



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

CAMPUS D'ALCOI

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Escuela Politécnica Superior de Alcoy

Evaluación de pululano como polímero susceptible de ser electrohilado para la funcionalización de superficies.

Trabajo Fin de Máster

Máster Universitario en Ingeniería Textil

AUTOR/A: Belda Anaya, Raquel

Tutor/a: Bonet Aracil, María Angeles

CURSO ACADÉMICO: 2022/2023

RESUMEN

El presente estudio se ha llevado a cabo aprovechando las propiedades de inocuidad, biodegradabilidad y biocompatibilidad presentada por el pululano, así como su idoneidad para ser electrohilado y convertido en un velo de nanofibras. El objetivo principal ha sido determinar las variables relevantes para la electrohilatura de este polímero, como el porcentaje del mismo en la disolución y el efecto de añadir sales en diferentes concentraciones. Se examinó el comportamiento de las disoluciones propuestas durante el proceso de electrohilado y se caracterizaron los velos resultantes mediante análisis visual y FESEM, evaluando su homogeneidad y morfología. Asimismo, se llevaron a cabo ensayos para comparar las propiedades de las nanofibras de pululano con nanofibras de alcohol de polivinilo (PVA). Se evaluó la impermeabilidad al aire, la capacidad de adhesión al sustrato y la solubilidad en agua con el objetivo de ampliar las posibles aplicaciones del pululano. Paralelamente, se investigó la funcionalización del velo mediante la encapsulación de aceite de salvia en la disolución polimérica, lo que demostró la capacidad del pululano para retener el aceite esencial de salvia como principio activo en las nanofibras.

Los resultados indican que la concentración y la adición de aditivos como NaCl influyen en la calidad de las nanofibras obtenidas. Además, se observó que las nanofibras de pululano presentaron mayor impermeabilidad, mayor solubilidad en agua y mayor poder de adhesión en comparación con las nanofibras de PVA.

Este estudio ha proporcionado información valiosa sobre el uso potencial del pululano como material electrohilable para obtener nanofibras con propiedades mejoradas en comparación con el PVA, y también ha demostrado su capacidad para retener principios activos como el aceite de salvia en las nanofibras. Estas conclusiones pueden abrir nuevas posibilidades de los velos de pululano para diversas aplicaciones en diferentes sectores.

PALABRAS CLAVE

Polisacárido, nanofibras, principio activo, textil.

ABSTRACT

The present study has been carried out taking advantage of the innocuousness, biodegradability and biocompatibility properties of pululan, as well as its suitability to be electrospun and converted into a nanofibre web. The main objective was to determine the relevant variables for the electrospinning of this polymer, such as the percentage of the polymer in the solution and the effect of adding salts in different concentrations. The behaviour of the proposed solutions during the electrospinning process was examined and the resulting webs were characterised by visual analysis and FESEM, evaluating the homogeneity and morphology of the webs. Tests were also carried out to compare the properties of pululan nanofibres with PVA (polyvinyl alcohol) nanofibres. Air impermeability, substrate adhesion and water solubility were evaluated with the aim of broadening the possible applications of pululan. In parallel, the functionalisation of the web was investigated by encapsulating sage oil in the polymeric solution, which demonstrated the ability of pululan to retain sage essential oil as an active ingredient in the nanofibres.

The results indicate that the concentration and addition of additives such as NaCl influence the quality of the nanofibres obtained. In addition, it was observed that pululan nanofibres showed higher impermeability, higher water solubility and higher adhesion power compared to PVA nanofibres.

This study has provided valuable information on the potential use of pululan as an electrospinning material to obtain nanofibres with improved properties compared to PVA, and has also demonstrated its ability to retain active ingredients such as sage oil in the nanofibres. These findings may open up new possibilities for pululan webs for various applications in different sectors.

KEY WORDS

Polysaccharide, nanofiber, active ingredient, textile.

RESUM

El present estudi s'ha realitzat aprofitant les propietats d'innocuitat, biodegradabilitat i biocompatibilitat que presenta el pululano, així com la seua idoneïtat per a ser electrofilatura i convertit en un vel de nanofibres. L'objectiu principal ha sigut determinar les variables rellevants per a la electrofilatura d'aquest polímer, com el percentatge del mateix en la dissolució i l'efecte d'afegir sals en diferents concentracions. Es va examinar el comportament de les solucions proposades durant el procés de electrofilat i es van caracteritzar els vels resultants mitjançant anàlisi visual i FESEM avaluant l'homogeneïtat i morfologia dels vels. Així mateix, es van dur a terme assajos per a comparar les propietats de les nanofibres de pululano amb nanofibres de PVA (alcohol de polivinil). Es va avaluar la impermeabilitat a l'aire, la capacitat d'adhesió al substrat i la solubilitat en aigua amb l'objectiu d'ampliar les possibles aplicacions del pululano. Paral·lelament, es va investigar la funcionalització del vel mitjançant l'encapsulació d'oli de sàlvia en la dissolució polimèrica, la qual cosa va demostrar la capacitat del pululano per a retindre l'oli essencial de sàlvia com a principi actiu en les nanofibres.

Els resultats indiquen que la concentració i l'addició d'additius com NaCl influeixen en la qualitat de les nanofibres obtingudes. A més, es va observar que les nanofibres de pululano van presentar major impermeabilitat, major solubilitat en aigua i major poder d'adhesió en comparació amb les nanofibres de PVA.

Aquest estudi ha proporcionat informació valuosa sobre l'ús potencial del pululano com a material que es pot electrofilare per a obtindre nanofibres amb propietats millorades en comparació amb el PVA, i també ha demostrat la seua capacitat per a retindre principis actius com l'oli de sàlvia en les nanofibres. Aquestes conclusions poden obrir noves possibilitats de vels de pululano per a diverses aplicacions en diferents sectors.

PARAULES CLAU

Polisacàrid, nanofibres, principi actiu, textil.

AGRADECIMIENTOS

Mis agradecimientos a mi familia, en especial a mi marido Jorge, a mis dos hijas Gabriela y Daniela y a mi madre, pues solo ellos saben el tiempo que he dedicado a los estudios y no he podido disfrutarlo con ellos, y que sin su enorme apoyo no hubiera podido conseguirlo. Y muy especialmente le dedico este trabajo a mi padre, que sé que le encantó cuando empecé a estudiar el máster de ingeniería textil y le contaba lo que estaba aprendiendo, compartíamos charlas sobre máquinas y procesos y le recordaba su trayectoria en la industria textil.

También, agradecer a mis compañeros de trabajo del grupo GIITEX, que sin su apoyo y ánimo durante estos dos años académicos no hubiera sido posible llevarlo a cabo.

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN.....	14
2. OBJETIVO.....	18
3. ESTADO DEL ARTE	19
3.1. Pululano	19
3.1.1. Obtención del pululano	20
3.1.2. Modificaciones o derivatizaciones del pululano.....	22
3.1.3. Usos del pululano	23
3.2. PVA - Alcohol de polivinilo	27
3.3. Técnica de electrospinning	27
3.3.1. Factores que influyen en el proceso de electrohilatura	28
3.3.2. Polímeros utilizados.....	30
3.3.3. Tipología de nanofibras	30
3.3.4. Proceso de electrohilado	31
3.3.5. Aditivos.....	32
3.3.6. Aceite esencial de Salvia.....	33
4. ANTECEDENTES.....	35
5. INNOVACIÓN DEL PROYECTO	36
6. EXPERIMENTAL	37
6.1. Materiales.....	37
6.2. Preparación de disoluciones de electrohilatura.....	37
6.2.1. Disoluciones de pululano.....	37
6.2.2. Preparación de disolución de PVA.....	38
6.2.3. Preparación de la disolución con aceite esencial.....	38
6.3. Métodos.....	39
6.3.1. Viscosidad	39
6.3.2. pH.....	39

6.3.3.	Conductividad.....	40
6.3.4.	Tensión superficial.....	41
6.3.5.	Electrohilatura.....	42
6.3.6.	Ensayo de Adhesión.....	42
6.3.7.	Ensayo de transpirabilidad.....	43
6.3.8.	Ensayo de solubilidad.....	43
6.3.9.	Microscopía óptica.....	44
6.3.10.	Microscopía Electrónica de Barrido de Emisión de Campo (FESEM).	44
6.3.11.	Análisis imágenes FESEM: Mediciones	45
6.3.12.	ATR-FTIR - Reflectancia total atenuada - Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier	45
7.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
7.1.	Caracterización de disoluciones poliméricas.....	47
7.2.	Observación al microscopio óptico de la disolución polimérica de pululano con aceite 48	
7.3.	Electrohilado de las disoluciones	49
7.4.	Caracterización de los velos electrohilados	53
7.4.1.	FESEM - Microscopía electrónica de barrido de emisión de campo	53
7.4.1.	Análisis imágenes FESEM: Mediciones.....	62
7.4.2.	Prueba de solubilidad	71
7.4.3.	Prueba de adhesión.....	74
7.4.4.	Prueba de transpirabilidad.....	77
7.4.5.	ATR-FTIR.....	81
8.	CONCLUSIONES.....	84
9.	ACCIONES FUTURAS	86
10.	OBJETIVOS DE DESARROLLO SOSTENIBLE.....	87
11.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de la estructura química del pululano .	19
Figura 2. Producción, transformación y aplicaciones del pululano .	22
Figura 3: Cápsulas duras de pululano para fármacos o complementos alimenticios].	24
Figura 4: Película de fácil disolución de pululano	25
Figura 5. Esquema del sistema de electrohilatura .	28
Figura 6. Viscosímetro ViscoElite-R.	39
Figura 7. pH metro GLP 22 Crison.	40
Figura 8. Conductímetro Crison CM35 +	41
Figura 9. Tensiómetro Krüss.	41
Figura 10. Equipo de electrohilatura utilizado Spinbox.	42
Figura 11. Equipo de transpirabilidad.	43
Figura 12. Imagen microscopio Kern.	44
Figura 13. A la izquierda el Sputter Coater y a la derecha Microscopio Electrónico de Barrido de Emisión de Campo con Cañón de Iones Focalizados (FIB).	45
Figura 14. Imagen equipo ATR-FTIR	46
Figura 15. Disolución de pululano + aceite de salvia observada al microscopio óptico.	49
Figura 16. Velo de PUL 15% sobre film de aluminio.	52
Figura 17. Velo de PUL 15% sobre film de aluminio.	52
Figura 18. Velo de PUL 20% sobre film de aluminio.	52
Figura 19. Velo de PUL 20% sobre algodón.	52
Figura 20. Velo de PUL 20% 0,1M NaCl sobre film de aluminio.	52
Figura 21. Velo de PUL 20% 0,1M NaCl sobre algodón.	52
Figura 22. Velo de PVA 9% sobre film de aluminio.	53
Figura 23. Velo de PVA 9% sobre algodón.	53
Figura 24. Velo de PUL 20% + aceite sobre film de aluminio.	53
Figura 25. Velo de PUL 20% + aceite sobre algodón.	53
Figura 26. Imagen FESEM a 1500x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 9%.	54
Figura 27. Imagen FESEM 5000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 9%.	54
Figura 28. Imagen FESEM a 1000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 20%.	54
Figura 29. Imagen FESEM 2500x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 20%.	54
Figura 30. Imagen FESEM a 500x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 9% 0,5M NaCl.	55
Figura 31. Imagen FESEM 5000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 9% 0,5M NaCl.	55

Figura 32. Imagen FESEM a 5000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 9% 0,1M NaCl.	55
Figura 33. Imagen FESEM 6000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 9% 0,1M NaCl.	55
Figura 34. Imagen FESEM a 1000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 9% 0,2M NaCl.	56
Figura 35. Imagen FESEM 2700x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 9% 0,2M NaCl.	56
Figura 36. Imagen FESEM a 1000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 9% 1M NaCl.	56
Figura 37. Imagen FESEM 5000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 9% 1M NaCl.	56
Figura 38. Imagen FESEM a 1000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 9% 0,05M Citrato sódico.	57
Figura 39. Imagen FESEM 10000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 9% 0,05M Citrato sódico.	57
Figura 40. Imagen FESEM a 2500x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 15% 0,1M NaCl.	57
Figura 41. Imagen FESEM 10000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 15% 0,1M NaCl.	57
Figura 42. Imagen FESEM a 1000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 15% 0,2M NaCl.	58
Figura 43. Imagen FESEM 5000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 15% 0,2M NaCl.	58
Figura 44. Imagen FESEM a 1000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 15% 1M NaCl.	58
Figura 45. Imagen FESEM 5000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 15% 1M NaCl.	58
Figura 46. Imagen FESEM a 1000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 15%.	59
Figura 47. Imagen FESEM 5000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 15%.	59
Figura 48. Imagen FESEM a 500x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 20%.	59
Figura 49. Imagen FESEM 5000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 20%.	59
Figura 50. Imagen FESEM a 2500x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 20% 0,1M NaCl.	60
Figura 51. Imagen FESEM 15000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 20% 0,1M NaCl.	60
Figura 52. Imagen FESEM a 1000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 9%.	60

Figura 53. Imagen FESEM 5000x del velo de nanofibras de la muestra de PVA 9%.	60
Figura 54. Imagen FESEM a 500x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 20% + Aceite.	61
Figura 55. Imagen FESEM 4000x del velo de nanofibras de la muestra de PVA 20% + Aceite.	61
Figura 56. Imagen FESEM 8000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 20% + Aceite.	61
Figura 57. Imagen FESEM 10000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 20% + Aceite.	61
Figura 58. Imagen FESEM 5000x del velo de nanofibras de la muestra PUL 9%.....	63
Figura 59. Imagen FESEM 5000x del velo de nanofibras de la muestra PUL 20%.	63
Figura 60. Imagen FESEM 5000x del velo de nanofibras de la muestra PUL 9% 0,5MNaCl.	64
Figura 61. Imagen FESEM 6000x del velo de nanofibras de la muestra PUL 9% 0,1MNaCl.	64
Figura 62. Imagen FESEM 36000x del velo de nanofibras de la muestra PUL 9% 0,2MNaCl.	65
Figura 63. Imagen FESEM 5000x del velo de nanofibras de la muestra PUL 9% 1MNaCl. .	65
Figura 64. Imagen FESEM 20000x del velo de nanofibras de la muestra PUL 9% 0,05MCitrato sódico.	66
Figura 65. Imagen FESEM 10000x del velo de nanofibras de la muestra PUL 15% 0,1MNaCl.	66
Figura 66. Imagen FESEM 10000x del velo de nanofibras de la muestra PUL 15% 0,2MNaCl.	67
Figura 67. Imagen FESEM 10000x del velo de nanofibras de la muestra PUL 15% 1MNaCl.	67
Figura 68. Imagen FESEM 5000x del velo de nanofibras de la muestra PUL 15%.	68
Figura 69. Imagen FESEM 5000x del velo de nanofibras de la muestra PUL 20%.	68
Figura 70. Imagen FESEM 5000x del velo de nanofibras de la muestra PUL 20% 0,1MNaCl.	69
Figura 71. Imagen FESEM 5000x del velo de nanofibras de la muestra PVA9%.	69
Figura 72. Imagen FESEM 4000x del velo de nanofibras de la muestra PUL 20% con Aceite de salvia.	70
Figura 73. Imagen FESEM 10000x del velo de nanofibras de la muestra PUL 20% con Aceite de salvia.	70
Figura 74. Muestras de Pululano 20% para el ensayo de solubilidad en agua.	72
Figura 75. Muestras de PVA 9% para el ensayo de solubilidad en agua.	72

Figura 76. Solubilidad presentada por el velo de pululano en agua	73
Figura 77. Disolución completa e inmediata del pululano en agua	73
Figura 78. Velo de PVA 9% durante la prueba de solubilidad.....	73
Figura 79. Resto insoluble de PVA que ha permanecido tras dos minutos de inmersión en el solvente.....	73
Figura 80. Muestras de ALU+Pululano20% con la lámina de acetato.....	74
Figura 81. Muestras de ALU+PVA9% con la lámina de acetato	74
Figura 82. Pesas utilizadas en la prueba de adhesión sobre las muestras.	75
Figura 83. Lámina de acetato con resto de velo.	75
Figura 84. Láminas de acetato y muestras pululano 20% tras la prueba de adhesión.....	75
Figura 85. Lámina de acetato y muestras PVA 9% tras la prueba de adhesión	76
Figura 86. Comparativa de los resultados de los dos polímeros, arriba el pululano 20% y abajo el PVA 9%.	76
Figura 87. Muestras de algodón en el ensayo de transpirabilidad	78
Figura 88. Montaje para el ensayo de transpirabilidad de las muestras.....	78
Figura 89. Muestra electrohilada, el velo queda en la parte superior	78
Figura 90. Velo de PUL tras la prueba de transpirabilidad.	79

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1. Diferentes métodos de obtención de nanofibras	14
Tabla 2. Principales campos en los que se ha estudiado el pululano	16
Tabla 3. Número de estudios relacionados con las áreas de estudio del pululano en la nanotecnología, electrospinning y sus aplicaciones	17
Tabla 4. Microorganismos que producen pululano.....	20
Tabla 5. Parámetros del proceso de electrohilatura y los efectos sobre la morfología de las nanofibras	29
Tabla 6. Morfologías de nanofibras y motivo de su obtención.....	31
Tabla 7. Relación de muestras preparadas con el polímero pululano, indicando concentración del polisacárido y de sales utilizadas.	38
Tabla 8. Muestras preparadas con el polímero PVA, indicando concentración.	38
Tabla 9. Muestra preparada con el polímero pululano y aceite de salvia, indicando concentración del polisacárido, aceite y tensioactivo.	39
Tabla 10. Resultados obtenidos de las diferentes disoluciones	48
Tabla 11. Parámetros de proceso de electrohilatura de las diferentes disoluciones	50
Tabla 12. <i>Valores en micras de los elementos medidos en la imagen 58</i>	63
Tabla 13. <i>Valores en micras de los elementos medidos en la imagen 59</i>	63
Tabla 14. <i>Valores en micras de los elementos medidos en la imagen 60</i>	64
Tabla 15. <i>Valores en micras de los elementos medidos en la imagen 61</i>	64
Tabla 16. <i>Valores en micras de los elementos medidos en la imagen 62</i>	65
Tabla 17. <i>Valores en micras de los elementos medidos en la imagen 63</i>	65
Tabla 18. <i>Valores en micras de los elementos medidos en la imagen 64</i>	66
Tabla 19. <i>Valores en micras de los elementos medidos en la imagen 65</i>	66
Tabla 20. <i>Valores en micras de los elementos medidos en la imagen 66</i>	67
Tabla 21. <i>Valores en micras de los elementos medidos en la imagen 67</i>	67
Tabla 22. <i>Valores en micras de los elementos medidos en la imagen 68</i>	68
Tabla 23. <i>Valores en micras de los elementos medidos en la imagen 69</i>	68
Tabla 24. <i>Valores en micras de los elementos medidos en la imagen 70</i>	69
Tabla 25. <i>Valores en micras de los elementos medidos en la imagen 71</i>	69
Tabla 26. <i>Valores en micras de los elementos medidos en la imagen 72</i>	70
Tabla 27. <i>Valores en micras de los elementos medidos en la imagen 73</i>	70
Tabla 28. <i>Resultados de las mediciones de nanofibras y elementos de las diferentes muestras</i>	71
Tabla 29. Evaluación cualitativa del grado de adhesión.	77

Tabla 30. Grado de adhesión del velo de nanofibras de pululano 20% y PVA 9%, tras someterlos a los diferentes pesos.	77
Tabla 31. Resultados de ΔP (Pa) tejido sustrato de algodón crudo.....	79
Tabla 32. Resultados de ΔP (Pa) tejido sustrato de algodón con el velo de nanofibras de PVA9%.	79
Tabla 33. Resultados de ΔP (Pa) del velo de nanofibras de PVA 9%.....	80
Tabla 34. Resultados de ΔP (Pa) tejido sustrato de algodón con el velo de nanofibras de Pululano 20%.....	80
Tabla 35. Resultados de ΔP (Pa) del velo de nanofibras de Pululano 20%.....	80
Tabla 36. Comparativa de los resultados de las diferentes muestras sometidas al ensayo de transpirabilidad.....	80

LISTADO DE GRÁFICOS

Gráfica 1. Evolución de publicaciones sobre el pululano.....	16
Gráfica 2. Evolución de patentes relacionadas con el pululano	17
Gráfica 3. Espectro IR del velo de pululano electrohilado al 20%.....	81
Gráfica 4. Espectro IR comparativo del velo de pululano electrohilado al 20% con aceite de salvia frente a los espectros individuales del pululano 20% y aceite de salvia	82

1. INTRODUCCIÓN

Las nanofibras son aquellas fibras que tienen un diámetro inferior a 1000 nm (o 1 μm), y se pueden fabricar utilizando varias técnicas de procesamiento como el método por moldes, separación de fases, gas jet, tecnología *melt blown*, así como por electrospinning o electrohilatura. En la tabla 1, se realiza una comparativa de los diferentes métodos de obtención de nanofibras indicando sus ventajas y desventajas [1].

PROCESO	FACILIDAD DE PROCESAMIENTO	VENTAJAS	DESVENTAJAS
MÉTODO GAS JET	Fácil	Uso de aire como gas impulsor. Posibilidad de usar varios polímeros.	Problemas en el ajuste de la presión y el flujo de gas óptimo.
TECNOLOGÍA MELT BLOWN	Fácil	Capacidad de manejo de muchos polímeros, así como mezclas de estos. No hay problemas por manejo de solventes.	Proceso apto únicamente para polímeros termoplásticos.
MÉTODO DE SEPARACIÓN POR FASES	Fácil	Posibilidad de adaptar propiedades mecánicas.	Bajo rendimiento. Limitado a ciertos polímeros
PROCESAMIENTO CON MOLDES	Difícil	Controlabilidad sobre la morfología del material obtenido. Materiales específicos y viables para aplicaciones en el campo biomédico.	Producción costosa por el uso de moldes que se deben fabricar con base en métodos como la litografía
TÉCNICA DE ELECTROSPINNING	Fácil	Económico. Fibras continuas. Facilidad de funcionalización. Posibilidad de fibras alineadas.	Uso de solventes orgánicos nocivos para la salud y el medio ambiente. Restricción en la controlabilidad.

Tabla 1 Diferentes métodos de obtención de nanofibras [1].

El electrospinning es el único método capaz de producir nanofibras continuas a gran escala utilizando diversos tipos de polímeros. Esta técnica se destaca por su simplicidad, bajo costo, versatilidad, escalabilidad y confiabilidad. Debido a que las nanofibras producidas poseen

una longitud considerable, un diámetro pequeño y una alta superficie en relación al volumen, generan un gran interés tanto en el ámbito industrial como científico.

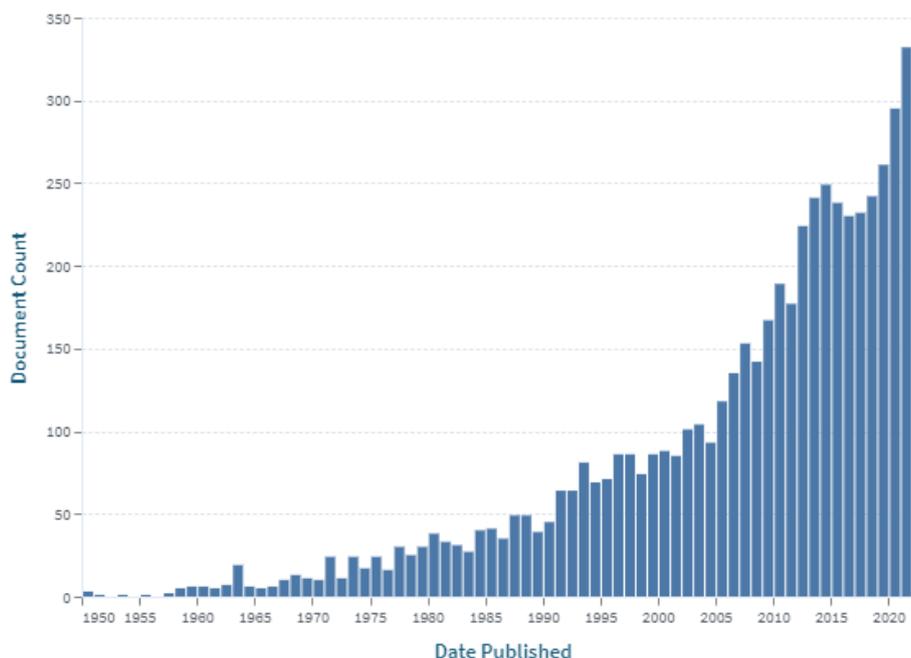
Las características de las fibras obtenidas mediante electrospinning tienen gran potencial en aplicaciones como filtración, prendas protectoras, ingeniería de tejidos, apósitos para heridas, sistemas de liberación controlada de medicamentos, sensores y materiales ópticos, entre otros.

La investigación sobre la electrohilatura de nanofibras ha logrado hilar fibras submicrométricas a partir de distintas soluciones poliméricas, dando lugar a numerosa bibliografía sobre la estructura y las propiedades morfológicas de las nanofibras [2].

En la industria textil, la aplicación del electrospinning en las técnicas tradicionales de procesamiento ofrece la posibilidad de fabricar nanotextiles con características y propiedades ópticas, eléctricas, mecánicas y biológicas superiores, debido a los efectos de tamaño y de superficie/interfaz [3]. Los nanotextiles electrohilados poseen estructuras y patrones textiles predeterminados en una o múltiples dimensiones y abren una nueva ventana para obtener nuevos productos destinados a multitud de sectores.

