaceutics* 438:117– 122.
- Kaya, S. and Kaya, A. (2000). Microwave drying effects on properties of whey protein isolate edible films. *Journal of Food Engineering* 43:91-96.
- Khil MS, Cha DI, Kim IS, Bhattarai N. (2003). Electrospun nanofibrous polyurethane membrane as wound dressing. *J Biomed Mater Res B* 67:675-9
- Lu, J-W, Zhu, Y-L., Guo, Z-X., Hu, P., Yu, Jian. (2006). Electrospinning of sodium alginate with poly(ethylene oxide). *Polymer*, 47:8026-8031.
- Ma ZW, Kotaki M, Ramakrishna S.(2005). Electrospun cellulose nanofiber as affinity membrane. *J Membr Sci* 265:115-23
- Mahamadou, E. G., Shi-Ying X., Zhang W. (2007). Whey protein isolate-based edible films as affected by protein concentration, glycerol ratio and pullulan addition in film formation. *Journal of Food Engineering* 83:521–530.
- Mcmurry, J.E. y Fay, R.C. (2009). *Química General*. Quinta edición. Pearson Educación de México, S.A. de C.V.
- Moon, S. and Farris, R.J. (2009). Electrospinning of heated gelatin-sodium alginate-water solutions. *Polymer Engineering and Science*. 1617-1620.
- Moon, S., Ryu, B.Y., Choi, J., Jo, B. and Farris, R.J. (2009). The morphology and mechanical properties of sodium alginate based electrospun poly(ethylene oxide) nanofibers. *Polymer Engineering and Science*. DOI 10.1002/pen.
- Mott, C.L., Hettiarachchy, N.S, and Qi, M. (1999). Effect of Xanthan Gum on Enhancing the Foaming Properties of Whey Protein Isolate. *JAOCS*, Vol. 76, no. 11.

- Neo, Y.P., Ray, S., Jin, J., Gizdavic-Nicolaidis, M., Nieuwoudt, M.K., Liu, D., Quek, S.Y. (2013). Encapsulation of grade antioxidant in natural biopolymer by electrospinning technique: A physicochemical study based on zein-gallic acid system. *Food Chemistry*, 136,1013-1021.
- Niinomi M (2002). Recent Metallic Materials for Biomedical Applications. *Metal. Mater. Transac. A*. 33 A: 477-486.
- Nirmala R., Woo-il, B., Navamathavan, R., Kalpana, D., Yang Soo Lee, Hak Yong Kim. Influence of antimicrobial additives on the formation of rosin nanofibers via electrospinning. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces* 104, 262-267 (2013)
- Perez-Gago, M.B. and Krochta, J.M. (2001). Denaturation time and temperature effects on solubility, tensile properties, and oxygen permeability of whey protein edible films. *Food engineering and Physical Properties*. 66(5):705-710.
- Popplewell, L.M., Black, J.M., Norris, L., and Porzio, M. 1995. Encapsulation systems for flavors and colors. *Food Technol.* 49(5): 76-78, 80, 82.
- Ramakrishna, S., Fujihara, K., Teo, W-E., Lim, T-Ch. And Ma, Z. (2005). *An Introduction to electrospinning and Nanofibers*. (pp 90-152) Singapore: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.
- Ratner, B. D., Hoffman, A. S., Schoen, F.J., Lemons, Jack E. (2004). *Biomaterials Science. An Introduction to Materials in Medicine*. Elsevier Academic Press, 2nd Edition. Chapter 2.
- Saez, V., Hernández, J. R. y Peniche, C. (2007). Las microesferas como sistemas de liberación controlada de péptidos y proteínas. *Biotecnología Aplicada*. 24:98-107
- Schiffman, J. D. & Schauer, C. L. (2008): A Review: Electrospinning of Biopolymer Nanofibers and their Applications, *Polymer Reviews*, 48:2,317-352
- Schmitt, C., Sanchez, C., Desobry-Banon, S. and Hardy, J. (1998). Structure and Technofunctional Properties of protein-polysaccharide complexes: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 38(8):689-753.
- Sill, T.J. and von Recum, H.A. (2008). Electrospinning: Applications in drug delivery and tissue engineering. *Biomaterials*. 29:1989-2006.
- Silverstein, R.M., Clayton Bassler, G. and Morrill, T.C. (1991). *Spectrometric Identification of Organic compounds*. Fifth edition. John Wiley and Sons, Inc. pp.91-100

