

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



**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOFIBRAS DE POLI (CAPROLACTONA)
FUNCIONALIZADA CON UN COMPLEJO ANTIBACTERIANO Y SU APLICACIÓN
EN APÓSITOS CUTÁNEOS**

Estudiante: Victoria Leonor Reyes Guzmán

Matricula: 1269006

Profesor: Dr. Luis Jesús Villarreal Gómez

Tijuana, Baja California, México, Febrero de 2023

DEDICATORIA

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

Mis padres por el apoyo incondicional que me brindaron, por haberme apoyado en cada uno de mis pasos y enseñarme buenos valores, por la motivación constante que permitieron que hoy en día sea la persona que soy y por su amor incondicional.

A mis familiares, a mis hermanos, por ser el ejemplo a seguir de los cuales aprendí tantas cosas y agradezco hoy en día. Por último quiero dedicar esta tesis a mis abuelos, gracias a su apoyo y aliento incondicional.

AGRADECIMIENTOS

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

Al Dr. Luis Jesús Villarreal Gómez por su disposición y ganas de generar interés en la ciencia y apoyar en mantener un ambiente de trabajo ideal, de igual manera por disipar las dudas que surgieron en el camino.

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

Al Dr. Juan Antonio Páz González por su contribución en el análisis de resultados de pruebas mecánicas.

Al Dr. Arturo Zizumbo, profesor del Instituto Tecnológico de Tijuana, por sus aportaciones en el método TGA/DSC.

A Keila Miranda Meza, Dr. Yoxkin Estévez Martínez, Marco Alfonso Lepe Cisneros, y Dra. Graciela Lizeth Pérez González por sus aportaciones a este proyecto.

A la beca otorgada por el proyecto: 681 "Calidad estructural, análisis mecánico y control dimensional de piezas complejas para aplicaciones industriales y biomédicas utilizando Tomografía Computarizada". De la convocatoria Especial de Apoyo a Necesidades Regionales 2022, dirigida por la Dra. Dr. Yolanda Angelica Baez Lopez y el Dr. Armando Pérez Sánchez.

Gracias a todos ustedes

TABLA DE CONTENIDO

DEDICATORIA	2
AGRADECIMIENTOS	3
RESUMEN	7
I.- INTRODUCCIÓN	8
II.- MARCO TEÓRICO	11
2.1.- Heridas y grados de quemaduras	11
2.2.- Compuesto de la solución PCL/PVP-ChAgG	14
2.2.2.- Quitosano	16
2.2.3.- Plata nanoestructurada	18
2.2.4.- Grafeno	19
2.3.- Apósitos	20
2.3.1.- Tipos de apósitos	21
2.3.2.- Aplicaciones de las Membrana fibrosas electrohiladas	23
2.4.- Electrohilado	25
2.4.1.- Proceso	26
2.4.1.1.- Formación del cono de Taylor	27
2.4.1.2.- Estiramiento del chorro	29
2.4.1.3.- Adelgazamiento del chorro	30
2.4.1.4.- Solidificación del chorro	30
2.4.1.5.- Deposición de las fibras	30
2.4.2.- Parámetros	31
2.4.2.1.- Parámetros de la solución	31
2.4.2.1.1.- Concentración	31
2.4.2.1.2.- Viscosidad	32
2.4.2.1.3.- Peso molecular	33
2.4.2.1.4.- Conductividad	34
2.4.2.1.5.- Tension superficial	34
2.4.2.1.6.- Tipo de disolvente	35

2.4.2.2.- Parámetros del proceso	38
2.4.2.2.1.- Voltaje aplicado	38
2.4.2.2.2.- Flujo de salida	38
2.4.2.2.3.- Distancia colector-aguja	39
2.4.2.3.- Parámetros ambientales	40
III.-OBJETIVOS E HIPÓTESIS	42
IV.- MATERIALES Y METODOLOGÍA	44
4.1- Materiales	44
4.2.- Metodología	44
4.2.1- Preparación de soluciones	44
4.2.2.- Oxidación del Grafeno	44
4.2.3.- Preparación de Quitosano	45
4.2.4.- Electrohilado	45
4.2.5.- Prueba Antibacteriana	46
4.2.6.- Prueba de Citotoxicidad (MTT)	47
4.3.- Caracterización de fibras	48
4.3.1.- Análisis Termogravimétrico (TGA) y Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)	48
4.3.2.- Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)	49
4.3.3.- Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)	49
4.3.4.- Tomografía de Rayos X	50
4.3.5.- Pruebas Mecánicas	50
V.- RESULTADOS Y DISCUSIONES	51
5.1.- Pruebas Antibacterianas	51
5.2.- Prueba de Citotoxicidad (MTT)	55
5.3.- Caracterización de fibras	59
5.3.1.- Análisis Termogravimétrico (TGA) y Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)	59
5.3.2.- Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)	62
5.3.3.- Espectroscopia de Infrarrojos por Transformada de Fourier	65

5.3.4.- Tomografía de Rayos X	68
5.3.5.- Pruebas Mecánicas	70
VI.- CONCLUSIONES	75
VII.- BIBLIOGRAFÍA	76

RESUMEN

Los apósitos para heridas se han utilizado para limpiar, cubrir y proteger la herida del entorno externo. Sin embargo, la elección de un apósito adecuado reducirá el tiempo de cicatrización, proporcionará una atención rentable y mejorará la calidad de vida del paciente. Las fibras electrohiladas han ganado atención en esta área debido a su variedad de propiedades como la biocompatibilidad, la biodegradabilidad, las propiedades mecánicas adecuadas y la humedad. Una propiedad adicional como la bioactividad frente a los microorganismos es siempre deseada, por ello, el objetivo de este trabajo es proponer un sistema de apósito para heridas hecho de nanofibras electrohiladas funcionalizadas de poli (caprolactona)/poli (vinil pirrolidona) (PCL/PVP) con un nanocompuesto de quitosano/nanocristales de plata/óxido de grafeno (ChAgG). El material compuesto nanoestructurado ChAgG está compuesto por Quitosano de maíz (Ch), nanocristales de plata de ajo (*Allium sativum*), debido a los diferentes materiales sulfurosos que los componen (Ag) y Óxido de Grafeno (G), por lo tanto, estas fibras fueron funcionalizadas con la solución del nanocompuesto ChAgG mediante la técnica de electrohilado de mezcla en diferentes proporciones (1, 5 y 10%). Para evaluar sus propiedades de biocompatibilidad y antibacterianas se realizaron estudios de citotoxicidad con fibroblastos L929 y antibacterianos con las bacterias *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Mediante espectroscopia de infrarrojos (FTIR) y a través de la deconclusión de las bandas por espectroscopia de fotoelectrones de rayos X (XPS) e imágenes por microscopía electrónica de transmisión (TEM), se caracterizaron los nanocompuestos por la presencia de los diferentes elementos que los componen. Por otro lado, los apósitos fibrosos resultantes se caracterizaron mediante microscopía electrónica de barrido, para observar la morfología y obtener datos de los diámetros de las fibras. Se realizaron análisis térmicos (TGA y DSC) y FTIR para evidenciar la incorporación de ChAgG en/sobre la matriz polimérica de la fibra. Las propiedades mecánicas indicaron que las fibras con un 5% de la formulación de ChAgG fueron la formulación más interesante y la mejor candidata para aplicaciones de apósitos. Estos resultados conducirán a un apósito optimizado con propiedades antimicrobianas que pueda competir en el mercado actual. En la figura 1 podemos observar las nanofibras fabricadas con una magnificación de 5KX.

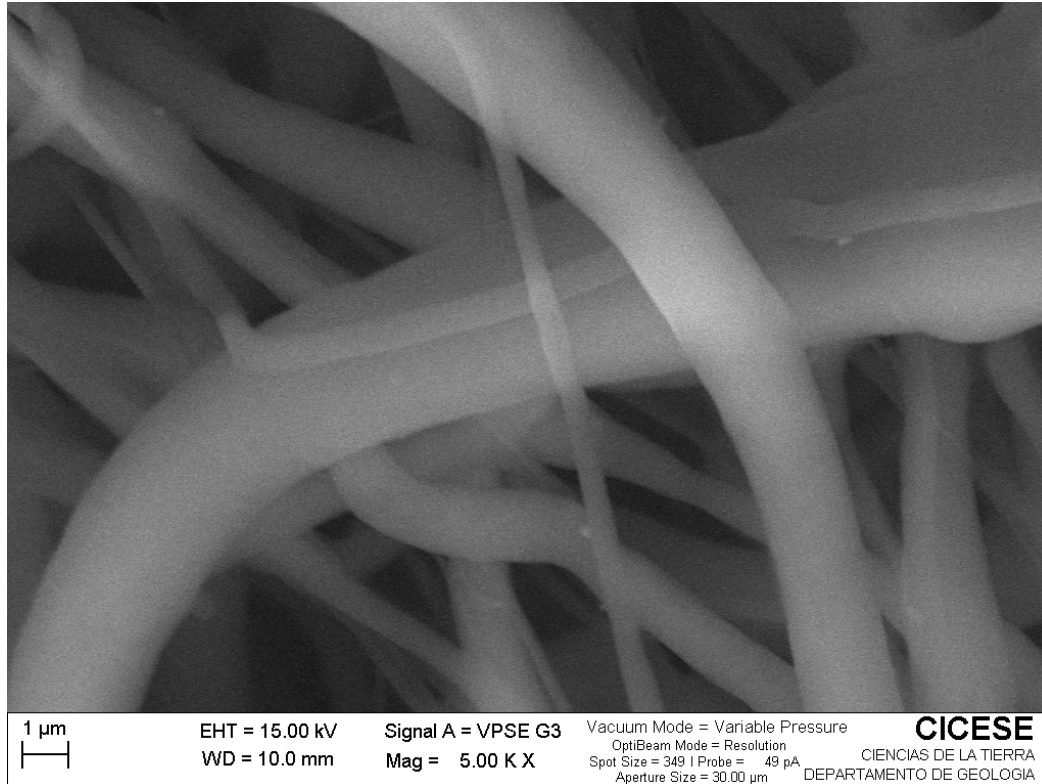


Figura 1. Nanofibras electrohiladas PCL/PVP-ChAgG.

Palabras clave: Electrohilado, apósito para heridas, Quitosano, Nanocristales de Plata, Grafeno.

I.- INTRODUCCIÓN

La piel es el órgano más importante del cuerpo humano y la primera barrera contra los patógenos externos (Liu X. et al., 2021), es el más expuesto a diversas alteraciones, como heridas, arañazos y quemaduras. Sin embargo, las quemaduras son una de las principales causas de daños en la piel. Según las estadísticas de la Organización Mundial de la Salud, cada año mueren casi 180,000 personas en todo el mundo a causa de las quemaduras (Organización Mundial de la Salud & Stoica et al., 2018, 2020). En las quemaduras graves, las células y los vasos sanguíneos suelen lesionarse y el suministro de sangre a la herida se ve alterado. Muchos factores, como la oxigenación, la infección, el envejecimiento, las hormonas y la nutrición, pueden influir en la progresión de las quemaduras e interrumpir la reparación con la liberación

desequilibrada de diversos factores de crecimiento y citoquinas. Se han aplicado diferentes enfoques de tratamiento, como apósitos y sustitutos de la piel, para ayudar a la cicatrización de las heridas. Un conocimiento profundo de los factores efectivos en las quemaduras puede mejorar los resultados de la curación de las heridas (Roshangar et al., 2019).

La cicatrización de las heridas es un proceso complicado y dinámico de regeneración de los tejidos y remodelación. Aunque la piel puede experimentar cierto grado de reparación espontánea, la infección bacteriana ha sido siempre la principal razón que dificulta la cicatrización de las heridas. En el caso de una herida infectada, no sólo interrumpirá el proceso normal de cicatrización, sino que también provocará la deformación del tejido de la herida, causando un gran dolor al paciente, es por esto que los apósitos desempeñan un papel esencial en el tratamiento de la cicatrización de las heridas. Protegen la herida de los factores de riesgo externos y aceleran el proceso de cicatrización. Basándose en el mecanismo de cicatrización de la herida, un apósito ideal debería absorber el exceso de exudado, proteger la herida de la infección microbiana, mantener un entorno de cicatrización húmedo, facilitar el intercambio de gases, no ser tóxico, biocompatible, no adherirse a la herida, ser fácil de colocar y retirar, promover la angiogénesis y la regeneración de los tejidos. (Liu X. et al., 2021)

En las últimas décadas se han explorado diversos apósitos para heridas, como hidrocoloides, hidrogeles, esponjas, espumas, películas y micro y nanofibras. La elevada relación superficie-volumen, la gran similitud con la estructura biológica de la matriz extracelular, la alta porosidad y el tamaño muy pequeño de los poros son algunas de las ventajas de las nanofibras que se han convertido en posibles candidatas para las aplicaciones de curación de heridas. Para fabricar las nanofibras el electrohilado es el método más deseable debido a la posibilidad de producir nanofibras independientes, accesibles y controlables (Mona et al., 2022).

Por consiguiente, las membranas nanofibrosas fabricadas mediante la técnica de electrohilado han despertado un gran interés en el desarrollo de apósitos multifuncionales para heridas, debido a sus capacidades para encapsular y proteger una variedad de sustancias bioactivas. Además, estos andamios nanofibrosos ofrecen todas las características deseables de un apósito para heridas ya que podrían imitar la estructura de la Matriz Extracelular (ECM) y promover la adhesión, la proliferación y la migración de las células, por lo que se convierten en materiales ideales para apósito de heridas (Khan & Lan et al., 2020, 2021).

Además, la técnica de electrohilado ha cobrado mucha importancia y es la técnica preferida, ya que es relativamente fácil, rentable y es aplicable para producir fibras ultrafinas con una producción escalonada sencilla que no es fácil de conseguir con otras técnicas convencionales de formación de fibras (Pillay et al., 2013). Además, la nanofibra producida mediante esta técnica ofrece propiedades excepcionales, como una elevada relación superficie/volumen, flexibilidad, alta porosidad y una mejor relación de aspecto, lo que la hace adecuada para diversas aplicaciones como lo es la ingeniería de tejidos. (Utkarsh et al., 2020)

Los apósitos tradicionales, como las vendas y las gasas, aunque son muy absorbentes y eficaces para las heridas secas o leves con exudado, requieren una aplicación regular, por lo que pueden causar dolor al cambiar el apósito. Además, tienen escasas propiedades adhesivas y no pueden proporcionar suficiente drenaje a la herida. En este sentido, la normalización del proceso de cicatrización en las heridas crónicas es una tarea extremadamente urgente de la sanidad pública y requiere la creación y aplicación de apósitos asequibles para los pacientes con heridas crónicas (Brumberg et al., 2021).

A pesar de todo, el principal problema a resolver son las infecciones bacterianas en las heridas crónicas. Por lo cual las nanofibras electrohiladas ofrecen una solución prometedora para el tratamiento de la cicatrización de heridas, y existen numerosas opciones para cargar compuestos antibacterianos en las redes de nanofibras (Gul et al., 2021)

En trabajos previos, se ha demostrado que los andamios fibrosos de PCL/PVP 85:15 y PCL/PVP cargados con Ag-Si/Al₂O₃ no son tóxicos, son flexibles, tienen actividad antibacteriana (bacterias Gram-negativas *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia Coli*; Gram-positivas *Staphylococcus aureus* y el hongo *Candida albicans*) además de que pueden absorber y retener agua. Estos componentes fueron eficaces para hacer utilizados como apósitos para heridas, generando una curación efectiva en la misma. La biocompatibilidad se evaluó en fibroblastos HFF-1 tras 24 h de exposición (Álvarez-Suárez, et al., 2020)

La mezcla de quitosano, nanopartículas de plata y grafeno ha sido investigada previamente demostrando una gran capacidad para aplicaciones biomédicas (Wan et al., 2013). El quitosano es biodegradable, no es tóxico y favorece la cicatrización de las heridas (Matica et al., 2019), las nanopartículas de plata (AgNPs) confieren propiedades antibacterianas, antiinflamatorias y antiangiogénicas (Singh et al., 2014) y el grafeno también confiere propiedad

auto-antibacteriana y propiedad antibacteriana en combinación con diferentes sustancias, excelente propiedad mecánica, conductividad y biocompatibilidad (Su y Liu, 2019).

Por lo tanto en este trabajo se busca fabricar nanofibras con una matriz polimérica de PCL/PVP y funcionalizarlas con un compuesto antibacteriano (ChAgG) mediante la técnica de electrohilado, a su vez se busca caracterizarlas y probar sus propiedades antibacterianas, citotóxicas, morfológicas, fisicoquímicas y mecánicas para crear un potencial apósito cutáneo para heridas y que cuente con las características ideales.

II.- MARCO TEÓRICO

2.1.- Heridas y grados de quemaduras

La piel, que es el órgano más grande en superficie, tiene varias funciones, entre ellas la protección del medio ambiente, la regulación de la temperatura y la adaptación de los recorridos del cuerpo durante el movimiento. Este tejido está formado por varias capas, cada una de ellas con varios componentes, lo que hace que sea mecánicamente complicado. Las propiedades mecánicas de la piel son importantes para diversas aplicaciones cosméticas, clínicas y biomecánicas. La piel es una estructura organizada que consta de tres capas principales, denominadas epidermis, dermis e hipodermis (o subcutis) (Figura 2). La capa superior de la piel se denomina epidermis, que tiene un grosor aproximado de 75-150 μm y está formada por cuatro subcapas; el estrato espinoso, el estrato basal, el estrato granuloso y el estrato córneo. La segunda capa es la dermis, que es un tejido fibroso denso. La dermis es un tejido conectivo moderadamente denso que comprende tres proteínas fibrosas como lo son el colágeno, elastina y cantidades mínimas de reticulina, así como una matriz de soporte o sustancia básica. La tercera capa es la hipodermis (también llamada grasa subcutánea o subcutis), formada principalmente por células adiposas. Funciona como capa aislante y de amortiguación y constituye aproximadamente el 10% de la masa corporal (Joodaki et al., 2018)

Las heridas se definen como deformidades cutáneas o discontinuidades tisulares provocadas por lesiones físicas o térmicas, o por dolencias subyacentes. Dada la naturaleza y la duración del proceso de cicatrización, las heridas suelen dividirse en agudas y crónicas (Wang E.

et al., 2019). Las heridas agudas incluyen principalmente lesiones mecánicas, lesiones químicas, quemaduras superficiales y heridas quirúrgicas, etc. El proceso de cicatrización sigue el ciclo normal de curación de las heridas. Sin embargo, las heridas crónicas se refieren a aquellas que no pueden pasar por un proceso de curación ordenado y que han estado abiertas durante más de un mes. Las causas de las heridas crónicas varían, y están relacionadas principalmente con ciertas enfermedades específicas (como la diabetes). Son notorias por la terrible incidencia de úlceras, y son susceptibles de infección por bacterias inflamatorias que afectan a la reparación de la herida. En todo el mundo, las heridas crónicas suponen una pesada carga para los pacientes y los sistemas sanitarios (Liu et al., 2021).

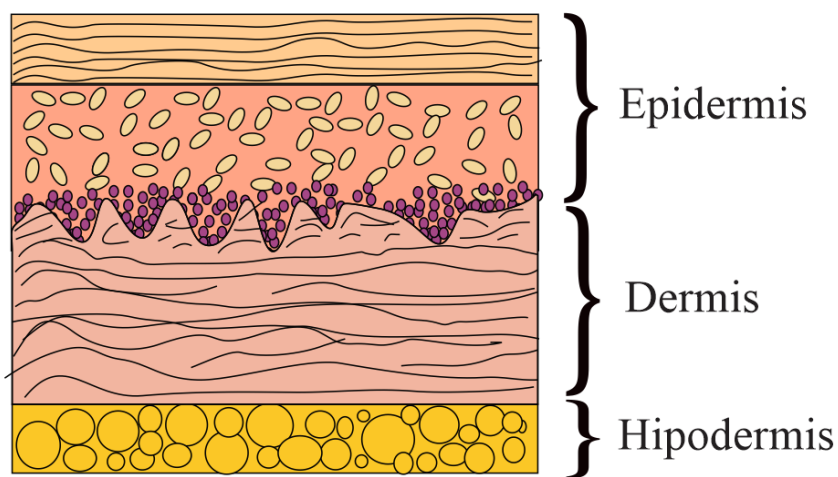


Figura 2. Estructura de la piel. Epidermis, dermis, hipodermis.

La base de la clasificación de las quemaduras es la profundidad. Cuando se examina una quemadura, hay cuatro componentes necesarios para evaluar la profundidad: aspecto, escaldado a la presión, dolor y sensación. Las quemaduras pueden clasificarse por su grosor según los Criterios Americanos de Quemaduras utilizando esos cuatro elementos. Las quemaduras suelen ser un proceso dinámico. Algunas quemaduras, especialmente las de espesor parcial, pueden progresar durante 2 a 4 días, alcanzando su punto máximo al tercer día. (Everes et al., 2010)

1. **Las quemaduras de primer grado** se limitan a la capa externa o epidermis de la piel. La piel suele aparecer roja y seca y es muy dolorosa al tacto. La curación se produce en 3-5 días.
2. Las quemaduras de espesor parcial o de segundo grado se clasifican a su vez en quemaduras de espesor parcial superficiales y profundas.
 - 2.1. **Una quemadura de espesor parcial superficial** se extiende hasta la dermis papilar superficial y tiene un color rojo con una importante exudación y ampollas. También palidece cuando se aplica presión y puede tardar entre 2 y 3 semanas en curar.
 - 2.2. **Las quemaduras profundas de espesor parcial** se extienden a la dermis reticular y aparecen amarillas o blancas y secas y pueden tardar más de 3 semanas en curar. Estas quemaduras son extremadamente dolorosas; sin embargo, en algunos casos, la sensibilidad en el espesor parcial profundo puede disminuir.
3. **Las quemaduras de espesor total o de tercer grado** se extienden por todo el espesor de la dermis. Pueden tener un aspecto seco, correoso, negro o blanco y suelen ser indoloras ya que los nervios pueden estar destruidos. No palidecen bajo presión.
4. **Las quemaduras de cuarto grado** se extienden por todo el espesor de la piel, incluyendo la grasa y el tendón subyacente, el músculo y el hueso. También aparecen carbonizadas y negras.

Existen varios métodos para determinar la profundidad de las quemaduras, como los colorantes vitales, las biopsias de tejido y los ultrasonidos, que son capaces de detectar las células muertas o colágeno desnaturalizado. (Toussaint et al., 2014). En la Tabla 1. Se muestra la clasificación de las heridas por profundidad.

Tabla 1. Clasificación de las quemaduras según su profundidad.

Grado/Profundidad	Etiología	Capa de piel involucrada	Dolor	Tiempo de curación
Superficial (1er grado)	Exposición al sol, líquidos calientes con poca viscosidad	Epidermis	Moderado-severo	3-5 días
Espesor parcial superficial (2do grado)	Líquidos calientes, compuestos químicos.	Dermis papilar	Severo	2-3 semanas
Espesor parcial profundas (2do grado)	Llamas, químicos, eléctricos, líquidos calientes con alta viscosidad.	Dermis reticular	Mínimo	>3 semanas
Espesor total (3er grado)	Llamas, químicos, explosión, autoinmolación	Todo el espesor de la piel	No	>8 semanas

2.2.- Compuesto de la solución PCL/PVP-ChAgG

El PCL es un poliéster alifático lineal. Es un polímero hidrofóbico, semicristalino (50%), biocompatible y de degradación relativamente lenta (Mondal, D. et al., 2026). Es conocido por su durabilidad en diversas aplicaciones biomédicas; tiene una resistencia mecánica adecuada a granel, buena procesabilidad, altamente modificable y biodegradable (Li, X. et al., 2018). El PCL es biocompatible y tiene leves reacciones indeseables en el huésped. Sin embargo, el PCL tiene una pobre adhesión y proliferación celular debido a su hidrofobicidad, inadecuada humectabilidad y falta de grupos funcionales bioactivos. Por ello, muchos han puesto en práctica la idea de combinar el polímero sintético duradero con un polímero natural respetuoso con las células. Los polímeros naturales tienen características más parecidas a la matriz extracelular

(ECM) nativa. Los polímeros naturales proporcionan varios grupos funcionales bioactivos para favorecer la adhesión, la proliferación y la infiltración de las células (Lim, W. L. et al., 2021).

El PCL es un poliéster alifático semicristalino sintetizado por polimerización de apertura en anillo de la caprolactona (Figura 3). Es completamente degradable mediante actividades enzimáticas. Dependiendo de su peso molecular, el PCL puede ser un sólido ceroso (M_w inferior a varios miles) (PCL ceroso se suele utilizar como aditivo o co-componente) o un polímero sólido (M_w superior a 20,000) (Jiang, L. et al., 2017).

El PCL no es degradado por enzimas en el cuerpo humano o animal debido a la falta de enzimas adecuadas, pero puede ser degradado por microorganismos (bacterias y hongos) ya que la columna vertebral del polímero tiene enlaces de éster que son hidrolizables. La hidrólisis también puede producirse en condiciones *in vitro* e *in vivo*, aunque el ritmo de degradación es lento. La ROP de la ϵ -caprolactona (ϵ -CL) se lleva a cabo según cuatro mecanismos principales diferentes: catiónico, aniónico, activado por monómeros y polimerización de apertura de anillo por coordinación. El 2-etilhexanoato de estaño (II) (u octoato de estaño) es un catalizador representativo de alta eficacia y baja toxicidad, que se ha utilizado con frecuencia en la polimerización de apertura de anillos (ROP) de la ϵ -caprolactona (ϵ -CL) (Mondal, D. et al., 2026).