Existe una amplia gama de polímeros que se utilizan en la electrohilatura y que permiten formar fibras finas. A lo largo de los años, se han electrohilado con éxito más de 200 polímeros, de forma individual como combinados, tanto de origen natural como sintético y se han caracterizado con respecto a sus aplicaciones. Algunos de ellos, como el poliuretano, poliestireno, ácido poliláctico, el ácido poliglicólico, alcohol polivinílico, acetato de celulosa, fibroína de seda, seda, quitosano, celulosa, gelatina, ácido hialurónico, polianilina, etc., así como el pululano [4].

El pululano ha sido objeto de estudio y de investigaciones desde el año 1950. Fruto de ello, se refleja en las 5.954 publicaciones que hay sobre este polisacárido y que ha ido en incremento con los años, siendo el 2021 el año que mayor número de publicaciones registradas, con 332 documentos. En la gráfica 1, puede verse la evolución de las obras académicas relacionadas con el pululano, obtenida mediante el buscador académico Lens. Dentro de las áreas de estudio en las que principalmente se ha llevado a cabo las investigaciones publicadas destacan el campo de la química, seguido del estudio del pululano no asociado a ningún área de forma específica, investigaciones relacionadas con el hongo que lo produce, el *Aureobasidium pullulans*, seguido del campo de la biología, bioquímica y la ciencia de los alimentos. En la tabla 2, se detallan los 10 primeros campos a los que hacen referencia las publicaciones obtenidas.



Gráfica 1, Evolución de publicaciones sobre el pululano [5].

Campo/Área estudio	N.º Documentos
Química	2.917
Pululano	2.864
Aureobasidium pullulans	1.966
Biología	1.808
Bioquímica	1.338
Ciencia de los alimentos	1.090
Ciencia de los materiales	874
Polisacáridos	841
Cromatografía	693
Botánica	692

Tabla 2. Principales campos en los que se ha estudiado el pululano [5].

La nanotecnología, electrospinning y nanofibras y sus posibles aplicaciones relacionadas con el pululano, son las áreas donde menor estudios hay asociados como se refleja en la tabla 3 comparando las publicaciones en estos campos respecto a los detallados en la tabla 2.

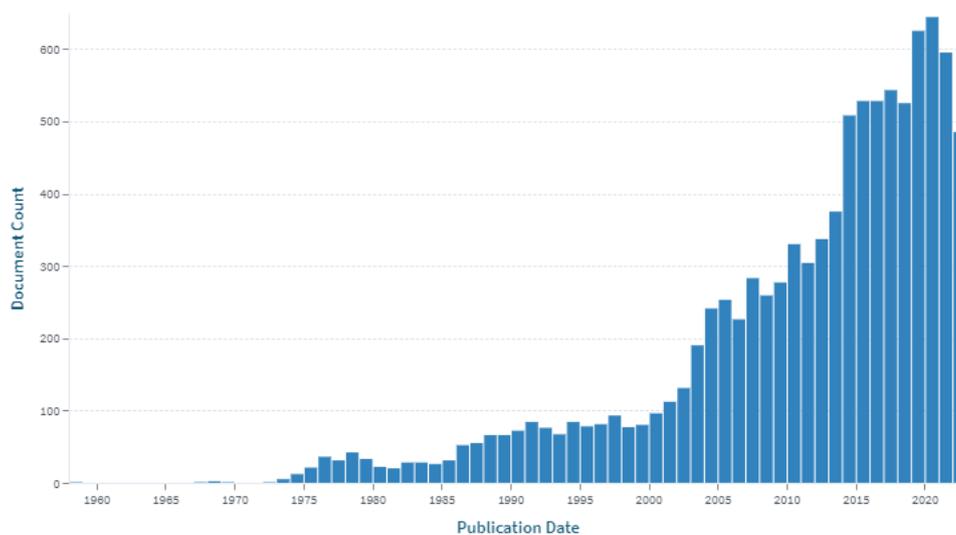
Campo/Área estudio	Nº Documentos
Nanotecnología	179
Electrospinning	114
Ingeniería biomédica	100
Biopolímeros	98
Nanofibra	95
Biocompatibilidad	92
Ingeniería de tejidos	69
Recubrimiento	67

Tabla 3. Número de estudios relacionados con las áreas de estudio del pululano en la nanotecnología, electrospinning y sus aplicaciones [5].

Sin embargo, en la mayoría de los trabajos mencionados, se emplea el pululano junto con otras sustancias en el proceso de electrohilatura, con el objetivo de combinar funcionalidades o características en las nanofibras obtenidas [6].

Los estudios sobre la utilización del pululano en la electrohilatura son relativamente nuevos, y existen pocas investigaciones en las que se emplee exclusivamente el pululano para la formación de nanofibras [6].

Aunque el alto precio de este polisacárido (unos 25€/kg) puede haber limitado su uso en el pasado, el número de patentes está aumentando últimamente debido a las nuevas tecnologías relacionadas con la salud humana [7]. En la gráfica 2, se representa la evolución de las patentes registradas relacionadas con el pululano. Desde el primer registro en 1958, ha experimentado un crecimiento hasta el 2020, siendo el año con mayor registro de patentes relacionadas con el pululano, con 644 registros. Sin embargo, en los dos últimos años se observa un leve descenso.



Gráfica 2. Evolución de patentes relacionadas con el pululano [5].

2. OBJETIVO

El objetivo principal del presente trabajo es fabricar velos no tejidos de nanofibras de Pululano (PUL), utilizando la técnica de electrohilatura y determinar los valores óptimos de los parámetros clave de la disolución de electrohilatura (viscosidad, conductividad iónica, tensión superficial, etc.), proceso de fabricación (voltaje, caudal de la disolución precursora y distancia aguja-soporte) y condiciones ambientales idóneas (temperatura y humedad) para reducir al máximo el diámetro de las fibras, manteniendo su continuidad y morfología, así como la consistencia del velo. Además, se evaluará su solubilidad, capacidad de adhesión al sustrato base y transpirabilidad con la finalidad de comparar estas propiedades con la del alcohol de polivinilo (PVA). Todo ello, con la intención de ampliar el campo de aplicaciones en contraste con las nanofibras de PVA, utilizadas en estudios previos.

Otros objetivos secundarios:

- se evaluará la adición de las sales para aumentar la conductividad de la disolución como alternativa a la reducción de la concentración de polímero.
- se caracterizará el velo de nanofibras obtenidos tanto en base a parámetros estructurales como funcionales.
- se estudiará la posibilidad de encapsular principios activos compatibles con pululano para poder funcionalizar superficies.
- se combinará el pululano con un aceite esencial de salvia como principio activo para determinar su compatibilidad.

3. ESTADO DEL ARTE

3.1. Pululano

El pululano es un polisacárido extracelular producido a partir de almidón por fermentación del microorganismo *Aureobasidium pullulans* (*A. pullulans*). Se presenta en forma de polvo blanco, que se disuelve rápidamente en agua fría o caliente, pero es insoluble en disolventes orgánicos. Es un polisacárido inodoro, insípido y muy estable. Es no tóxico, no mutagénico y es comestible. Su estructura química (figura 1) consiste principalmente de unidades de maltotriosa (3 moléculas de glucosa unidas por enlaces α -1,4) unidas por enlaces α -1 \rightarrow 6 [9].

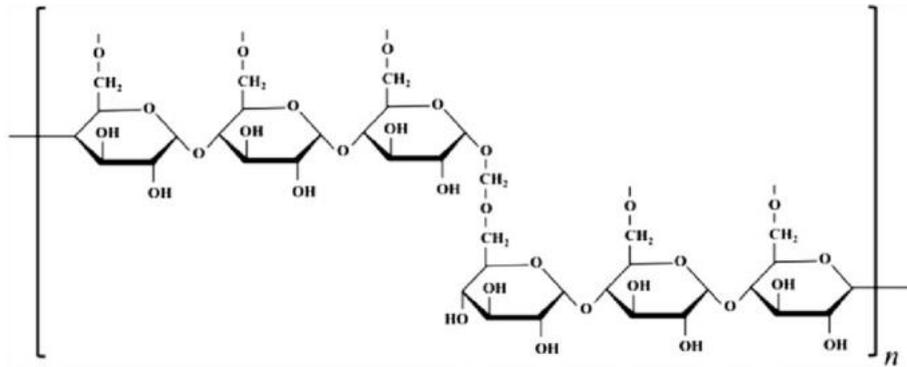


Figura 1. Esquema de la estructura química del pululano [8].

La biocompatibilidad, biodegradabilidad, bioactividad y bajo grado de toxicidad del pululano hace que sean muy atractivos para diversas aplicaciones como biomaterial en área médica y farmacéutica, así como en la industria alimentaria.

Además, el pululano demuestra propiedades físicas distintivas, como la capacidad adhesiva, la capacidad de formar fibras y películas finas biodegradables, transparentes e impermeables al oxígeno [10].

En la industria de alimentos, el pululano es una importante fuente industrial de material polimérico con fines gastronómicos, así como en dietas especiales (pacientes diabéticos u otros con restricciones alimentarias) [11]. Además, las películas de pululano se utilizan para recubrir y estabilizar con eficacia colorantes, aromas e ingredientes funcionales; así como, se emplea como recubrimiento de grageas o como cápsulas para los complementos alimenticios y medicamentos.

Adicionalmente, se utilizan como películas de disolución oral rápida con propiedades antisépticas y para la prevenir la halitosis cuando combinan con otros ingredientes como el mentol, carragenano, xantana y timol.

3.1.1. Obtención del pululano

La producción comercial se inició en 1976 por la compañía japonesa, Hayashibara Company, siendo esta compañía el principal fabricante de este biopolímero en la actualidad. Se obtiene por fermentación de cultivos del microorganismo *A. pullulans*. Este hongo es un organismo ubicuo, encontrándose en el suelo, en el agua de los lagos, en la superficie de las películas de pintura de látex, en los materiales plásticos sintéticos, en los cosméticos de uso compartido y en alimentos como los cereales, frutas, queso y tomate.

El *A. pullulans* es un hongo polimórfico y sus tres formas distintivas son: filamentos alargados septados ramificados, grandes clamidosporas y células paralípticas similares a las levaduras. Un rasgo característico indeseable de *A. pullulans* es la producción de pigmento oscuro, que es un compuesto similar a la melanina y tiene un color entre verde oscuro y negro [12]. Esta especie es de interés práctico debido a la producción de polisacáridos extracelulares que se aplican ampliamente en biotecnología. Existen dos variedades de esta especie: variedad *pullulans* y variedad *aubasidanie*, que se distinguen por sus características moleculares, su fisiología nutricional y la estructura de los polisacáridos elaborados por ellas. La producción de pululano se estimula con sulfato de amonio como fuente de nitrógeno.

Además del *A. pullulans*, se han descrito otros microorganismos recogidos a Tabla 4 como productores del polisacárido pululano [12].

Microorganismos

Aureobasidium pullulans

Tremella mesentérica

Cytaria hariatii

Cytaria darwinii

Cryphonectria parasítica

Teloschistes flavicans

Rhodototulas bacarum

Tabla 4. Microorganismos que producen pululano.

Los polisacáridos producidos microbianamente tienen propiedades muy útiles para diferentes aplicaciones industriales. Durante el proceso de fermentación y tratamiento posterior de la producción de exopolisacáridos, las características del medio líquido cambian drásticamente. Al principio, el líquido tiene un comportamiento newtoniano con una viscosidad similar a la del agua pura, pero la formación de exopolisacáridos da lugar a un aumento rápido de la viscosidad aparente y a un cambio en la reología newtoniana [13].

El pululano se obtiene por fermentación en tanques donde los cultivos de *A. pullulans* son agitados y aireados a una temperatura de 30 °C y su formación depende de varios factores, como el pH, la temperatura, el sustrato, la temperatura y la cepa. El rendimiento es más del 70% del sustrato inicial. Las condiciones de cultivo y la selección de las cepas son importantes para obtener pululano de alto peso molecular el cual es relativamente libre de melanina.

A. pullulans se cultiva por lotes en un medio que contiene almidón hidrolizado de dextrosa, a una concentración del 10-15%. El medio además incluye peptona, fosfato y sales basales. El pH del cultivo se ajusta inicialmente a pH 6,5, y desciende especialmente durante las primeras 24 h, hasta un pH final de aproximadamente pH 3,5. El crecimiento máximo del cultivo se produce en 75 h, y se obtienen rendimientos óptimos de pululano en unas 100 h [14].

A. pullulans, se le denomina levadura negra, ya que como se ha indicado anteriormente, produce melanina que posee coloración oscura. La formación de melanina (dark green/black pigment) es el principal obstáculo en la fabricación de pululano porque requiere de un proceso adicional de desmelanización que incrementa los costes de producción. Por ello, actualmente se está buscando cepas que no produzcan melanina [15] o actuando sobre las condiciones de cultivo para optimizarla y obtener la menor pigmentación de melanina [16]. Para obtener el exopolisacárido producido por los microorganismos a partir del caldo de fermentación, se debe eliminar las células y los pigmentos de melanina producidos durante la fermentación. La biomasa de *A. pullulans* en el caldo fermentado puede eliminarse por filtración de membrana de flujo cruzado. La etapa de precipitación es necesaria para la recuperación del pululano y puede llevarse a cabo utilizando disolventes orgánicos, como el etanol. La purificación adicional del pululano puede lograrse mediante ultrafiltración y resinas de intercambio. El pululano se seca en horno a 80 °C y se tritura mecánicamente para convertirlo en polvo [17]. La melanina es eliminada por tratamiento con carbón activado. En la figura 2 se muestra un esquema del proceso, transformación y aplicación del polisacárido pululano.



Figura 2. Producción, transformación y aplicaciones del pululano [17].

3.1.2. Modificaciones o derivatizaciones del pululano

El pululano puede derivatizarse fácilmente para mejorar su actividad y ampliar la ventana de sus aplicaciones. La modificación del pululano es necesaria para combinar las ventajas del polímero natural con otras sustancias, de modo que podamos obtener un compuesto único con propiedades fisicoquímicas mejoradas [18].

La estructura del pululano consiste en unidades repetidas de maltotriosa. Cada unidad de maltotriosa tiene nueve grupos hidroxilo. La modificación puede realizarse introduciendo pequeños grupos funcionales, como carboximetilo, acetato, sulfato, fosfato y alquilésteres, así como el injerto de cadenas poliméricas o de masas lipófilas. Mediante reacciones de oxidación, esterificación, eterificación, derivación de uretano, sulfatación, aminación, etc., dando lugar a la formación de un gran número de derivados.

Con estas derivatizaciones se obtienen soluciones de pululano con variada viscosidad.

Reacciones como [19]:

- La carboximetilación es la reacción más utilizada para modificar químicamente los polisacáridos neutros o favorecer su solubilidad en soluciones acuosas.
- Derivatización del pululano mediante una reacción con azufre. La propiedad final del pululano sulfatado depende de la temperatura, el disolvente y la duración de la acción, así como del reactivo utilizado para la sulfatación.

La derivatización de pululano ha ganado mucha aceptación para mejorar su capacidad de encapsulación y liberación controlada de fármacos, lo que lo hace adecuado para aplicaciones en el campo de la medicina y la farmacología [20].

3.1.3. Usos del pululano

Como se ha indicado en apartados anteriores, el pululano es un polisacárido ampliamente utilizado en varios sectores [21]. A continuación se indican las principales aplicaciones.

3.1.3.1. Médicas-farmacéuticas

- Aplicaciones farmacéuticas

Un soporte o vehículo de fármacos eficaz debe tener una geometría adecuada para encapsular el fármaco y reducir su degradación mientras circula por el torrente sanguíneo. Estos soportes son modificados con elementos reconocibles, que ayudan a dirigir el fármaco al órgano o las células deseados y reducen la citotoxicidad de un fármaco para las células normales [22]. Los vehículos de fármacos basados en biopolímeros son altamente biodegradables y no tienen toxicidad hematológica. Las formulaciones que contienen pululano y sus derivados, disponen de una elevada permeabilidad y capacidad de retención del fármaco. Es por ello, que son considerados vehículos efectivos de fármacos [23].

El pululano es un excelente portador de moléculas terapéuticas que se dirigen directamente a diversos órganos corporales como el hígado, los pulmones, el cerebro, el bazo, etc. y libera moléculas, por lo que puede ser utilizado con éxito para el transporte de fármacos [24].

Se utiliza en diversas formas farmacéuticas parenterales, oculares, tópicas y orales.

-Las formas de dosificación parenteral o inyectable: ofrecen la ventaja de una administración completa y un rápido inicio de acción. Las formas farmacéuticas parenterales se han utilizado para administrar nutrientes, medicamentos y medios de contraste.

-Para dosificación ocular: Se han desarrollado bioconjugados a base de pululano para la liberación intravítrea prolongada de fármacos, o se han modificado lentes de contacto convencionales utilizando pululano para incorporar un medicamento antibacteriano de acción prolongada. Además, se han desarrollado nanofibras a base de pululano para el tratamiento de la queratomycosis [25].

-Aplicación tópica: preparados tópicos a base de pululano para la cicatrización de heridas, hidrogeles y películas a base de pululano para la dermatitis atópica y la protección de la piel. Se ha desarrollado una formulación ungueal a base de pululano para mejorar el tratamiento de la oncomycosis. Recientemente, se ha explorado una forma de administración vaginal mucoadhesiva a base de pululano para las infecciones fúngicas [26, 27].

-En formulaciones orales: sólidas (cápsulas, películas y comprimidos) y formas farmacéuticas líquidas (jarabe y suspensión). En formulaciones orales sólidas, el pululano puede utilizarse como fuente alternativa de cubierta de cápsulas duras [28] y blandas [29]. Muchos medicamentos tienen un sabor amargo o desagradable; es por ello, que las cápsulas ofrecen un excelente enmascaramiento del sabor para la mayoría de los fármacos y una mejora de la solubilidad tras la ingestión. Las cápsulas a base de pululano ofrecen la ventaja de tener un nivel ideal de sorción-desorción de humedad, es decir, la cápsula permanece intacta para un amplio rango de contenido de humedad [30]. El recubrimiento protege de la absorción de humedad a los materiales higroscópicos (quitosano, almidón de patata, etilcelulosa, etc.) que se encuentran en el interior de las cápsulas. Las cápsulas recubiertas de pululano también se han utilizado como soporte para la estabilización a largo plazo de enzimas [31] y sus sustratos por las propiedades impermeables al oxígeno que ofrece el pululano [32].

Así mismo, también es utilizado como recubrimiento de comprimidos donde también enmascara el sabor desagradable de los fármacos, facilita ingesta y reduce la influencia ambiental (aire/luz/humedad) sobre los principios activos del fármaco.



Figura 3: Cápsulas duras de pululano para fármacos o complementos alimenticios [33].

Como se ha indicado, el pululano tiene capacidad para formar películas y, por ello, se utiliza en la preparación de películas de disolución oral [34,35]. Éstas se han utilizado para el tratamiento de la gingivitis, el mal aliento y la placa dental. Al colocar la película en el tejido de la mucosa oral, se disuelve rápidamente en la saliva y luego se desintegra para liberar el principio activo [36].



Figura 4: Película de fácil disolución de pululano [37].

- Aplicaciones médicas

- En implantes: el pululano presenta la propiedad de cicatrización tisular, además que la solución de pululano es estable y resistente al calor, la convierte en el material ideal para implantes que pueden esterilizarse con calor.
- Hidrogeles basados en pululano ofrecen una mejor regeneración tisular en comparación con los andamios basados en cerámica [38].
- Formación de hueso mediante un andamio compuesto a base de pululano-reparación ósea (pequeños defectos).
- Vendaje de heridas para favorecer la cicatrización de heridas y efecto antibacteriano.
- Proliferación celular y formación de conglomerados celulares.
- Sustituto del plasma sanguíneo
- Agente antiadherente para tejidos postoperatorios [39].

3.1.3.2. *En cosmética*

La piel es un órgano que constituye una barrera contra las infecciones y las lesiones físicas de los órganos internos. Tiene dos capas, la epidermis externa y la dermis interna. La capa interior de la dermis es una estructura esponjosa que mantiene la piel hidratada y conserva su brillo. La capa externa de la epidermis es químicamente no reactiva, dura, impermeable y elástica, lo que protege a la capa interna de cualquier daño causado por el contacto directo con el medio ambiente. También impide el paso de cualquier material de cuidado personal a las capas interiores de la piel. Un portador eficaz puede formular un producto cosmeceútico innovador capaz de atravesar la barrera cutánea y liberar el activo en la capa adecuada de la piel. La entrega de un ingrediente a la capa específica reestablece la comunicación intercelular y ayuda a hidratar y renovar la estructura de la dermis envejecida o afectada.

El pululano es biodegradable, no irritante, no tóxico por naturaleza y altamente biocompatible. Es completamente no inmunogénico, no mutagénico y no cancerígeno por

naturaleza. Tiene una alta absorción de humedad, pegajosidad y es altamente soluble en agua. Se puede utilizar como portador potencial de los ingredientes activos y su liberación específica a las capas de la piel para aplicaciones cosméticas [40].

El pululano se ha utilizado en varios productos cosmeceúticos, como lociones corporales, polvos compactos, champús para el cabello y productos para el cuidado dental.

Se han formulado mascarillas faciales a base de pululano que regeneran la estructura de la piel y también poseen potentes aplicaciones cosmeceúticas [41]. Las microagujas autodisolventes a base de pululano se han utilizado para la administración transdérmica de biomoléculas cosméticas pequeñas y grandes. También, se ha descrito el uso de pululano en envolturas faciales para blanquear la piel y tratar la hiperpigmentación cutánea local o sistémica, como quemaduras solares, pecas, etc. También se ha descrito la actividad fotoprotectora, blanqueadora de la piel y antienvjecimiento del pululano, que puede utilizarse en la preparación de productos cosméticos para el cuidado facial, corporal y capilar. La necesidad de utilizar biomateriales como el pululano, nanofibrillas de quitina, nanolignina y sus derivados, es útil para reconstruir la piel en pacientes ancianos [42].

3.1.3.3. *En alimentación*

El pululano puede utilizarse eficazmente:

- en películas comestibles gracias a sus características como ingrediente alimentario y como formador de películas.
- como recubrimiento de alimentos y material de envasado [43]. La resistencia al oxígeno de las películas de pululano es adecuada para la protección de grasas y vitaminas fácilmente oxidables en los alimentos, por ello, pueden emplearse como material de recubrimiento o envasado de alimentos secos, como frutos secos, fideos, golosinas, verduras y carnes [44].
- como sustituto del almidón en fórmulas alimentarias bajas en calorías en la industria alimentaria.
- como especia y saborizante. Se utiliza ampliamente en sopas, salsas y bebidas gracias a sus propiedades intensificadoras.
- Se emplea para estabilizar la calidad y la textura de la mayonesa, en pastas alimentarias y para adherir frutos secos a galletas.

La primera aplicación masiva del pululano fue en el envasado de alimentos, mediante la aplicación de una capa relativamente fina formada directamente sobre la superficie del producto alimenticio y que puede comerse junto con el producto.

Estos recubrimientos comestibles pueden ayudar a prevenir el deterioro de los alimentos retrasando la deshidratación, suprimiendo la respiración, mejorando la calidad de la textura, permitiendo la retención de compuestos volátiles del sabor y reduciendo el crecimiento

microbiano. Además, debido a su naturaleza hidrófila inherente, el pululano, como la mayoría de los polisacáridos, puede utilizarse ventajosamente como recubrimiento para la conservación de la calidad de frutas y verduras y como barrera contra los gases [45].

3.2. PVA - Alcohol de polivinilo

El alcohol polivinílico (PVA) es un polímero semicristalino, hidrófilo y con buena estabilidad química y térmica. Se ha estudiado intensamente porque tiene una gran hidrofiliidad, procesabilidad, biocompatibilidad, buenas propiedades físicas y mecánicas, biodegradabilidad completa, excelente resistencia química y una capacidad favorable para formar película [46].

Se presenta en forma de gránulos o polvo blanco. Comercialmente se encuentra disponible en diferentes grados que difieren en peso molecular o en el contenido de acetato y tiene color estable hasta 140 °C. El PVA forma un coloide reversible en agua caliente y es insoluble en agua fría [47]. Estas propiedades hacen que sea un producto utilizado en una amplia gama de aplicaciones en los sectores médico, cosmético, alimentación, farmacéutico y de envasado [48].

Las fibras de PVA pueden fabricarse mediante la técnica de electrospinning. Se pueden fabricar fibras de tamaño micro a nanométrico. El PVA también se utiliza para la fabricación de films, membranas, andamios, perlas, hidrogeles, etc. [49].

3.3. Técnica de electrospinning

La electrohilatura es una técnica sencilla y de bajo coste que permite producir nanofibras continuas. Electrospinning o electrohilatura es un proceso que emplea un campo eléctrico de alta intensidad para producir fibras ultrafinas a partir de una solución polimérica acelerada hacia un colector, que suele estar conectado a tierra para completar el circuito eléctrico debido a la presencia de movimiento de portadores de carga en la solución polimérica. En esta técnica, la solución de polímero se introduce en la jeringa y se coloca en la bomba de la jeringa, la cual bombea la disolución a través del capilar. Cuando aumenta la intensidad de la alta tensión, la tensión de la superficie de la gota se ve superada por la fuerza electrostática. Esto provoca la proyección de la gota de la solución polimérica en forma de chorro que es atraído hacia el colector metálico. Debido a este fenómeno, la gota se convierte en un cono, también conocido como cono de Taylor. La distancia entre el colector y la gota puede variar. El chorro de polímeros experimenta un proceso de elongación que lo convierte en un chorro de fibras finas. Simultáneamente, el disolvente se evapora [50], dejando en el colector una fibra no tejida, cargada y consolidada. En la figura 5, se representa los elementos y equipos de un sistema de electrohilatura para obtener nanofibras.

