

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INGENIERÍA Y TECNOLOGÍA

FCITEC

UNIDAD VALLE DE LAS PALMAS



**FABRICACIÓN DE NANOFIBRAS Y PELÍCULAS UTILIZANDO DERIVADOS DE
QUITOSANO CON POTENCIALES APLICACIONES EN LA SALUD Y MEDIO
AMBIENTE**

Estudiante: [Keila Miranda Meza](#)

Matricula: 01242233

Director de Tesis: Dr. Luis Jesus Villarreal Gomez

Co-director de Tesis: Dr. Eduardo Alberto Lopez Maldonado

Tijuana, Baja California, México, 21 de Noviembre de 2023.

DEDICATORIA

El presente trabajo de tesis de licenciatura se la dedico a:

Mis Padres por enseñarme a ser perseverante, no darme por vencida y recordarme siempre que todo lo que logro es gracias a Dios. A mi hermana Keren por siempre aconsejarme y darme apoyo moral. A mis sobrinos quienes me motivan a seguir adelante para ser un ejemplo a seguir para ellos.

Este trabajo lo realizó en memoria de mi hermana Eunice quien es mi inspiración para seguir este camino en la investigación, que aunque ya no está conmigo siempre creyó en mí y de quien aprendí a trabajar por lo que quiero y no darme por vencida.

Les dedico este trabajo con amor.

AGRADECIMIENTOS

A Dios primeramente por permitirme concluir este trabajo y ayudarme en el proceso. A mi familia por su apoyo incondicional, por alentarme siempre a seguir adelante y mantenerme con los pies en la tierra.

A mis amigas Yamille y Esperanza por siempre estar al pendiente de mi y aconsejarme.

A la Universidad Autónoma de Baja California por brindarme la oportunidad y las herramientas para desarrollarme y llevar a cabo este trabajo.

Al Dr. Luis Jesús Villarreal Gómez por creer en mí y darme la oportunidad de adentrarme en este camino, por ser mi mentor, motivarme a seguir mis sueños en lo que me apasiona y su disposición, apoyo y consejos brindados en la realización de este proyecto.

Al Laboratorio de Ingeniería de Tejidos y Biomateriales (LINTEB) de la unidad FCITEC, valle de las palmas, por permitirme realizar este proyecto en sus instalaciones.

A mi amigas las ingenieras Victoria Leonor Reyes Guzman y Daniela Alejandra Hernández Hernández por su ayuda y las anécdotas generadas a lo largo de este proyecto.

Al Dr. Eduardo Alberto Lopez Maldonado por su apoyo en algunos de los análisis y el material brindado.

A la subvención “Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)” conocida como “Fondo de Cooperación Internacional en Ciencia y Tecnología del Conacyt (FONCICYT)”

Gracias a todos ustedes por su apoyo brindado.

TABLA DE CONTENIDO

DEDICATORIA.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
RESUMEN.....	6
I. INTRODUCCIÓN.....	8
II. MARCO TEÓRICO.....	10
2.1. Biomateriales poliméricos naturales.....	10
2.2. Importancia Ambiental.....	12
2.3. Quitina.....	13
2.4. Quitosano.....	14
2.4.1 Propiedades y estructura química.....	15
2.4.2 Etapas para la obtención del Quitosano.....	18
2.4.3 Modificación del Quitosano.....	20
2.4.4 Aplicaciones del Quitosano.....	21
2.5 Electrohilado.....	23
2.5.1. Técnica.....	23
2.5.1.2. Tipos de electrohilado.....	24
2.5.1.3. Cono de Taylor.....	25
2.5.2. Parámetros de electrohilado.....	26
2.5.2.1. Campo eléctrico.....	26
2.5.2.2. Concentración y viscosidad del polímero.....	27
2.5.2.3. Colector de aguja de caudal y distancia.....	27
2.6. Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR).....	28
2.7. Pruebas antimicrobianas.....	28
2.8. Análisis Termogravimétrico (TGA).....	29
2.9. Microscopia Electronica de Barrido (MEB).....	29
III. OBJETIVO GENERAL.....	29
3. Objetivos Específicos.....	30
IV. HIPÓTESIS.....	30
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
5.1. Materiales.....	30
5.2. Modificación de quitosano con dianhídrido 3,3',4,4'- benzofenonatetracarboxílico modificado.....	31
5.3. Preparaciones de solución.....	31
5.4. Electrohilado.....	32
5.5. Caracterización de microfibras PVP/ Ch.....	33
5.6. Espectroscopía infrarroja por transformada de fourier (FTIR).....	34
5.7 Microscopía Electrónica de barrido (MEB).....	35
5.8 Análisis termogravimétrico (TGA).....	35
5.9 Pruebas antibacterianas.....	36
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	37

6. Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier.....	37
6.1. Microscopia Electrónica de Barrido (MEB).....	42
6.2. Análisis termogravimétrico (TGA).....	45
6.3. Estudios de crecimiento bacteriano.....	48
VII. CONCLUSIONES.....	56
VIII. BIBLIOGRAFÍA.....	57

RESUMEN

Los polímeros han sido utilizados a lo largo de los años debido a las distintas propiedades que tienen que son útiles para diversas aplicaciones, aunque, si bien, en los últimos años ha sido una preocupación la contaminación que algunos de ellos generan, por lo que el descubrimiento de los biopolímeros ha sido una gran alternativa. Entre los más utilizados en investigaciones sobresale la Celulosa, Alginato, Colágeno, Quitina y Quitosano por mencionar algunos. la finalidad de este trabajo es hacer uso del Quitosano usando la técnica de electrohilado y el método de casting para posibles aplicaciones en el campo biomédico y ambiental, para ello se crearon fibras de poli (vinil pirrolidona)/ Quitosano (PVP/Ch) utilizando diferentes concentraciones de quitosano. Los estudios antibacterianos se realizaron con las bacterias *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* para evaluar su biocompatibilidad y propiedades antibacterianas. La presencia de los diversos elementos que constituyen los nanocompuestos se determinó mediante espectroscopía infrarroja (FTIR). La microscopía electrónica de barrido (SEM), por otro lado, se utilizó para examinar la morfología de las fibras y recopilar información sobre sus diámetros. Para mostrar cómo se incorporaron PVP y Ch a la matriz polimérica de la fibra, se realizaron análisis térmicos (TGA) y FTIR. Con la ayuda de los hallazgos obtenidos mediante estas pruebas, se mejorarán las cualidades antimicrobianas y demás para que el resultado final pueda ser empleado en las aplicaciones biomédicas y ambientales.

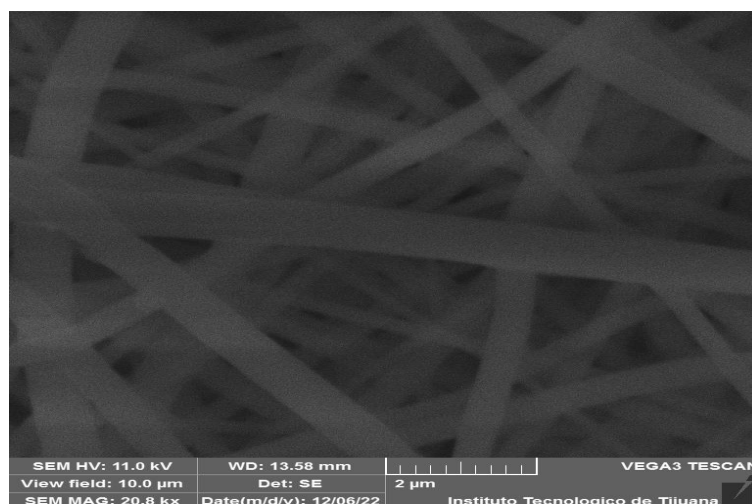


Figura 1. Fibras electrohiladas PVP/Ch.

Palabras clave: Quitosano; filmes; Electrohilado; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*; *Pseudomonas aeruginosa*.

I. INTRODUCCIÓN

Las fibras electrohiladas hechas de quitosano son un tipo de material fibroso que se obtiene a través de una técnica llamada electrohilado (Qasim et al., 2018) . El quitosano es un polímero natural derivado de la quitina, que se encuentra en la cáscara de los crustáceos como los camarones y los cangrejos (Pellis et al., 2022).

El proceso de electrohilado consiste en aplicar una corriente eléctrica a una solución de quitosano, que se encuentra en estado líquido, y hacer pasar esa solución a través de una aguja o boquilla cargada eléctricamente (Villarreal-Gómez et al., 2015). Al aplicar la corriente eléctrica, las moléculas de quitosano son atraídas hacia el electrodo cargado y se estiran en forma de fibras extremadamente delgadas y finas (Antaby et al., 2021). Estas fibras electrohiladas de quitosano presentan ciertas propiedades únicas, como su alta superficie específica, su alta porosidad y su estructura tridimensional. Debido a estas características, las fibras electrohiladas de quitosano tienen una amplia gama de aplicaciones en medicina y biotecnología (Cui et al., 2021).

Con respecto al área médica, las nanofibras de quitosano pueden utilizarse en la fabricación de apósitos para promover la cicatrización de heridas. Debido a sus propiedades antibacterianas y de promoción de la regeneración celular, pueden ayudar a acelerar el proceso de curación y prevenir infecciones (Bagheri et al., 2021). Además, las nanofibras de quitosano pueden ser usadas para la fabricación de apósitos o películas que ayuden a proteger la piel quemada y promover su regeneración. Además, el quitosano tiene propiedades antiinflamatorias y regenerativas que pueden reducir el dolor y acelerar la recuperación (Dai et al., 2011). Por otro lado, las nanofibras de quitosano pueden servir como andamios para el cultivo de células en la ingeniería de tejidos. Estas fibras proporcionan un entorno tridimensional similar a los tejidos (Rodríguez-Vázquez et al., 2015).

Por otro lado, el quitosano tiene la capacidad de capturar metales pesados y contaminantes orgánicos en su estructura (Zhang et al., 2021). Las nanofibras electrohiladas de quitosano pueden ser utilizadas como materiales de remediación de suelos contaminados, ya que pueden absorber y retener estos contaminantes, ayudando a limpiar y restaurar la calidad del suelo (Gao et al., 2022). Las nanofibras de quitosano también pueden ser utilizadas en la fabricación de filtros de aire para capturar partículas contaminantes y alérgenos. Debido a su alta superficie específica y propiedades de adsorción, las nanofibras

electrohiladas de quitosano pueden actuar como una barrera efectiva para la purificación del aire, reduciendo la presencia de sustancias nocivas en el ambiente (Liu et al., 2019). También, las nanofibras electrohiladas de quitosano pueden ser utilizadas en la producción de bioplásticos y materiales biodegradables. En lugar de utilizar plásticos convencionales que tienen un impacto ambiental negativo debido a su lenta degradación, las nanofibras de quitosano ofrecen una alternativa más sostenible y respetuosa con el medio ambiente (Ibrahim et al., 2023). Por último, las nanofibras de quitosano pueden ser utilizadas como materiales de liberación controlada para la liberación de sustancias químicas, como fertilizantes o pesticidas, en sistemas agrícolas. Esto permite una distribución más eficiente y precisa de estas sustancias, reduciendo la contaminación de suelos y aguas subterráneas (Machado et al., 2022).

La aplicación de los biomateriales ha tenido un gran impacto con el paso de los años lo cual ha permitido un progreso importante para resolver algunas problemáticas en la vida del ser humano y así mejorar la calidad de vida. Los biomateriales se clasifican de acuerdo con su origen, en naturales y sintéticos, siendo los naturales los que se extraen a partir de una fuente presente en la naturaleza y los sintéticos, los que se obtienen por reacciones químicas, en el caso de los polímeros a partir de su respectivo monómero (Osorio et al., 2017).

Los biopolímeros, materiales que podemos encontrar en la naturaleza, han sido una alternativa más sostenible a diferencia de los polímeros, ayudando a reducir el impacto ambiental, además de ser más versátiles con sus propiedades. Actualmente se han empleado en diversos campos de la industria como en la medicina, los alimentos, la agricultura, ambiental, farmacéutica entre otras. Entre estos biopolímeros se encuentran la Celulosa. Clasificando de una manera general los polímeros naturales se encuentran los derivados de polisacáridos y de proteínas tanto de origen animal como vegetal. Entre los polímeros naturales derivados de polisacáridos más importantes se encuentra la celulosa, el almidón, la quitina y el quitosano y entre los derivados de proteínas se encuentra el colágeno (Alba et al., 2021). Siendo el Quitosano el tema de investigación de esta tesis.

A lo largo de los años el quitosano ha despertado el interés en la comunidad científica ya que se ha demostrado su utilidad como material de vendaje para heridas, vehículo de administración de fármacos y, cada vez más, un candidato para la ingeniería de tejidos (Khor & Lim, 2003), esto debido a las propiedades tales como la biocompatibilidad, la biodegradabilidad (mediada por lisozimas), la no toxicidad y la similitud química del

quitosano con los componentes de la matriz extracelular de los tejidos como el sulfato de condroitina, el sulfato de queratán y el ácido hialurónico, hacen apto a este biomaterial para su uso en la ingeniería de tejidos, específicamente, en la regeneración y reparación de tejidos como la piel, el hueso, el cartílago y los nervios (Osorio et al., 2017).

Además de tener aplicaciones biomédicas el Quitosano también ha sido tema de investigación para usos ambientales tal es el uso de este biopolímero para el tratamiento de aguas naturales y residuales ayudando a remover contaminantes como colorantes y metales pesados, este material es de bajo costo por lo que se ha utilizado como adsorbente, coagulante-floculante y bactericida en el tratamiento de aguas residuales. (*Vista de Evolución del Uso del Quitosano en el Tratamiento de Agua*, 2019).

Por todo lo anterior el objetivo de este trabajo es fabricar nanofibras de quitosano utilizando como base polimérica de poli (vinil pirrolidona) y caracterizar sus propiedades fisicoquímicas y biológicas para proponer aplicaciones en el área de la salud y medioambiental.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Biomateriales poliméricos naturales

En los últimos años los biomateriales han tenido un gran impacto en aplicaciones de diversos campos, desde liberación de fármacos, hasta dispositivos médicos e implantes, entre otros. De acuerdo con Wong-Hernández et al. (2019) desde la década del 60 los biomateriales son utilizados en el mercado internacional, un ejemplo es el adhesivo tisular Histoacryl, de la B Braun, Alemania, el cual tiene aplicaciones en cirugía.

Entre los productos de la cartera de negocios actual de BIOMAT se encuentran el Tisuacryl[®]: un adhesivo tisular basado en cianoacrilato de n-butilo, el Multilatex[®]: una suspensión acuosa de esferas de poliestireno (látex) que se emplea como soporte sólido para el desarrollo de reactivos para el diagnóstico y el Biograft-G[®]: un granulado biodegradable de β -fosfato tricálcico para el relleno de cavidades en defectos óseos maxilofaciales (Wong-Hernández et al., 2019).

He et al. (2021) menciona que en la actualidad, los biomateriales se clasifican en cuatro generaciones las cuales se muestran en la figura 2.

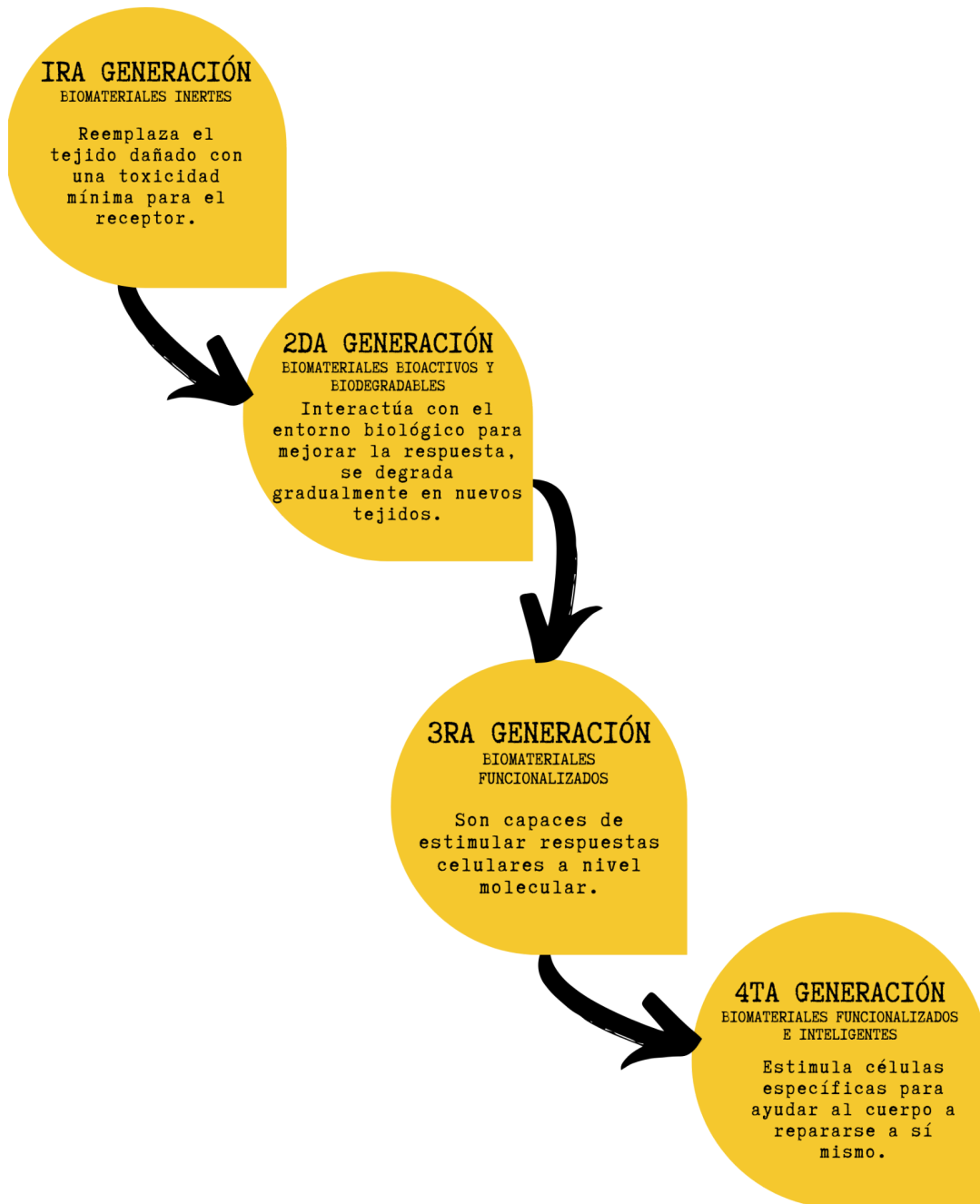


Figura 2. Biomateriales clasificados por generaciones (elaboración propia).

Los biomateriales poliméricos naturales son polimerizados en seres vivos, ya sean animales, plantas, microorganismos u hongos, y posteriormente aislados para su uso. Este tipo de biomateriales y sus derivados tienen la ventaja de poseer alta biocompatibilidad, buenas reacciones inmunes *in vivo*, funcionalidad y durabilidad. Estos polímeros pueden clasificarse en proteínas, poliésteres naturales y polisacáridos (Osorio et al., 2017).

2.2. Importancia Ambiental

Como hemos visto en los últimos años la actividad humana ha generado diversos problemas ambientales, las cuales han causado una gran preocupación a nivel mundial, entre los más destacados de acuerdo a la Comisión Nacional de Derechos Humanos (2014) se encuentran, la contaminación de los cuerpos de agua, de los suelos y del aire; el manejo adecuado de residuos, y las afectaciones a la biodiversidad, entre otros.

Es aquí donde la ciencia juega un papel importante en el desarrollo de nuevos tratamientos o tecnologías que ayuden a crear soluciones a estas problemáticas. Algunas aportaciones se han logrado con ayuda de biomateriales y técnicas siendo la más utilizada, el electrohilado. Pillay et al. (2013) comenta que dado que es comparativamente simple, asequible y útil para producir fibras ultrafinas con una producción de pasos simples que es difícil de lograr con otras técnicas convencionales de formación de fibras, la técnica de electrohilado ha ganado importancia.