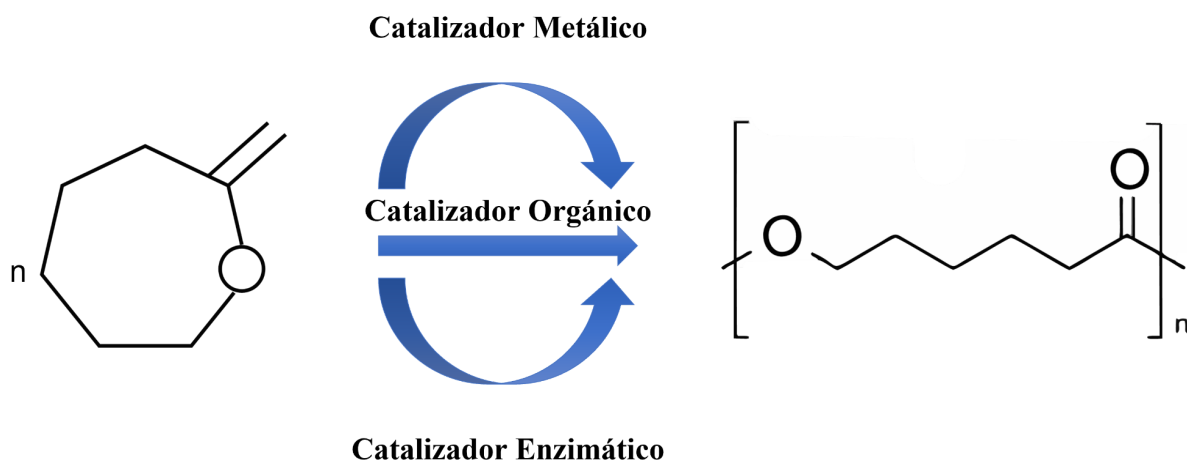


Figura 3. Polimerización de apertura en anillo de la caprolactona

La polivinilpirrolidona (PVP) (Figura 4.) es un polímero sintético obtenido por polimerización radical del monómero N-vinilpirrolidona. No es tóxico, no es iónico, es inerte, es resistente a la temperatura, es estable al pH, es biocompatible y muestra una afinidad compleja por los fármacos tanto hidrofílicos como hidrofóbicos. Es un polímero soluble en agua disponible en diferentes grados con diferente peso molecular y viscosidad (Kurakula, M. et al., 2020)

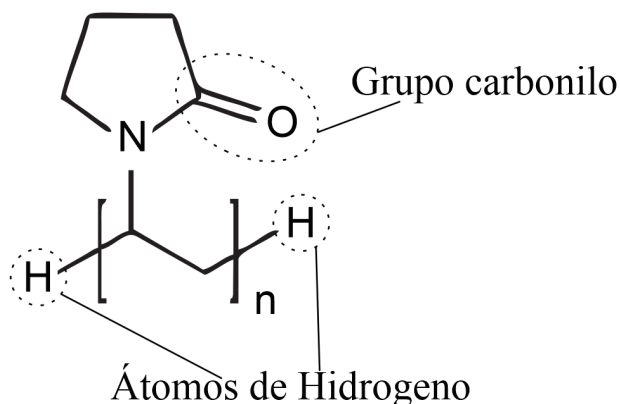


Figura 4. Estructura química del PVP.

2.2.2.- Quitosano

El quitosano, como polímero catiónico derivado de la quitina, es un polisacárido de revestimiento compuesto por β (1-4) d-glucosamina enlazada con grupos N-acetil-d-glucosamina localizados al azar (Figura 5.), que puede acelerar significativamente la reepitelización. Teniendo en cuenta su biocompatibilidad y degradabilidad, el quitosano ha atraído enormes esfuerzos para diseñar y desarrollar varios biomateriales basados en quitosano con diferentes estructuras para diversas aplicaciones. Los grupos aminos del quitosano se protonan fácilmente y dotan al polímero de un efecto bactericida intrínseco. Sin embargo, el quitosano por sí mismo presenta una solubilidad y una propiedad antibacteriana limitadas. Una vez combinados con otros agentes antibacterianos, los materiales a base de quitosán suelen

presentar actividades antibacterianas sinérgicas con mayor especificidad y eficacia (Liang, Y. et al., 2022).

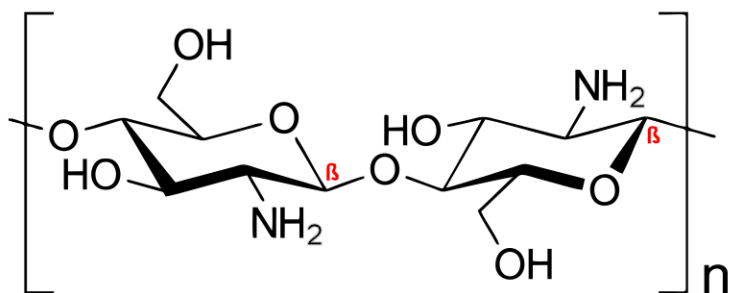


Figura 5. Estructura química del Quitosano.

La presencia de grupos hidroxilo y amino en el Ch facilita su modificación estructural para generar nuevas propiedades que proporcionen funciones biológicas únicas, especialmente la aplicación de curación de heridas (Behera, S. S. et al. 2017).

Kurakula, M. et al., (2020) declaró que a valores bajos de pH, los grupos aminos están cargados positivamente debido a la protonación, por lo que, el quitosano puede ser un polielectrolito catiónico soluble en agua. Sin embargo, cuando el pH aumenta por encima de 6, los grupos aminos de los residuos de quitosano se desprotonan y el biopolímero pierde su carga, lo que da lugar a un polímero insoluble.

A continuación se muestran algunas de las propiedades químicas y biológicas del Quitosano en la Tabla 2.

Tabla 2. Propiedades químicas y biológicas del Quitosano. Reportada por Jiménez-Gómez, C. P et al., 2020.

Propiedades químicas	Propiedades biológicas (biocompatibles)
Posibilidad de formar enlaces de hidrógeno intermoleculares: alta viscosidad.	Bioadhesividad
Existencia de grupos reactivos para la activación química y reticulación	No tóxico
Insoluble en agua y disolventes orgánicos, pero soluble en soluciones ácidas acuosas diluidas.	Biodegradable
Agente floculante (actúa con moléculas de carga negativa)	Absorbible
Biopolímero catiónico con alta densidad de carga (una carga positiva por residuo de glucosamina)	Actividad antimicrobiana (Hongos, bacterias, virus)
Propiedades de atrapamiento y absorción (filtración y separación).	propiedades antiácidas, antiulcerosas y antitumorales
Capacidad de formación de películas (materiales adhesivos para el aislamiento de biomoléculas)	Anticoagulantes de la sangre
	Actividad hipolipodérmica

2.2.3.- Plata nanoestructurada

Las NPs de Ag son agrupaciones de átomos de Ag cuyo diámetro oscila entre 1 y 100 nm y están despertando interés ya que sus características más innovadoras están asociadas a sus mayores propiedades antimicrobianas [4-6]. Debido a estas propiedades antimicrobianas, las NPs de Ag son actualmente las más utilizadas en aplicaciones industriales y de consumo (Behra, R. et al., 2013).

Zhang, X. et al (2016) comentó que con el fin de abordar la cuestión de la seguridad para utilizar todo el potencial de cualquier nanomaterial en el propósito del bienestar humano, en las nanomedicinas, o en la industria de la salud, etc., es necesario caracterizar las nanopartículas preparadas antes de la aplicación: ya que los rasgos característicos de los nanomateriales, como el tamaño, la forma, la distribución del tamaño, la superficie, la forma, la solubilidad, la agregación, etc., deben ser evaluados antes de valorar la toxicidad o la biocompatibilidad.

La actividad biológica de las AgNP depende de factores como la superficie química, el tamaño, la distribución del tamaño, la forma, la morfología de la partícula, la composición de la partícula, el recubrimiento/tapado, la aglomeración y la velocidad de disolución, la reactividad de la partícula en solución, la eficiencia de la liberación de iones y el tipo de célula, y el tipo de agentes reductores utilizados para la síntesis de las AgNP son un factor crucial para la determinación de la citotoxicidad. Las propiedades fisicoquímicas de las nanopartículas mejoran la biodisponibilidad de los agentes terapéuticos tras su administración tanto sistémica como local (Jo, D. H. et al., 2015) y, por otro lado, pueden afectar a la captación celular, la distribución biológica, la penetración en las barreras biológicas y los efectos terapéuticos resultantes (Duan, X. et al., 2013). Por lo tanto, el desarrollo de AgNPs con estructuras controladas y uniformes en tamaño, morfología y funcionalidad es esencial para diversas aplicaciones biomédicas Zhang, X. et al (2016).

2.2.4.- Grafeno

El grafeno (el primer material 2D ligero similar al papel) es un átomo de carbono hibridado sp^2 que se organiza estrechamente en estructuras hexagonales para formar una monocapa 2D de estructura grafitica análoga a un hidrocarburo aromático policíclico de tamaño casi infinito (Al-Dhahebi A.M. et al 2020)

Ha ganado un inmenso interés en varios campos debido a sus propiedades electroquímicas únicas que incluyen alta conductividad térmica, alta corriente, densidad, inercia química, transmitancia óptica y muy alta hidrofobicidad (Priyadarsini, S. et al 2018).

El GO se obtiene a partir de una forma altamente oxidada de la molécula de grafeno utilizando muchos agentes oxidantes fuertes. En particular, el GO, debido a su excelente funcionalidad superficial, anfifilicidad, aspecto acuoso, capacidad de apagar la fluorescencia y

propiedad de dispersión Raman mejorada en superficie, se exfolia químicamente a partir de otros derivados del grafeno. Estas características excepcionales del GO se deben a los pequeños dominios de carbono sp² que están encerrados por dominios sp³ y a los grupos funcionales hidrofílicos que contienen oxígeno debido a su estructura química distintiva (Priyadarsini, S. et al 2018).

El GO tiene unas propiedades físicas y químicas intrínsecas únicas. Algunas de las propiedades químicas son la gran superficie, la funcionalidad que contiene el oxígeno, la mejor conductividad y la buena biocompatibilidad.

La biocompatibilidad y la rápida funcionalización hacen del grafeno una plataforma segura en la ingeniería de tejidos, la administración de fármacos moleculares, el tratamiento del cáncer, la biodetección y la bioimagen (Peña-Bahamonde, J. et al., 2018).

El GO es una forma excelente de grafeno que tiene un carbono simultáneamente hidrofóbico con enlaces sp²- y sp³- y abundantes grupos de ácido carboxílico, epóxido e hidroxilo, especialmente en el borde y en los defectos de la nanohoja, formando así un coloide anfifílico en forma de hoja. El GO, debido a sus abundantes grupos residuales sp²- e hidrófilos, puede formar una suspensión estable en disolventes acuosos y en varios disolventes polares y formar interacciones π - π con moléculas aromáticas. Además, los grupos químicos polares, el ácido carboxilo, el epóxido y el hidroxilo en el plano basal permiten que el GO sufra interacciones débiles, por ejemplo, fuertes interacciones electrostáticas o enlaces de hidrógeno y complejos de iones metálicos que también proporcionan abundantes grupos químicamente reactivos para el injerto/anclaje superficial de polímeros y/o nanopartículas (Al-Dhahebi A.M. et al 2020).

2.3.- Apósitos

El apósito es un elemento esencial del cuidado estándar de las heridas (Obagi Z. et al., 2019), se han utilizado para limpiar, cubrir y proteger la herida del entorno externo. Basándose en el mecanismo de cicatrización de heridas, un apósito ideal debería tener los siguientes atributos; absorber el exceso de exudado; proteger la herida de la infección microbiana; mantener un entorno de cicatrización húmedo en el lugar de la herida; facilitar el intercambio de gases; no

ser tóxico, biocompatible y degradable; no adherirse a la herida, ser fácil de colocar y retirar; promover la angiogénesis y la regeneración de tejidos (Liu et al., 2021) (Bueno J. et al 2017).

En las últimas décadas se han explorado diversos apósitos para heridas, como hidrocoloides, hidrogeles, esponjas, espumas, películas y micro y nanofibras. La elevada relación superficie-volumen, la gran similitud con la estructura biológica de la matriz extracelular, la alta porosidad y el tamaño muy pequeño de los poros son algunas de las ventajas de las nanofibras que se han convertido en posibles candidatas para las aplicaciones de curación de heridas (Mona S. et al., 2022)

Además, la estructura única del pequeño tamaño de los poros y la alta porosidad de la membrana de nanofibras puede proteger la herida de la infección de patógenos y garantizar el libre transporte de moléculas de gas y líquido. Al mismo tiempo, se ha llevado a cabo una gran cantidad de investigaciones, combinando las características ajustables de las propiedades físicas y mecánicas para que destaque entre los biomateriales (Liu et al., 2021).

2.3.1.- Tipos de apósitos

Los apósitos tradicionales utilizan principalmente gasas, pelusas y vendas como apósitos, que son los más utilizados. Sin embargo, no absorben ni drenan el exudado de la zona de la herida sin problemas durante su uso, y no pueden mantener un entorno de curación húmedo. La estructura porosa de la superficie no puede impedir la invasión de bacterias externas y promoverá la migración de bacterias al lugar de la herida en un entorno húmedo. Es fácil que se adhiera al exudado de la herida durante su uso, por lo que causará un daño secundario a la piel cuando se sustituya (Tang et al., 2019).

En comparación con los apósitos tradicionales, los apósitos modernos para heridas tienen mejor biocompatibilidad, retención de humedad y degradabilidad. Los apósitos modernos estándar de gama alta incluyen apósitos de película, espuma, hidrocoloides, hidrogeles y alginato, que proporcionan un efecto curativo más eficaz que los apósitos tradicionales (Dhivya et al., 2019)

La película es un adhesivo transparente de poliuretano o polímero sintético, ligero, fino y elástico. La superficie transparente puede permeabilizar no sólo el vapor de agua y el oxígeno, sino que también es conveniente para observar la curación de la herida (Shi C. et al., 2020)

Los apósitos de espuma suelen estar compuestos por una capa polimérica hidrofílica y una capa absorbente de poliuretano hidrofóbica. La capa de polímero es permeable al gas y semipermeable a los fluidos. La estructura de la capa interna se utiliza para absorber el exudado, y la capa externa se utiliza para evitar que la herida se seque y para impedir que la invadan las bacterias (Nuutila K. et al., 2021).

El apósito hidrocoloide es un nuevo tipo de apósito para heridas ampliamente utilizado en la práctica clínica, que está fabricado con materiales poliméricos a base de agua o glicerina. Tras absorber el líquido, se hinchará para formar un gel, y el apósito se ablandará (Weller C. et al., 2020).

Los apósitos de hidrogel son redes poliméricas reticuladas hechas de materiales a base de carbohidratos, que pueden fabricarse en varios grosores y se utilizan ampliamente en la administración de fármacos y la reparación de tejidos (Palmese L. et al., 2019).

Los apósitos de alginato son un apósito preparado con diferentes tipos de polisacáridos de algas marinas o de algas. Tiene una gran capacidad de absorción de líquidos y favorece el desbridamiento autolítico para ablandar y eliminar el tejido necrótico. Se suele utilizar en heridas crónicas con mucho líquido exudado, quemaduras profundas y heridas quirúrgicas que requieren hemostasia (Varaprasad K. et al., 2020).

Como nuevo tipo de apósito para heridas, los apósitos bioactivos se utilizan para acelerar la curación de varios tipos de heridas. Estos apósitos están compuestos por diversos polímeros, como la gelatina, la fibroína de seda, el quitosano y el alginato, entre otros, y se aplican en forma de espuma, esponja, película, hidrogel y membrana de nanofibras. Se añaden sustancias biológicamente activas como fármacos antibacterianos, factores de crecimiento, nanopartículas y productos naturales para obtener actividad antibacteriana, promover la actividad de los fibroblastos y la migración de las células endoteliales. En resumen, el desarrollo de apósitos bioactivos funcionalizados es un paso crucial en el desarrollo de apósitos para heridas (Liu et al., 2021). El material de base polimérica se utiliza habitualmente en las síntesis de apósitos e

incluye materiales sintéticos y naturales. Mientras que los primeros despiertan entusiasmo por su evidente potencial de flexibilidad en la producción, los segundos resultan atractivos por su seguridad y por ser respetuosos con el medio ambiente (Asanarong O. et al., 2020).

A continuación, se muestra un diagrama de la clasificación de los apósitos cutáneos en la Figura 6.

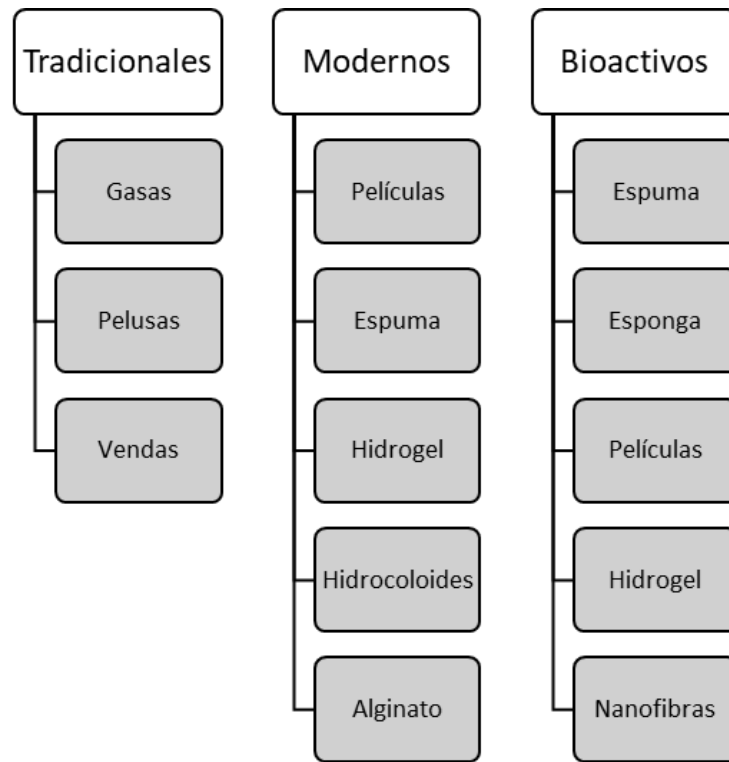


Figura 6. Clasificación de los apósitos cutáneos.

2.3.2.- Aplicaciones de las Membrana fibrosas electrohiladas

Las nanofibras electrohiladas se pueden clasificar según su aplicación, entre ellas tenemos aplicaciones ambientales, biomédicas/sanitarias y energéticas/sensores. En la Tabla 03. se pueden observar algunos ejemplos de estas aplicaciones:

Tabla 3. Aplicaciones de nanofibras electrohiladas.

Ambientales	Membranas de separación y purificación de aguas residuales (Topuz F. et al., 2019).
	Filtración de aire (Zhu M. et al., 2017).
Biomédicas y sanitarias	Ingeniería de tejidos (Garcia-Orue et al., 20219).
	Liberación de fármacos (Garcia-Orue et al., 20219).
	Medicina regenerativa (Duan Y. et al., 2021).
Energéticos y sensores	Catalizadores resistentes a envenenamientos (pilas de combustibles) (Toriello M. et al., 2020).

Las nanofibras electrohiladas suponen una revolución en la depuración del agua y las aguas residuales al ofrecer un proceso ligero, rentable y de menor consumo energético en comparación con las membranas convencionales. Las nanofibras electrospun con alta eficiencia de filtración, pequeño tamaño de poro, alta permeabilidad y bajo coste son el material elegido para la aplicación de la filtración. La estructura de las nanofibras electrospun es muy prometedora en términos de permeabilidad, selectividad y bajo ensuciamiento (Tlili I. et al., 2019).

Las nanofibras electrohiladas se han investigado ampliamente en el campo de la biomedicina y la ingeniería de tejidos debido a sus interesantes propiedades y a su versatilidad para ser diseñadas en diversas morfologías. En la ingeniería tisular, los andamios se utilizan como soporte para regenerar los tejidos dañados (Toriello et al., 2020).

En el ámbito de la medicina regenerativa, se han diseñado y fabricado andamios fibrosos poliméricos en 2D y 3D para la regeneración o reparación de diversos tejidos, como el hueso, la piel, los nervios, el corazón, los vasos sanguíneos y el sistema musculoesquelético, adaptando las propiedades estructurales y funcionales, como el diámetro y la alineación de las fibras, la porosidad, el apilamiento, el modelado, los grupos funcionales de la superficie, las propiedades mecánicas y la biodegradabilidad (Duan Y. et al., 2021).

El sector energético lleva años investigando y mejorando su tecnología para proporcionar una energía más limpia y rentable. Las nanofibras forman parte de la mejora de las diferentes tecnologías energéticas. Las membranas de nanofibras se han utilizado como catalizadores para proporcionar alta actividad, alta durabilidad y alta resistencia al envenenamiento para las pilas de combustible y pueden utilizarse como electrodos para las baterías de iones de litio para mejorar su capacidad y rendimiento (Tijing L. et al., 2017).

2.4.- Electrohilado

El electrohilado es una de las tecnologías más versátiles, sencillas y eficaces en comparación con la polimerización de plantillas y la pulverización de masa fundida. También es el único método para la producción a gran escala de nanofibras continuas en la industria. El electrohilado también tiene las ventajas de una amplia gama de materias primas disponibles, un proceso sencillo, un diámetro de fibra pequeño y una alta porosidad (Guo Y. et al., 2022).

La técnica de electrohilado implica un proceso electro-hidrodinámico, durante el cual una gota de líquido se electrifica para generar un chorro, seguido de un estiramiento y alargamiento para generar fibras. El montaje de la electrohilatura comprende cuatro componentes esenciales; una hilera con una aguja metálica (una aguja hipodérmica con punta roma) y un tubo capilar, un inyector, una fuente de alimentación de alto voltaje con dos electrodos los cuales son conectados a la salida de la aguja metálica y otro directo al colector, y el colector metálico conectado a tierra (conductor) (Xue J. et al., 2019).

El procedimiento de electrohilado puede dilucidar sobre la base de cuatro etapas principales que son la electrificación, el inicio y la extensión del chorro, la inestabilidad de la

flexión y el alargamiento posterior, y la solidificación del chorro en fibras. El diámetro y la morfología desempeñan un papel esencial en la construcción de fibras y están controlados por los parámetros del proceso (voltaje aplicado, distancia de recepción y velocidad de alimentación), las condiciones de la solución y el disolvente (viscosidad, concentración, conductividad, tensión superficial, volatilidad) y las condiciones ambientales (humedad, temperatura, presión) (Al-Dhahebi A. et al., 2020).

2.4.1.- Proceso

En el caso del electrohilado en solución, primero, debido a la tensión superficial de la solución, se forman gotas en la hilera con carga inducida en la superficie. Cuando la fuerza electrostática es equivalente a la tensión superficial de la solución, la gota cambia de forma semiesférica a forma cónica, lo que se denomina cono de Taylor. Cuando la fuerza electrostática es mayor que la tensión superficial, la solución puede superar la tensión superficial y formar chorros. En el proceso de llegar al dispositivo de recogida, la fuerza electrostática hace que los chorros se estiren y el disolvente se evapore, dejando sólo las fibras sólidas. El dispositivo de recogida puede recoger las fibras sólidas con complejos (Figura 7.) (Guo Y. et al., 2022).

En general, el proceso de electrohilado puede dividirse en cuatro pasos consecutivos (1) carga de la gota líquida y formación de un chorro en forma de cono Taylor o cónico; (2) extensión del chorro cargado a lo largo de una línea recta; (3) adelgazamiento del chorro en presencia de un campo eléctrico y crecimiento de la inestabilidad de flexión eléctrica (también conocida como inestabilidad de látigo); y (4) solidificación y recogida del chorro como fibras sólidas en un colector conectado a tierra (Xue J. et al., 2019).

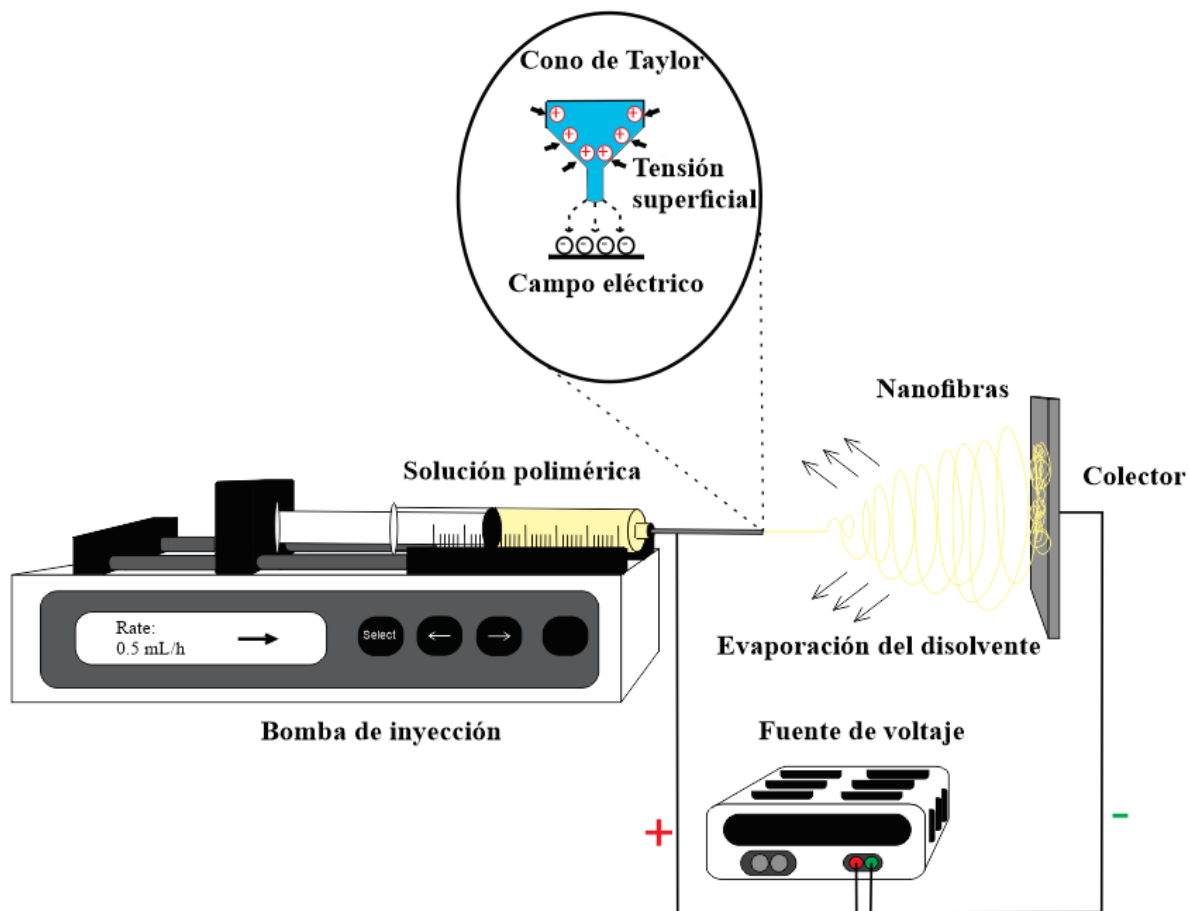


Figura 7. Proceso de electrohilado y cono de Taylor.