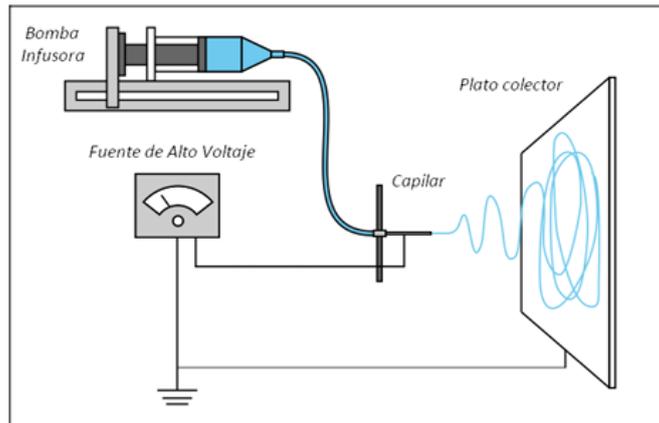


Figura 5. Esquema del sistema de electrohilatura [51].

La técnica de electrospinning [52]:

- produce nanofibras continuas de diámetro entre 2 nm y varias micras a partir de diversos polímeros, tanto naturales como sintéticos.
- es un proceso adecuado para compuestos sensibles al calor, ya que no hay calor involucrado en este proceso.
- Las nanofibras obtenidas ofrecen una elevada relación superficie-área-volumen, una alta porosidad y un pequeño tamaño de poro, lo que resulta ideal para la administración de fármacos y para usos biomédicos.

3.3.1. Factores que influyen en el proceso de electrohilatura

Las propiedades de las nanofibras obtenidas pueden diferir en función de determinados factores como [53]:

- las propiedades de la solución, como la viscosidad, la tensión superficial y la conductividad de la solución y la volatilidad del disolvente.
- los parámetros de procesamiento, como son la placa colector, la velocidad de flujo, el calibre de la aguja, la humedad, el voltaje y la distancia entre la punta y el colector.
- factores ambientales como la temperatura y la humedad.

Todos estos factores afectan a la porosidad, el tamaño y la forma de las nanofibras producidas [54]. En la tabla 5, se indican los parámetros y los efectos sobre la morfología de las nanofibras.

PARÁMETROS	EFFECTO SOBRE LA MORFOLOGÍA DE LAS FIBRAS
PARÁMETROS DE LA SOLUCIÓN	
VISCOSIDAD	Viscosidad alta se traduce en baja generación de microesferas, aumento del diámetro de las fibras y desaparición de las microesferas.
CONCENTRACIÓN DEL POLÍMERO	Aumento del diámetro de las fibras con el aumento de la concentración
PESO MOLECULAR DEL POLÍMERO	Reducción del número de microesferas y gotitas con el aumento del peso molecular
CONDUCTIVIDAD	Disminución del diámetro de la fibra con un aumento de la conductividad
TENSIÓN SUPERFICIAL	No hay relación concluyente con la morfología de la fibra, la alta tensión superficial provoca la inestabilidad de los chorros
PARÁMETROS DE PROCESADO	
VOLTAJE APLICADO	Disminución del diámetro de la fibra al aumentar la tensión
DISTANCIA ENTRE LA AGUJA Y EL COLECTOR	Generación de cordones/perlas con distancia demasiado pequeña y demasiado grande, distancia mínima necesaria para fibras uniformes
FLUJO DE BOMBEO	Disminución del diámetro de las fibras con la disminución del caudal, generación de microesferas con un caudal demasiado elevado.
TIPO DE COLECTOR	Influyen en la morfología estructural de las fibras electrohiladas. Un colector no conductor crea una estructura porosa con poros circulares en las superficies de las fibras
PARÁMETROS AMBIENTALES	
HUMEDAD	La humedad elevada produce poros circulares en las fibras
TEMPERATURA	El aumento de la temperatura provoca una disminución del diámetro de las fibras

Tabla 5. Parámetros del proceso de electrohilatura y los efectos sobre la morfología de las nanofibras [55].

La selección del disolvente, también es determinante debido a que los disolventes son responsables de disolver el polímero y transportarlo hacia el colector. Las propiedades que se buscan son disolventes con bajo punto de ebullición y volatilidad. Así como, se tienen en cuenta la tensión superficial y la viscosidad [56].

Algunos de los disolventes más utilizados son el agua, etanol, la dimetilformamida, el diclorometano, el cloroformo y el ácido trifluoroacético.

3.3.2. *Polímeros utilizados*

La característica más atractiva de esta técnica es la posibilidad de producir fibras a partir de biomateriales poliméricos. El electrospinning se considera un proceso adecuado para la fabricación de nanofibras a base de polímeros naturales, como el PVA, pululano, alginato, colágeno, quitosano, fibroina de seda, gelatina, entre otros [7, 57]. Aunque también, se han explorado las nanofibras de polímeros sintéticos como el poliuretano, polietileno-co-vinilacetato, ácido poliláctico, poli ϵ -caprolactona y poli-lactida-co- ϵ -caprolactona.

No obstante, sintéticos o naturales, tienen sus ventajas e inconvenientes, presentando los polímeros naturales la propiedad de ser biocompatibles; pero sin embargo, ofrecen propiedades mecánicas y procesabilidad inferior a los polímeros sintéticos, que destacan por su resistencia mecánica. Por el contrario, los polímeros sintéticos son poco hidrofílicos haciendo su uso en aplicaciones médicas sea limitada por su baja adhesión celular [58].

Se puede producir una amplia gama de fibras de diferentes grosores, geometrías y materiales mediante esta técnica de electrospinning que también ofrece la oportunidad de controlar la morfología, la composición y la porosidad.

3.3.3. *Tipología de nanofibras*

El electrospinning es una técnica que permite crear nanofibras con diferentes formas y propiedades para diversas aplicaciones. En la tabla 6 se muestran las diferentes morfologías de nanofibras que se pueden obtener.

TIPO NANOFIBRA	FORMA DE OBTENCIÓN
PLANAS	<ul style="list-style-type: none"> - Evaporación no homogénea del disolvente empleado. - Por la presión atmosférica. - Por utilizar un polímero de alto peso molecular o por elevada concentración de polímero [48, 59].
HELICOIDALES	<ul style="list-style-type: none"> - Por el pando que sufren las fibras al impacto sobre la superficie colectora, - Se ve favorecida por el ángulo de expulsión del chorro y por la alta concentración de polímero en la solución; por extrusión syde by

	<p>syde, donde se utilizan dos polímeros de distinta tipología, uno de ellos debe ser un elastómero termoplástico flexible y el otro rígido [60].</p>
RAMIFICADAS	<ul style="list-style-type: none"> - Entre la tensión superficial y las fuerzas electroestáticas, pues se puede generar una extrusión del chorro inestable provocando ramificaciones [61].
HUECAS	<ul style="list-style-type: none"> - Utilizando un capilar coaxial, el polímero se extruye en la membrana exterior de la nanofibra y en el interior se extruye otro compuesto inmisible con la membrana, pero de fácil disolución, que suele tratarse de aceites [62].
PERLADA	<ul style="list-style-type: none"> - La aparición de perlas viene dada por la baja concentración de polímero en la solución. Al aumentar la viscosidad de la solución también aumenta fuerza viscoelástica que se opone a las fuerzas de Coulomb [61], por lo que se obtendrán fibras lisas [63].
POROSAS	<ul style="list-style-type: none"> - Presencia de una alta humedad durante el proceso de electrohilado de las fibras. - Electrohilado de soluciones heterogéneas con separación de fases [64].
MEMBRANA-NÚCLEO	<ul style="list-style-type: none"> - Electrohilado coaxial multifluídico de tres capas, de esta forma se pueden utilizar dos compuestos incompatibles o miscibles entre ellos separándolos con una capa intermedia que posteriormente se puede eliminar [65].
MULTICANAL	<ul style="list-style-type: none"> - Electrohilado multicanal donde se presenta un capilar con un compuesto exterior que realiza la función de membrana y en su interior se introducen tres capilares de menor tamaño que extruyen otro material inmisible con la membrana. Posteriormente, mediante un proceso químico se elimina el compuesto interior [66].

Tabla 6. Morfologías de nanofibras y motivo de su obtención.

3.3.4. *Proceso de electrohilado*

Como se ha indicado anteriormente. el proceso de electrohilatura consta principalmente de una bomba de alimentación de la solución, una boquilla conductora conectada a un terminal de alta tensión y un colector conectado al terminal de tierra. Los principales pasos de este proceso son [67, 68]:

- Preparación de la solución polimérica: En primer lugar, se prepara una solución del polímero que se va a utilizar. Esta solución puede contener el polímero disuelto en

un solvente apropiado para obtener la viscosidad y la concentración adecuadas para el electrohilado.

- Carga del material en la jeringa o recipiente: La solución polimérica se carga en una jeringa o un recipiente especial que está conectado a una aguja o boquilla metálica fina. Esta aguja actuará como el emisor de la solución durante el proceso.
- Generación del campo eléctrico: Se aplica un alto voltaje entre la aguja (o boquilla) y un colector situado a cierta distancia del emisor. El colector suele ser una placa metálica o un tambor giratorio recubierto con un sustrato que recogerá las nanofibras.
- Formación del chorro líquido: Cuando se aplica el alto voltaje, se genera un campo eléctrico intenso alrededor de la punta de la aguja. Esto provoca que la solución polimérica se vea sometida a fuerzas electrostáticas, lo que resulta en la formación de un fino chorro líquido que se proyecta hacia el colector.
- Estiramiento y solidificación de las nanofibras: A medida que el chorro líquido se estira y adelgaza las fuerzas radiales de la carga pueden llegar a ser lo suficientemente grandes como para superar las fuerzas de cohesión de las fibras y éstas se dividen en dos o más fragmentos. Las fibras se separan entre sí debido a las fuerzas de impulsión procedentes de los iones cargados en el interior del chorro de electrohilado, lo que permite que las fibras se solidifiquen antes de llegar al colector. Además, la rápida evaporación del solvente conduce a la formación de nanofibras sólidas y continuas.
- Deposición y recolección de las nanofibras: Las nanofibras sólidas se depositan sobre el colector, formando una malla o película de nanofibras en la superficie. La distancia entre la aguja y el colector, así como la velocidad de rotación del colector (en el caso de un tambor giratorio), influyen en la morfología y la distribución de las nanofibras.

3.3.5. Aditivos

En las disoluciones poliméricas se pueden emplear determinados compuestos para modificar sus propiedades y, consecuentemente, tener efectos sobre las características y morfología de las nanofibras producidas. Algunos de estos compuestos o aditivos utilizados son [69,70]:

- Tensioactivos: Los tensioactivos, también conocidos como surfactantes, son compuestos químicos que tienen la capacidad de reducir la tensión superficial de un líquido. En el caso del electrospinning, se agregan tensioactivos a la solución polimérica para modificar su viscosidad y tensión superficial, lo que puede afectar a la formación de las fibras durante el proceso de electrohilado.

Algunos de los efectos que los tensioactivos pueden tener en el electrospinning incluyen:

- Mejora de la dispersión: Los tensioactivos pueden ayudar a dispersar el polímero en el disolvente, mejorando así la homogeneidad de la solución, lo que puede ayudar a la formación de fibras uniformes.
- Reducción de la tensión superficial: Los tensioactivos pueden disminuir la tensión superficial de la solución, lo que facilita la formación de gotas más pequeñas durante el proceso de electrohilado, lo que se manifiesta produciendo fibras más delgadas.
- Control de la viscosidad: Los tensioactivos pueden modificar la viscosidad de la solución polimérica, influyendo en la velocidad de extrusión y en la mejora de formación de fibras más estables, previniendo la formación de gotas irregulares.
- Sales: La adición de sales en la disolución polimérica a electrohilar puede tener varios efectos en la formación de las fibras:
 - Modificación de la conductividad: La adición de sales aumenta la conductividad de la solución polimérica y la densidad de carga superficial del chorro de solución, lo que beneficia el proceso de electrohilado porque mejora la estabilidad del proceso y previene la formación de gotas irregulares. Así mismos, la adición de sales puede ayudar a controlar la formación y el diámetro de las fibras. Conforme a la bibliografía consultada, la adición de sales a las soluciones poliméricas reduce los defectos de los cordones y disminuye el diámetro de las fibras.
 - Además, agregar algunos tipos sales en la disolución puede producir un aumento de la viscosidad lo que puede conllevar a la obtención de fibras más gruesas. Es por ello, que la adición de sales puede ser útil para ajustar la viscosidad de la solución y controlar el diámetro de las fibras electrohiladas.
 - Por otro lado, la presencia de sales puede afectar la cristalinidad, la morfología o las propiedades mecánicas de las fibras.

3.3.6. *Aceite esencial de Salvia*

La planta de la especie *Salvia officinalis* L. presenta en su composición química abundantes metabolitos, entre los cuáles encontramos los aceites esenciales en una proporción entre el 1,5 y 2,0 %. Los aceites esenciales son compuestos naturales, líquidos volátiles, de composición compleja con agradable aroma, que provienen de plantas a las que aportan olores particulares y que son obtenidos mediante múltiples técnicas de extracción.

Al aceite esencial de salvia se le atribuye acción antibacteriana y antifúngica. Es por estas propiedades que es ampliamente utilizado en el sector farmacológico, cosmético y alimentario, con la finalidad de proteger frente a la contaminación y crecimiento de bacterias y hongos [71].

Los aceites esenciales son volátiles y altamente sensibles a la degradación física y química, es decir, se descomponen fácilmente por la exposición directa al calor, la humedad, la luz y/o el oxígeno, tanto durante su extracción, manipulación y uso, modificando su color y olor o viendo degradadas sus propiedades [72].

Debido a la fácil degradación de los aceites esenciales, se buscan diferentes técnicas para proteger y preservar al aceite esencial, aumentando así la estabilidad de los activos e impidiendo las reacciones de oxidación que lo degrada y, por lo tanto, asegurar su actividad biológica [73].

4. ANTECEDENTES

Estudios previos han utilizado el polímero PVA en una concentración de 9% para su electrohilado con el objetivo de implementar y desarrollar un protocolo de uso para la maquinaria de electrohilado del Departamento de Ingeniería Textil y Papelera de la Universitat Politècnica de València, Campus de Alcoy. Las muestras utilizadas en este estudio, se depositaron sobre diferentes sustratos: aluminio y tejido de algodón para determinar su capacidad de adhesión. Adicionalmente, se determinaron la solubilidad en agua de los velos de nanofibras formados [74].

Los resultados de estos estudios se han tenido en cuenta para la valoración y comparación de los resultados obtenidos con el pululano. No obstante, para reducir cualquier desviación provocada por parámetros, aspectos o factores ambientales, se ha llevado a cabo el electrohilado de disolución de 9% de PVA, así como los ensayos de solubilidad, transpirabilidad y adhesión de estas muestras de forma paralela a la presente investigación con el polímero pululano.

Con la intención de igualar la concentración del pululano a la concentración de PVA del 9%, se ha realizado la aditivación de las soluciones de electrohilatura con diferentes sales, basado en ensayos previos realizados por investigaciones del pululano con la adición de sales para aumentar la conductividad ante la disminución de la concentración del polímero en la disolución. En la investigación de Li, Ran, et al. 2017, se utilizaron las sales de cloruro sódico (NaCl) y citrato sódico ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) en disoluciones con menor concentración de pululano, alterando las propiedades como la viscosidad, la conductividad eléctrica y la tensión superficial, para obtener fibras planas con mayores tamaños de diámetro y algunos defectos en función de la concentración de sales utilizada [70].

5. INNOVACIÓN DEL PROYECTO

Dadas las características del pululano que lo hacen idóneo para su utilización en contacto con el ser humano, ya sea como producto alimenticio, cosmético, médico o farmacéutico, es necesario investigar y ampliar los conocimientos sobre el proceso de electrohilatura de este polímero para obtener un no tejido de nanofibras que pueda contener activos con un alto potencial de aplicación en los sectores anteriormente citados.

Tras realizar el estado del arte se ha comprobado que el pululano tiene multitud de aplicaciones y usos, pero son pocas las que emplea un velo sobre un sustrato textil. Este sustrato textil, podría actuar como soporte del pululano, como por ejemplo en forma de apósito o vendaje para uso médico o cosmético de aplicación en heridas o sobre la piel aportando propiedades o efectos curativos; o en el sector alimentario, como un no tejido sobre el que se deposita el velo de pululano que contiene activos que ayudan a preservar alimentos frescos.

La posibilidad de obtener una estructura textil con un velo de nanofibras funcionalizado, que sumado a la biocompatibilidad, solubilidad y ausencia de toxicidad del polímero, hace a las nanofibras de pululano una alternativa factible y eficaz para estas aplicaciones.

Tal y como se ha indicado en el objetivo, este estudio pretende determinar y optimizar las condiciones de electrohilatura y comprobar la posibilidad de que el velo pueda actuar de vehículo y protección de sustancias que puedan aplicarse al ser humano de forma sencilla e inocua.

.

6. EXPERIMENTAL

En esta sección se proporciona una descripción exhaustiva de los materiales empleados en el estudio, así como de los métodos y protocolos utilizados para llevar a cabo el proyecto. Se detalla el proceso de electrohilado de nanofibras, incluyendo los parámetros empleados. Por último, se llevan a cabo pruebas en las muestras obtenidas para su caracterización y para lograr los objetivos expuestos en el proyecto.

6.1. Materiales

Para la realización de los estudios que se detallan en este trabajo se utilizó Pululano fabricado por Tokyo Chemical Industry CO. Ltd. que presenta un peso molecular aproximado de 200 kDa (kiloDalton) y alcohol de polivinilo (PVA) de peso molecular 61 kDa suministrado por Sigma-Aldrich. Otras sustancias químicas utilizadas han sido Cloruro sódico (NaCl), citrato sódico ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) del proveedor Panreac AppliChem, Aceite esencial de Salvia del proveedor Esencias Martínez Lozano y surfactante Tween 80 PS de Panreac. Se ha empleado agua desionizada para preparar las disoluciones acuosas, obtenida por el sistema de desionización Seta OSMO BL-6. Como sustratos colectores para las nanofibras se ha utilizado film de aluminio y tejido de 100% algodón crudo con un ligamento tafetán, de gramaje de 220 g/m², una densidad de urdimbre de 16 hilos/cm y una densidad de trama de 15 pasadas/cm.

6.2. Preparación de disoluciones de electrohilatura

6.2.1. Disoluciones de pululano

Para la preparación de las disoluciones de pululano a distintas concentraciones, se pesa la cantidad de pululano necesaria y se mezcla con agua destilada o disolución salina, según tipo de muestra. Se mantiene en agitación a 900 r.p.m. al menos 4 horas utilizando un agitador magnético para las disoluciones de pululano al 9% y un homogeneizador para las de mayor concentración. Posteriormente, se conserva al menos 24 horas en nevera para la eliminación de burbujas de aire.

Las disoluciones de sales, cloruro sódico o citrato sódico a diferentes concentraciones, se preparan mezclando la cantidad conveniente de la sal y se disuelve en agua destilada.

Las disoluciones preparadas han sido:

- Concentración de pululano: 9%, 15% y 20%
- Concentración de cloruro sódico (NaCl): 0,1M, 0,2M, 0,5M, 1M

-Concentración de citrato sódico ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$): 0,5M, 0,05M

En la tabla 7 se describen las muestras que han sido sometidas a los diferentes ensayos y que se han utilizado en el proceso de electrohilado:

MUESTRA	CONCENTRACIÓN PULULANO % W/V	CINa [M]	CITRATO SÓDICO [M]
MUESTRA 1	9	0	0
MUESTRA 2	20	0	0
MUESTRA 3	9	0,5	0
MUESTRA 4	9	0	0,1
MUESTRA 5	9	0,1	0
MUESTRA 6	9	0,2	0
MUESTRA 7	9	1	0
MUESTRA 8	9	0	0,05
MUESTRA 9	15	0,1	0
MUESTRA 10	15	0,2	0
MUESTRA 11	15	1	0
MUESTRA 12	15	0	0
MUESTRA 13	20	0	0
MUESTRA 14	20	0,1	0

Tabla 7. Relación de muestras preparadas con el polímero pululano, indicando concentración del polisacárido y de sales utilizadas.

6.2.2. Preparación de disolución de PVA

La disolución del polímero PVA se prepara al 9% w/v, pesando el alcohol de polivinilo y disolviéndolo en agua destilada. Se homogeneiza utilizando un agitador electromagnético a 900 r.p.m. y una temperatura de 80°C hasta completa disolución. Posteriormente, se deja enfriar a temperatura ambiente.

MUESTRA	CONCENTRACIÓN PVA % W/V
MUESTRA 15	9

Tabla 8. Muestras preparadas con el polímero PVA, indicando concentración.

6.2.3. Preparación de la disolución con aceite esencial

La disolución de pululano con aceite esencial se prepara al 20% w/v del polímero, pesando el pululano y disolviéndolo en agua destilada. Se añade aceite esencial y el tensioactivo y se mezcla utilizando un homogeneizador a 3000 r.p.m. hasta obtener una emulsión homogénea.

MUESTRA	CONCENTRACIÓN PULULANO % W/V	ACEITE ESENCIAL SALVIA	TWEEN 80
MUESTRA 16	20	20% sobre peso polímero	20% sobre peso Aceite

Tabla 9. Muestra preparada con el polímero pululano y aceite de salvia, indicando concentración del polisacárido, aceite y tensioactivo.

6.3. Métodos

6.3.1. Viscosidad

La viscosidad es una propiedad importante de los líquidos que describe la resistencia del líquido al flujo y está relacionada con la fricción interna en el líquido. En electrospinning, se puede relacionar la concentración del polímero con la viscosidad. Una mayor concentración supone una viscosidad mayor, es decir, un entrecruzamiento mayor entre las cadenas poliméricas que supone una resistencia al alargamiento y un tamaño de fibra superior [75]. La medición de la viscosidad en centipoise (cP) se ha realizado con el viscosímetro ViscoElite-R de Fungilab, se han utilizado los husillos R3, R5 y R6, en función de la concentración de polímero utilizado, y una velocidad de agitación de 200 r.p.m.



Figura 6. Viscosímetro ViscoElite-R.

6.3.2. pH

El pH es el Potencial de Hidrógeno. Es una medida para determinar el grado de alcalinidad o acidez de una disolución. Con el pH determinamos la concentración de hidrogeniones en una disolución. El pH puede influir en la viscosidad de la solución polimérica. Algunos polímeros son sensibles al pH y pueden experimentar cambios en su viscosidad en función

del pH de la solución por la ionización de grupos ácidos o básicos del polímero alterando las interacciones entre las cadenas poliméricas, lo que a su vez afecta la viscosidad.

Para conocer el valor del pH de la disolución se ha empleado el pH-Metro GLP 22 de Crison.



Figura 7. pH metro GLP 22 Crison.

6.3.3. Conductividad

La conductividad eléctrica es un parámetro importante en el proceso de electrohilatura porque afecta la formación y estiramiento de las fibras.

Una solución con una conductividad adecuada permite una transferencia eficiente de carga eléctrica desde la punta de la aguja o boquilla hacia la solución. Esto es esencial para generar un campo eléctrico suficientemente fuerte que pueda superar la tensión superficial de la solución y producir la elongación y estiramiento de las fibras.

La conductividad de la solución polimérica se puede ajustar mediante diferentes métodos, como la adición de sales o compuestos iónicos a la solución. Estos aditivos pueden aumentar la concentración de iones en la solución y mejorar su conductividad eléctrica.

Para la medición de la conductividad de las disoluciones ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ o $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$) de las disoluciones preparadas, se ha utilizado un Conductímetro Crison CM35 +.



Figura 8. Conductímetro Crison CM35 +

6.3.4. Tensión superficial

La tensión superficial se refiere a la fuerza que actúa en la superficie de un líquido y está relacionada con la cohesión de las moléculas en la interfaz líquido-aire.

La tensión superficial de la solución debe ser superada por la acción del campo eléctrico aplicado para lograr la formación de las fibras.

Para reducir la tensión superficial de la solución, se pueden añadir surfactantes o agentes tensioactivos a la solución, que disminuyen la cohesión de las moléculas en la interfaz líquido-aire.

Para el control de la tensión superficial ($\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$) de cada una de las disoluciones se utiliza un tensiómetro de fuerza Krüss.



Figura 9. Tensiómetro Krüss.

6.3.5. Electrohilatura

El proceso de electrohilado se lleva a cabo con el sistema de electrohilado Spinbox de Bioinicia, con una boquilla de calibre 22 y una superficie plana y vertical colectora, ambos de acero inoxidable. Los parámetros de electrohilado se ajustan en función de los requerimientos de cada disolución, controlando voltaje, caudal de bombeo, distancia entre electrodos y tiempo de electrohilado. Los valores de los parámetros empleados para cada disolución polimérica utilizada se indican en el apartado de resultados.



