

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INGENIERÍA Y TECNOLOGÍA  
FCITEC  
UNIDAD VALLE DE LAS PALMAS**



TESIS

Para obtener el grado de:

*Licenciatura en Bioingeniería*

**PREPARACIÓN DE NANOFIBRAS ELECTROHILADAS A BASE DE  
DERIVADOS DE QUITOSANO MULTIFUNCIONALES PARA LA SEPARACIÓN  
DE COLORANTES Y METALES PESADOS**

Presenta:

Daniela Alejandra Hernández Hernández

**Matricula:** 1262328

Director de Tesis:

Dr. Luis Jesús Villarreal Gómez

**Tijuana, Baja California, México, 01 de octubre de 2023**

## **DEDICATORIA**

A mi madre, por ser la encarnación del apoyo incondicional, mismo que me ha brindado durante años, por todo su amor y por siempre alentarme siempre ir por más.

A mis hermanas, por ser para mí una inspiración y un ejemplo de dedicación y perseverancia.

A mi sobrino, a quien amo con todo mi ser.

A Ana, por siempre creer en mí.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a la Universidad Autónoma de Baja California (UABC) por brindarme las herramientas necesarias, a lo largo de toda mi formación universitaria, para convertirme en el profesional que aspiro ser.

Al Laboratorio de Ingeniería de Tejidos y Biomateriales (LINTEB) de la Facultad de Ciencias de la Ingeniería y Tecnología (FCITEC), unidad Valle de las Palmas, por permitirme hacer uso de sus instalaciones para llevar a cabo este proyecto.

Al Dr. Luis Jesús Villarreal Gómez, director de tesis, por darme la oportunidad de trabajar en este proyecto, por siempre buscar las mejores condiciones de desarrollo para mí y para toda la FCITEC, por guiarme en todo el recorrido durante este proyecto y por todas esas charlas motivacionales que nos dio para siempre aspirar a ir por más.

Al Dr. Eduardo Alberto López Maldonado, codirector de tesis, por su disposición, por el apoyo que me brindó para obtener las herramientas necesarias para llevar a cabo este proyecto, por el tiempo que nos dedicó y por sus aportaciones para realizar las pruebas de FTIR, MEB y TGA.

A la Dra. Ana Leticia Iglesias, la Dra. Graciela Lizeth Pérez González y al Dr. Erick José Torres Martínez por disipar mis dudas con su inmenso conocimiento y por sus aportaciones a este proyecto.

A la Ing. Keila Miranda Meza, compañera y amiga, por el apoyo y motivación que me ha brindado, a quien admiro y respeto.

A la subvención “Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)” por la beca otorgada para el proyecto titulado “Desarrollo de Nuevos Biopolielectrolitos Multifuncionales para el Tratamiento y Reúso de Agua” clave No. A1-S-38139.

Gracias a todos ustedes.

# TABLA DE CONTENIDO

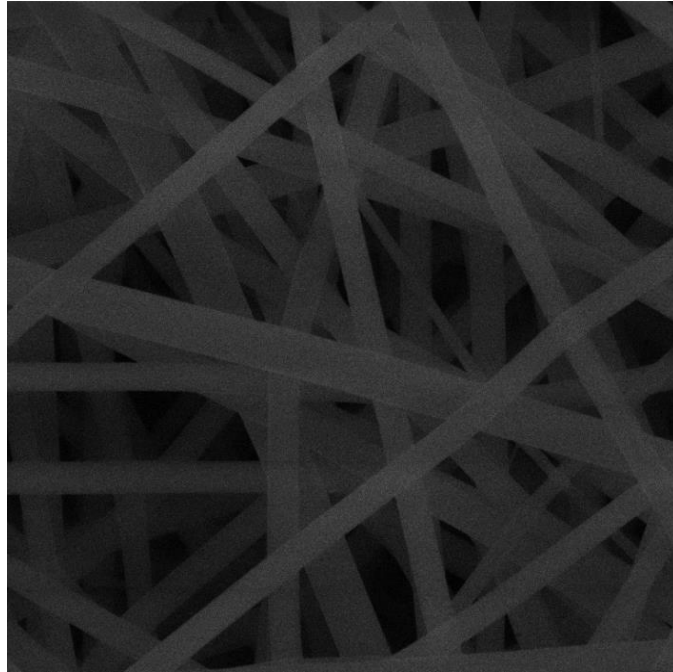
<b>DEDICATORIA .....</b>	<b>2</b>
<b>AGRADECIMIENTOS .....</b>	<b>3</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>6</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>7</b>
<b>II. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>9</b>
<b>2.1. Contaminación por metales pesados .....</b>	<b>9</b>
<b>2.2 Métodos comunes de eliminación de metales pesados .....</b>	<b>11</b>
<b>2.2.1 Precipitación química .....</b>	<b>11</b>
<b>2.2.2 Intercambio iónico.....</b>	<b>11</b>
<b>2.2.3 Adsorción .....</b>	<b>11</b>
<b>2.2.4. Coagulación/floculación.....</b>	<b>12</b>
<b>2.2.5. Electrocoagulación .....</b>	<b>12</b>
<b>2.3 Adsorción y nanoadsorbentes .....</b>	<b>12</b>
<b>2.4 Quitina .....</b>	<b>13</b>
<b>2.5 Quitosano.....</b>	<b>13</b>
<b>2.6 Electrohilado .....</b>	<b>15</b>
<b>2.6.1 Parámetros de control en la solución.....</b>	<b>17</b>
<b>2.6.2 Parámetros del proceso.....</b>	<b>18</b>
<b>2.7 Electrohilado del quitosano.....</b>	<b>19</b>
<b>2.8 Solventes .....</b>	<b>20</b>
<b>2.8.1 Ácido acético .....</b>	<b>20</b>
<b>III. OBJETIVOS.....</b>	<b>20</b>
<b>3.1. Objetivos Específicos .....</b>	<b>20</b>
<b>IV. HIPÓTESIS .....</b>	<b>20</b>
<b>V. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>21</b>
<b>5.1 Materiales .....</b>	<b>21</b>
<b>5.2 Preparación de soluciones .....</b>	<b>22</b>
<b>5.3 Electrohilado .....</b>	<b>23</b>
<b>5.4 Caracterización de las nanofibras .....</b>	<b>25</b>
<b>5.4.1 Microscopía electrónica de barrido (MEB) .....</b>	<b>25</b>
<b>5.4.2 Espectroscopia infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR).....</b>	<b>25</b>
<b>5.4.3 Análisis termogravimétrico (TGA).....</b>	<b>26</b>
<b>5.4.4 Ensayo antibacteriano.....</b>	<b>26</b>

<b>VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>26</b>
<b>6.1 Microscopía electrónica de barrido (MEB)</b> .....	26
<b>6.2 Espectroscopia infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR)</b> .....	29
<b>6.2.1 Comparación del espectro FTIR de los polvos.</b> .....	30
<b>6.2.2 Comparación del espectro FTIR de las fibras.</b> .....	31
6.2.2.1 PVP/ChQ2 .....	32
6.2.2.2 PVP/ChS .....	34
<b>6.3 Análisis termogravimétrico (TGA)</b> .....	36
<b>6.3.1 Análisis de las fibras PVP/ChQ2</b> .....	36
<b>6.3.2 Análisis de las fibras PVP/ChS</b> .....	37
<b>6.4 Ensayo antimicrobiano</b> .....	39
6.4.1 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	39
6.4.2 <i>Escherichia coli</i> .....	44
<b>VII. CONCLUSIONES</b> .....	<b>51</b>
<b>VIII. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>53</b>

## RESUMEN

El quitosano modificado se destaca por su biodegradabilidad y biocompatibilidad, siendo relevante en las industrias textil, alimentaria y farmacéutica. Por lo tanto, se investigaron las nanofibras de quitosano producidas mediante electrohilado, las cuales son prometedoras para aplicaciones biomédicas y de biorremediación debido a su alta área superficial que facilita la captura eficiente de colorantes en solución. El estudio implicó la síntesis y caracterización de nanofibras de quitosano modificadas con ácidos benzoicos y su potencial en la separación de metales pesados mediante adsorción selectiva. Los análisis incluyeron la evaluación de espectros FTIR que revelaron similitudes y diferencias en las señales de grupos funcionales en polvos de quitosano y polímeros. Se observó que el quitosano modificado conserva en gran medida su composición química convencional, con algunas diferencias en la intensidad de señales. Se analizó la pérdida de peso de las muestras con respecto a la temperatura, identificando una pérdida inicial debido a la evaporación del agua adsorbida, seguida de estabilidad térmica y finalmente una caída en la pérdida de peso por descomposición del material polimérico. Las diferencias entre las muestras indicaron variaciones en la estabilidad térmica y el comportamiento de degradación a diferentes concentraciones de PVP/ChQ2 y PVP/ChS. Por último, se evaluó la proliferación bacteriana de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* en respuesta a las fibras de PVP/ChS y PVP/ChQ2 en diferentes concentraciones de quitosano y bajo tratamientos de luz ultravioleta y tratamiento térmico. Aunque se observaron reducciones en la proliferación bacteriana en condiciones específicas, las fibras en general no mostraron una fuerte actividad antibacteriana según las normas de citotoxicidad. Sin embargo, una muestra de PVP/ChQ2 al 3% cumplió con los criterios de citotoxicidad al mostrar una reducción de la viabilidad celular mayor al 30%. En resumen, el estudio proporciona información detallada sobre las propiedades de las fibras de PVP/ChQ2 y PVP/ChS, destacando la importancia de considerar las condiciones específicas al evaluar la efectividad de materiales antimicrobianos y citotóxicos potenciales.

**Palabras clave:** Bacterias; Quitosano; Electrohilado; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*.



**Figura de resumen.** Nanofibras electrohiladas a base de quitosano modificado químicamente con ácidos benzoicos y PVP.

## **I. INTRODUCCIÓN**

Las nanofibras electrohiladas de quitosano son un tipo de material utilizado para la separación de colorantes en aplicaciones de filtración y purificación. El quitosano es un polisacárido derivado de la quitina, que se encuentra en el exoesqueleto de crustáceos y otros organismos marinos (Elieh, D. et al., 2016).

La fabricación de las nanofibras electrohiladas se realiza mediante un proceso de electrohilado, donde un polímero es disuelto en un solvente y luego sometido a un alto voltaje para generar una corriente eléctrica. Esto provoca la formación de una solución electrohilable, la cual es pasada a través de un campo eléctrico y, finalmente, se solidifica en forma de nanofibras al ser recolectada en un colector (Xue, J. et al., 2019).

Las nanofibras electrohiladas de quitosano tienen diversas propiedades que las hacen adecuadas para la separación de colorantes. Presentan una alta superficie específica, lo que les permite capturar y retener de manera eficiente los colorantes en solución. Además, poseen

una alta porosidad y tamaño de poro ajustable, lo que favorece la adsorción selectiva de los colorantes y permite una fácil recuperación de estos. (Zhang, Y. et al 2021).

Este tipo de nanofibras también presentan propiedades de biodegradabilidad y biocompatibilidad, lo que los hace una opción atractiva para aplicaciones en la industria textil, alimentaria y farmacéutica. Además, su proceso de fabricación es relativamente sencillo y puede ser procesado a gran escala.

En consecuencia, las nanofibras electrohiladas de quitosano son una opción prometedora para la separación de colorantes, debido a sus propiedades de alta superficie, porosidad y biocompatibilidad. Su uso puede contribuir a la purificación de aguas residuales y la reducción de la contaminación ambiental causada por colorantes, así como lo mencionan algunos autores (Ángel, N. et al., 2022), (Nayl, A. et al., 2022).

Por otro lado, las nanofibras electrohiladas de quitosano también pueden ser utilizadas para la separación de metales pesados en aplicaciones de filtración y purificación (Nayl, A. et al., 2022). Los metales pesados son compuestos tóxicos que pueden contaminar el agua y el suelo, representando un riesgo para la salud humana y el medio ambiente.

Las nanofibras de quitosano electrohiladas tienen propiedades de adsorción selectiva que les permiten capturar eficientemente los metales pesados en solución. El quitosano presenta grupos amino en su estructura, los cuales son capaces de formar complejos con los iones metálicos a través de interacciones químicas como la coordinación y la quelación (Upadhyay, U. et al., 2021).

Además, las nanofibras electrohiladas presentan una alta superficie específica y una gran porosidad, lo que favorece la captura y retención de los metales pesados. Wang, X. et al., (2016) ha documentado la factibilidad de ajustar el tamaño de los poros de las nanofibras para permitir la entrada selectiva de los metales pesados y evitar la filtración de otros compuestos indeseables.

La fabricación de las nanofibras electrohiladas de quitosano para este fin sigue el mismo proceso descrito anteriormente. El quitosano es disuelto en un solvente adecuado, se somete a un alto voltaje para generar una corriente eléctrica y se recolecta en forma de nanofibras en un colector (Pérez-Nava, A. et al., 2022).

Estas nanofibras de quitosano electrohiladas pueden ser utilizadas en diferentes tipos de sistemas de filtración, como cartuchos o membranas, para la remoción eficiente de metales pesados en diversas aplicaciones, como la purificación de agua potable, el tratamiento de efluentes industriales y la recuperación de metales valiosos en la minería (Trikkaliotis, D. et al., 2022).

En conclusión, las nanofibras electrohiladas de quitosano son una alternativa efectiva y prometedora para la separación de metales pesados debido a sus propiedades de adsorción selectiva, alta superficie y porosidad ajustable. Su uso puede contribuir a la mitigación de la contaminación por metales pesados y a la protección del medio ambiente y la salud humana (El-Aswar, E. et al., 2022).

Por todo lo anterior, el objetivo de este trabajo es sintetizar y caracterizar fibras electrohiladas de poli (vinil pirrolidona) / quitosano con potencial uso biotecnológico en la separación de colorantes y metales pesados.

## **II. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. Contaminación por metales pesados**

A medida que la tecnología continúa avanzando, los metales pesados en el agua potable han excedido los límites recomendados por los reguladores de todo el mundo. La principal fuente de exposición humana a los metales pesados es el agua potable contaminada. Los efectos de beber agua contaminada con metales pesados, como arsénico, plomo, níquel, cadmio y mercurio, han llamado gradualmente la atención de los departamentos y personal correspondiente. Es bien sabido que la exposición ocupacional a metales pesados ocurre como resultado del uso de estos metales en una variedad de procesos industriales y/o una variedad de materiales, incluidos pigmentos de color y aleaciones. Una serie de efectos

adversos en el metabolismo humano ha resultado de la exposición al agua potable contaminada con metales pesados, que se ha registrado en todo el mundo. El mecanismo general de toxicidad por metales pesados es a través de la producción de especies reactivas de oxígeno, la aparición de daño oxidativo y los consiguientes efectos adversos sobre la salud. Por lo tanto, el agua contaminada con metales pesados causa una alta morbilidad y mortalidad a nivel mundial. La acumulación de metales pesados como plomo, arsénico, mercurio, cadmio y níquel destruirá el principal proceso metabólico del cuerpo humano. Las reacciones redox en los sistemas biológicos son causadas por iones metálicos cancerígenos como el níquel y el arsénico. Los radicales libres producidos por estas reacciones causan daño oxidativo a las proteínas y al ADN. La acumulación de metales pesados eventualmente produce especies reactivas de oxígeno que pueden causar estrés oxidativo, lo que puede conducir a la producción de diversas enfermedades (Fu & Xi, 2020).

La creciente demanda de minerales que presiona a las autoridades mineras para extraer minerales de baja ley da como resultado más desechos mineros y degradación del medio ambiente. La principal fuente de contaminación en el sector minero son los relaves, las rocas de desmonte y las minas abandonadas. Los contaminantes o partículas finas de los desechos mineros ricos en sulfuros siguen dos vías principales para la dispersión: aérea y lixiviación. Los sulfuros al exponerse al oxígeno y al agua generan un drenaje ácido de mina que da como resultado la lixiviación de metales pesados. El agua de pozo de las minas abandonadas también es motivo de preocupación, ya que contamina los recursos hídricos subterráneos. Los factores climáticos como la temperatura, la precipitación y el viento influyen significativamente en las vías de dispersión de los contaminantes. En regiones áridas/semiáridas, las altas temperaturas forman sales de eflorescencia de grano fino en relaves o minas superficiales expuestas que son arrastradas por fuertes vientos/agua y contaminan los alrededores. En las regiones húmedas, la lixiviación de metales pesados tanto de los relaves como de los sulfuros de las rocas de sobrecarga da como resultado la contaminación ambiental. Es muy recomendable la aplicación de capas impermeables. Los factores climáticos (temperatura, viento y precipitación) controlan significativamente la dispersión y movilidad de los metales pesados en la región minera de Cu. Se recomienda la

implementación de políticas de gestión de residuos y tecnologías de control de la contaminación después de considerar los factores climáticos (Punia, A. 2021).

## **2.2 Métodos comunes de eliminación de metales pesados**

Entre los métodos comunes utilizados para la eliminación de metales pesados se pueden encontrar la precipitación química, el intercambio iónico, la adsorción, la coagulación/floculación y la electrocoagulación, entre otros. (Qasem, N. et al., 2021) reporta que la elección del método depende de varios factores, como las concentraciones de metales pesados, el volumen de agua a tratar y los requisitos de tratamiento específicos.