2.4.1.1.- Formación del cono de Taylor

El cono de Taylor se forma debido al equilibrio entre la gravedad y el potencial geométrico producido por la superficie del cono. Cuando se aplica un campo electrostático, el cono se prolonga hasta convertirse en un semielipsoide aproximado, y cuando la fuerza electrostática alcanza un valor umbral que es suficiente para superar la tensión superficial del cono, un chorro o múltiples chorros son expulsados del cono (He J. et al., 2020).

En otras palabras, la tensión superficial de la gota que se forma en el extremo de la aguja es vencida por la fuerza del campo eléctrico, la gota se distorsiona formando el cono de Taylor, esta distorsión provoca la expulsión del polímero cargado eléctricamente en dirección al colector formando hilos delgados (Gonzales Molfino H. et al., 2020).

Suponiendo que el líquido de la gota es un conductor perfecto, la presión electrostática (p_e) que actúa sobre la superficie de la gota por el campo eléctrico externo puede calcularse como $p_e = \epsilon E^2 / 2$, donde ϵ es la constante dieléctrica del medio que rodea la gota y E es la intensidad del campo eléctrico. La presión capilar (p_c) causada por la tensión superficial se define mediante la ecuación de Young-Laplace de la siguiente forma: $p_c = 2\gamma/r$, donde γ es la tensión superficial y r es el radio medio de curvatura de la superficie, que puede representarse por el radio interior de la hilera. Cuando el campo eléctrico alcanza una intensidad adecuada a un voltaje crítico (V_c), superará a p_c ; es decir, la repulsión electrostática será lo suficientemente fuerte como para superar la tensión superficial. En consecuencia, la gota se deformará en forma cónica. En este caso, el voltaje crítico (V_c) puede calcularse mediante la siguiente ecuación (Xue J. et al., 2019).

$$V_c^2 = \frac{4H^2}{h^2} \left(\ln\left(\frac{2h}{R}\right) - \frac{3}{2} \right) (1.3\pi R\gamma)(0.09) \quad (1)$$

donde H es la distancia entre la punta de la hilera y el colector, h es la longitud de la hilera y R es el radio exterior de la hilera. Las unidades de H , h y R están en centímetros, mientras que las unidades de γ es dyn/cm y la unidad de la tensión en kV. El factor 1,3 se deriva de $2\cos 49.3^\circ$ al considerar que el cono tiene un ángulo semi vertical cercano a un posible valor de equilibrio de $49,3^\circ.22$. Durante el proceso de electrohilado, el voltaje crítico necesario para generar una forma cónica para la gota depende de las propiedades del líquido. Cuando se utiliza un líquido viscoso, el voltaje debe alcanzar un valor crítico capaz de generar una repulsión electrostática lo suficientemente fuerte como para superar la tensión superficial más la fuerza viscoelástica del líquido (Xue J. et al., 2019).

A continuación, se muestran las inestabilidades de flexión del cono de Taylor hasta recolectar las fibras (Figura 8.).

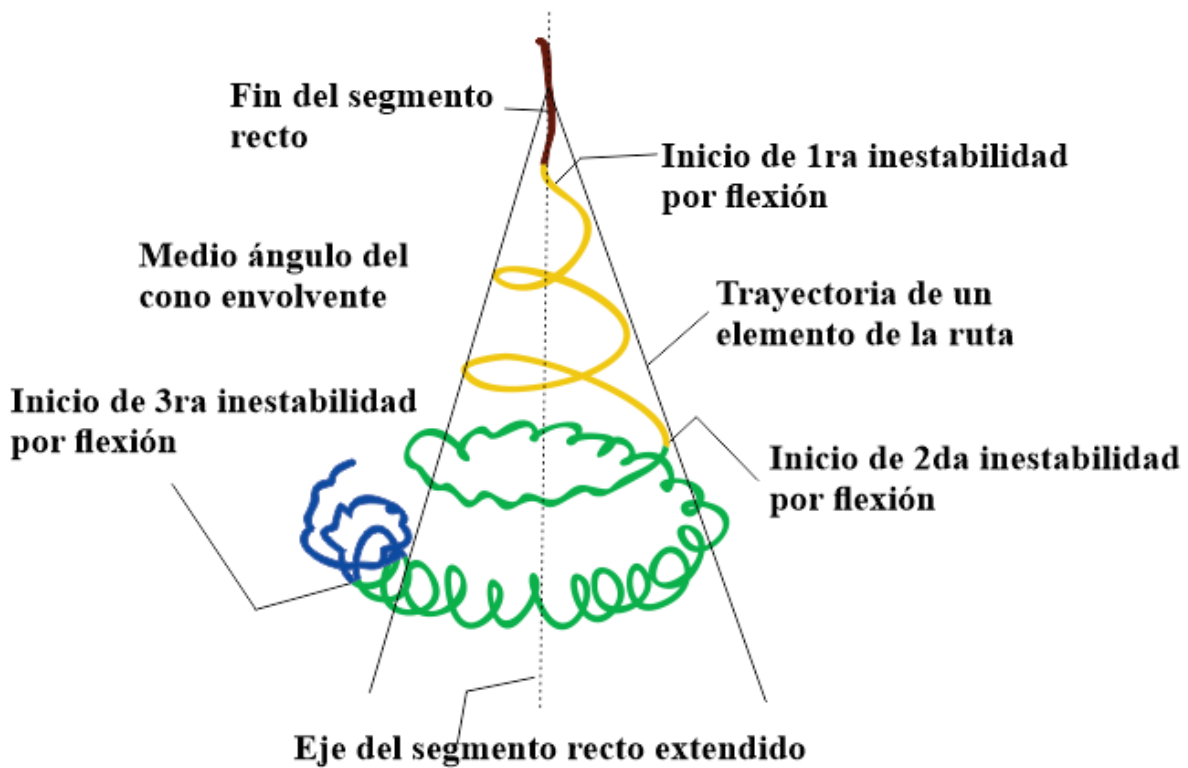


Figura 8. Inestabilidad de flexión del Cono de Taylor

2.4.1.2.- Estiramiento del chorro

Desde el vértice del cono de Taylor se expulsa un chorro cargado eléctricamente que es acelerado por el campo eléctrico. El chorro se extenderá en la dirección del campo eléctrico a medida que se mueve hacia el colector.

El chorro cónico sigue inicialmente una línea casi recta a cierta distancia de la punta de la hilera, y este espacio se conoce como la región de campo cercano. Las propiedades viscoelásticas del fluido deberían ser capaces de suprimir la inestabilidad de Rayleigh, que de otro modo hace que el chorro se rompa en gotas. Las cargas superficiales se mueven con el chorro, generando una corriente que lo atraviesa (Xue J. et al., 2019).

2.4.1.3.- Adelgazamiento del chorro

Durante la aceleración del chorro en línea recta, la tensión superficial y la fuerza viscoelástica del chorro tienden a impedir su avance. Mientras tanto, el diámetro del chorro en el segmento recto disminuye monótonicamente con la distancia que se aleja de la punta, ya que el chorro se estira continuamente. Cuando la aceleración se reduce a cero o a una constante, cualquier pequeña perturbación es capaz de destruir el movimiento rectilíneo. Así, la inestabilidad puede surgir fácilmente como consecuencia de la repulsión electrostática entre las cargas superficiales que residen en el chorro, entrando en el régimen de campo lejano.

En la región de campo lejano, pueden producirse tres tipos diferentes de inestabilidades en un chorro cargado eléctricamente. El primer tipo es axisimétrico, también conocido como inestabilidad de Rayleigh, que puede conducir a la ruptura del chorro en gotas. Está dominada por la tensión superficial y puede suprimirse con un fuerte campo eléctrico. El segundo tipo es también axisimétrico y se produce con un campo eléctrico más fuerte que el primero. El tercer tipo, también conocido como inestabilidad de látigo o de flexión, no es axisimétrico. Describe las perturbaciones de onda larga del chorro impulsadas por la inestabilidad aerodinámica y la "fuerza electrostática lateral" en una dirección radial relativa al chorro, resultante de la repulsión electrostática entre las cargas superficiales en un campo eléctrico fuerte (Xue J. et al., 2019).

2.4.1.4.- Solidificación del chorro

Durante el proceso de alargamiento, el chorro se solidifica para formar fibras, lo que se debe a la evaporación del disolvente o al enfriamiento de la masa fundida. Cuando el proceso de solidificación es lento, el alargamiento del chorro cargado puede durar más tiempo para generar fibras con un diámetro más fino. En un estudio, se afirmó que el radio de la sección transversal de una fibra seca era sólo $1,3 \times 10^{-3}$ veces el del chorro inicial como resultado del estiramiento y la evaporación del disolvente. Tras la solidificación, las cargas pueden seguir atrapadas en la superficie de las fibras secas, pero todas las inestabilidades cesarán (Xue J. et al., 2019).

2.4.1.5.- Deposición de las fibras

La última etapa de un proceso de electrohilado es la deposición de fibras en un colector conectado a tierra. Las morfologías de las fibras están determinadas principalmente por la fase de inestabilidad de flexión en la que se depositan las fibras. Es sencillo recoger las fibras en la región del bucle de la primera inestabilidad de flexión como una estera no tejida en un colector fijo o móvil. Sin embargo, las fibras de la pequeña región en espiral de la segunda y tercera inestabilidad de flexión pueden adoptar un patrón complejo, y las espirales pueden recogerse como fibras con una morfología recta u ondulada, o incluso espirales con muchas vueltas. Tras la deposición, la mayor parte de las cargas de las fibras se disipan rápidamente a través del colector conectado a tierra. Sin embargo, debido a la baja conductividad de la mayoría de los materiales para las fibras, todavía queda una cantidad medible de cargas residuales en la superficie de las fibras recogidas. La acumulación de cargas residuales en las fibras recogidas tiende a repeler el chorro con carga similar, provocando un movimiento pendular para el chorro electrificado. Como resultado, el grosor alcanzable de una estera no tejida de fibras electrohiladas suele estar restringido por un límite superior de aproximadamente 0,5-1 mm (Xue J. et al., 2019).

2.4.2.- Parámetros

2.4.2.1.- Parámetros de la solución

Los parámetros de solución incluyen concentración, viscosidad, peso molecular, conductividad, tensión superficial y tipo de solvente.

2.4.2.1.1.- Concentración

La concentración de la solución polimérica juega un papel decisivo en la formación de nanofibras electrohiladas. A mayor concentración de polímero, al aumentar la viscosidad, mejora el entrelazamiento de las cadenas poliméricas y se forman nanofibras. La concentración de polímero en la solución que se va a electrohilar tiene, un efecto tanto en la viscosidad como en la tensión superficial del líquido que, en última instancia, decide la electrospinnabilidad de la solución en nanofibras con diámetros mayores a medida que aumenta la concentración de polímero. Sin embargo, a partir de un cierto límite, la viscosidad de la solución se vuelve excesivamente alta, lo que interrumpe el flujo de la solución polimérica a través del capilar (Pillay V. et al., 2013).

Cuando la concentración de la solución es superior a la concentración óptima, la solución es fácil de bloquear la hilera, dando lugar a una fibra de cinta gruesa y desigual (Guo Y. et al., 2022). Sin embargo, algunos estudios también han demostrado que la viscosidad de la solución puede mejorarse añadiendo cosolventes a una determinada concentración de polímero. El aumento de la concentración suele mejorar la morfología de las nanofibras o facilitar la electrohilatura de polímeros que son difíciles. Se ha comprobado que si hay muchos tipos de polímeros en la solución, aunque la viscosidad sea la misma, la diferente proporción de concentración de polímeros cambiará el diámetro de las nanofibras, lo que se debe a la interacción entre los polímeros (Mirtič J. et al., 2019).

Por lo tanto, la concentración del polímero desempeña un papel importante en la fabricación de fibras con control sobre los diámetros de las fibras y la formación de cordones. En conclusión se ha demostrado la dependencia de la concentración en el diámetro de la fibra de las nanofibras electrohiladas (Utkarsh et al., 2020).

2.4.2.1.2.- Viscosidad

La viscosidad de la solución está estrechamente relacionada con la concentración y el peso molecular, que es uno de los principales parámetros que afectan al diámetro y la morfología de las nanofibras (Guo Y. et al., 2022).

Si la viscosidad es demasiado baja, significa que el enredo del polímero es bajo y la tensión superficial es dominante, las gotas no pueden conectarse en fibras y formar el spray. Con el aumento de la viscosidad, el tiempo de relajación de la tensión del polímero se alarga, lo que favorece la formación de nanofibras con un diámetro mayor y uniforme (Figura 9.) (Aydogdu A. et al., 2018).

La viscosidad de la solución puede controlarse ajustando la concentración de polímero. La viscosidad de la solución puede aumentar con el aumento de la solubilidad cuando la conductividad es alta, pero el cambio del diámetro de la nanofibra puede ser ignorado, porque la conductividad también aumentará con el aumento de la concentración (Tam N. et al., 2017). La concentración de la solución también puede aumentar añadiendo nanopartículas a la solución; aunque el diámetro de las nanofibras aumenta con el aumento del contenido de nanopartículas,

las nanofibras serán más rugosas y desiguales debido al aumento de la fricción y la viscosidad entre las partículas (Yu G. et al, 2017).

Algunos estudios han demostrado que la solución con una viscosidad de 1-20 P y una tensión superficial de 35-55 dyn/cm² es adecuada para el electrohilado de nanofibras (Guo Y. et al., 2022). Por lo tanto, si el líquido al que se aplica el potencial tiene una viscosidad mayor (~1-200 poise), el chorro tendrá menos probabilidades de romperse porque las mayores fuerzas viscoelásticas amortiguarán el mecanismo de ruptura de Rayleigh, ya que las llamadas fuerzas viscoelásticas nunca actúan contra la tensión superficial (Pillay et al., 2013). Cuando la viscosidad de la solución es demasiado alta para llevar a cabo el electrohilado, algunos investigadores proponen utilizar la tecnología de la vibración para resolver este problema (Guo Y. et al., 2022). Por ejemplo, vibraciones ultrasónicas pueden disminuir la fuerza de Van der Waals entre las cadenas de polímeros para lograr el propósito de reducir temporalmente la viscosidad de la solución (Li X. et al., 2019).

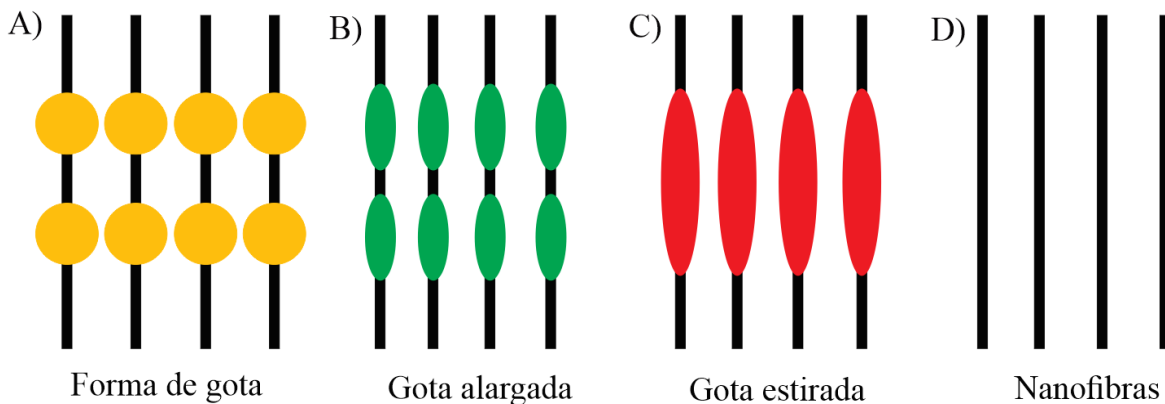


Figura 9. Morfología de las nanofibras con el aumento de la viscosidad.

2.4.2.1.3.- Peso molecular

El peso molecular del polímero puede afectar a las propiedades reológicas y eléctricas de la solución, como la viscosidad, la tensión superficial y la conductividad. Cuando el peso molecular es grande, la fuerza intermolecular es grande (fuerza Van der Waals), y el polímero también puede generar más enlaces de hidrógeno entre los disolventes haciendo que el polímero se expanda, entonces, aumentará el valor de la viscosidad (Nonato et al., 2017).

Sin embargo, algunos experimentos han encontrado que el peso molecular tiene poca relación con la conductividad. De forma similar al efecto de la viscosidad y la concentración, el polímero con bajo peso molecular tiene un grado de enredo insuficiente, una longitud de cadena corta, una fuerza de fricción molecular pequeña, difícil de resistir el batido inestable, un chorro interrumpido y difícil de formar fibras (Choi S. et al., 2018).

2.4.2.1.4.- Conductividad

Las partículas cargadas del polímero tienen una gran influencia en la formación del chorro. Cuando la conductividad de la solución es demasiado baja, se formarán perlas, lo cual hace que formar nanofibras uniformes sea difícil. Sin embargo, una conductividad elevada puede provocar un latigazo de flexión y un diámetro desigual o la formación de fibras en forma de cinta (Guo Y. et al., 2022). El diámetro de las nanofibras disminuye con el aumento de la conductividad (Mirtič J. et al., 2019).

La conductividad de la solución puede mejorarse añadiendo a la solución algunas sales inorgánicas como cloruro de sodio, cloruro de litio, cloruro de magnesio y cloruro de cobre. Esto ayuda a formar fibras sin perlas (grumos) con diámetros más pequeños y aumenta la uniformidad (Gonzales Molfino H. et al., 2020). Por otro lado, algunos investigadores descubrieron lo contrario y llegaron a la conclusión de que algunos compuestos orgánicos también son viables, como el formiato de piridinio. Sin embargo, sus conclusiones no son compatibles. El PH también afecta a la conductividad de la solución (Topuz F. et al., 2019). Se midieron las propiedades de electrohilado de soluciones de poliestireno con 18 tipos de disolventes orgánicos comunes y se descubrió que sólo el 1,2-dicloroetano, el DMF, el etilacetato, el MEK y el THF podían satisfacer las necesidades de la electrohilado (Guo Y. et al., 2022).

En conclusión, se ha observado que un aumento de la conductividad de la solución da lugar a una disminución sustancial del diámetro de las nanofibras y se ha demostrado que el radio del chorro de nanofibras está inversamente relacionado con la raíz cúbica de la conductividad eléctrica de la solución (Pillay V. et al., 2013).

2.4.2.1.5.- Tension superficial

La tensión superficial es importante para el proceso de electrohilado ya que se ve afectada por muchos factores, como el peso molecular, la concentración de la solución, el tipo de disolvente y la temperatura, sin embargo, es una función de la composición del disolvente. Los diferentes disolventes aportan diversas tensiones superficiales. La generación de gotas, perlas y fibras continuas uniformes depende de la tensión superficial de la solución. Normalmente, una tensión superficial más alta de una solución dificulta el proceso de electrohilado debido a la inestabilidad de los chorros y la generación de gotas pulverizadas. Incluso si la tensión superficial de la solución de hilado se mantiene baja, el electrohilado se producirá con un campo eléctrico más bajo. Sin embargo, no conducirá esencialmente a dimensiones adecuadas de nanofibras. Se requiere una tensión superficial óptima para la formación uniforme de nanofibras (Li Z. et al., 2013)

En el caso de una solución polimérica menos viscosa, la tensión superficial es el principal parámetro que conduce a la formación de fibras con perlas, mientras que la estructura fibrosa continua se obtiene por encima de una concentración crítica de la solución. Por otro lado, un mayor tiempo de relajación de la tensión en el caso de las soluciones poliméricas de alta viscosidad impide la fractura de los chorros expulsados (Mehta P. et al., 2018).

2.4.2.1.6.- Tipo de disolvente

La selección del solvente es uno de los factores claves para la formación de nanofibras electrohiladas lisas y sin cordones (beadless). Por lo general, se deben tener en cuenta dos cosas antes de seleccionar el disolvente. En primer lugar, los disolventes preferidos para el proceso de electrohilado tienen polímeros que son completamente solubles. En segundo lugar, el disolvente debe tener un punto de ebullición moderado (Tabla 4.). Su punto de ebullición da una idea sobre la volatilidad de un disolvente. Por lo general, se prefieren los disolventes volátiles, ya que sus altas tasas de evaporación favorecen la fácil evaporación del disolvente de las nanofibras durante su vuelo desde la punta de la aguja hasta el colector. Sin embargo, la mayoría de los disolventes muy volátiles se evitan porque 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)

(Pillay V. et al., 2013), además, tiene un gran impacto en la aparición o no de perlas (Guo Y. et al., 2022).

La fase de separación ocurre en la interfase líquido-aire; cuando el chorro viaja a través de la atmósfera hacia el colector, lo cual es una función de la volatilidad del disolvente e influye en la porosidad de las nanofibras que se forman. Para conseguir la porosidad y la morfología de las nanofibras deseadas se puede utilizar una mezcla de dos disolventes (co-solventes) con diferentes puntos de ebullición. (Pillay V. et al., 2013).

La polaridad y la constante dieléctrica del disolvente afectarán a la conductividad de la solución. Debido a la toxicidad de muchos disolventes orgánicos, si no se pueden eliminar por completo, no se utilizarían en los campos biológico y alimentario (Vega-Lugo A. C. et al., 2012). La influencia de los tipos de disolventes en el electrohilado es compleja. No existe una teoría clara para juzgar si el electrohilado puede llevarse a cabo con un determinado disolvente (Guo Y. et al., 2022).

Tabla 4. Tipos de solventes y su rol en la formación de nanofibras electrohiladas.

Solvente	Punto de ebullición (°C)	Otros parámetros	Morfología de la fibra	Ref.
DCM	40	Constante dieléctrica baja, alta tensión superficial	Formación de perlas Diámetro grande	Lasprilla-Botero, J. et al., 2018 NCBI et al., 2022
Cloroformo	61.2	Alta viscosidad intrínseca	Formación de perlas a bajas concentraciones, fibras lisas a altas concentraciones.	van der Schueren L. et al., 2011.
Metanol	64.7	Constante dieléctrica alta	> Concentración menor diámetro de fibras	(Pillay V. et al., 2013).
THF	66	Buena conductividad	Lisas, en forma de cinta, con muy pocas perlas	NCBI et al., 2022 (Pillay V. et al., 2013).
Acetato de etilo	77.1	Baja tensión superficial constante dieléctrica alta, viscosidad alta	Liso y con perlas, en forma de cinta	NCBI et al., 2022
Etanol	78.2	Tensión superficial baja, alta viscosidad intrínseca.	Lisas y con diámetros grandes.	Aria M. et al., 2016
Agua	100	Baja viscosidad intrínseca	Con perlas y diámetros pequeños	(Pillay V. et al., 2013).
DMF	153	Alta conductividad	Suave y con perlas.	Mohammadza dehmoghadam S. et al., 2016

DMF: Dimetil formamida; THF: Tetrahidrofurano; DCM: Diclorometano.

2.4.2.2.- Parámetros del proceso

2.4.2.2.1.- Voltaje aplicado

El voltaje aplicado es también un parámetro clave en el proceso de electrohilado ya que sólo cuando se alcanza el umbral de tensión, la gota puede ser expulsada y llegar finalmente al dispositivo de recogida. También afecta a la morfología y al diámetro de las nanofibras, si es demasiado alto o demasiado bajo, dará lugar a la formación de perlas. Por otro lado, el diámetro de las nanofibras disminuye con el aumento del voltaje aplicado; como la fuerza electrostática es grande, las gotas se estiran más, dando como resultado diámetros menores, aunque también puede variar con la concentración de la solución de polímero y la distancia del dispositivo de chorro al dispositivo de recogida (Drosou C. et al., 2018)

El alto voltaje inducirá las cargas necesarias en la solución y, junto con el campo eléctrico externo, iniciará el proceso de electrohilado cuando la fuerza electrostática de la solución supere la tensión superficial de la misma. Por lo general, el voltaje utilizado comúnmente varía entre 10 a 20 Kv, dependiendo del polímero utilizado. (Si Y. et al., 2014).

Por otro lado, Taylor observó que la diferencia entre el voltaje aplicado que provocaría la inestabilidad de una gota de polímero y el que provocaría su forma cónica es muy pequeña. Cualquier aumento del voltaje más allá de un valor crítico conduce a la eyección de un chorro de polímero desde el vértice del cono (Pillay V t al., 2013). Es por esto que la estabilidad del cono de Taylor depende tanto de la velocidad de alimentación como del voltaje (Ramesh Kumar P. et al., 2012).

2.4.2.2.2.- Flujo de salida

La velocidad de flujo también afecta al diámetro y a la morfología de las nanofibras ya que este define la cantidad de solución de hilatura que pasa por la punta de la aguja por unidad de tiempo (Hossain M. F. et al., 2015). El diámetro de las nanofibras aumenta con el aumento del caudal, si la velocidad de flujo es demasiado alta, el disolvente no puede evaporarse completamente antes de llegar al dispositivo de recogida, lo que dará lugar a la formación de

perlas o cintas. Por lo tanto, cuando la tasa de flujo es moderada, el cono de Taylor es más estable, y es más fácil generar nanofibras lisas y uniformes. Cuando la viscosidad de la solución es baja, la velocidad de flujo tiene poco efecto en el diámetro de las nanofibras (Guo Y. et al., 2022). Cuando el voltaje aplicado es mayor, el efecto de la velocidad de flujo es más significativo (Pillay V. et al., 2013).

En un estudio realizado por Hossian M. et al., 2015 se observó que el diámetro de las fibras aumentaba al aumentar la velocidad de avance (Flujo) y la tensión aplicada (voltaje). En cambio, el diámetro de las fibras disminuye al aumentar la distancia de trabajo hasta un determinado nivel. Un mayor aumento de la distancia de trabajo producía fibras rebordeadas.