Figura 10. Equipo de electrohilatura utilizado Spinbox.

6.3.6. Ensayo de Adhesión

El ensayo de adhesión evalúa la fuerza de adhesión de las nanofibras al sustrato sobre el cual se ha depositado. El objetivo principal del ensayo es medir la resistencia de las nanofibras para mantenerse adherido al sustrato con la finalidad de determinar los sustratos sobre los cuáles tiene mayor o menor adhesión, lo cual puede influir en la aplicación a la cuál vaya destinado las nanofibras electrohiladas.

Se utiliza un protocolo desarrollado en interno, debido a la débil interacción entre el velo de nanofibras y el sustrato colector. El método consiste en situar una pequeña lámina de acetato transparente sobre el velo de nanofibras depositadas sobre el sustrato y se le aplica una serie de fuerzas durante un tiempo determinado. Finalmente se comprueba si se ha producido un traspaso de las nanofibras al acetato o se han mantenido adheridas al sustrato colector.

Para realizar este test se utilizan tres pesas diferentes: 200g, 297g y 594g

El tiempo del ensayo es de 2 minutos.

6.3.7. Ensayo de transpirabilidad

Este ensayo está basado en la norma UNE-EN 14683:2019+AC. Mascarillas quirúrgicas. Requisitos y métodos de ensayo. Anexo C. Método para determinación de la respirabilidad (presión diferencial) [76].

Se entiende por presión diferencial, la permeabilidad al aire de una probeta medida por la determinación de la diferencia de presión a través de la misma en condiciones específicas de flujo, temperatura y humedad del aire. La presión diferencial es un indicador de la transpirabilidad al aire de la probeta.

El equipo a utilizar mide directamente la diferencia de presión aplicada al material de ensayo, expresada en Pascales (Pa).

El equipo consta de:

- una válvula que regula la entrada de aire para suministrar un flujo constante que es medido por un caudalímetro en litros de aire por minuto (l/min).
- medidor de diferencial de presión (Airflow). El equipo muestra la diferencia de presión entre ambos lados de la probeta en Pascales (Pa).
- soporte donde se coloca la muestra, con un área de ensayo de 4,9 cm².

En la figura 11 se muestra el equipo utilizado para este ensayo.



Figura 11. Equipo de transpirabilidad.

6.3.8. Ensayo de solubilidad

El ensayo de solubilidad se utiliza para evaluar la capacidad de disolución de un velo de nanofibras en diferentes solventes. Este ensayo proporciona información sobre la

estabilidad y la resistencia del velo nanofibras a diferentes medios de disolución. Para este ensayo se selecciona como solvente el agua, aunque podría utilizarse diferentes solventes para proporcionar información importante sobre la estabilidad química y la resistencia del velo de nanofibras a diferentes medios de disolución relacionados con la aplicación a la que vaya destinado, como por ejemplo al sudor ácido o básico si se usa en contacto con la piel. Esto puede ser relevante para la selección de solventes adecuados en aplicaciones específicas, así como para evaluar la degradación o el deterioro de los materiales nanofibras con el tiempo.

Para determinar la solubilidad del velo de nanofibras generado, se corta un trozo de velo en una disolución de agua destilada y permanece sumergido durante 2 minutos. Durante este tiempo se evalúa el grado de solubilidad, observando visualmente el comportamiento del mismo cuando se sumerge con el agua y se evalúa visualmente si hay cambios en la apariencia del velo, como la disolución completa, la formación de aglomerados o cambios en la morfología de las fibras.

6.3.9. *Microscopía óptica*

Se observa la emulsión del polímero con el aceite de salvia para verificar la correcta homogeneización de la mezcla. Para se utiliza un microscopio óptico Kern, ocular de 10x y objetivo de 40x (x400 aumentos).



Figura 12. Imagen microscopio Kern.

6.3.10. *Microscopía Electrónica de Barrido de Emisión de Campo (FESEM)*

Para la observación de imágenes y el análisis de la superficie, se han utilizado dos microscopios electrónicos de barrido de emisión de campo, FIB de Zeiss y Phenom

Microscope (FEI Company, Hillsboro, OR, USA) con una tensión de aceleración de 1kV, 1,5 kV y 2kV, junto con un aumento adecuado. Cada muestra se coloca en una superficie y se recubre con una capa de oro o platino con la finalidad de transformarlas en conductoras utilizando el Sputter Coater EMITECH mod. SC7620 (Quorum Technologies Ltd., EastSussex, UK).



Figura 13. A la izquierda el Sputter Coater y a la derecha Microscopio Electrónico de Barrido de Emisión de Campo con Cañón de Iones Focalizados (FIB).

6.3.11. Análisis imágenes FESEM: Mediciones

De las imágenes obtenidas en el microscopio electrónico se realiza mediciones de nanofibras, microesferas y cordones de las diferentes muestras. Para ello, se utiliza el software ImageJ, que es un programa de análisis de imágenes utilizado en diversas disciplinas científicas y de investigación. ImageJ proporciona una amplia gama de herramientas y funciones para el procesamiento y análisis de imágenes digitales, entre las cuáles se encuentra la de medición y análisis de imágenes. ImageJ permite realizar mediciones precisas en las imágenes, como la longitud, el área, la densidad, la intensidad y otros parámetros cuantitativos. Para realizar las mediciones, se utiliza la escala aportada por las imágenes de FESEM y, se efectúa directamente sobre estas imágenes las mediciones de los elementos a medir.

6.3.12. ATR-FTIR - Reflectancia total atenuada - Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier

Se ha empleado la técnica del ATR-FTIR, para identificar y caracterizar los velos de pululano y pululano con aceite esencial basándose en sus espectros infrarrojos. Mediante la interacción de la radiación infrarroja con las moléculas, permite obtener información sobre los enlaces químicos presentes en una muestra. Con ello, se pretende determinar si el velo electrohilado a partir de la disolución polimérica pululano-aceite, contiene realmente aceite. Para ello, se ha utilizado el equipo Jasco FTIR 4700 IRT 5200 que aparece en la figura 14.



Figura 14. Imagen equipo ATR-FTIR

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En esta sección se presentan todos los resultados derivados de la investigación, abarcando desde los obtenidos en la preparación de las disoluciones y el proceso de electrohilado hasta los resultados obtenidos de las muestras ensayadas.

7.1. Caracterización de disoluciones poliméricas

Se determinaron los valores de pH, conductividad, tensión superficial y viscosidad de las disoluciones preparadas; porque, como se ha indicado anteriormente, son parámetros que influyen en el comportamiento de la disolución durante el proceso de electrohilado.

Los resultados obtenidos para cada muestra, recogidos en la tabla 10, representan la media de 3 mediciones realizadas de cada parámetro:

NºMuestra	Husillo	Viscosidad (cP)	pH	Conductividad (μ S/cm)	Tensión superficial (mN/m)
Muestra 1 PUL 9%	R-3	126	5,20	55,26	71,52
Muestra 2 PUL 20%	R-5	1667	5,13	56,61	76,32
Muestra 3 PUL 9% 0,5M NaCl	R-3	110	5,53	36070,00	69,03
Muestra 4 PUL 9% 0,5M citratona	R-3	149	5,06	14550,00	53,60
Muestra 5 PUL 9% 0,1M NaCl	R-3	123	5,43	7550,00	65,30
Muestra 6 PUL 9% 0,2M NaCl	R-3	131	5,36	13700,00	68,05
Muestra 7 PUL 9% 1M NaCl	R-3	140	5,40	51000,00	70,10
Muestra 8 pul 9% 0,05M citratona	R-3	131	5,31	8160,00	67,50
Muestra 9 PUL 15% 0,1M NaCl	R-5	689	5,39	6110,00	68,50
Muestra 10 PUL 15% 0,2M NaCl	R-5	745	5,22	12110,00	67,40

Muestra 11 PUL 15% 1M NaCl	R-5	798	5,47	44500,00	68,90
Muestra 12 PUL 15%	R-5	783	5,40	32,30	69,30
Muestra 13 PUL 20%	R-6	5008	5,44	38,10	70,13
Muestra 14 PUL 20% 0,1M NaCl	R-6	2145	5,18	4600,00	83,06
Muestra 15 PVA 9%	R-5	1807	5,82	125,10	66,70
Muestra 16 PUL20% + Aceite salvia	R-6	10998	2,40	211,00	65,70

Tabla 10. Resultados obtenidos de las diferentes disoluciones

➤ **Discusión de resultados obtenidas con la caracterización de las disoluciones**

-Tal y como era de esperar, la viscosidad aumenta considerablemente con el aumento de la concentración del polímero. También se ha comprobado la importancia de realizar las mediciones de la viscosidad en las mismas condiciones de temperatura, ya al dejar las disoluciones preparadas durante al menos 24 horas en nevera para eliminar las burbujas presentaban una viscosidad muy elevada, y al realizar las mediciones en frío (no reflejadas en el presente trabajo), ésta no pudo ser medida con el equipo y husillos disponibles.

-La adición de sales a las disoluciones aumenta considerablemente la conductividad, pasando de 30-50 μScm^{-1} a mScm^{-1} en las mediciones. Este aumento de la conductividad es proporcional a la concentración de la disolución salina utilizada.

-El valor del pH de las diferentes disoluciones no se ha visto alterado por la adición de sales ni por el aumento de la concentración del polímero. Sin embargo, la muestra 16 ha sufrido una disminución del valor con la adición de tensioactivo y del aceite esencial.

-En lo que respecta a la tensión superficial de las muestras no se puede establecer ninguna relación con la concentración del polímero y las sales, ya que éstas son similares en todas las muestras. En el caso de la muestra 16, se ha utilizado un tensioactivo por lo que se debería de haber apreciado una reducción de la tensión superficial, que no se refleja en el resultado obtenido, probablemente debido a que las concentraciones empleadas no son suficientes para generar un incremento sustancial.

7.2. Observación al microscopio óptico de la disolución polimérica de pululano con aceite

La disolución de pululano a la que se le ha adicionado aceite esencial de salvia ha sido observada al microscopio óptico tras la homogeneización, para apreciar la formación de la

emulsión. En la figura 15 puede observarse las gotas de aceite distribuidas homogéneamente en la disolución de pululano.

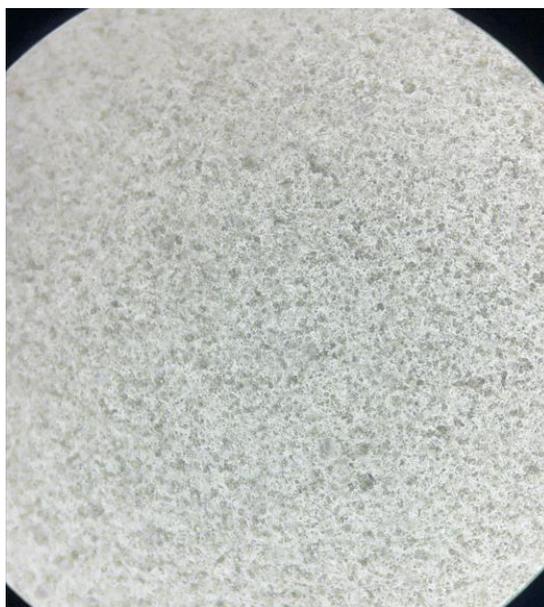


Figura 15. Disolución de pululano + aceite de salvia observada al microscopio óptico.

7.3. Electrohilado de las disoluciones

Las disoluciones se electrohilaban con el equipo Spinbox, ajustando los parámetros que a continuación se detallan, para la correcta formación del cono de Taylor y la obtención de un velo adecuado sobre los sustratos seleccionados de algodón crudo y film de aluminio. Los parámetros, con sus correspondientes unidades han sido:

- Voltaje (kilovoltios, kV)
- Velocidad de bombeo o caudal (litros/minuto, l/min)
- Tiempo de electrohilado (minutos, min)
- Distancia entre calibre y el colector (centímetros, cm)
- Calibre del capilar (Galga, G)
- Condiciones ambientales: Temperatura (grados, °C) y humedad (porcentaje, %).

En todas las muestras, se mantuvo constante:

- Tiempo electrohilado de 15 minutos.
- Calibre de la aguja de 22G.

Las condiciones ambientales de temperatura y humedad relativa son registradas pero no controlables.

En la tabla 11 se muestran los valores de los parámetros de electrohilatura registrados que difieren entre las distintas muestras:

Nº MUESTRA	Voltaje (kV)	Caudal (ml/h)	Distancia (cm)	TªAmb (°C)	Hr (%)
Muestra 1 PUL 9%	19,5	1,5	15	23,3	38
Muestra 2 PUL 20%	15,5	0,5	15	22,3	38
Muestra 3 PUL 9% 0,5M NaCl	21,0	0,5	12	22,3	38
Muestra 4 PUL 9% 0,5M citratoNa	Nd*	Nd*	Nd*	22,3	38
Muestra 5 PUL 9% 0,1M NaCl	17,7	0,8	15	25,0	55
Muestra 6 PUL 9% 0,2M NaCl	15,7	0,8	15	25,0	55
Muestra 7 PUL 9% 1M NaCl	18,4-16,8**	0,8	15	25,0	55
Muestra 8 pul 9% 0,05M citratoNa	15,8	0,8	15	23,7	55
Muestra 9 PUL 15% 0,1M NaCl	16,6	0,3	12	23,7	57
Muestra 10 PUL 15% 0,2M NaCl	16,6	0,3	12	23,7	57
Muestra 11 PUL 15% 1M NaCl	17,1	0,3	12	23,7	57
Muestra 12 PUL 15%	20,0	0,5	15	25,3	46
Muestra 13 PUL 20%	16,0	0,5	15	24,1	52
Muestra 14 PUL 20% 0,1M NaCl	19,8	0,35	15	24,6	54
Muestra 15 PVA 9%	19,5	0,5	15	24,6	54
Muestra 16 PUL20% + Aceite salvia	16,3	0,5	15	24,4	60

Tabla 11. Parámetros de proceso de electrohilatura de las diferentes disoluciones

*Nd: No disponible. No pudo electrohilarse la disolución

**El valor del voltaje variaba durante el tiempo del proceso de electrohilatura

➤ **Discusión de resultados obtenidas durante el proceso de electrohilado de las diferentes disoluciones poliméricas**

Sobre el proceso de electrohilatura de las muestras se aportan las siguientes observaciones y discusiones:

- ✓ En las disoluciones de pululano, el cono de Taylor se forma a una cierta distancia de la aguja. Es decir, primero se forma un chorro de polímero y a una distancia de 1-1,5cm desde la aguja se forma el cono de Taylor. Comportamiento diferente al mostrado por el PVA donde el cono de Taylor se forma a apenas unos milímetros de la salida de la aguja.

- ✓ Las disoluciones poliméricas con concentraciones altas de sales presentaban desestabilización a altos potenciales y ocasionan ruido o presencia de chispas en el equipo. Como aparece indicado en la tabla, no se ha podido realizar el electrohilado de la disolución de pululano al 9% con citrato sódico al 0,5M por este motivo.
- ✓ Las condiciones óptimas de electrohilado son diferentes en función de la concentración del polímero, la conductividad y viscosidad presentada por la disolución polimérica, teniendo que ajustar los parámetros para cada muestra. Para la obtención de un velo de nanofibras de pululano al 20% los valores óptimos han sido: voltaje 16-16,5kV; caudal 0,5ml/h y distancia del colector de 15cm.
- ✓ Los velos formados cuando las disoluciones eran puras, sin aditivos añadidos, eran velos redondos, definidos y consistentes, Por el contrario, cuando la disolución contenía sales o surfactantes el velo no era completamente definido, si no que presentaba halo difuminado a su alrededor. Esto puede observarse en las fotografías de los velos adjuntados a continuación sobre los diferentes soportes, aunque fundamentalmente sobre el sustrato de aluminio de las figuras 12, 13 y 15. que se trata de polímero pululano disuelto únicamente en agua, frente a las figuras 14 y 16 que la disolución contiene sal y tensioactivo, respectivamente.

Muestra	Velo sobre soporte de aluminio	Velo sobre soporte de algodón
<i>Muestra 12 PUL 15%</i>	 <p data-bbox="528 607 963 680">Figura 16. Velo de PUL 15% sobre film de aluminio.</p>	 <p data-bbox="1002 607 1394 680">Figura 17. Velo de PUL 15% sobre film de aluminio.</p>
<i>Muestra 13 PUL 20%</i>	 <p data-bbox="528 1117 963 1191">Figura 18. Velo de PUL 20% sobre film de aluminio.</p>	 <p data-bbox="1002 1117 1394 1191">Figura 19. Velo de PUL 20% sobre algodón.</p>
<i>Muestra 14 PUL20% 0,1M NaCl</i>	 <p data-bbox="553 1619 938 1693">Figura 20. Velo de PUL 20% 0,1M NaCl sobre film de aluminio.</p>	 <p data-bbox="1002 1619 1394 1693">Figura 21. Velo de PUL 20% 0,1M NaCl sobre algodón.</p>

Muestra	Velo sobre soporte de aluminio	Velo sobre soporte de algodón
<i>Muestra 15 PVA9%</i>	 <p data-bbox="528 607 954 680">Figura 22. Velo de PVA 9% sobre film de aluminio.</p>	 <p data-bbox="995 607 1390 680">Figura 23. Velo de PVA 9% sobre algodón.</p>
<i>Muestra 16 PUL20% + Aceite Salvia</i>	 <p data-bbox="528 1068 970 1142">Figura 24. Velo de PUL 20% + aceite sobre film de aluminio.</p>	 <p data-bbox="995 1068 1406 1142">Figura 25. Velo de PUL 20% + aceite sobre algodón.</p>

7.4. Caracterización de los velos electrohilados

Tras la electrohilatura de las diferentes disoluciones se obtuvieron velos de nanofibras que fueron observadas al microscopio electrónico de barrido (FESEM), realizado prueba de solubilidad, ensayo de adhesión y estudio de transpirabilidad.

Adicionalmente, a la disolución de pululano con aceite esencial de salvia, se le ha realizado un ATR-FTIR para comprobar la presencia de aceite esencial en el velo de nanofibras.

7.4.1. FESEM - Microscopía electrónica de barrido de emisión de campo

Con las condiciones indicadas en el punto 6.3.10., se observaron las muestras bajo diferentes aumentos. Se adjuntan algunas de las imágenes más significativas obtenidas por microscopía electrónica de barrido:

- Muestra 1 PUL 9%

Se puede observar ,en las figuras 26 y 27, que se forma velo de nanofibras pero con una elevada cantidad de microesferas y cordones en las nanofibras, que no dan continuidad al

velo. Esto probablemente es debido a que la disolución polimérica no dispone la suficiente viscosidad.

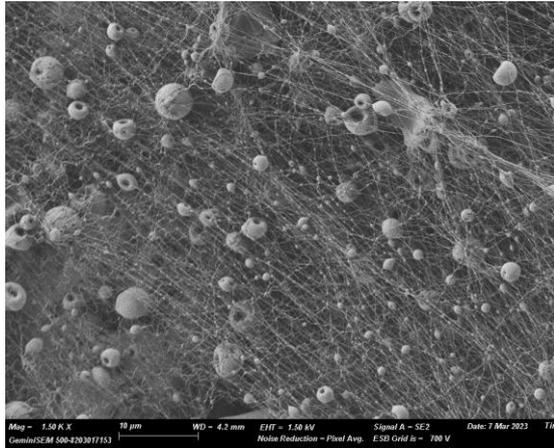


Figura 26. Imagen FESEM a 1500x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 9%.

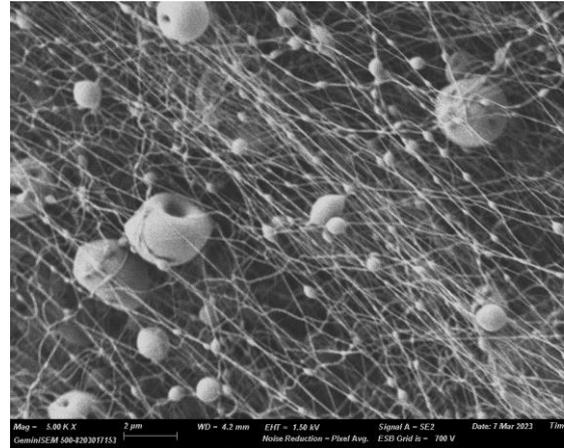


Figura 27. Imagen FESEM 5000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 9%.

- Muestra 2 PUL 20%

A la concentración del 20%, la disolución ya dispone de suficiente viscosidad y forma nanofibras homogéneas. Podemos ver en las figuras 28 y 29, elementos similares a “glóbulos rojos” que se ha observado como elementos característicos de las nanofibras de pululano.

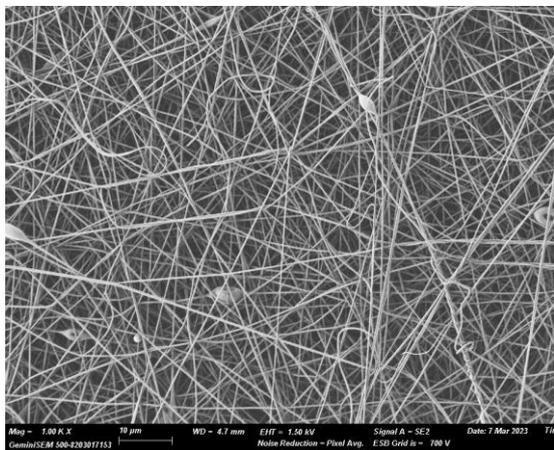


Figura 28. Imagen FESEM a 1000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 20%.

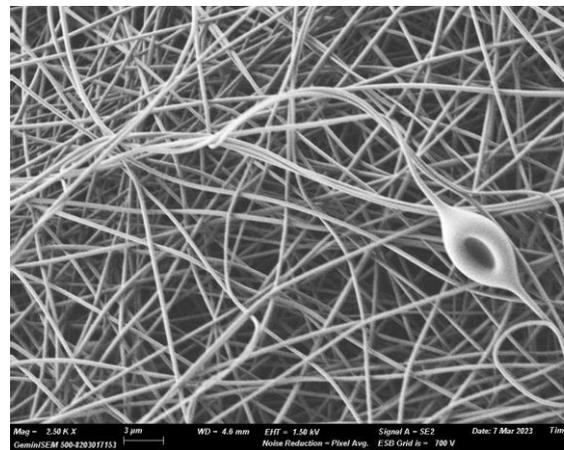


Figura 29. Imagen FESEM 2500x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 20%.

- Muestra 3 PUL 9% 0,5M NaCl

Se ha observado que al añadir concentración elevada de sales, disminuye considerablemente las microsferas por el aumento de la conductividad de la disolución polimérica, pero da lugar a cráteres en la superficie del velo y a nanofibras aplanadas y no homogéneas en grosor. Por el aspecto que muestra las nanofibras en las imágenes FESEM,

en las figuras 30 y 31, parece que disolvente no se ha evaporado totalmente cuando llega al colector

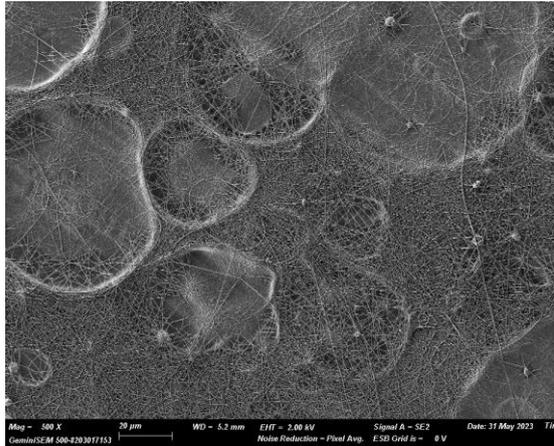


Figura 30. Imagen FESEM a 500x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 9% 0,5M NaCl.

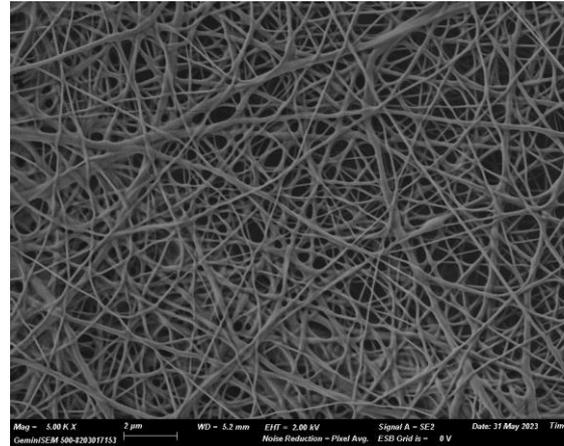


Figura 31. Imagen FESEM 5000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 9% 0,5M NaCl.

- Muestra 4 PUL 9% 0,5M Citrato

No se pudo electrohilar debido fundamentalmente a la variación elevada del voltaje establecido y, también, a la presencia de ruido y chispas en el equipo, por lo que no se dispone muestra para observar en el FESEM.

- Muestra 5 PUL 9% 0,1M NaCl

En las figuras 32 y 33, mostradas a continuación, se puede percibir como la adición de sales a una concentración baja de 0,1M no ha mejorado el aspecto del velo, presentándose multitud de microsferas y cordones en las nanofibras, así como ramificaciones.