### **2.2.1 Precipitación química**

Este método utiliza reactivos químicos para convertir los metales pesados en forma insoluble, permitiendo su separación del agua o del medio ambiente. Esto se logra al agregar un precipitante, como sulfuro de sodio o hidróxido de calcio, que reacciona con los metales pesados y forma un precipitado que se puede separar fácilmente (Pohl, A., 2020).

### **2.2.2 Intercambio iónico**

Este método implica el uso de resinas o materiales de intercambio iónico para eliminar los metales pesados del agua. Las resinas tienen iones cargados negativamente que atraen y eliminan los metales pesados cargados positivamente del agua. Una vez que la resina está saturada con metales pesados, se puede regenerar y reutilizar (Al-Asheh, S. et al., 2021).

### **2.2.3 Adsorción**

En este método, se utiliza un adsorbente, como carbón activado o zeolitas, para atraer y retener los metales pesados del agua. El adsorbente tiene una gran superficie y una alta capacidad de adsorción, lo que lo hace eficaz para la eliminación de metales pesados. Una vez que el adsorbente está saturado, se puede regenerar o desechar adecuadamente (Zaimee, M. et al., 2021).

#### **2.2.4. Coagulación/floculación**

Este método implica agregar un coagulante químico, como sulfato de aluminio o policloruro de aluminio, seguido de un floculante, como polímeros, para formar *flocs* (agregados) con los metales pesados presentes en el agua. Los *flocs* pueden ser fácilmente separados mediante sedimentación o filtración (Jiang, J., 2015).

#### **2.2.5. Electrocoagulación**

Este método utiliza la aplicación de corriente eléctrica a través de electrodos para generar reacciones químicas que precipitan los metales pesados. La corriente eléctrica promueve la formación de hidróxidos metálicos insolubles, que se pueden eliminar mediante sedimentación o filtración (Boinpally, S. et al., 2023).

### **2.3 Adsorción y nanoadsorbentes**

El quitosano tiene propiedades de adsorción que lo hacen útil en diversas aplicaciones (Bhatt, P. et al., 2023). El quitosano tiene una estructura porosa y una gran superficie específica, lo que le confiere una mayor capacidad para adsorber moléculas y metales pesados. Esto se debe a la presencia de grupos funcionales amino ( $-NH_2$ ) en su estructura, que son los responsables de la interacción con las moléculas adsorbidas (Aranaz, I. et al., 2021). Además, tiene la capacidad de formar enlaces covalentes o complejos con metales pesados, especialmente con iones metálicos cargados positivamente. Los grupos amino presentes en el quitosano pueden coordinar con los iones metálicos, formando quelatos estables (Zhao, C. et al., 2021).

Por otro lado, el quitosano tiene la capacidad de adsorber selectivamente ciertos metales pesados en solución. Esta selectividad se debe a la afinidad específica de los grupos amino del quitosano hacia ciertos iones metálicos, lo que permite la eliminación selectiva de metales específicos (Petrova, Y. et al., 2015). La capacidad de adsorción del quitosano puede verse afectada por el pH del medio. Generalmente, su capacidad de adsorción es mayor en medios

ácidos, ya que a pH bajos los grupos amino están más protonados y tienen una mayor capacidad para adsorber metales (Omer, A. et al., 2022).

El quitosano puede regenerarse y reciclarse para su reutilización. Mediante el tratamiento del quitosano con soluciones adecuadas, los metales adsorbidos pueden ser adsorbidos, liberando los iones metálicos y permitiendo la regeneración del quitosano para su posterior uso (Vakili, M. et al., 2019).

## 2.4 Quitina

La Quitina es el segundo polisacárido más abundante en la naturaleza después de la celulosa, se encuentra principalmente en la pared celular de los hongos, levaduras y en el exoesqueleto de algunos crustáceos e insectos. Para fines prácticos la quitina suele obtenerse de los desechos de crustáceos (cangrejos, langostas y camarones). Químicamente se constituye por monómeros de 2-acetamino-2-desoxi-  $\beta$ -D-glucopiranosos unidos mediante enlaces  $\beta$  (1-4), se encuentra unida covalentemente a fibras de esclerotina y catecoles de manera que es necesario aplicar métodos de separación par su obtención y purificación. Es un biopolímero de gran interés debido a sus propiedades singulares como no toxicidad, biodegradabilidad y biocompatibilidad. La forma de desacetilación parcial de la quitina es el quitosano.

## 2.5 Quitosano

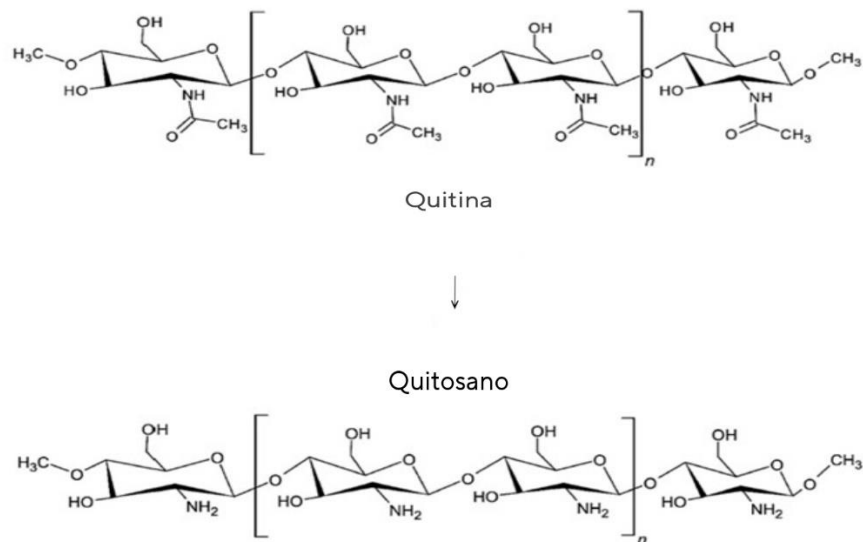
El Quitosano es un polímero de la familia de las poliaminoglucosos. Se considera que la quitina es transformada a quitosano cuando el número de unidades desacetiladas en la quitina es  $\geq 50\%$  lo que cambia su propiedad de insolubilidad a solubilidad en medios acuosos ácidos (Gallardo et al., 2019). Su estructura química trata de un polímero lineal que se compone en mayor medida por ensambles de unidades de D-glucosamina (unidad desacetilada) unida aleatoria y covalentemente a una menor medida de enlaces N-acetil-D-glucosamina (unidad acetilada) por enlaces  $\beta$  (1-4) cuya denominación química según la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada es 2-amino-2-desoxi-D-glucopiranosos (D-glucosamina GlcN) y 2-acetamido-2-desoxi-D-glucopiranosos N-acetil-glucosamina (Duceac et al., 2020). El quitosano posee una concentración de nitrógeno (N) mayor que 7 y una distribución regular

de sus grupos aminos libres que se cargan positivamente en contacto con ciertos ácidos dándole una propiedad policatiónica que le permite enlazarse con sustancias con carga negativa además de adquirir un comportamiento como floculante, adherente y absorbente. El quitosano es un polímero que en soluciones acuosas tiene efectos polielectrolíticos y que en conjunto con disolventes orgánicos de alto grado de toxicidad (hexafluoroisopropanol (HFIP), ácido trifluoroacético (TFA)) tiende a desnaturalizar sus propiedades y estructura al romper las interacciones entre la cadena (Rodríguez-Pedroso et al., 2021). Posee además una actividad antimicrobiana natural contra hongos, algas y ciertas bacterias, sin embargo, algunas otras propiedades del polímero dependen de las características de su naturaleza como su masa molecular, composición química de los sustratos, grado de acetilación, o algunas otras como condiciones ambientales, etc. Respecto al grado de desacetilación, podemos decir que se relaciona directamente con la actividad antimicrobiana la cual aumenta cuando el grado de desacetilación disminuye. Otra de sus principales características es su estructura rígida proveniente de los numerosos puentes de hidrogeno que conforman su estructura y que le atribuye gran estabilidad térmica.

Para aplicaciones biomédicas las propiedades del quitosano más atractivas son su actividad antimicrobiana, biocompatibilidad y biodegradabilidad; El quitosano presenta actividad antimicrobiana contra algunos hongos filamentosos, levaduras y virus. En algunos hongos como el *Zygomycetos* el quitosano, que es su principal componente, logra un efecto antifúngico por diferentes vías que muestran la gran importancia del grado de su polimerización; al disminuir el grado de polimerización del quitosano disminuye el número de especies de hongos inhibidos. Esta inhibición del crecimiento se atribuye a los grupos aminos de carga positiva y pH 5.6 presentes en el quitosano y que tienden a formar complejos polielectrolíticos de grupos ácidos y básicos de la superficie celular tendiendo al desorden (Rodríguez-Pedroso et al., 2021).

Por el contrario, para el caso de las bacterias resulta poco conveniente debido a la baja sensibilidad que presentan las bacterias. La actividad antimicrobiana se relaciona directamente con la concentración química del quitosano pues se ha demostrado que las soluciones de quitosano de hasta concentraciones de 0.10 mg/mL mostraron mejor inhibición

del crecimiento de la bacteria *patogénica Xanthomonas axonopodis pv. poinsettiicola* aislada de *Euphorbia pulcherrima*, cuando se aumentaba la concentración (Rodríguez-Pedroso et al., 2021).



**Figura 1.** Comparación de la estructura de la quitina y el quitosano.

## 2.6 Electrohilado

El “electrohilado” es un método moderno y efectivo que combina la biología y la tecnología de impresión a fin de obtener fibras nanométricas en “andamios” con grandes características de porosidad y versatilidad tras la formación de un campo eléctrico, los componentes principales que requiere esta técnica son 3: una aguja metálica, una fuente de alto voltaje con dos electrodos y un plato colector (He et al., 2013).

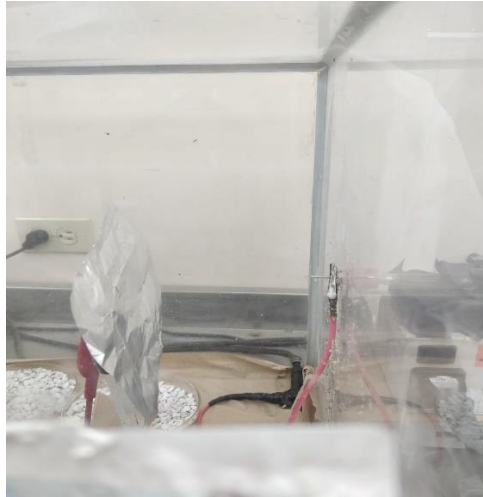
La aguja metálica contiene la solución polimérica y a la salida de esta se conecta uno de los electrodos mientras que el otro se conecta al plato colector el cual consiste en una lámina de metal conductor hacia la cual es impulsada la solución polimérica por la participación de una bomba de infusión. Esta técnica permite fabricar fibras poliméricas que van desde los 2 nanómetros hasta varios micrómetros a partir de solución polimérica haciendo uso de fuerzas electrostáticas.

La técnica de electrohilado requiere de la formación de un campo eléctrico capaz de vencer la tensión superficial de la gota que sale por la punta del capilar; al salir una gota del polímero esta es cargada eléctricamente provocando su deformación mejor conocida como el cono de Taylor. Tras la evaporación del disolvente la gota se solidifica y es dirigida en forma de hilos delgados hacia el colector, las fibras poliméricas pueden ser alineadas utilizando un colector rotatorio (Rodríguez-Pedroso et al., 2021).

Por lo anterior, se reconocen dos funciones cruciales del disolvente en la técnica de la electrohilado; disolver las moléculas del polímero y transportarlas hacia el colector para posteriormente evaporarse y abandonar las fibras del polímero. Para obtener con éxito las fibras del polímero es necesario controlar diferentes parámetros durante la técnica debido a que algunos factores como el voltaje, la conductividad eléctrica, volatilidad del solvente, etc. (Gonzales Molfino et al., 2020).

Además, para la correcta fabricación de las nanofibras, es indispensable contar con un entorno cerrado para su fabricación, que no sea conductor de energía y además tener el control de la temperatura y la humedad del medio para evitar la interferencia de factores ambientales, como las turbulencias de aire, que podrían llegar a interrumpir o evitar el proceso de fabricación de las fibras. En este proyecto se consideró tomar las medidas adecuadas para crear un entorno óptimo para la fabricación de las nanofibras además de cuidar las variables de temperatura y humedad.

El sistema de electrohilado utilizado en este proyecto consiste en una caja aislante en la que únicamente se encuentra la punta de la jeringa y los electrodos conectados a el colector y a la jeringa, respectivamente. El colector consiste en una placa de metal forrada con una lámina de aluminio que se mantiene estático durante todo el proceso y al final se desprende de la placa para coleccionar las fibras obtenidas. Para regular la humedad de la caja se utilizaron diédritas que absorben la humedad dentro de la caja.



**Figura 2.** Sistema de electrohilado utilizado para la fabricación de las nanofibras.

### 2.6.1 Parámetros de control en la solución

**Concentración:** La concentración de la solución polimérica se relaciona directamente en el tamaño y morfología de la fibra debido al estiramiento unidireccional del chorro; las concentraciones que se encuentran demasiado diluidas forman fibras débiles que se rompen antes de llegar al colector por acción de la tensión superficial, por el contrario, cuando la concentración es muy elevada las probabilidades de obtener fibras disminuyen debido a que la alta viscosidad entorpece el flujo de la solución a través del capilar (Pillay V. et al., 2013)..

**Conductividad:** El incremento en la conductividad provoca un incremento en la fuerza eléctrica para el estiramiento de la fibra, la manera en que aumenta o disminuye determina el diámetro que tendrá la fibra. Cuando la conductividad es baja no se forman nanofibras, sino que se forman cordones, es decir, la baja conductividad no permite la formación del cono de Taylor y por tal, interfiriendo en el proceso de electrohilado (Guo Y. et al., 2022).

Se puede mejorar la conductividad de la solución añadiendo a la solución polimérica algunas sales inorgánicas lo que ayuda a evitar la formación de perlas obteniendo así la formación de fibras uniformes.

**Solvente:** Se recomienda el uso de disolventes volátiles, debido a la alta tasas de evaporación que manejan, lo que favorece la evaporación del disolvente de las nanofibras durante el

recorrido de la punta de la aguja hasta el colector. A su vez, se suele evitar el uso de la mayoría de los disolventes muy volátiles debido a sus bajos puntos de ebullición y sus altas velocidades de evaporación provocan la desecación del chorro en la punta de la aguja (Mishra R. et al., 2019).

### 2.6.2 Parámetros del proceso

**Voltaje:** Se podría considerar el parámetro más importante ya que el voltaje que se requiere debe ser capaz de superar el umbral dando paso a la expulsión del cono de Taylor, es decir, el voltaje induce al estiramiento de la gota y determina el diámetro de la nanofibra.

**Flujo de salida:** La modificación de este parámetro se encuentra relacionado con la morfología de las fibras; los altos valores en el tamaño del capilar incrementan el tamaño de la fibra provocando un mayor número de defectos en ella mientras que cuando el tamaño es menor el cono de Taylor permanece estable permitiendo la evaporación del solvente, sin embargo, el valor ideal del parámetro lo definen las características del polímero a electrohilar.

**Distancia aguja-colector:** Se le atribuye cierta relación al grosor y forma de la fibra ya que a mayores distancias la fibra tiende a romperse debido a su peso, sin embargo, cuando la distancia disminuye, el riesgo de que el solvente se evapore muy rápido es menor. Pero si la distancia es muy pequeña, se corre el riesgo de que las fibras no tomen la forma adecuada debido a que el solvente no se evaporó completamente.

Particularmente para el caso de las fibras electrohiladas de quitosano suelen emplearse compuestos alcalinos o reticuladores (glutaraldehído y genipina), sin embargo, existe la posibilidad de perder las características naturales del polisacárido, así como de no obtener fibras continuas debido a la mala solubilidad con solventes orgánicos. Otra opción es el uso de solventes como el ácido trifluoroacético (TFA) o bien compuestos de ácido acético diluido.

## 2.7 Electrohilado del quitosano

La electrohilatura del quitosano es un reto debido a la naturaleza policationica del polímero en presencia de medios ácidos; las fuerzas repulsivas existentes entre las cargas de las cadenas poliméricas limitan la formación de fibras continuas y a su vez favorecen la creación de partículas. Por tal motivo, la forma más conveniente de electrohilar quitosano es realizando una mezcla entre dicho polímero y algún otro. Entre los polímeros más utilizados se encuentra el poli (caprolactona) (PCL), poli (vinil pirrolidona) (PVP), alcohol de polivinilo (PVA), (Mengistu Lemma et al., 2016).