También se ha demostrado que con el aumento del flujo no solo se aumenta el diámetro de las fibras, sino que también se aumenta el tamaño de los poros de las nanofibras (Pillay V. et al., 2013).

2.4.2.2.3.- Distancia colector-aguja

La distancia entre la aguja y el colector es un parámetro importante que afecta a la calidad de las nanofibras formadas. Una distancia mínima entre la aguja y el colector puede ayudar a completar la evaporación del disolvente antes de llegar al colector, lo que provoca la formación de nanofibras sin cordones. Estas distancias pueden ajustarse en función de la tensión aplicada (Thamer B. M. et al., 2021).

Se ha demostrado que el diámetro del chorro cargado (D) estaba relacionado con la velocidad de alimentación (Q) con la relación que se muestra en la ecuación (2) que se debía a la inestabilidad de flexión de los chorros de polímero: (Si Y. et al., 2014).

$$D \sim Q^{0.48} \quad (2)$$

Sin embargo, la distancia no debe ser demasiado grande. Si la distancia es demasiado grande, el chorro no será lo suficientemente estable, y habrá cuentas. Aunque, la distancia entre el dispositivo de chorro y el de recogida tiene menos efecto sobre el diámetro de las nanofibras que otros parámetros (Guo Y. et al., 2022).

En conclusión, la variación de la distancia entre aguja-colector puede o no tener efecto en el grosor y forma de la fibra, ocasionando apariciones de beads, grumos o fibras húmedas. Una distancia pequeña evitará que el solvente se evapore y el polímero salga en forma de hilo. Al trabajar con una distancia mucho mayor la fibra podría quebrarse debido a su propio peso (Gonzales Molfino H. et al., 2020).

2.4.2.3.- Parámetros ambientales

A baja humedad y temperatura, una pequeña cantidad de agua se difunde en el chorro de la solución y provoca una solidificación retardada. En consecuencia, la inestabilidad capilar supera la tensión viscoelástica, lo que da lugar al desarrollo de morfologías de cordón o de cordón sobre cordón. Por el contrario, a mayor humedad y temperatura, el vapor de agua se condensa fácilmente en gotas y se adhiere adecuadamente a las superficies de las fibras, lo que favorece la formación de una cantidad de poros. Por lo tanto, un nivel de humedad relativamente mayor provocará un aumento del tamaño de los poros hasta que éstos acaben perdiendo su porosidad uniforme (Wang C. et al., 2019).

En general, cuanto mayor sea la temperatura, menor será la viscosidad y la tensión superficial, y mayor será la solubilidad. El aumento de la temperatura conduce a la disminución del diámetro de las nanofibras y a una superficie más lisa (Guo Y. et al., 2022).

La influencia de la humedad ambiental en el electrohilado es compleja, cuando la humedad es baja, la velocidad de evaporación del disolvente es más rápida, lo que hará que el diámetro de las nanofibras sea mayor. Sin embargo, debido a la diferente hidrofilia de los disolventes, algunos disolventes orgánicos absorberán la humedad del aire, lo que hace que el disolvente sea más difícil de evaporar, y la fuerza electrostática disminuye, teniendo como

resultado nanofibras más finas. Por lo tanto, esto debería depender del tipo y la solubilidad de los disolventes (Yang G. et al., 2017).

A continuación, se muestran los parámetros controlables durante el proceso de electrohilado y cómo afectan a la morfología de las nanofibras (Tabla 5.)

Tabla 5. Parámetros controlables y su efecto en la morfología de las nanofibras.

Parámetros controlables	Efectos en la morfología de las fibras
Voltaje	<ul style="list-style-type: none"> • El diámetro de las fibras se reduce con el incremento del voltaje debido al estiramiento de la solución polimérica (Gonzales Molfino H. et al., 2020). • Un mayor voltaje incrementara la tasa de evaporación, haciendo que el solvente se evapore más rápido (Utkarsh et al., 2020). • Voltajes bajos dan lugar a una reducción del tiempo de vuelo del chorro de polímero, lo que aumenta la posibilidad de obtener fibras más lisas (Utkarsh et al., 2020).
Concentración	<ul style="list-style-type: none"> • El valor del diámetro de la fibra aumenta con una mayor concentración de solución polimérica (Guo Y. et al., 2022). • Con concentraciones bajas, empiezan a aparecer defectos en forma de perla en las esteras fibrosas • La posibilidad de electrospray también aumenta en concentraciones más bajas (Zhenyu Li et al., 2013).

<p>Distancia del colector</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Aumentar la distancia aumentará el tiempo de vuelo, haciendo que las fibras se estiren y se alarguen más (Guo Y. et al., 2022). • Empiezan a formarse perlas con distancias mayores entre el colector y la aguja. • Con distancias menores se forman cordones, ya que el chorro no tiene tiempo suficiente para solidificar. • La distancia óptima es necesaria para obtener fibras lisas (Utkarsh et al., 2020).
<p>Velocidad rotacional</p>	<ul style="list-style-type: none"> • El promedio de los diámetros de las fibras es mayor con un colector estacionario que con un colector rotador (Utkarsh et al., 2020). • El diámetro de las fibras disminuye con el incremento de las revoluciones por minuto (rpm) del colector rotativo, pero el decremento no es significativo comparado con otros parámetros (Utkarsh et al., 2020).
<p>Flujo</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Al tener un flujo lento el diámetro de las fibras disminuye porque proporciona más tiempo para el estiramiento (Zhenyu Li et al., 2013). • Los valores más altos de flujo producen fibras más gruesas con perlas, ya que el tiempo de secado de las fibras se reduce (Utkarsh et al., 2020).

III.-OBJETIVOS E HIPÓTESIS

Las enfermedades de la piel suelen ser de larga duración, lo cual requiere de un tratamiento que debe ser constante y que ayude a proporcionar una remisión, en alguno de los casos este tratamiento suele ser mediante el empleo de apósitos cutáneos. Es por esto por lo que

el propósito de esta investigación es fabricar apósitos cutáneos mediante la técnica de electrohilado a base de dos polímeros PCL/PVP (matriz polimérica); de tal forma que el PCL al ser un material semicristalino, este le confiera propiedades mecánicas y de degradación al apósito, mientras que el PVP aumenta la humedad provocando que no se adhiera a la herida (Kostakova, E. K. et al., 1017); Esto en combinación con un agente antibacteriano (ChAgG) para reducir la probabilidad de infecciones, mejorar la cicatrización de heridas y evitar su adherencia en la piel manteniendo un entorno húmedo.

Por lo que el quitosano (Ch) le brindara propiedades de biocompatibilidad, antibacterianas y antiinflamatorias, además de que está cargado positivamente y promueve la adhesión celular, y también se le atribuye la influencia en las diversas etapas de la reparación de heridas. (Behera, S. S. et al. 2017).

Por otro lado, Es bien sabido que el amplio espectro de la actividad antibacteriana de las AgNP depende de su tamaño, forma y propiedades superficiales, sin embargo, la incorporación de las AgNP a la matriz polimérica puede mantener su estabilidad y promover el rendimiento antibacteriano. Mientras que el Grafeno nos confiere propiedades mecánicas y además de su excelente conductividad eléctrica, su elasticidad y su capacidad para adsorber moléculas, células y tejidos, es apto para que varios tipos de células, en este caso para su evaluación se utilizaron fibroblastos y se espera que crezcan y proliferen.

En conclusión, al utilizar este agente antibacteriano (ChAgG) cada elemento que lo compone tiene un propósito, por lo que se espera que al final de esta investigación obtengamos nanofibras para su posible aplicación como apósitos cutáneos con propiedades biocompatibles, transpirables e hidratantes, debe absorber el exudado, debe tener características antiinflamatorias, antibacterianas y antioxidantes, y debe promover la proliferación celular y el cierre de la herida. Para ello se realizaron pruebas de citotoxicidad (MTT) y antimicrobianas. Además, se espera poder caracterizarlas y demostrar que si se encuentran presentes los compuestos antes mencionados en la matriz polimérica, ya que son los que confieren algunas de las propiedades que buscamos.

IV.- MATERIALES Y METODOLOGÍA

4.1- Materiales

Poli (ϵ -caprolactona (PCL) promedio peso molecular 80,000 g/mol, (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, United States), poli (vinil pirrolidona) (PVP) (promedio peso molecular 40,000 g/mol, Sigma-Aldrich) y un compuesto antimicrobiano ChAgG. Como solventes se utilizaron Tetrahidrofurano (THF) con un peso molecular de 84.93 g/mol (Tecsiquim) y Diclorometano (DCM) con un peso molecular de 72.11 g/mol (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, United States).

Sobre el compuesto antimicrobiano Ch (Solución de quitosano), Ag (Nanocristales de plata) G (Grafeno oxidado), los reactivos y la preparación son:

4.2.- Metodología

4.2.1- Preparación de soluciones

Se prepararon tres soluciones de PCL/PVP con distintos porcentajes de compuesto antibacteriano ChAgG al 1, 5 y 10%. La cantidad necesaria de cada polímero para preparar cada mezcla de PCL/PVP es 85:15 p/p utilizando Tetrahidrofurano (THF) y Diclorometano (DCM) como solventes. Se coloca la mezcla en la plancha calentadora con una agitación constante a 200 rpm y una temperatura de 50 °C durante 24 h hasta obtener una mezcla homogénea.

4.2.2.- Oxidación del Grafeno

Esta sección fue desarrollada en el Instituto Tecnológico Superior de Acatlán de Osorio (ITSAO). Los polvos de grafeno (Gr), fueron adquiridos en la empresa LP Bond Investigación y Desarrollo del Tercer Milenio S.A. de C.V. Estos polvos (Gr) fueron mezclados en un procesador de alimentos a 600 Watts por 30 s, donde fueron dispersados a una concentración de 2.41% m/v en peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al 30% v/v por un periodo de 30 s. Posteriormente, esta mezcla fue colocada en un baño sónico a una frecuencia de 1Hz por 25 min, hasta que la mezcla fue homogénea. A continuación, la mezcla se colocó en un horno de microondas convencional durante 30 segundos, tras lo cual se retiró el recipiente y se colocó de nuevo en un baño sónico a 1Hz durante 60 segundos, donde se repitió este procedimiento durante 10 repeticiones.

Completando este ciclo de reacciones por microondas y baños sónicos, se observa un aumento de la temperatura del grafeno disperso en el peróxido de hidrógeno, hasta el punto de hervir. Posteriormente, se deja reposar de 3 a 4 horas para bajar la temperatura. Para neutralizar el peróxido de hidrógeno, se añadió isopropanol en proporción 1:1 v/v con el H₂O₂ para neutralizarlo. Por último, se preparó un sistema de filtrado con Kitasato, embudo Büchner y membrana de nitrocelulosa de 0,20 µm de diámetro para llevar los residuos sólidos detenidos en la membrana a una temperatura de 100°C y obtener grafeno seco. Se almacenó y etiquetó en un vial de color ámbar.

4.2.3.- Preparación de Quitosano

Esta sección fue desarrollada en el Instituto Tecnológico Superior de Acatlán de Osorio (ITSAO). Se prepara una solución de quitosano (Ch), de Merck, al 2% m/v, en una solución de ácido acético al 1% v/v. Para obtener una solución homogénea, la solución se hizo en un procesador de alimentos a 600 watts durante 30 s y luego se dejó reposar a temperatura ambiente, todo esto, hasta que no haya más burbujas en la superficie.

4.2.4.- Electrohilado

Una vez preparada la solución con una concentración final de polímeros del 13% p/v, después se procedió a transferir 5 mL de la solución a una jeringa de plástico de 5 mL con una aguja de punta roma de 12 mm. La jeringa se colocó y aseguró en una bomba de inyección con un flujo programado de 0.5 mL/h y el proceso se llevó a cabo aplicando un voltaje de 20 kV, con 20 cm de distancia entre la punta de la aguja y el colector, todo esto se mantuvo a temperatura ambiente con un porcentaje de humedad relativo del 16-24% (Figura 10).

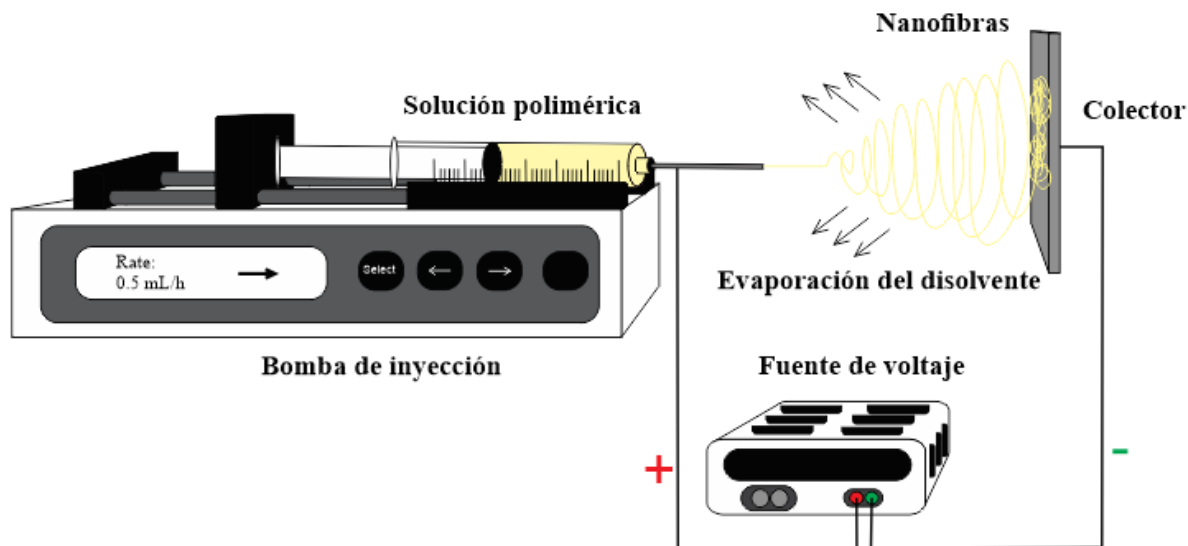


Figura 10. Diagrama de electrohilado

4.2.5.- Prueba Antibacteriana

Se recortaron muestras de fibras de 0.6 cm de diámetro con ayuda de una perforadora, se esterilizaron ambas caras con radiación de luz ultravioleta durante 15 min y se colocaron en el fondo de cada pocillo de una microplaca de 96 pocillos. Las cepas bacterianas *Staphylococcus aureus* (ATCC 23235) y *Escherichia coli* (ATCC 25922) se cultivaron en un medio Muller-Hinton previamente esterilizado a 35 °C durante 24 h. Una vez que el cultivo celular estuvo listo se añadieron 200 µl de cada inóculo con medio limpio (*E. coli*, y *S. aureus*) a cada pocillo que contenía fibras. Como control negativo, se colocaron fibras de PCL/PVP 85:15 sin compuesto antibacteriano; como control positivo, se utilizó fenol y penicilina 10 mg/mL de cada uno. Todas las células bacterianas expuestas a las fibras se incubaron a 35 °C durante 24, 48 y 72 h. Las fibras se desecharon y la solución se midió en un lector de microplacas (Thermo Scientific) a 620 nm y posteriormente se procesaron los resultados obteniendo el porcentaje de proliferación con la fórmula 3.

$$\% \text{ Proliferación} = \frac{\text{Absorbancia muestras}}{\text{Absorbancia control}} \times 100 \quad (3)$$

4.2.6.- Prueba de Citotoxicidad (MTT)

Se evaluó la citotoxicidad utilizando la técnica de MTT agregando fibroblastos L-929 a los andamios fibrosos por 24 h. Las muestras se esterilizaron mediante la exposición a la luz ultravioleta (UV) bajo una campana de flujo laminar durante 15 min por cada lado, y se colocaron en DMEM durante un día. Para el cultivo se utilizó la línea celular de fibroblastos ATCC CCL-1, clon NCTC 929 [célula L, L-929, derivada de la cepa L] de tejido de musculus. Las células se cultivaron en DMEM, suplementado con 10% de suero fetal bovino (FBS) y 100 U/mL de penicilina-estreptomicina, a 37°C en 5% de CO₂, hasta que alcanzaron la confluencia deseada (80%). Los andamios se colocaron e inmovilizaron en microplacas de cultivo de tejidos por el método de contacto directo según la directriz ISO-10993-5. Para ello, se expusieron 10.000 células por pocillo de los fibroblastos L-929 durante 24 horas a los andamios PCL/PVP-ChAgG en las mismas condiciones de incubación celular. Se utilizó fenol diluido 10 mg/mL como control positivo y el control negativo fue la suspensión celular sin ningún tratamiento. Una vez transcurrido el tiempo, se añadieron 10 µl de soluciones de MTT a los 100 µl de medio en cada pocillo. La placa se mezcló golpeando suavemente en el lateral de la bandeja. Luego, se incubó a 37°C durante 4 horas. Posteriormente, se añadieron 200 µL de DMSO directamente en el medio de cada pocillo y se pipeteó arriba y abajo varias veces para disolver la sal de formazán. Finalmente, se midió la señal de absorbancia en un espectrofotómetro a 570/630 nm (Figura 11.). Los experimentos se realizaron por triplicado y posteriormente se calculó la absorbancia media y la desviación estándar.

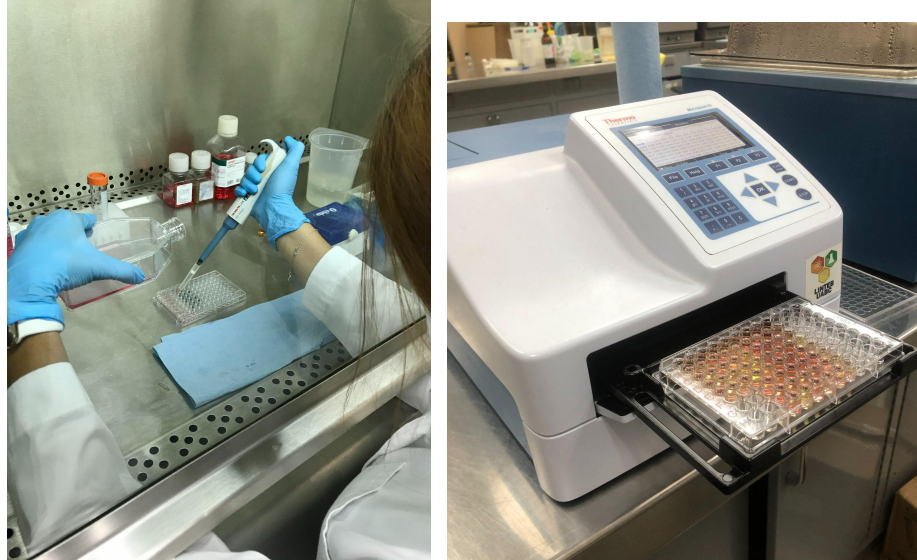


Figura 11. Prueba de citotoxicidad y medición de absorbancia en espectrofotómetro.

4.3.- Caracterización de fibras

4.3.1.- Análisis Termogravimétrico (TGA) y Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

Para el análisis termogravimétrico, se colocaron muestras de 5 mg en bandejas de platino, que se calentaron desde la temperatura ambiente (unos 25 °C) hasta los 600 °C con una rampa de calentamiento de 10 °C/min bajo una atmósfera de nitrógeno. En el caso de la calorimetría diferencial de barrido, las muestras se colocaron en bandejas de platino que posteriormente fueron prensadas y selladas (Figura 12.). Las muestras se procesaron con las mismas características del análisis termogravimétrico. Los termogramas se analizaron con el software de análisis universal TA. Las muestras se evaluaron en un rango de temperatura que va desde la temperatura ambiente hasta los 500 °C a una velocidad de calentamiento de 10 °C / min en el aire. Para realizar este análisis de cada una de las muestras, sólo se tomaron 2 mL de cada muestra en líquido, no se realizó la evaporación porque era posible obtener resultados en el estado líquido. Las muestras líquidas se almacenaron en un refrigerador antes de ser analizadas.



Figura 12. Equipo para análisis DSC y colocación de muestra.

4.3.2.- Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

La morfología y el diámetro de las fibras poliméricas se analizaron con un microscopio de emisión de campo JEOL JSM 7600F (JEOL Ltd., Tokio, Japón). Para obtener las imágenes se utilizó un voltaje de 20 kV y un recubrimiento de oro. El diámetro y la porosidad de las nanofibras seleccionadas se midieron con el software Image J, con 30 mediciones de al menos dos imágenes diferentes de cada muestra (4 KX y 6KX). La espectroscopia de energía dispersiva de rayos X (EDX) con un voltaje de aceleración de 200 kV se midió a partir de las imágenes de SEM de 500x de magnificación, metalización de Pd de 4,0 nm y energía del haz de 10 keV.

4.3.3.- Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

Para observar si se producían cambios químicos tras el procesamiento del material mediante electrohilado y la presencia del compuesto antibacteriano, se evaluaron las fibras mediante el espectro infrarrojo. Se tomaron muestras de cada andamio con dimensiones de 0,5 x 0,5 cm y se colocaron en la lente del módulo ATR. Las muestras se analizaron en un espectro de 4000 - 400 cm^{-1} números de onda. Los espectros se analizaron con el software Omnic.

4.3.4.- Tomografía de Rayos X

Se utilizó un método basado en la tomografía de rayos X para construir la estructura digital de las fibras electrospun de PCL/PVP-ChAgG. Los procesos de reconstrucción incluyen la adquisición de cortes y el procesamiento de imágenes. Además, la dirección del flujo de aire se alineó con el eje z, mientras que la superficie de la membrana se definió paralela al plano x-y. La adquisición de cortes se realizó utilizando un instrumento de tomografía (RX Solution Easy Tom XL) equipado con fuentes de rayos X de 160 kV y 230 kV. En este estudio se utilizó el tubo de 40 kV para el golpeo de los electrones para producir el haz cónico de rayos X, y la corriente del tubo fue de 160 μ A. Las imágenes digitales de rayos X en bruto fueron capturadas por un detector CCD de alta resolución y alta velocidad. La distancia entre la fuente de rayos X y el espécimen era de 7.109 mm, y la distancia entre la fuente de rayos X y el detector era de 610.65 mm. La frecuencia de imagen del detector era de 1 fps. Después de ser filtrado por una ventana Tukey, se obtuvieron 1352 cortes tomados en el plano vertical (x-z) con 1845 vóxeles, y el tamaño efectivo de los vóxeles fue de 1.48 μ m. A continuación, los cortes se importaron al módulo ImportGeo-Vol del paquete de software GeoDict para su procesamiento en 3D.

4.3.5.- Pruebas Mecánicas

Las fibras se cortaron con tijeras en muestras rectangulares de 3 cm de largo \times 1 cm de ancho, se utilizó un Vernier para medir el espesor en distintos puntos de las muestras poliméricas fabricadas en el electrohilado. Los datos sobre las propiedades mecánicas de las fibras se adquirieron con el software EDMS-FG V4.6.2 (NidecShimpo) sometiendo las muestras a cargas de tracción hasta la rotura utilizando un dinamómetro FG-3005 con una capacidad de carga de 50 N y una resolución de 0,005 N montado en la columna del banco de pruebas CHATILLON MT 500 H. Todas las muestras se colocaron entre dos mordazas a una distancia de 1 cm. El ensayo de tracción se realizó a una velocidad de 8 mm/min a temperatura ambiente (21°C) según la norma ASTM D1708. A partir de los ensayos de tracción y según la norma ASTM D638 se calcularon: el módulo elástico, la resistencia a la tracción y el alargamiento a la rotura. Los experimentos se realizaron utilizando tres réplicas (Figura 13.).

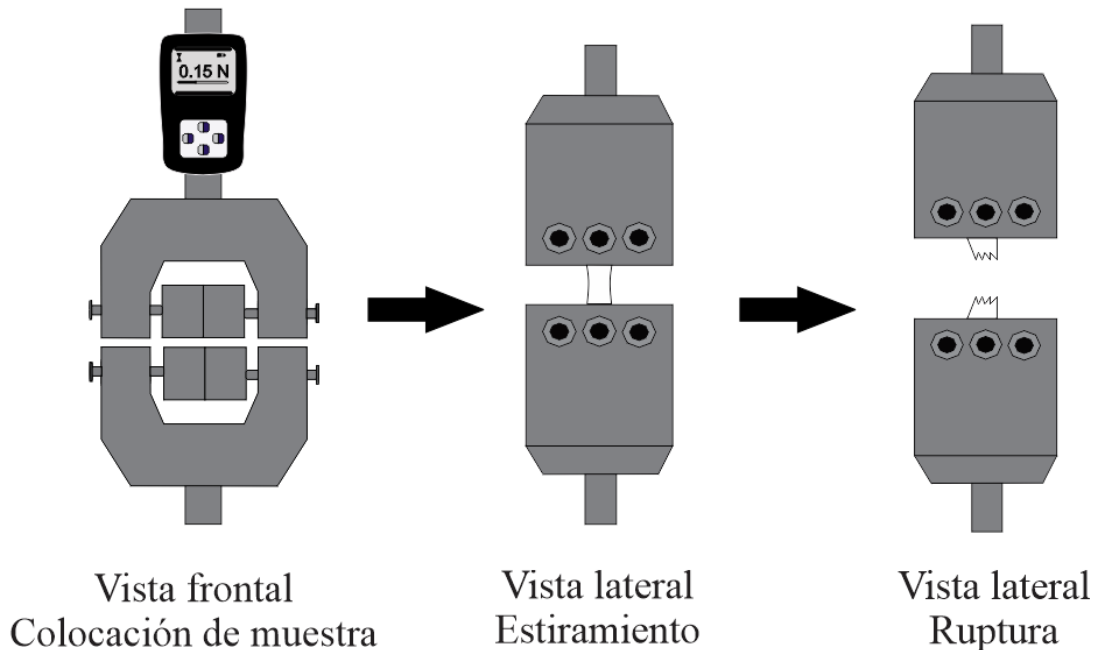


Figura 13. Prueba mecánica de las fibras electrospun según la norma ASTM D638.