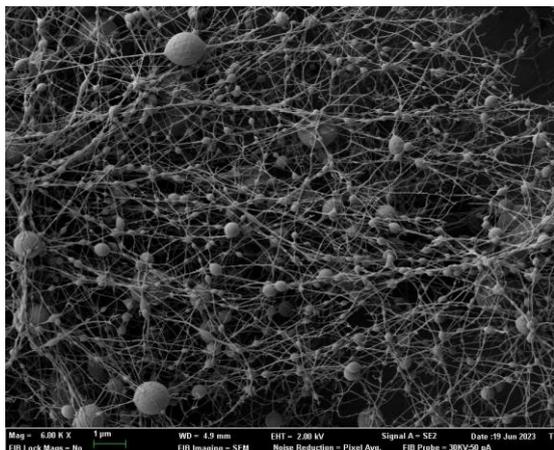


Figura 32. Imagen FESEM a 5000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 9% 0,1M NaCl.

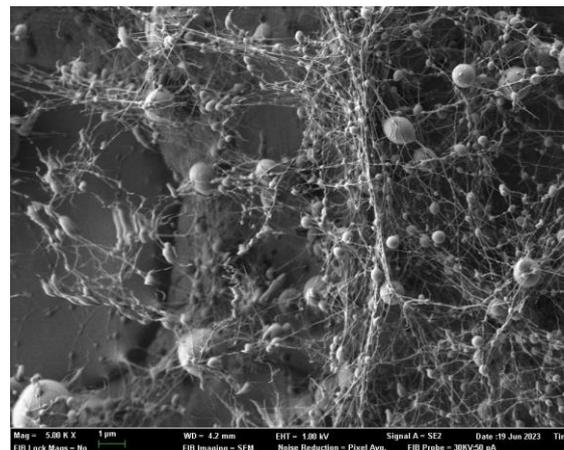


Figura 33. Imagen FESEM 6000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 9% 0,1M NaCl.

- Muestra 6 PUL 9% 0,2M NaCl

A pesar del aumento de la concentración de sales que aumenta la conductividad de la disolución polimérica, no es suficiente para contrarrestar la baja viscosidad y se siguen observando fibras ramificadas, microesferas y cordones perlados, tal y como reflejan las imágenes 34 y 35.

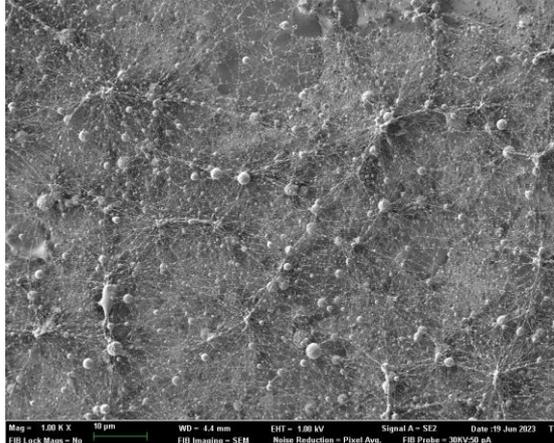


Figura 34. Imagen FESEM a 1000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 9% 0,2M NaCl.

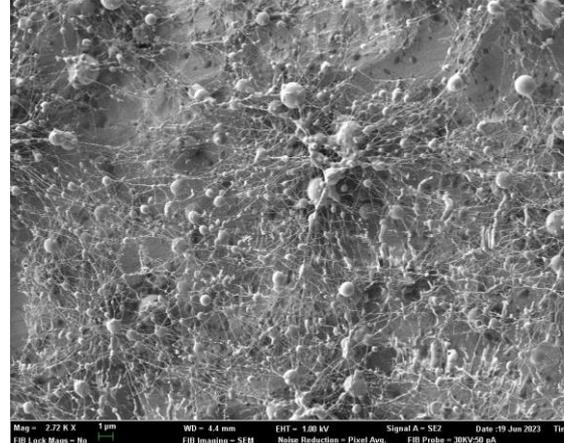


Figura 35. Imagen FESEM 2700x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 9% 0,2M NaCl.

- Muestra 7 PUL 9% 1M NaCl

La elevada concentración de sal provoca un elevado aumento de la conductividad que se ha traducido en la ausencia completa de nanofibras. Si que se pueden observar pequeños cristales de sal que se han depositados sobre el sustrato al evaporarse el disolvente durante el proceso de electrohilatura, microesferas y lo que simulan ser nanofibras fundidas (Figuras 36 y 37).

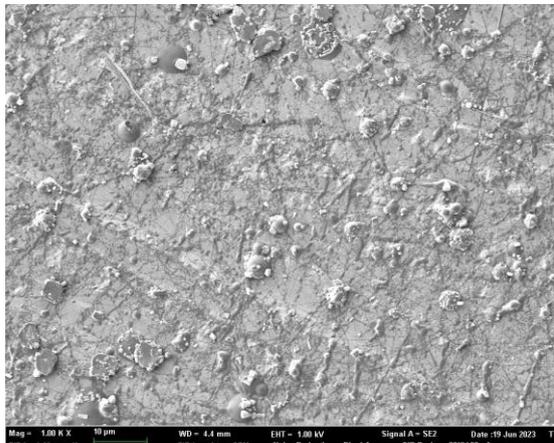


Figura 36. Imagen FESEM a 1000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 9% 1M NaCl.

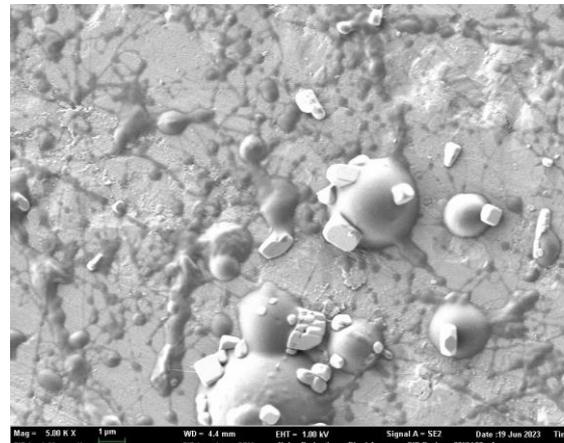


Figura 37. Imagen FESEM 5000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 9% 1M NaCl.

- Muestra 8 PUL 9% 0,05M Citrato

La adición de citrato sódico a la concentración de 0,05M, ha permitido el electrohilado, pero tampoco ha aportado la conductividad suficiente para mejorar el comportamiento de la disolución polimérica, ya que como se aprecia en las figuras 38 y 39, apenas hay velo formado y domina la presencia de microesferas y nanofibras ramificadas con cordones.

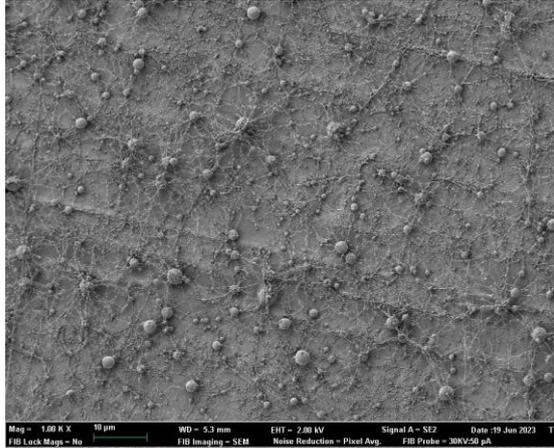


Figura 38. Imagen FESEM a 1000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 9% 0,05M Citrato sódico.

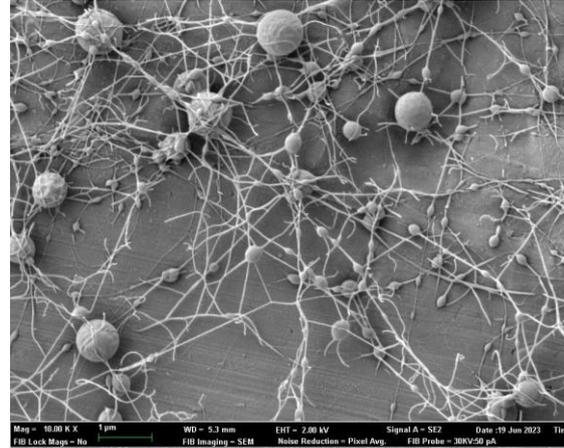


Figura 39. Imagen FESEM 10000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 9% 0,05M Citrato sódico.

- Muestra 9 PUL 15% 0,1M NaCl

El aumento de la concentración del polímero de la disolución al 15%w/v junto con la adición de sal a baja concentración mejora considerablemente el velo formado, debido al aumento de viscosidad y conductividad. En las figuras 40 y 41 se advierten nanofibras más homogéneas, la ausencia de microesferas quedando únicamente los elementos en forma de glóbulos característicos del pululano electrohilado.

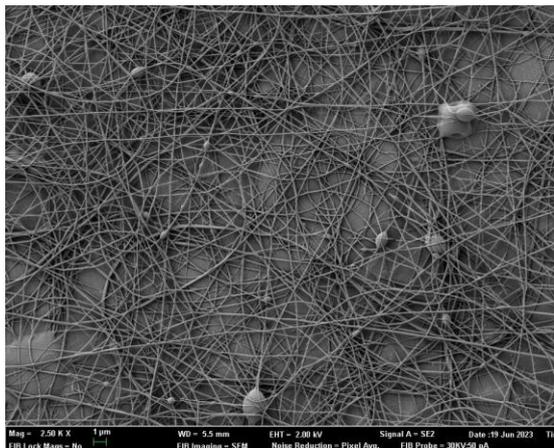


Figura 40. Imagen FESEM a 2500x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 15% 0,1M NaCl.

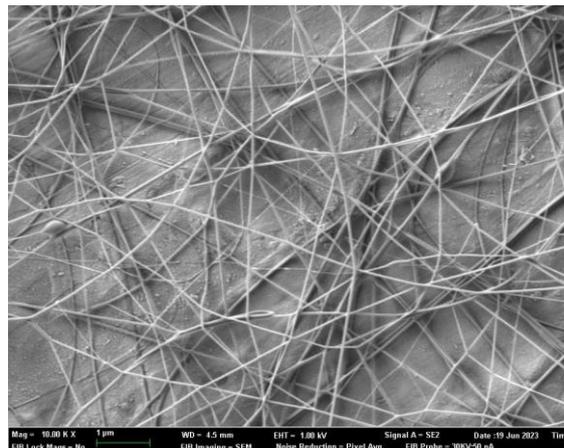


Figura 41. Imagen FESEM 10000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 15% 0,1M NaCl.

- Muestra 10 PUL 15% 0.2M NaCl

Al aumentar la concentración de sal empeora el efecto sobre el velo, como se muestra en las imágenes 42 y 43, con presencia de microsferas y cordones perlados.

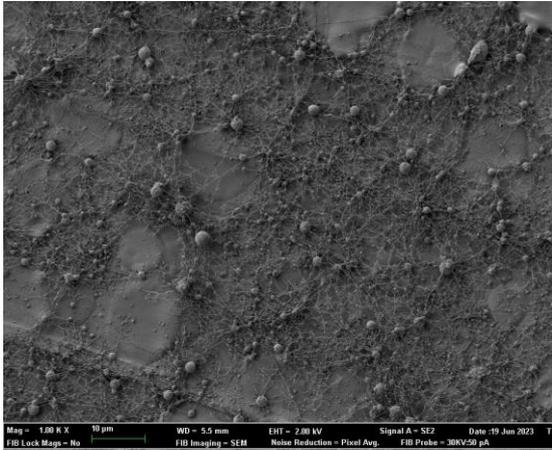


Figura 42. Imagen FESEM a 1000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 15% 0,2M NaCl

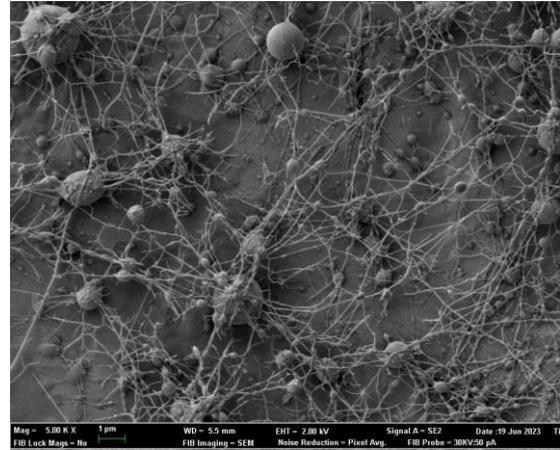


Figura 43. Imagen FESEM 5000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 15% 0,2M NaCl

- Muestra 11 PUL 15% 1M NaCl

El aumento de la cantidad de sal, contrarresta el efecto de la viscosidad y se obtiene un velo de fibras planas y adheridas al sustrato, presentando un aspecto de fundido como muestran las figuras 44 y 45.

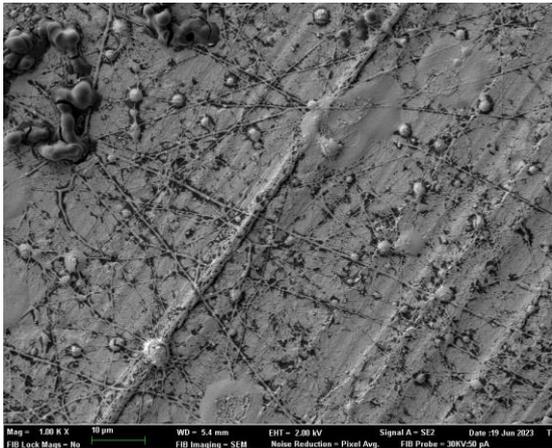


Figura 44. Imagen FESEM a 1000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 15% 1M NaCl.

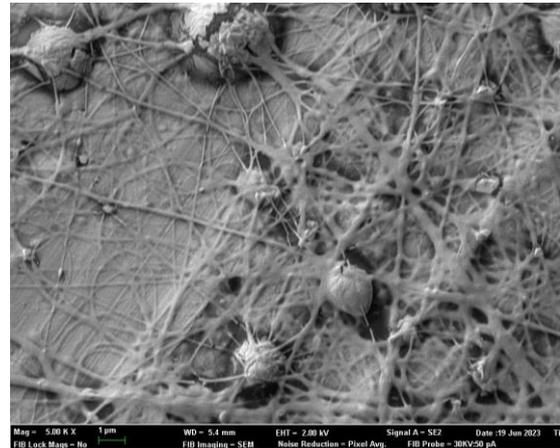


Figura 45. Imagen FESEM 5000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 15% 1M NaCl.

- Muestra 12 PUL 15%

En la figura 46 se pueden observar que la disolución de pululano al 15% electrohila nanofibras uniformes, no presentando microesferas; pero, tal y como se puede observar en la figura 47, se muestra glóbulos característicos.

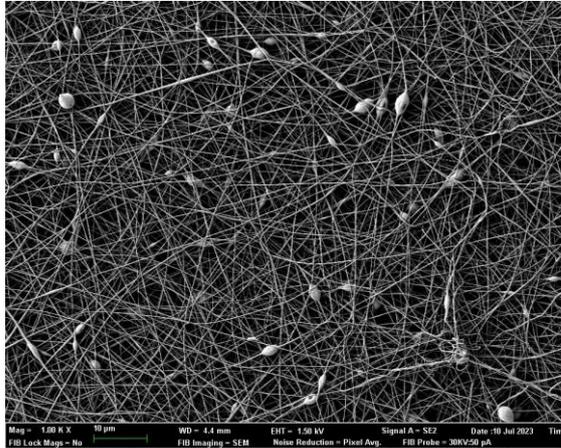


Figura 46. Imagen FESEM a 1000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 15%.

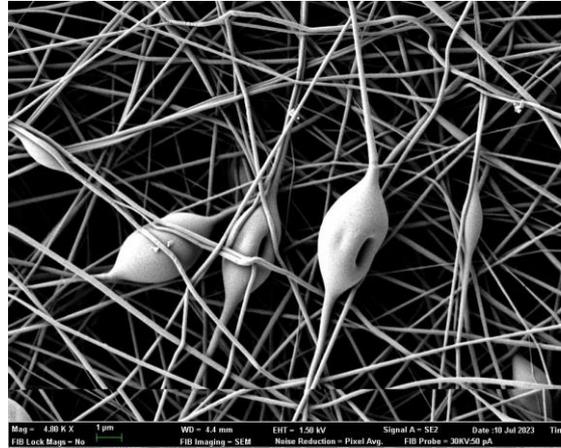


Figura 47. Imagen FESEM 5000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 15%.

- Muestra 13 PUL 20%

Con el aumento de la concentración del polímero, se aprecia una disminución de los glóbulos en el velo y una mejora de la homogeneidad de las nanofibras tanto en grosor como en forma, como se refleja en las figuras 48 y 49.

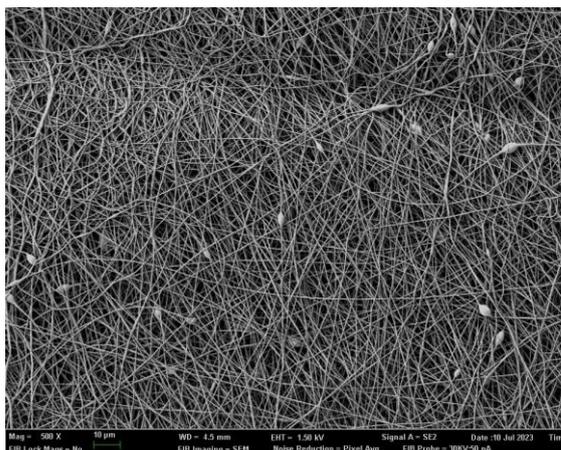


Figura 48. Imagen FESEM a 500x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 20%.

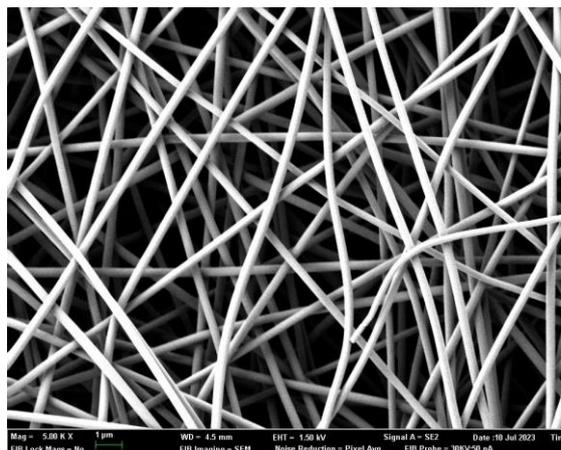


Figura 49. Imagen FESEM 5000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 20%.

- Muestra 14 PUL 20% 0,1M NaCl

La combinación de una alta concentración de pululano, que conlleva un aumento de la viscosidad de la disolución, junto con la adición de una baja concentración de sal se ha traducido en una reducción completa de los glóbulos en el velo y la obtención de una red de nanofibras regular y uniforme (figuras 50 y 51).

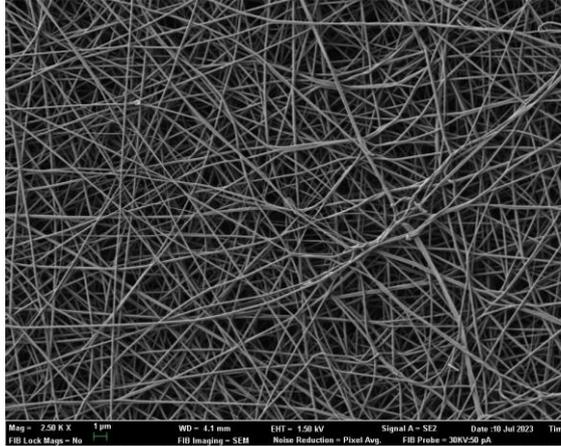


Figura 50. Imagen FESEM a 2500x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 20% 0,1M NaCl.

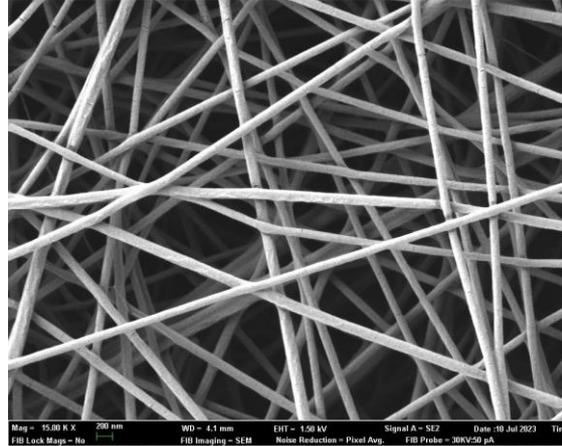


Figura 51. Imagen FESEM 15000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 20% 0,1M NaCl.

- Muestra 15 PVA 9%

El velo obtenido con la disolución del polímero de PVA al 9%, como se muestra en las figuras 52 y 53, contiene nanofibras homogéneas y sin la presencia de esferas o cordones de perlas.

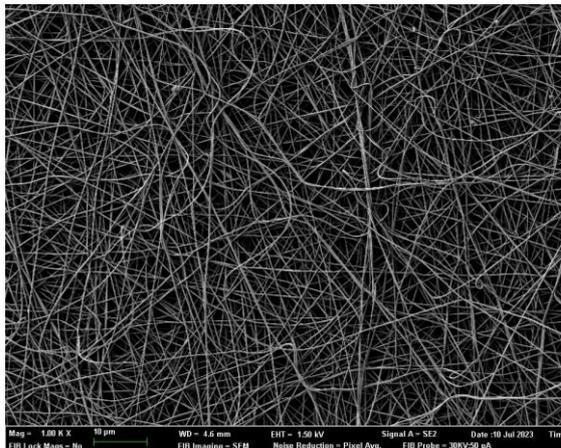


Figura 52. Imagen FESEM a 1000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 9%.

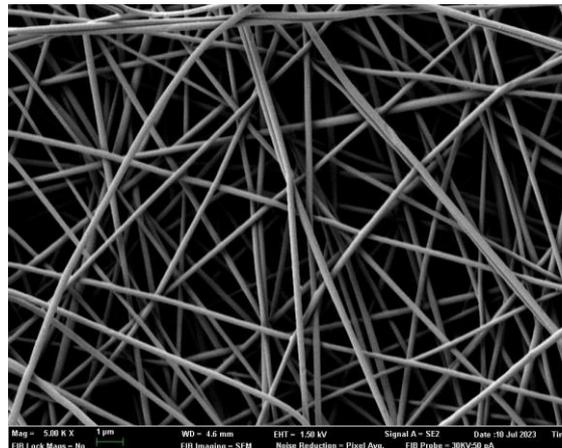


Figura 53. Imagen FESEM 5000x del velo de nanofibras de la muestra de PVA 9%.

- Muestra 20 PUL 20% + ACEITE SALVIA

La disolución de pululano con aceite de salvia se ha preparado con la adición de un tensioactivo para favorecer la emulsión. Es por ello, que el surfactante actúa sobre la tensión superficial mejorando el proceso de electrohilado y con ello, se observan menor número de elementos globulares que la muestra que contiene sólo el polímero. Sin embargo, los glóbulos observados (como se muestra en la figura 55), presenta poros que indica la evaporación del disolvente. Las fibras obtenidas tienen una apariencia homogénea, pero cuando se observa a mayores aumentos, como se muestra en la figura 57, presenta pequeños engrosamientos debido al aceite encapsulado y una superficie rugosa ocasionada por la deposición del aceite sobre la fibra,

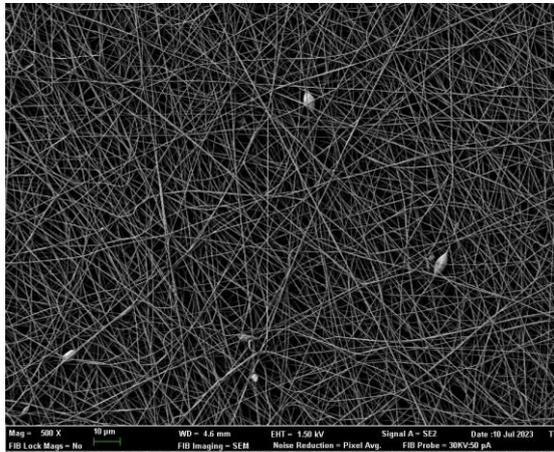


Figura 54. Imagen FESEM a 500x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 20% + Aceite.

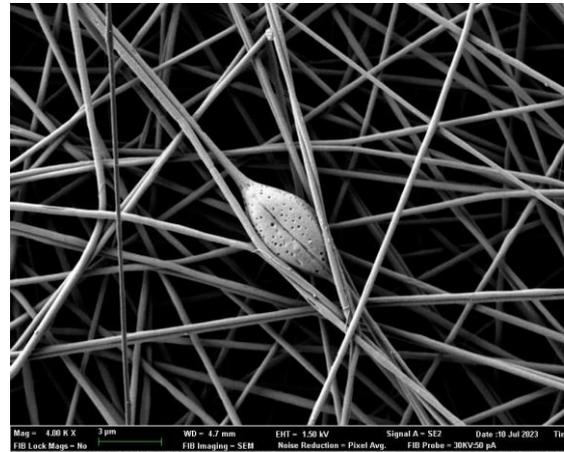


Figura 55. Imagen FESEM 4000x del velo de nanofibras de la muestra de PVA 20% + Aceite.