Entre los atractivos del quitosano se encuentran sus propiedades fisicoquímicas, así como su estructura en estado sólido y en estado de disolución; La estructura del quitosano en estado sólido sugiere la formación de “cristales” relativamente rígidos derivados de la disposición regular de los grupos hidroxilo y grupos aminos localizados en las posiciones ecuatoriales de las unidades repetitivas de D-glucosamina enlazadas. Por otro lado, la estructura del quitosano en estado de disolución favorece la formación de microfibrillas impulsadas por el enlace de hidrogeno (Qasim et al., 2018). Tomando en cuenta estas características del quitosano la literatura reporta una metodología para la electrohilatura exitosa del quitosano donde se formará una interacción entre la química básica de los polímeros y la ciencia de los materiales avanzados; debido a la naturaleza cristalina del quitosano y la combinación con disolventes orgánicos, la formación de enlaces de hidrógeno complica la electrohilatura del mismo (Qasim et al., 2018), por lo que se optó por elegir una concentración muy baja de ácido acético y un agente formador de fibras (PVP). La literatura también reporta que la optimización de los factores que la afectan, como las propiedades de la solución (viscosidad, tensión superficial y conductividad), los parámetros de procesamiento y las condiciones ambientales mejora los resultados obtenidos (Gonzales Molfino et al., 2020).

Con la finalidad de mejorar las propiedades intrínsecas del quitosano regularmente se realizan modificaciones químicas posibles gracias a la presencia de grupos funcionales como amino (-NH<sub>2</sub>), hidroxilo (-OH) y N-acetilo (-NH-CO-CH<sub>3</sub>) (Gallardo et al., 2019) lo cual facilita la aplicación de la técnica de electrohilado.

## 2.8 Solventes

### 2.8.1 Ácido acético

El ácido acético es uno de los solventes más utilizados para el electrohilado de quitosano (Duceac et al., 2020). La concentración del ácido acético en agua influye fuertemente en la tensión superficial de las soluciones de quitosano (Charernsriwilaiwat et al., 2010), por esta razón, se trabajó con una solución de ácido acético al 70 %, para que el mismo permita que la solución de quitosano que se inyecte para la formación de las membranas sea la más adecuada.

## III. OBJETIVOS

Sintetizar y caracterizar fibras electrohiladas de poli (vinil pirrolidona) / quitosano modificado químicamente con potencial uso biotecnológico en la separación de colorantes y metales pesados.

### 3.1. Objetivos Específicos

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

## IV. HIPÓTESIS

Las fibras electrohiladas de poli (vinil pirrolidona) / quitosano modificado tienen propiedades adecuadas para su uso biotecnológico en la separación de colorantes y metales pesados

## V. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1 Materiales

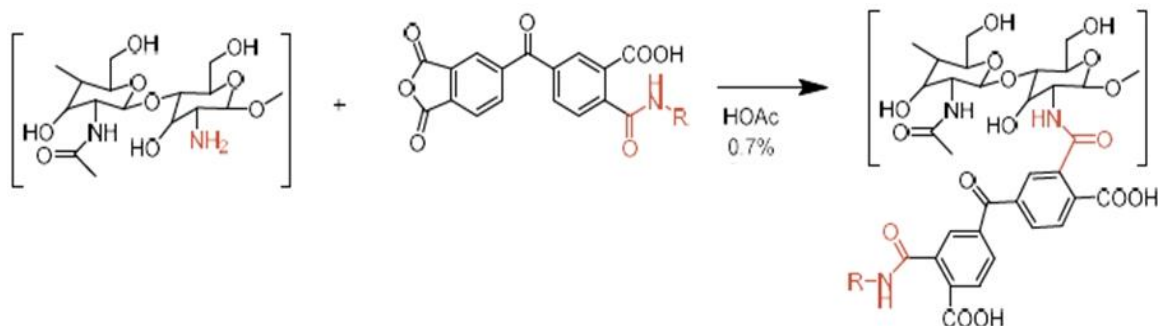
Poli (vinil pirrolidona) (PVP) (promedio peso molecular 40,000 g/mol, Sigma-Aldrich). El solvente utilizado fue ácido acético glacial Jalmek  $\geq 99$ , solución 1N (1M). Para su propósito, el compuesto (Quitosano) (Ch) fue requerido en las siguientes versiones:

- Quitosano cosmético (**ChS**).
- Quitosano modificado químicamente con ácidos benzoicos (**ChQ2**).

### 5.2. Quitosano Modificado

La modificación química del quitosano se llevó a cabo a través de la síntesis de dianhídrido 3,3',4,4'- benzofenonatetracarboxílico modificado con distintas aminas. El procedimiento se llevó a cabo siguiendo las especificaciones del Dr. Eduardo Alberto López Maldonado, codirector de tesis, en su proyecto denominado “*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), mismas que compartió con nosotros.

La modificación se llevó a cabo en un matraz de fondo redondo de 50 mL con 100 mg de quitosano convencional en ácido acético al 0.7%, calentando durante 15 min a 50 °C para disolver el quitosano. Posteriormente se agregó lentamente diferentes números de equivalentes del ácido carbamoil carboxílico, con la finalidad de estudiar el grado de funcionalización del quitosano. La reacción se mantuvo en agitación durante 24 h y transcurrido el tiempo se modificó el pH de la solución hasta obtener un valor de 6. Finalmente se le realizaron lavados con etanol y acetona.



**Figura 2.** Ruta de síntesis de quitosano modificado con ácidos bis(carbamoilcarboxílicos).

## 5.2 Preparación de soluciones

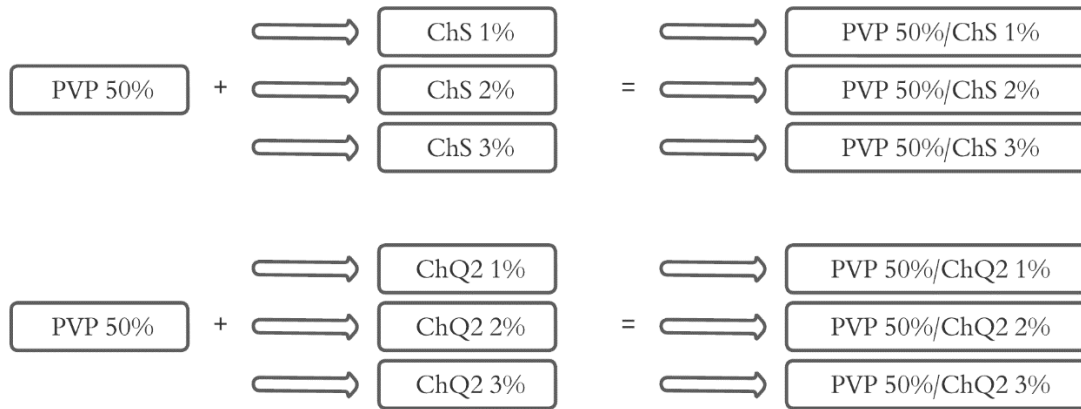
Se realizó un total de 6 soluciones de PVP/Ch con diferente concentración de quitosano (1, 2, 3%) cada uno y utilizando 2 diferentes tipos de quitosano: quitosano cosmético (ChS), quitosano modificado químicamente (ChQ2), resultando de la siguiente manera la clasificación de las muestras analizadas.

**Tabla 1.** Clasificación de las muestras.

C	PVP/ChS	PVP/ChQ2
1%	ChS 1 %	ChQ2 1 %
2%	ChS 2 %	ChQ2 2 %
3%	ChS 3 %	ChQ2 3 %

Para preparar la solución PVP/Ch se utilizó una balanza analítica para pesar la cantidad necesaria de cada uno de los polímeros utilizando ácido acético (AcOH) como solvente en común. La muestra se colocó sobre la plancha calentadora a 200 rpm y 50°C por 24 h hasta quedar en una consistencia homogénea para posteriormente mezclar la solución de Ch con la solución de PVP 50% agitando nuevamente a 200 rpm y 50°C por 24 h.

El mismo procedimiento fue utilizado para preparar cada una de las soluciones poliméricas, obteniendo así un total de 6 muestras.



**Figura 3.** Nomenclatura de las muestras de fibras PVP/ChS y PVP/ChQ2.

### 5.3 Electrohilado



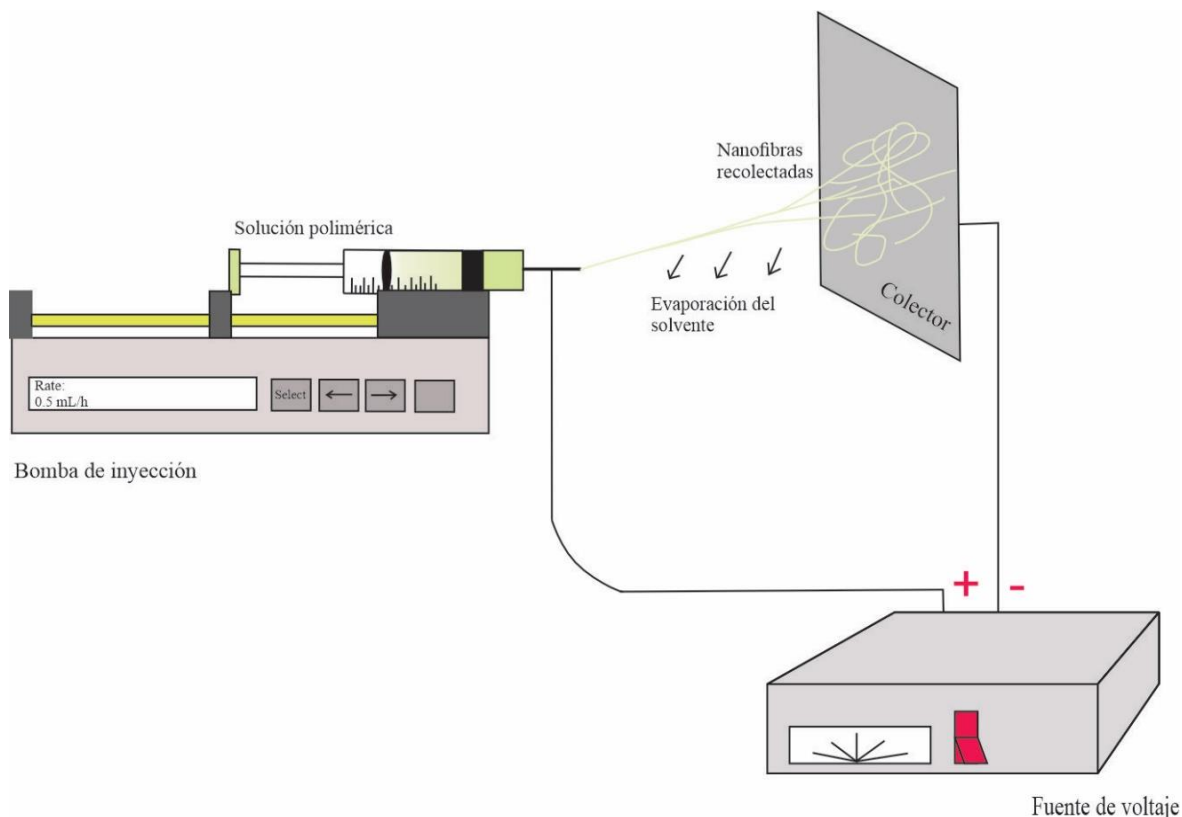
**Figura 4.** Fibras de quitosano obtenidas mediante la preparación de las muestras PVP/ChS y PVP/ChQ2.

El procedimiento se realizó con una máquina de electrohilado con capacidad de 20 kV ubicada en el Laboratorio de Ingeniería de Tejidos y Biomateriales (LINTEB) ubicado en la FCITEC, UABC unidad Valle de las Palmas. La solución polimérica preparada fue cargada a una jeringa (18G) evitando y removiendo las burbujas creadas durante la técnica. Al colocar

el papel aluminio en el colector se procuró evitar la formación de rugosidades que obstruyeran la recolección de fibras lisas y uniformes. La jeringa y el colector se conectaron en sus respectivos polos para aplicar el voltaje. Las condiciones implementadas fueron las descritas en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Condiciones de electrohilado.

<b>Voltaje (kV)</b>	20
<b>Flujo (mL/h)</b>	0.5
<b>Humedad (%)</b>	25-30
<b>Distancia del colector (cm)</b>	15



**Figura 5.** Esquema general del electrohilado.

## 5.4 Caracterización de las nanofibras

Para la caracterización de las nanofibras se realizaron distintas pruebas que nos ayudaron a describir la morfología de las fibras, composición química y propiedades fisicoquímicas. Las pruebas realizadas fueron la Microscopía electrónica de barrido (MEB), Espectroscopia infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR), Análisis termogravimétrico (TGA) y un ensayo antibacteriano, los cuales se describen en la siguiente sección.

### 5.4.1 Microscopía electrónica de barrido (MEB)

Para conocer la morfología superficial 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 de microscopía 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 online Image J en la que se realizó la medición de 20 secciones de las fibras por cada imagen.

### 5.4.2 Espectroscopia infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR)

Para la determinación del tipo de grupos funcionales mayoritarios y confirmar la existencia del compuesto se realizaron ensayos de FT-IR a las fibras con un espectrómetro Nicolet iS5 con iD5 ATR, Thermo Scientific. Se tomaron muestras con dimensiones de 0,5 x 0,5 cm y se colocaron bajo el lente. Los resultados obtenidos fueron analizados con el software OriginPro 2018.



**Figura 6.** Equipo empleado para el análisis FT-IR y colocación de muestra.

### 5.4.3 Análisis termogravimétrico (TGA)

Se realizó el análisis termogravimétrico con la finalidad de registrar el cambio producido en la masa de las muestras conforme aumentaba la temperatura y determinar la temperatura en la que comienza la degradación térmica. La prueba se realizó elevando la temperatura desde temperatura ambiente ( $\pm 20$  °C) hasta 800 °C en un matraz de platino sin sellar y utilizando nitrógeno con un flujo de 20 mL/min. El equipo utilizado fue un modelo Shimadzu TGA-Q500. Los termogramas se analizaron utilizando el software de análisis universal TA.

### 5.4.4 Ensayo antibacteriano

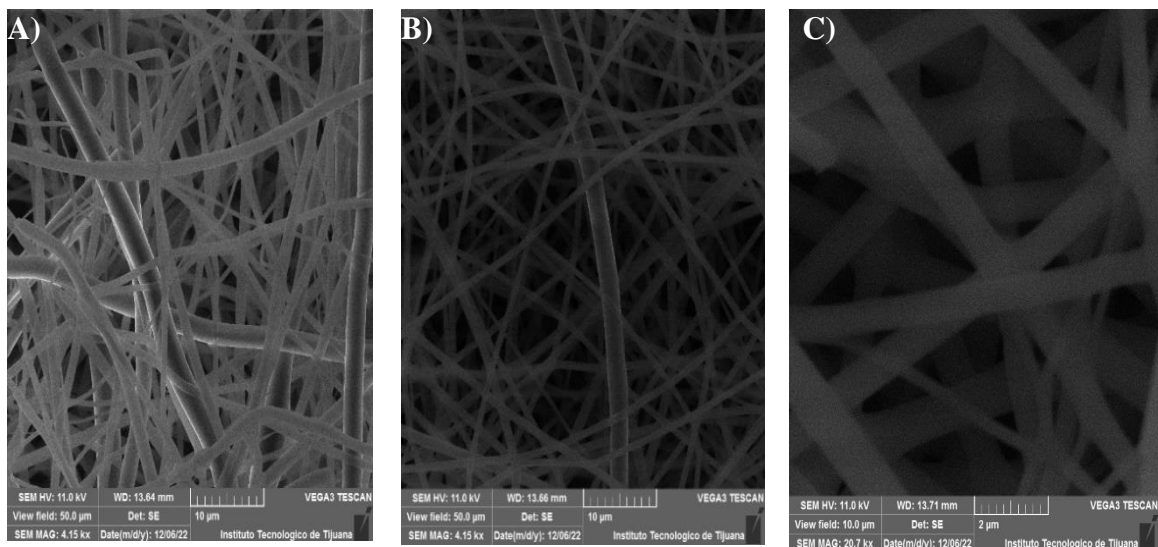
Se cortaron secciones de cada muestra con un diámetro de 0.5 cm y se colocaron en cajas Petri para esterilizar las muestras con luz ultravioleta durante 15 minutos por cada lado. Una vez estériles, se colocaron ordenadamente en una placa de 96 pocillos; se colocó un fragmento de fibra al fondo de cada pocillo, se añadió también por separado 10 mg/ml del polvo de cada quitosano, así como los controles necesarios. Las cepas bacterianas utilizadas, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, se cultivaron en un medio Muller-Hinton estéril previamente durante 24 h a 35 ° C. Posteriormente se agregaron 200  $\mu$ L del inóculo con medio limpio en cada uno de los pocillos que contenían las fibras y los polvos. Como control positivo se agregaron 10  $\mu$ L gentamicina al pocillo con 200  $\mu$ L medio limpio y bacteria, como control negativo se agregó al pocillo únicamente 200  $\mu$ L medio limpio y bacteria. Transcurridas 3 h se midieron los resultados en un lector de microplacas (Thermo Scientific) a 600 nm.