V.- RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1.- Pruebas Antibacterianas

Se seleccionaron las bacterias Gram-negativa *Escherichia coli* y Gram-positiva *Staphylococcus aureus* para evaluar la actividad antibacteriana de las fibras PCL/PVP-ChAgG. Los resultados mostraron que la mayoría de las fibras fabricadas provocaron una disminución en la población bacteriana con respecto al control (crecimiento normal) al colocarlas en presencia de las fibras cargadas con el compuesto antibacteriano (ChAgG) (PCL/PVP-ChAgG), sin embargo, al realizar un análisis de variancia (ANOVA $P > 0.05$), se comprobó que no hubo un crecimiento significativo de la población bacteriana entre las muestras funcionalizadas y sin funcionalizar. En el caso de las muestras expuestas a *Staphylococcus aureus* se observó una mayor disminución en las 48 h de exposición, sobre todo en las fibras funcionalizadas con 1 y 5 % del compuesto ChAgG (PCL/PVP-ChAgG 1% y PCL/PVP-ChAgG 5 %), respectivamente, mientras que en las membranas PCL/PVP-ChAgG 10 % se observó que hubo un aumento de la replicación celular bacteriana considerable a las 24 h que superó al control en un 20%. Sin

embargo, después de la exposición por 48 y 72 h la actividad antibacteriana de las fibras PCL/PVP-ChAgG 10 % provocó una disminución del 10 y 20 %, respectivamente. Finalmente, las fibras sin funcionalizar de PCL/PVP no provocaron alguna alteración importante en el crecimiento celular bacteriano en las primeras 48 h, sin embargo, después de las 72 h se apreció una disminución del 34 %. Estos resultados nos permiten concluir que en general la funcionalización de las fibras PCL/PVP-ChAgG no son tan efectivas para *Staphylococcus aureus* (Figura 14).

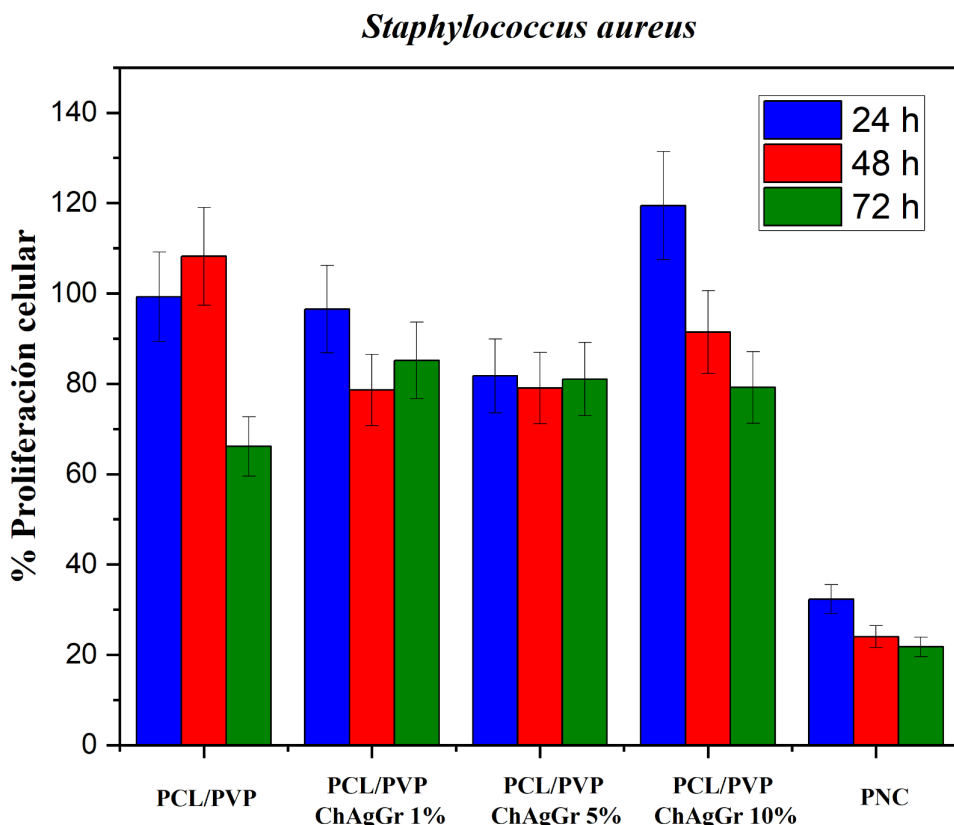


Figura 14. Proliferación celular *Staphylococcus aureus*.

Por otro lado, las muestras PCL/PVP y PCL/PVP-ChAgG evaluadas con la bacteria *Escherichia coli* mostraron un efecto antibacteriano más notable que en el estudio con *Staphylococcus aureus*, donde las fibras PCL/PVP presentaron un aumento de la población

bacteriana de un 30% a las 48 h, pero se observó una disminución del 20% a las 24 h y casi un 40% a las 72 h de incubación; en cuanto a las fibras funcionalizadas (ChAgG) (PCL/PVP-ChAgG) se observó un aumento de la replicación celular bacteriana del 3 % a las 24 h, sin embargo, también se observó una disminución gradual de la población bacteriana celular del 34 % y 47 % a las 48 h y 72 h respectivamente en las membranas de PCL/PVP-ChAgG 1%; lo mismo sucedió en las membranas de PCL/PVP-ChAgG 10 % con una disminución del 36 % a las 48 h y del 49 % a las 72 h, mientras que en las fibras de PCL/PVP-ChAgG 5 % se observó una disminución del 45 % a las 48 h, sin embargo no hubo una diferencia significativa (ANOVA $P > 0.05$) en la disminución bacteriana a las 72 h en comparación a las 48 h.

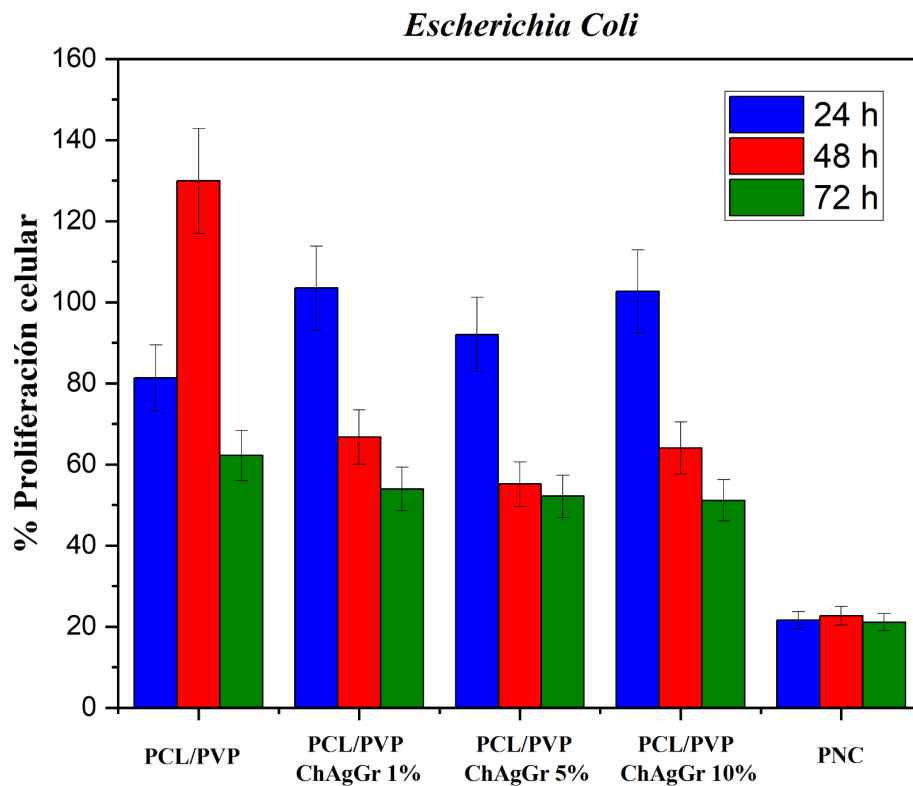


Figura 15. Proliferación celular *Escherichia coli*.

Las cepas bacterianas seleccionadas en este estudio pueden causar daños graves en la piel, por ejemplo la bacteria *Staphylococcus aureus* está asociada con infecciones en la piel y

tejidos blandos en la atención ambulatoria, Pérez et al. (2021) Mientras que la bacteria *Escherichia coli* es aislada de heridas quirúrgicas y traumáticas, úlceras del pie y decúbito Álvarez-Suárez et al. (2020). Así mismo cada una de ellas son modelos bacterianos ampliamente estudiados por lo que pueden utilizarse con fines comparativos y así mismo como representativos en su pared celular siendo *E. coli* Gram negativa y *S. aureus* Gram positiva.

Los resultados mostraron que las fibras PCL/PVP y PCL/PVP-ChAgG tienen un mejor comportamiento ante la bacteria *Escherichia coli*, en cambio, ante la bacteria *Staphylococcus aureus* las membranas no son tan efectivas, un factor a considerar es que el fenotipo de resistencia a múltiples fármacos de la bacteria *Staphylococcus aureus* la convierte en una de las bacterias patógenas más difíciles de tratar según Hiramatsu K. et al. (2014), por lo que una de las razones a las que podemos adjudicar estos resultados puede ser al bajo porcentaje del compuesto antibacteriano utilizado. Sin embargo, las membranas funcionalizadas con Ch muestran mayor eficacia para *S. aureus* que para *E. coli* debido a la diferencia en sus paredes celulares en un estudio publicado por Dutta et al., (2015), sin embargo, la carga negativa de los ácidos teicoicos en la membrana celular de las bacterias Gram-positivas puede favorecer la interacción con el quitosano catiónico, mientras que la capa de lipopolisacáridos de las bacterias Gram-negativas limita la penetración según Kulawik et al. (2019), también se ha demostrado que la actividad antibacteriana del quitosano incorporada, ya sea con iones de plata (Ag) o nanopartículas es mayor que la actividad de cada componente de manera individual confirmado por Archana, D. y Alven, S. et al. (2021) (2015).

A pesar que los polímeros PCL y PVP no poseen propiedades antibacterianas, se ha encontrado evidencia de que el PCL y el PVP no son ignorados por las células bacterianas y se altera el crecimiento, por lo que después de cierto tiempo las bacterias recuperan su viabilidad aseguró Álvarez-Suárez et al. (2020). En los resultados de las membranas obtenidas de la mezcla de ellos (PCL/PVP) mostraron una ligera actividad antibacteriana ante *E. coli* y *S. aureus* (Figura 14 y 15).

También se ha demostrado que se puede mejorar el potencial de las superficies bacterianas basadas en G mediante el uso de nanopartículas de plata, zinc y hierro. Nuestras membranas PCL/PVP-ChAgG como ya se dijo mostraron mayor eficacia ante *E. coli*, resultados similares fueron reportados por Liu et al. (2016), en donde evaluaron las propiedades

antibacterianas de G complementado con Ch, confirmando que el efecto de inhibición era más fuerte y es dependiente a la concentración de dichos componentes y en donde también se explicó que el mecanismo de acción del grafeno era el daño de la membrana causado por los bordes extremadamente afilados de las nanoparedes (Figura 16).

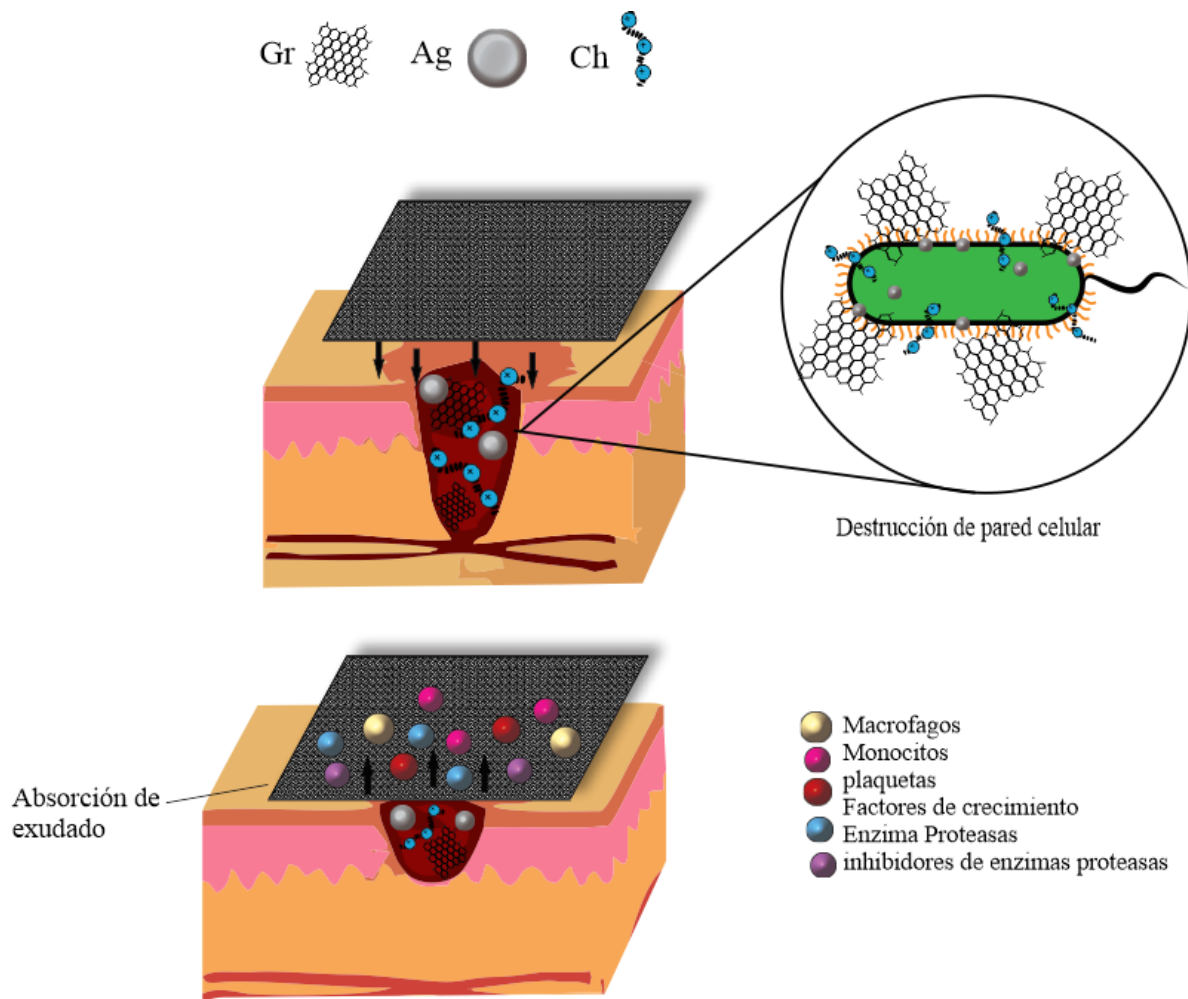


Figura 16. Mecanismo de acción del compuesto ChAgG

5.2.- Prueba de Citotoxicidad (MTT)

Para la prueba de citotoxicidad se realizó un ensayo colorimétrico para evaluar la actividad metabólica celular, conocida como la técnica MTT, en este caso se realizó con

fibroblastos L-929 de ratón en donde después de 24 h de incubación se observó que no hubo una diferencia significativa entre la proliferación celular si se compara con las fibras control (PCL/PVP) (Figura 17 y 18).

La proliferación de los cultivos L- 929 demostró que las fibras sin funcionalizar PCL/PVP promovían la proliferación en un $109 \pm 11\%$, por otro lado, las fibras cargadas con el compuesto antibacteriano (ChAgG) PCL/PVP-ChAgG 1 % mostraron una proliferación de $96 \pm 3 \%$, mientras que en las membranas PCL/PVP-ChAgG 5 % observamos una proliferación de $108 \pm 11\%$ la cual es muy similar al resultado de las fibras sin funcionalizar (PCL/PVP) y por último tenemos las fibras PCL/PVP-ChAgG 10 % con una proliferación de $90 \pm 9 \%$. Estos resultados nos permiten concluir que el complejo PCL/PVP y la estructura fibrosa no causa alteración en el crecimiento normal de los fibroblastos L-929, así mismo, la adición del compuesto ChAgG no provocaron ninguna alteración significativa, ya que al adicionar 1 y 10 % solo se puede visualizar una toxicidad ligera y al 5% un aumento en el crecimiento celular. Sin embargo, todas estas alteraciones positivas o negativas no representan un cambio importante en el comportamiento celular (Figura 17).

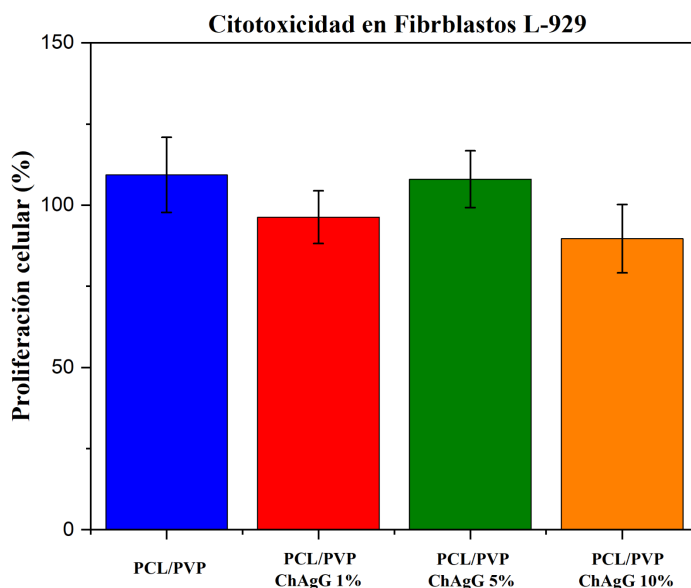


Figura 17. Porcentaje de proliferación celular en fibroblastos L929

Al realizar un análisis de variancia (ANOVA) ($P > 0.3$) comparando las muestras sin exponer con las expuestas durante 24 h se observó que no hubo una diferencia significativa en el crecimiento normal de los fibroblastos L929; por otro lado, en el análisis realizado comparando las muestras (PCL/PVP Y PCL/PVP-ChAgG) entre sí, tampoco mostraron diferencia significativa para decidir cuál de las muestras es mejor, sin embargo, al demostrar que no hubo una alteración significativa en el crecimiento normal de los fibroblastos L929 después de 24 h, por lo que podemos decir que las membranas (PCL/PVP y PCL/PVP-ChAgG) no son tóxicas para el cuerpo humano lo cual las hace adecuadas para aplicaciones biomédicas. Cabe recalcar que un apósito ideal debe ser no tóxico para los tejidos celulares Wang x. et al. (2015).

Por otro lado, en la investigación de Podgórski et al. (2022) para que un material sea clasificado como potencialmente tóxico durante el contacto directo con las células, la viabilidad celular debe estar por debajo del 70 % (<70%), en esa misma investigación se evaluaron distintos materiales y se llegó a la conclusión que se mostraron propiedades citotóxicas a partir de las muestras que contenían PCL lo cual contradice nuestros resultados, sin embargo, los resultados mostrados por Podgórski pueden ser erróneos, ya que llegó a la conclusión de que sus pruebas pueden ser demasiado insensibles para un número tan pequeño de células en materiales nanofibrosos, y quizás algunos de los colorantes son absorbidos en la superficie del material haciendo que muestre cierta citotoxicidad. En otro estudio realizado por Ji et al. (2021) mostraron resultados exitosos en la viabilidad celular y la ausencia de citotoxicidad en los andamios después de añadir polímeros hidrofílicos al PCL, en este caso nosotros le incorporamos PVP (PCL/PVP). Así mismo, también se asegura que según la norma DIN EN ISO (10993-5) la viabilidad celular in vitro debe estar por encima del 80% para que las nanofibras puedan considerarse como biocompatibles, lo cual nos dice que de acuerdo a nuestros resultados todas nuestras fibras (PCL/PVP Y PCL/PVP-ChAgG) son biocompatibles con el organismo humano y a su vez concuerda con el análisis de varianza (ANOVA) realizado, en el cual, como se dijo anteriormente, no hubo diferencia significativa en el crecimiento normal de los fibroblastos L-929. Cabe mencionar que la concentración de Ag-NPs fue un factor importante que afectó a la toxicidad celular, ya que las Ag-NPs muestran una citotoxicidad dependiente de la concentración, sin embargo, una cantidad elevada puede reducir la eficacia. Hu et al. (2018)

fabricó membranas fibrosas PCL/PVP incorporadas con nanopartículas de ZnO y Ag demostrando que su incorporación de estos dos materiales en forma de nanofibras no sólo ha mejorado claramente la eficacia antibacteriana, sino que también ha reducido la citotoxicidad de ambos materiales y las membranas PCL/PVP/Ag mostraron una viabilidad mayor al 80%, se llegó a la conclusión de que dichos resultados incorporando ZnO y Ag son adecuados para su implementación como apósitos cutáneos, dichos resultados son similares a los nuestros. Además, Eghbalifam et al. (2020) realizó nanofibras PCL/PVA basadas en nanopartículas de plata, concluyó que la introducción de nanopartículas no influía en la biocompatibilidad celular superficial de las fibras electrospun, y que las esteras cargadas de Ag eran materiales no tóxicos que podrían utilizarse para la curación de heridas.

Jung et al. (2015), tras haber realizado el ensayo MTT con fibras PCL/Ch-NPs, reveló que las nanopartículas de quitosano no tenían un efecto significativo sobre la capacidad de adhesión. Sin embargo, Fahimirad S. et al (2021) realizó un estudio con membranas fibrosas PCL/Ch en donde la viabilidad de las células sembradas no fue significativa con respecto a las células cultivadas en el pozo de control después de 1, 3 y 5 días. Esto podría atribuirse a la presencia del polímero Quitosano en la estructura de la nanofibra, que favorece la proliferación y la fijación de las células. Debido a que el Ch está cargado positivamente (catiónica) promueve la adhesión celular además de que también se le atribuye la influencia en las diversas etapas de la reparación de heridas. Por lo que, al incluir el compuesto Ch a nuestras fibras, estas podrán mejorar la regeneración del tejido celular.

Respecto al compuesto Grafeno, Yang et al. (2020) realizó una investigación de andamios nanofibrosos de Quitosano/PLLA recubiertos de Óxido de Grafeno (GO) y los resultados demostraron que tanto los andamios de Ch/PLLA como los recubiertos de GO no tenían citotoxicidad, y que los andamios de Ch/PLLA recubiertos de GO podían incluso promover la proliferación celular; en donde los recubrimientos de las nanohojas de GO mejoraron la rugosidad de la superficie, la hidrofilia e introdujeron grupos funcionales bioactivos (hidroxilo, carboxilo y epoxi) y se ha informado de que la superficie más rugosa mejoró el número de adhesiones focales y la proliferación celular, lo cual es bueno ya que las adhesiones focales tienen una importancia fundamental en la fisiología humana porque regulan la adhesión celular,

la detección mecánica y el control de señales del crecimiento y la diferenciación celular; Esto es debido a los abundantes grupos de óxido en su superficie.

En conclusión, nuestras membranas fibrosas demostraron que son biocompatibles y mejoran la proliferación celular ya que no hay una diferencia significativa en el crecimiento normal de los fibroblastos, esto debido a compuesto antibacteriano (ChAgG).

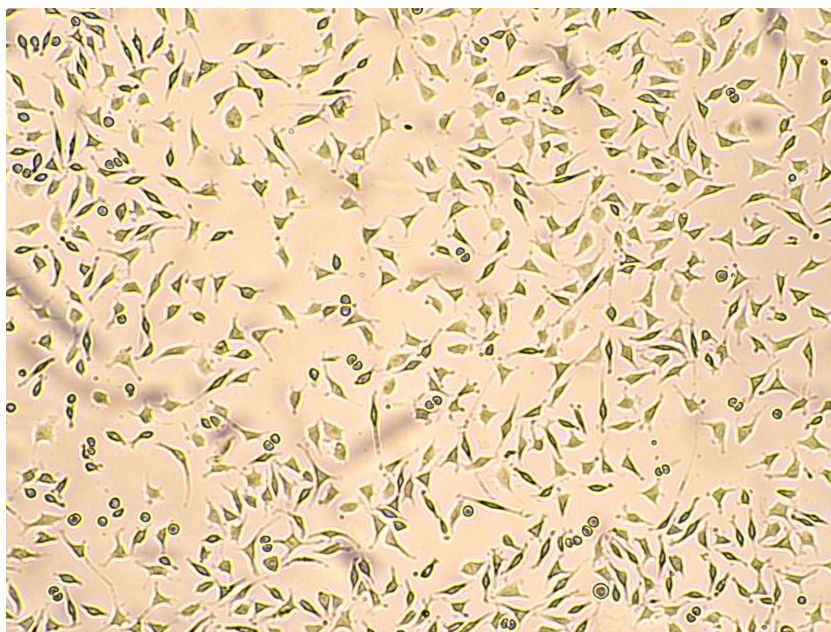


Figura 18. Fibroblastos L929 de ratón.

5.3.- Caracterización de fibras

5.3.1.- Análisis Termogravimétrico (TGA) y Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

Una característica importante de un sistema de vendaje para heridas es la estabilidad térmica de las fibras poliméricas, ya que las lesiones por quemaduras pueden alcanzar temperaturas de hasta 41 °C (França, D. C. et al., 2016). Según la literatura, la temperatura de transición vítrea de la PCL es de unos -60 °C, mientras que el punto de fusión es de 60 °C (França, D. C. et al., 2016), lo que coincide con nuestros resultados. En el caso del PVP, su punto de fusión es de alrededor de 150-180 °C (Amelia, R. P. D. et al., 2016). Los termogramas de la Figura 19. muestran que el PCL/PVP con proporciones de 85:15 tiene un punto de fusión de ~45,89 °C, estando de acuerdo con la literatura mencionada. La disminución progresiva del

punto de fusión confirma la presencia de PVP en la mezcla polimérica a medida que aumenta el contenido de PVP. Los puntos de fusión de los polímeros estudiados en este trabajo son similares a los encontrados en la literatura (França, D. C & Amelia, R. P. D. et al., 2016), identificados como adecuados para su aplicación. Estos termogramas muestran que la incorporación del ChAgG no produce una modificación significativa del punto de fusión, proporcionando un amplio margen de temperatura (más de 10 °C) por encima de la temperatura de quemado (41 °C). Con respecto a la temperatura de degradación y a la temperatura inicial de degradación donde se observó un 5% de pérdida de masa, también se puede observar un ligero descenso en todas las muestras cargadas con ChAgG en comparación con las fibras de control. Posteriormente, en la temperatura crítica de degradación donde se produjo el 50% de pérdida de masa, se observó una variación más dispersa de la temperatura a 410 °C aproximadamente. Curiosamente, al comparar la temperatura total de degradación entre las fibras PCL/PVP sin carga y las fibras PCL/PVP-ChAgG, se aprecia una gran diferencia, donde cuanto mayor es la proporción de ChAgG, mayores son los componentes residuales que no se descomponen a 780 °C aprox., en contraste con el control PCL/PVP que se degradó totalmente a 556 °C. Estas últimas observaciones demostraron la presencia de la mezcla de ChAgG en las fibras de PCL/PVP (Tabla 6).