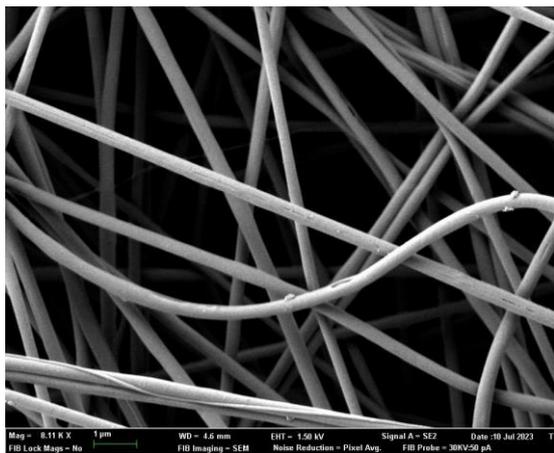


Figura 56. Imagen FESEM 8000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 20% + Aceite.

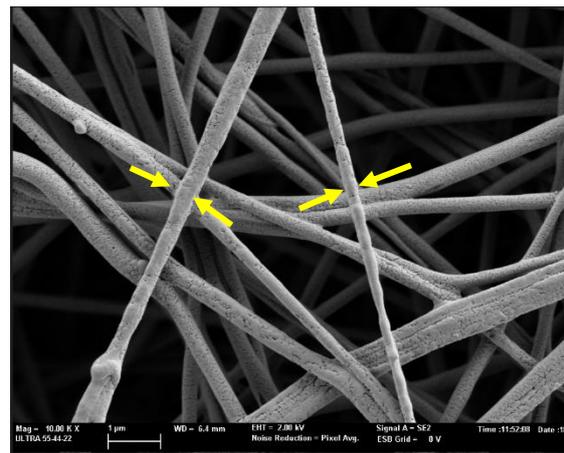


Figura 57. Imagen FESEM 10000x del velo de nanofibras de la muestra de PUL 20% + Aceite.

➤ **Discusión de resultados obtenidos con la caracterización con FESEM**

-La disminución de la concentración del polímero pululano en la disolución da lugar a la presencia de un velo con presencia de microesferas y perlas, no formándose nanofibras homogéneas. Esto es debido por la baja viscosidad de la solución por lo que la fuerza viscoelástica que opone las fuerzas de Coulomb no es suficiente para crear fibras lisas y dan lugar a los elementos perlados [63].

-La adición de diferentes sales a la disolución polimérica de baja concentración de pululano (9% w/v), no compensa la baja viscosidad, manteniendo las mismas estructuras esféricas y elementos perlados observados al FESEM; así mismo, se obtienen nanofibras ramificadas ocasionado probablemente porque no se ha generado un chorro estable durante la extrusión debido a las fuerzas electrostáticas producidas por la elevada conductividad [61]. Incluso en algunas de las muestras de las disoluciones el electrohilado ha sido deficiente o incluso no llegándose a obtener el velo. En concentraciones superiores a los 0,5M se observa un aspecto de las nanofibras planas y fundidas (como se observa en las figuras 31, 37 y 45). Es por ello, que concentraciones altas de sales, aunque producen una mejora de la conductividad, no mejoran el proceso de electrohilado.

-A partir de la concentración de pululano del 15% ya se obtienen nanofibras bien formadas, homogéneas y regulares. Destacar la presencia de elementos tipo glóbulos, que son característicos de los velos de nanofibras compuestos solo por el disolvente y el polímero.

-El aumento de la concentración de pululano mejora el aspecto de las nanofibras y reduce los elementos globulares en el velo, debido al aumento de la viscosidad que conlleva.

-A la concentración de 20% de pululano, si se le adicional una concentración baja de cloruro sódico (0,1M), optimiza el proceso de electrohilado al aumentar la conductividad de la disolución, desapareciendo los elementos globulares en el velo.

-La disolución de PVA al 9%, tal y como se había demostrados en estudios anteriores, da lugar a la formación de nanofibras uniformes, aunque también se observa microesferas en el velo.

-En la muestra de pululano con el aceite de salvia se ha observado engrosamiento de las fibras por la incorporación en el interior de fibra del aceite, así como la deposición superficial. Además, los elementos globulares presentan poros visibles que indican la evaporación del contenido durante el proceso de electrohilatura,

7.4.1. Análisis imágenes FESEM: Mediciones

Se ha escogido imágenes obtenidas por microscopía electrónica de barrido de las diferentes muestras y se han realizado mediciones de las nanofibras y elementos característicos obtenidos. En las siguientes imágenes y tablas se indican los valores registrados:

- Muestra 1 PUL 9%

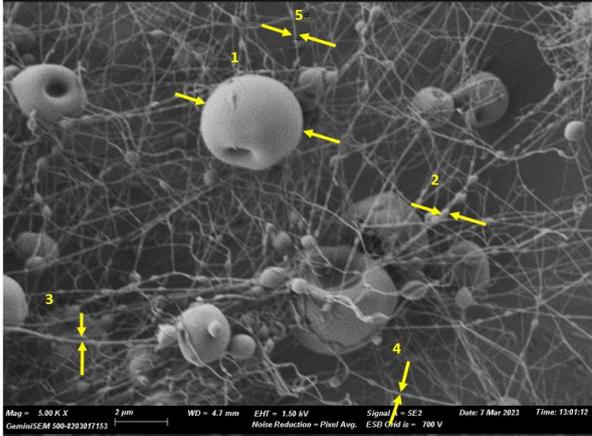


Figura 58. Imagen FESEM 5000x del velo de nanofibras de la muestra PUL 9%.

Punto	Medida (micras)
1-Microesfera	3,765
2-Cordón	0,358
3-Nanofibra	0,139
4- Nanofibra	0,104
5- Nanofibra	0,105

Tabla 12. Valores en micras de los elementos medidos en la imagen 58.

- Muestra 2 PUL 20%

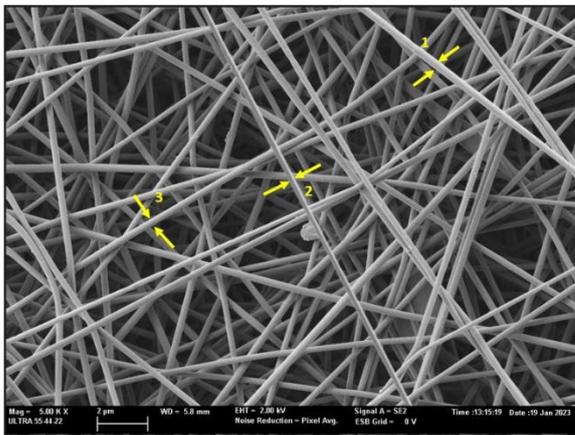


Figura 59. Imagen FESEM 5000x del velo de nanofibras de la muestra PUL 20%.

Punto	Medida (micras)
1-Nanofibra	0,291
2- Nanofibra	0,274
3- Nanofibra	0,235

Tabla 13. Valores en micras de los elementos medidos en la imagen 59.

- Muestra 3 PUL 9% 0,5M NaCl

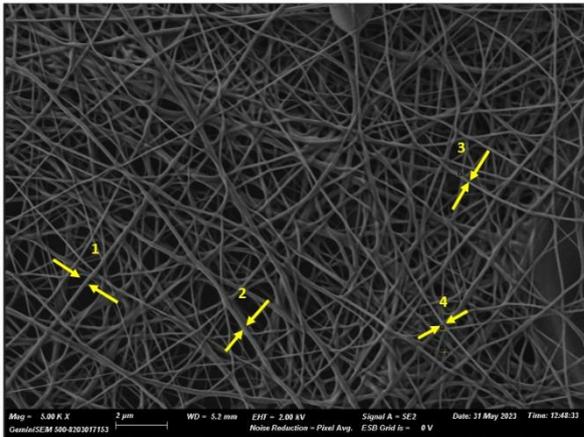


Figura 60. Imagen FESEM 5000x del velo de nanofibras de la muestra PUL 9% 0,5MNaCl.

Punto	Medida (micras)
1-Nanofibra	0,181
2- Nanofibra	0,181
3- Nanofibra	0,159
4- Nanofibra	0,131

Tabla 14. Valores en micras de los elementos medidos en la imagen 60.

- Muestra 4 PUL 9% 0,5M Citrato

Imagen no disponible, ya que la muestra no se ha podido electrohilar.

- Muestra 5 PUL 9% 0,1M NaCl

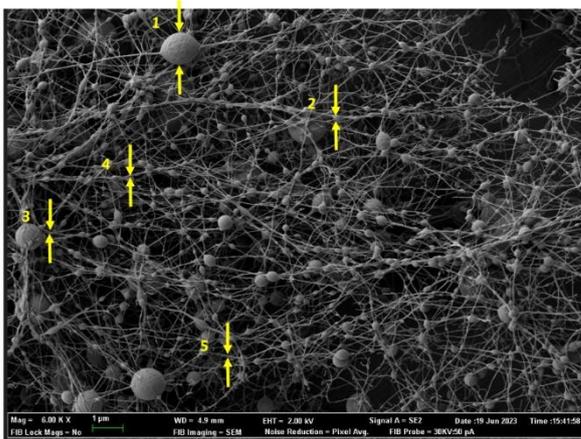


Figura 61. Imagen FESEM 6000x del velo de nanofibras de la muestra PUL 9% 0,1MNaCl.

Punto	Medida (micras)
1-Microesfera	1,110
2-Cordón	0,178
3-Nanofibra	0,022
4- Nanofibra	0,022
5- Nanofibra	0,019

Tabla 15. Valores en micras de los elementos medidos en la imagen 61.

- Muestra 6 PUL 9% 0,2M NaCl

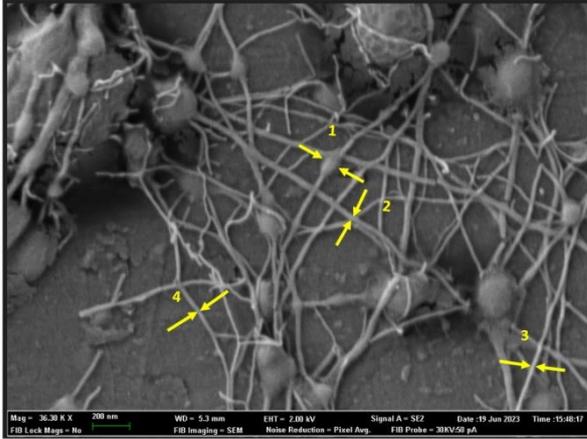


Figura 62. Imagen FESEM 36000x del velo de nanofibras de la muestra PUL 9% 0,2MNaCl.

Punto	Medida (micras)
1- Cordón	0,074
2-Nanofibra	0,030
3-Nanofibra	0,032
4- Nanofibra	0,022

Tabla 16. Valores en micras de los elementos medidos en la imagen 62.

- Muestra 7 PUL 9% 1M NaCl

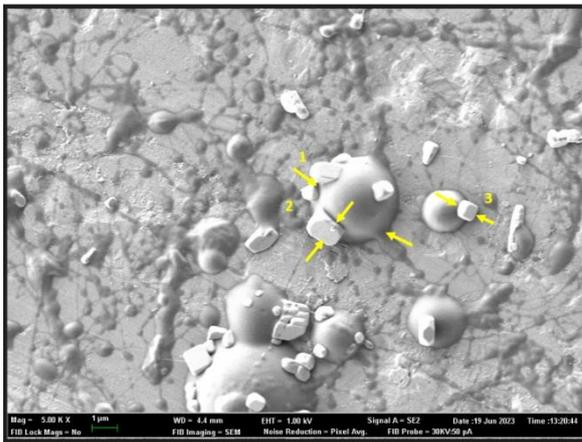


Figura 63. Imagen FESEM 5000x del velo de nanofibras de la muestra PUL 9% 1MNaCl.

Punto	Medida (micras)
1- Microesfera	3,219
2-Cristal sal	1,037
2-Cristal sal	0,826

Tabla 17. Valores en micras de los elementos medidos en la imagen 63.

- Muestra 8 PUL 9% 0,05M Citrato

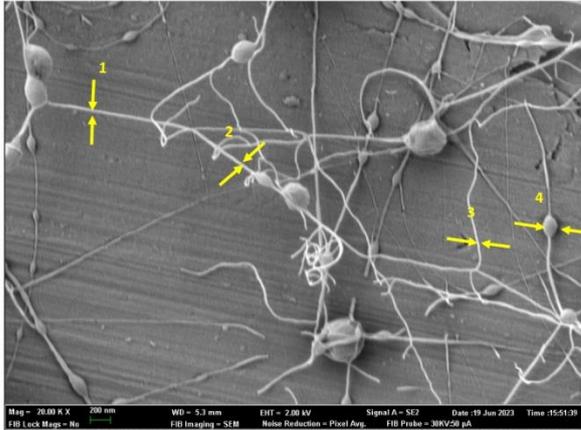


Figura 64. Imagen FESEM 20000x del velo de nanofibras de la muestra PUL 9% 0,05M Citrato sódico.

Punto	Medida (micras)
1- Nanofibra	0,020
2- Nanofibra	0,028
3- Nanofibra	0,021
4- Cordón	0,146

Tabla 18. Valores en micras de los elementos medidos en la imagen 64.

- Muestra 9 PUL 15% 0,1M NaCl

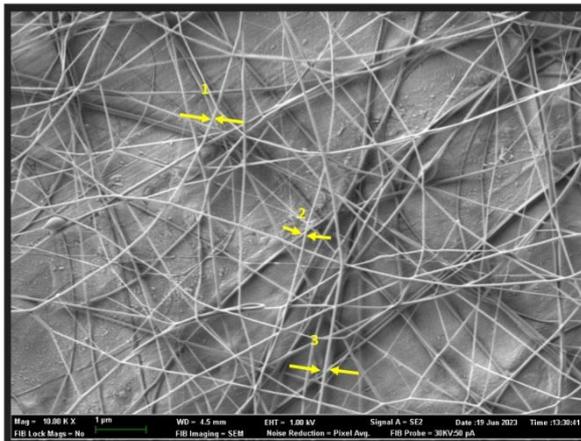


Figura 65. Imagen FESEM 10000x del velo de nanofibras de la muestra PUL 15% 0,1M NaCl.

Punto	Medida (micras)
1- Nanofibra	0,075
2- Nanofibra	0,076
3- Nanofibra	0,067

Tabla 19. Valores en micras de los elementos medidos en la imagen 65.

- Muestra 10 PUL 15% 0,2M NaCl

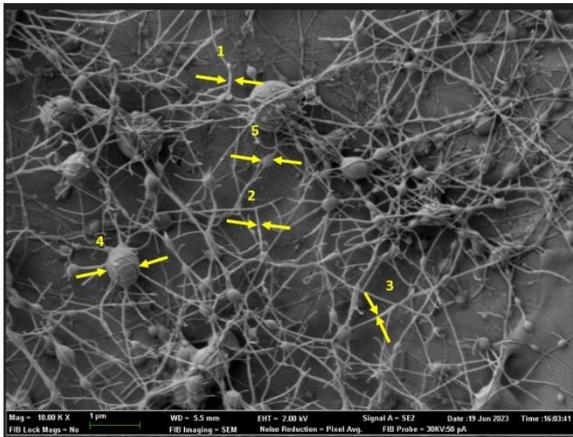


Figura 66. Imagen FESEM 10000x del velo de nanofibras de la muestra PUL 15% 0,2MNaCl.

Punto	Medida (micras)
1- Nanofibra	0,045
2-Nanofibra	0,056
3-Nanofibra	0,035
4-Microesfera	0,679
5-Cordón	0,230

Tabla 20. Valores en micras de los elementos medidos en la imagen 66.

- Muestra 11 PUL 15% 1M NaCl

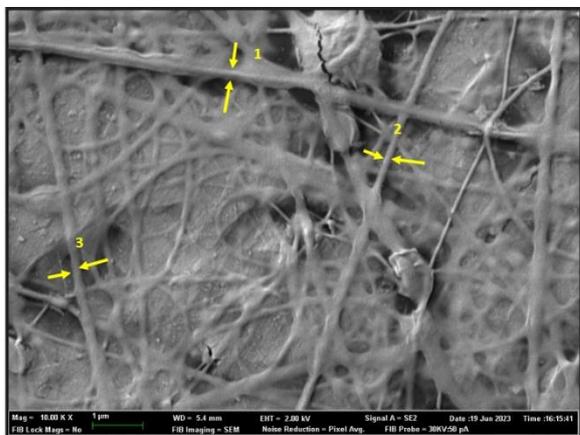


Figura 67. Imagen FESEM 10000x del velo de nanofibras de la muestra PUL 15% 1MNaCl.

Punto	Medida (micras)
1- Nanofibra	0,166
2-Nanofibra	0,182
3-Nanofibra	0,206

Tabla 21. Valores en micras de los elementos medidos en la imagen 67.

- Muestra 12 PUL 15%

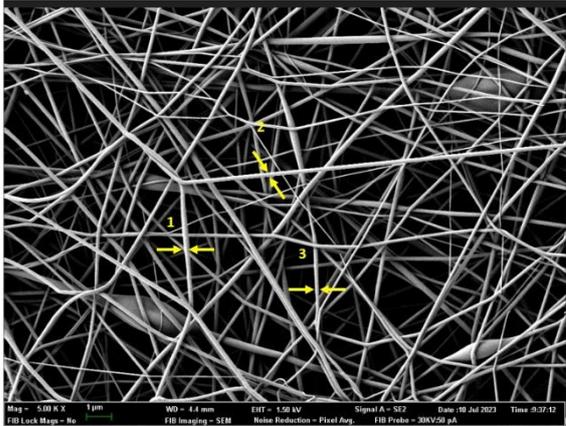


Figura 68. Imagen FESEM 5000x del velo de nanofibras de la muestra PUL 15%.

Punto	Medida (micras)
1-Nanofibra	0,318
2-Nanofibra	0,215
3-Nanofibra	0,210

Tabla 22. Valores en micras de los elementos medidos en la imagen 68.

- Muestra 13 PUL 20%

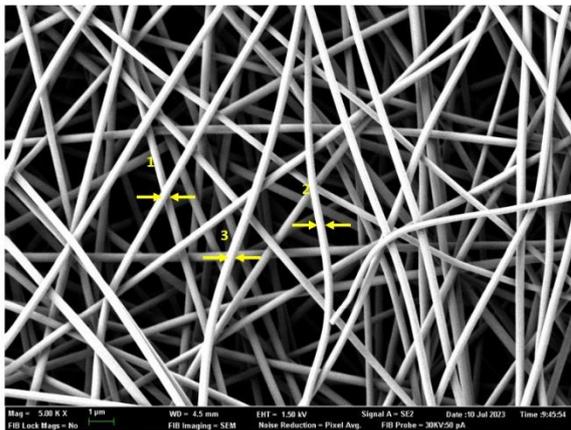


Figura 69. Imagen FESEM 5000x del velo de nanofibras de la muestra PUL 20%.

Punto	Medida (micras)
1-Nanofibra	0,320
2-Nanofibra	0,291
3-Nanofibra	0,294

Tabla 23. Valores en micras de los elementos medidos en la imagen 69.

- Muestra 14 PUL20% 0,1M NaCl

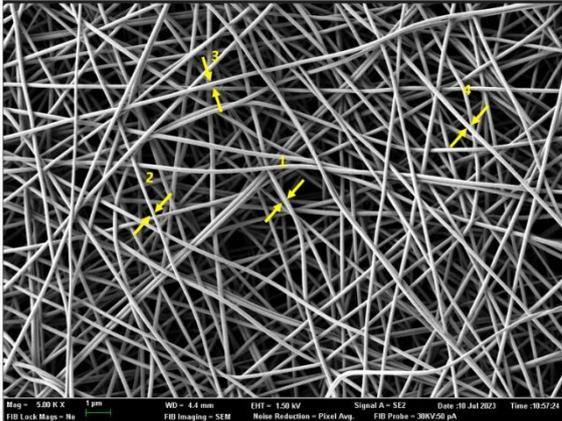


Figura 70. Imagen FESEM 5000x del velo de nanofibras de la muestra PUL 20% 0,1MNaCl.

Punto	Medida (micras)
1-Nanofibra	0,222
2-Nanofibra	0,117
3-Nanofibra	0,117
4-Nanofibra	0,222

Tabla 24. Valores en micras de los elementos medidos en la imagen 70.

- Muestra 15 PVA9%

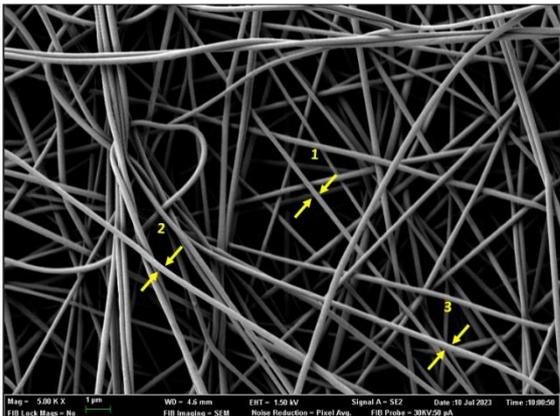


Figura 71. Imagen FESEM 5000x del velo de nanofibras de la muestra PVA9%.

Punto	Medida (micras)
1-Nanofibra	0,235
2-Nanofibra	0,245
3-Nanofibra	0,215

Tabla 25. Valores en micras de los elementos medidos en la imagen 71.

- Muestra 16 PUL20% + Aceite Salvia

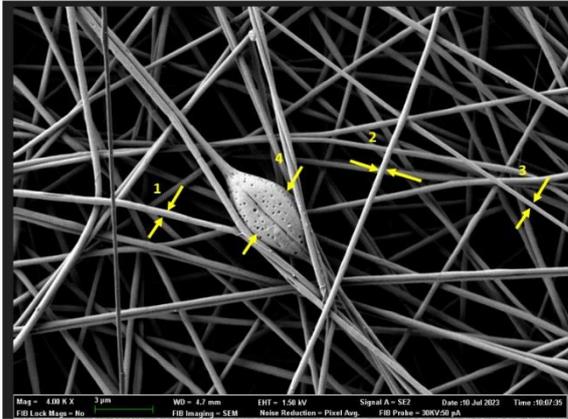


Figura 72. Imagen FESEM 4000x del velo de nanofibras de la muestra PUL 20% con Aceite de salvia.

Punto	Medida (micras)
1-Nanofibra	0,390
2-Nanofibra	0,350
3-Nanofibra	0,324
4-Cordón	2,834

Tabla 26. Valores en micras de los elementos medidos en la imagen 72.

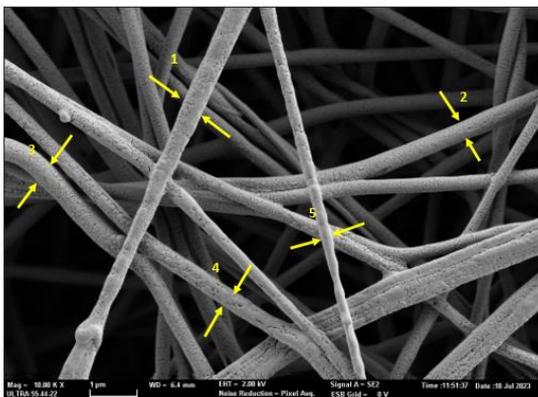


Figura 73. Imagen FESEM 10000x del velo de nanofibras de la muestra PUL 20% con Aceite de salvia.

Punto	Medida (micras)
1-Nanofibra	0,453
2-Nanofibra	0,399
3-Nanofibra	0,477
4-Nanofibra	0,432
5-Nanofibra	0,289

Tabla 27. Valores en micras de los elementos medidos en la imagen 73.

Para realizar la comparativa, se resumen los valores obtenidos en la tabla 28:

	Nanofibras	Nanofibras	Nanofibras	Microesfera	Cordón
Muestra 1 PUL 9%	0,139	0,104	0,105	3,765	0,358
Muestra 2 PUL 20%	0,291	0,274	0,235	-	-
Muestra 3 PUL 9% 0,5M NaCl	0,181	0,159	0,131	-	-
Muestra 4 PUL 9% 0,5M Citrato	*Nd	*Nd	*Nd	*Nd	*Nd
Muestra 5 PUL 9% 0,1M NaCl	0,022	0,022	0,019	1,110	0,178
Muestra 6 PUL 9% 0,2M NaCl	0,030	0,032	0,022	-	0,074
Muestra 7 PUL 9% 1M NaCl	**	**	**	3,219	
Muestra 8 PUL 9% 0,05M Citrato	0,020	0,028	0,021	-	0,146
Muestra 9 PUL 15% 0,1M NaCl	0,075	0,076	0,067	-	
Muestra 10 PUL 15% 0,2M NaCl	0,045	0,056	0,035	0,679	0,230
Muestra 11 PUL 15% 1M NaCl	0,166	0,182	0,206	-	-
Muestra 12 PUL 15%	0,318	0,215	0,210	-	-
Muestra 13 PUL 20%	0,320	0,291	0,294	-	-
Muestra 14 PUL20% 0,1M NaCl	0,222	0,117	0,117	-	-
Muestra 15 PVA9%	0,235	0,245	0,215	-	-
Muestra 16 PUL20% + Aceite Salvia	0,390 0,453	0,350 0,399	0,324 0,477	-	2,834

Tabla 28. Resultados de las mediciones de nanofibras y elementos de las diferentes muestras.

*Nd: Muestra no disponible porque no se pudo electrohilar.

** : No hay nanofibras formadas.

➤ **Discusión de resultados obtenidos con análisis imágenes FESEM: Mediciones**

-La adición de sales produce una disminución del diámetro de las nanofibras, así como de las microesferas y cordones.

-En disoluciones en las que solo está presente el PUL, hay una relación de mayor concentración de polímero con la obtención de nanofibras de mayor diámetro.