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

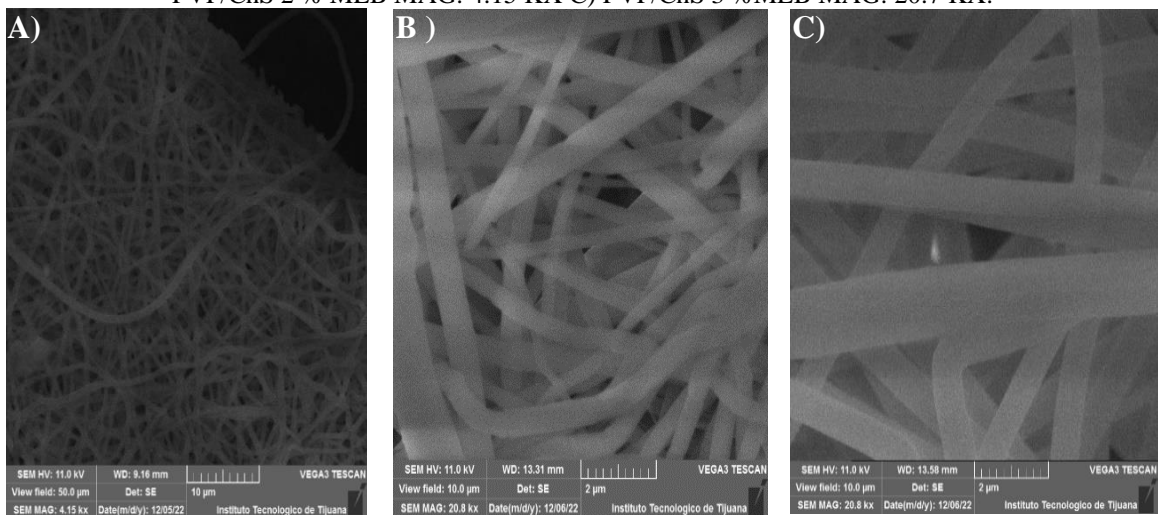
### 6.1 Microscopía electrónica de barrido (MEB)

Las imágenes obtenidas por medio de la prueba MEB confirman que las soluciones poliméricas de PVP con distintos tipos de quitosano fueron electrohiladas con éxito. En las imágenes se observa que la morfología de las fibras, está compuesta por abundantes

filamentos. Si se realiza una comparación entre las estructuras de las fibras obtenidas con quitosano Sigma-Aldrich (ChLw y ChMw) y el quitosano modificado químicamente (ChQ2), se puede observar la semejanza en las estructuras, descartando la presencia de otras estructuras no deseadas.



**Figura 7.** Análisis MEB del PVP/ChS a diferentes porcentajes. A) PVP/ChS 1 % MEB MAG: 4.15 KX B) PVP/ChS 2 % MEB MAG: 4.15 KX C) PVP/ChS 3 % MEB MAG: 20.7 KX.



**Figura 8.** Análisis MEB del PVP/ChQ2 a diferentes porcentajes. A) PVP/ChQ2 1 % MEB MAG: 4.15 KX B) PVP/ChQ2 2 % MEB MAG: 20.8 KX C) PVP/ChQ2 3 % MEB MAG: 20.8 KX.

La Tabla 3 presenta las medidas obtenidas en los diámetros de las fibras, se determinó la media ( $\bar{x}$ ) y desviación estándar (**SD**) de los 20 datos obtenidos de al menos 1 fotografía por cada muestra resultando de la siguiente manera.

**Tabla 3.** Diámetros de las fibras. Datos obtenidos con el programa Image J.

<b>Muestras</b>	$\bar{x}$ $\mu\text{m}$	<b>SD</b> $\mu\text{m}$	$\bar{x} \pm \text{SD}$ $\mu\text{m}$
<b>PVP/ChS 1 %</b>	1.715	0.1720	1.71 $\pm$ 0.1
<b>PVP/ChS 2 %</b>	2.476	0.1620	2.47 $\pm$ 0.1
<b>PVP/ChS 3 %</b>	0.697	0.0605	0.69 $\pm$ 0.06
<b>PVP/ChQ2 1 %</b>	0.966	0.1002	0.96 $\pm$ 0.1
<b>PVP/ChQ2 2 %</b>	0.752	0.0777	0.75 $\pm$ 0.07
<b>PVP/ChQ2 3 %</b>	1.038	0.4027	1.03 $\pm$ 0.40

Los diámetros mayores se encuentran presentes en las fibras de PVP/ChMw en 1% 2% y 3 % donde se observan diámetros de hasta 2.43 $\pm$ 0.5. En las fibras de PVP/ChQ2 se observa un aumento esperado en los diámetros a medida que aumenta la concentración del compuesto. En el caso de las fibras de PVP/ChQ2 2 %, el menor diámetro registrado fue de 0.75 $\pm$ 0.07. Cabe mencionar, que la misma muestra de PVP/ChQ2 en su concentración de 1% y 2% presenta menor diámetro de las muestras fabricadas con quitosano Sigma-Aldrich. Por otro lado, las fibras elaboradas con PVP/ChS presentan diámetros de 0.69 $\pm$ 0.06 hasta 2.47 $\pm$ 0.1.

El diámetro de las fibras electrohiladas en las membranas de filtración juega un papel crucial en su desempeño y eficiencia (Verma et al., 2023). La importancia del diámetro radica en varios aspectos como la eficiencia de retención, capacidad de carga, resistencia mecánica y eficiencia de flujo, entre otros (Xue et al., 2019).

La eficiencia de retención de partículas por parte de la membrana depende en gran medida del diámetro de las fibras. En general, las fibras más delgadas tienen una mayor eficiencia de retención de partículas pequeñas, ya que los espacios entre las fibras son más estrechos y pueden atrapar partículas más pequeñas. Por otro lado, fibras más gruesas permiten un mayor flujo de líquido a través de la membrana (Cimini et al., 2023).

En el caso del diámetro de las fibras también determina la capacidad de carga de la membrana, es decir, la cantidad de partículas que puede retener antes de alcanzar la saturación. Las fibras más delgadas tienen una mayor capacidad de carga debido a la mayor

área de superficie disponible para la captura de partículas. Esto es especialmente importante en aplicaciones en las que se esperan altas concentraciones de partículas o en operaciones de filtración a largo plazo (Onur et al., 2018). También influye en la resistencia mecánica de la membrana. Fibras más gruesas suelen tener una mayor resistencia y durabilidad, lo que puede ser deseable en aplicaciones que involucran presiones de filtración altas o manipulación física frecuente de la membrana (Ahmed et al., 2015).

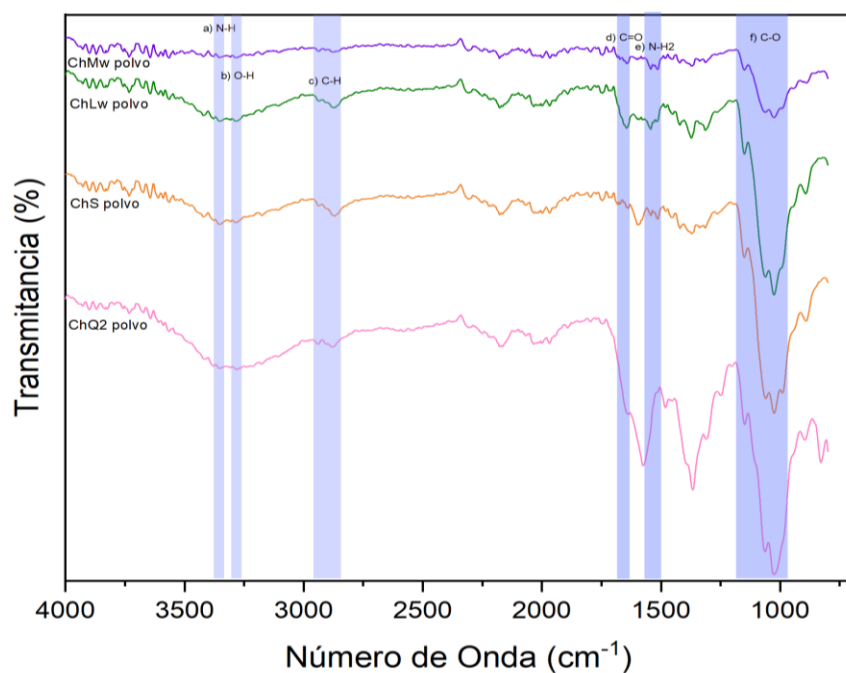
Así mismo, el diámetro de las fibras también impacta en la eficiencia de flujo de líquido a través de la membrana. En general, fibras más delgadas permiten un mayor flujo de líquido, ya que hay menos obstáculos para el paso del líquido a través de los espacios entre las fibras. Esto puede ser beneficioso en aplicaciones donde se requiere una alta velocidad de filtración (Alpatova et al., 2019).

## 6.2 Espectroscopia infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR)

En este ensayo se analizaron las fibras de PVP<sub>control</sub>, PVP/ChS, y PVP/ChQ2, así como el polímero en polvo para observar los grupos funcionales que se encuentran presentes en la estructura química de las mismas y si dichos grupos prevalecen en las muestras una vez que se ha realizado la mezcla de polímeros. Se analizó también la composición de polvos y fibras del quitosano convencionales de bajo (ChLw) y de medio (ChMw) peso molecular obtenido de Sigma Aldrich para realizar una comparación de los resultados.

### 6.2.1 Comparación del espectro FTIR de los polvos

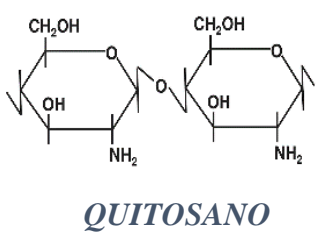
En la figura 9 se observa la comparación realizada a los espectros FTIR de los 4 polvos de quitosano (ChMw, ChLw, ChS, ChQ2). En la figura se puede observar la similitud que tiene el espectro del ChQ2 con los espectros de los quitosano convencionales (ChMw, ChLw); se observa la presencia de las bandas 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 (Ogunwale et al., 2017), y la banda de adsorción presente en  $2951$  y  $2897\text{ cm}^{-1}$  se atribuye al estiramiento simétrico y asimétrico del grupo C-H (Fernandes Queiroz et al., 2014). 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  $\text{NH}_2$  en la banda  $\sim 1580\text{ cm}^{-1}$  (Libanov et al., 2023). Se observa también una señal en la banda  $\sim 1024\text{ cm}^{-1}$  correspondiente al estiramiento asimétrico del grupo C-O (Hong et al., 2021). Por otro lado, el espectro del polvo modificado (ChQ2) presenta una combinación de señales observables en las bandas  $\sim 3380\text{ cm}^{-1}$ ,  $\sim 3231\text{ cm}^{-1}$  (N-H),  $\sim 1566\text{ cm}^{-1}$  (C=O),  $1072$  (C-O), además, se acentúa más la presencia de la banda  $\sim 2937\text{ cm}^{-1}$  (C-H).



**Figura 9.** Comparación del espectro FTIR de los polvos convencionales y las muestras ChS y ChQ2.

**Tabla 4.** Señales localizadas de FTIR de los polvos ChMw, ChLw, ChS, ChQ2.

**POSICIÓN DEL PICO**

MUESTRA	GRUPOS FUNCIONALES						ESTRUCTURA QUÍMICA
ASIGNACIÓN DE ENLACE	NH (cm <sup>-1</sup> )	O-H (cm <sup>-1</sup> )	C-H (cm <sup>-1</sup> )	C=O (cm <sup>-1</sup> )	NH <sub>2</sub> (cm <sup>-1</sup> )	C-O (cm <sup>-1</sup> )	
	3350-3310 (m)	3550-3200 (f)	3000-2840 (m)	1650 (f)	1650-1580 (m)	1085-1050 (f)	 <p><b>QUITOSANO</b></p>
ChMw	3349	3278	2950-2897	1647	1584	1021	
ChLw	3350	3279	2951-2895	1642	1582	1021	
ChS	3350	3282	2951-2896	1640	1544	1027	
ChQ2	3380-3231		2937	1640	1580	1072	

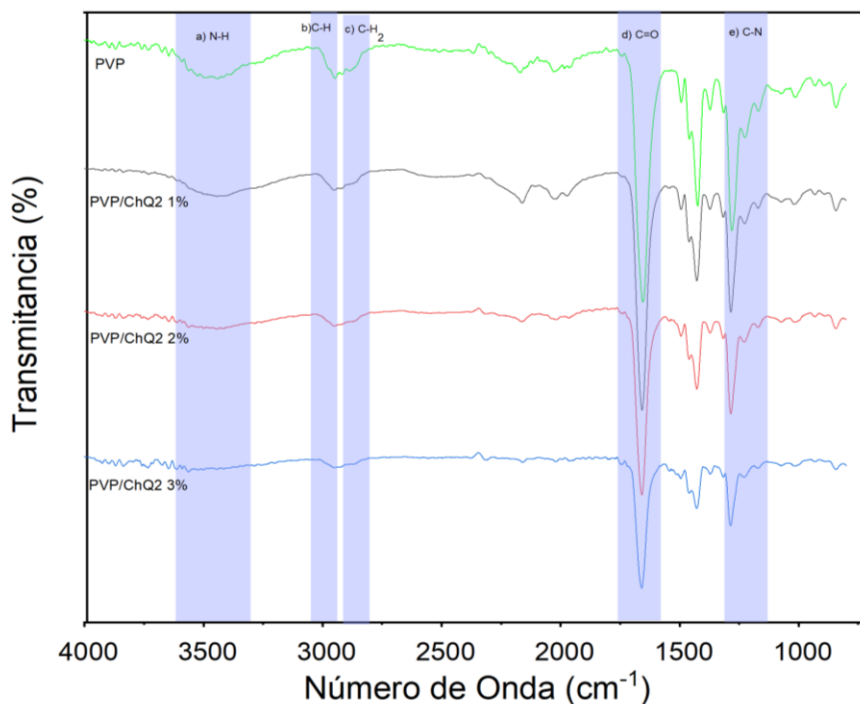
**6.2.2 Comparación del espectro FTIR de las fibras.**

En esta sección se analizan los resultados obtenidos para las fibras realizadas con los 4 tipos de quitosano (ChS, ChQ2, ChLw y ChMw) sintetizadas con PVP.

### 6.2.2.1 PVP/ChQ2

En la figura 10 se muestran las señales más evidentes que corresponden a grupos funcionales característicos de las muestras PVP<sub>control</sub>, y PVP/ChQ2. En la región de  $\sim 2800$  y  $\sim 3000$   $\text{cm}^{-1}$  se muestran un conjunto de estiramientos simétricos y asimétricos atribuibles a los grupos C-H y  $-\text{CH}_2-$  presentes en la estructura del PVP, así como en la del ChQ2. La banda más característica se localiza a  $\sim 1658$   $\text{cm}^{-1}$  el cual corresponde al estiramiento del grupo carbonilo (C=O) presente tanto en la estructura del ChQ2 como en la del PVP. Dentro del intervalo comprendido entre  $\sim 3500$   $\text{cm}^{-1}$  y  $\sim 3100$   $\text{cm}^{-1}$  se encuentran visibles bandas características del grupo amina (N-H) el cual predomina principalmente en la estructura de la muestra de ChQ2.

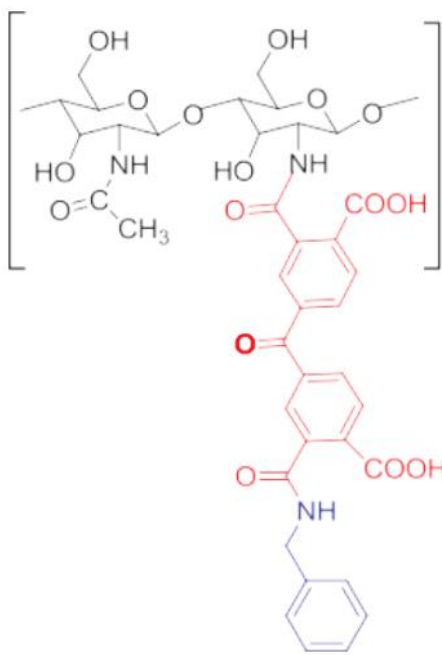
Las bandas observadas representan a las señales más típicas características de estos polímeros; se puede observar la similitud entre las señales obtenidas lo que significa que la síntesis de las fibras no alteró significativamente la composición del polímero por lo que se siguen obteniendo los mismos picos que caracterizan y confirman la presencia de ambos polímeros.