- Su, P., Wang, C., Yang, X., Chen, X., Gao, C., Feng, X-X., Chen, J-Y., Ye, J., Gou, Z. (2011). Electrospinning of chitosan nanofibers: The favorable effect of metal ions. *Carbohydrate Polymers*. 84:239-246.
- Sun T, Mais S, Norton D, Haycock JW, Ryan S, Mac Neil Aj. (2005). Self organization of skin cells in three dimensional electrospun polystyrene scaffolds. *Tissue Eng* 11:1023-33
- Nikalje, A. P. , Tathe, A. and Ghodke, M. (2010). A brief Review. Biomaterials and their application. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. Vol2, suppl 4. *Int J Pharm Pharm Sci, Vol 2, Suppl 4, 19-23*
- Torres-Giner, S., Gimenez, E. and Lagaron, J.M. (2008). Characterization of the morphology and thermal properties of Zein Prolamine nanostructures obtained by electrospinning. *Food hydrocolloids*. 22:601-614.
- Torres-Giner, S., Ocio, M.J., Lagaron, J.M. (2009). Novel antimicrobial ultrathin structures of zein/chitosan blends obtained by electrospinning. *Carbohydrate Polymers*. 77:261-266.
- Turgeon, S. L. y Laneville, S.I. (2000). Protein + Polysaccharide Coacervates and Complexes: From Scientific Background to their Application as Functional Ingredients in Food Products. Dairy Research Centre STELA and Institute of Nutraceutical and Functional Foods INAF, Laval University, Quebec, Canada. Chapter 11. pp. 327-363
- Um IC, Fang DF, Hsiao BS, Okamoto A, Chu B, (2004). Electro-spinning and electro-blowing of hyaluronic acid. *Biomacromolecules*. 5:1428-36
- Vega-Lugo, A-C and Lim, L-T. (2012). Effects of Poly(ethylene oxide) and pH on the electrospinning of whey protein isolate. *Journal of Polymer Science part B: Polymer Physics*. 50:1188-1197.
- Venugopal, J. and Ramakrishna, S. (2005). Applications of Polymer Nanofibers in Biomedicine and Biotechnology. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 125: 147-157.
- Weinbreck, F., Tromp, R.H. and Kruif, C.G. (2004). Composition and structure of whey protein/Gum Arabic coacervates. *Biomacromolecules*. 5:1437-1445.
- Wei-Wei, S., Shu-Juan, Yu., Xin-An Z., Xiao-Quan Y., Xiao J. (2011). Properties of whey protein isolate-dextran conjugate prepared using pulsed electric field. *Food Research International* 44:1052-1058.
- Willats, W.G.T., Paul Knox, J. and Mikkelsen, J.D. (2006). Pectin: New insights into an old polymer are starting to gel. *Trends in Food Science & Technology*. 17:97-104.