-Los diámetros de las nanofibras de disolución polimérica de pululano al 20%, a las condiciones de electrohilatura comentadas anteriormente, oscilan entre los 225-320nm.

-El diámetro obtenido de las nanofibras de la disolución polimérica de PVA al 9% son similares a la obtenidas del PUL 15%.

-La muestra 16 con aceite de salvia, las fibras presentan un engrosamiento debido a la deposición superficial del aceite sobre las fibras, dando un diámetro medio de las muestras analizadas de 400nm.

7.4.2. Prueba de solubilidad

La determinación de la solubilidad de los velos de nanofibras obtenidos de pululano al 20% (Muestra 13) y del PVA al 9% (muestra 15), se ha realizado utilizando como solvente el agua.

Para ello, se ha cogido 3 velos de cada uno de los polímeros y se han sumergido en placas con agua destilada a temperatura ambiente. Se ha determinado si los velos son solubles o no; y, en el caso de ser solubles, se ha determinado el tiempo de solubilización en el disolvente escogido.

En las figuras 74 y 75, puede ver los velos de cada polímero y el material utilizado para el ensayo.



Figura 74. Muestras de Pululano 20% para el ensayo de solubilidad en agua.

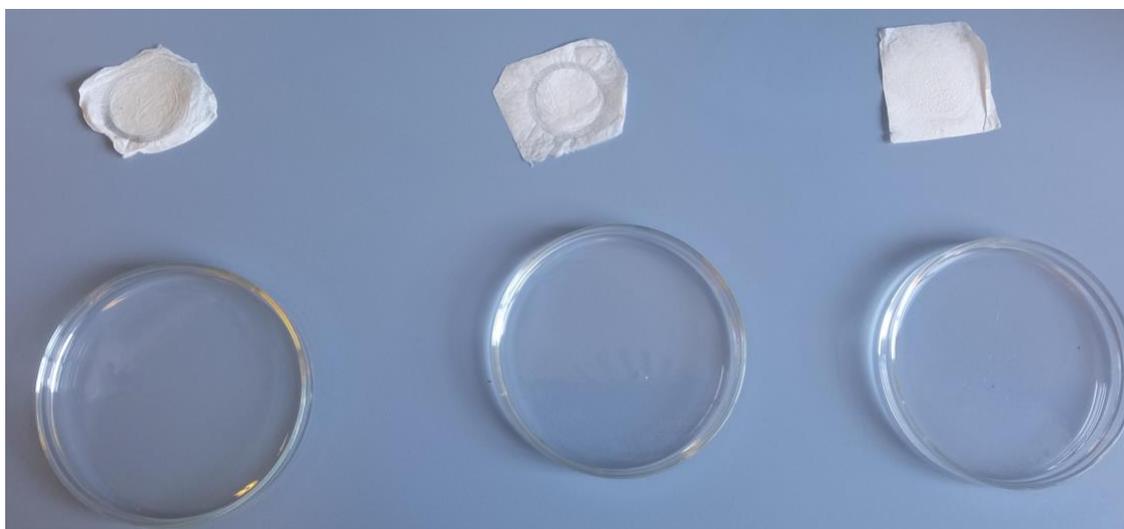


Figura 75. Muestras de PVA 9% para el ensayo de solubilidad en agua.

En el caso del pululano, las 3 muestras se han disuelto de forma instantánea. Incluso por capilaridad ascendía el agua y el velo se disolvía sin necesidad de introducirlo en la disolución (figuras 76 y 77).



Figura 76. Solubilidad presentada por el velo de pululano en agua

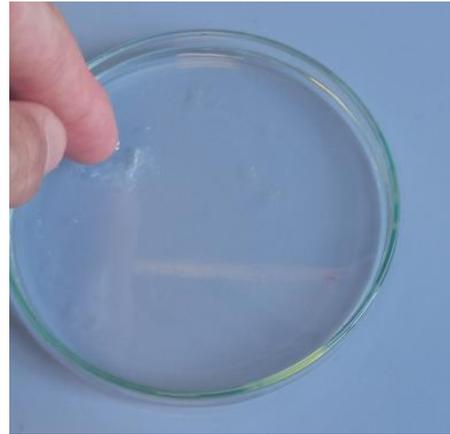


Figura 77. Disolución completa e inmediata del pululano en agua

Por otro lado, el PVA ha mostrado también un carácter soluble pero no de forma instantánea. Como se puede observar en la figura 78, el velo se mantenía sin solubilizarse tras introducirlo en el agua y, aproximadamente a los 30 segundos se ha disuelto. Pero una pequeña lámina transparente ha permanecido e incluso con agitación con ayuda de una varilla para favorecer su disolución, quedando finalmente este pequeño resto insoluble tras los dos minutos del ensayo (figura 79).

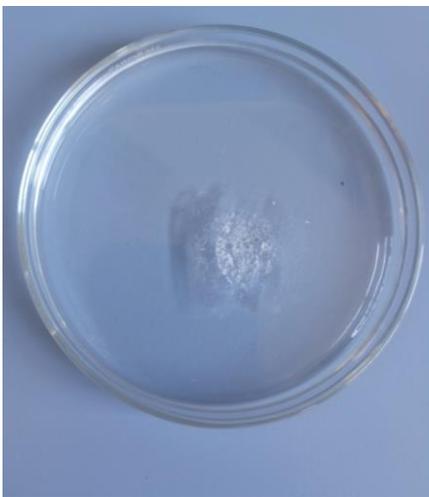


Figura 78. Velo de PVA 9% durante la prueba de solubilidad

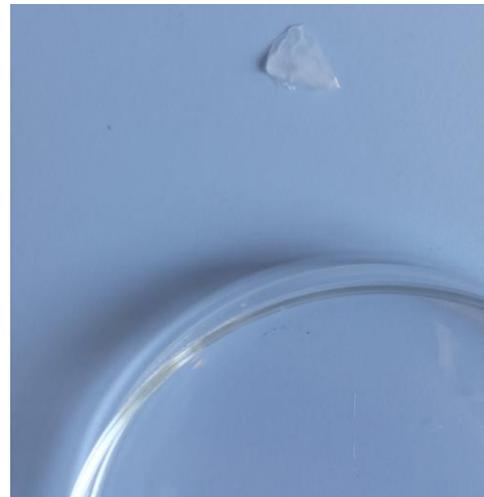


Figura 79. Resto insoluble de PVA que ha permanecido tras dos minutos de inmersión en el solvente

➤ **Conclusiones parciales obtenidas del ensayo de solubilidad**

-El velo de PVA 9% es soluble, pero no de forma inmediata y, tras el tiempo establecido en el ensayo, ha quedado una pequeña porción insoluble.

-En contraste, el velo de pululano 20% electrohilado presenta una elevada solubilidad en agua, siendo esta instantánea y no dejando restos, siendo por lo tanto, más soluble que el velo de PVA 9% con el que se ha comparado.

7.4.3. Prueba de adhesión

El ensayo de adhesión se ha efectuado sobre las muestras electrohiladas sobre sustrato de papel de aluminio. La evaluación de la adhesión del velo sobre sustrato textil de algodón no se ha llevado a cabo debido a que el velo se desprende fácilmente del tejido, lo cual hace que dicha evaluación carezca de coherencia.

Se han cortado pequeñas probetas de aproximadamente 4cm² de cada una de las muestras del sustrato textil electrohilado con cada polímero. Se ha colocado un trozo de lámina de acetato con las dimensiones levemente superiores a la muestra, de tal forma que sobresale de la misma. En las figuras 80 y 81 se puede observar imágenes del ensayo, cuando se han colocado la lámina de acetato sobre cada trozo de muestra. El ensayo se ha realizado por duplicado, utilizando tres trozos de sustrato de aluminio con nanofibras de cada polímero.

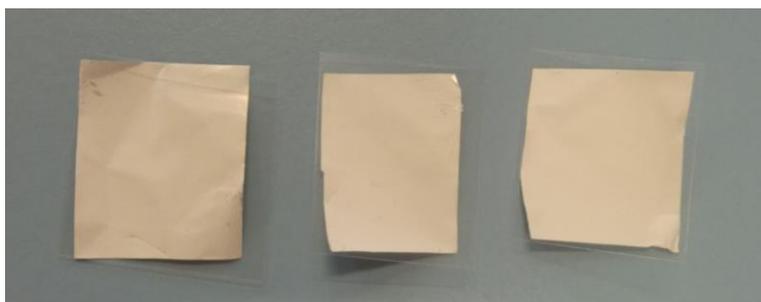


Figura 80. Muestras de ALU+Pululano20% con la lámina de acetato.



Figura 81. Muestras de ALU+PVA9% con la lámina de acetato

Tras colocar los pesos especificados durante 2 minutos, se han retirado y, con ayuda de unas pinzas, se ha despegado la lámina de acetato del velo y se ha evaluado el grado de adhesión de cada una de las muestras. En la figura 82 puede observarse los pesos utilizados sobre las muestras durante el tiempo estipulado en el test.



Figura 82. Pesas utilizadas en la prueba de adhesión sobre las muestras.

En la figura 83, se puede observar cómo se puede percibir de forma sencilla si se ha desprendido velo durante la prueba y ha quedado adherida a la lámina de acetato.

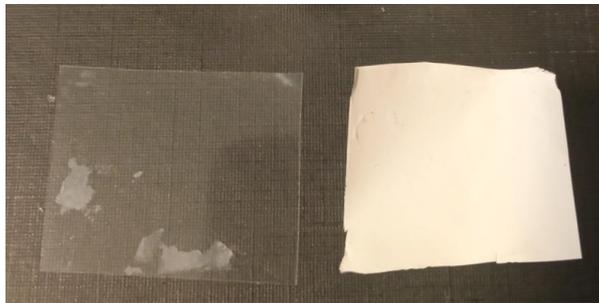


Figura 83. Lámina de acetato con resto de velo.

Para ello, se ha observado si la cara de la lámina de acetato en contacto con el velo, presentaba trozos del velo que había sido arrastrado una vez retirada. En las figuras 84 y 85 puede observarse los resultados obtenidos por duplicado para cada una de las muestras.

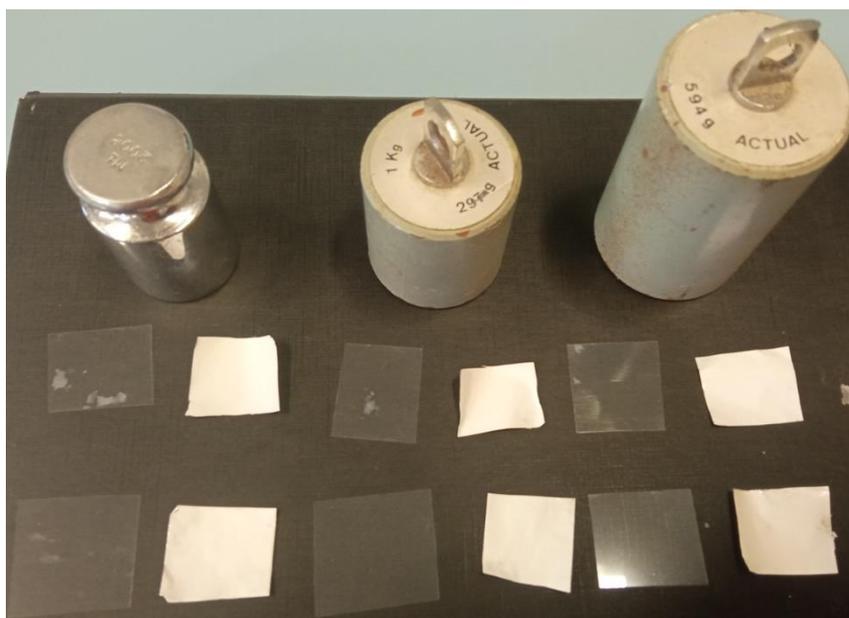


Figura 84. Láminas de acetato y muestras pululano 20% tras la prueba de adhesión

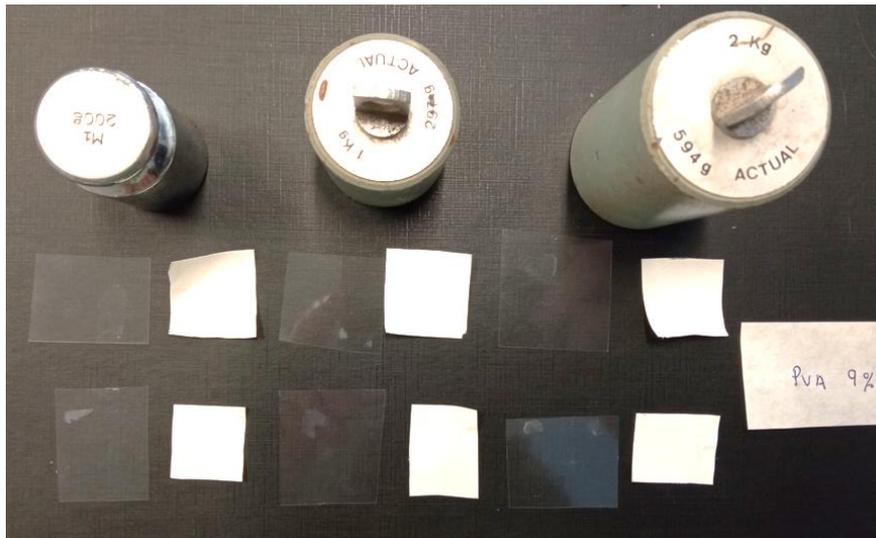


Figura 85. Lámina de acetato y muestras PVA 9% tras la prueba de adhesión

Comparativa de ambos polímeros puede verse en la figura 86 donde se muestran todos los resultados de todas las muestras ensayadas.



Figura 86. Comparativa de los resultados de los dos polímeros, arriba el pululano 20% y abajo el PVA 9%.

La evaluación de los resultados se ha realizado de forma cualitativa, siguiendo el siguiente método y observando la cantidad de velo depositada sobre la lámina de acetato tras retirar el peso y separarla de la muestra:

Presencia de velo en la lámina de acetato	Grado de Adhesión
No hay nanofibras sobre el acetato	Buena adhesión nanofibras-textil
Hay pocas nanofibras sobre el acetato	Adhesión media nanofibras-textil
Todas las nanofibras se encuentran en el acetato	Mala adhesión nanofibras-textil

Tabla 29. Evaluación cualitativa del grado de adhesión.

En base a este criterio, se obtiene las siguientes evaluaciones representadas en la tabla 30:

	Pesa 200g	Pesa 297g	Pesa 594g
Velo pululano 20% - 1	Adhesión media	Adhesión media	Adhesión media
Velo pululano 20% - 2	Buena adhesión	Buena adhesión	Buena adhesión
Velo PVA 9% - 3	Adhesión media	Adhesión media	Adhesión media
Velo PVA 9% - 4	Adhesión media	Adhesión media	Adhesión media

Tabla 30. Grado de adhesión del velo de nanofibras de pululano 20% y PVA 9%, tras someterlos a los diferentes pesos.

En 3 láminas de las muestras de pululano se observa restos de velo, todas ellas, pertenecientes al mismo velo (Velo 2), pero diferentes pesos. Por el contrario, en las muestras del velo 1 de pululano no se aprecia que haya restos de velo en ninguna de las láminas.

En cambio, en todas las láminas de las muestras de PVA presenta pequeños restos de velo.

➤ **Discusión de resultados obtenidos con la caracterización del ensayo de adhesión.**

Los velos de nanofibras del polímero pululano presenta una mayor adhesión al sustrato de aluminio y mejor integridad tras someterlo a diferentes fuerzas que el polímero de PVA.

7.4.4. Prueba de transpirabilidad

Se ha cortado la probeta de cada una de las muestras de tejido de algodón con el velo de nanofibras de PVA al 9% y de pululano al 20% y se ha sometido a la prueba de transpirabilidad.

Se ha medido inicialmente la muestra del sustrato textil sin electrohilar para determinar la transpirabilidad que presenta el tejido de algodón por sí solo.



Figura 87. Muestras de algodón en el ensayo de transpirabilidad

Posteriormente, se ha realizado el ensayo con las muestras de algodón electrohiladas. Para ello, se ha colocado sobre la superficie de ensayo con especial cuidado y comprobando que el velo cubría por completo el área por dónde se hace pasar el flujo de aire. Las muestras se han colocado con el velo en la parte superior, de tal forma que el velo es la primera capa que entra en contacto con el flujo de aire y posteriormente está el tejido de algodón. Puede observarse como se ha colocado la muestra en la figura 89.



Figura 88. Montaje para el ensayo de transpirabilidad de las muestras



Figura 89. Muestra electrohilada, el velo queda en la parte superior

Por último, y aprovechando que el velo se despega con facilidad del sustrato textil ensayado, se ha determinado la resistencia al paso del aire solo del velo. Puede observarse la muestra del velo tras el ensayo en la figura 90.



Figura 90. Velo de PUL tras la prueba de transpirabilidad.

En las tablas 31 al 35 se detallan los resultados obtenidos, de la muestra de algodón crudo (CO crudo), de las muestras de algodón electrohilada con PVA (CO + PVA9%), muestra de algodón electrohilada con pululano (CO+pululano20%), así como, la diferencia de presión registrada de cada uno de los velos sin sustrato textil (Velo PVA9% y Velo pululano20%). También se ha registrado el caudal de aire (litro/minuto) indicado por el equipo en cada una de las mediciones. Cada una de las mediciones se han llevado a cabo sobre tres probetas diferentes de cada una de las muestras.

Muestra	Caudal aire (litro/minuto)	ΔP (Pa)
CO crudo	8,4	53,6
CO crudo	8,2	46,9
CO crudo	8,2	56,8
Media		52,4

Tabla 31. Resultados de ΔP (Pa) tejido sustrato de algodón crudo.

Muestra	Caudal aire (litro/minuto)	ΔP (Pa)
CO+PVA9%	7,8	3730,2
CO+PVA9%	7,8	2858
CO+PVA9%	7,5	3830
Media		3472,73

Tabla 32. Resultados de ΔP (Pa) tejido sustrato de algodón con el velo de nanofibras de PVA9%.

Muestra	Caudal aire (litro/minuto)	ΔP (Pa)
Velo PVA9%	7,8	3637,7
Velo PVA9%	7,8	2780

Velo PVA9%	7,8	2980
Media		3132,57

Tabla 33. Resultados de ΔP (Pa) del velo de nanofibras de PVA 9%.

Muestra	Caudal aire (litro/minuto)	ΔP (Pa)
CO+pululano20%	7,7	3480
CO+pululano20%	7,7	3504
CO+pululano20%	7,6	3497
Media		3493,67

Tabla 34. Resultados de ΔP (Pa) tejido sustrato de algodón con el velo de nanofibras de Pululano 20%.

Muestra	Caudal aire (litro/minuto)	ΔP (Pa)
Velo pululano20%	7,7	3373,4
Velo pululano20%	7,7	3410
Velo pululano20%	7,6	3384
Media		3389,13

Tabla 35. Resultados de ΔP (Pa) del velo de nanofibras de Pululano 20%.

La tabla 36, es un resumen y comparativa de los resultados de las muestras:

Muestra	ΔP (Pa)
CO crudo	52,43
CO+PVA9%	3472,73
CO+pululano20%	3493,67
Velo PVA9%	3132,57
Velo pululano20%	3389,13

Tabla 36. Comparativa de los resultados de las diferentes muestras sometidas al ensayo de transpirabilidad.

Además, en la medición de transpirabilidad se observa una estabilidad en el mantenimiento de la diferencia de presión registrada de las muestras de pululano, tanto la que contiene el sustrato textil como la del velo solo. Sin embargo, las muestras con nanofibras de PVA presenta un valor inicial de diferencia de presión que progresivamente va descendiendo, no manteniendo la impermeabilidad al aire inicialmente registrada.

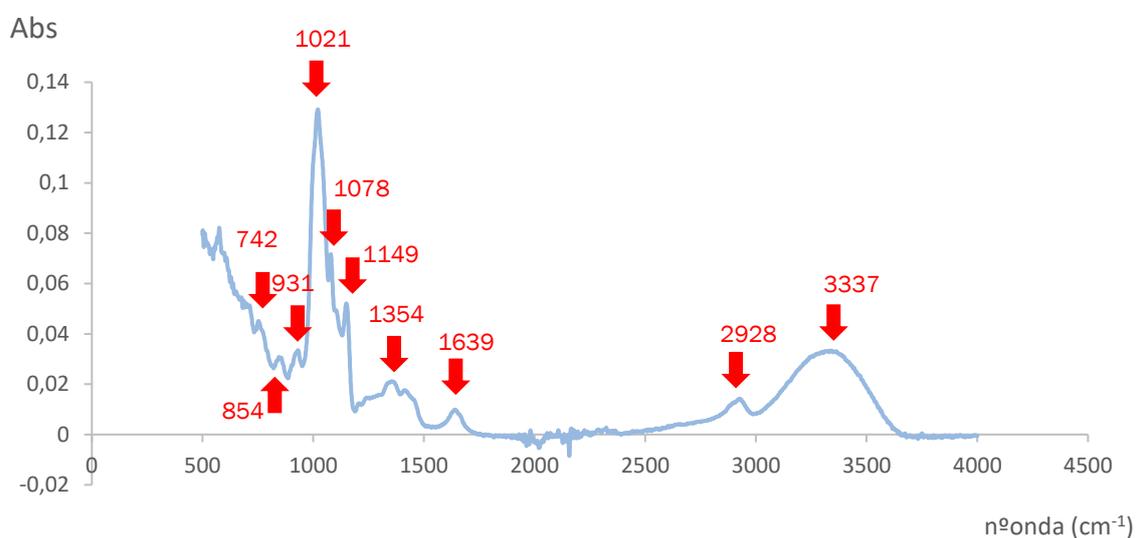
➤ **Discusión de resultados obtenidos con la prueba de transpirabilidad.**

Los velos de nanofibras del polímero pululano presenta una menor transpirabilidad y, consecuentemente, una mayor impermeabilidad al aire. Además, esta impermeabilidad es más estable durante el ensayo, indicando que el velo de nanofibras es más consistente.

7.4.5. ATR-FTIR

La muestra 16 del velo de pululano 20 % con aceite de salvia y muestra 13 del velo de pululano al 20%, han sido analizada mediante ATR-FTIR.

La gráfica 3 representa el espectro de infrarrojos del velo de pululano 20% (muestra 13), donde se representa la absorbancia frente a número de onda:



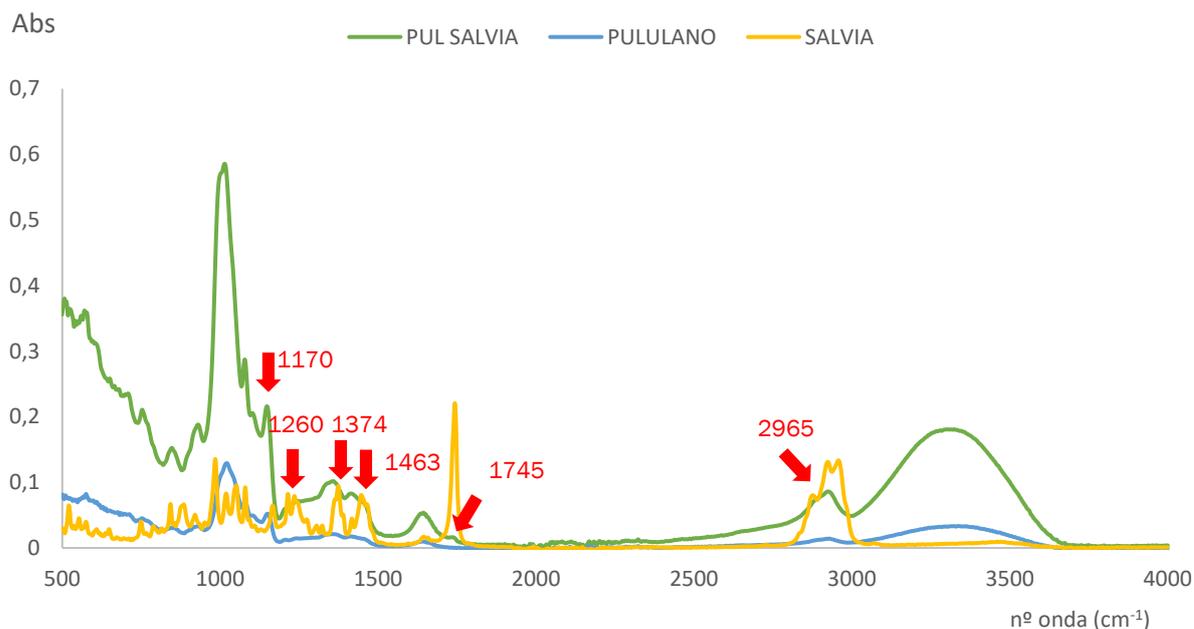
Gráfica 3. Espectro IR del velo de pululano electrohilado al 20%

El espectro de la gráfica 3 es característica del pululano, conforme a la bibliografía consultada [77], destacando los picos o bandas de absorción:

- 3337 cm^{-1} característico de vibraciones de estiramiento de enlace -OH, típica de las estructuras de polisacáridos.
- 2928 cm^{-1} que se corresponde con las vibraciones de enlace C-H de los grupos metilo.
- 1639 cm^{-1} perteneciente a la vibración de estiramiento de O-C-O en el pululano.
- 1354 cm^{-1} del enlace C-OH
- 1149 cm^{-1} del estiramiento del enlace C-O-C.
- 1078 cm^{-1} vibración de C-O-H
- 1021 cm^{-1} relacionados con la vibración del enlace C-O.