**Figura 10.** Comparación del espectro FTIR del ChQ2 en sus diferentes porcentajes.

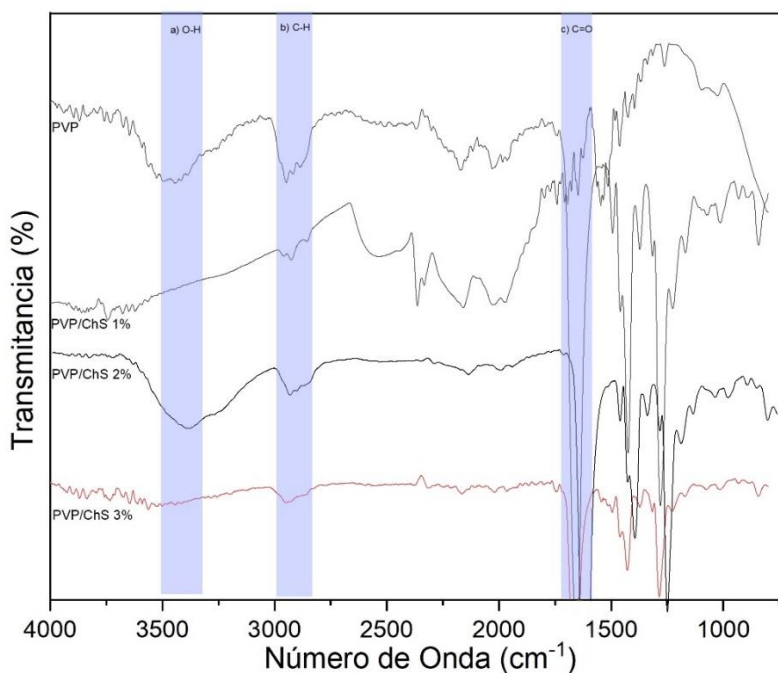
**Tabla 5.** Señales localizadas de FTIR de las fibras PVP/ChQ2 a diferentes proporciones de quitosano.

**POSICIÓN DEL PICO**

MUESTRA	GRUPOS FUNCIONALES				ESTRUCTURA QUÍMICA
	N-H cm <sup>-1</sup>	C-H, C-H <sub>2</sub> cm <sup>-1</sup>	C-N cm <sup>-1</sup>	C=O cm <sup>-1</sup>	
	3000-2800 (f)	3000-2840 (m)	1250-1020 (m)	1650 (f)	 <p><i>Quitosano ChQ2</i></p>
PVP/ChQ2 1 %	3018-2840	2850	1251-1134	1658	
PVP/ChQ2 2 %	3003-2832	2852	1250-1134	1656	
PVP/ChQ2 3 %	3011-2829	2847	1251-1137	1648	
PVP	3014-2836	2848	1253-1133	1657	

### 6.2.2.2 PVP/ChS

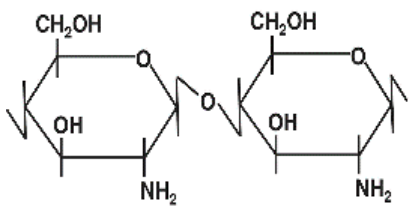
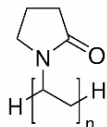
Así mismo, la Tabla 6 muestra las señales más evidentes correspondientes a grupos funcionales específicos en muestras de PVP<sub>control</sub> y PVP/ChS. Se observan en las bandas en 3341-3270  $\text{cm}^{-1}$  el estiramiento simétrico y asimétrico de un grupo de amina secundaria. En las regiones de  $\sim 2800$  y  $\sim 3000$   $\text{cm}^{-1}$  existen señales simétricos y asimétricos atribuidos a conjuntos CH y  $-\text{CH}_2-$  presentes en la composición de PVP y ChS. La banda más característica se encuentra en aproximadamente 1658  $\text{cm}^{-1}$ , que corresponde al estiramiento del grupo carbonilo (C=O) presente tanto en las composiciones de ChS como de PVP. Dentro del intervalo entre  $\sim 3500$  y  $\sim 3100$   $\text{cm}^{-1}$ , se observan bandas características de los grupos amina (NH), predominantemente prominentes en la composición de ChS. En la figura 11 de observa una estructura diferente en la muestra PVP/ChS1, sin embargo, la diferencia radica en la amplitud de la muestra, la pérdida de la señal se debe a la sobre posición de la gráfica en la que no se pudo recuperar la señal original. Considerando esto, se puede observar la similitud de los picos presentes entre las ondas 2500 y 2000  $\text{cm}^{-1}$  las cuales muestran bastante similitud con la muestra de PVP.



**Figura 11.** Comparación del espectro FTIR del ChS en sus diferentes porcentajes.

**Tabla 6.** Señales localizadas de FTIR de las fibras PVP/ChS a diferentes proporciones de quitosano.

**POSICIÓN DEL PICO**

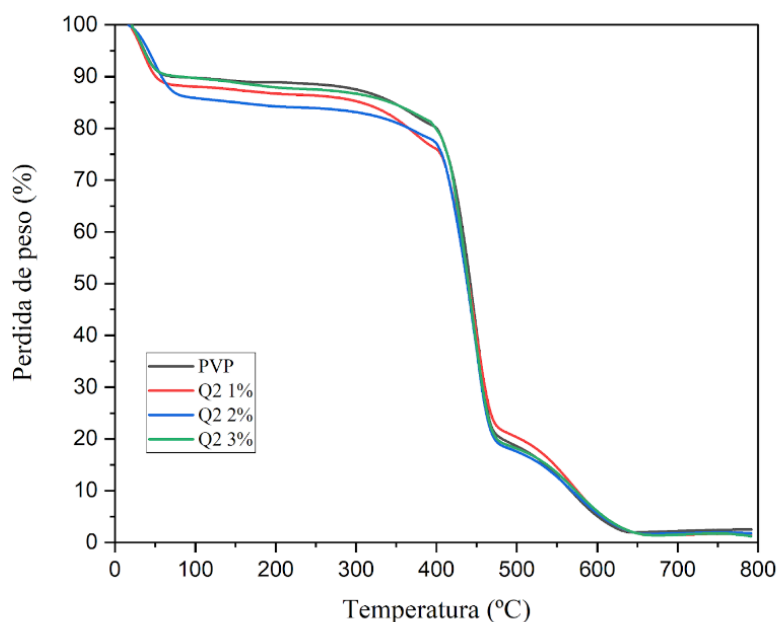
MUESTRA	GRUPOS FUNCIONALES			ESTRUCTURA QUÍMICA
	O-H	C-H	C=O	
ASIGNACIÓN DE ENLACE				
	3550-3200 (f) $cm^{-1}$	3000-2800 (m) $cm^{-1}$	1650 (f) $cm^{-1}$	 <p><i>Quitosano ChS</i></p>
ChS 1 %	NP	2960-2840	1648	
ChS 2 %	3341-3270	2932-2887	1644	 <p><i>Poli (vinil pirrolidona) (PVP)</i></p>
ChS 3 %	NP	2950-2894	1659	
PVP	3431-3286	2950-2883	1650	

### 6.3 Análisis termogravimétrico (TGA)

Se analizan las muestras PVP/ChQ2 y PVP/ChS en sus diferentes concentraciones de quitosano (1, 2, y 3 %). Se presentan los registros de las etapas de pérdida de peso en función de la temperatura a la que fueron sometidas para indicar su proceso de descomposición.

#### 6.3.1 Análisis de las fibras PVP/ChQ2

La figura 12 muestra la pérdida de peso para las muestras realizadas con PVP/ChQ2 en sus tres concentraciones (PVP/ChQ2, 1 %, PVP/ChQ2, 2 %, PVP/ChQ2, 3 %); en la primera etapa de degradación podemos observar una pérdida de masa inmediata al comienzo del ciclo derivada de la evaporación del agua adsorbida a los  $\sim 21.60^{\circ}\text{C}$ ,  $19.98^{\circ}\text{C}$ ,  $16.74^{\circ}\text{C}$  y  $21.07^{\circ}\text{C}$ , siendo PVP/Q2 2 % la muestra que tuvo una mayor pérdida de  $\sim 13.81\%$  mientras que para las demás el porcentaje fue menor. En la segunda etapa se observa una estabilidad térmica en todas las muestras a partir de los  $\sim 60^{\circ}\text{C}$ , en esta etapa cabe mencionar la similitud del proceso de descomposición de la muestra PVP<sub>control</sub> con la muestra PVP/ChQ2 3% seguido de PVP/ChQ2 1% y por último PVP/ChQ2 2%. A partir de los  $\sim 395^{\circ}\text{C}$  se observa una abrupta caída correspondiente a la descomposición del material polimérico en donde las pérdidas de peso fueron PVP  $\sim 60.38\%$ , PVP/ChQ2-1%  $54.31\%$ , PVP/ChQ2-2%  $59.02\%$  y PVP/ChQ2-3%  $61.82\%$ .



**Figura 12.** Pérdida de peso / tiempo de las muestras de PVP/ChQ2 (1, 2 y 3%)

**Tabla 7.** Representación tabulada de las lecturas obtenidas en las caídas de pérdida de peso para la muestra PVP/ChQ2 en sus diferentes concentraciones comparada con la muestra de PVP.

PP	1	2	3	4
PVP	9.77%	9.5%	60.38%	18.24%
PVP/ChQ2 1%	11.31%	12.17%	54.31%	20.17%
PVP/ChQ2 2%	13.81%	8.43%	59.02%	16.87%
PVP/ChQ2 3%	9.61%	8.84%	61.82%	17.68%

### 6.3.2 Análisis de las fibras PVP/ChS

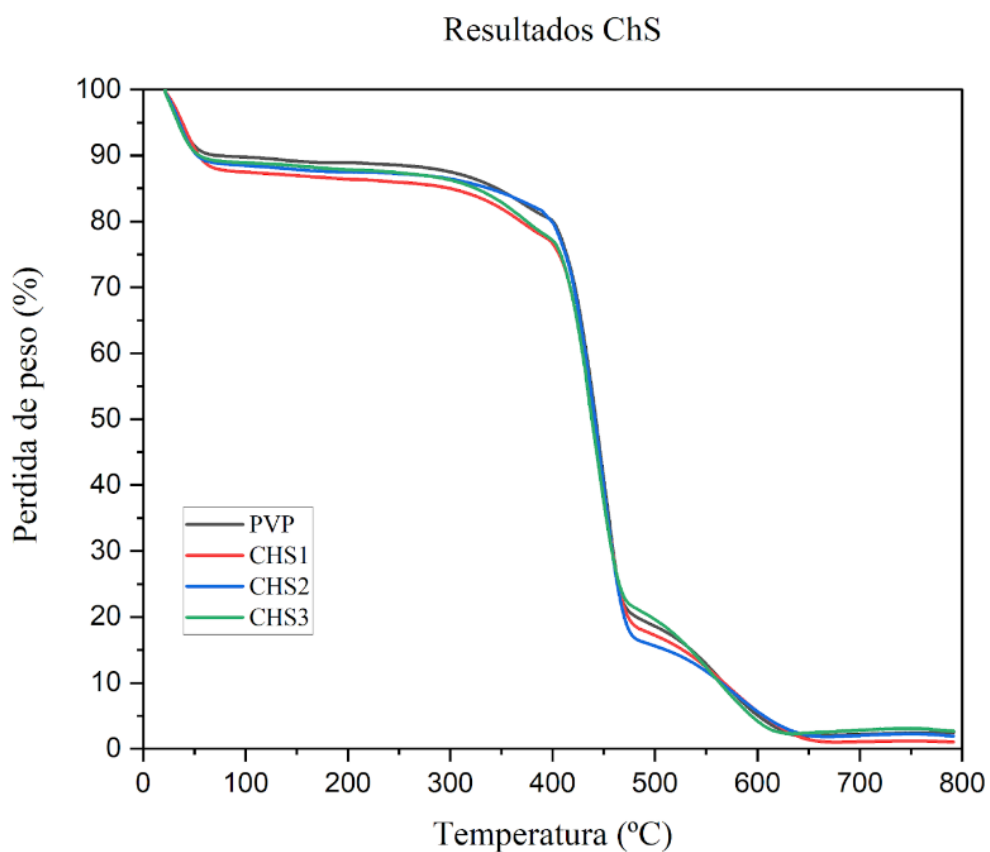
En la figura 13 podemos observar la descomposición multietapa que se presentó en el análisis de la muestra de PVP/ChS en sus tres concentraciones (PVP/ChS, 1 %, PVP/ChS, 2 %, PVP/ChS, 3 %).

En todas las muestras se observó una pérdida de masa inicial al llegar a una temperatura de ~ 21.60°C, 21.56°C, 21.54°C Y 21. 48° C para PVP ~ 9.77%, PVP/ChS1 12.29%, PVP/ChS2 10.92% y PVP/ChS3 10.98% respectivamente, esta pérdida la podemos atribuir a la humedad y al agua adsorbida como mencionan los autores (XXX REF). A partir de los ~50°C se observa una estabilidad térmica en las muestras, siendo la muestra ChS2 la que mostró una semejanza mayor a la muestra PVP<sub>control</sub> durante esta etapa. Seguido de esta etapa, a partir de ~395°C, se observa una caída abrupta que representa la pérdida de peso derivada de la degradación de las cadenas poliméricas según lo mencionan (XX).

En general, la comparación entre la muestra PVP<sub>control</sub> y las muestras PVP/ChS (1%, 2% y 3%) determina que, si bien existen ciertas diferencias entre el proceso de degradación de las muestras analizadas, la presencia del quitosano en las fibras no alteró significativamente las propiedades de degradación del PVP por sí solo.

**Tabla 8.** Representación tabulada de las lecturas obtenidas en las caídas de pérdida de peso para la muestra PVP/ChS en sus diferentes concentraciones comparada con la muestra de PVP.

PP	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%



**Figura 13.** Pérdida de peso / tiempo de las muestras de PVP/ChS (1, 2 y 3%)

## 6.4 Ensayo antimicrobiano

En este ensayo se analizó el comportamiento bacteriano de la cepa Gram negativa *Escherichia coli* ATCC 25922 y la Gram positiva *Staphylococcus aureus* ATCC 23235 luego de haber sido expuestas por 3 h y 24 h en contacto con fibras de PVP<sub>control</sub>, PVP/ChS, y PVP/ChQ2 para determinar si estas demuestran tener actividad antibacteriana.

### 6.4.1 *Staphylococcus aureus*

Los datos presentes en la Tabla 9. indican el porcentaje de proliferación celular de la bacteria *Staphylococcus aureus* expuestas por 3 y 24 h a las fibras de PVP<sub>control</sub>, PVP/ChS, y PVP/ChQ2 en diferentes porcentajes de concentración del compuesto de quitosano (1 , 2 , y 3 %) y bajo el efecto de distintos tratamientos como exposición a luz ultravioleta (PVP/ChS UV y PVP/Q2 UV) y tratamiento térmico (PVP/ChS T y PVP/Q2 T). Cabe recalcar que el porcentaje de proliferación mostrado en la tabla se calculó con respecto al crecimiento del control negativo que corresponde al crecimiento normal de la bacteria. En general, se puede observar que en ciertos datos de las muestras analizadas (PVP/Q2 T, 3 % 24 h, PVP/Q2, 2 % 3 h, PVP/ChS, 3 %) el valor de proliferación celular obtenido se encuentra por debajo del valor del control negativo, contrariamente, también se observa el registro de valores en los que destacó el aumento del crecimiento bacteriano como en el caso de la lectura a 3 h de las fibras PVP/Q2, PVP/Q2 UV y PVP/Q2 T elaboradas a una concentración del 3 %.

Algunos datos (PVP/ChS UV, 3 % y PVP/Q2 T, 2 %) demuestran una disminución de la población bacteriana respecto al control negativo luego de 3 h y 24 h en contacto con las fibras. Sin embargo, no se consideran cambios significativos, respecto al control, que inhiban el crecimiento de las bacterias. De igual manera, la actividad registrada en los polvos de ChS y ChQ2, a pesar de la disminución evidente en el porcentaje de proliferación en cada uno de los porcentajes, los valores sobrepasan el crecimiento normal de las bacterias, por lo que se considera que la actividad antibacteriana del ChS y ChQ2 no es suficiente para contrarrestar el crecimiento de la bacteria Gram-positiva *Staphylococcus aureus*.

Tomando en cuenta la norma ISO (10993-5) el cual determina el grado de citotoxicidad de los dispositivos médicos, las fibras evaluadas PVP<sub>control</sub>, PVP/ChS, y PVP/ChQ2 no presentan una bioactividad antibacteriana interesante en ninguna de los tiempos examinados. Así mismo, ninguno de los dos tratamientos logró incrementar la efectividad de las muestras tratadas y no diferencia entre las proporciones de quitosano fue relevante. Sin embargo, las fibras PVP/Q2, 2 % lograron reducir la población bacteriana en un ~ 21 % después de 3 h de haber sido expuestas a las bacterias.

En el caso de las fibras que fueron funcionalizadas con una mayor proporción del quitosano (3 %) mostraron una reducción mínima de entre ~1 a 11 % siendo más efectiva la reducción a las 24 h. Las fibras PVP/ChS UV lograron reducir mínimamente la proliferación bacteriana independientemente de la proporción del quitosano cargado. Contrariamente, las muestras de PVP/Q2, 3% tratadas (PVP/Q2 UV, 3 % y PVP/Q2 T, 3 %) y sin tratar (PVP/Q2, 3 %) promovieron el crecimiento bacteriano en alrededor de un ~20 %, esto debido a que al evaluar el polvo de PVP/Q2 por sí solo este mejoraba el crecimiento bacteriano.

Finalmente, es importante mencionar que las muestras en las que se obtuvo mayor cantidad de resultados que limitan el valor del control negativo fueron aquellas en las que se utilizó un mayor porcentaje de quitosano (3%) en la preparación de las fibras. Sin embargo, el mejor resultado obtenido fue con la muestra PVP/Q2, 2% en la que no se empleó ningún tratamiento (UV, T).

**Tabla 9.** Registro del crecimiento de la bacteria *Staphylococcus aureus* en contacto con las fibras PVP /ChS y PVP/ChQ2 tratadas y sin tratar.