De acuerdo con Bakshi et al. (2020) debido a sus beneficios, incluida la disponibilidad de recursos agrícolas o marinos renovables, biocompatibilidad, biodegradabilidad, etc., los biopolímeros naturales son cada vez más populares en las ciencias de la vida. Otro beneficio es que pueden transformarse en varios compuestos químicos o derivados alterados enzimáticamente para usos finales particulares. Pero así como tienen grandes beneficios también han tenido algunas desventajas, tal es el caso de la quitina la cual se produce comercialmente en India, Japón, Polonia, Noruega y Australia. Alrededor de 10^{10} a 10^{12} toneladas de quitina se producen año con año en la naturaleza y, por lo tanto, este biopolímero representa una fuente barata y fácilmente disponible. La industria de procesamiento de mariscos genera alrededor de 8,5 millones de toneladas de desechos y el procesamiento de camarones representa alrededor de cien mil toneladas de desechos.

La pesquería del camarón y la camaronicultura son actividades que generan una gran cantidad de desechos. En la actualidad, los subproductos derivados del procesamiento del camarón están siendo utilizados, y uno de los mejores usos es la obtención de quitosano a partir de la quitina presente en su cáscara (Pacheco-Aguilar et al., 2009). El hecho de que la quitina y sus derivados esten hechos de una fuente naturalmente renovable, no tóxica y no alérgica, además de antimicrobiana y biodegradable, a diferencia de los derivados del petróleo, ha hecho que su uso aumente. (Mármol et al., 2012).

De esta manera el hacer uso del Quitosano ayuda a reducir las cantidades excesivas de desechos generados en el procesamiento de mariscos y a su vez siendo utilizado para investigaciones debido a las cualidades que posee. Un ejemplo de su uso lo podemos ver en el trabajo publicado por el autor Sakib et al. (2021) en donde aplica diferentes tipos de nanofibras basadas en Quitosano para la eliminación de iones metálicos, tintes, aceites y desechos farmacéuticos de soluciones acuosas.

En México los indicadores de calidad del agua muestran que 73% de los cuerpos de agua del país están contaminados; el 80% de las descargas de centros urbanos y 85% de las descargas industriales se vierten directamente en ellos sin tratamiento previo (Riojas-Rodríguez, 2013).

2.3. Quitina

De acuerdo a Bakshi et al. (2020) la quitina es un homopolímero semicristalino de N-acetil-D-glucosamina con enlace β -(1 \rightarrow 4). Es el segundo biopolímero natural más abundante después de la celulosa. Es un biopolímero estructural, componente de la pared celular de los hongos y componente esquelético de los crustáceos. La forma material de la quitina suele ser un polisacárido nitrogenado blanco y duro que es inelástico. También se ha considerado que es la principal fuente de contaminación de las playas en las zonas costeras. La quitina se presenta como microfibrillas cristalinas en la naturaleza, que forman elementos estructurales de los exoesqueletos de los artrópodos y en las paredes celulares de los hongos (Elieh-Ali-Komi, 2016).

En la quitina, la estructura de polisacáridos está reforzada y modificada por una matriz proteica, mientras que en el colágeno, la estructura fibrosa de proteínas está reforzada por una red de polisacáridos (Bakshi et al., 2020).

La composición de la quitina no lo hace un polímero amigable para incluirlo en el desarrollo de nuevas formas farmacéuticas; Es por ello, que se debe procesar en un medio alcalino concentrado y a temperaturas altas de 60°C con el propósito de perder el resto acetilado del grupo acetamida del carbono 2; este tratamiento da lugar al quitosano (Leon et al., 2022).

2.4. Quitosano

El quitosano (CH) (poli-(1,4)-2-amino-2-desoxi-D-glucosa) es un biopolímero, este se deriva de la Quitina (poli-(1,4)-2-acetamida-2-D-desoxi-glucosa) y es el segundo polisacárido que se encuentra más abundante en la naturaleza después de la celulosa, Actualmente, el quitosano se obtiene principalmente por la desacetilación alcalina de la quitina, por métodos enzimáticos o químicos (Bohórquez et al., 2016; Râpă et al., 2016; Ren et al., 2017). La estructura final del quitosano tiene una amina primaria y dos grupos hidroxilo libres para cada monómero y puede expresarse mediante la fórmula general $C_6H_{11}O_4N$ (Goy et al., 2016) (figura 3).

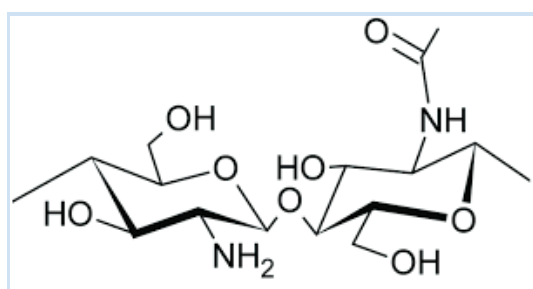


Figura 3. Estructura química del quitosano (Tomado de: Teixeira-Costa & Andrade, 2021)

De acuerdo con Martínez Valeriano et al. (2019) afirma que la quitina tiene una alta tasa de regeneración natural; según estimaciones la biosfera produce y degrada al menos 1×10^9 toneladas anuales. Dependiendo de cómo se hizo y cómo se procesó, las propiedades de la quitina pueden cambiar. Dado que se encuentra que este polímero es insoluble en agua, restringe severamente sus aplicaciones, siendo más práctico usar derivados directos en lugar del polímero original.

El mismo autor menciona que el más significativo de sus derivados es el quitosano, que además de estar presente en la naturaleza también se puede producir sintéticamente. La mayoría de sus unidades están desacetiladas, lo que influye tanto a sus propiedades químicas como biológicas, siendo esta su principal característica. Constituye uno de los pocos polímeros naturales catiónicos que se conoce. Es soluble en disoluciones ácidas diluidas, y muestra una alta actividad antimicrobiana. Ello se debe a que sus grupos amino adquieren carga positiva, lo cual también explica sus propiedades antimicrobianas. Otra de sus características clave es la alta viscosidad de las soluciones de quitosano, lo que favorece su actividad biológica. La actividad biológica de un polímero depende de una variedad de

variables, incluido su peso molecular promedio, el grado de acetilación y la concentración de la solución.

2.4.1 Propiedades y estructura química

El quitosano es el principal derivado de la quitina, es un amino-polisacárido compuesto principalmente de unidades repetitivas de 2-amino-2-desoxi-b-D-Glucopiranososa. Como se mencionó anteriormente la quitina se encuentra de manera abundante en la naturaleza y la podemos encontrar en los exoesqueletos de insectos y crustáceos, además de encontrarlo en las paredes celulares de algunos hongos, levaduras y algas. De ella se obtiene el quitosano mediante un proceso de desacetilación (Pedraza, 2015) (Figura 4).

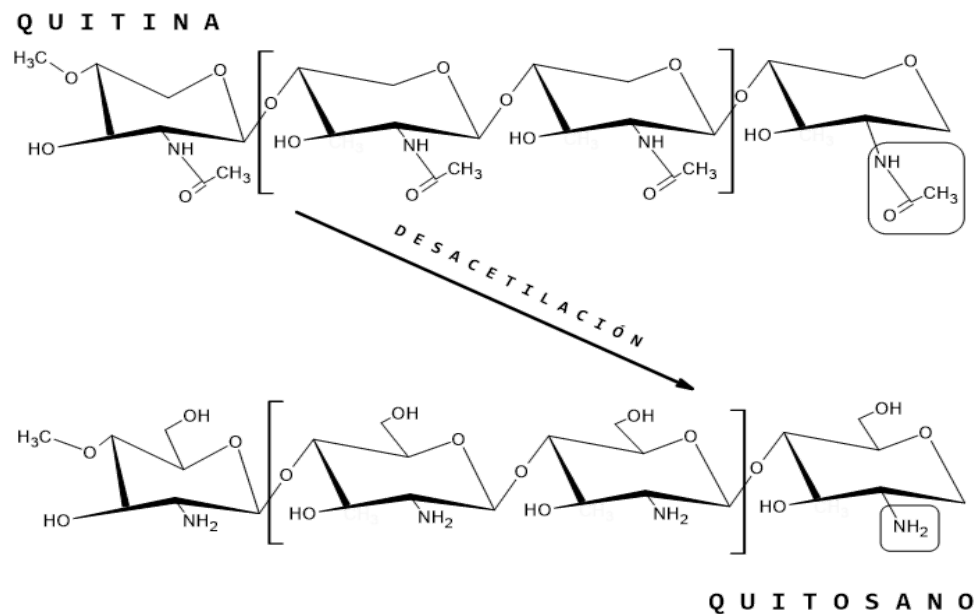


Figura 4. Proceso de desacetilación de la Quitina a Quitosano (elaboración propia).

Hossain y Iqbal (2014) comentan que el quitosano es un polímero biodegradable, no es tóxico y tiene un peso molecular alto similar a la celulosa, una fibra vegetal. La diferencia entre el quitosano y la celulosa es el grupo amina (-NH₂) en la posición C-2 del quitosano en lugar del grupo hidroxilo (-OH) que se encuentra en la celulosa. Además mencionan que a diferencia de la fibra vegetal, el quitosano cuenta con cargas iónicas positivas, lo que le da la capacidad de unirse químicamente con grasas, lípidos, colesterol, iones metálicos, proteínas y macromoléculas con carga negativa. En relación con eso, la quitina y el quitosano han conseguido un interés comercial creciente como materiales de recursos adecuados debido a sus excelentes propiedades entre las cuales se encuentran la biocompatibilidad,

biodegradabilidad, adsorción y capacidad para formar películas y quelar iones metálicos (Figura 5).

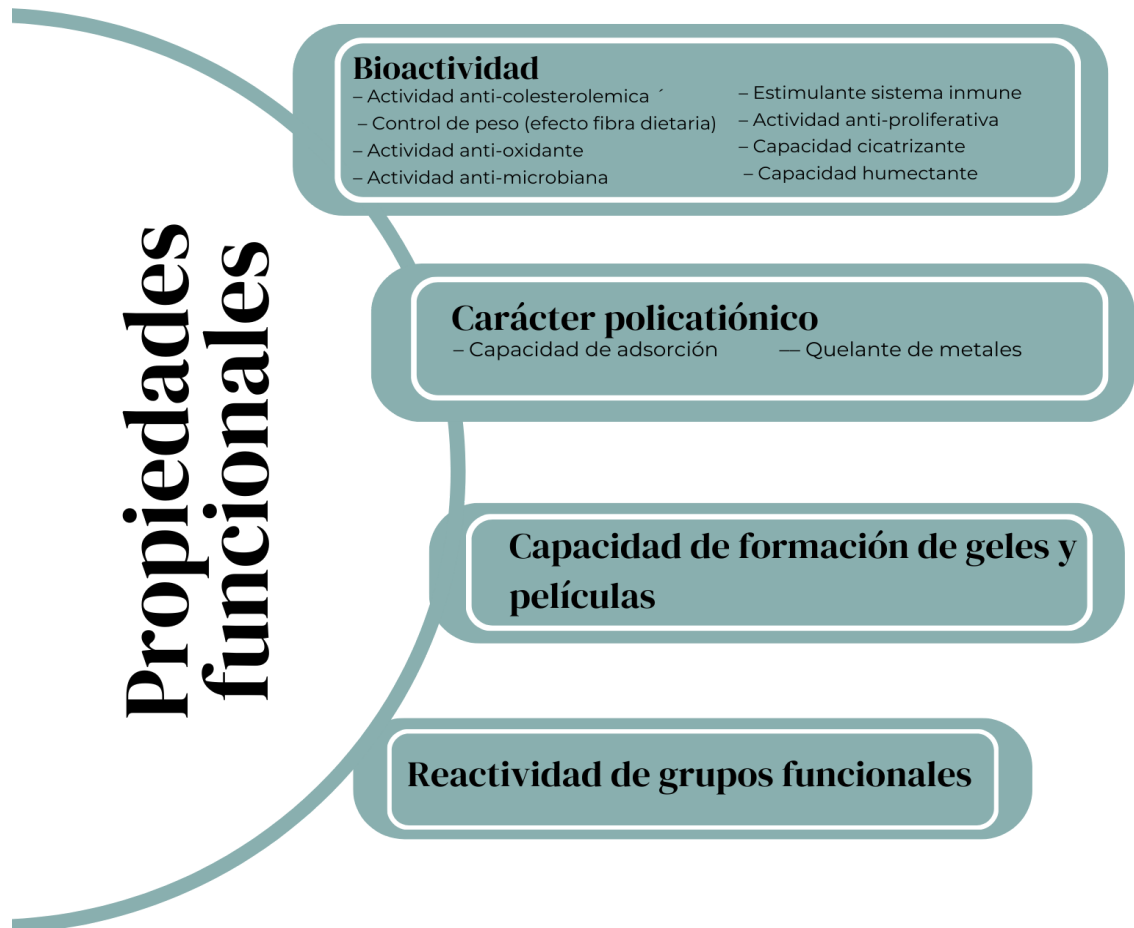


Figura 5. Propiedades funcionales del Quitosano (Salazar-Leyva et al., 2014).

Una de las razones de que el quitosano cuente con propiedades antimicrobianas son sus grupos amino cargados positivamente los cuales interactúan con las membranas celulares microbianas cargadas negativamente, esto provoca la fuga de proteínas y otros componentes intracelulares de los microorganismos (Râpă et al., 2016).

El quitosano es soluble en una solución ácida pero insoluble a pH neutro o alcalino debido a que el valor de pKa del quitosano es 6,5. La solubilidad del quitosano se basa en gran manera del grado de desacetilación (DDA). Cuando este llega a ser menor o igual al 40%, el quitosano es soluble hasta un pH de 9. Tomando en cuenta un DDA de quitosano

mayor o igual al 80%, es soluble sólo hasta un pH de 6.5. Además, el peso molecular (MW) de quitosano y la fuerza iónica de la solución contribuyen en la solubilidad del quitosano (Rojas, 2015).

Según Choi et al. (2016) las propiedades químicas del quitosano incluyendo propiedades catiónicas, apuntan a que la alta densidad de carga a pH <6.5 forma geles con polianiones, adherencia a superficies cargadas negativamente, quelatos de metales de transición determinados, y es fácilmente susceptible a modificación química.

Carece de hidrofobicidad y se combina con lípidos para fortalecer sus propiedades de barrera al agua y sus propiedades mecánicas. Cuando se llega a disolver en medios acuosos, el quitosano posee una alta carga positiva sobre sus grupos aminos y por lo tanto es capaz de unirse con los lípidos o grasas cargados negativamente (Bautista et al., 2018).

En películas multicomponentes elaboradas a base de polímeros y lípidos para proveer una mayor compatibilidad e interacciones que se reflejan en mejores propiedades mecánicas, fisicoquímicas y morfológicas entre los componentes se deben elaborar películas con un pH de 5.4 o, en caso contrario, en los cuales, las propiedades deban permitir mayores interacciones entre grupos polares de los componentes utilizar pH más básicos, como pH de 6.6 (Henaó et al., 2020).

El quitosano muestra una afinidad por otros solventes a diferencia de la quitina. Las interacciones intramoleculares e intermoleculares sustanciales, como los enlaces de hidrógeno, dan lugar a una estructura rígida de quitina que se refleja en su insolubilidad en agua y en la mayoría de los solventes orgánicos. En el caso de una forma de quitina parcialmente desacetilada, es decir, el quitosano, es soluble en ácidos diluidos (por ejemplo, acético o cítrico). Esto es consecuencia de la protonación de los grupos amino presentes en la estructura del quitosano. Por lo tanto, se puede observar que la solubilidad del derivado de quitina descrito está determinada por su grado de desacetilación, es decir, la relación molar de los grupos acetamido desacetilados a los no desacetilados (Tyliszczak et al., 2019) (Figura 6).



Figura 6. Principales propiedades químicas del Quitosano (Jiménez-Gómez & Cecilia, 2020)

2.4.2 Etapas para la obtención del Quitosano

Para la obtención del Quitosano es importante que la materia prima pase por una serie de pasos para su preparación (Pellis et al., 2022), las etapas que se llevan a cabo para que se logre su producción son las siguientes:

Acondicionamiento de la materia prima. Para este primer paso es necesario lavar con agua los caparazones a procesar para después proceder a moler hasta obtener el tamaño de partículas adecuado para la extracción. La extracción de la Quitina es crucial, ya que conforme a los parámetros y condiciones del método que se aplique influenciara las características principales de la Quitina pura, por ejemplo: su peso molecular, grado de

N-acetilación, pureza, índice de polidispersidad, viscosidad,color, entre otros. (Marinela et al., 2014; Romero et al., 2020).

Desproteínización. En esta etapa los caparazones de los crustáceos son tratados con una solución acuosa diluida de NaOH a temperatura altas que puede variar entre 65 a 100°C en un rango de concentración (0,125 - 2,5)M, donde el tiempo de tratamiento varía de algunos minutos o alcanzar hasta las 72 horas, se lleva a cabo a altas temperaturas y en ocasiones se realizan dos tratamientos consecutivos en un menor lapso de tiempo para evitar la despolimerización de las cadenas polisacáridas . La desproteínización con NaOH se realiza con la finalidad de disolver las proteínas que interfieren con la pureza de la quitina (Marinela et al., 2014; Pedraza, 2015; Romero et al., 2020).

Desmineralización. El autor De Queiroz Antonino et al. (2017) menciona que la desmineralización de los caparazones de los crustáceos suele realizarse con soluciones diluidas de HCl a temperatura ambiente para retirar el carbonato de calcio (CaCO_3) que hay presente en los caparazones, aunque también se han utilizado otros ácidos como HNO_3 , H_2SO_4 y CH_3COOH . La concentración de ácido y el tiempo de tratamiento dependen de la fuente de quitina, en cualquier caso, se evita que las temperaturas sean muy altas ya que podrían causar la degradación del polímero (De Queiroz Antonino et al., 2017).

Decoloración. La decoloración es un proceso en donde se retiran los pigmentos como la astaxantina, la cantaxantina, el astaceno, la luteína y el β - caroteno que se encuentran en los caparazones de los crustáceos. El tratamiento puede realizarse empleando H_2O_2 , KMnO_4 , o realizar extracciones con solventes como: acetona, etanol y/o cloroformo (Marinela et al., 2014; Pedraza, 2015; Romero et al., 2020).

Obtención de quitosano

De acuerdo con Hahn et al. (2020) el quitosano se obtiene mediante la eliminación de los grupos acetilo del polímero de quitina. Después de ello el quitosano que se produce tiene un alto grado de grupos amino libres (NH_2) lo cual genera sitios activos para muchas reacciones químicas, convirtiendo al quitosano en un polímero versátil adecuado para varias modificaciones y aplicaciones. Colina et al. (2014) menciona que generalmente la reacción se lleva a cabo en fase heterogénea empleando soluciones concentradas de NaOH o KOH (30–50%) a temperaturas superiores a 100°C, preferiblemente en atmósfera inerte o en presencia de sustancias reductoras como el NaBH_4 o el Na_2SO_3 para evitar la

despolimerización del polímero. Las condiciones específicas de la reacción se basaran en diversos factores, tales como el material de partida, el tratamiento previo, y el grado de desacetilación deseado. No obstante, con un solo tratamiento alcalino, el máximo grado de desacetilación alcanzado no suele sobrepasar del 75 al 85%. Tratamientos prolongados suelen provocar la degradación del polímero sin traducirse en un aumento sensible del grado de desacetilación.

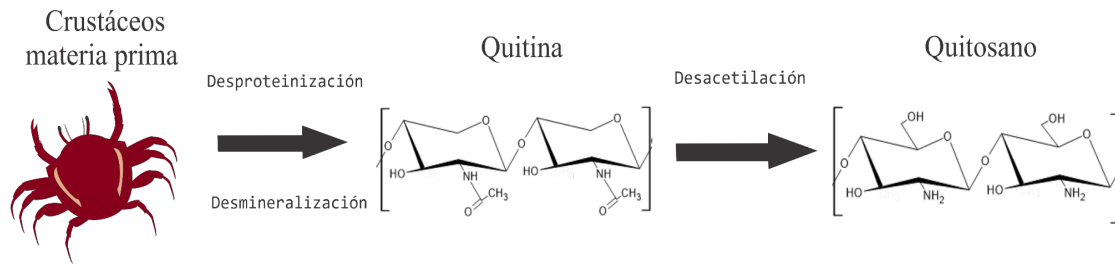


Figura 7. Esquema de obtención del quitosano (elaboración propia).

2.4.3 Modificación del Quitosano

Este material posee tres grupos funcionales: grupos hidroxilos primarios, secundarios y grupos amino, mediante estos grupos se pueden realizar cambios en la estructura química que pueden modificar significativamente las propiedades físico-mecánicas y ampliar el rango de aplicaciones de este material. Algunas propiedades como la reactividad, la solubilidad, biodegradabilidad dependen de la protonación de los grupos amino (Cavazos et al., 2020).