- Bandas de absorción específica de los enlaces α - α -(1,4) y α -(1,6)-D-glicosídicos a 742 y 931 cm^{-1} y el pico a 854 cm^{-1} de las unidades α -D-glucopiranosido.

Además, se ha realizado el análisis ATR-FTIR del velo de la muestra 16 (Velo pululano 20% con aceite de salvia). A continuación, se adjunta el espectro (gráfica 4) obtenido junto con los espectros del pululano y el aceite de salvia.



Gráfica 4. Espectro IR comparativo del velo de pululano electrohilado al 20% con aceite de salvia frente a los espectros individuales del pululano 20% y aceite de salvia

En la gráfica 4 puede observarse que muchas de las bandas características del aceite salvia se solapan con las bandas infrarrojas del pululano, fundamentalmente entre los número de onda 900 y 1100 cm^{-1} . No obstante, cabe destacar como en el espectro del velo de pululano con aceite de salvia aparecen picos característicos del aceite de salvia como es la banda de absorción a 1745 cm^{-1} (banda característica del grupo carbonilo), 1374 cm^{-1} (fragmento estructural del tipo $\text{C}(\text{CH}_3)_2$, 1463 cm^{-1} (anillo aromático), el pico 2965 cm^{-1} (específico del β -linalool puro), 1170 cm^{-1} (una banda característica para el enlace éter tipo $\text{CH}_3\text{-CH-CH}_3$) y el pico 1260 cm^{-1} (enlace tipo éter C-O-C).

➤ **Discusión de resultados obtenidos con el análisis ATR-FTIR.**

-Se ha obtenidos los espectros de los componentes independientes velo pululano 20% y aceite de salvia, presentando las bandas de absorción características de los enlaces químicos de las moléculas que lo componen y, por lo tanto, corroborando su identificación.

-El espectro de la muestra 16 correspondiente al velo de pululano 20% + aceite, confirma la presencia de aceite de salvia en las nanofibras de pululano, ya que aparecen bandas de absorción específicas del aceite de salvia.

-Se demuestra que el velo de nanofibras de pululano obtenido por electrospinning puede ser vehículo de activos y éstos quedan atrapados o depositados sobre la superficie del mismo.

8. CONCLUSIONES

El pululano es un polímero natural obtenido principalmente del hongo *Aureobasidium pullulans*. En los últimos años ha despertado un gran interés en aplicaciones industriales y biotecnológicas debido a sus propiedades características y su biodegradabilidad, biocompatibilidad y no toxicidad. Esta evolución al alza en estudios, patentes y productos a base de este polisacárido ha estado vinculada a la investigación y desarrollo de nuevas técnicas para su producción y numerosas aplicaciones.

Concretamente, la obtención de nanofibras de pululano mediante la técnica de electrospinning es objeto de investigaciones y estudios en los últimos años, utilizándose los velos obtenidos en la ingeniería de tejidos, liberación controlada de fármacos, recubrimientos y materiales compuestos, entre otras. Es por ello, que la técnica de electrospinning del pululano está en constante investigación y desarrollo, con el objetivo de mejorar la calidad de las nanofibras, controlar su tamaño y morfología, y ampliar aún más sus aplicaciones potenciales en diversos campos.

Con el presente estudio se ha pretendido fabricar velos no tejidos de nanofibras de pululano mediante la técnica de electrohilatura, estableciendo los parámetros que influyen y los valores óptimos del proceso de electrohilatura de este polímero, comparándolo de forma paralela con el polímero PVA, utilizado en estudios previos. Los resultados obtenidos han permitido alcanzar las siguientes conclusiones:

-Para obtener un velo de nanofibras de pululano equiparable al obtenido con el PVA al 9%, se **necesita concentraciones de pululano superiores al 15%**, siendo los resultados óptimos obtenidos a la concentración del 20% w/v del polisacárido en la disolución polimérica.

-Las **condiciones óptimas** para el electrohilado de una disolución polimérica del 20% de pululano es de un voltaje de **16-16,5kV**, caudal de **0,5ml/h**, distancia del capilar al colector de **15 cm**.

-Además se ha determinado que, a porcentajes del 15% y 20% de pululano, **adicionar sales a concentraciones de 0,1M mejora** la conductividad de la disolución, que se refleja en la **uniformidad de las nanofibras** obtenidas y la **ausencia** en el velo de **microesferas, cordones o elementos globulares**. Sin embargo, concentraciones más altas de sales, provoca nanofibras muy finas, con ramificaciones y elevada presencia de microesferas y perlas o incluso impide el proceso de electrospinning dando lugar a nanofibras planas y de apariencia de polímero fundido.

-El velo no tejido de **pululano** obtenido, presenta **mejores características** de **impermeabilidad** al aire, **adhesión** al sustrato estudiado y **solubilidad** en el agua, que el mostrado por el velo de PVA al 9%. Por ello, se presenta como una alternativa al alcohol de polivinilo con la posibilidad de ampliar los campos de aplicación, así como explotar estas propiedades, por ejemplo en su uso en contacto con la piel por su mejor adhesión, mayor solubilidad y su impermeabilidad pudiendo mantener la piel protegida mientras el velo de pululano ejerce su actividad.

-En lo que respecta a la encapsulación o utilización del velo de pululano como vehículo de principios activos, se ha comprobado que **es posible funcionalizar el velo** con aceite de salvia, y esto es ampliable a multitud de activos y, consecuentemente, de las posibles aplicaciones en el campo cosmético, médico, alimentario, entre otros. Al ser el velo de pululano impermeable al aire puede proteger al aceite de salvia de su exposición al oxígeno preservando sus propiedades; al mismo tiempo, que el carácter soluble del velo permitirá, cuando se requiera, la liberación del aceite para ejercer su función.

Con todo lo expuesto, podemos concluir que se ha conseguido cumplir el objetivo principal y los secundarios marcados en el inicio del estudio.

9. ACCIONES FUTURAS

Como líneas futuras, se propone:

- La funcionalización de los velos de nanofibras: solo se ha realizado la prueba con un aceite esencial. Se puede utilizar el velo de nanofibra como posible vehículo de principios activos y poder destinar este velo a aplicaciones cosméticas, médicas o alimentarias dada su biocompatibilidad, ausencia de toxicidad y biodegradabilidad.
- Hacer velos de pululano insolubles en agua y determinar sus propiedades y características, lo que puede ampliar las áreas y/o funcionalidad de uso.
- El estudio de adhesión sobre otros sustratos textiles para su aplicación, por ejemplo, en el campo de textiles sanitarios que junto con la adición de activos a los velos de pululano puede obtenerse productos eficaces, funcionales y atractivos.
- Determinar si el velo pululano actúa de barrera de protección de los principios activos que puede contener, protegiéndolo de la degradación y manteniendo sus propiedades y características intactas,
- Ampliar el estudio de efectos de diferentes aditivos, con el objetivo de reducir la concentración del polímero utilizado, lo que reduciría el consumo de la materia prima y, por lo tanto, su coste; así como, la dificultad que conlleva el trabajar con disoluciones con viscosidades tan elevadas.

10. OBJETIVOS DE DESARROLLO SOSTENIBLE

Se pueden identificar vínculos entre el proceso de electrohilatura de biopolímeros y los objetivos de desarrollo sostenible, como son:

- La utilización de biopolímeros como el pululano o el PVA para la obtención de velos mediante el proceso de electrohilado. Los biopolímeros son polímeros naturales o sintéticos derivados de fuentes renovables, como plantas o microorganismos, y ofrecen ventajas ambientales sobre los polímeros convencionales derivados del petróleo. Concretamente, contribuyen a la consecución de los objetivos:
 - o ODS 9 - Industria, Innovación e Infraestructura: La electrohilatura de biopolímeros puede promover la innovación en la fabricación de materiales sostenibles. Al utilizar biopolímeros como materia prima, se fomenta el desarrollo de industrias más sostenibles y se reducen los impactos ambientales asociados con los polímeros convencionales.
 - o ODS 12 - Producción y Consumo Responsables: contribuyendo a la promoción de una producción y consumo más sostenibles, ya que al fabricar fibras nanométricas con biopolímeros, se pueden desarrollar materiales más respetuosos con el medio ambiente, con propiedades como la biodegradabilidad, la compostabilidad o la reducción de residuos.
- Por la aplicación de los velos de nanofibras obtenidos. Como por ejemplo:
 - o ODS 6 (acceso a agua limpia y saneamiento), ODS 3 (salud y bienestar, ODS 12 (producción y consumo responsables) y ODS 14 (Vida submarina), cuando los velos de nanofibras se utilizan como filtros en la purificación de agua, la liberación controlada de medicamentos, la fabricación de materiales biodegradables y la mejora de la eficiencia energética.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Pataquiva Mateus, A., & Coba Daza, S. (2018). Producción de nanofibras poliméricas mediante el proceso de electrospinning y su uso potencial.
- [2] Subbiah, T., Bhat, G. S., Tock, R. W., Parameswaran, S., & Ramkumar, S. S. (2005). Electrospinning of nanofibers. *Journal of applied polymer science*, 96(2), 557-569.
- [3] Wu, S., Dong, T., Li, Y., Sun, M., Qi, Y., Liu, J., ... & Duan, B. (2022). State-of-the-art review of advanced electrospun nanofiber yarn-based textiles for biomedical applications. *Applied Materials Today*, 27, 101473.
- [4] Bhardwaj, N., & Kundu, S. C. (2010). Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnology advances*, 28(3), 325-347.
- [5] Lens.org (2023). *Publicaciones, trabajos y patentes relacionados con el pululano y la obtención de nanofibras mediante electrospinning*. Recuperado de Lens.org. www.lens.org.
- [6] Huang, Z. M., Zhang, Y. Z., Kotaki, M., & Ramakrishna, S. (2003). A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Composites science and technology*, 63(15), 2223-2253.
- [7] Ding, J., Zhang, J., Li, J., Li, D., Xiao, C., Xiao, H., ... & Chen, X. (2019). Electrospun polymer biomaterials. *Progress in Polymer Science*, 90, 1-34
- [8] Reneker, D. H., & Yarin, A. L. (2008). Electrospinning jets and polymer nanofibers. *Polymer*, 49(10), 2387-2425.
- [9] Wu, P., & Imai, M. (2013). Excellent dyes removal and remarkable molecular size rejection of novel biopolymer composite membrane. *Desalination and Water Treatment*, 51(25-27), 5237-5247.
- [10] Cheng, K. C., Demirci, A., & Catchmark, J. M. (2011). Pullulan: biosynthesis, production, and applications. *Applied microbiology and biotechnology*, 92, 29-44.
- [11] Radu, C. D., Danila, A., Sandu, I., Muresan, I. E., Sandu, I. G., & Branisteanu, E. D. (2017). Fibrous Polymers in Textile Prospect for Tissue Engineering Development. *Revista de Chimie*, 68(6), 1345-1351.
- [12] Singh, R. S., Saini, G. K., & Kennedy, J. F. (2008). Pullulan: microbial sources, production and applications. *Carbohydrate polymers*, 73(4), 515-531.
- [13] Stoica, R. M., Moscovici, M., Lakatos, E. S., & Cioca, L. I. (2023). Exopolysaccharides of Fungal Origin: Properties and Pharmaceutical Applications. *Processes*, 11(2), 335.
- [14] Leathers, T. D. (2003). Biotechnological production and applications of pullulan. *Applied microbiology and biotechnology*, 62, 468-473.

- [15] Haghghatpanah, N., Mirzaee, H., Khodaiyan, F., Kennedy, J. F., Aghakhani, A., Hosseini, S. S., & Jahanbin, K. (2020). Optimization and characterization of pullulan produced by a newly identified strain of *Aureobasidium pullulans*. *International journal of biological macromolecules*, *152*, 305-313.
- [16] Kachhawa, D. K., Bhattacharjee, P., & Singhal, R. S. (2003). Studies on downstream processing of pullulan. *Carbohydrate Polymers*, *52*(1), 25-28.
- [17] Cheng, K. C., Demirci, A., & Catchmark, J. M. (2011). Pullulan: biosynthesis, production, and applications. *Applied microbiology and biotechnology*, *92*, 29-44.
- [18] Kumar, D., Saini, N., Pandit, V., & Ali, S. (2012). An insight to pullulan: a biopolymer in pharmaceutical approaches. *Int. J. Basic Appl. Sci*, *1*(3), 202-219.
- [19] Tiwari, S., Patil, R., Dubey, S. K., & Bahadur, P. (2019). Derivatization approaches and applications of pullulan. *Advances in Colloid and Interface Science*, *269*, 296-308.
- [20] Singh, R. S., Kaur, N., & Kennedy, J. F. (2015). Pullulan and pullulan derivatives as promising biomolecules for drug and gene targeting. *Carbohydrate Polymers*, *123*, 190-207.
- [21] Muthusamy, S., Anandharaj, S. J., Kumar, P. S., Meganathan, Y., Vo, D. V. N., Vaidyanathan, V. K., & Muthusamy, S. (2022). Microbial pullulan for food, biomedicine, cosmetic, and water treatment: A review. *Environmental Chemistry Letters*, *20*(5), 3199-3234.
- [22] Singh, R. S., Kaur, N., Singh, D., Purewal, S. S., & Kennedy, J. F. (2023). Pullulan in pharmaceutical and cosmeceutical formulations: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, *123353*.
- [23] Singh, R. S., Kaur, N., Rana, V., & Kennedy, J. F. (2017). Pullulan: A novel molecule for biomedical applications. *Carbohydrate polymers*, *171*, 102-121.
- [24] Ganie, S. A., Rather, L. J., & Li, Q. (2021). A review on anticancer applications of pullulan and pullulan derivative nanoparticles. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, *2*, 100115.
- [25] Balasso, A., Subrizi, A., Salmaso, S., Mastrotto, F., Garofalo, M., Tang, M., ... & Caliceti, P. (2021). Screening of chemical linkers for development of pullulan bioconjugates for intravitreal ocular applications. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, *161*, 105785.
- [26] Priya, S., Batra, U., Samshritha, R. N., Sharma, S., Chaurasiya, A., & Singhvi, G. (2022). Polysaccharide-based nanofibers for pharmaceutical and biomedical applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*.
- [27] Rajalekshmy, G. P., Mariya, R. A., & Rekha, M. R. (2021). Pullulan-based nanomaterials in drug delivery applications. In *Biopolymer-Based Nanomaterials in Drug Delivery and Biomedical Applications* (pp. 383-404). Academic Press.

- [28] Ding, Y., Jiang, F., Chen, L., Lyu, W., Chi, Z., Liu, C., & Chi, Z. (2020). An alternative hard capsule prepared with the high molecular weight pullulan and gellan: Processing, characterization, and in vitro drug release. *Carbohydrate polymers*, 237, 116172.
- [29] Zhou, K., Yang, Y., Zheng, B., Yu, Q., Huang, Y., Zhang, N., ... & Xiao, M. (2023). Enhancing Pullulan Soft Capsules with a Mixture of Glycerol and Sorbitol Plasticizers: A Multi-Dimensional Study. *Polymers*, 15(10), 2247.
- [30] Yang, N., Chen, H., Jin, Z., Hou, J., Zhang, Y., Han, H., ... & Guo, S. (2020). Moisture sorption and desorption properties of gelatin, HPMC and pullulan hard capsules. *International journal of biological macromolecules*, 159, 659-666.
- [31] Jahanshahi-Anbuhi, S., Kannan, B., Leung, V., Pennings, K., Liu, M., Carrasquilla, C., ... & Filipe, C. D. (2016). Simple and ultrastable all-inclusive pullulan tablets for challenging bioassays. *Chemical Science*, 7(3), 2342-2346.
- [32] Leathers, T. D. (2002). Pullulan. *Biopolymers*, 6, 1-35.
- [33] Lonza-Capsules & Health Ingredients. *Plantcaps® Capsules*. <https://www.capsugel.com/consumer-health-nutrition-products/plantcaps-capsules>. Recuperado el 25 de Junio de 2023.
- [34] Vuddanda, P. R., Montenegro-Nicolini, M., Morales, J. O., & Velaga, S. (2017). Effect of plasticizers on the physico-mechanical properties of pullulan based pharmaceutical oral films. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 96, 290-298.
- [35] Pacheco, M. S., Barbieri, D., da Silva, C. F., & de Moraes, M. A. (2021). A review on orally disintegrating films (ODFs) made from natural polymers such as pullulan, maltodextrin, starch, and others. *International Journal of Biological Macromolecules*, 178, 504-513.
- [36] Gupta, M. S., Kumar, T. P., Reddy, D., Pathak, K., Gowda, D. V., Babu, A. N., ... & Hussin, T. (2023). Development and Characterization of Pullulan-Based Orodispersible Films of Iron. *Pharmaceutics*, 15(3), 1027.
- [37] Nagase America LLC. *Pullulan*. <https://nagaseamerica.com/product/pullulan/>. Recuperado el 25 de Junio de 2023.
- [38] Mishra, B., Vuppu, S., & Coltrath, K. (2011). The role of microbial pullulan, a biopolymer in pharmaceutical approaches: A review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, (Issue), 45-50.
- [39] de Souza, C. K., Ghosh, T., Lukhmana, N., Tahiliani, S., Priyadarshi, R., Hoffmann, T. G., ... & Han, S. S. (2023). Pullulan as a sustainable biopolymer for versatile applications: A review. *Materials Today Communications*, 106477.
- [40] Pandey, S., Shreshtha, I., & Sachan, S. G. (2021). Pullulan: Biosynthesis, production and applications. *Microbial exopolysaccharides as novel and significant biomaterials*, 121-141.

- [41] Coltelli, M. B., Danti, S., De Clerck, K., Lazzeri, A., & Morganti, P. (2020). Pullulan for advanced sustainable body-and skin-contact applications. *Journal of Functional Biomaterials*, *11*(1), 20.
- [42] Roy, S., Das, S. K., Chakraborty, S., Pandey, K., Mukherjee, A., & Rajabalaya, R. (2020). Role of Pullulans in Cosmetics. In *Pullulan* (pp. 239-255). Jenny Stanford Publishing.
- [43] Niu, B., Shao, P., Chen, H., & Sun, P. (2019). Structural and physiochemical characterization of novel hydrophobic packaging films based on pullulan derivatives for fruits preservation. *Carbohydrate polymers*, *208*, 276-284.
- [44] Oğuzhan, P., & Yangılar, F. (2013). Pullulan: Production and usage in food industry. *African Journal of Food Science and Technology*, *4*(3), 2141-5455.
- [45] Farris, S., Unalan, I. U., Introzzi, L., Fuentes-Alventosa, J. M., & Cozzolino, C. A. (2014). Pullulan-based films and coatings for food packaging: present applications, emerging opportunities, and future challenges. *Journal of Applied Polymer Science*, *131*(13).
- [46] Rwei, S. P., & Huang, C. C. (2012). Electrospinning PVA solution-rheology and morphology analyses. *Fibers and polymers*, *13*(1), 44.
- [47] Hernández, E., Santoyo, L., Robledo, F., & Cruz, R. (2007). Caracterización del alcohol polivinílico usado en recubrimientos de base acuosa. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, *38*(2), 15-25.
- [48] Koski, A., Yim, K., & Shivkumar, S. J. M. L. (2004). Effect of molecular weight on fibrous PVA produced by electrospinning. *Materials Letters*, *58*(3-4), 493-497.
- [49] Aslam, M., Kalyar, M. A., & Raza, Z. A. (2018). Polyvinyl alcohol: A review of research status and use of polyvinyl alcohol based nanocomposites. *Polymer Engineering & Science*, *58*(12), 2119-2132.
- [50] Jain, R., Shetty, S., & Yadav, K. S. (2020). Unfolding the electrospinning potential of biopolymers for preparation of nanofibers. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, *57*, 101604.
- [51] Sánchez, L. M. D., Rodriguez, L., & López, M. (2013). Electrospinning: la era de las nanofibras. *Revista Iberoamericana de polímeros*, *14*(1), 10-27.
- [52] Teo, W. E., & Ramakrishna, S. (2006). A review on electrospinning design and nanofibre assemblies. *Nanotechnology*, *17*(14), R89. Beachley, V., & Wen, X. (2009). Effect of electrospinning parameters on the nanofiber diameter and length. *Materials Science and Engineering: C*, *29*(3), 663-668.
- [53] Ibrahim, H. M., & Klingner, A. (2020). A review on electrospun polymeric nanofibers: Production parameters and potential applications. *Polymer Testing*, *90*, 106647.
- [54] Ziabari, M., Mottaghalab, V., & Haghi, A. K. (2008). Evaluation of electrospun nanofiber pore structure parameters. *Korean Journal of Chemical Engineering*, *25*, 923-932.

- [55] Li, Z., Wang, C., Li, Z., & Wang, C. (2013). Effects of working parameters on electrospinning. *One-dimensional nanostructures: Electrospinning technique and unique nanofibers*, 15-28.
- [56] Luo, C. J., Nangrejo, M., & Edirisinghe, M. (2010). A novel method of selecting solvents for polymer electrospinning. *Polymer*, 51(7), 1654-1662.
- [57] Frenot, A., & Chronakis, I. S. (2003). Polymer nanofibers assembled by electrospinning. *Current opinion in colloid & interface science*, 8(1), 64-75.
- [58] Bombin, A. D. J., Dunne, N. J., & McCarthy, H. O. (2020). Electrospinning of natural polymers for the production of nanofibres for wound healing applications. *Materials Science and Engineering: C*, 114, 110994.
- [59] Al-Hazeem, N. Z. A. (2018). Nanofibers and electrospinning method. Nov. Nanomater.-Synth. Appl., George Kyzas, ed., InTechOpen, 191-210.
- [60] Wu, H., Zheng, Y., & Zeng, Y. (2015). Fabrication of helical nanofibers via co-electrospinning. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 54(3), 987-993. DOI: <https://doi.org/10.1021/ie504305s> (Fecha de consulta: 03/05/2022).
- [61] Koombhongse, S., Liu, W., & Reneker, D. H. (2001). Flat polymer ribbons and other shapes by electrospinning. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 39(21), 2598-2606.
- [62] Khajavi, R., & Abbasipour, M. (2017). Controlling nanofiber morphology by the electrospinning process. In *Electrospun Nanofibers* (pp. 109-123). Woodhead Publishing.
- [63] Casasola, R., Thomas, N. L., Trybala, A., & Georgiadou, S. (2014). Electrospun poly lactic acid (PLA) fibres: Effect of different solvent systems on fibre morphology and diameter. *Polymer*, 55(18), 4728-4737.
- [64] Han, J., Xiong, L., Jiang, X., Yuan, X., Zhao, Y., & Yang, D. (2019). Bio-functional electrospun nanomaterials: From topology design to biological applications. *Progress in Polymer Science*, 91, 1-28.
- [65] Chen, H., Wang, N., Di, J., Zhao, Y., Song, Y., & Jiang, L. (2010). Nanowire-in-microtube structured core/shell fibers via multifluidic coaxial electrospinning. *Langmuir*, 26(13), 11291-11296
- [66] Zhao, Y., Cao, X., & Jiang, L. (2007). Bio-mimic multichannel microtubes by a facile method. *Journal of the American Chemical Society*, 129(4), 764-765.
- [67] Bambole, V., & Yakhmi, J. V. (2016). Tissue engineering: Use of electrospinning technique for recreating physiological functions. In *Nanobiomaterials in soft tissue engineering* (pp. 387-455). William Andrew Publishing.
- [68] Vasita, R., & Katti, D. S. (2006). Nanofibers and their applications in tissue engineering. *International Journal of nanomedicine*, 1(1), 15-30.

- [69] [Valizadeh, A., & Mussa Farkhani, S. (2014). Electrospinning and electrospun nanofibres. *IET nanobiotechnology*, 8(2), 83-92.
- [70] Li, R., Tomasula, P., De Sousa, A. M. M., Liu, S. C., Tunick, M., Liu, K., & Liu, L. (2017). Electrospinning pullulan fibers from salt solutions. *Polymers*, 9(1), 32.
- [71] Vázquez, J. F. G. (2009). Interés farmacéutico de la " Salvia officinalis" y de la " Euphrasia officinalis". *Cuadernos del Tomás*, (1), 157-171.
- [72] Aparicio Sandoval, C. S. (2021). Microencapsulación del aceite esencial de Salvia sagittata (salvia azul) por Spray Chilling, para asegurar su capacidad antimicrobiana, analgésica y antiinflamatoria. Cachicadán, Santiago de Chuco, La Libertad.
- [73] Curti, M. I. (2014). Estudio de la estabilidad del aceite de chía (salvia hispánica L.) microencapsulado (Master's thesis).
- [74] Mínguez García, D. (2022). Adhesión de nanofibras a distintos tejidos de calada. Trabajo Fin de Máster MUITEX-UPV. 2022.
- [75] Sánchez Fuertes, A. (2022). Electrospinning vs Electro spraying para la optimización de los parámetros de deposición en el diseño de recubrimientos nanoestructurados de uso biomédico.
- [76] Normalización Española. (2019). Mascarillas quirúrgicas. Requisitos y métodos de ensayo (UNE-EN 14683:2019+AC:2019).
- [77] Kizildag, N. (2023). Pullulan Films with PCMs: Recyclable Bio-Based Films with Thermal Management Functionality. *Coatings*, 13(2), 414.