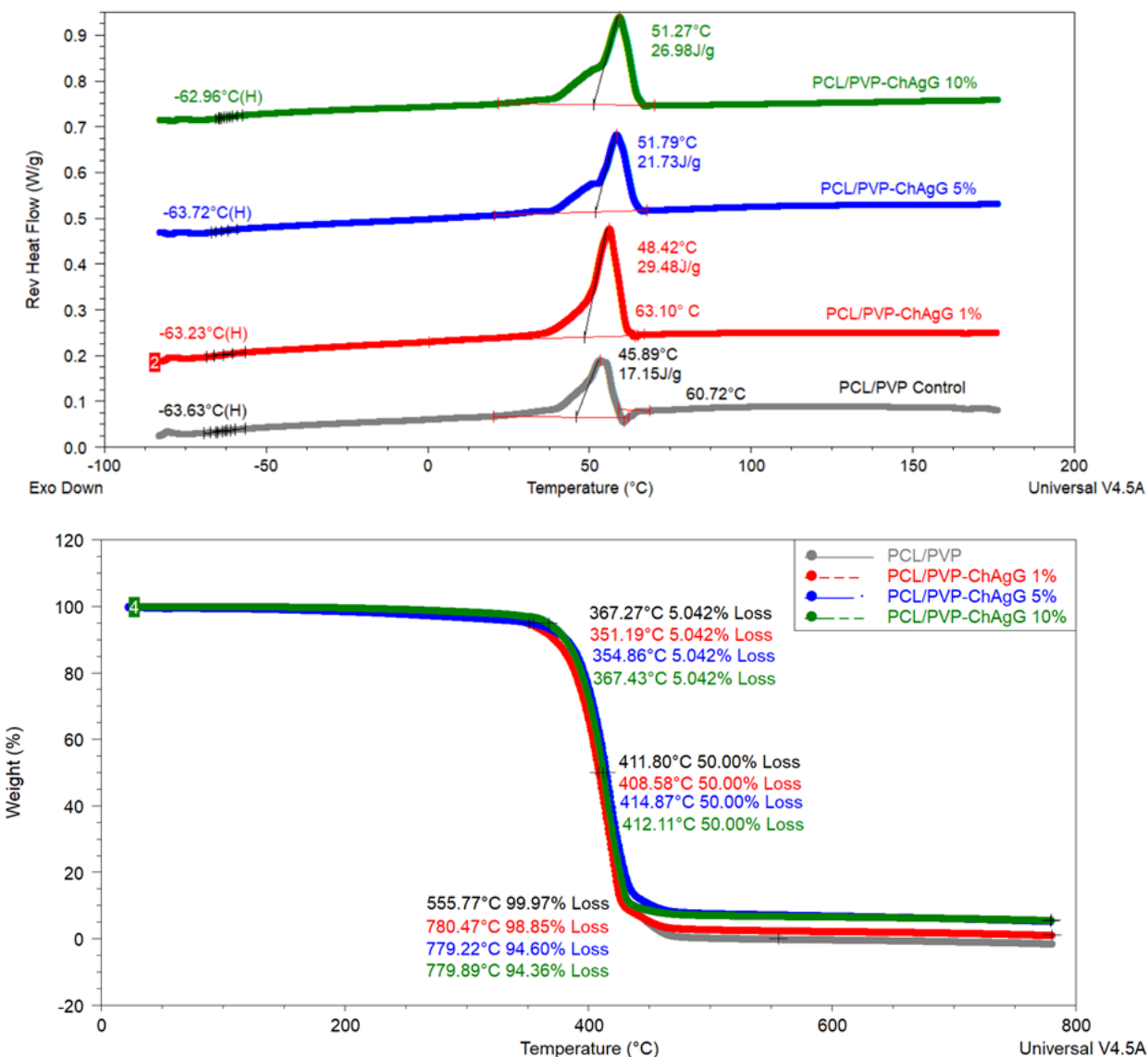


Figura 19. Análisis DSC y TGA de las fibras electrospun de PCL/PVP y PCL/PVP-ChAgG. La figura de arriba corresponde al gráfico DSC, la de abajo corresponde al gráfico TGA.

Tabla 6. Temperaturas importantes en el análisis TGA-DSC de las fibras electrospun de PCL/PVP y PCL/PVP-ChAgG

Muestras	Temperatura transición vítrea (°C)	Temperatur a de fusión (°C)	Degradación inicial (°C)	Degradación crítica (°C)	Degradación total (°C)
PCL/PVP control	- 63.63	45.89	367.27	411.80	555.77
PCL/PVP ChAgG 1 %	-63.23	48.42	351.19	408.58	780.47
PCL/PVP ChAgG 5 %	-63.72	51.79	354.86	414.87	779.22
PCL/PVP ChAgG 10 %	-62.96	51.27	367.43	412.11	779.89

5.3.2.- Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

Todas las muestras de PCL/PVP-ChAgG fueron electrospun con éxito con las condiciones utilizadas, todas las muestras desarrollaron estructuras fibrosas sin presencia de artefactos y bulbos. Debido a la aplicación propuesta, se pretendía que las fibras fueran gruesas para mejorar sus propiedades mecánicas y su manejabilidad. La fibra de control de PCL/PVP

tiene un diámetro medio de fibra de $2,9 \pm 1,7 \mu\text{m}$, y se observó que con la adición del ChAgG a las muestras, todas las fibras se adelgazaron. En el caso del PCL/PVP-ChAgG 1 % el diámetro medio de la fibra fue de $1,5 \pm 0,5 \mu\text{m}$, para el PCL/PVP-ChAgG 5 % de $2,0 \pm 0,7 \mu\text{m}$, y para el PCL/PVP-ChAgG 10 % de $0,6 \pm 0,3 \mu\text{m}$, respectivamente (Figura 20.). Siendo las fibras de control de PCL/PVP las más gruesas y las de PCL/PVP-ChAgG 10 % las de diámetros más reducidos. Con la excepción de las fibras de PCL/PVP-ChAgG 10 %, toda la distribución de las muestras fue más abundante a $1,5 \mu\text{m}$. Además, se utilizó el filtro EDX para encontrar Ag en las muestras fibrosas y evidenciar la presencia de las formulaciones de ChAgG. Afortunadamente, en todas las muestras cargadas se encontró una señal de Ag, y no se encontró presencia en las fibras de control de PCL/PVP (Tabla 7).

Tabla 7. Medición de los diámetros de las fibras con el programa ImageJ y análisis EDX. \bar{X} : Media. SD: Desviación estándar.

Muestras	$\bar{X} \pm \text{SD} (\mu\text{m})$	Ag (wt %)	C (wt %)	O (wt %)
PCL/PVP _{control}	2.9 ± 1.7	0	74.93	25.07
PCL/PVP-ChAgG 1 %	1.5 ± 0.5	0.01	76.12	23.87
PCL/PVP-ChAgG 5 %	2.0 ± 0.7	0.06	65.39	34.56
PCL/PVP-ChAgG 10 %	0.6 ± 0.3	0.24	78.95	20.81

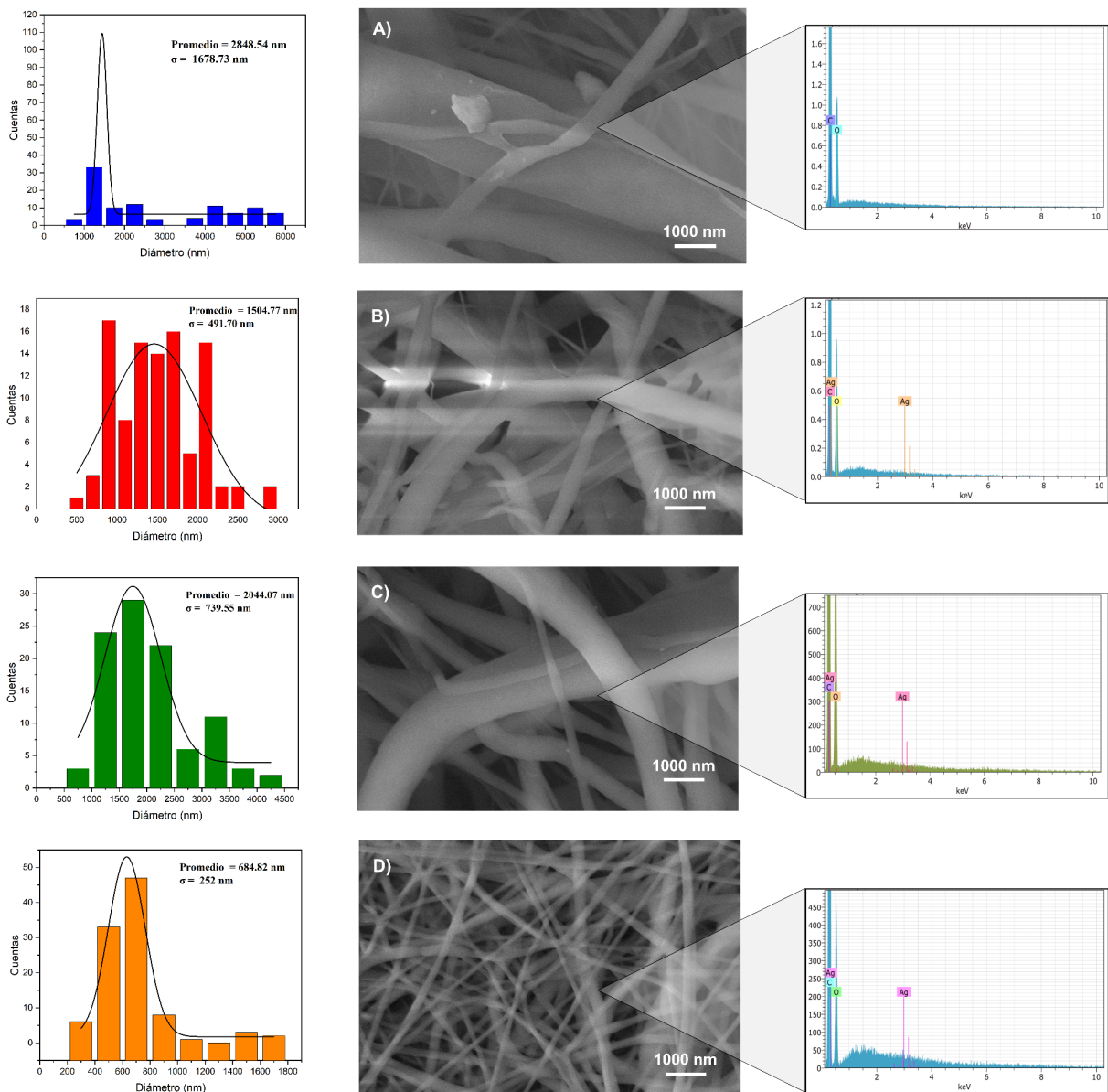


Figura 20. Análisis EDX PCL/PVP y PCL/PVP-ChAgG fibers. A) PCL/PVP Control. B) PCL/PVP-ChAgG 5%. C) PCL/PVP-ChAgG 10%.

Jaganathan, M. P. Mani et al., 2019, informaron de nanofibras electrospun de compuesto de poli-uretano/nitrato de cobalto con un diámetro de fibra de $0,6 \pm 0,2 \mu\text{m}$ y fibras prístinas de poli (uretano) de $1,10 \pm 0,2 \mu\text{m}$. Se observó que las esteras fibrosas del compuesto de PU/nitrato de cobalto mostraban fibras reducidas en comparación con las fibras de PU. La reducción del diámetro de las fibras del compuesto de PU/nitrato de cobalto electrohilado se debió a la

disminución de la concentración de polímero al añadir nitrato de cobalto en la matriz de poliuretano. La reducción del diámetro de las fibras en comparación con el PU prístino podría favorecer la adhesión y proliferación de fibroblastos para el crecimiento de nuevos tejidos cutáneos. Se observaron resultados similares en nuestras fibras.

Williams, C., 2021, preparó fibras electrospun de poli (etilenglicol) (PEO) utilizando el electrohilado coaxial para proponerlas como apósitos para heridas. Estas fibras se cargaron con nitrato de cerio (III) y se alinearon aleatoriamente con fibras de $1,2 \pm 0,2 \mu\text{m}$ y $1,1 \pm 0,3 \mu\text{m}$ de diámetro. Los estudios de liberación demostraron que los apósitos a base de PEO entregan completamente su contenido después de la primera hora sin efectos de citotoxicidad, los autores discutieron que estas fibras con estos diámetros son eficaces para esta aplicación específica. Los diámetros de las fibras obtenidos en ese estudio son similares a los nuestros, y están destinados a la misma aplicación.

Por último, Zhao, Y-T., 2020, informó del diseño y la configuración de un dispositivo de electrohilado de fusión portátil autoalimentado para la fabricación de apósitos para heridas in situ de poli (ácido láctico) (PLA), poli (ácido láctico-co-glicólico) (PLGA 75:25) y policaprolactona (PCL) en modelos animales, donde los diámetros finales de las fibras son de alrededor de $27,5 \mu\text{m}$, $21,2 \mu\text{m}$ y $35,8 \mu\text{m}$, respectivamente. Los autores concluyeron que estos apósitos para heridas son sistemas eficaces. Como puede observarse, estos últimos diámetros son significativamente más gruesos que nuestros sistemas fibrosos, lo que confirma su uso potencial en esta aplicación.

5.3.3.- Espectroscopia de Infrarrojos por Transformada de Fourier

Después de analizar las muestras se pudieron identificar las frecuencias de $1107-1108 \text{ cm}^{-1}$ debido a la vibración de estiramiento del grupo éster e) C-O-C y alrededor de 1722 cm^{-1} se produce un pico agudo que corresponde a la vibración de estiramiento del b) C=O del PCL, sin embargo el grupo e) C-O-C también pertenece al solvente Diclorometano (DCM); y para el PVP se observa la banda de frecuencia de $1164-1239 \text{ cm}^{-1}$ del grupo amina c) C-N; en general esto nos indica la presencia de los polímeros PCL/PVP. Por otro lado, también podemos observar los picos de $1661-1677 \text{ cm}^{-1}$ son correspondientes a la vibración de estiramiento del grupo amida d)

C=O que nos indica la presencia de compuesto Quitosano (Ch), aunque según estudios mostrados en la literatura, los picos característicos del Quitosano están aproximados a 3400 cm^{-1} (amina primaria alifática) y 2800 cm^{-1} Kosowska et al. (2020). En la solución de PCL/PVP ChAgG 10% no se logra observar la presencia de este pico. Para la presencia del compuesto de plata (Ag) sucedió algo similar, en la literatura se hizo Espectrometría a nanopartículas de Ag y se encontraron picos de 1647 cm^{-1} que indica la presencia del grupo amida en las nanopartículas formadas (Mohammadzadeh Kakhki, R et al., 2019) que corresponden con nuestro pico de 1667 cm^{-1} y que el control no presenta al igual que la muestra de 10% d) C=O. Las bandas en $2866\text{-}2950\text{ cm}^{-1}$ producidas por la vibración de estiramiento del grupo de a) C-H, nos indica la presencia del Tetrahidrofurano, uno de los solventes utilizados (Figura 21.).

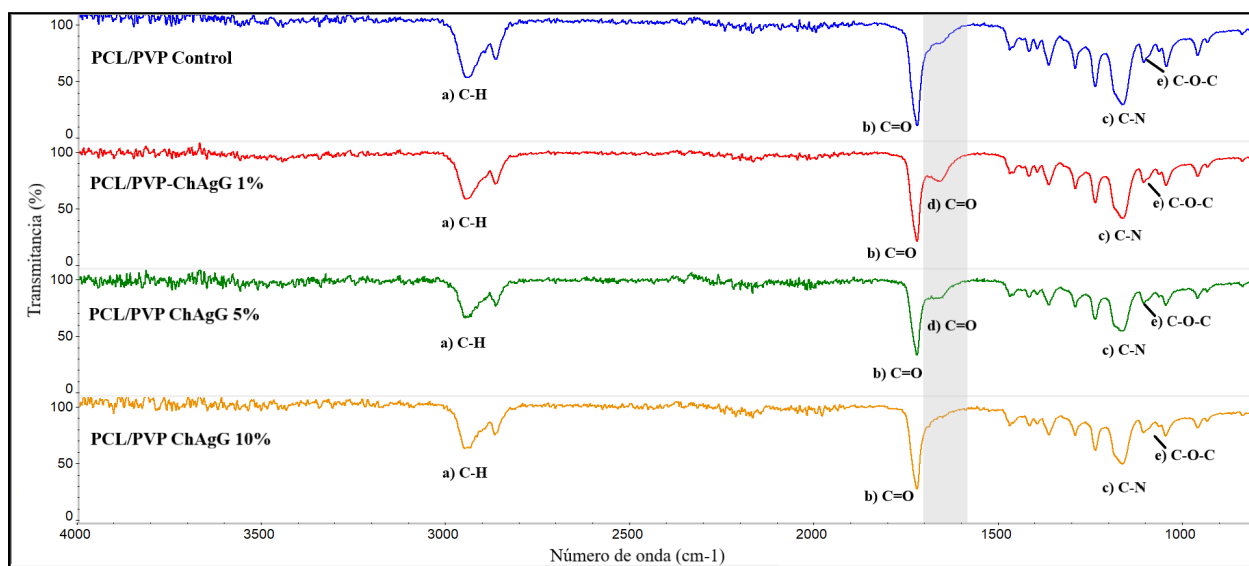


Figura 21. Análisis FTIR para nanofibras electrohiladas de PCL/PVP y PCL/PVP-ChAgG

Todas las muestras se analizaron mediante Espectroscopia Infrarroja de Transformada de Fourier (FTIR) para obtener pruebas de la incorporación del ChAgG en las fibras de PCL/PVP, por lo tanto, se registraron picos característicos del PCL de 1722 cm^{-1} en todas las membranas que corresponden a la vibración de estiramiento del b) C=O y de 1107 cm^{-1} de las vibraciones del grupo éster e) C-O-C que coinciden con la literatura; con respecto al PVP también se encontraron señales que los caracterizan en $1164\text{-}1239\text{ cm}^{-1}$ debido al estiramiento del grupo amida C) C-N y el espectro de 1780 cm^{-1} del estiramiento de la amina primaria N-H, resultados

similares se mostraron por Cao et al., (2022) lo cual nos indica que la hilatura de las membranas PCL/PVP se realizó con éxito. Por otro lado, también se encontraron picos de 960 cm^{-1} que está asociado a la vibración del anillo del compuesto PVP y todas las muestras lo presentan Versei et al., (2021) lo cual también nos indica que la hilatura PCL/PVP se hizo de la manera correcta en todas las muestras.

Con respecto a las vibraciones del Quitosano, como ya se mencionó anteriormente, estudios mostrados en la literatura indicaron que los picos característicos del Quitosano están aproximados a 3400 cm^{-1} (amina primaria alifática) y 2800 cm^{-1} , sin embargo, observamos picos de $1661\text{-}1677\text{ cm}^{-1}$ que se adjudican a la vibración de estiramiento del grupo N-acetilo del enlace d) C=O que nos indica la presencia del compuesto Ch, Lillo y Kosowska et al. (2014) (2020).

Al agregar el ChAgG vemos un desplazamiento del grupo b) C=O de las bandas del PCL/PVP de 1722 cm^{-1} a 1661 cm^{-1} lo que nos indica que ahí fue donde se unió el PCL/PVP con el compuesto ChAgG. Vemos comportamientos similares con Li, R. et al., (2019), fabrico nanofibras PCL/PVP/AgNp en donde después de añadir el AgNO_3 a la solución, la banda de absorción de PVP en 1658 cm^{-1} se desplazó a 1663 cm^{-1} , lo que indica la presencia de interacción entre el Ag y el grupo C=O; dichas vibraciones se presentan en las nanofibras con el compuesto antibacteriano, sin embargo, en la muestra PCL/PVP-ChAgG 10% esta señal no es percibida, lo cual nos dice que algo sucedió, pero cabe aclarar que este ensayo no es determinante para afirmar la presencia del compuesto ChAgG.

En la Tabla 8. observamos los grupos funcionales analizados en la Figura 21.

Tabla 8. Grupos funcionales analizados del PCL/PVP y PCL/PVP-ChAgG

Grupos funcionales	PCL/PVP	PCL/PVP	PCL/PVP	PCL/PVP
		ChAgG 1 %	ChAgG 5 %	ChAgG 10 %
a) C-H	2945.60	2947.00	2947.99	2950.50
	2865.84	2867.81	2866.66	2868.78
b) C=O	1722.03	1722.66	1722.58	1722.74
d) C=O	Sin señal	1661.34	1677.14	Sin señal
c) C-N	1238.58	1238.42	1238.99	1238.25
	1164.28	1164.27	1164.50	1164.65
e) C-O-C	1107.16	1107.36	1108.34	1107.13

5.3.4.- Tomografía de Rayos X

La tomografía de rayos X es un ensayo no destructivo (NDT), una técnica muy atractiva para el análisis de piezas de alta densidad debido a su posibilidad de distinguir entre diferentes materiales y diferentes estructuras existentes en una pieza, como es el caso de las fibras electrohiladas. Existen diferentes factores que pueden influir en el rendimiento del proceso de CT, siendo uno de ellos la técnica de extracción de superficie utilizada, en esta investigación la técnica de extracción de superficie se basa en la definición de un valor de nivel de gris como referencia de similitud, de esta manera es posible identificar las fibras y el aire que las rodea, lo cual es importante analizar ya que a este tipo de membrana de fibras electrospun se le debe permitir la oxigenación para un mejor proceso de reepitelización. Figura 22. muestra una imagen

HD de la CT realizada sobre las fibras electrohiladas. En ella, el color blanco representa las fibras y el color rojo el aire entre ellas, siendo este último el 24% del volumen total de la pieza. Este porcentaje de aire en la pieza es el que permite la oxigenación de la lesión y por tanto la mejor reepitelización.

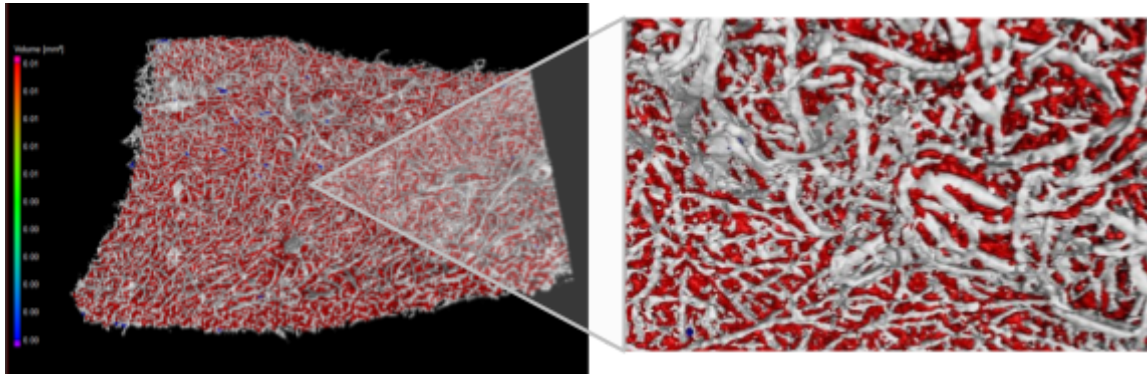


Figura 22. Las fibras electrohiladas en blanco y el aire rodeado en rojo.

La tomografía de rayos X también es muy útil para generar un volumen 3D de las fibras electrospun para analizar la interconexión de las fibras y los defectos en un modelo real de la membrana. En la Figura 23. se muestra un modelo 3D completo de la membrana. Las Figuras 23B, 23C y 23D muestran la interconexión de las fibras en detalle y también algunos poros entre ellas.