De acuerdo con Garcia et al. (2019) el quitosano es un polisacárido compuesto por unidades repetitivas de glucosamina-co-acetilglucosamina, y presenta un comportamiento físico químico único para diversas aplicaciones, como en el tratamiento de aguas residuales. El Quitosano, según menciona, tiene la capacidad de producir una gran cantidad de NH_3^+ libre en condiciones ácidas, lo que reduce la quelación de iones metálicos y la eficiencia de eliminación de metales pesados en las aguas residuales. Además, la baja densidad de carga a pH neutro y básico conduce a una baja solubilidad, agregación y mala estabilidad de las formulaciones a base de quitosano.

La creación de nuevas técnicas para aumentar la efectividad del tratamiento primario de aguas residuales es comparable al uso de nuevos productos químicos amigables con el medio ambiente, que garantizan la eliminación de metales pesados peligrosos y evitan operaciones

riesgosas. Debido a su potencial para unir, precipitar y flocular metales pesados, se están utilizando con gran interés nuevos compuestos con grupos carbamoilo en su estructura. La química médica, los sensores microbianos, los sensores electroquímicos y los sensores ambientales de iones metálicos son solo algunos de los usos conocidos de los ácidos carbamoil benzoicos (Martínez-Quiroz et al., 2017).

El mismo autor menciona que en trabajos previos se han reportado diferencias espectrales significativas en los ácidos carbamoil benzoicos en función del sustituyente en la amida, lo que conduce a un aumento o disminución en la deslocalización de electrones, así como en la intensidad de la fluorescencia. Además, la investigación sobre las propiedades fotofísicas de diferentes metales pesados en presencia de ácidos carbamoílicos reveló cómo podrían usarse para separar y detectar iones metálicos en medios acuosos (Martínez-Quiroz et al., 2017).

2.4.4 Aplicaciones del Quitosano

Este biopolímero natural ha destacado por sus aplicaciones debido a que posee interesantes propiedades, Cavazos et al. (2020) resalta algunas por ejemplo: su ventaja económica ya que provienen de una fuente natural renovable por ser un subproducto de la industria pesquera, no es tóxico, es biocompatible, biodegradable, bioactivo, y presenta actividad antimicrobiana.

Además menciona que tiene una amplia variedad de aplicaciones en diferentes industrias como la alimenticia, textil, agricultura, medicina, tratamiento de aguas residuales, cosméticos, biosensores y en el área farmacéutica como en la liberación controlada de fármacos. Las aplicaciones más recientes del quitosano son en la administración de fármacos periodontales, gastrointestinales y bucales. Este biopolímero es ampliamente utilizado a diferencia de otros polímeros naturales gracias a sus grupos funcionales que facilitan su manipulación y manejo.

Los autores Namboodiri y Pakshirajan (2019) señalan que se ha utilizado en la inmovilización de enzimas, como aditivo alimentario y como anticolesterolémico, para la cicatrización de heridas y en productos farmacéuticos para la administración de fármacos. Tanto la quitina como el quitosano se han utilizado como adsorbentes para la eliminación de colorantes de diversas aguas residuales. Debido a su alta densidad de carga, grupos amino reactivos, actividad antimicrobiana, biocompatibilidad y biodegradabilidad, el quitosano se

usa en diversas áreas, como los sectores ambiental, de alimentos y bebidas, farmacéutico y agrícola.

Tabla 1. Aplicaciones del Quitosano (Hameed et al., 2022)

Área	Aplicaciones
Materiales biomédicos y farmacéuticos	Tratamiento de quemaduras, sistemas de administración de fármacos, reparación y tratamiento dental, estructuras quirúrgicas, piel artificial, lentes para ojos, diálisis de sangre, vasos sanguíneos artificiales, usos antitumorales y antibióticos, cicatrización acelerada de heridas.
Cosméticos	Productos para el cuidado del cabello y la piel.
Ingeniería de tejidos	Regeneración de huesos y tejidos, reparación de andamios, regeneración de esponjas de sulfato en hueso, desarrollo de páncreas artificial, tratamiento de diabetes.
Agricultura	Recubrimiento de alimentos y semillas, eliminación de pesticidas y herbicidas del suelo y el agua, excelente recubrimiento de película con actividades antimicrobianas, conservación de alimentos poscosecha, mejora del crecimiento de las plantas, mejora de la calidad del suelo.
Aditivos alimentarios	Desacidificación de alimentos y bebidas, estabilización del color en alimentos, reducción de la absorción de lípidos, extensión del sabor natural, antioxidante y conservación de alimentos, agente de control, agente estabilizador, agente espesante, aditivos en alimentos para ganado y peces, fabricación de fibras dietéticas.
Ingeniería hidráulica	Tratamiento de aguas residuales, eliminación de metales pesados del agua, eliminación de pesticidas e iones del agua, eliminación de tintes del agua, eliminación de productos derivados del petróleo del agua, eliminación de tintes de efluentes, eliminación de color de aguas residuales textiles

2.5 Electrohilado

2.5.1. Técnica

El término electrohilado se deriva de "hilo electrostático", que es un proceso de hilado en seco que utiliza fuerzas electrostáticas para formar fibras pequeñas (10-100 μm a 10-100 nm) esto lo realiza a partir de una solución de polímero (Torres et al., 2018).

El electrohilado ha sido un método muy utilizado en aplicaciones en el área de la salud, este método combina la biología y la tecnología de impresión para la creación de nanofibras que faciliten un soporte semejante a la proteína fibrosa de la matriz extracelular. Para la creación de nanofibra se utilizan solventes orgánicos y ácidos que debido a su interacción molecular permiten que haya formación de una estructura nanofibrosa definida. Se compone de un mecanismo eléctrico que puede ser manejado por distintas variables, según la clasificación de Doshi y Reneker, estas se dividen en: solución, propiedades, variables controladas y parámetros ambientales (Molfino et al., 2020).

La técnica de electrohilado. El ensamblaje del montaje consta de tres componentes principales: una fuente de alto voltaje que posee dos electrodos los cuales son conectados a la salida de la aguja metálica y otro directo al plato colector, una aguja metálica y un plato colector (lámina de metal conductor). Para impulsar la solución del polímero a través del capilar hacia la placa colector, se utiliza una bomba de infusión. La tensión superficial de la gota que se forma en el extremo de la aguja es vencida por la fuerza del campo eléctrico, la gota se distorsiona formando el cono de Taylor, esta distorsión provoca la expulsión del polímero cargado eléctricamente en dirección al colector formando hilos delgados, si, el colector es rotatorio es posible la preparación de fibras poliméricas alineadas (Molfino et al., 2020).

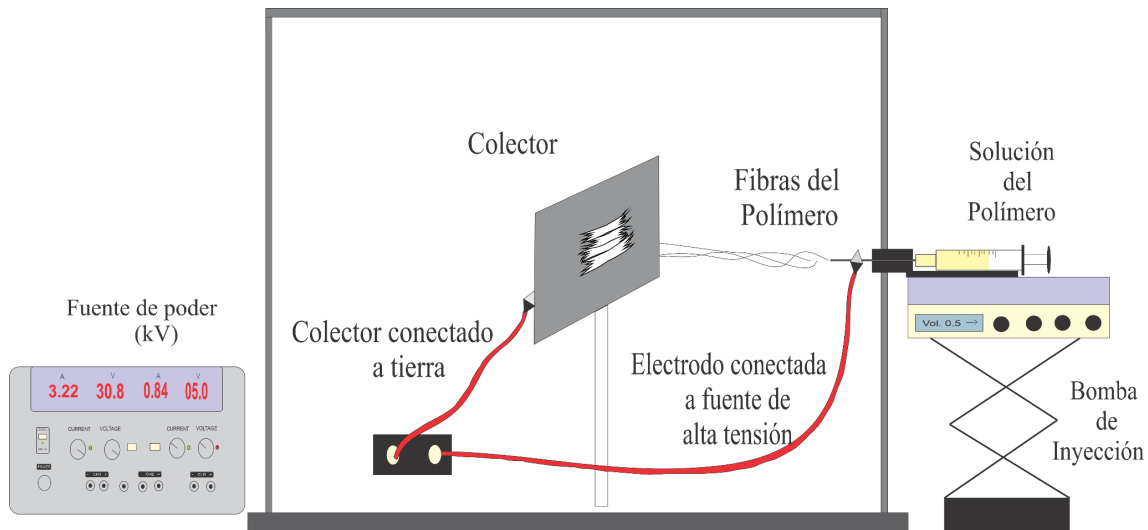


Figura 8. Esquema básico de un sistema de electrohilado (elaboración propia).

El proceso de electrohilado permite obtener fibras por medio de estiramiento coaxial de una solución viscoelástica; estas fibras poseen diámetros que van de las sub micras a los nanómetros, rangos en los que es posible encontrar características únicas, entre las que se encuentran: un área superficial muy grande en relación al volumen (en el caso de las nanofibras, esta relación puede ser un aproximado de 103 veces más que una microfibras), flexibilidad en la superficie, alta porosidad, poros interconectados y un rendimiento mecánico superior comparado con otras formas ya conocidas del material; estas características hacen de las nanofibras, óptimos candidatos para una variedad de aplicaciones, entre ellas: ingeniería de tejidos, textiles, elementos para cubrir heridas, medios de filtración, membranas especiales y diversas aplicaciones médicas tales como reemplazo de huesos, implantes dentales, sistemas de liberación de fármacos, injertos vasculares, vasos sanguíneos artificiales, entre otras (Rojas, 2015).

2.5.1.2. Tipos de electrohilado

Hay varios tipos de sistemas de electrohilado utilizados para la fabricación de nanofibras. Aquí hay algunos sistemas de uso común:

1. Electrohilado directo: Esta es la configuración de electrohilado más básica y directa. Consiste en una jeringa con una aguja metálica conectada a una fuente de alimentación de alto voltaje y una placa colectora colocada a cierta distancia. La solución de polímero se dispensa desde la punta de la aguja y se aplica un campo eléctrico alto para inducir el estiramiento electrostático de la solución, lo que conduce a la formación de fibras en el colector (Velasco et. al.,2016).

2. Electrohilado sin aguja: Este sistema elimina el uso de una aguja y en su lugar utiliza una boquilla o hilera con múltiples orificios pequeños para dispensar la solución de polímero. La configuración generalmente involucra un tambor giratorio o un colector en forma de anillo para recolectar las nanofibras. Este método es ventajoso para la producción de alto rendimiento y se puede utilizar para la fabricación continua de nanofibras (Keirouz et al., 2023).

3. Electrohilado coaxial: En este sistema, se utilizan dos agujas concéntricas para crear un flujo coaxial de dos soluciones de polímero diferentes o una solución de polímero y un fluido envolvente. Esta configuración permite la fabricación de nanofibras de núcleo y cubierta, donde los materiales del núcleo y la cubierta pueden ser diferentes polímeros o incluso soluciones cargadas de fármacos. El electrohilado coaxial permite la liberación controlada y la encapsulación de materiales dentro de las nanofibras (Han & Steckl, 2019).

4. Electrohilado de chorro múltiple: Este sistema involucra múltiples agujas o boquillas dispuestas en una matriz, lo que permite el electrohilado simultáneo de múltiples soluciones de polímeros o una mezcla de polímeros. El electrohilado de chorro múltiple ofrece la posibilidad de fabricar nanofibras compuestas con composiciones y propiedades variables a lo largo de la longitud de la fibra (Xing et al., 2023).

5. Electrohilado de colector rotatorio: este sistema utiliza un tambor rotatorio o colector cilíndrico cubierto con un material conductor, como papel de aluminio, sobre el cual se depositan las nanofibras. Esta configuración permite la producción continua de esteras o tubos de nanofibras, con alta escalabilidad y potencial para aplicaciones industriales (Xue et al., 2019).

Estos son solo algunos ejemplos de los diferentes tipos de sistemas de electrohilado que se utilizan para la fabricación de nanofibras. Cada sistema tiene sus propias ventajas y limitaciones, y la elección del sistema depende de los requisitos específicos de la aplicación de nanofibras (Anusiya & Jaiganesh, 2022).

2.5.1.3. Cono de Taylor

El cono de Taylor es una estructura que se forma durante el proceso de electrohilado, que es una técnica utilizada para producir fibras ultrafinas a partir de polímeros. Durante el proceso de electrohilado, se aplica una corriente eléctrica a una solución polimérica que se encuentra en una jeringa. A medida que la solución fluye a través de una aguja metálica fina,

la fuerza electrostática causa que la solución se estire hacia adelante, formando una corriente delgada de líquido (Xue et al., 2019).

A medida que la corriente de líquido continúa fluyendo hacia abajo de la aguja metálica, comienza a oscilar debido a la interacción entre la fuerza electrostática y la tensión superficial. Esta oscilación hace que el líquido se acumule en la punta de la aguja, lo que resulta en la formación del cono de Taylor (Jeong et al., 2022).

El cono de Taylor es una estructura cónica que se forma en la interfaz líquido-aire y tiene forma de gota invertida. En el caso del electrohilado, el cono de Taylor es importante porque actúa como una fuente de flujo de líquido para la formación de las fibras. A medida que el líquido fluye desde el cono de Taylor, se estira y seca, formando una fibra sólida y ultrafina (Al-Hazeem, 2018).

El tamaño y la forma del cono de Taylor dependen de varios factores como la velocidad de flujo del líquido, la viscosidad de la solución polimérica y las propiedades eléctricas del sistema. El control de estos parámetros es importante para producir fibras de alta calidad y uniformes. En general, el cono de Taylor es una parte esencial del proceso de electrohilado y su comprensión y control son fundamentales para la producción de fibras ultrafinas con propiedades específicas (Xue et al., 2019).

2.5.2. Parámetros de electrohilado

2.5.2.1. Campo eléctrico

El campo eléctrico juega un papel crucial en el proceso de electrohilado, que es una técnica utilizada para producir fibras ultradelgadas y nanoestructuradas a partir de polímeros (Huang et al., 2003).

El electrohilado implica la aplicación de un campo eléctrico a una solución de polímero disuelto en un solvente. El campo eléctrico actúa sobre las cargas eléctricas presentes en la solución, lo que induce la formación de un chorro de polímero en la solución. A medida que el chorro se acelera y se estira, comienza a perder solvente y se solidifica en forma de una fibra continua. El campo eléctrico controla la forma y orientación de la fibra, así como su diámetro y estructura interna (Xue et al., 2019).

La importancia del campo eléctrico en el electrohilado se puede resumir en los siguientes aspectos:

1. Control de la morfología: El campo eléctrico puede ser ajustado para controlar la forma y orientación de las fibras electrohiladas. Un campo eléctrico más fuerte puede generar fibras más rectas y alineadas, mientras que un campo eléctrico más débil puede provocar que las fibras sean más aleatorias y retorcidas (Xue et al., 2019).

2. Control del diámetro: El campo eléctrico tiene un impacto directo en el diámetro de las fibras electrohiladas. Un campo eléctrico más fuerte tiende a producir fibras con un diámetro más pequeño, mientras que un campo eléctrico más débil resulta en fibras con un diámetro más grande (Mao et al., 2023).

3. Control de la estructura interna: El campo eléctrico también influye en la estructura interna de las fibras electrohiladas, que puede variar desde una estructura amorfa a una estructura más ordenada. Esto se debe a que el campo eléctrico puede alinear y orientar las cadenas de polímero en la fibra mientras se solidifica (Xue et al., 2019).

Finalmente, el campo eléctrico desempeña un papel crítico en el electrohilado al controlar la morfología, el diámetro y la estructura interna de las fibras electrohiladas. Esto permite la fabricación de fibras con propiedades específicas para una amplia gama de aplicaciones, como la filtración, la medicina regenerativa, la electrónica flexible y los materiales compuestos (Aruchamy et al., 2018).

2.5.2.2. Concentración y viscosidad del polímero

El tamaño y morfología de la fibra está directamente relacionado con la concentración de polímeros, influenciando la viscosidad relacionada con el enredo de las cadenas poliméricas, a menor enredo menor viscosidad. Si la concentración está muy diluida las fibras se rompen antes de llegar al plato colector debido a la tensión superficial, por el caso contrario si está muy concentrada no se podrá formar la fibra por su alta viscosidad, impedimento para el paso de solución a través del capilar (Molfino et al., 2020).

2.5.2.3. Colector de aguja de caudal y distancia

La variación de la distancia entre aguja-colector puede o no tener efecto en el grosor y forma de la fibra, ocasionando apariciones de beads, grumos o fibras húmedas. Una distancia pequeña evitará que el solvente se evapore y el polímero salga en forma de hilo. Al trabajar con una distancia mucho mayor la fibra podría quebrarse debido a su propio peso. Es importante un método de optimización con los parámetros más relevantes como la distancia aguja-colector, flujo de salida, voltaje y concentración de la solución (Molfino et al., 2020).

2.6. Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

El método de espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), permite observar la presencia de los grupos funcionales distintivos de cada monómero. En la rama ambiental, donde las muestras acuosas se tratan con hidrogeles para eliminar impurezas como aniones, colorantes e iones de metales pesados. FTIR ofrece la oportunidad de investigar las interacciones que tienen lugar entre los contaminantes y la matriz reticulada (Ramirez et al., 2016).

Todas las moléculas pueden manifestar una serie de bandas de absorción, cada banda corresponde con un movimiento de vibración de un enlace específico dentro de la molécula, a este conjunto de señales se les conoce como la "huella dactilar" del compuesto. La mayoría de los componentes de un enlace químico tienen movimientos vibracionales con frecuencias dentro del infrarrojo medio (4000 a 650 cm^{-1}), moléculas tales como lípidos, proteínas, carbohidratos, ácidos nucleicos y otras presentes en una muestra biológica tienen cada una un espectro de infrarrojo específico. La radiación es absorbida por un enlace cuando la frecuencia vibracional de la onda electromagnética usada es la misma que la del propio enlace, haciendo posible la asignación de picos de absorción a grupos funcionales específicos (Barraza-Garza et al., 2013).

2.7. Pruebas antimicrobianas

Una de las pruebas más utilizadas in vitro es el ensayo en placas de microtitulación en cuyos pocillos se introducen el cultivo de estudio, sea la cepa indicadora o microorganismo a determinar susceptibilidad a una determinada concentración ($\sim 10^4$ UFC/mL), además de las diluciones de los antimicrobianos en estudio, incubando la placa a las condiciones de temperatura y tiempo óptimas de crecimiento (30-35 °C/16-24h). Estas deben contener concentraciones (mg/L) que incluyan valores mayores y valores menores a la CMI determinada previamente para cada agente por separado contra la bacteria indicadora o microorganismo a estudiar. Una vez que se titulan los pocillos con antimicrobianos de concentración conocida (1/n) y se determinan aquellas CMI's que ejercen el efecto esperado en presencia de A con B y viceversa, se determina la Concentración Fraccional Inhibitoria (CFI) de cada componente basándose en las CMI's individuales. Esta es una expresión matemática utilizada para determinar cual de los efectos mencionados anteriormente posee la combinación de los antimicrobianos, de acuerdo a la suma de las CFI individuales y en la cual se pueden obtener valores de ≤ 0.5 para un efecto sinérgico, de 0.5-1.0 para un efecto

aditivo, >1 a 2 para un efecto de indiferencia y ≥ 2 cuando se presenta un antagonismo, de acuerdo a algunos de las directrices de referencia anteriormente mencionadas (De La Fuente-Salcido et al., 2015).

2.8. Análisis Termogravimétrico (TGA)

El análisis termogravimétrico consiste en registrar continuamente la variación de la masa del material en estudio conforme se varía la temperatura a una tasa térmica constante (cambio de temperatura lineal). Este tipo de procedimiento termogravimétrico se conoce como análisis dinámico. Existe la opción de hacer un análisis termogravimétrico isotérmico, en el cual se mantiene la temperatura constante por un periodo establecido. Como resultado del análisis termogravimétrico se obtienen los datos de cambio de masa con respecto a la temperatura o al tiempo y un termograma, el cual representa gráficamente las variaciones porcentuales de la masa (Rodríguez & Villegas, 2010).

2.9. Microscopia Electronica de Barrido (MEB)

El microscopio electrónico de barrido (MEB) es uno de los métodos más comunes para obtener imágenes de la microestructura y la morfología de los materiales. En MEB, un haz de electrones con baja energía se irradia al material y escanea la superficie de la muestra (Tayebi et al., 2017).