	1%		2%		3%	
	3 h	24 h	3 h	24 h	3 h	24 h
<b>Crecimiento normal</b>	100 ± 10	100 ± 10	100 ± 10	100 ± 10	100 ± 10	100 ± 10
<b>PVP/ChS</b>	105 ± 5.8	106 ± 3.7	91 ± 4.3	104 ± 5.2	89 ± 1.1	93 ± 3.7
<b>PVP/ChS UV</b>	94 ± 10.5	102 ± 1.1	107 ± 6.1	98 ± 0.6	93 ± 1.7	90 ± 3.3
<b>PVP/ChS T</b>	222 ± 5.1	121 ± 2.6	143 ± 2.4	107 ± 0.5	116 ± 0.5	101 ± 2.4
<b>PVP/Q2</b>	109 ± 5.4	99 ± 0.6	79 ± 7.1	106 ± 5.2	249 ± 6.4	95 ± 3.9

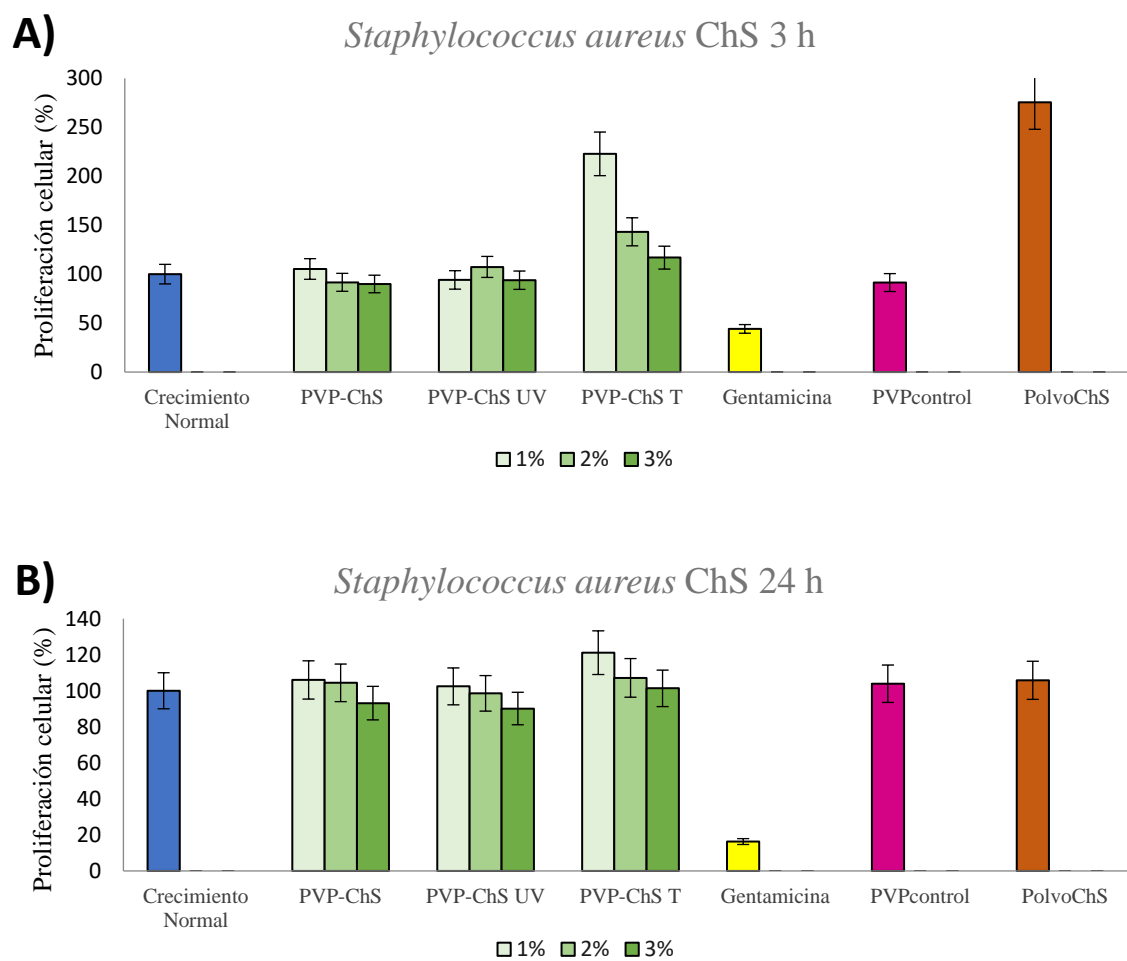
<b>PVP/Q2 UV</b>	109 ± 11.9	103 ± 3.1	120 ± 6.2	97 ± 1.5	256 ± 15.3	98 ± 9.2
<b>PVP/Q2 T</b>	115 ± 3.4	107 ± 2.2	99 ± 4.7	98 ± 5.2	234 ± 6.6	89 ± 4.0
<b>Gentamicina</b>	44 ± 4.5	16 ± 2.4	44 ± 4.5	16 ± 2.4	44 ± 4.5	16 ± 2.4
<b>PVP<sub>control</sub></b>	91 ± 4.9	104 ± 2.2	91 ± 4.9	104 ± 2.2	91 ± 4.9	104 ± 2.2
<b>Polvo ChS</b>	275 ± 5.7	106 ± 6.4	275 ± 5.7	106 ± 6.4	275 ± 5.7	106 ± 6.4
<b>Polvo ChQ2</b>	285 ± 9.3	109 ± 5.6	285 ± 9.3	109 ± 5.6	285 ± 9.3	109 ± 5.6

En la figura 14 se observa la representación gráfica de la proliferación celular de la bacteria *Staphylococcus aureus* expuestas por 3 y 24 h a las fibras de PVP<sub>control</sub>, PVP/ChS en sus distintos tratamientos (UV, T) y porcentajes (1, 2 y 3 %). En ambos incisos se puede ver la correcta posición del control negativo (crecimiento normal) y control positivo (gentamicina) así como también se toma de referencia el valor del PVP<sub>control</sub> para comparar los resultados obtenidos.

Al comparar las fibras expuestas a un mismo tratamiento (UV, T) en sus diferentes porcentajes de concentración (1, 2, y 3%) se observa que en la lectura a 24 h se detectó que el declive de proliferación celular se pronuncia más a medida que aumenta el porcentaje de concentración de quitosano. Sin embargo, el menor valor de proliferación celular se registró en las muestras PVP/Ch tratadas con exposición a luz UV en las que se logró disminuir hasta un ~10 % el porcentaje de proliferación celular. Por otro lado, en la lectura a 3 h se observa una disonancia entre los resultados obtenidos en las muestras PVP/Ch y PVP/Ch UV debido a que no se observa continuidad alguna que relacione los datos obtenidos con el porcentaje del compuesto de quitosano utilizado añadiendo el hecho de que las muestras PVP/ChS T mostraron favorecer en gran medida el crecimiento bacteriano.

No obstante, según la norma ISO (10993-5) y la tendencia general de los datos se determina que la proliferación bacteriana predomina en la mayoría de las muestras analizadas, indicando la resistencia de la bacteria Gram-positiva *Staphylococcus aureus* ante la actividad

antibacteriana de las fibras innatas, así como las tratadas mediante luz UV y por tratamiento térmico.



**Figura 14.** A) Proliferación bacteriana de *Staphylococcus aureus* en fibras de PVP/ChS a 3 h. B) Proliferación bacteriana de *Staphylococcus aureus* en fibras de PVP/ChS a 24 h.

Por otro lado, en la figura 15 se observa la representación gráfica de la proliferación celular de la bacteria *Staphylococcus aureus* expuestas por 3 y 24 h a las fibras de PVP<sub>control</sub>, PVP/ChQ2 en sus distintos tratamientos (UV, T) y porcentajes (1, 2 y 3 %). De igual manera que en la figura 14, ambos incisos muestran la correcta posición del control negativo (crecimiento normal) y control positivo (gentamicina) así como también se toma de referencia el valor del PVP<sub>control</sub> para comparar los resultados obtenidos. En general, se observa que la mayoría de los valores obtenidos se encuentran alrededor del porcentaje de proliferación del crecimiento normal de las bacterias, a excepción de los valores de las

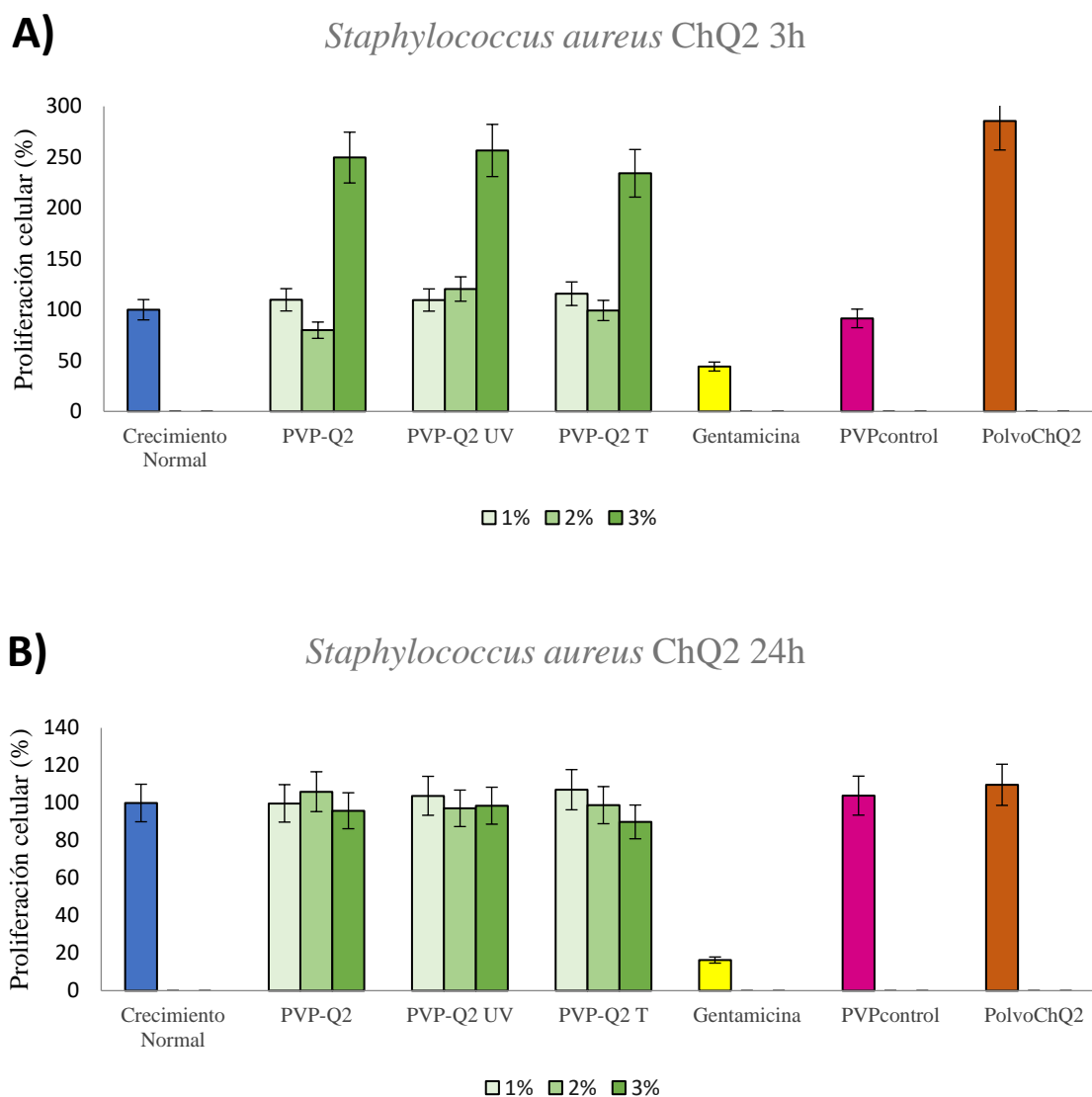
muestras de PVP/ChQ2 (funcionalizadas y sin funcionalizar) que se obtuvieron en la lectura a 3 h en las que destacó la proliferación celular en las fibras cargadas a un 3 % del componente de quitosano.

Las fibras de PVP/ChQ2, 2 % presentaron el menor índice en el porcentaje de proliferación celular durante la lectura a 3 h en la que se obtuvo un valor ~20 % menor que el crecimiento normal de las bacterias, seguido de la muestra PVP/ChQ2 T, 2 % en la que el porcentaje de proliferación también se mantiene debajo del control negativo (1 %). De la lectura realizada a las 24 h se dedujo que las fibras elaboradas con un mayor porcentaje de quitosano ChQ2 (3 %), funcionalizadas y sin funcionalizar, demostraron mantener el porcentaje de proliferación bacteriana por debajo del crecimiento normal de las bacterias, de un ~1 % (PVP/ChQ2) hasta en un ~10% (PVP/ChQ2 T) seguidas de las fibras elaboradas a una concentración del 2 % en las que el porcentaje de proliferación se mantuvo en un 1 % (PVP/ChQ2 T) y hasta en un 3 % (PVP/ChQ2 UV) por debajo del control negativo.

En la lectura realizada a las 24 h se observa que las fibras que fueron funcionalizadas con tratamiento térmico (PVP/ChQ2 T) se presenta una disminución del porcentaje de proliferación celular inversamente proporcional al porcentaje utilizado del compuesto de quitosano. Sin embargo, este suceso no ocurre con el resto de las muestras en las que el declive del porcentaje de proliferación no se presenta en más de 2 muestras seguidas. Es importante mencionar que no se encuentra relación alguna que demuestre que los tratamientos empleados (UV, T) mejoren los resultados obtenidos. En ambas lecturas, la menor concentración del compuesto (1 %) presenta valores de proliferación celular que sobrepasan el crecimiento normal de las bacterias y, en la lectura a 3 h, las concentraciones del 3 % presentan el mismo efecto.

En cuanto al polvo de ChQ2, las lecturas afirman que la proliferación celular de las bacterias no se detuvo por la presencia del mismo.

Por lo anterior, se determina que la reducción de la viabilidad obtenida no es suficiente para considerar el efecto citotóxico para las fibras de ChQ2 ante la presencia de la bacteria *Staphylococcus aureus*, según la ISO (10993-5).



**Figura 15.** A) Proliferación bacteriana de *Staphylococcus aureus* en fibras de PVP/ChQ2 a 3 h. B) Proliferación bacteriana de *Staphylococcus aureus* en fibras de PVP/ChQ2 a 24 h.

#### 6.4.2 *Escherichia coli*

En la **Tabla 10** el porcentaje de proliferación celular de la bacteria *Escherichia coli* expuesta por 3 y 24 h a las fibras de PVP<sub>control</sub>, PVP/ChS, y PVP/ChQ2, de igual manera, se utilizaron

concentraciones del compuesto de quitosano (1, 2, y 3 %) y se situaron bajo el efecto de exposición a luz ultravioleta (PVP/ChS UV y PVP/Q2 UV) y tratamiento térmico (PVP/ChS T y PVP/Q2 T). Una vez más, el porcentaje de proliferación se calculó con respecto al crecimiento del control negativo que corresponde al crecimiento normal de la bacteria.

En general se puede decir que, en comparación con las fibras expuestas a la bacteria *Staphylococcus aureus*, las fibras expuestas a la *E. coli*, presentaron una mayor cantidad de datos que mantienen el porcentaje de proliferación celular por debajo del crecimiento normal de la bacteria. Tal es el caso de la muestra PVP/ChQ2, 3 % en la que se obtuvo un porcentaje de proliferación celular ~40% menor que el control negativo al realizar la medición a 3 h. Es importante mencionar que en la lectura a 3 h todas las muestras PVP/ChS y PVP/ChQ2 tratadas (UV, T) y sin tratar (PVP/ChS y PVP/ChQ2) presentaron valores de proliferación celular que se encuentran por debajo del control negativo a excepción de una única muestra (PVP/ChS T). En el caso de la muestra PVP/ChQ2, 3 % en ambas lecturas los valores de proliferación celular se encuentran desde un ~10 % hasta un ~40 % por debajo del control negativo. En las fibras elaboradas con concentración de 2 % de quitosano, la inhibición del crecimiento bacteriano se mantuvo por debajo de los valores del control negativo en 4 (PVP/ChS UV, PVP/ChQ2, PVP/ChQ2 UV y PVP/ChQ2 T) de las 6 muestras analizadas.

También es importante mencionar que se presentan situaciones en las que la población bacteriana disminuye su porcentaje de proliferación hasta en un 10 % cuando aumenta la concentración del compuesto (PVP/ChQ2 T, 3 %). De igual forma, se registró mayor actividad antibacteriana en las muestras PVP/ChS UV, 2 % y en PVP/ChQ2 UV, 2 % que en el resto de las muestras evaluadas. Cabe mencionar, que en la muestra PVP/ChS, 3 % con tratamiento UV, no se registró variación alguna en el porcentaje de crecimiento de la población bacteriana durante el transcurso de las 24 h.