- 
- Williams DF (1987) Review: Tissue-biomaterial interactions. *J. Mat. Sci.* 22 (10): 3421-3445.
- Wongsasulak, S., Kit, K.M., McClements, D.J., Yoovidhya, T. and Weiss. (2007). The effect of solution properties on the morphology of ultrafine electrospun egg albumen-PEO composite fibers. *Polymer* 48:448-457.
- Woerdeman, D.L., Y, P., Shenoy, S., Pamas, R.S., Wnek, G.E. and Trofimova, O. (2005). Electrospun from wheat Protein: Investigation of the interplay between molecular structure and the fluid dynamics of the electrospinning process. *Biomacromolecules*, 6:707-712.
- Yang, D., Yanning, L. and Nie, J. (2007). Preparation of gelatin/PVA nanofibers and their potential application in controlled release of drugs. *Carbohydrate Polymer*. 69:538-543.
- Yuan Y, Gao Y, Zhao J, Mao L. Characterization and stability evaluation of  $\beta$ -carotene nanoemulsions prepared by high pressure homogenization under various emulsifying conditions. *Food Res Int.* 2008;41:61–68.
- Yáñez, J. F., Salazar, J.A., Montoya, L., Chaires Martínez, J., Jiménez Hernández, M., Márquez Robles y. Ramos Ramírez, E. G. (2002). Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación. *Avance y Perspectiva* vol. 21: 313-319
- Yong Lee, K., Jeong, L., Ok Kang, Y. Jin Lee, S. and Ho Park, W. (2009). Electrospinning of polysaccharide for regenerative medicine. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 61:1020-1032.
- Yoshimoto H. Shin YM, Terai H, Vacanti JP. (2003). A biodegradable nanofiber scaffold by electrospinning and its potential for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 24: 2077-82
-

# Apéndice A:

## Trabajos derivados

### *Congresos*

- Influencia de la variación de parámetros en la microestructura de nanofibras obtenidas mediante electrospinning. Mayo, 2012. San José de los Cabos
- Electrospinning of whey protein isolate-poly(ethylene oxide) solutions. Symposium at the XXI International Materials Research Congress, Agosto 12-16, 2012 Cancún, México.
- Effects of solution properties on electrospinning of protein / poly(ethylene oxide) blends. International Conference on Surfaces, Materials and Vacuum, Septiembre 24-28, 2012. Tuxtla Gutierrez, Chiapas.
- Comportamiento termogravimétrico de fibras electrodepositadas a partir de proteína aisladas de suero de leche reforzadas con PEO. XXXIV Encuentro Nacional y III congreso Internacional de la AMIDIQ, Mayo, 7-10, 2013. Puerto de Mazatlán, Sinaloa, México.

### *Publicaciones*

**J. Colín-Orozco**, R. Pedroza-Islas, G. Rodríguez -Gattorno y M. Zapata-Torres (2013). Crecimiento y caracterización de nanofibras obtenidas a partir de proteína aislada de suero lácteo y óxido de polietileno por la técnica de electrohilado. Revista Superficies y Vacío. ISSN 1665-3521

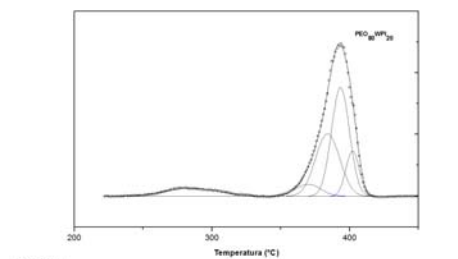
### *Publicaciones en Extenso*

**Julia Colín-Orozco**, Martín G. Zapata-Torres, Ruth Pedroza-Islas (2012). Influencia de la variación de parámetros en la microestructura de nanofibras obtenidas mediante electrospinning. Memorias XXXIII encuentro Nacional y II congreso Internacional de la Academia Mexicana de Investigación y docencia en Ingeniería Química A.C. (AMIDIQ). Libro de memorias. (2012). ISBN: 978-607-507-121-3

**J. Colín Orozco**, M.G. Zapata Torres y R. Pedroza Islas (2013). Comportamiento termogravimétrico de fibras electrodepositadas a partir de proteína aislada de suero de leche reforzadas con peo. Memorias del XXXIV Encuentro Nacional y III Congreso Internacional de la Academia Mexicana de Investigación y Docencia en Ingeniería Química (AMIDIQ). ISBN: 978-607-95593-1-1