Es uno de los métodos instrumentales más utilizados para el examen y análisis de la caracterización de imágenes de micro y nanopartículas de objetos sólidos. Una de las razones por las que se prefiere SEM para el análisis del tamaño de partículas se debe a su resolución de 10 nm (Raval et al., 2019).

III. OBJETIVO GENERAL

Sintetizar y caracterizar fisicoquímicamente, morfológicamente y biológicamente fibras electrohiladas poliméricas de PVP/ChS y PVP/ChQ3 para su potencial uso en salud y medio ambiente.

3. Objetivos Específicos

- Sintetizar fibras electrohiladas polimericas de PVP/Ch
- Caracterizar fisicoquímicamente los grupos funcionales presentes en las fibras electrohiladas polimericas de PVP/Ch a través de la técnicas de espectroscopia infrarroja transformada de Fourier (FTIR)
- Evaluar la morfología de las fibras obtenidas de PVP/Ch y calcular el diametro de las fibras a través de microscopia electrónica de barrido (MEB)
- Caracterizar la estabilidad térmica de las fibras electrohiladas de PVP/Ch a través del análisis termogravimetrico y calorimetria diferencial de barrido
- Evaluar la bioactividad y antibacteriana utilizando *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

IV. HIPÓTESIS

El quitosano (Ch) cuenta con buenas propiedades que pueden ser empleadas para aplicaciones médicas y ambientales. Por lo que es posible electrohilar fibras de PVP cargadas con Ch con caracterizticas fisicoquimicas y morfologicas deseables y propiedades antimicrobianas.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Materiales

Quitosano (Ch) de uso cosmético fue donado por Theodore Ng cirujano maxilofacial de la clinica de cirugia privada, Oakland, California, United States con un peso molecular de 1000, 2000, 3000, 4000 y 5000 Da, grado de desacetilación de $\geq 90.0\%$. Además se utilizó quitosano modificado el cual fue proporcionado por el Dr. Eduardo Alberto Lopez Maldonado de la Universidad Autónoma de Baja California. Además se utilizaron otros polímeros adicionales como poli (vinil pirrolidona) (Sigma Aldrich, peso molecular 360,000 Da). Como solventes los utilizados fueron Metanol (Sigma Aldrich, CAS: 67-56-1) y ácido acético glacial (Jalmek, CAS: 64-19-7).

5.2. Modificación de quitosano

La síntesis de quitosano modificado se realizó de acuerdo a la técnica proporcionada por el Dr. Eduardo Alberto López Maldonado, codirector de tesis, la misma que menciona en el artículo *“Modification of chitosan with carbamoyl benzoic acids for testing its coagulant-flocculant and binding capacities in removal of metallic ions typically contained in plating wastewater”* (Martínez-Quiroz et al., 2018),

En un matraz de fondo redondo se calentó durante 15 min 100 mg de quitosano en ácido acético al 0.7%, para diluir por completo el quitosano. Una vez disuelto se agrega lentamente diferentes números de equivalentes del ácido carbamoil carboxílico correspondiente, con el fin de estudiar el grado de funcionalización del quitosano. La reacción se mantuvo en agitación durante 24 h y una vez pasado el tiempo se modificó el pH de la solución para obtener un valor de 6. Posterior a ello se realizaron lavados con etanol y acetona.

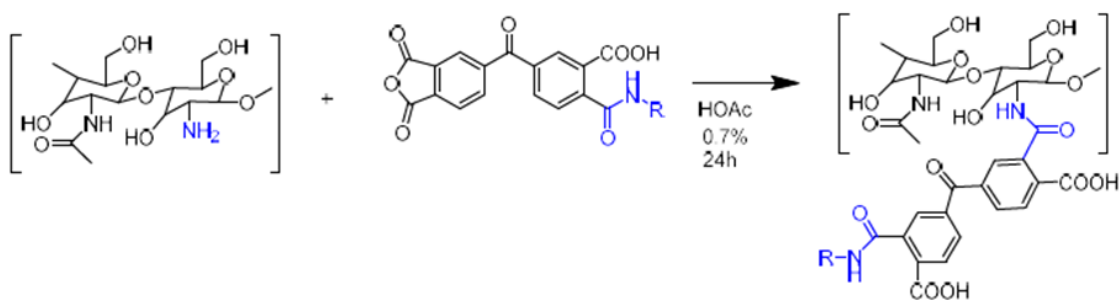


Figura 9. Ruta de síntesis de quitosano modificado con ácidos bis(carbamoyl carboxílicos).

5.3. Preparaciones de solución

Para la preparación de soluciones para el proceso de electrohilado, fue necesario preparar las soluciones con una concentración y viscosidad adecuada para ser electrohilada. Se intentaron diversas concentraciones y diversos métodos hasta encontrar la óptima para la elaboración de las fibras. Como primer paso se intentó electrohilar el Quitosano puro con ácido acético, pero esto no resultó exitoso debido a las cadenas que presenta en su estructura las cuales no eran posible romperse y por lo tanto no se formaba el cono de Taylor. Por tal motivo se preparan soluciones de Quitosano usando un polímero adicional, en este caso se optó por utilizar Polivinilpirrolidona (PVP) debido a que es un polímero soluble en agua, lo cual nos permitirá una vez obtenidas las fibras, eliminar con agua el PVP, además de ser un polímero muy gentil a la hora de electrohilar. La solución fue preparada al 50% de PVP con

Quitosano en diferentes concentraciones y fue agitada hasta que se hizo evidente una solución homogénea.

Finalmente, se prepararon 2 soluciones poliméricas para electrohilado, siguiendo la proporción de la tabla 2.

Tabla 2. Soluciones PVP / Ch preparadas para electrohilado.

Muestra	% PVP	% Quitosano
PVP/ChS	50%	1, 2, 3%
PVP/ChQ3	50%	1, 2, 3%

5.4. Electrohilado

Para la obtención de las fibras electrohiladas las soluciones del polímero se cargaron en una jeringa y se colocaron sobre un sistema de inyección de bomba, el dispositivo de electrohilado se configuró con los siguientes parámetros aproximadamente.

Tabla 3. Condiciones de electrohilado.

Parámetro	
Temperatura	20-24° C
Humedad	27-30%
Distancia desde la punta de la jeringa al colector	15 cm
Aguja	16”
Voltaje	20kV
Caudal	0.75mL/h

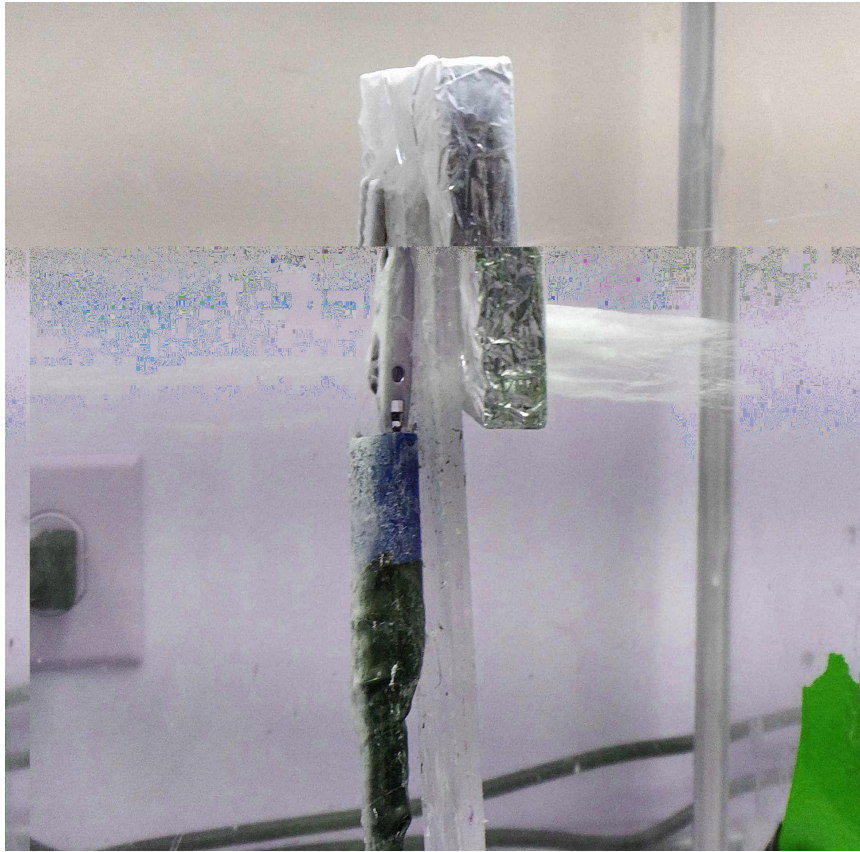


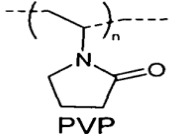
Figura 10. Fibras de PVP/Ch fabricadas por la técnica de electrohilado.

5.5. Caracterización de microfibras PVP/ Ch

La PVP, también llamada polividona o povidona , es un polímero sintético formado de grupos lineales de 1-vinil-2-pirrolidona. Este polímero tiene una estructura de poli-N-vinilamida y una cadena de carbono con un grupo amida en el sustituyente lateral. (Teodorescu & Bercea, 2015)

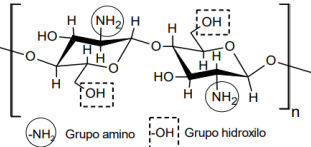
La polivinilpirrolidona (PVP) es un polímero soluble en agua, biodegradable inerte, no tóxico, resistente a la temperatura, con pH estable, biocompatible y que ayuda a encapsular y abastecer fármacos hidrofílicos y lipofílicos. Sus ventajas lo convierten en polímero versátil para el desarrollo de formulaciones tanto convencionales como novedosas para sistemas de administración controlada además de contar con propiedades ajustables que permiten usarlo en más aplicaciones como ingeniería de tejidos. (Kurakula & Rao, 2020)

Tabla 4. Estructura PVP

Polivinilpirrolidona	Grupos funcionales	
	Amidas	

El quitosano es un copolímero de N-acetil-D-glucosa amina y D-glucosa amina, es un polímero lineal y semicristalino. La presencia de grupos amino en la estructura del quitosano podría protonarse, dando como resultado solubilidad en soluciones acuosas ácidas diluidas; Varias propiedades del quitosano han permitido oportunidades para el desarrollo de aplicaciones biomédicas. (H. M. Ibrahim & Zairy, 2015)

Tabla 5. Estructura Quitosano

Quitosano	Grupos funcionales	
	Acetilamina	
	Amina	
	Hidroxilo	

5.6. Espectroscopía infrarroja por transformada de fourier (FTIR)

Una vez procesado el material mediante la técnica de electrohilado y con las modificaciones aplicadas al biopolímero, era necesario evaluar si las fibras presentaron cambios químicos después de ello mediante el espectro infrarrojo.

Para medir los espectros infrarrojos de transmisión de los filmes y los polvos se utilizó un espectrofotómetro infrarrojo de transformada de fourier (modelo Thermo Scientific Nicolet iS5) Se tomaron muestras de cada andamio con dimensiones de 0,5 x 0,5 cm y se colocaron en la lente del módulo ATR. Las muestras se analizaron en un espectro de 4000 - 400 cm⁻¹ números de onda. Los espectros se analizaron con el software Omnic.

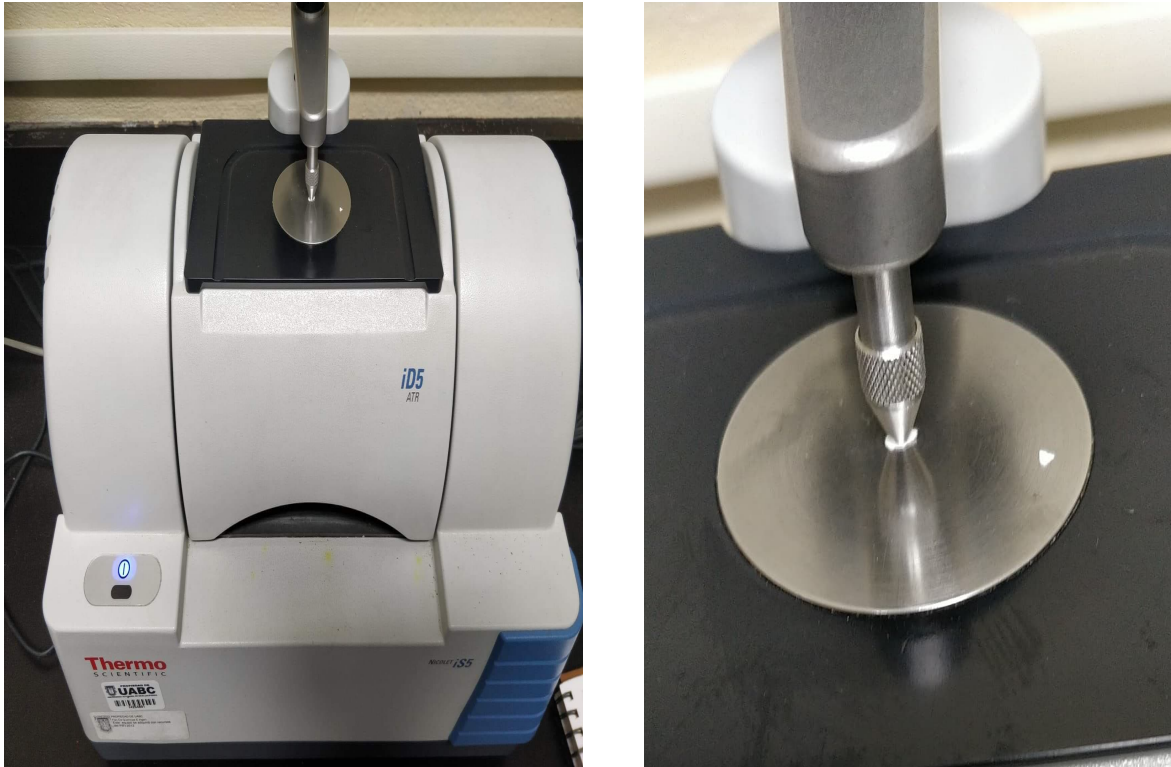


Figura 12. Análisis de las fibras PVP/Ch con el espectrofotómetro infrarrojo de transformada de Fourier.

5.7 Microscopía Electrónica de barrido (MEB)

Para conocer la morfología superficial y el diámetro de las fibras poliméricas de las nanofibras se realizó una microscopía electrónica de barrido (MEB) mediante un microscopio de emisión de campo JEOL JSM 7600F (JEOL Ltd., Tokio, Japón) utilizando un voltaje de aceleración de 11 kV. Se colocó un fragmento de la muestra sobre el equipo y se tomaron imágenes a 400 X, 10 KX y 20 KX de amplificación.

Para medir el diámetro y la porosidad de las nanofibras seleccionadas se utilizó la herramienta Image J realizando 20 mediciones por imagen.

5.8 Análisis termogravimétrico (TGA)

Para la realización de este ensayo fue utilizado el equipo modelo Shimadzu TGA-Q500. la intención de realizar este análisis termogravimétrico fue analizar y registrar cambios producidos en las masas de las muestras mientras la temperatura aumentaba y establecer la temperatura en la que se observaba la degradación térmica

La prueba se realizó elevando la temperatura desde temperatura ambiente (± 20 °C) hasta 800 °C en un matraz de platino sin sellar y utilizando nitrógeno con un flujo de 20 mL/min. Los termogramas se analizaron utilizando el software de análisis universal TA, se obtuvieron también las curvas termogravimétricas (DRTG) para identificar la temperatura de degradación máxima ($T_{\text{deg max}}$) de las muestras. Los termogramas obtenidos fueron analizados en el software Origin 2019.

5.9 Pruebas antibacterianas

Se realizó prueba antibacteriana para probar la susceptibilidad de las bacterias a los agentes microbianos. Para ello usamos diferentes muestras obtenidas por medio de la técnica de electrohilado, las cuales fueron cortadas por triplicado en círculos para posteriormente colocarlas en una placa de 96 pocillos. Se utilizó una placa de 96 pocillos para cada cepa bacteriana. Las cepas utilizadas fueron *Staphylococcus aureus* (ATCC 23235) y *Escherichia coli* (ATCC 25922), y *Pseudomona aeruginosa* (ATTC 39327) las cuales se cultivaron en medio Muller-Hinton previamente esterilizado a 35 °C durante 24 h. Una vez listos los medios de cultivo se adicionó 50 μL de cada bacteria, del cual fueron tomados 200 μL para colocarlo en el fondo de cada placa y ser incubados por un periodo de 24 h. Nuestro control negativo fue 200 μL de penicilina. Una vez pasadas estas horas se retiraron las muestras del medio para realizar la lectura de absorbancia con el lector de microplacas, esto se repitió a las 48 h y 72 h con un espectrofotómetro (Thermo Scientific) a 600 nm.

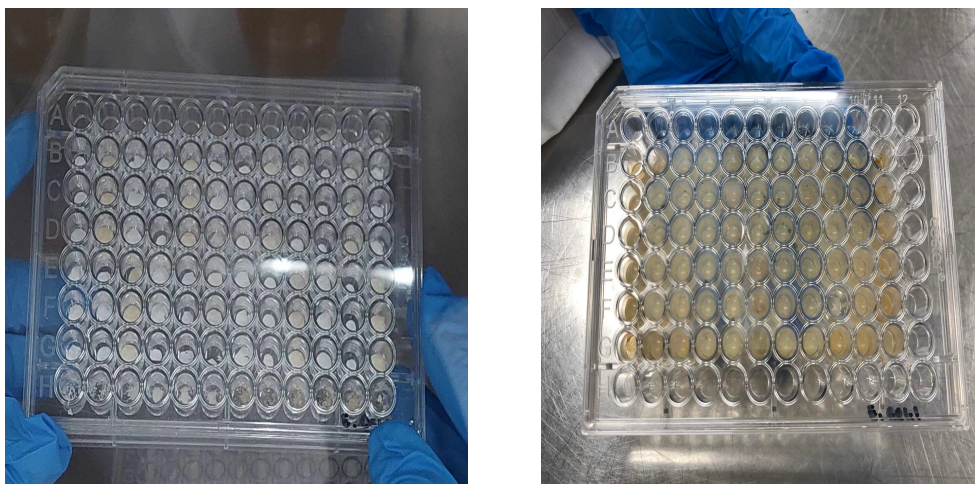


Figura 11. Montaje de las fibras PVP/Ch en microplaca y exposición bacteriana con las fibras.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6. Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier

En la figura 2 se observa la comparación realizada a los espectros FTIR de los 4 polvos de quitosano (ChMw, ChLw, ChQ2, ChS). En la ilustración se puede observar la similitud que tiene el espectro del ChQ3 con los espectros de los quitosanos convencionales (ChMw, ChLw); se observa la presencia de las bandas características en $\sim 3350\text{ cm}^{-1}$ y $\sim 3278\text{ cm}^{-1}$ que corresponden al estiramiento de los grupos funcionales N-H y O-H así como a los enlaces intramoleculares de hidrógeno, y la banda de adsorción presente en 2951 y 2897 cm^{-1} se atribuye al estiramiento simétrico y asimétrico del grupo C-H. Dichas bandas se denominan típicas de los polisacáridos y se encuentran presentes en sus espectros. También se puede confirmar la presencia de los grupos N-acetilo con el grupo C=O en la banda $\sim 1640\text{ cm}^{-1}$ y la flexión del grupo NH_2 en la banda $\sim 1580\text{ cm}^{-1}$. Se observa también una señal en la banda $\sim 1024\text{ cm}^{-1}$ correspondiente al estiramiento asimétrico del grupo C-O. Por otro lado, en el espectro del polvo modificado (ChQ3) se observan señales que demuestran la presencia de los compuestos benzoicos tales como $\sim 1686\text{ cm}^{-1}$ (C=C) y $\sim 1060\text{ cm}^{-1}$ (C-O).