Las lecturas del polvo ChS y polvo ChQ2 denotan, de igual manera, un crecimiento muy significativo en la población bacteriana una vez transcurridas las 24 h. En el caso del polvo ChS, se observa cómo el componente mantiene su actividad antibacteriana durante las primeras 3 h, sin embargo, estas propiedades se pierden luego de transcurridas las 24 h.

Por consiguiente, se determina que la lectura a 3 h de la muestra PVP/ChQ2, 3% cumple con una reducción de la viabilidad mayor a 30%, por lo que, según los parámetros establecidos por la ISO (10993-5) se considera que hay efecto citotóxico.

**Tabla 10.** Registro del crecimiento de la bacteria *Escherichia coli* en contacto con las fibras PVP/ ChS y PVP/ChQ2.

	1%		2%		3%	
	3 h	24 h	3 h	24 h	3 h	24 h
<b>Crecimiento normal</b>	100 ± 10	100 ± 10	100 ± 10	100 ± 10	100 ± 10	100 ± 10
<b>PVP/ChS</b>	73 ± 1.9	102 ± 1.5	94 ± 3.0	104 ± 8.7	83 ± 6	94 ± 6.0
<b>PVP/ChS UV</b>	78 ± 3.5	98 ± 11.4	99 ± 1.1	92 ± 10.7	96 ± 12.5	96 ± 12.5
<b>PVP/ChS T</b>	87 ± 4.1	119 ± 15.3	87 ± 3.9	112 ± 6.2	104 ± 5.2	104 ± 5.2
<b>PVP/ChQ2</b>	88 ± 2.9	101 ± 6.8	70 ± 6.5	98 ± 11.9	60 ± 2.1	90 ± 16.4
<b>PVP/ChQ2 UV</b>	96 ± 1.3	106 ± 14.4	92 ± 2.8	87 ± 19.3	67 ± 4.1	85 ± 2.6
<b>PVP/ChQ2 T</b>	88 ± 2.5	98 ± 26.7	76 ± 2.1	94 ± 13.7	81 ± 12.6	71 ± 8.2
<b>Gentamicina</b>	41 ± 5.9	29 ± 13	41 ± 5.9	29 ± 13	41 ± 5.9	29 ± 13
<b>PVP<sub>control</sub></b>	70 ± 2.2	99 ± 2.6	70 ± 2.2	99 ± 2.6	70 ± 2.2	99 ± 2.6
<b>Polvo ChS</b>	41 ± 21.8	124 ± 4.6	41 ± 21.8	124 ± 4.6	41 ± 21.8	124 ± 4.6
<b>PolvoChQ2</b>	101 ± 1.9	110 ± 7.2	101 ± 1.9	110 ± 7.2	101 ± 1.9	110 ± 7.2

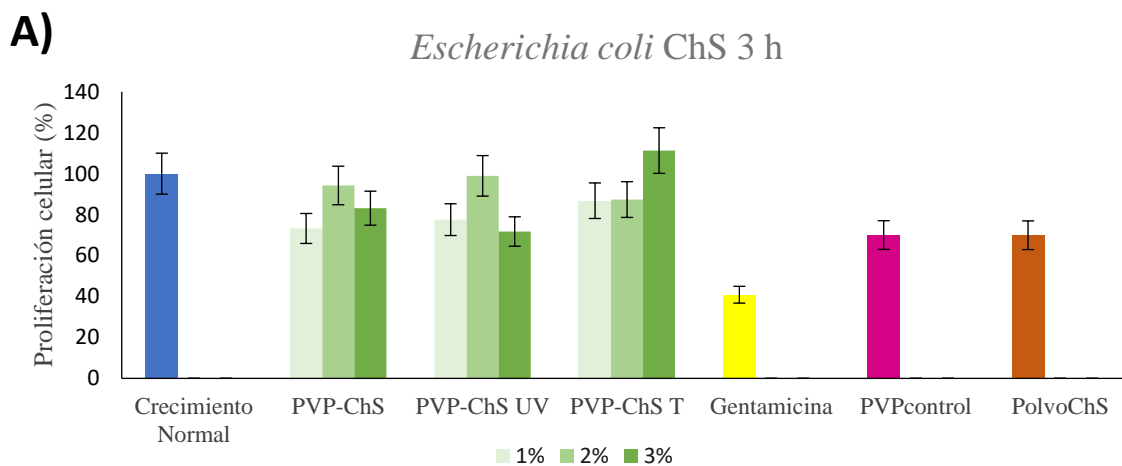
En la figura 16 se observa la representación gráfica de la proliferación celular de la bacteria *Escherichia coli* expuestas por 3 y 24 h a las fibras de PVP<sub>control</sub>, PVP/ChS en sus distintos tratamientos (UV, T) y porcentajes (1, 2 y 3 %). Se puede observar en ambos incisos que el control negativo (crecimiento normal) y control positivo (gentamicina) se encuentran en el efecto esperado, así como también se toma de referencia el valor del PVP<sub>control</sub> para comparar los resultados obtenidos. En general se observa que los valores de proliferación celular obtenidos para las fibras analizadas no sobrepasan más del 20 %, a diferencia de las muestras tratadas con la bacteria *Staphylococcus aureus* en las que se obtuvo respuestas que duplicaban el crecimiento normal de la bacteria.

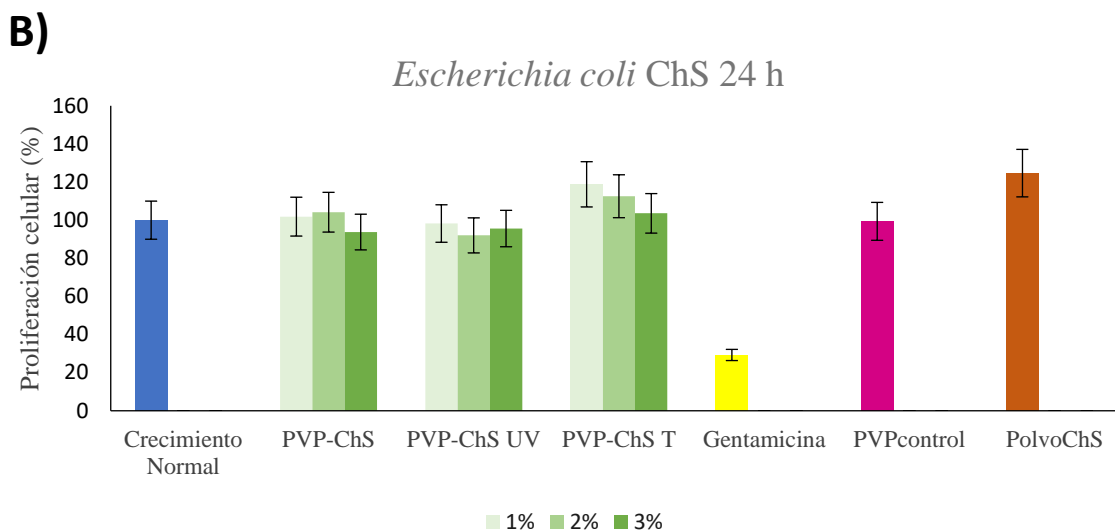
En la lectura a 3 h se observa que en la muestra PVP/ChS UV, 3 % el porcentaje de proliferación celular se encuentra por debajo del control en un ~28 %. Cabe recalcar, que la misma muestra presentó un porcentaje de proliferación celular menor al del control en todas sus concentraciones, lo mismo sucedió con la muestra PVP/ChS en las que simultáneamente se obtuvo un porcentaje de proliferación celular ~28 % menor que el del control negativo.

En la lectura a 24 h, nuevamente la muestra PVP/ChS UV, 3 % mantuvo el crecimiento bacteriano en todas sus concentraciones por debajo del crecimiento normal de las bacterias. En la muestra PVP/ChS T se observa un declive en el porcentaje de proliferación celular conforme aumenta la concentración de quitosano en la muestra, sin embargo, este suceso ocurrió únicamente con dicha muestra y los valores obtenidos de proliferación sobrepasan los del control negativo.

Por otro lado, la lectura a 3 h del polvo ChS presentó un porcentaje de proliferación ~30 % menor al porcentaje de proliferación del crecimiento normal de las bacterias, sin embargo, este valor aumentó un ~55 % luego de transcurridas las 24 h del análisis.

A pesar de la proximidad del valor de proliferación celular obtenido en la muestra PVP/ChS, 1%, la fibra no alcanza a cumplir con la reducción de la viabilidad necesaria para considerar que existe un efecto citotóxico en la muestra.





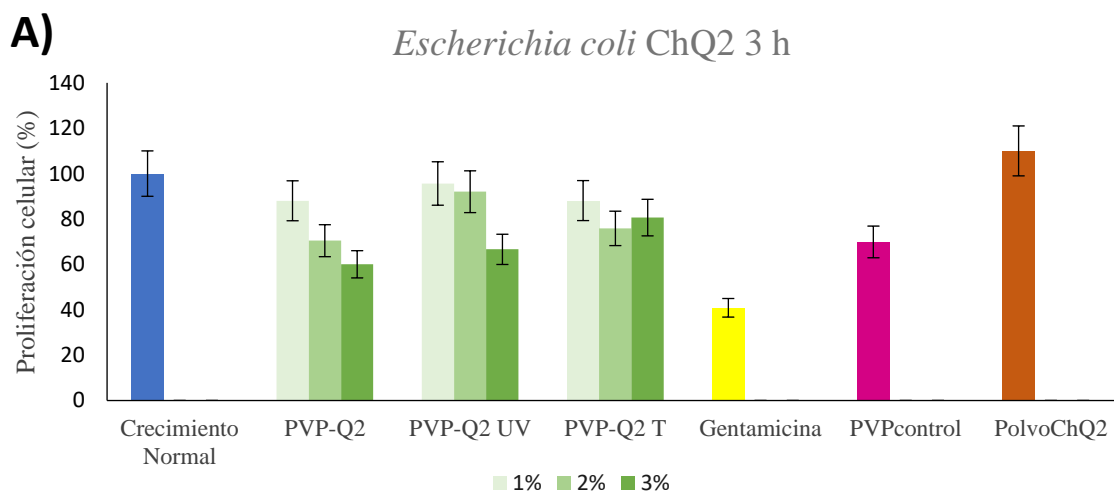
**Figura 16.** A) Proliferación bacteriana de *Escherichia coli* en fibras de PVP/ChS a 3 h. B) Proliferación bacteriana de *Escherichia coli* en fibras de PVP/ChS a 24 h.

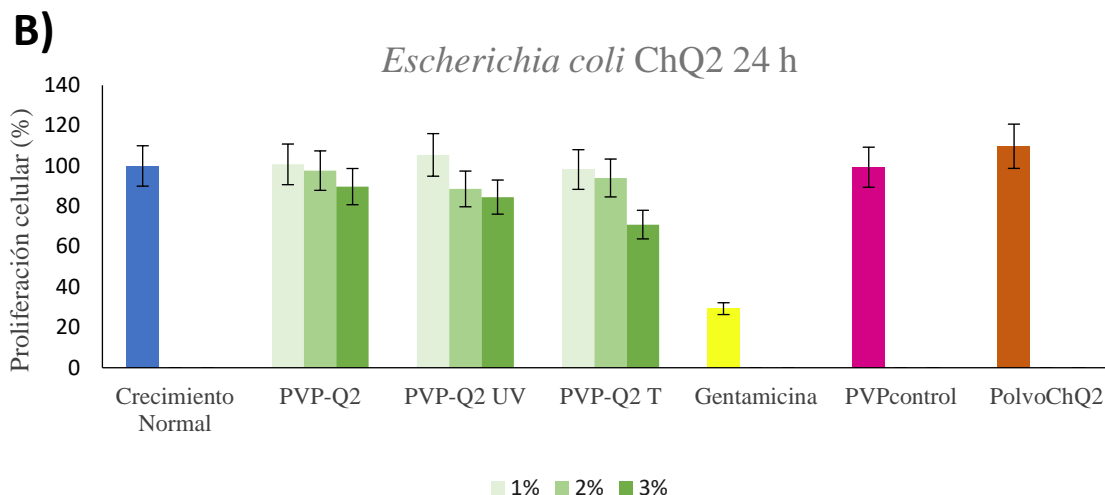
Así mismo, en la figura 17 se observa la representación gráfica de la proliferación celular de la bacteria *Escherichia coli* expuestas por 3 y 24 h a las fibras de PVP<sub>control</sub>, PVP/ChQ2 en los diferentes tratamientos (UV, T) y porcentajes (1, 2 y 3 %) aplicados. Se puede observar que en ambos incisos el control negativo (crecimiento normal) y control positivo (gentamicina) se encuentran en el valor esperado, así como también se toma de referencia el valor del PVP<sub>control</sub> para comparar los resultados obtenidos. En general, las muestras no sobrepasan más del 5 % del porcentaje de proliferación del crecimiento normal de las bacterias y en 5 de las 6 lecturas analizadas el declive en el porcentaje de proliferación celular es inversamente proporcional al porcentaje de concentración de quitosano empleado en la fabricación de las muestras.

En la lectura a 3 h el porcentaje de proliferación celular se encuentra por debajo del control negativo en todas las fibras de PVP/ChQ2, tratadas (UV, T) y sin tratar, hasta en un ~40 %, como en el caso de la muestra PVP/ChQ2, 3 %. En la misma lectura, se observa que en las fibras innatas (PVP/ChQ2) y las tratadas con exposición a luz UV (PVP/ChQ2 UV) el porcentaje de proliferación celular disminuye a medida que aumenta la concentración de quitosano, además, se observan menor porcentaje de proliferación en las muestras PVP/ChQ2.

En la lectura a 24 h el declive del porcentaje de proliferación celular respecto a la concentración de las fibras se mantiene inversamente proporcional en las 3 muestras, sin embargo, el crecimiento bacteriano sobrepasa de un ~1 % (PVP/ChQ2) hasta en un ~5 % (PVP/ChQ2 UV) al crecimiento normal de las bacterias. El menor porcentaje de proliferación se obtuvo en la muestra PVP/ChQ2 T, 3 % donde dicho porcentaje se mantuvo ~29 % por debajo del crecimiento normal de las bacterias.

A diferencia del polvo ChS en el que se logró mantener el porcentaje de proliferación ~30 %. menor al porcentaje de proliferación del crecimiento normal de las bacterias, la lectura del polvo ChQ2 se encontró ~10 % arriba del porcentaje de crecimiento normal de las bacterias, sin embargo, este valor se mantuvo durante las 24 h de duración del ensayo.





**Figura 17.** A) Proliferación bacteriana de *Escherichia coli* en fibras de PVP/ChQ2 a 3 h.  
B) Proliferación bacteriana de *Escherichia coli* en fibras de PVP/ChQ2 a 24 h.

Como ya se mencionó, los resultados obtenidos demuestran una mejor respuesta antibacteriana con las fibras PVP/ChQ2, 3% en contacto con la bacteria *Escherichia coli*, con las que se obtuvo una disminución de la población bacteriana de 40%. En general, se puede mencionar que el ensayo realizado con la bacteria *Escherichia coli* arrojó mayor cantidad de respuestas positivas, en especial con las fibras PVP/ChQ2. Cabe reiterar, que la fórmula de quitosano modificado con ácidos benzoicos (ChQ2) se implementó en un máximo porcentaje de concentración del 3%, sólo un 2% menos de la concentración implementada convencionalmente (Mengistu Lemma et al., 2016).

La *Escherichia* pertenece a los patógenos más comunes que afectan el tracto urinario, el sitio más tradicional para este patógeno sigue siendo el fecal, pero suele afectar también al tracto urinario (Liedl, 2016). También se ha demostrado que la *E. coli* es una de las principales bacterias establecidas como contaminantes que se presentan con mayor cantidad en las aguas residuales debido a los residuos sanitarios y otras actividades que favorecen la contaminación de las aguas por la disposición inadecuada de las mismas, afectando microbiológicamente la calidad de las fuentes de agua (Ríos-Tobón et al., 2017).

Es importante mencionar que, a través de los años, las bacterias han desarrollado una gran resistencia los antibióticos y va en aumento. La resistencia a múltiples fármacos en la *E. coli*

se ha convertido en un problema preocupante que se ve cada vez más en la medicina, así como en la medicina veterinaria en todo el mundo, los organismos multirresistentes dificultan cada vez más la erradicación de las bacterias, incluida la *E. coli*, la cual es resistente a seis diferentes miembros de las familias de fármacos, como las fluoroquinolonas. La *E. coli* es inherentemente sensible a casi todos los agentes antimicrobianos de importancia clínica, así mismo, esta especie bacteriana tiene una gran capacidad para ensamblar genes de resistencia. Además, la *E. coli* de origen animal suele ser resistente a otros antimicrobianos, principalmente a los más antiguos, como tetraciclinas, fenicoles, sulfonamidas, trimetoprima y fosfomicina, la persistencia de la resistencia antimicrobiana también se debe al uso masivo de antimicrobianos en medicina veterinaria, tales como tetraciclinas o sulfonamidas (Poirel et al., 2018).