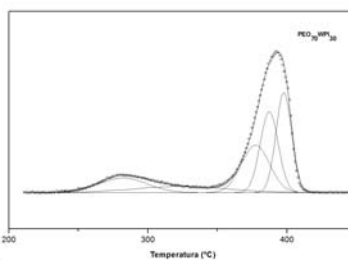


## Deconvolución de la primera derivada ( $dm/dT$ ) del análisis termogravimétrico



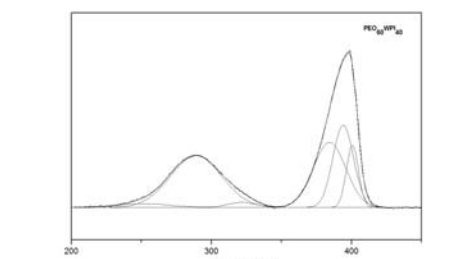
Fitting Results

Peak Index	Peak Type	Area Intg	FWHM	Max Height	Center Grvty	Area Intg <sup>2</sup>
1	Gaussian	6.48822	45.42961	0.11384	285.16242	9.20146
2	Gaussian	4.49934	21.11111	0.19645	389.9491	6.29697
3	Gaussian	21.93116	28.43774	1.00308	383.89135	31.79209
4	Gaussian	28.62332	15.30485	1.17376	393.31193	40.73893
5	Gaussian	8.77845	17.38634	0.72351	402.14325	12.48956



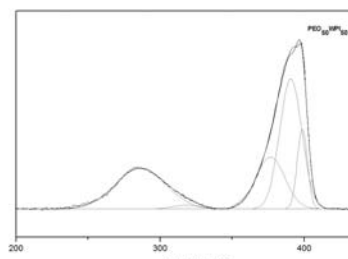
Fitting Results

Peak Index	Peak Type	Area Intg	FWHM	Max Height	Center Grvty	Area Intg <sup>2</sup>
1	Gaussian	6.50558	46.34378	0.20955	282.20003	12.21271
2	Gaussian	7.68857	88.85368	0.08431	329.77225	10.28675
3	Gaussian	68.10134	24.83011	0.65426	377.28833	21.64395
4	Gaussian	18.185	15.34847	1.11101	387.23884	26.23278
5	Gaussian	19.36278	13.23478	1.39274	397.74477	27.94878



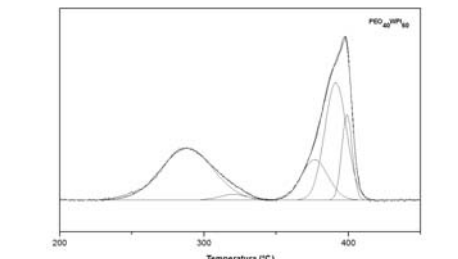
Fitting Results

Peak Index	Peak Type	Area Intg	FWHM	Max Height	Center Grvty	Area Intg <sup>2</sup>
1	Gaussian	1.30272	44.69432	0.02963	275.27016	2.02117
2	Gaussian	14.28156	43.89285	0.28937	375.27016	35.91133
3	Gaussian	8.87489	23.0115	0.29878	389.0882	1.87404
4	Gaussian	14.57586	27.37188	0.58118	321.86493	28.34421
5	Gaussian	11.61847	17.26982	0.61035	384.33774	22.4117
6	Gaussian	5.14427	16.10215	0.47824	384.61762	9.8948



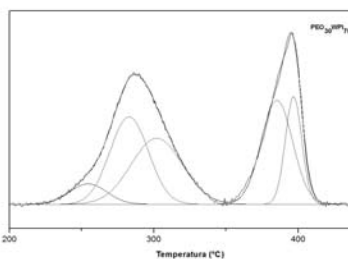
Fitting Results

Peak Index	Peak Type	Area Intg	FWHM	Max Height	Center Grvty	Area Intg <sup>2</sup>
1	Gaussian	15.81707	41.28814	0.35533	286.34339	27.91227
2	Gaussian	8.72505	33.87902	0.20419	317.7399	1.2888
3	Gaussian	11.33038	23.89932	0.45384	378.42165	20.32372
4	Gaussian	21.81818	17.99958	1.14058	386.67623	38.34485
5	Gaussian	6.30337	8.20018	0.70255	388.69686	11.05028