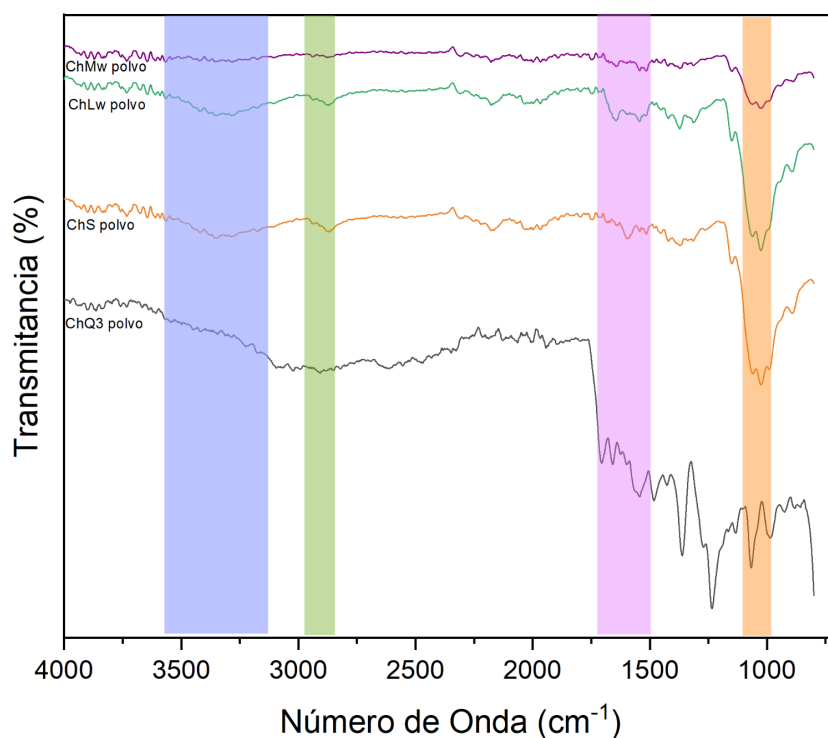
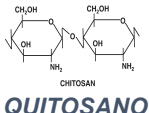


Figura 24. Comparación del espectro FTIR de los polvos y ChQ3

Tabla 11. Señales localizadas de FTIR de las fibras PVP/ChQ3 y PVP/ChS a diferentes proporciones de quitosano.

POSICIÓN DEL PICO					
MUESTRA	GRUPOS FUNCIONALES				
ASIGNACIÓN DE ENLACE	NH2 estiramiento simétrico y asimétrico	C=O	NH2 flexión C=C	C-O estiramiento asimétrico	
			2900-2800 (d) cm ⁻¹	3500-3100 (m) cm ⁻¹	
ChMw	3349-3278	1640	1584	1021	
ChLw	3350-3279	1642	1582	1021	
ChS	3350-3282	1640	1544	1027	
ChQ3	3380-3231	1538	1686	1072	

En el caso de la figura 25 los espectros FTIR mostraron vibración de estiramiento en N-H (3500-3100 cm⁻¹) se pueden observar bandas de absorción características de los grupos funcionales del quitosano, tales como, la banda de absorción que se muestra a 2956 cm⁻¹ la cual se origina de las vibraciones del estiramiento del enlace C=O.

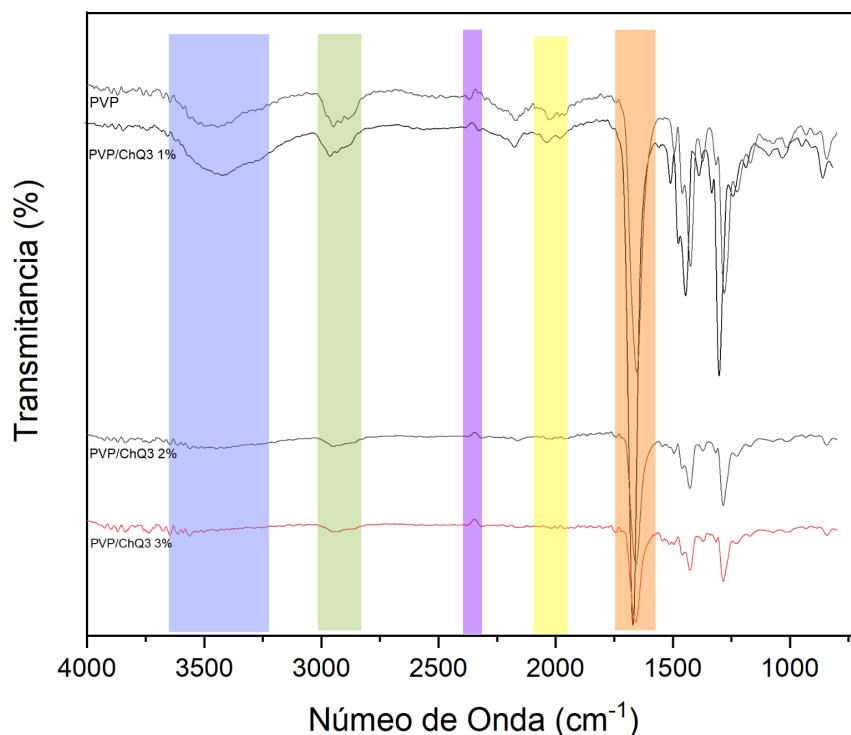


Figura 25. Comparación del espectro FTIR del ChQ3 en sus diferentes porcentajes.

Tabla 12. Señales localizadas de FTIR de las fibras PVP/ChQ3 a diferentes proporciones de quitosano.

POSICIÓN DEL PICO					
MUESTRA	GRUPOS FUNCIONALES				
	O-H (alcohol tensión)	N-H (amina)	O=C=O (dióxido de carbono)	C≡N (nitrilo)	C=O (Carbonilo, tensión)
	3550-3200 (f, amplia)	3000-2800	2349 (f)	2260-2222	1739-1582

ChQ3 1 %	3591-3335	3018-2840	2340	2051-194 7	1658
ChQ3 2 %	NP	3003-2832	2340	NP	1656
ChQ3 3 %	NP	3011-2829	2340	NP	1660
PVP	3582-3326	3014-2836	2343	2051-194 7	1657

Así mismo, la figura 26 muestra las señales más evidentes correspondientes a grupos funcionales específicos en muestras de PVP_{control} y PVP/ChS. Se observan en las bandas en 3341-3270 cm⁻¹ el estiramiento simétrico y asimétrico de un grupo de amina secundaria. En las regiones de ~2800 y ~3000 cm⁻¹ existen señales simétricas y asimétricas atribuidas a conjuntos CH y -CH₂- presentes en la composición de PVP y ChS. Esto corresponde al conjunto de nitrilo disponible (C≡N) que también se encuentra en PVP. La banda más característica se encuentra en aproximadamente 1658 cm⁻¹, que corresponde al estiramiento del grupo carbonilo (C=O) presente tanto en las composiciones de ChS como de PVP. Dentro del intervalo entre ~3500 y ~3100 cm⁻¹, se observan bandas características de los grupos amina (NH), predominantemente prominentes en la composición de ChS.

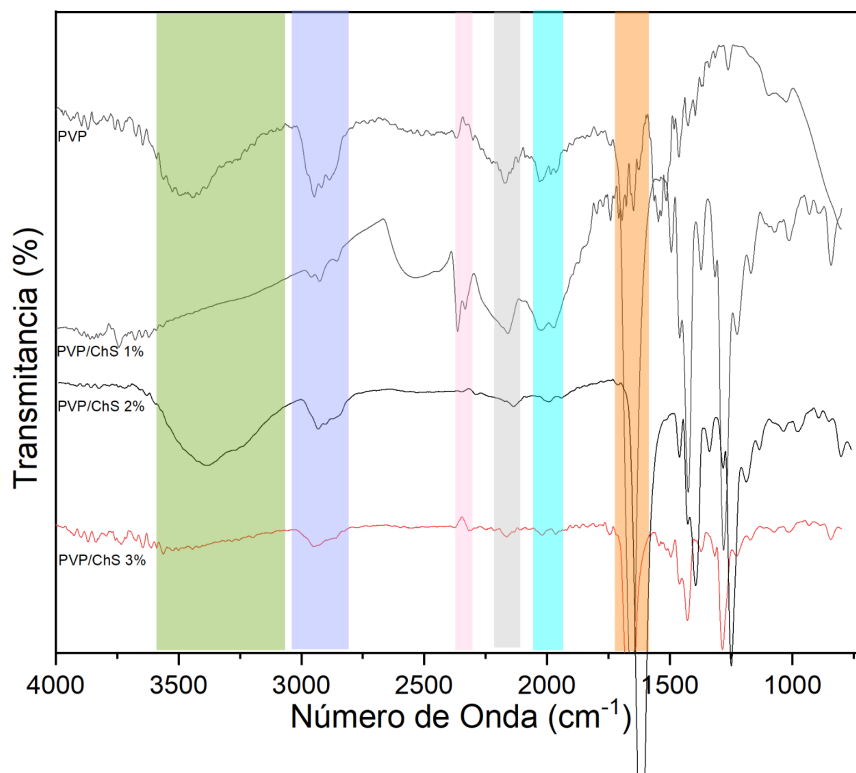


Figura 26. Comparación del espectro FTIR del ChS en sus diferentes porcentajes.

Tabla 13. Señales localizadas de FTIR de las fibras PVP/ChS a diferentes proporciones de quitosano.

POSICIÓN DEL PICO						
MUESTRA	GRUPOS FUNCIONALES					
	N-H (amina secundaria)	C-H (alqueno tensión)	O=C=O (dióxido de carbono)	C≡C (alquino)	C=C=C (aleno tensión)	C=O (Carbonilo, tensión)

	3350-3310 (m)	3000-2800 (m)	2349 (f)	2250-2100	2000-1900 (m)	1739-1582
ChS 1 %	NP	2960-2840	2357	2161	NP	NP
ChS 2 %	3341-3270	2932-2887	NP	2161	2174	1658
ChS 3 %	NP	2950-2894	2347	2157	2162	1660
PVP	3431-3286	2950.2883	2340	2168	2051-1947	1657

6.1. Microscopia Electrónica de Barrido (MEB)

Las imágenes MEB de las muestras de PVP/Ch se muestran en la figura 23. Para la primera muestra PVP/ChS en sus tres concentraciones podemos observar que la concentración de 1% fue la que presentó una mayor porosidad en comparación a las otras dos, las cuales mostraron una fase membranosa lisa y no porosa.

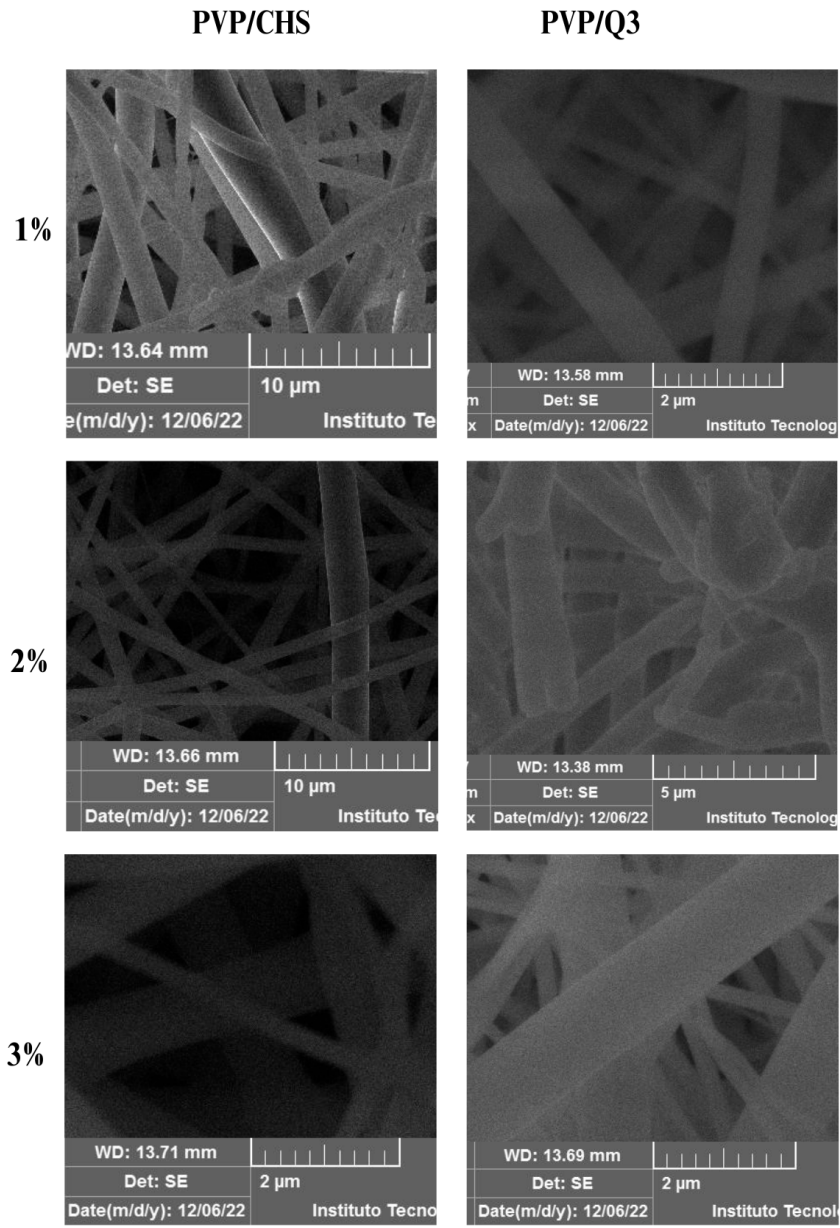


Figura 23. Microfotografías MEB de las fibras de PVP/ChS y PVP/ChQ3.

Tabla 10. Diámetro promedio de las fibras electrohiladas de PVP/Ch

	PROMEDIO	DESV. EST	
	(μm)	(μm)	(μm)
PVP/ChQ3 1%	1	0.05	1 \pm 0.05
PVP/ChQ3 2%	2	0.53	2 \pm 0.5
PVP/ChQ3 3%	1	0.03	1 \pm 0.03
PVP/ChS 1%	2	0.17	2 \pm 0.1
PVP/ChS2%	2	0.16	2 \pm 0.1
PVP/ChS 3%	1	0.06	1 \pm 0.06

Los diámetros promedios de las fibras electrohiladas son un factor crítico en una amplia gama de aplicaciones, desde la filtración y la textil hasta la medicina y la nanotecnología, ya que afectan directamente a las propiedades y el rendimiento de los productos finales en estas áreas. El control preciso del diámetro de las fibras es esencial para satisfacer las necesidades específicas de cada aplicación (Al-Abduljabbar & Farooq, 2022).

En la fabricación de filtros, como los utilizados en la purificación de agua y aire, el tamaño de los poros y la eficacia de retención de partículas dependen en gran medida del diámetro de las fibras utilizadas en el medio filtrante. Fibras más finas suelen resultar en una mejor eficiencia de filtración (Shao et al., 2022).

En la industria textil, los diámetros promedios de las fibras electrohiladas influyen en la suavidad, la resistencia y la apariencia de los tejidos. Fibras más finas pueden utilizarse para producir telas suaves y livianas, mientras que fibras más gruesas pueden ser ideales para prendas resistentes y duraderas (Shah et al., 2022).

En aplicaciones biomédicas, como la fabricación de suturas, apósitos y andamios para ingeniería de tejidos, el diámetro de las fibras electrohiladas es esencial para determinar la biocompatibilidad y la interacción con las células y los tejidos. Las fibras más finas a menudo se asocian con una mejor capacidad de integración celular (Teixeira et al., 2019).

En la producción de filtros de membrana para aplicaciones de laboratorio y procesos industriales, el tamaño de poro y la eficacia de separación dependen directamente del

diámetro promedio de las fibras electrohiladas utilizadas para construir la membrana (Russo et al., 2022).

En la fabricación de materiales compuestos reforzados con fibras, como polímeros reforzados con fibras (FRP), el diámetro de las fibras electrohiladas influye en las propiedades mecánicas, como la resistencia y la rigidez. Las fibras más finas pueden mejorar la relación resistencia-peso del material compuesto (Isaac et al., 2021). En la producción de fibras ópticas, el diámetro de las fibras electrohiladas es crítico para la transmisión eficiente de la luz. Fibras más delgadas permiten la propagación de señales a larga distancia con menor atenuación de la luz (Wang et al., 2021).

En la nanotecnología, las fibras electrohiladas con diámetros extremadamente pequeños se utilizan para crear nanofibras y nanotubos con propiedades únicas para aplicaciones en sensores, dispositivos electrónicos y otros campos (Ding et al., 2010). En la producción de baterías y supercondensadores, el tamaño de las fibras electrohiladas en los electrodos puede afectar la capacidad de almacenamiento de energía y la velocidad de carga y descarga (Ateş & Chebil, 2022).

6.2. Análisis termogravimétrico (TGA)

En la figura 13 podemos apreciar los termogramas resultantes de la prueba realizada en donde a simple vista vemos que se dio una descomposición multietapa. En todas las muestras se dio una rápida pérdida de masa inicial, la cual se presentó a una temperatura de $\sim 21.60^{\circ}\text{C}$, 21.56°C , 21.54°C y 21.48°C para PVP $\sim 9.77\%$, PVP/ChS1 12.29% , PVP/ChS 2% 10.92% y PVP/ChS 3% 10.98% respectivamente. Esta pérdida la podemos atribuir a la humedad y al agua absorbida.

A partir de los 50 grados se aprecia una estabilidad térmica siendo PVP/ChS 2% la que mostró una semejanza mayor a PVP y mejor estabilidad en comparación con las otras dos concentraciones seguido de PVP/ChS 3%, lo cual quiere decir que la estabilidad térmica mejoró con el aumento de la concentración de quitosano. Después de esa estabilidad se observa nuevamente una pérdida alrededor de los 250 a los 350 grados debido a la degradación estructural del PVP tal como lo menciona Poonguzhali et al. (2017).

Resultados PVP/ChS

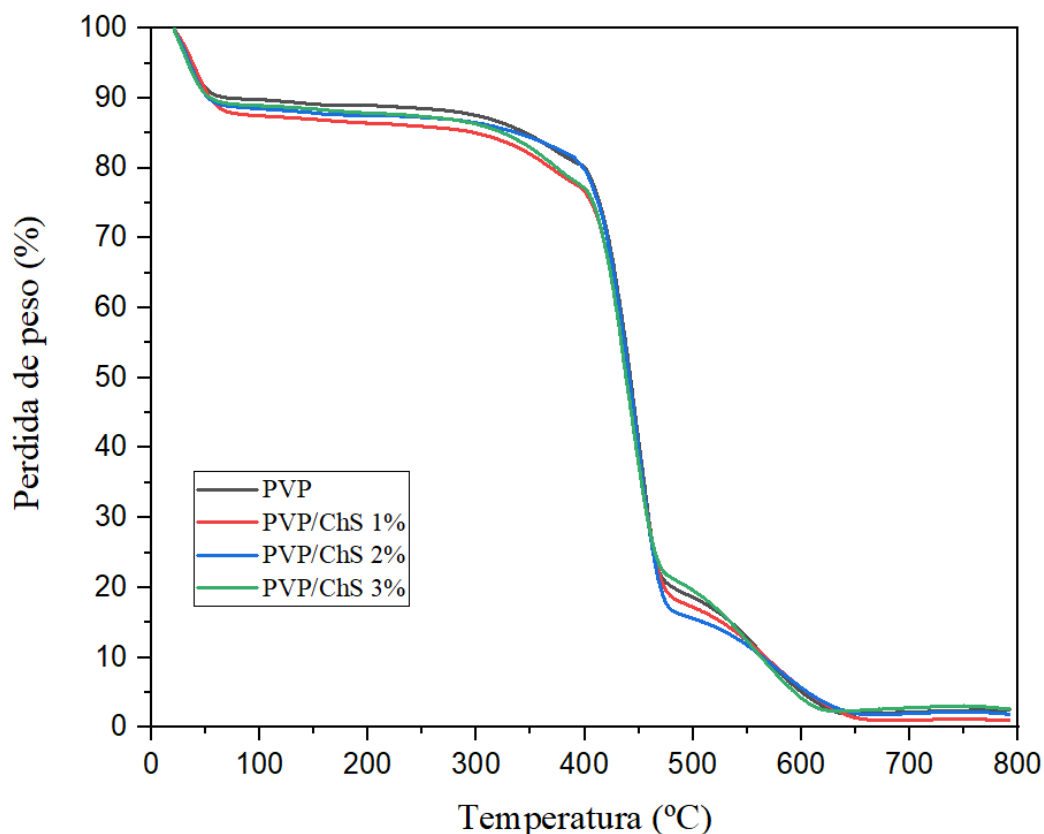


Figura 13. Análisis termogravimétrico (TGA) de las fibras electrohiladas de PVP/ChS.