Los antibióticos también ingresan al medio ambiente a través de la polinización de árboles frutales para prevenir enfermedades y la propagación de estiércol animal cargado de antibióticos en las tierras de cultivo. La gran cantidad de marketing favorece también al consumo inadecuado de antibióticos, las migraciones humanas, el turismo médico y otros contactos sanitarios internacionales contribuyen aún más a la propagación de bacterias resistentes (Theuretzbacher, 2013). Por lo tanto, la resistencia de la bacteria *E. coli* y la dificultad de su erradicación pueden influir en los resultados obtenidos, así como la baja concentración del compuesto utilizado en la preparación de las fibras.

## **VII. CONCLUSIONES**

El quitosano modificado ha demostrado tener propiedades de biodegradabilidad y biocompatibilidad que lo convierten en una elección atractiva en industrias como la textil, alimentaria y farmacéutica. Por su lado, las nanofibras de quitosano producidas mediante electrohilado exhiben diversas características que las hacen idóneas para aplicaciones biomédicas y de biorremediación, gracias a su alta área superficial que permite la captura y retención eficaz de los colorantes en solución. En este estudio, se llevó a cabo la síntesis y caracterización de nanofibras de quitosano modificadas químicamente con ácidos benzoicos. Se exploró la posibilidad de emplear estas nanofibras electrohiladas como una alternativa en la separación de metales pesados, aprovechando sus propiedades de adsorción selectiva, alta

área superficial y porosidad ajustable. Los análisis realizados en este estudio abarcaron la evaluación de los espectros FTIR de distintas muestras de polvos de quitosano y polímeros, así como los análisis de pérdida de peso y la evaluación de la proliferación celular de la bacteria *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* en respuesta a las fibras de PVP<sub>control</sub>, PVP/ChS y PVP/ChQ2 en diferentes concentraciones de quitosano y bajo tratamientos de luz ultravioleta y tratamiento térmico. En cuanto a los espectros FTIR, se observaron similitudes y diferencias significativas en las señales de grupos funcionales específicos en las muestras de polvos de quitosano, destacando que el ChQ2 conserva en gran medida la composición química de los quitosanos convencionales, aunque con diferencias en la intensidad de algunas señales. Además, en las muestras de PVP<sub>control</sub>, PVP/ChQ2 y PVP/ChS se observaron similitudes en las bandas características de grupos como C-H, -CH<sub>2</sub>-, C=O y NH, indicando que la síntesis de las fibras no alteró significativamente la composición de los polímeros. En cuanto a los análisis de pérdida de peso con respecto al incremento de temperatura, se identificó una pérdida de masa inicial debido a la evaporación del agua adsorbida, seguida de una estabilidad térmica y, finalmente, una caída abrupta en la pérdida de peso atribuible a la descomposición del material polimérico. Las diferencias en la pérdida de peso entre las muestras sugieren variaciones en la estabilidad térmica y el comportamiento de degradación a diferentes concentraciones de PVP/ChQ2 y PVP/ChS. Finalmente, la evaluación de la proliferación celular de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* reveló que, en general, las fibras de PVP/ChS y PVP/ChQ2 no presentaron una bioactividad antibacteriana significativa según los estándares de citotoxicidad de dispositivos médicos de la norma ISO 10993-5. Sin embargo, se observaron reducciones en la proliferación bacteriana en condiciones específicas, especialmente en el caso de *Escherichia coli*, donde algunas combinaciones de concentración de quitosano y tiempo de exposición mostraron valores de proliferación celular por debajo del control negativo. La muestra PVP/ChQ2 al 3% en particular cumplió con los criterios de citotoxicidad al mostrar una reducción de la viabilidad celular mayor al 30%. En conclusión, este estudio proporciona una comprensión detallada de las propiedades químicas, térmicas y antibacterianas de las fibras de PVP/ChQ2 y PVP/ChS en diferentes concentraciones de quitosano. Aunque se observaron algunas actividades antibacterianas en condiciones específicas, en general, estas fibras no mostraron una actividad antibacteriana lo suficientemente fuerte como para considerarse efectivas contra las bacterias evaluadas. Estos

hallazgos resaltan la importancia de considerar la concentración, el tiempo de exposición y la especificidad de las condiciones de prueba al evaluar la efectividad de materiales antimicrobianos y citotóxicos potenciales.

## VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Adamczyk P, Juszczak K, Prondzinska M, Kędzierska A, Szwajkert-Sobiecka H, Drewa T (2017). Fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* in intestinal flora of patients undergoing transrectal ultrasound-guided prostate biopsy – possible shift in biopsy prophylaxis. *Cent European Journal of Urology*. 2017; 70: 192-196. <https://doi.org/10.5173/ceju.2017.1595>
- Ahmed, F. E., Lalia, B. S., & Hashaikeh, R. (2015). A review on electrospinning for membrane fabrication: Challenges and applications. *Desalination*, 356, 15–30. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2014.09.033>
- Alpatova, A., Alsaadi, A. S., Alharthi, M., Lee, J.-G., & Ghaffour, N. (2019). Co-axial hollow fiber module for air gap membrane distillation. *Journal of Membrane Science*, 578, 172–182. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2019.02.052>
- Angel, N., Li, S., Yan, F., & Kong, L. (2022). Recent advances in electrospinning of nanofibers from bio-based carbohydrate polymers and their applications. *Trends in Food Science & Technology*, 120, 308–324. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.01.003>
- Aranaz, I., Alcántara, A. R., Civera, M. C., Arias, C., Elorza, B., Heras Caballero, A., & Acosta, N. (2021). Chitosan: An overview of its properties and applications. *Polymers*, 13(19), 3256. <https://doi.org/10.3390/polym13193256>
- Bhatt, P., Joshi, S., Urper Bayram, G. M., Khati, P., & Simsek, H. (2023). Developments and application of chitosan-based adsorbents for wastewater treatments. *Environmental Research*, 226(115530), 115530. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.115530>

- Boinpally, S., Kolla, A., Kainthola, J., Kodali, R., & Vemuri, J. (2023). A state-of-the-art review of the electrocoagulation technology for wastewater treatment. *Water Cycle*, 4, 26–36. <https://doi.org/10.1016/j.watcyc.2023.01.001>
- Cimini, A., Imperi, E., Picano, A., & Rossi, M. (2023). Electrospun nanofibers for medical face mask with protection capabilities against viruses: State of the art and perspective for industrial scale-up. *Applied Materials Today*, 32(101833), 101833. <https://doi.org/10.1016/j.apmt.2023.101833>
- Charernsriwilaiwat, N., Opanasopit, P., Rojanarata, T., Ngawhirunpat, T., & Supaphol, P. (2010). Preparation and characterization of chitosan-hydroxybenzotriazole/polyvinyl alcohol blend nanofibers by the electrospinning technique. *Carbohydrate Polymers*, 81(3), 675–680. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.03.031>
- Duceac, I. A., Verestiuc, L., Dimitriu, C. D., Maier, V., & Coseri, S. (2020). Design and preparation of new multifunctional hydrogels based on chitosan/acrylic polymers for drug delivery and wound dressing applications. *Polymers*, 12(7), 1473. <https://doi.org/10.3390/polym12071473>
- El-Aswar, E. I., Ramadan, H., Elkik, H., & Taha, A. G. (2022). A comprehensive review on preparation, functionalization and recent applications of nanofiber membranes in wastewater treatment. *Journal of Environmental Management*, 301(113908), 113908. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113908>
- Elieh-Ali-Komi, D., & Hamblin, M. R. (2016). Chitin and chitosan: Production and application of versatile biomedical nanomaterials. *International Journal of Advanced Research*, 4(3), 411–427. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27819009/>
- Fernandes Queiroz, M., Melo, K., Sabry, D., Sasaki, G., & Rocha, H. (2014). Does the use of chitosan contribute to oxalate kidney stone formation? *Marine Drugs*, 13(1), 141–158. <https://doi.org/10.3390/md13010141>

- Fu, Z., & Xi, S. (2020). The effects of heavy metals on human metabolism. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 30(3), 167–176. <https://doi.org/10.1080/15376516.2019.1701594>
- Gallardo, M. G. C., Barbosa, R. C., Fook, M. V. L., & Sabino, M. A. (2019). Síntesis y caracterización de un novedoso biomaterial a base de quitosano modificado con aminoácidos. *Matéria (Rio de Janeiro)*, 24(3), e12397. <https://doi.org/10.1590/s1517-707620190003.0710>
- 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>
- Geng, X., Kwon, O., & Jang, J. (2005). Electrospinning of chitosan dissolved in concentrated acetic acid solution. *Biomaterials*, 26(27), 5427–5432. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.01.066>
- Guo, Y., Wang, X., Shen, Y., Dong, K., Shen, L., & Alzalab, A. A. A. (2022). Research progress, models and simulation of electrospinning technology: a review. In *Journal of Materials Science* (Vol. 57, Issue 1, pp. 58–104). Springer. <https://doi.org/10.1007/s10853-021-06575-w>
- He, J., Cheng, Y., Li, P., Zhang, Y., Zhang, H., & Cui, S. (2013). Preparation and characterization of biomimetic tussah silk fibroin/chitosan composite nanofibers. *Iranian Polymer Journal*, 22(7), 537–547. <https://doi.org/10.1007/s13726-013-0153-3>
- Hong, T., Yin, J.-Y., Nie, S.-P., & Xie, M.-Y. (2021). Applications of infrared spectroscopy in polysaccharide structural analysis: Progress, challenge and perspective. *Food Chemistry: X*, 12(100168), 100168. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2021.100168>
- Jiang, J.-Q. (2015). The role of coagulation in water treatment. *Current Opinion in Chemical Engineering*, 8, 36–44. <https://doi.org/10.1016/j.coche.2015.01.008>

- Libanov, V., Kapustina, A., Shapkin, N., Tarabanova, A., & Rumina, A. (2023). Interaction of polyphenylsilsesquioxane with various  $\beta$ -diketonate complexes of titanium by mechanochemical activation. *Powders*, 2(2), 445–463. <https://doi.org/10.3390/powders2020027>
- Martínez-Quiroz, M., López-Maldonado, E. A., Ochoa-Terán, A., Pina-Luis, G. E., & Oropeza-Guzman, M. T. (2018). 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. *Chemical Engineering Journal (Lausanne, Switzerland: 1996)*, 332, 749–756. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.09.042>
- Mengistu Lemma, S., Bossard, F., & Rinaudo, M. (2016). Preparation of pure and stable chitosan nanofibers by electrospinning in the presence of poly(ethylene oxide). *International Journal of Molecular Sciences*, 17(11), 1790. <https://doi.org/10.3390/ijms17111790>
- Mishra, R., Militky, J., & Venkataraman, M. (2019). Electrospun nanofibers. In 85 Nanotechnology in Textiles (pp. 35–161). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102609-0.00002-X>
- Qasim, S., Zafar, M., Najeeb, S., Khurshid, Z., Shah, A., Husain, S., & Rehman, I. (2018). Electrospinning of chitosan-based solutions for tissue engineering and regenerative medicine. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(2), 407. <https://doi.org/10.3390/ijms19020407>
- Ogunwale, M. A., Li, M., Ramakrishnam Raju, M. V., Chen, Y., Nantz, M. H., Conklin, D. J., & Fu, X.-A. (2017). Aldehyde detection in electronic cigarette aerosols. *ACS Omega*, 2(3), 1207–1214. <https://doi.org/10.1021/acsomega.6b00489>

- Ohkawa, K., Minato, K.-I., Kumagai, G., Hayashi, S., & Yamamoto, H. (2006). Chitosan Nanofiber. *Biomacromolecules*, 7(11), 3291–3294. <https://doi.org/10.1021/bm0604395>
- Omer, A. M., Dey, R., Eltaweil, A. S., Abd El-Monaem, E. M., & Ziora, Z. M. (2022). Insights into recent advances of chitosan-based adsorbents for sustainable removal of heavy metals and anions. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(2), 103543. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103543>
- Onur, A., Ng, A., Batchelor, W., & Garnier, G. (2018). Multi-layer filters: Adsorption and filtration mechanisms for improved separation. *Frontiers in chemistry*, 6. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00417>
- Pérez-Nava, A., Reyes-Mercado, E., & González-Campos, J. B. (2022). Production of chitosan nanofibers using the HFIP/acetic acid mixture as electrospinning solvent. *Genie Des Procedes [Chemical Engineering and Processing]*, 173(108849), 108849. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2022.108849>
- Petrova, Y. S., Pestov, A. V., Usoltseva, M. K., & Neudachina, L. K. (2015). Selective adsorption of silver(I) ions over copper(II) ions on a sulfoethyl derivative of chitosan. *Journal of Hazardous Materials*, 299, 696–701. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.08.001>
- Pillay, V., Dott, C., Choonara, Y. E., Tyagi, C., Tomar, L., 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. In *Journal of Nanomaterials* (Vol. 2013). <https://doi.org/10.1155/2013/789289>
- Pohl, A. (2020). Removal of heavy metal ions from water and wastewaters by sulfur-containing precipitation agents. *Water, Air, and Soil Pollution*, 231(10). <https://doi.org/10.1007/s11270-020-04863-w>

- Poirel, L., Madec, J. Y., Lupo, A., Schink, A. K., Kieffer, N., Nordmann, P., & Schwarz, S. (2018). Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*. *Microbiology Spectrum*, 6(4). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.arba-0026-2017>
- Punia, A. (2021). Role of temperature, wind, and precipitation in heavy metal contamination at copper mines: A review. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(4), 4056–4072. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-11580-8>
- Qasem, N. A. A., Mohammed, R. H., & Lawal, D. U. (2021). Removal of heavy metal ions from wastewater: a comprehensive and critical review. *Npj Clean Water*, 4(1). <https://doi.org/10.1038/s41545-021-00127-0>
- Ríos-Tobón, S., Agudelo-Cadavid, R. M., & Gutiérrez-Builes, L. A. (2017). Patógenos e indicadores microbiológicos de calidad del agua para consumo humano. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 35(2), 236-247. <https://doi.org/10.17533/udea.rfnsp.v35n2a08>
- Rodríguez-Pedroso, A. T., Bautista-Baños, S., Ramírez-Arrebato, M. Á., Plascencia-Jatomea, M., & Hernández-Ferrer, L. (2021). *Quitosano y sus derivados, polímeros naturales con potencial para controlar a Pyricularia oryzae (Cav.)*. 42.
- Rodríguez-Pedroso, A. T., Ramírez-Arrebato, M. A., Rivero-González, D., Bosquez-Molina, E., Barrera-Necha, L. L., & Bautista-Baños, S. (2009). Chemical-structural properties and biological activity of chitosan in phytopathogenic microorganisms. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, XV(3), 309–317. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2009.15.042>
- Shenoy, S. L., Bates, W. D., Frisch, H. L., & Wnek, G. E. (2005). Role of chain entanglements on fiber formation during electrospinning of polymer solutions: Good solvent, non-specific polymer–polymer interaction limit. *Polymer*, 46(10), 3372–3384. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2005.03.011>

- Theuretzbacher, U. (2013). Global antibacterial resistance: The never-ending story. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 1(2), 63-69. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2013.03.010>
- Trikkaliotis, D. G., Ainali, N. M., Tolkou, A. K., Mitropoulos, A. C., Lambropoulou, D. A., Bikiaris, D. N., & Kyzas, G. Z. (2022). Removal of heavy metal ions from wastewaters by using chitosan/poly(vinyl alcohol) adsorbents: A review. *Macromol*, 2(3), 403–425. <https://doi.org/10.3390/macromol2030026>
- Upadhyay, U., Sreedhar, I., Singh, S. A., Patel, C. M., & Anitha, K. L. (2021). Recent advances in heavy metal removal by chitosan based adsorbents. *Carbohydrate Polymers*, 251(117000), 117000. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117000>
- Vakili, M., Deng, S., Cagnetta, G., Wang, W., Meng, P., Liu, D., & Yu, G. (2019). Regeneration of chitosan-based adsorbents used in heavy metal adsorption: A review. *Separation and Purification Technology*, 224, 373–387. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2019.05.040>
- Verma, D., Nichakornpong, N., Kraiwitwattana, U., Okhawilai, M., Kasemsiri, P., Potiyaraj, P., & Rangkupan, R. (2023). High performance filtration membranes from electrospun poly (3-hydroxybutyrate)-based fiber membranes for fine particulate protection. *Environmental Research*, 231(116144), 116144. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.116144>
- Wang, X., & Hsiao, B. S. (2016). Electrospun nanofiber membranes. *Current Opinion in Chemical Engineering*, 12, 62–81. <https://doi.org/10.1016/j.coche.2016.03.001>
- 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>

- Zaimee, M. Z. A., Sarjadi, M. S., & Rahman, M. L. (2021). Heavy metals removal from water by efficient adsorbents. *Water*, 13(19), 2659. <https://doi.org/10.3390/w13192659>
- Zhang, Y., Wang, F., & Wang, Y. (2021). Recent developments of electrospun nanofibrous materials as novel adsorbents for water treatment. *Materials Today. Communications*, 27(102272), 102272. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2021.102272>
- Zhao, C., Liu, G., Tan, Q., Gao, M., Chen, G., Huang, X., Xu, X., Li, L., Wang, J., Zhang, Y., & Xu, D. (2023). Polysaccharide-based biopolymer hydrogels for heavy metal detection and adsorption. *Journal of Advanced Research*, 44, 53–70. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2022.04.005>