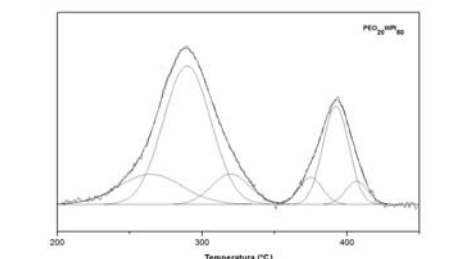
Fitting Results

Peak Index	Peak Type	Area Intg	FWHM	Max Height	Center Grvty	Area Intg <sup>2</sup>
1	Gaussian	42.18817	6.82325	0.80215	286.21588	36.57125
2	Gaussian	21.29433	0.94836	0.04836	375.11137	2.02071
3	Gaussian	1.50166	21.54962	0.13521	376.52873	14.02308
4	Gaussian	17.28173	17.73772	0.91684	391.18225	34.95687
5	Gaussian	9.93376	9.37684	0.66933	388.86009	11.9622



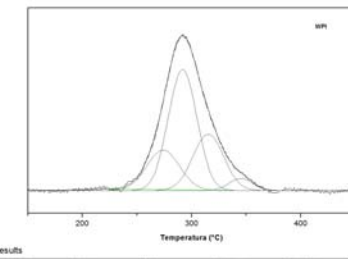
Fitting Results

Peak Index	Peak Type	Area Intg	FWHM	Max Height	Center Grvty	Area Intg <sup>2</sup>
1	Gaussian	2.72738	38.12128	0.06471	254.51781	6.07769
2	Gaussian	12.0201	25.32584	0.38111	282.57353	24.2281
3	Gaussian	12.8791	41.57226	0.27288	302.03861	28.8885
4	Gaussian	11.72497	28.84233	0.42057	382.24817	26.88886
5	Gaussian	8.34334	13.40772	0.44444	386.78407	14.11985



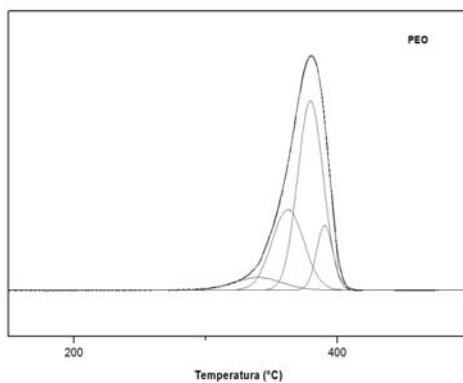
Fitting Results

Peak Index	Peak Type	Area Intg	FWHM	Max Height	Center Grvty	Area Intg <sup>2</sup>
1	Gaussian	18.13181	42.18817	0.80215	286.21588	36.57125
2	Gaussian	5.8212	51.87887	0.10743	284.38485	14.29757
3	Gaussian	20.57015	34.32887	0.24841	378.88887	45.7278
4	Gaussian	3.9355	38.8987	0.18824	319.47957	8.56347
5	Gaussian	1.92584	48.82849	0.29841	374.88887	4.8021
6	Gaussian	7.84777	20.95588	0.39529	382.28153	19.14231
8	Gaussian	1.57016	17.88674	0.18242	406.14479	3.78176



Fitting Results

Peak Index	Peak Type	Area Intg	FWHM	Max Height	Center Grvty	Area Intg <sup>2</sup>
1	Gaussian	0.68827	12.8225	0.03295	245.43146	1.93818
2	Gaussian	6.19981	18.45205	0.11908	271.91046	18.99229
3	Gaussian	17.20112	10.8938	0.12888	291.77887	49.89743
4	Gaussian	8.80841	31.11688	0.24382	315.34331	24.42887
5	Gaussian	1.84039	26.58172	0.02828	341.29983	4.17401



## Fitting Results

Peak Index	Peak Type	Area Intg	FWHM	Max Height	Center Grty	Area Intg <sup>2</sup>
1.	Gaussian	6.07886	42.13059	0.13555	339.65448	6.59649
2.	Gaussian	26.10465	28.3515	0.86499	362.57181	28.32751
3.	Gaussian	49.23748	22.73394	2.03485	379.55576	53.43015
4.	Gaussian	10.73291	14.53536	0.69362	390.39478	11.64686