En general podemos decir que aunque sí hubo diferencias entre las muestras, no mostraron un cambio significativo en su morfología en comparación con el PVP pero aunque los cambios no fueron muy notorios vemos que en la mayoría de las muestras a medida que aumenta la temperatura la estabilidad térmica disminuye.

Tabla 6. Porcentajes de pérdida de masa en las fibras de PVP/ChS en diferentes proporciones de Ch (1, 2, y 3%)

Muestra	1	2	3	4
PVP	9.77%	9.5%	60.38%	18.24%
PVP/ChS 1%	12.29%	10.8%	58.86%	17%

PVP/ChS 2%	10.92%	6.69%	66.12%	14.19%
PVP/ChS 3%	10.98%	11.45%	56.31%	18.49%

En la siguiente figura las cuatro muestras también presentaron una pérdida de masa inicial a una temperatura de ~21.60°C, 20.42°C y 21.33°C respectivamente, continuando con una estabilidad térmica y luego se muestra una curva de degradación del quitosano a los casi 450°C. A partir de este punto se observa una división de la columna vertebral del quitosano al igual que Poonguzhali et al. (2017), las muestras comienzan a presentar modificaciones en su estructura la división de los enlaces glucosídicos, seguido de un residuo lo cual nos quiere decir que presenta materia orgánica en su composición. En la tabla mostrada a continuación se pueden observar los porcentajes obtenidos para cada una de las muestras.

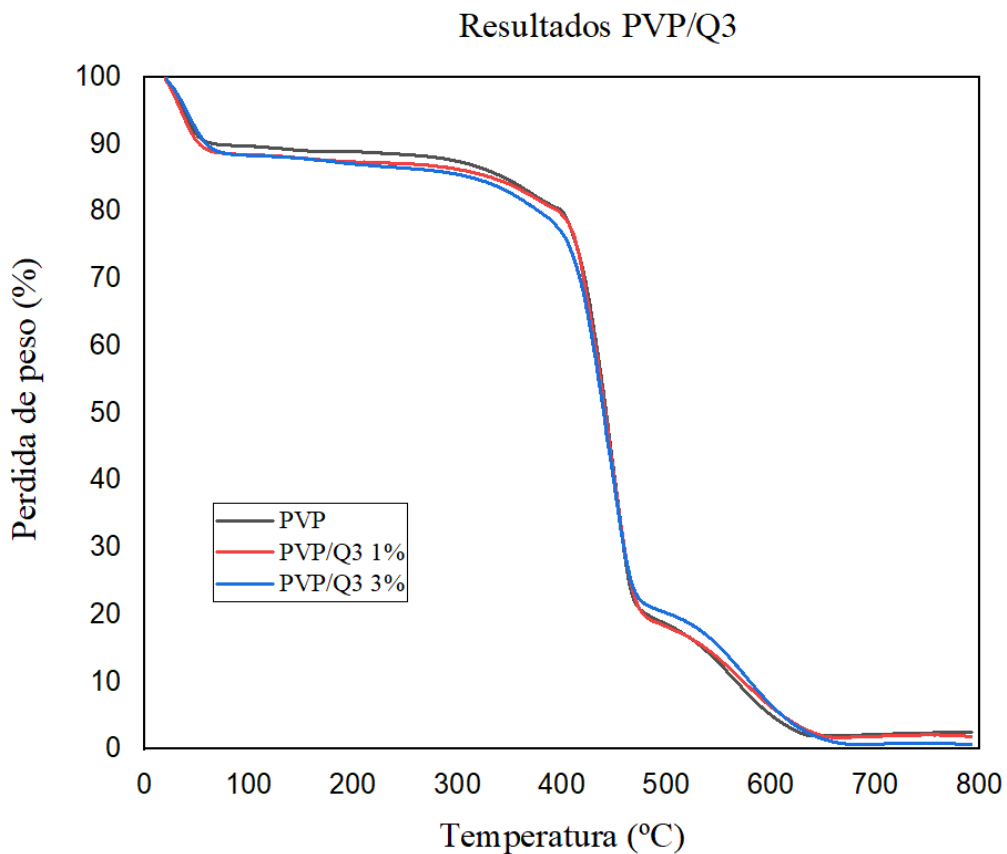


Figura 14. Análisis termogravimétrico (TGA) de las fibras electrohiladas de PVP/ChQ3.

Tabla 7. Porcentajes de pérdida (PP) de masa en las fibras de PVP/ChQ3 en diferentes proporciones de Ch (1 y 3%)

PP	1	2	3	4
PVP	9.77%	9.5%	60.38%	18.24%
PVP/Ch Q3 1%	11.31%	2.01%	66.92%	17.63%
PVP/Ch Q3 3%	11.15%	1.96%	64.91%	20.4%

6.3. Estudios de crecimiento bacteriano

Para la realización de esta prueba las cepas seleccionadas para un análisis de su comportamiento fueron la bacteria clasificada como Gram positiva *Staphylococcus aureus* (ATCC 23235) y Gram negativa *Escherichia coli* (ATCC 25922). Las fibras en las que se realizó la evaluación de la actividad antibacteriana fueron PVP/ChS (Quitosano de grado cosmético, alimentario e industrial) y PVP/ChQ3 (Quitosano modificado), las cuales fueron expuestas a las cepas bacterianas por 3 h y 24 h en sus tres diversas concentraciones de quitosano (1%, 2% y 3 %) y llevadas a cabo bajo tratamientos diferentes, tal como exposición a irradiación UV (PVP/ChS UV y PVP/Q3 UV) y tratamiento térmico (PVP/ChS T y PVP/ChQ3T).

Las cifras de los porcentajes de proliferación de la bacteria obtenidos fueron calculados referente al control negativo el cual corresponde al crecimiento normal de la bacteria. Algunos de los datos mostrados en la tabla tuvieron una disminución con respecto al crecimiento normal, tal es el caso de las muestras PVP/ChS UV 2%, PVP/ChQ3 3%, PVP/ChQ3 UV 1% y 3% y PVP/ChQ3 T 1%, todos a las 24 h, a pesar de ello no hubo inhibición del crecimiento de las bacterias, por lo tanto esta disminución no representa un cambio significativo con respecto al control. Así mismo es interesante apreciar que para el caso de los resultados en donde se utilizó quitosano de grado cosmético, alimentario e industrial (ChS) en una concentración de 3% no se presentó variación alguna pasadas las 24 h en ninguno de los tratamientos llevados a cabo. En cuanto a los polvos pese a que sí hubo una disminución en los porcentajes de proliferación en las tres concentraciones, claramente podemos notar que estos no disminuyeron lo suficiente para afectar el crecimiento de la cepa *Staphylococcus aureus* (ATCC 23235) ya que los porcentajes exceden el crecimiento normal para ser considerados con efecto antimicrobiano.

De manera general se resume, para esta bacteria, que ninguno de los tratamientos en sus tres diversos porcentajes logró acrecentar la efectividad, a pesar de ello las fibras PVP/ChS UV 2% disminuyeron 2% a las 24 h y mejoró la respuesta al incrementar la concentración de quitosano ya que para PVP/ChS UV 3% redujeron la población de bacterias un ~10% sin embargo a las 24 h se mantuvo y no mostró cambio alguno, las fibras de PVP/ChQ3 3% se redujeron considerablemente una de la otra pasadas las 24 h, pero respecto al crecimiento bacteriano solo logró decrecer en un ~ 4%. Para el tratamiento de PVP/ChQ3 UV independientemente de la concentración de quitosano cargado en las fibras se mostró una ligera reducción del crecimiento bacteriano el mismo caso sucedió para PVP/ChQ3 T lamentablemente no lo suficiente para ser inhibidor de crecimiento bacteriano.

Tabla 8. Porcentaje de crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus* expuestas 3 y 24 h a fibras PVP/ChS y PVP/ChQ3 a diferentes concentraciones de quitosano y después de tratamientos térmico y por luz ultravioleta.

Staphylococcus aureus

	3 h	24 h	3 h	24 h	3 h	24 h
	1%		2%		3%	
Crecimiento Normal	100 ± 10	100 ± 10	100 ± 10	100 ± 10	100 ± 10	100 ± 10
PVP-ChS	105 ± 5.8	106 ± 3.7	91 ± 4.3	104 ± 5.2	93 ± 3.7	93 ± 3.7
PVP-ChS UV	94 ± 10.5	102 ± 1.1	107 ± 6.1	98 ± 0.6	90 ± 3.3	90 ± 3.3
PVP-ChS T	222 ± 5.1	121 ± 2.6	143 ± 2.4	107 ± 0.5	101 ± 2.4	101 ± 2.4
PVP-Q3	100 ± 7.8	107 ± 2.7	91 ± 0.3	97 ± 5.3	250 ± 5.0	96 ± 3.0
PVP-Q3 UV	125 ± 2.5	96 ± 3.4	107 ± 3.0	101 ± 4.1	244 ± 0.3	93 ± 0.2
PVP-Q3 T	102 ± 7.9	93 ± 3.4	143 ± 3.0	105 ± 3.3	262 ± 5.7	100 ± 3.4
Gentamicina	44 ± 4.5	16 ± 2.4	44 ± 4.5	16 ± 2.4	44 ± 4.5	16 ± 2.4
PVPcontrol	91 ± 4.9	104 ± 2.2	91 ± 4.9	104 ± 2.2	91 ± 4.9	104 ± 2.2
PolvoChS	275 ± 5.7	106 ± 6.4	275 ± 5.7	106 ± 6.4	275 ± 5.7	106 ± 6.4
PolvoChQ3	204 ± 6.6	109 ± 4.0	204 ± 6.6	109 ± 4.0	204 ± 6.6	109 ± 4.0

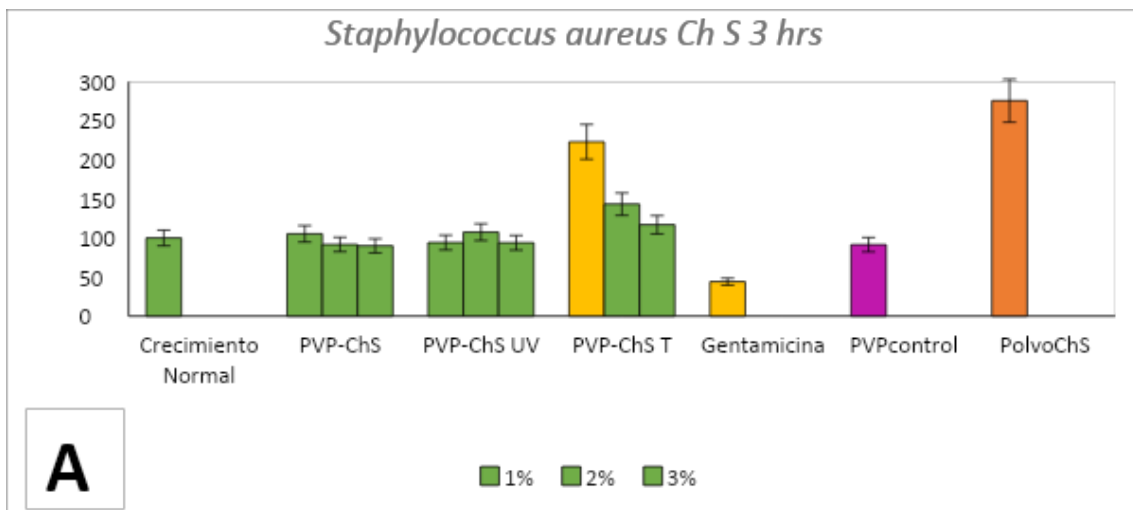


Figura 15. Comparación del crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus* expuestas por 3 h fibras PVP/ChS a diferentes concentraciones de quitosano y después de tratamientos térmico y por luz ultravioleta

En la imagen se observa como la muestra de PVP/ChS en concentraciones de 2 y 3 % disminuyeron en comparación a la muestra de 1%, en la tratamiento con rayos UV las muestras de 2% tuvo un incremento que sobrepasa al control y en el tratamiento térmico hubo un aumento en la tres concentraciones siendo más considerable en la proporción 1%, en cuanto al polvo se observa que no hubo reacción alguna, por el contrario potenció el crecimiento de la bacteria con respecto al control.

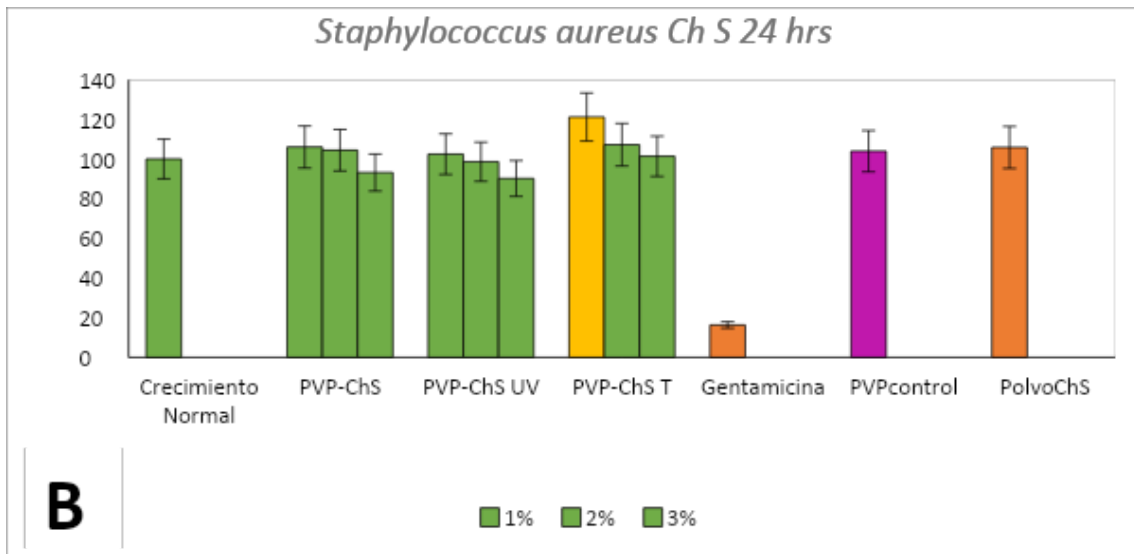


Figura 16. Comparación del crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus* expuestas por 24 h fibras PVP/ChS a diferentes concentraciones de quitosano y después de tratamientos térmicos y por luz ultravioleta.

A las 24 h observamos que para PVP/ChS 1 y 2% hubo un incremento mientras que en 3% disminuyó un ~5%, en relación al control. En las tres concentraciones del tratamiento térmico no hubo muestra de inhibición.

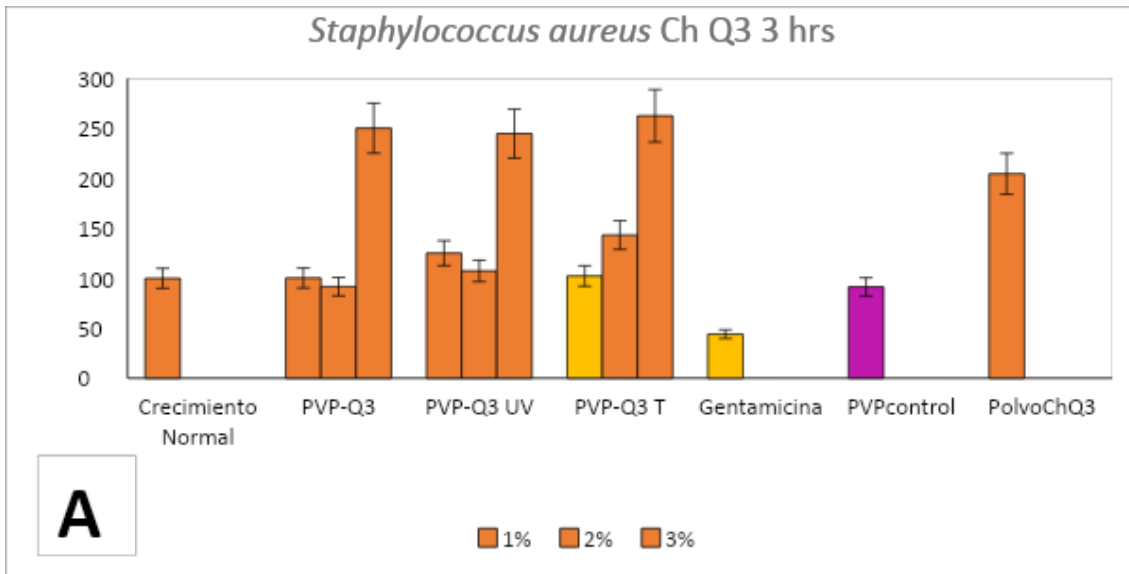


Figura 17. Comparación del crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus* expuestas por 3 h fibras PVP/ChQ3 a diferentes concentraciones de quitosano y después de tratamientos térmicos y por luz ultravioleta.

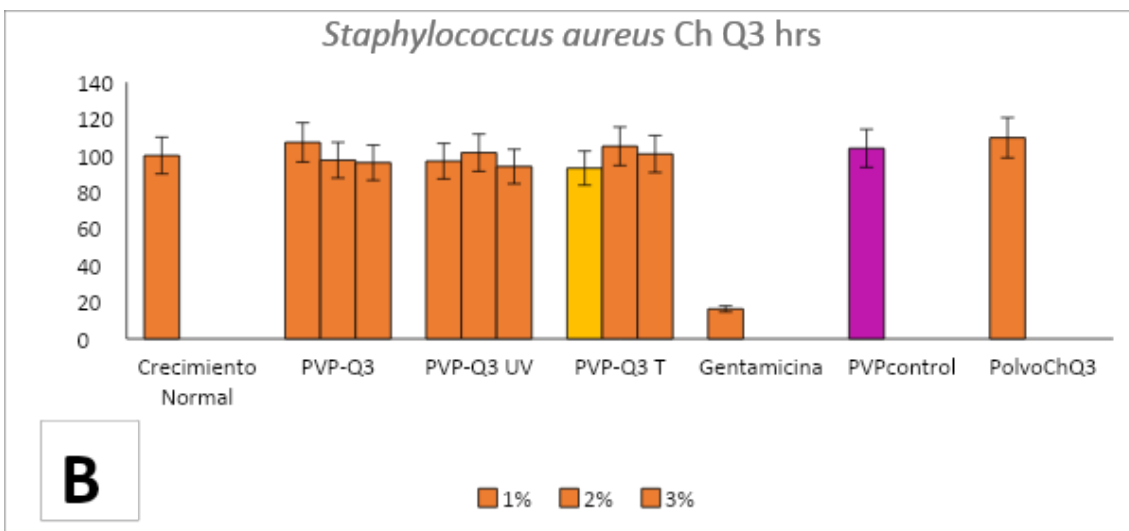


Figura 18. Comparación del crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus* expuestas por 24 h fibras PVP/ChS y PVP/ChQ3 a diferentes concentraciones de quitosano y después de tratamientos térmicos y por luz ultravioleta.

Si bien aunque podemos notar que los datos mostrados no varían mucho en comparación con el crecimiento normal y algunos tratamientos mostraron una disminución, una vez observadas las gráficas y realizado un análisis de varianza, no hubo disminución significativa de la población bacteriana.

En el caso de las muestras realizadas con la cepa *Escherichia coli* (ATCC 25922) los datos revelan que a diferencia de la cepa anterior los resultados aquí tuvieron una respuesta menor,

es decir no mostraron actividad antibacteriana al estar las fibras expuestas a la cepa. Para las fibras de PVP/ChS UV 2% decreció en un ~7%, fue el que tuvo una mejor respuesta sin embargo a diferencia de la misma muestra en la proporción de 1% y 3% se observa que aún prevalece la resistencia bacteriana, si bien la muestra de 3% aunque se encuentra por debajo del crecimiento normal no cambio a las 24h. En las fibras donde se empleó quitosano modificado el tratamiento térmico (PVP/ChQ3 T) a 1% fue el que disminuyó ligeramente en base al crecimiento normal, sin embargo; no es significativa su respuesta. Conforme a la norma ISO 10993-5 la cual establece el grado de citotoxicidad *in vitro* de los dispositivos médicos, las fibras evaluadas en este ensayo no muestran bioactividad antibacteriana eficaz en los tiempos, tratamientos y concentraciones examinados.

Tabla 9. Porcentaje de crecimiento bacteriano de *Escherichia coli* expuestas 3 y 24 h a fibras PVP/ChS y PVP/ChQ3 a diferentes concentraciones de quitosano y después de tratamientos térmico y por luz ultravioleta.