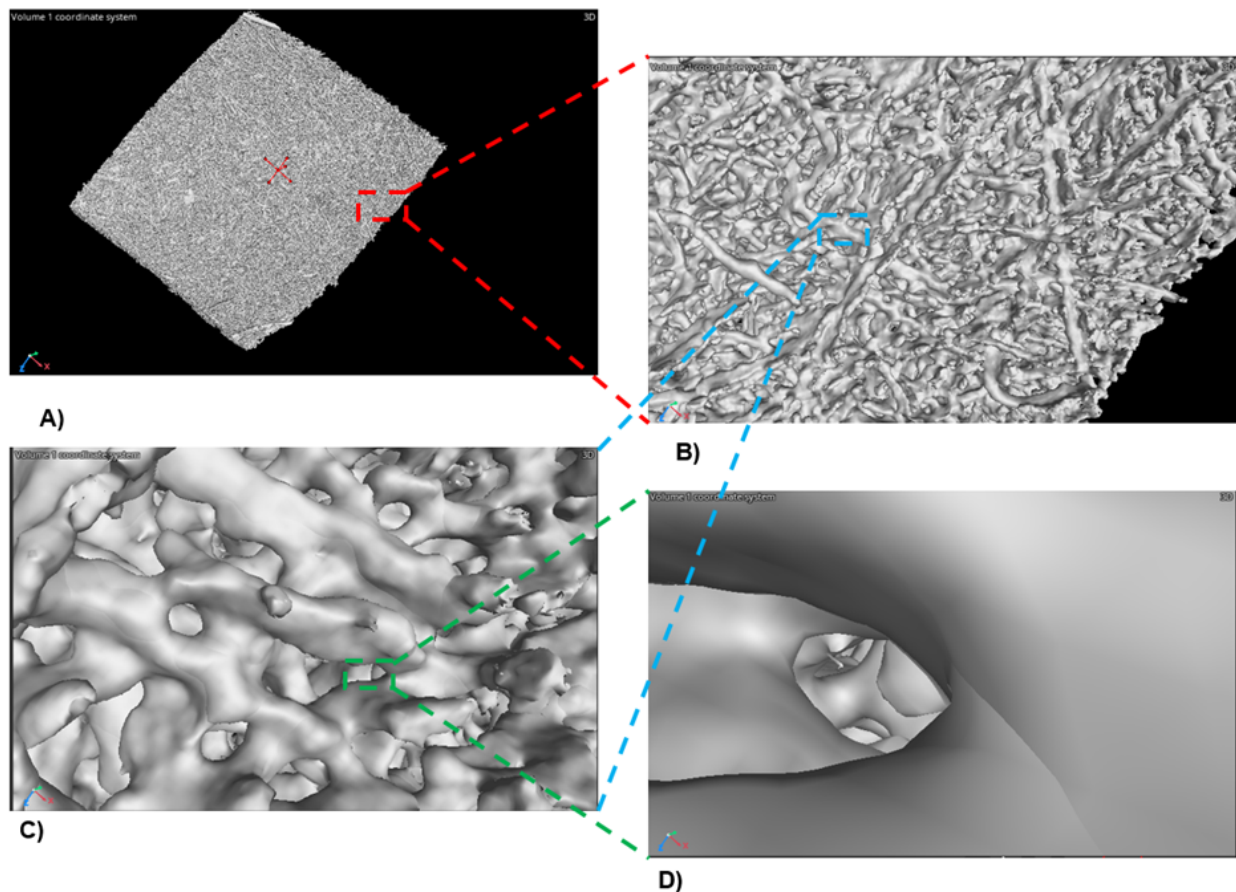


Figura 23. Volumen 3D de la tomografía de rayos X de las fibras PCL/PVP y PCL/PVP-ChAgG. Análisis de los poros interconectados.

5.3.5.- Pruebas Mecánicas

Se realizaron mediciones convencionales de macro-tensión utilizando una máquina para pruebas de tensión (FG-3000 Digital Force Gauge, NidecShimpo, Glendale Heights, IL, USA) Para evaluar las propiedades mecánicas de las membranas PCL/PVP y PCL/PVP-ChAgG de acuerdo a la norma ASTM D638; para ello se utilizaron tres réplicas de cada muestra, en donde a partir del gráfico esfuerzo-deformación se obtuvieron el módulo elástico, la resistencia a la tracción y el alargamiento a la rotura de las nanofibras, los resultados se muestran en la Figura 24. Todas las membranas fibrosas (PCL/PVP y PCL/PVP-ChAgG) mostraron diferentes espesores como se muestra en la Tabla 9., en donde observamos que el espesor va incrementando conforme se aumenta el porcentaje del compuesto antibacteriano ChAgG, sin embargo, al llegar a las membranas PCL/PVP-ChAgG 10% estas mostraron un decremento del 33% con respecto al

control (PCL/PVP). Por otro lado, debido al comportamiento observado en las nanofibras, se observa que hubo una mejora en sus propiedades al agregar el compuesto antibacteriano (ChAgG); respecto a la fuerza de tensión a la ruptura como se muestra en la Figura 24., todas las fibras funcionalizadas PCL/PVP-ChAgG resultaron ser más resistentes a la deformación plástica y a la carga última que las membranas PCL/PVP. Sin embargo, en los módulos elásticos se muestra una disminución en las membranas PCL/PVP-ChAgG 10 % y tras realizar un análisis de varianza (ANOVA). En conclusión las membranas fibrosas con mejores comportamientos mecánicos fueron las PCL/PVP-ChAgG 5% con valores del módulo elástico de $4,785 \pm 0,430$ MPa, resistencia a la tracción $1,706 \pm 0,146$ y alargamiento a la rotura $126,483 \pm 9,828\%$ en comparación con PCL /PVP que tiene valores de módulo elástico de $3,503 \pm 0,512$ MPa, resistencia a la tracción $0,735 \pm 0,062$ MPa y alargamiento a la rotura $49,745 \pm 18,471\%$. Esto nos expresa la capacidad de las membranas fibrosas de resistir cambios sin fracturarse hasta cierto punto Montero de Espinosa et al. (2017).

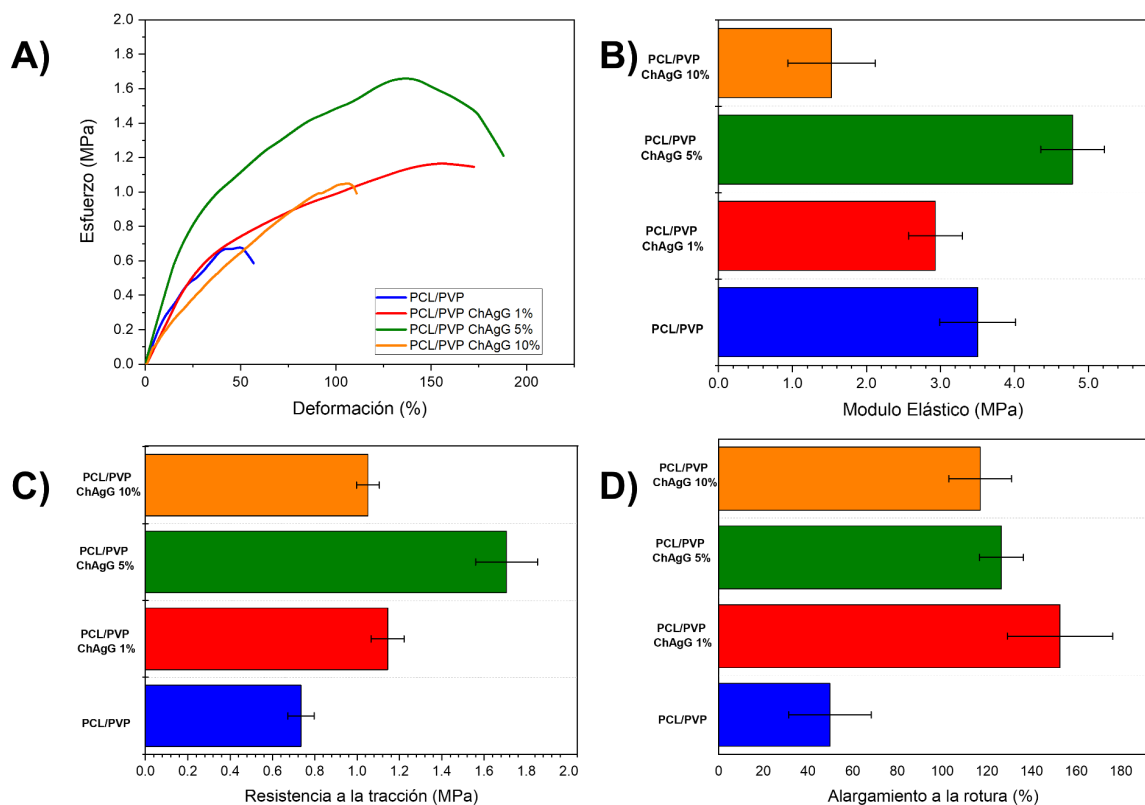


Figura 24. Propiedades mecánicas evaluadas. A) Esfuerzo, B) Módulo elástico, C) Resistencia a la tracción, D) Alargamiento a la rotura.

Tabla 9. Mediciones de propiedades mecánicas evaluadas.

Muestras	Espesor (mm)	Módulo elástico (MPa)	Resistencia a la tracción (MPa)	Alargamiento a la rotura (%)
PCL/PVP	0.06	3.503 ± 0.512	0.735 ± 0.062	49.745 ± 18.471
PCL/PVP ChAgG 1%	0.08	2.933 ± 0.364	1.144 ± 0.078	152.654 ± 23.590
PCL/PVP ChAgG 5%	0.14	4.785 ± 0.430	1.706 ± 0.146	126.483 ± 9.828

PCL/PVP ChAgG 10%	0.02	1.528 ± 0.591	1.051 ± 0.054	116.966 ± 14.046
----------------------	------	---------------	---------------	------------------

Un requisito para el uso de los andamios nanofibrosos en aplicaciones biomédicas es que tengan propiedades mecánicas idóneas ya que la integridad estructural y la resistencia mecánica de los andamios son muy importantes en la formación de tejidos nuevos, CroIsier et al., (2012). En este caso, nuestras membranas fibrosas contienen PCL debido a su excelente capacidad de hilar y a su resistencia mecánica, es por esto que se está aplicando ampliamente en los apósitos para heridas Hu et al., (2018); En este caso lo incorporamos con PVP (PCL/PVP), Shitole et al., (2020) realizó un estudio donde fabrico y comparó fibras PCL y PCL/PVP en donde las nanofibras de PCL/PVP mostraron una disminución de la resistencia a la tracción en comparación con las nanofibras de PCL, lo cual puede deberse a la escasa interacción física entre las cadenas poliméricas de PVP con la PCL.

Augustine R. et al., (2016) reportó nanofibras electrohiladas de PCL y PCL/Ag, fabricó tres muestras con distintas concentraciones de Ag (0.05, 0.25, 0.5 and 1 wt%) la muestra con 0.05 wt% Ag presentó un módulo de elasticidad de 3.38 ± 0.74 MPa una resistencia a la tracción de 1.72 ± 0.17 MPa y un alargamiento a la rotura de 328 ± 12 %, la 0.25 wt% Ag 4.28 ± 1.28 MPa, 2.78 ± 0.18 % y 427 ± 16 MPa respectivamente, pero al llegar a la muestra de mayor porcentaje estas propiedades ya mencionadas disminuyeron presentando módulo de elasticidad de 2.97 ± 0.59 MPa una resistencia a la tracción de 1.23 ± 0.08 MPa y un alargamiento a la rotura de 251 ± 11 %. Al comparar la membrana (PCL/Ag) con PCL, el comportamiento de estos resultados es similar al de nuestras fibras ya que en el aumento del módulo elástico continúa de forma lineal hasta la muestra b. de las membranas que contienen nanopartículas (NPs) de Ag, sin embargo, al aumentar el contenido de NPs de plata se provocó una disminución en la resistencia a la tracción y en el alargamiento de la rotura. Por lo que podemos concluir que en cierto punto si se continúan incorporando nanopartículas de plata, el módulo de elasticidad de la membrana PCL/PVP disminuirá en gran medida. Esto se debe al hecho de que las nanopartículas tienen una alta energía superficial y son fáciles de aglomerar, lo que conduce a la escasa dispersión de las mismas en la matriz polimérica.

Por otro lado, Faraji L. et al., (2020) fabricó y comparó membranas fibrosas de poli-caprolactona (PCL) y poli-caprolactona/óxido de grafeno (GO), en donde los andamios de PCL mostraron una resistencia a la tracción de 3.2 MPa, mientras que los que contenían GO mostraron una mayor, hasta 4 Mpa y un alargamiento a la rotura aproximado del 100% y 120% respectivamente lo que indica que la presencia de GO puede fortalecer la estructura de los andamios, posiblemente debido a la mejora de las interacciones entre los grupos funcionales de la superficie de GO y la matriz de PCL. Por lo tanto, el autor concluyó que las propiedades mecánicas únicas de las nanopartículas de GO mejoran el comportamiento de tensión-deformación de los andamios y son considerados como candidatos prometedores para la curación de heridas. Nuestras fibras muestran un comportamiento similar al ser funcionalizadas, por lo que podemos decir que son prometedoras para su aplicación en regeneración de tejido, sin embargo debemos buscar mejorar la resistencia a la tracción. Ya que Fahimirad S. et al., (2021) presentó nanofibras PCL incorporadas con Quitosano que presentaron una resistencia a la tracción con diferencias no significativa entre ambas muestras, de 7 Mpa y un alargamiento a la rotura del 35 % y concluyó que estos valores obtenidos de las nanofibras fabricadas demostraron unas propiedades mecánicas de tracción adecuadas para su aplicación como apósito para heridas.

Finalmente, Chatterjee et al., (2013) presentó un modelo basado en la percolación para la conductividad de los compuestos de nanofibras, en donde dice que las propiedades de los materiales como los módulos elásticos de los materiales compuestos a base de nanopartículas suelen presentar variaciones drásticas en funciones de la composición; por lo que los aumentos bruscos de los módulos o de la conductividad se han descrito a menudo en el marco de la teoría de la percolación; dicho término representa la fracción de volumen en la que las partículas forman por primera vez un grupo infinito y conectado, lo cual nos explica la mejora en los resultados que muestran las membranas PCL/PVP-ChAgG 5%, sin embargo, Musino et al., (2020) en un estudio realizado dice que la caracterización del estado de dispersión de las NPs en matrices poliméricas es particularmente difícil a altas concentraciones, además de que la polidispersidad de las NPs induce una disminución débil del umbral de percolación lo cual nos explica el comportamiento de las nanofibras PCL/PVP-ChAgG 10%. Lo cual es comprobado por Vengatesan et al., (2016) con su investigación donde explican que la incorporación de la fracción de volumen de las nanopartículas en la matriz polimérica tiene un cierto nivel de umbral, y por

encima de ese nivel, se crea una aglomeración en los nanocompuestos poliméricos, lo que provoca una reducción de las propiedades del polímero.

VI.- CONCLUSIONES

Se buscan apósitos bioactivos para el tratamiento de heridas superficiales de la piel o de quemaduras que generen mucho exudado. Uno de los problemas importantes en estos tratamientos es la contaminación microbiana y la adhesión del apósito a las zonas afectadas, lo que complica la curación y recuperación de la piel. Respecto a la evaluación biológica, el estudio realizado de citotoxicidad con fibroblastos L-929 (MTT) demostró la biocompatibilidad de los apósitos con más del 80 % de proliferación celular sin una diferencia significativa entre los distintos porcentajes de concentración, lo que significa que la estructura fibrosa no causa alteración en el crecimiento normal de los fibroblastos, qué es lo que se esperaba, además de que debido a la incorporación de ChAgG hizo que la rugosidad de la superficie de la membrana fibrosa incrementará el número de adhesiones focales y la proliferación celular. Mientras que el análisis antibacteriano resultó más eficiente para la bacteria *Escherichia coli* que para la *Staphylococcus aureus* lo cual se puede mejorar desde la concentración de las soluciones poliméricas, sin embargo, sí demostraron una disminución bacteriana lo cual los hace prospectos para su aplicación. Las técnicas de FTIR y TGA-DSC demostraron la funcionalización de las nanofibras electrohiladas con el compuesto ChAgG, mientras que el estudio SEM y la tomografía de rayos X demostraron la estructura tridimensional del apósito final con poros interconectados. Finalmente, las propiedades mecánicas del apósito de ChAgG resultaron ser las deseadas para la aplicación, mostrando que la incorporación de un 5% de ChAgG p/v respecto a la matriz polimérica posee mayores propiedades mecánicas de elasticidad, alargamiento a la rotura y resistencia a la tracción que las fibras sin carga, demostrando que la adición de ChAgG no sólo dará propiedades antimicrobianas, sino que también mejora las propiedades mecánicas en un 64 % de las fibras resultantes.

VII.- BIBLIOGRAFÍA

Al-Dhahebi, A. M., Gopinath, S. C. B., & Saheed, M. S. M. (2020). Graphene impregnated electrospun nanofiber sensing materials: a comprehensive overview on bridging laboratory set-up to industry. In *Nano Convergence* (Vol. 7, Issue 1). Korea Nano Technology Research Society. <https://doi.org/10.1186/s40580-020-00237-4>

Al-Gaashani, R., Najjar, A., Zakaria, Y., Mansour, S., & Atieh, M. A. (2019). XPS and structural studies of high quality graphene oxide and reduced graphene oxide prepared by different chemical oxidation methods. *Ceramics International*, 45(11), 14439–14448. <https://doi.org/10.1016/J.CERAMINT.2019.04.165>

Álvarez-Suárez A., Dastager S., Bogdanchikova N., Grande D., Pestryakov A., García-Ramos J., Pérez-González G., Juárez-Moreno K., Toledano-Magaña Y., Smolentseva E., Paz-González J., Popova T., Rachkovskaya L., Nimaev V., Kotlyarova A., Korolev M., Letyagin A., Villarreal-Gómez L.(2020). Electrospun fibers and sorbents as a possible basis for effective composite wound dressings. *Macromachines*, 11(4):441. <https://doi.org/10.3390/mi11040441>

Alven, S., Buyana, B., Feketshane, Z., & Aderibigbe, B. A. (2021). Electrospun nanofibers/nanofibrous scaffolds loaded with silver nanoparticles as effective antibacterial wound dressing materials. In *Pharmaceutics* (Vol. 13, Issue 7). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13070964>

Alven, S.; Khwaza, V.; Oyedeji, O.O.; Aderibigbe, B.A. (2021). Polymer-Based Scaffolds Loaded with Aloe vera Extract for the Treatment of Wounds. *Pharmaceutics*, 13, 961. <https://doi.org/10.3390/%20pharmaceutics13070961>

Amelia, R. P. D., Gentile, S., Nirode, W. F., & Huang, L. (2016). Quantitative Analysis of Copolymers and Blends of Polyvinyl Acetate (PVAc) Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and Elemental Analysis (EA). *World Journal of Chemical Education*, 4(2), 25–31. <https://doi.org/10.12691/WJCE-4-2-1>

Archana, D., Singh, B. K., Dutta, J., & Dutta, P. K. (2015). Chitosan-PVP-nano silver oxide wound dressing: In vitro and in vivo evaluation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 73(1), 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.10.055>

- Aria, M. M., Irajizad, A., Astaraei, F. R., Shariatpanahi, S. P., & Sarvari, R. (2016). Ethanol sensing properties of PVP electrospun membranes studied by quartz crystal microbalance. *Measurement: Journal of the International Measurement Confederation*, 78, 283–288. <https://doi.org/10.1016/J.MEASUREMENT.2015.10.018>
- Arroyo, G., Angulo, Y., Debut, A., & Cumbal, L. H. (2021). Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles Prepared with Carrasquilla Fruit Extract (*Berberis hallii*) and Evaluation of Its Photocatalytic Activity. *Catalysts* 2021, Vol. 11, Page 1195, 11(10), 1195. <https://doi.org/10.3390/CATAL11101195>
- Asanarong, O., Minh Quan, V., Boonrungsiman, S., & Sukyai, P. (2020). Bioactive wound dressing using bacterial cellulose loaded with papain composite: morphology, loading/release and antibacterial properties. *European Polymer Journal*, 110224. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2020.110224>
- Augustine, R., Kalarikkal, N., & Thomas, S. (2016). Electrospun PCL membranes incorporated with biosynthesized silver nanoparticles as antibacterial wound dressings. *Applied Nanoscience (Switzerland)*, 6(3), 337–344. <https://doi.org/10.1007/s13204-015-0439-1>
- Aydogdu, A., Sumnu, G., & Sahin, S. (2018). A novel electrospun hydroxypropyl methylcellulose/polyethylene oxide blend nanofibers: Morphology and physicochemical properties. *Carbohydrate Polymers*, 181, 234–246. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.10.071>
- Behera, S. S., Das, U., Kumar, A., Bissoyi, A., & Singh, A. K. (2017). Chitosan/TiO₂ composite membrane improves proliferation and survival of L929 fibroblast cells: Application in wound dressing and skin regeneration. *International Journal of Biological Macromolecules*, 98, 329–340. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2017.02.017>
- Behra, R., Sigg, L., Clift, M. J. D., Herzog, F., Minghetti, M., Johnston, B., Petri-Fink, A., & Rothen-Rutishauser, B. (2013). Bioavailability of silver nanoparticles and ions: From a chemical and biochemical perspective. In *Journal of the Royal Society Interface* (Vol. 10, Issue 87). Royal Society. <https://doi.org/10.1098/rsif.2013.0396>

- Bonilla, J., Atarés, L., Vargas, M., & Chiralt, A. (2013). Properties of wheat starch film-forming dispersions and films as affected by chitosan addition. *Journal of Food Engineering*, *114*(3), 303–312. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2012.08.005>
- Brumberg, V., Astrelina, T., Malivanova, T., & Samoilov, A. (2021). Modern wound dressings: Hydrogel dressings. In *Biomedicines* (Vol. 9, Issue 9). MDPI. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9091235>
- Bueno, J., Demirci, F., & Baser, K. H. C. (2017). Antimicrobial Strategies in Novel Drug Delivery Systems. In *The Microbiology of Skin, Soft Tissue, Bone and Joint Infections* (pp. 271–286). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-811079-9.00016-1>
- Bukhtiyarov, V. I., & Kaichev, V. v. (2000). The combined application of XPS and TPD to study of oxygen adsorption on graphite-supported silver clusters. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, *158*(1), 167–172. [https://doi.org/10.1016/S1381-1169\(00\)00062-5](https://doi.org/10.1016/S1381-1169(00)00062-5)
- Cao, Y., Shen, C., Yang, Z., Cai, Z., Deng, Z., & Wu, D. (2022). Polycaprolactone/polyvinyl pyrrolidone nanofibers developed by solution blow spinning for encapsulation of chlorogenic acid. *Food Quality and Safety*, *6*. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyac014>
- Cardeño Calle, L., Londoño, M.E. (2014). Síntesis verde de nanopartículas de plata mediante el uso del ajo (*Allium sativum*). *Revista Soluciones de Postgrado EIA*. 6.
- Chatterjee, A. P. (2013). A percolation-based model for the conductivity of nanofiber composites. *Journal of Chemical Physics*, *139*(22). <https://doi.org/10.1063/1.4840098>
- Choi, S., Kim, H. R., Jeong, Y. K., Bang, J. Y., Kim, H. S., Choi, S., Kim, H. R., Jeong, Y. K., Bang, J. Y., & Kim, H. S. (2018). Mechanism of Electrospinning for Poly(amic acid)/Polyacrylonitrile Fiber Fabrication. *JMSB*, *57*(3), 222–230. <https://doi.org/10.1080/00222348.2018.1441221>
- Courty, A. (2010). Silver nanocrystals: Self-organization and collective properties. *Journal of Physical Chemistry C*, *114*(9), 3719–3731. https://doi.org/10.1021/JP908966B/ASSET/IMAGES/MEDIUM/JP-2009-08966B_0006.GIF
- Crist, B.V. (2007). A Review of XPS DataBanks B. 1, 10–21
- Croisier, F., Duwez, A. S., Jérôme, C., Léonard, A. F., van der Werf, K. O., Dijkstra, P. J., & Bennink, M. L. (2012). Mechanical testing of electrospun PCL fibers. *Acta Biomaterialia*, *8*(1), 218–224. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.08.015>

- Dhivya, S., Padma, V. V., & Santhini, E. (2015). Wound dressings - a review. *BioMedicine*, 5(4), 22. <https://doi.org/10.7603/s40681-015-0022-9>
- Drosou, C., Krokida, M., & Biliaderis, C. G. (2018). Composite pullulan-whey protein nanofibers made by electrospinning: Impact of process parameters on fiber morphology and physical properties. *Food Hydrocolloids*, 77, 726–735. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2017.11.014>
- Duan, X., & Li, Y. (2013). Physicochemical Characteristics of Nanoparticles Affect Circulation, Biodistribution, Cellular Internalization, and Trafficking. *Small*, 9(9–10), 1521–1532. <https://doi.org/10.1002/SMLL.201201390>
- Duan, Y., Kalluri, L., & Satpathy, M. (2021). *DENTAL ORAL BIOLOGY AND Science Repository Effect of Electrospinning Parameters on the Fiber Diameter and Morphology of PLGA Nanofibers*. <https://doi.org/10.31487/j.DOBCCR.2021.02.04>
- Eghbalifam, N., Shojaosadati, S. A., Hashemi-Najafabadi, S., & Khorasani, A. C. (2020). Synthesis and characterization of antimicrobial wound dressing material based on silver nanoparticles loaded gum Arabic nanofibers. *International Journal of Biological Macromolecules*, 155, 119–130. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.194>
- Estévez Martínez, Y., Vázquez Mora, R., Chavira Martínez, E. (2020). Método para Sintetizar Nanocristales de Plata a Partir de Plantas Amarilidaceas (Amaryllidaceae).
- Evers, L. H., Bhavsar, D., & Mailänder, P. (2010). The biology of burn injury. In *Experimental Dermatology* (Vol. 19, Issue 9, pp. 777–783). <https://doi.org/10.1111/j.1600-0625.2010.01105.x>
- Fahimirad, S., Abtahi, H., Satei, P., Ghaznavi-Rad, E., Moslehi, M., & Ganji, A. (2021). Wound healing performance of PCL/chitosan based electrospun nanofiber electrospayed with curcumin loaded chitosan nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 259. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.117640>
- Faraji, S., Nowroozi, N., Nouralishahi, A., & Shabani Shayeh, J. (2020). Electrospun poly-caprolactone/graphene oxide/quercetin nanofibrous scaffold for wound dressing: Evaluation of biological and structural properties. *Life Sciences*, 257. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118062>
- França, D. C., Bezerra, E. B., de Souza Morais, D. D., Araújo, E. M., & Wellen, R. M. R. (2016). Hydrolytic and Thermal Degradation of PCL and PCL/Bentonite Compounds.