<i>Escherichia coli</i>						
	3 h	24 h	3 h	24 h	3 h	24 h
	1%		2%		3%	
Crecimiento Normal	100 ± 10	100 ± 10	100 ± 10	100 ± 10	100 ± 10	100 ± 10
PVP-ChS	73 ± 1.9	102 ± 1.5	94 ± 3.0	104 ± 8.7	83 ± 6	94 ± 6.0
PVP-ChS UV	78 ± 3.5	98 ± 11.4	99 ± 1.1	92 ± 10.7	96 ± 12.5	96 ± 12.5
PVP-ChS T	87 ± 4.1	119 ± 15.3	87 ± 3.9	112 ± 6.2	104 ± 5.2	104 ± 5.2
PVP-ChQ3	99 ± 0.4	99 ± 18.8	70 ± 0.2	97 ± 5.3	70 ± 0.5	93 ± 8.6
PVP-ChQ3 UV	93 ± 2.7	100 ± 15	82 ± 1.3	101 ± 4.1	73 ± 7	93 ± 1.9
PVP-ChQ3 T	100 ± 0.9	94 ± 14.1	93 ± 2.4	105 ± 3.3	90 ± 3.2	97 ± 8.2
Gentamicina	41 ± 5.9	29 ± 13	41 ± 5.9	29 ± 13	41 ± 5.9	29 ± 13
PVPcontrol	70 ± 2.2	99 ± 2.6	70 ± 2.2	99 ± 2.6	70 ± 2.2	99 ± 2.6
PolvoChS	41 ± 21.8	124 ± 4.6	41 ± 21.8	124 ± 4.6	41 ± 21.8	124 ± 4.6
PolvoChQ3	38 ± 1.9	55 ± 5.1	38 ± 1.9	55 ± 5.1	38 ± 1.9	55 ± 5.1

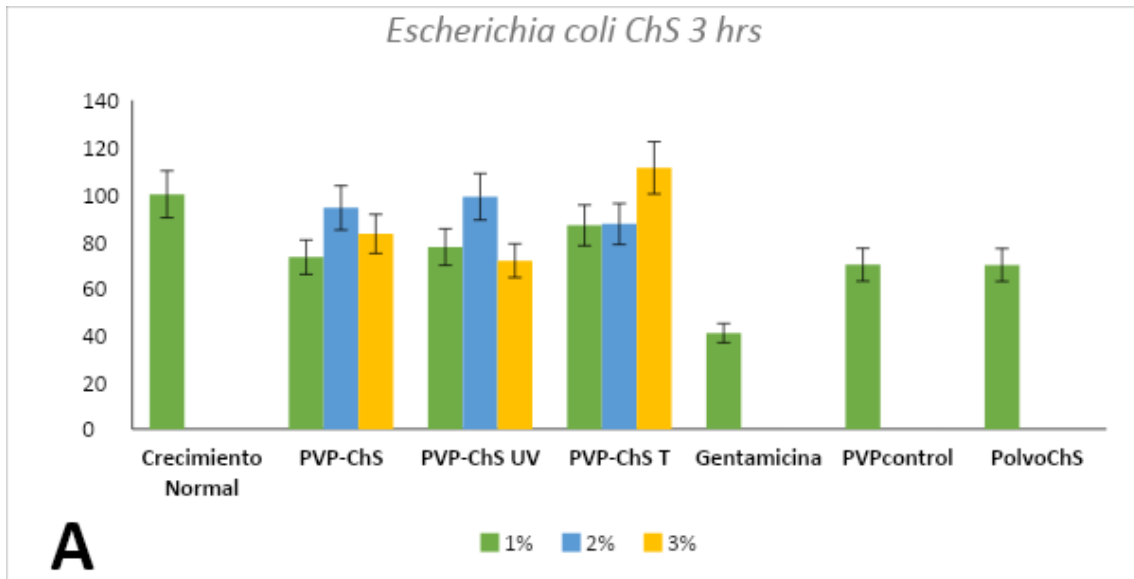


Figura 19. Comparación del crecimiento bacteriano de *Escherichia coli* expuestas por 3 h fibras PVP/ChS a diferentes concentraciones de quitosano y después de tratamientos térmicos y por luz ultravioleta.

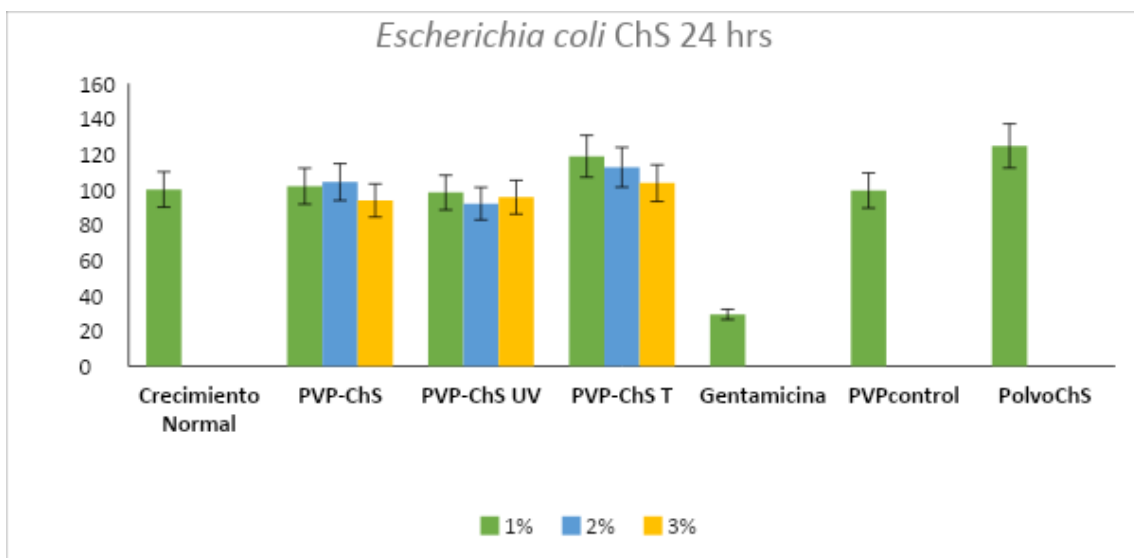


Figura 20. Comparación del crecimiento bacteriano de *Escherichia coli* expuestas por 24 h fibras PVP/ChS a diferentes concentraciones de quitosano y después de tratamientos térmicos y por luz ultravioleta.

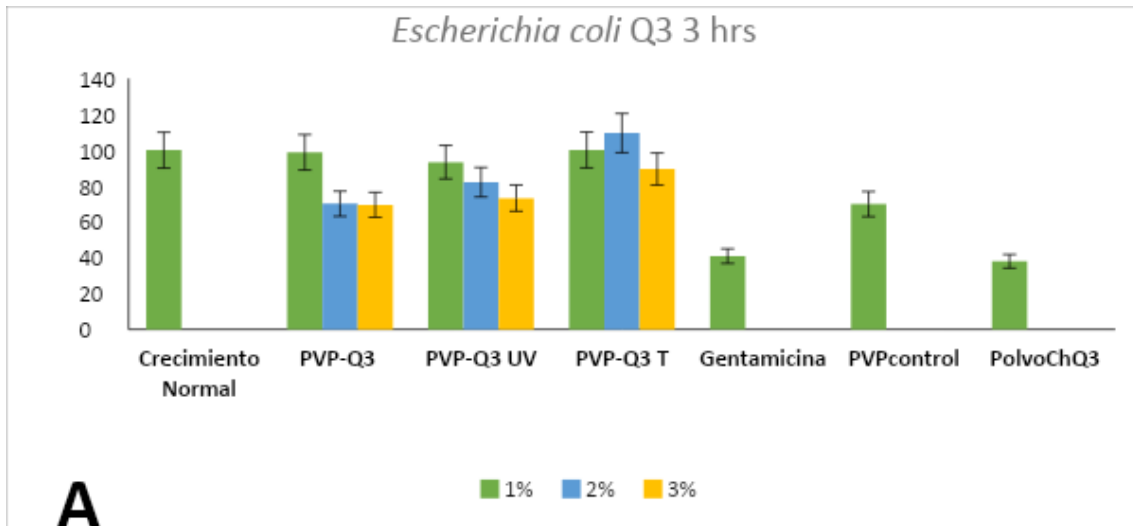


Figura 21. Comparación del crecimiento bacteriano de *Escherichia coli* expuestas por 3 h fibras PVP/ChQ3 a diferentes concentraciones de quitosano y después de tratamientos térmico y por luz ultravioleta.

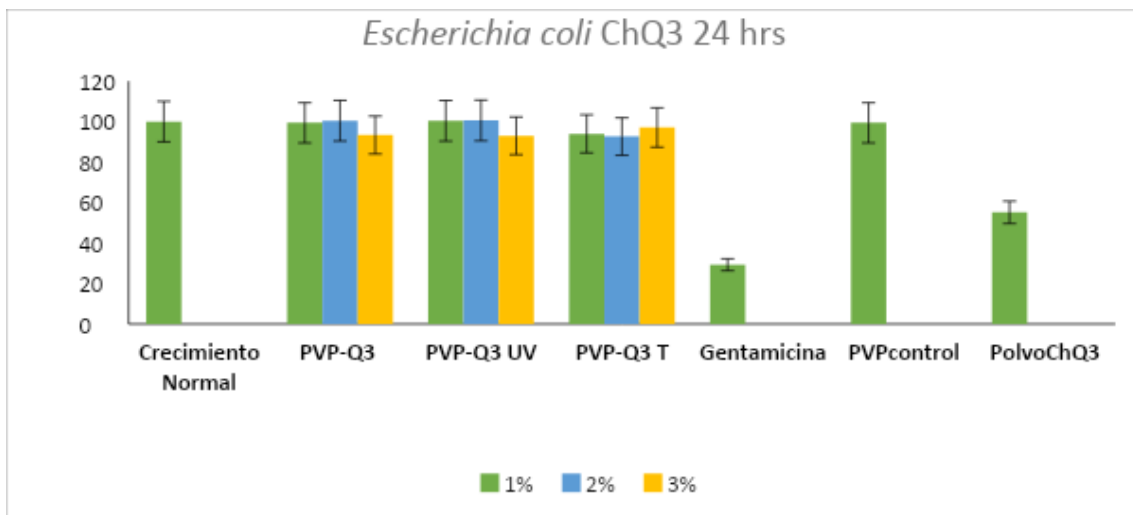


Figura 22. Comparación del crecimiento bacteriano de *Escherichia coli* expuestas por 24 h fibras PVP/ChQ3 a diferentes concentraciones de quitosano y después de tratamientos térmicos y por luz ultravioleta.

La tendencia general de las muestras se observa que en la mayoría el porcentaje de proliferación aumentó con el paso de las horas en lugar de disminuir. De acuerdo a la literatura se menciona que el Quitosano muestra mayormente su efecto antimicrobiano en bacterias Gram negativas como *Escherichia coli*, en el caso de esta prueba se considera que el efecto se observó ligeramente potencializado debido a los factores intrínsecos del quitosano utilizado ya que diversos artículos mencionan que estos factores se ven implicados en la influencia de su efecto antimicrobiano (Xie et al., 2020).

Es importante recalcar que las bacterias utilizadas fueron empleadas debido a, en el caso de la primera bacteria mencionada, que hay suficiente investigación científica la cual indica que produce distintas patologías tales como infecciones en piel y en los tejidos blandos, una gran parte de pacientes cuando contraen una infección causada por *Staphylococcus aureus* llega a padecer de infecciones de heridas, septicemias o neumonías, además de estar presente en aproximadamente el 30-50% de la piel y las mucosas, con capacidad para incorporar material genético de otros microorganismos, aumentando su virulencia y resistencia antimicrobiana (Khor & Lim, 2003),(Osorio et al., 2017), (Alba, 2021), (Vista de Evolución del Uso del Quitosano en el Tratamiento de Agua, 2019).

Para el caso de *Escherichia coli*, bacteria gram negativa, algunos autores como Gonzalez (2015) mencionan en su artículos que la principal causa de transmisión de estos microorganismos es a través de la lluvia y descargas residuales, además en algunos otros donde se habla sobre la calidad del agua se sugiere que es a través del agua de riego que estos microorganismos pueden llegar a transportarse a cosechas del campo y se concluye que los alimentos y agua contaminada son las formas más comunes de ser expuestos a *E. coli* (Álava, 2015), (Wong-Hernández et al., 2019) .

VII. CONCLUSIONES

El quitosano es un biopolímero versátil que ha encontrado aplicaciones tanto en el campo de la salud como en el medio ambiente debido a sus propiedades únicas. El quitosano se utiliza en la fabricación de productos médicos y farmacéuticos. Se ha investigado su capacidad para actuar como un vehículo de administración de fármacos, lo que permite la liberación controlada de medicamentos en el cuerpo. También se ha estudiado su uso en la regeneración de tejidos y en la elaboración de apósitos y vendajes con propiedades antimicrobianas. Debido a sus propiedades antibacterianas y de aceleración en la cicatrización de heridas, el quitosano se utiliza en la producción de apósitos y geles para el tratamiento de heridas crónicas. Se ha sugerido que el quitosano puede ayudar a reducir los niveles de colesterol en la sangre, lo que lo hace útil en la prevención y el tratamiento de enfermedades cardiovasculares. Con respecto al medio ambiente, se utiliza en el tratamiento de aguas residuales como coagulante, ayudando a eliminar impurezas y contaminantes. También se emplea para la eliminación de metales pesados y la clarificación de aguas en procesos industriales. El quitosano se ha investigado como una alternativa ecológica a los pesticidas químicos. Puede utilizarse para controlar plagas en la agricultura y en la protección de

cultivos sin los efectos dañinos asociados a los productos químicos. Se utiliza en la producción de recubrimientos biodegradables para alimentos, lo que ayuda a prolongar su vida útil y reduce la necesidad de envases plásticos. Se han llevado a cabo estudios sobre el uso de quitosano en la remediación de suelos contaminados con sustancias tóxicas, ayudando a reducir la movilidad de los contaminantes y facilitando su eliminación. El objetivo de este trabajo fue utilizar el Quitosano mediante las técnicas de electrohilado y casting para potenciales aplicaciones en los campos biomédico y ambiental. Para lograr esto, se crearon fibras que combinan poli (vinil pirrolidona) y Quitosano (PVP/Ch), utilizando diferentes concentraciones de Quitosano. Se llevaron a cabo pruebas antibacterianas utilizando las bacterias *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* para evaluar la biocompatibilidad y las propiedades antibacterianas de las fibras. La presencia de los componentes de los nanocompuestos se identificó mediante espectroscopía infrarroja (FTIR). Además, se utilizó microscopía electrónica de barrido (SEM) para examinar la morfología de las fibras y medir sus diámetros. Se realizaron análisis térmicos (TGA) y FTIR para demostrar cómo se incorporaron PVP y Ch en la estructura de las fibras poliméricas. Con base en los resultados obtenidos en estas pruebas, se busca mejorar las propiedades antimicrobianas y otras cualidades de las fibras para que puedan ser utilizadas en aplicaciones en los campos biomédico y ambiental.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Al-Abduljabbar, A., & Farooq, I. (2022). Electrospun Polymer Nanofibers: Processing, properties, and applications. *Polymers*, 15(1), 65. <https://doi.org/10.3390/polym15010065>
- Álava, J. M. (2015). Aplicación de quitosano como biocoagulante en aguas residuales contaminadas con hidrocarburos (Chitosan application as a biocoagulant in wastewater contaminated with hydrocarbons). *Enfoque UTE, Volumen 6*, 52-64. <http://ingenieria.ute.edu.ec/enfoqueute/index.php/revista/article/download/69/73>
- Alba, E. R., Dubón, A. E. B., López, H. E. G., Godoy, C. A. K., Mérida, J. B. S., Hernández, E. S. L., Maldonado, C. R., & Martínez-Richa, A. (2021). La Ciencia de los Polímeros Biodegradables. *JÓVENES EN LA CIENCIA*, 10. <https://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/article/view/3337>
- Al-Hazeem, N. Z. (2018). Nanofibers and electrospinning method. En *InTech eBooks*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.72060>
- Antaby, E., Klinkhammer, K., & Sabantina, L. (2021). Electrospinning of chitosan for antibacterial applications—current trends. In *Applied Sciences (Switzerland)* (Vol. 11, Issue 24). MDPI. <https://doi.org/10.3390/app112411937>

- Antonino, R. S. C. M. D. Q., Fook, B. R. P. L., Lima, V. A. D. O., Rached, R. Í. D. F., Lima, E. P. N., Lima, R. J. D. S., Covas, C. A. P., & Fook, M. V. L. (2017). Preparation and characterization of chitosan obtained from shells of shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone). *Marine Drugs*, *15*(5). <https://doi.org/10.3390/md15050141>
- Anusiya, G., & Jaiganesh, R. (2022). A review on fabrication methods of nanofibers and a special focus on application of cellulose nanofibers. *Carbohydrate polymer technologies and applications*, *4*, 100262. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2022.100262>
- Aradilla, D., Oliver, R. & Estrany, F. (2012). Polímeros biodegradables: una alternativa de futuro a la sostenibilidad del medio ambiente. *Técnica Industrial*, *297*, 76-80.
- Aruchamy, K., Mondal, D., & Nataraj, S. K. (2018). Electrospun Nanofibers, Nanocomposites and Characterization of Art: Insight on Establishing fibers as product. *Nano-Structures and Nano-Objects*, *16*, 45-58. <https://doi.org/10.1016/j.nanoso.2018.03.013>
- Ateş, M., & Chebil, A. (2022). Supercapacitor and battery performances of multi-component nanocomposites: real circuit and equivalent circuit model analysis. *Journal of Energy Storage*, *53*, 105093. <https://doi.org/10.1016/j.est.2022.105093>
- Bagheri, M., Validi, M., Gholipour, A., Makvandi, P., & Sharifi, E. (2021). Chitosan nanofiber biocomposites for potential wound healing applications: Antioxidant activity with synergic antibacterial effect. *Bioengineering & Translational Medicine*, *7*(1). <https://doi.org/10.1002/btm2.10254>
- Bakshi, P. S., Selvakumar, D., Kadirvelu, K., & Kumar, N. (2020). Chitosan as an environment friendly biomaterial – a review on recent modifications and applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, *150*, 1072-1083. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.113>
- Barraza-Garza, G., De La Rosa, L. A., Martínez-Martínez, A., Castillo-Michel, H., Cotte, M., & Alvarez-Parrilla, E. (2013). La microespectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIRM) en el estudio de sistemas biológicos. *Revista Latinoamericana de Química*, *41*(3), 125-148. <http://scielo.unam.mx/pdf/rlq/v41n3/v41n3a1.pdf>
- Bautista-Baños, S., González-Soto, R., & Ramos-García, M. L. (2018). Physical properties of chitosan films with lemon essential oil added and their impact on the shelf life of tomatoes (*Lycopersicon esculentum* L.). *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, *17*(1), 1–11. <https://doi.org/10.24275/uam/izt/dcbi/revmexingquim/2018v17n1/Bautista>
- Blanquicet, R. G., Flórez, C. J., González, Y. P., Rodríguez, J. I., & Meza, E. (n.d.). *VIII SIMPOSIO COLOMBIANO DE CATÁLISIS VI SIMPOSIO DE QUÍMICA APLICADA Evaluación de la solubilidad, hinchamiento y degradación de filmes biodegradables basados en quitosano/lactosuero utilizando la metodología de superficie de respuesta.*
- Bohórquez, N. V., Enciso, N. A. A., & Hernández, W. A. (2016). Efecto del almacenamiento sobre las propiedades físicas de las películas de quitosano con inclusión de aceites esenciales de tomillo y romero. *Revista Materia*, *21*(1), 141–156. <https://doi.org/10.1590/S1517-707620160001.0013>
- Cavazos, K. E., Galindo, A. S., & Facio, A. C. (2020). Películas de quitosano propiedades y aplicaciones. *Afinidad*, *77*(591), 203-208. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7763092>

- Choi, C., Nam, J. P., & Nah, J. W. (2016). Application of chitosan and chitosan derivatives as biomaterials. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 33, 1–10. <https://doi.org/10.1016/J.IJEC.2015.10.028>
- Colina, M., Ayala, A., Rincón, D., Molina, J., Medina, J., Yncierte, R., Vargas, J., & Montilla, B. (2014). EVALUACIÓN DE LOS PROCESOS PARA LA OBTENCIÓN QUÍMICA DE QUITINA Y QUITOSANO A PARTIR DE DESECHOS DE CANGEJOS. ESCALA PILOTO E INDUSTRIAL. In *Rev. Iberoam. Polim* (Vol. 15, Issue 1).
- Comision Nacional de Derechos Humanos, C. N. (2014). *El derecho humano al medio ambiente sano para el desarrollo y bienestar*. <http://ru.juridicas.unam.mx:80/xmlui/handle/123456789/825>
- Cui, C., Sun, S., Wu, S., Chen, S., Ma, J., & Zhou, F. (2021c). Electrospun Chitosan Nanofibers for wound healing application. *Engineered regeneration*, 2, 82-90. <https://doi.org/10.1016/j.engreg.2021.08.001>
- Dai, T., Fujimaki, A., Huang, Y., & Hamblin, M. R. (2011). Chitosan Preparations for wounds and burns: Antimicrobial and wound-healing effects. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 9(7), 857-879. <https://doi.org/10.1586/eri.11.59>
- David Giraldo Pedraza, J. (2015). *PROPIEDADES, OBTENCIÓN, CARACTERIZACIÓN Y APLICACIONES DEL QUITOSANO*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3350.9287>
- De La Fuente-Salcido, N. M., Villarreal-Prieto, J. M., León, M. H., & Pérez, A. Z. V. (2015). Evaluación de la actividad de los agentes antimicrobianos ante el desafío de la resistencia bacteriana. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 46(2), 7-16. <http://www.redalyc.org/pdf/579/57946148002.pdf>
- Ding, B., Wang, M., Wang, X., Yu, J., & Sun, G. (2010). Electrospun nanomaterials for ultrasensitive sensors. *Materials Today*, 13(11), 16-27. [https://doi.org/10.1016/s1369-7021\(10\)70200-5](https://doi.org/10.1016/s1369-7021(10)70200-5)
- Elieh-Ali-Komi, D. (2016, 1 marzo). *Chitin and Chitosan: Production and Application of Versatile Biomedical Nanomaterials*. PubMed Central (PMC). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5094803/>
- Gabriel, J., Rojas, A., Directores, Q., Eliana, M., Zapata, V., David, C., & Tovar, G. (2015). *ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS POROSAS DEL NANOCOMPUESTO DE QUITOSANO/OXIDO DE GRAFENO*.
- Gao, G., Xie, S., Zheng, S., Xu, Y., & Sun, Y. (2022). Two-step modification (sodium dodecylbenzene sulfonate composites acid-base) of sepiolite (SDBS/ABSEP) and its performance for remediation of CD contaminated water and soil. *Journal of Hazardous Materials*, 433, 128760. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128760>
- García, O. G. Z., Oropeza-Guzmán, M. T., Argüelles Monal, W. M., & López-Maldonado, E. A. (2019). Design and mechanism of action of multifunctional BPE's with high performance in the separation of hazardous metal ions from polluted water Part I: Chitosan-poly(N-vinylcaprolactam) and its derivatives. *Chemical Engineering Journal*, 359, 840–851. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.11.134>
- Gonzales Molfino, H. M., Alcalde Yañez, A., Valverde Morón, V. V., & Villanueva Salvatierra, D. V. (2020). Electrospinning: Advances and applications in the field of biomedicine. *Revista de La Facultad de Medicina Humana*, 20(4), 706–713. <https://doi.org/10.25176/rfmh.v20i4.3004>

- Goy, R. C., Morais, S. T. B., & Assis, O. B. G. (2016). Evaluation of the antimicrobial activity of chitosan and its quaternized derivative on *E. Coli* and *S. aureus* growth. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26(1), 122–127. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.09.010>
- H, R., Olivas-Armendáriz, I., Martel-Estrada, S. A., & Valencia-Gómez, L. E. (2021). *Uso de Biomateriales Funcionalizados con Moléculas Bioactivas en la Ingeniería Biomédica*. <https://doi.org/10.17488/rmib.40.3.9>
- Hahn, T., Tafi, E., Paul, A., Salvia, R., Falabella, P., & Zibek, S. (2020). Current state of chitin purification and chitosan production from insects. In *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* (Vol. 95, Issue 11, pp. 2775–2795). John Wiley and Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/jctb.6533>
- Hameed, A., Raj, S. A., Sultan, M. T. H., Baghdadi, M. A., & Shahzad, M. (2022). Chitosan: A Sustainable Material for Multifarious Applications. *Polymers*, 14(12), 2335. <https://doi.org/10.3390/polym14122335>
- Han, D., & Steckl, A. J. (2019). Coaxial electrospinning formation of complex polymer fibers and their applications. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, 84(10), 1453-1497. <https://doi.org/10.1002/cplu.201900281>
- Hossain, M., & Iqbal, A. (2014). Production and characterization of chitosan from shrimp waste. *Journal of the Bangladesh Agricultural University*, 12(1), 153–160. <https://doi.org/10.3329/jbau.v12i1.21405>
- Huang, Z., Zhang, Y., Kotaki, M., & Ramakrishna, S. (2003). A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Composites Science and Technology*, 63(15), 2223-2253. [https://doi.org/10.1016/s0266-3538\(03\)00178-7](https://doi.org/10.1016/s0266-3538(03)00178-7)
- Ibrahim, M. A., Alhalafi, M. H., Emam, E. M., Ibrahim, H. M., & Mosaad, R. M. (2023). A review of Chitosan and Chitosan nanofiber: preparation, characterization, and its potential applications. *Polymers*, 15(13), 2820. <https://doi.org/10.3390/polym15132820>
- Isaac, B., Taylor, R. M., & Reifsnider, K. (2021). Mechanical and dielectric properties of aligned electrospun fibers. *Fibers*, 9(1), 4. <https://doi.org/10.3390/fib9010004>
- Jeong, J., Park, K., Kim, H., Park, I., Choi, J., & Lee, S. S. (2022). Multiplexed electrospaying of water in cone-jet mode using a UV-embossed pyramidal micronozzle film. *Microsystems & Nanoengineering*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41378-022-00391-1>
- Jiménez-Gómez, C. P., & Cecilia, J. A. (2020). Chitosan: A Natural Biopolymer with a Wide and Varied Range of Applications. *Molecules*, 25(17), 3981. <https://doi.org/10.3390/molecules25173981>
- Keirouz, A., Wang, Z., Reddy, V. S., Nagy, Z. K., Vass, P., Buzgo, M., Ramakrishna, S., & Radacsi, N. (2023). The History of Electrospinning: past, present, and future developments. *Advanced materials and technologies*, 8(11). <https://doi.org/10.1002/admt.202201723>
- Khor, E., & Lim, L. Y. (2003). Implantable applications of chitin and chitosan. *Biomaterials*, 24(13), 2339-2349. [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(03\)00026-7](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(03)00026-7)
- Kurakula, M., & Rao, G. K. (2020b). Pharmaceutical assessment of polyvinylpyrrolidone (PVP): as excipient from conventional to controlled delivery systems with a spotlight on COVID-19 inhibition. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 60, 102046. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.102046>

- Leon, J. R. H., Joaquin, J. S., Quispe, D. P., & Quispe, J. S. (2022). Quitosano de Cangrejos con actividad antimicrobiana en compotas artesanales de plátanos. *Ars Pharmaceutica*, 63(4), 335-344. <https://doi.org/10.30827/ars.v63i4.25982>
- Liu, H., Huang, J., Mao, J., Chen, Z., Chen, G., & Lai, Y. (2019). Transparent antibacterial nanofiber air filters with highly efficient moisture resistance for sustainable particulate matter capture. *iScience*, 19, 214-223. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2019.07.020>
- Machado, T. M., Grabow, J., Sayer, C., De Araújo, P. H. H., Ehrenhard, M. L., & Wurm, F. R. (2022). Biopolymer-based Nanocarriers for Sustained Release of Agrochemicals: A review on Materials and Social science Perspectives for a Sustainable Future of Agri- and Horticulture. *Advances in Colloid and Interface Science*, 303, 102645. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2022.102645>
- Mao, Y., Wen, S. W., Wu, S., Ge, X., Ao, F., Ning, Y., Luo, Y., & Liu, Z. (2023). Electrospun polymers: using devices to enhance their potential for biomedical applications. *Reactive & Functional Polymers*, 186, 105568. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2023.105568>
- Mármol, Z., Páez, G., Rincón, M., & Gutierrez, E. (2012). Quitina y Quitosano, polímeros amigables. Una revisión de sus aplicaciones. *ResearchGate*. https://www.researchgate.net/publication/235431334_Quitina_y_Quitosano_polimeros_amigables_Una_revisión_de_sus_aplicaciones
- Martínez-Quiroz, M., López-Maldonado, E. A., Ochoa-Terán, A., Oropeza-Guzman, M. T., Pina-Luis, G. E., & Zeferino-Ramírez, J. (2017). Innovative uses of carbamoyl benzoic acids in coagulation-flocculation's processes of wastewater. *Chemical Engineering Journal*, 307, 981–988. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.09.011>
- Moreno Henao, M., Bohórquez Pérez, Y., Ayala Sánchez, L., & Valenzuela Real, C. (2020). Efecto del pH sobre propiedades mecánicas, fisicoquímicas y morfológicas en películas comestibles multicomponentes. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 23(1). <https://doi.org/10.31910/rudca.v23.n1.2020.1457>
- Namboodiri, M. M. T., & Pakshirajan, K. (2019). Sustainable and green approach of chitosan production from *Penicillium citrinum* biomass using industrial wastewater as a cheap substrate. *Journal of Environmental Management*, 240, 431–440. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.03.085>
- Osorio, M., Henao-Tamayo, L. J., Velásquez-Cock, J., Cañas-Gutierrez, A., Restrepo, L. M., Gañán, P., Zuluaga, R., Ortiz-Trujillo, I. C., & Castro-Herazo, C. (2017). Aplicaciones biomédicas de biomateriales poliméricos. *Dyna-colombia*, 84(201), 241. <https://doi.org/10.15446/dyna.v84n201.60466>
- Pacheco-Aguilar, R. (s. f.). *Efecto de la concentración de quitosano y ph sobre la remoción de sólidos en agua de cola de la industria sardinera*. https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442009000400011
- Pellis, A., Guebitz, G. M., & Nyanhongo, G. S. (2022). Chitosan: Sources, processing and modification techniques. *Gels*, 8(7), 393. <https://doi.org/10.3390/gels8070393>
- Pillay, V., Dott, C., Choonara, Y. E., Tyagi, C., Tomar, L. K., Kumar, P., Du Toit, L. C., & Ndesendo, V. M. K. (2013). A Review of the Effect of Processing Variables on the Fabrication of Electrospun Nanofibers for Drug Delivery Applications. *Journal of Nanomaterials*, 2013, 1-22. <https://doi.org/10.1155/2013/789289>

- Poonguzhali, R., Basha, S., & Kumari, V. S. (2017). Synthesis and characterization of Chitosan-PVP-nanocellulose composites for in-vitro wound dressing application. *International Journal of Biological Macromolecules*, *105*, 111-120. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.07.006>
- Qasim, S. B., Zafar, M., Najeeb, S., Khurshid, Z., Shah, A., Husain, S., & Rehman, I. U. (2018). Electrospinning of Chitosan-Based solutions for tissue engineering and regenerative medicine. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(2), 407. <https://doi.org/10.3390/ijms19020407>
- Ramirez, A., Benítez, J. L., De Astudillo, L. R., & De Gáscue, B. R. (2016). Polymers materials type hydrogels: Review of their characterization by FTIR, DSC, SEM and TEM. *ResearchGate*.https://www.researchgate.net/publication/301988828_Polymers_materials_type_hydrogels_Review_of_their_characterization_by_FTIR_DSC_SEM_and_TEM
- Râpă, M., Miteluț, A. C., Tănase, E. E., Grosu, E., Popescu, P., Popa, M. E., Rosnes, J. T., Sivertsvik, M., Darie-Niță, R. N., & Vasile, C. (2016). Influence of chitosan on mechanical, thermal, barrier and antimicrobial properties of PLA-biocomposites for food packaging. *Composites Part B: Engineering*, *102*, 112–121. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2016.07.016>
- Raval, N., Jain, S., Kalyane, D., Youngren-Ortiz, S. R., Chougule, M. B., & Tekade, R. K. (2019). Importance of Physicochemical Characterization of Nanoparticles in Pharmaceutical Product Development. En *Elsevier eBooks* (pp. 369-400). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-817909-3.00010-8>
- Ren, L., Yan, X., Zhou, J., Tong, J., & Su, X. (2017). Influence of chitosan concentration on mechanical and barrier properties of corn starch/chitosan films. *International Journal of Biological Macromolecules*, *105*, 1636–1643. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.02.008>
- Riojas-Rodríguez, H. (2013). *La salud ambiental en México: situación actual y perspectivas futuras*. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342013001000013
- Rodríguez, E., & Villegas, E. (2010). Caracterización de polímeros aplicando el método termogravimétrico. *Métodos Y Materiales*, *2*(1), 25–32. <https://doi.org/10.15517/mym.v2i1.13470>
- Rodríguez-Vázquez, M., Vega-Ruiz, B., Ramos-Zúñiga, R., Saldaña-Koppel, D. A., & Quiñones-Olvera, L. F. (2015). Chitosan and its potential use as a scaffold for tissue engineering in regenerative medicine. *BioMed Research International*, *2015*, 1-15. <https://doi.org/10.1155/2015/821279>
- Romero-Serrano Id, A., & Pereira, J. (2020). *Estado del arte: Quitosano, un biomaterial versátil. Estado del Arte desde su obtención a sus múltiples aplicaciones / Review: Chitosan, a versatile biomaterial. State of the art from its obtaining to its multiple applications*.
- Russo, F., Castro-Muñoz, R., Santoro, S., Galiano, F., & Figoli, A. (2022). A review on electrospun membranes for potential air filtration application. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *10*(5), 108452. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.108452>

- Sakib, M. N., Mallik, A. K., & Rahman, M. M. (2021). Update on chitosan-based electrospun nanofibers for wastewater treatment: A review. *Carbohydrate Polymer*
- Salazar-Leyva, J. A., Lizardi-Mendoza, J., Ramírez-Suárez, J. C., García-Sánchez, G., Ezquerro-Brauer, J. M., Valenzuela-Soto, E. M., Carvallo-Ruiz, M. G., Lugo-Sánchez, M. E., & Pacheco-Aguilar, R. (2014). UTILIZACIÓN DE MATERIALES A BASE DE QUITINA Y QUITOSANO EN LA INMOVILIZACIÓN DE PROTEASAS: EFECTOS EN SU ESTABILIZACIÓN Y APLICACIONES. *Revista Mexicana De Ingeniería Química*, 13(1), 129-150. http://www.redalyc.org/pdf/620/Resumenes/Resumen_62031166011_1.pdf
- Shah, M. A., Pirzada, B. M., Price, G. J., LShibiru, A., & Qurashi, A. (2022). Applications of Nanotechnology in smart Textile Industry: A Critical review. *Journal of Advanced Research*, 38, 55-75. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2022.01.008>
- Shao, Z., Chen, H., Wang, Q., Kang, G., Wang, X., Li, W., Liu, Y., & Zheng, G. (2022). High-performance multifunctional Electrospun Fibrous air filter for personal protection: A review. *Separation and Purification Technology*, 302, 122175. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2022.122175>
- Sun, L., Sun, J., Chen, L., Niu, P., Yang, X., & Guo, Y. (2017). Preparation and characterization of chitosan film incorporated with thinned young apple polyphenols as an active packaging material. *Carbohydrate Polymers*, 163, 81–91. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.01.016>
- Tayebi, L., Fatehinya, A., Farahani, M., Akbari, Z., Shahmoradi, S., Yazdian, F., Tahriri, M., Moharamzadeh, K., Tayebi, L., & Vashae, D. (2017). Characterization of biomaterials. En *Elsevier eBooks* (pp. 97-115). <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100961-1.00007-4>
- Teixeira, M. A., De Amorim, M. T. P., & Felgueiras, H. P. (2019b). Poly(Vinyl Alcohol)-Based nanofibrous electrospun scaffolds for tissue engineering applications. *Polymers*, 12(1), 7. <https://doi.org/10.3390/polym12010007>
- Teixeira-Costa, B. E., & Andrade, C. T. (2021). Chitosan as a valuable biomolecule from seafood industry waste in the design of green food packaging. *Biomolecules*, 11(11), 1599. <https://doi.org/10.3390/biom11111599>
- Teodorescu, M., & Bercea, M. (2015). Poly(vinylpyrrolidone) – a versatile polymer for biomedical and beyond medical applications. *Polymer-plastics Technology and Engineering*, 54(9), 923-943. <https://doi.org/10.1080/03602559.2014.979506>
- Thomas, S., Soloman, P., & Rejini, V. (2016). Preparation of Chitosan- CMC Blends and Studies on Thermal Properties. *Procedia Technology*, 24, 721-726. <https://doi.org/10.1016/j.protcy.2016.05.201>
- Torres-Martinez, E. J., Cornejo Bravo, J. M., Serrano Medina, A., Pérez González, G. L., & Villarreal Gómez, L. J. (2018). A Summary of Electrospun Nanofibers as Drug Delivery System: Drugs Loaded and Biopolymers Used as Matrices. *Current Drug Delivery*, 15(10), 1360–1374. <https://doi.org/10.2174/1567201815666180723114326>
- Tyliszczak, B., Drabczyk, A., Kudłacik-Kramarczyk, S., & Sobczak-Kupiec, A. (2020). Sustainable production of chitosan. In *Studies in Systems, Decision and Control* (Vol. 198, pp. 45–60). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-11274-5_4

- Valeriano, M., Gabriela, A., Narváez, D., Cristina, G., Carrillo, R., & Elena, R. (2019). *Estudio comparativo de obtención, caracterización y actividad antioxidante de quitosano a partir de exoesqueletos de camarón estero y camarón de altamar. RESUMEN* (Vol. 4).
- Velasco Barraza, R.D., Álvarez Suarez, A.S., Villarreal Gómez, L.J., Paz González, J.A., Iglesias, A.L., & Vera Graziano, R. (2016). Designing a Low Cost Electrospinning Device for Practical Learning in a Bioengineering Biomaterials Course. *Revista mexicana de ingeniería biomédica*, 37(1), 7-16. <https://doi.org/10.17488/RMIB.37.1.1>
- Villarreal-Gómez, L. J., Cornejo-Bravo, J. M., Vera-Graziano, R., & Grande, D. (2015b). Electrospinning as a powerful technique for Biomedical applications: A Critically selected survey. *ResearchGate*. <https://doi.org/10.1080/09205063.2015.1116885>
- Vista de Evolución del Uso del Quitosano en el Tratamiento de Agua*. (2019). <https://vocero.uach.mx/index.php/finguach/article/view/414/359>
- Wang, Y., Huang, Y., Bai, H., Wang, G., Hu, X., Kumar, S., & Min, R. (2021). Biocompatible and biodegradable polymer optical fiber for biomedical application: A review. *Biosensors*, 11(12), 472. <https://doi.org/10.3390/bios11120472>
- Wong-Hernández, L., Bringas, R., Menendez, T., & Zaldivar-Silva, D. (2019). Biomateriales: del laboratorio al mercado. *ResearchGate*. https://www.researchgate.net/publication/343572438_Biomateriales_del_laboratorio_al_mercado
- Xie, Q., Liang, G., Lin, T., Chen, F., Wang, D., & Yang, B. (2020). Selective chelating precipitation of palladium metal from electroplating wastewater using chitosan and its derivative. *Adsorption Science & Technology*, 38(3-4), 113-126. <https://doi.org/10.1177/0263617420918729>
- Xing, J., Zhang, M., Liu, X., Wang, C., Xu, N., & Xing, D. (2023). Multi-material electrospinning: From methods to biomedical applications. *Materials today bio*, 100710. <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2023.100710>
- Xue, J., Wu, T., Dai, Y., & Xia, Y. (2019). Electrospinning and Electrospun nanofibers: methods, materials, and applications. *Chemical Reviews*, 119(8), 5298-5415. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00593>
- Zhang, Y., Zhao, M., Cheng, Q., Wang, C., Li, H., Han, X., Fan, Z., Su, G., Pan, D., & Li, Z. (2021). ResEarch Progress of adsorption and removal of heavy metals by Chitosan and its derivatives: a review. *Chemosphere*, 279, 130927. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130927>