Materials Research, 19(3), 618–627. <https://doi.org/10.1590/1980-5373-MR-2015-0797>

França, D. C., Bezerra, E. B., Morais, D. D. S., Araújo, E. M., & Wellen, R. M. R. (2016). Effect of Hydrolytic Degradation on Mechanical Properties of PCL. *Materials Science Forum*, 869, 342–345. <https://doi.org/10.4028/WWW.SCIENTIFIC.NET/MSF.869.342>

Garcia-Orue, I., Gainza, G., Garcia-Garcia, P., Gutierrez, F. B., Aguirre, J. J., Hernandez, R. M., Delgado, A., & Igartua, M. (2019). Composite nanofibrous membranes of PLGA/Aloe vera containing lipid nanoparticles for wound dressing applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 556, 320–329. <https://doi.org/10.1016/J.IJPHARM.2018.12.010>

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>

Gufan, A., Gunjan V. B., Pooja M, Gayasuddin K., Vivek K. P., Bharati V. B., Brahmeshwar M. (2019). Biomimetic PCL-gelatin based nanofibers loaded with ciprofloxacin hydrochloride and quercetin: A potential antibacterial and anti-oxidant dressing material for accelerated healing of a full thickness wound. *International Journal of Pharmaceutics*, 567, 118480 <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.118480>

Gul, A., Gallus, I., Tegginamath, A., Maryska, J., & Yalcinkaya, F. (2021). Electrospun antibacterial nanomaterials for wound dressings applications. In *Membranes* (Vol. 11, Issue 12). MDPI. <https://doi.org/10.3390/membranes11120908>

Guo, J., Deka, B. J., Kim, K.-J., & An, A. K. (2019). Regeneration of superhydrophobic TiO₂ electrospun membranes in seawater desalination by water flushing in membrane distillation. *Desalination*, 468, 114054. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2019.06.020>

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. H. (2020). On the height of Taylor cone in electrospinning. *Results in Physics*, 17, 103096. <https://doi.org/10.1016/J.RINP.2020.103096>

Heidaria M., Bahramia S., Ranjbar-Mohammadib M., Milan P.B. (2019). Smart electrospun nanofibers containing PCL/gelatin/graphene oxide for application in nerve tissue

engineering. *Materials Science and Engineering C*. 103.
<https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.109768>

Hiramatsu K, Katayama Y, Matsuo M, Sasaki T, Morimoto Y, Sekiguchi A, Baba T. (2014). Multi-drug-resistant *Staphylococcus aureus* and future chemotherapy. *J Infect Chemother*. (10):593-601. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2014.08.001>

Hossain, M. F., Gong, R. H., & Rigout, M. (2015). Optimization of the process variables for electrospinning of poly(ethylene oxide)-loaded hydroxypropyl- β -cyclodextrin nanofibres. *Http://Dx.Doi.Org/10.1080/00405000.2014.999478*, 107(1), 1–11.
<https://doi.org/10.1080/00405000.2014.999478>

Hu, M., Li, C., Li, X., Zhou, M., Sun, J., Sheng, F., Shi, S., & Lu, L. (2018). Zinc oxide/silver bimetallic nanoencapsulated in PVP/PCL nanofibres for improved antibacterial activity. *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*, 46(6), 1248–1257.
<https://doi.org/10.1080/21691401.2017.1366339>

Hu, S., Cai, X., Qu, X., Yu, B., Yan, C., Yang, J., ... Shi, X. (2018). Preparation of biocompatible wound dressings with long-term antimicrobial activity through covalent bonding of antibiotic agents to natural polymers. *International Journal of Biological Macromolecules*. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.09.122>

Jaganathan, S. K., & Mani, M. P. (2019). Electrospinning synthesis and assessment of physicochemical properties and biocompatibility of cobalt nitrate fibers for wound healing applications. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*, 91(3).
<https://doi.org/10.1590/0001-3765201920180237>

Järvenpää, E.P., Zhang, Z., Huopalahti, R., King, J.W. (1998). Determination of fresh onion (*Allium cepa* L.) volatiles by solid phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry. *Zeitschrift für Lebensmittel -Untersuchung und -Forschung*. 207, 39–43.

Jeschke, M. G., van Baar, M. E., Choudhry, M. A., Chung, K. K., Gibran, N. S., & Logsetty, S. (2020). Burn injury. *Nature Reviews Disease Primers*, 6(1).
<https://doi.org/10.1038/s41572-020-0145-5>

Ji, X., Li, R., Liu, G., Jia, W., Sun, M., Liu, Y., Luo, Y., & Cheng, Z. (2021). Phase separation-based electrospun Janus nanofibers loaded with *Rana chensinensis* skin

peptides/silver nanoparticles for wound healing. *Materials and Design*, 207. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2021.109864>

Jiang, L., & Zhang, J. (2017). Biodegradable and Biobased Polymers. In *Applied Plastics Engineering Handbook: Processing, Materials, and Applications: Second Edition* (pp. 127–143). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-39040-8.00007-9>

Jiang, Y., Li, Y., Li, Y., & Li, S. (2016). A sensitive enzyme-free hydrogen peroxide sensor based on a chitosan–graphene quantum dot/silver nanocube nanocomposite modified electrode. *Analytical Methods*, 8(11), 2448–2455. <https://doi.org/10.1039/C5AY02976G>

Jiménez-Gómez, C. P., & Cecilia, J. A. (2020). Chitosan: A Natural Biopolymer with a Wide and Varied Range of Applications. In *Molecules* (Vol. 25, Issue 17). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules25173981>

Jo, D. H., Kim, J. H., Lee, T. G., & Kim, J. H. (2015). Size, surface charge, and shape determine therapeutic effects of nanoparticles on brain and retinal diseases. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 11(7), 1603–1611. <https://doi.org/10.1016/J.NANO.2015.04.015>

Joodaki, H., & Panzer, M. B. (2018). Skin mechanical properties and modeling: A review. In *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine* (Vol. 232, Issue 4, pp. 323–343). SAGE Publications Ltd. <https://doi.org/10.1177/0954411918759801>

Jung, S. M., Yoon, G. H., Lee, H. C., & Shin, H. S. (2015). Chitosan nanoparticle/PCL nanofiber composite for wound dressing and drug delivery. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 26(4), 252–263. <https://doi.org/10.1080/09205063.2014.996699>

Khan, A. ur R., Huang, K., Jinzhong, Z., Zhu, T., Morsi, Y., Aldalbahi, A., El-Newehy, M., Yan, X., & Mo, X. (2020). PLCL/Silk fibroin based antibacterial nano wound dressing encapsulating oregano essential oil: Fabrication, characterization and biological evaluation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 196. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.111352>

Kosowska, K., Domalik-Pyzik, P., Sekuła-Stryjewska, M., Noga, S., Jagiełło, J., Baran, M., Lipińska, L., Zuba-Surma, E., & Chłopek, J. (2020). Gradient chitosan hydrogels modified with graphene derivatives and hydroxyapatite: Physicochemical properties and initial cytocompatibility evaluation. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(14), 1–21. <https://doi.org/10.3390/ijms21144888>

- Kostakova, E. K., Meszaros, L., Maskova, G., Blazkova, L., Turcsan, T., & Lukas, D. (2017). Crystallinity of Electrospun and Centrifugal Spun Polycaprolactone Fibers: A Comparative Study. *Journal of Nanomaterials*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/8952390>
- Kulawik, P., Jamróz, E., & Özogul, F. (2020). Chitosan role for shelf-life extension of seafood. In *Environmental Chemistry Letters* (Vol. 18, Issue 1, pp. 61–74). Springer. <https://doi.org/10.1007/s10311-019-00935-4>
- Kurakula, M., & Rao, G. S. N. K. (2020). Pharmaceutical assessment of polyvinylpyrrolidone (PVP): As excipient from conventional to controlled delivery systems with a spotlight on COVID-19 inhibition. In *Journal of Drug Delivery Science and Technology* (Vol. 60). Editions de Sante. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.102046>
- Lan, X., Liu, Y., Wang, Y., Tian, F., Miao, X., Wang, H., & Tang, Y. (2021). Coaxial electrospun PVA/PCL nanofibers with dual release of tea polyphenols and ε-poly (L-lysine) as antioxidant and antibacterial wound dressing materials. *International Journal of Pharmaceutics*, 601. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120525>
- Lasprilla-Botero, J., Álvarez-Láinez, M., & Lagaron, J. M. (2018). The influence of electrospinning parameters and solvent selection on the morphology and diameter of polyimide nanofibers. *Materials Today Communications*, 14, 1–9. <https://doi.org/10.1016/J.MTCOMM.2017.12.003>
- Li, R., Cheng, Z., Yu, X., Wang, S., Han, Z., & Kang, L. (2019). Preparation of antibacterial PCL/PVP-AgNP Janus nanofibers by uniaxial electrospinning. *Materials Letters*, 254, 206–209. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2019.07.075>
- Li, X., Qiang, J., Wan, Y., Wang, H., & Gao, W. (2019). The effect of sonic vibration on electrospun fiber mats. *Journal of Low Frequency Noise Vibration and Active Control*, 38(3–4), 1246–1251. <https://doi.org/10.1177/1461348418813256/FORMAT/EPUB>
- Li, X., Wang, C., Yang, S., Liu, P., & Zhang, B. (2018). Electrospun PCL/mupirocin and chitosan/ lidocaine hydrochloride multifunctional double layer nanofibrous scaffolds for wound dressing applications. *International Journal of Nanomedicine*, 13, 5287–5299. <https://doi.org/10.2147/IJN.S177256>
- Li, Z., & Wang, C. (2013). Effects of Working Parameters on Electrospinning. *SpringerBriefs in Materials*, 15–28. https://doi.org/10.1007/978-3-642-36427-3_2/COVER
- Liang, Y., Liang, Y., Zhang, H., & Guo, B. (2022). Antibacterial biomaterials for skin wound

dressing. In *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences* (Vol. 17, Issue 3, pp. 353–384). Shenyang Pharmaceutical University. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2022.01.001>

Lillo, L., Cabello, G., Caro, C. A., & Lamilla, C. (2014). Production of exopolysaccharides by a submerged culture of an entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* Biopurification system for pesticide-containing wastewater treatment. *View project Green City View project*. <https://www.researchgate.net/publication/263505561>

Lim, W. L., Chowdhury, S. R., Ng, M. H., & Law, J. X. (2021). Physicochemical properties and biocompatibility of electrospun polycaprolactone/gelatin nanofibers. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(9). <https://doi.org/10.3390/ijerph18094764>

Liu, X., Xu, H., Zhang, M., & Yu, D. G. (2021). Electrospun Medicated Nanofibers for Wound Healing: Review. *Membranes*, 11(10), 770. <https://doi.org/10.3390/membranes11100770>

Matica, M. A., Aachmann, F. L., Tøndervik, A., Sletta, H., & Ostafe, V. (2019). Chitosan as a wound dressing starting material: Antimicrobial properties and mode of action. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 20, Issue 23). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms20235889>

Mehta, P. P., & Pawar, V. S. (2018). Electrospun nanofiber scaffolds: Technology and applications. *Applications of Nanocomposite Materials in Drug Delivery*, 509–573. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813741-3.00023-6>

Mirtič, J., Balažič, H., Zupančič, Š., & Kristl, J. (2019). Effect of solution composition variables on electrospun alginate nanofibers: Response surface analysis. *Polymers*, 11(4). <https://doi.org/10.3390/polym11040692>

Mishra, R., Militky, J., & Venkataraman, M. (2019). Electrospun nanofibers. In *Nanotechnology in Textiles* (pp. 35–161). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102609-0.00002-X>

Mohammadzadeh Kakhki, R., Hedayat, S., & Mohammadzadeh, K. (2019). Novel, green and low cost synthesis of Ag nanoparticles with superior adsorption and solar based photocatalytic activity. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*. <https://doi.org/10.1007/s10854-019-01203-5>

Mohammadzadehmoghadam, S., Dong, Y., Barbhuiya, S., Guo, L., Liu, D., Umer, R., Qi, X.,

- & Tang, Y. (2016). Electrospinning: Current status and future trends. In *Nano-Size Polymers: Preparation, Properties, Applications* (pp. 89–154). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-39715-3_4
- Mona, S., Mostafa*, R., Hassan, A., & Farideh, F. (2022). Wound healing: An overview of wound dressings on health care, *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 23(). <https://dx.doi.org/10.2174/1389201023666220913153725>
- Mondal, D., Griffith, M., & Venkatraman, S. S. (2016). Polycaprolactone-based biomaterials for tissue engineering and drug delivery: Current scenario and challenges. In *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials* (Vol. 65, Issue 5, pp. 255–265). Taylor and Francis Inc. <https://doi.org/10.1080/00914037.2015.1103241>
- Montero De Espinosa, L., Meesorn, W., Moatsou, D., & Weder, C. (2017). Bioinspired Polymer Systems with Stimuli-Responsive Mechanical Properties. In *Chemical Reviews* (Vol. 117, Issue 20, pp. 12851–12892). American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00168>
- Musino, D., Genix, A. C., Chauveau, E., Bizien, T., & Oberdisse, J. (2020). Structural identification of percolation of nanoparticles. *Nanoscale*, 12(6), 3907-3915. <https://doi.org/10.1039/c9nr09395h>
- National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 6344, Dichloromethane. Retrieved September 24, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dichloromethane>.
- National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 8028, Tetrahydrofuran. Retrieved September 24, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Tetrahydrofuran>.
- National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 8857, Ethyl acetate. Retrieved September 25, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ethyl-acetate>.
- National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 702, Ethanol. Retrieved September 25, 2022 from. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ethanol>
- Nonato, R. C., Morales, A. R., Mateus, •, Rocha, C., Silvia, •, Nista, V. G., Mei, L. H. I., Baltus, •, & Bonse, C. (2017). *Process parameters in the manufacture of ceramic ZnO*

nanofibers made by electrospinning. <https://doi.org/10.1007/s00339-016-0717-0>

Nuutila, K., & Eriksson, E. (2021). Moist Wound Healing with Commonly Available Dressings. *Advances in wound care*, 10(12), 685–698. <https://doi.org/10.1089/wound.2020.1232>

Obagi, Z., Damiani, G., Grada, A., & Falanga, V. (2019). Principles of Wound Dressings: A Review. *Surgical technology international*, 35, 50–57.

Oliveira Junior, E.; Melo, I.; Franco, T. (2012). Changes in hyphal morphology due to chitosan treatment in some fungal species. *Braz. Arch. Biol. Techn.*, 55, 637–646 <https://doi.org/10.1590/S1516-89132012000500001>

Organización Mundial de la Salud (2018). Quemaduras: [Quemaduras \(who.int\)](http://www.who.int)

Palmese, L. L., Thapa, R. K., Sullivan, M. O., & Kiick, K. L. (2019). *Hybrid hydrogels for biomedical applications. Current Opinion in Chemical Engineering.* <https://doi.org/10.1016/j.coche.2019.02.010>

Peña-Bahamonde, J., Nguyen, H. N., Fanourakis, S. K., & Rodrigues, D. F. (2018). Recent advances in graphene-based biosensor technology with applications in life sciences. In *Journal of Nanobiotechnology* (Vol. 16, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12951-018-0400-z>

Pérez M., Robres P., Moreno B., Bolea R., Verde MT., Pérez-Laguna V., Aspiroz C, Gilaberte Y and Rezusta A. (2021) Comparison of Antibacterial Activity and Wound Healing in a Superficial Abrasion Mouse Model of Staphylococcus aureus Skin Infection Using Photodynamic Therapy Based on Methylene Blue or Mupirocin or Both. *Front. Med.* 8:673408. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.673408>

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>

Podgórski, R., Wojasiński, M., & Ciach, T. (2022). Nanofibrous materials affect the reaction of cytotoxicity assays. *Scientific Reports*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-13002-w>

Priyadarsini, S., Mohanty, S., Mukherjee, S., Basu, S., & Mishra, M. (2018). Graphene and graphene oxide as nanomaterials for medicine and biology application. In *Journal of Nanostructure in Chemistry* (Vol. 8, Issue 2, pp. 123–137). Springer Medizin.

<https://doi.org/10.1007/s40097-018-0265-6>

Queiroz, M. F., Melo, K. R. T., Sabry, D. A., Sasaki, G. L., & Rocha, H. A. O. (2015). Does the use of chitosan contribute to oxalate kidney stone formation? *Marine Drugs*, *13*(1), 141–158. <https://doi.org/10.3390/md13010141>

Ramesh Kumar, P., Khan, N., Vivekanandhan, S., Satyanarayana, N., Mohanty, A. K., & Misra, M. (2012). Nanofibers: Effective generation by electrospinning and their applications. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, *12*(1), 1–25. <https://doi.org/10.1166/jnn.2012.5111>

Roshangar, L., Soleimani Rad, J., Kheirjou, R., Reza Ranjkesh, M., & Ferdowsi Khosroshahi, A. (2019). Skin Burns: Review of Molecular Mechanisms and Therapeutic Approaches. *Wounds : a compendium of clinical research and practice*, *31*(12), 308–315.

Shi, C., Wang, C., Liu, H., Li, Q., Li, R., Zhang, Y., Liu, Y., Shao, Y., & Wang, J. (2020). Selection of Appropriate Wound Dressing for Various Wounds. In *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* (Vol. 8). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00182>

Shitole, A. A., Raut, P., Giram, P., Rade, P., Khandwekar, A., Garnaik, B., & Sharma, N. (2020). Poly (vinylpyrrolidone)-iodine engineered poly (ϵ -caprolactone) nanofibers as potential wound dressing materials. *Materials Science and Engineering C*, *110*. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.110731>

Si, Y., Tang, X., Yu, J., Ding, B., Si, Y., Tang, • X, Yu, • J, Ding, • B, Ding, B., & Yu, J. (2014). Electrospun Nanofibers: Solving Global Issues. *Nanostructure Science and Technology*. https://doi.org/10.1007/978-3-642-54160-5_1

Singh, R., & Singh, D. (2014). Chitin membranes containing silver nanoparticles for wound dressing application. *International Wound Journal*, *11*(3), 264–268. <https://doi.org/10.1111/j.1742-481X.2012.01084.x>

Sreemany, M., & Ghosh, T. B. (1995). Angle resolved XPS study of inhomogeneous specimens of polycrystalline silver covered with uniform graphite overlayers. *Applied Surface Science*, *90*(2), 241–250. [https://doi.org/10.1016/0169-4332\(95\)00081-X](https://doi.org/10.1016/0169-4332(95)00081-X)

Stoica, A. E., Chircov, C., & Grumezescu, A. M. (2020). Hydrogel dressings for the treatment of burn wounds: An up-to-date overview. In *Materials* (Vol. 13, Issue 12, pp. 1–24). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ma13122853>

- Su, J. Y., & Liu, Y. (2019). Advance in the research of graphene and its derivatives in wound dressings. *Zhonghua Shao Shang Za Zhi*, 35(8), 637–640. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2019.08.021>
- Tam, N., Oguz, S., Aydogdu, A., Sumnu, G., & Sahin, S. (2017). Influence of solution properties and pH on the fabrication of electrospun lentil flour/HPMC blend nanofibers. *Food Research International*, 102, 616–624. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2017.09.049>
- Tang, Y., Lan, X., Liang, C., Zhong, Z., Xie, R., Zhou, Y., Miao, X., Wang, H., & Wang, W. (2019). Honey loaded alginate/PVA nanofibrous membrane as potential bioactive wound dressing. *Carbohydrate Polymers*, 219, 113–120. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.05.004>
- Thamer, B. M., Aldalbahi, A., Meera Moydeen, A., Rahaman, M., & El-Newehy, M. H. (2021). Modified electrospun polymeric nanofibers and their nanocomposites as nanoadsorbents for toxic dye removal from contaminated waters: A review. In *Polymers* (Vol. 23, Issue 1, pp. 1–37). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/polym13010020>
- Tijing, L. D., Woo, Y. C., Yao, M., Ren, J., & Shon, H. K. (2017). 1.16 Electrospinning for Membrane Fabrication: Strategies and Applications. *Comprehensive Membrane Science and Engineering*, 418–444. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.12262-0>
- Tlili, I., & Alkanhal, T. A. (2019). Nanotechnology for water purification: Electrospun nanofibrous membrane in water and wastewater treatment. *Journal of Water Reuse and Desalination*, 9(3), 232–247. <https://doi.org/10.2166/wrd.2019.057>
- Topuz, F., Satilmis, B., & Uyar, T. (2019). Electrospinning of uniform nanofibers of Polymers of Intrinsic Microporosity (PIM-1): The influence of solution conductivity and relative humidity. *Polymer*, 178, 121610. <https://doi.org/10.1016/J.POLYMER.2019.121610>
- Toriello, M., Afsari, M., Shon, H. K., & Tijing, L. D. (2020). Progress on the fabrication and application of electrospun nanofiber composites. In *Membranes* (Vol. 10, Issue 9, pp. 1–35). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/membranes10090204>
- Toussaint, J., & Singer, A. J. (2014). The evaluation and management of thermal injuries: 2014 update. *Clinical and Experimental Emergency Medicine*, 1(1), 8–18. <https://doi.org/10.15441/ceem.14.029>

- Ueda, Y., Sakaguchi, M., Hirayama, K., Miyajima, R., & Kimizuka, A. (1990). Characteristic Flavor Constituents in Water Extract of Garlic. *Agricultural and Biological Chemistry*, 54(1), 163–169. <https://doi.org/10.1080/00021369.1990.10869909>
- Utkarsh, Hegab, H., Tariq, M., Syed, N. A., Rizvi, G., & Pop-Iliev, R. (2020). Towards Analysis and Optimization of Electrospun PVP (Polyvinylpyrrolidone) Nanofibers. *Advances in Polymer Technology*, 2020, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2020/4090747>
- Van der Schueren, L., de Schoenmaker, B., Kalaoglu, Ö. I., & de Clerck, K. (2011). An alternative solvent system for the steady state electrospinning of polycaprolactone. *European Polymer Journal*, 47(6), 1256–1263. <https://doi.org/10.1016/J.EURPOLYMJ.2011.02.025>
- Varaprasad, K.; Jayaramudu, T.; Kanikireddy, V.; Toro, C.; Sadiku, E.R. (2020) Alginatebased composite materials for wound dressing application: A mini review. *Carbohydr. Polym.* 236, 116025. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116025>
- Varsei, M., Tanha, N. R., Gorji, M., & Mazinani, S. (2021). Fabrication and optimization of PCL/PVP nanofibers with Lawsonia inermis for antibacterial wound dressings. *Polymers and Polymer Composites*, 29(9_suppl), S1403–S1413. <https://doi.org/10.1177/09673911211053307>
- Vega-Lugo, A. C., & Lim, L. T. (2012). Effects of poly(ethylene oxide) and pH on the electrospinning of whey protein isolate. *Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics*, 50(16), 1188–1197. <https://doi.org/10.1002/polb.23106>
- Vengatesan, M. R., & Mittal, V. (2016). Nanoparticle- and Nanofiber-Based Polymer Nanocomposites: An Overview. *Spherical and Fibrous Filler Composites*, 1–38. <https://doi.org/10.1002/9783527670222.ch1>
- Wan, M., Liu, Z., Li, S., Yang, B., Zhang, W., Qin, X., & Guo, Z. (2013). Silver nanoaggregates on chitosan functionalized graphene oxide for high-performance surface-enhanced raman scattering. *Applied Spectroscopy*, 67(7), 761–766. <https://doi.org/10.1366/12-06777>
- Wang, C., Wang, J., Zeng, L., Qiao, Z., Liu, X., Liu, H., Zhang, J., & Ding, J. (2019). Fabrication of electrospun polymer nanofibers with diverse morphologies. In *Molecules* (Vol. 24, Issue 5). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules24050834>
- Wang, W., Lu, K. J., Yu, C. H., Huang, Q. L., & Du, Y. Z. (2019). Nano-drug delivery

systems in wound treatment and skin regeneration. In *Journal of Nanobiotechnology* (Vol. 17, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12951-019-0514-y>

Wang, X., Cheng, F., Gao, J., & Wang, L. (2015). Antibacterial wound dressing from chitosan/polyethylene oxide nanofibers mats embedded with silver nanoparticles. *Journal of Biomaterials Applications*, 29(8), 1086–1095. <https://doi.org/10.1177/0885328214554665>

Weller, C. D., Team, V., & Sussman, G. (2020). First-Line Interactive Wound Dressing Update: A Comprehensive Review of the Evidence. In *Frontiers in Pharmacology* (Vol. 11). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00155>

Williams, C., Chambers-Wilson, R., Roy, J., Kowalczewski, C., Jockheck-Clark, A. R., Christy, R., & Martinez, L. A. (2021). Cerium(III) Nitrate Containing Electrospun Wound Dressing for Mitigating Burn Severity. *Polymers 2021, Vol. 13, Page 3174, 13(18)*, 3174. <https://doi.org/10.3390/POLYM13183174>

Wu, J. bin, Lin, M. L., Cong, X., Liu, H. N., & Tan, P. H. (2018). Raman spectroscopy of graphene-based materials and its applications in related devices. *Chemical Society Reviews*, 47(5), 1822–1873. <https://doi.org/10.1039/C6CS00915H>

Xue, J., Wu, T., Dai, Y., & Xia, Y. (2019). Electrospinning and electrospun nanofibers: Methods, materials, and applications. In *Chemical Reviews* (Vol. 119, Issue 8, pp. 5298–5415). American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00593>

Yang, C., Yan, Z., Lian, Y., Wang, J., & Zhang, K. (2020). Graphene oxide coated shell-core structured chitosan/PLLA nanofibrous scaffolds for wound dressing. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 31(5), 622–641. <https://doi.org/10.1080/09205063.2019.1706149>

Yang, G. Z., Li, H. P., Yang, J. H., Wan, J., & Yu, D. G. (2017). Influence of Working Temperature on The Formation of Electrospun Polymer Nanofibers. *Nanoscale Research Letters*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/s11671-016-1824-8>

Yu, G., Li, T., Xu, M., Andersson, M., Li, B., Tang, H., Parbey, J., & Shao, J. (2017). Fabrication of Nickel-YSZ cermet nanofibers via electrospinning. *Journal of Alloys and Compounds*, 693, 1214–1219. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2016.10.001>

Zhang, N., Hou, J., Chen, S., Xiong, C., Liu, H., Jin, Y., Wang, J., He, Q., Zhao, R., & Nie, Z. (2016). Rapidly Probing Antibacterial Activity of Graphene Oxide by Mass Spectrometry-based Metabolite Fingerprinting. *Scientific Reports*, 6. <https://doi.org/10.1038/srep28045>

Zhang, X. F., Liu, Z. G., Shen, W., & Gurunathan, S. (2016). Silver nanoparticles: Synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 17, Issue 9). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms17091534>

Zhenyu Li, C. W. (2013). *Dimensional Nanostructures: Electrospinning Technique and Unique Nanofibers*. Springer Berlin, Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-36427-3>

Zhu, M., Han, J., Wang, F., Shao, W., Xiong, R., Zhang, Q., ... Huang, C. (2016). Electrospun Nanofibers Membranes for Effective Air Filtration. *Macromolecular Materials and Engineering*, 302(1). <https://doi.org/10.1002/mame.201600353>