

Estudio del proceso de Electrohilatura del DL-PLG para optimizar su biodegradación en aplicaciones médicas.

MEMORIA PRESENTADA POR:

Sara Gandía Adrián

GRADO DE INGENIERÍA QUÍMICA

Convocatoria de defensa: Julio de 2016

Contenido

AGRADECIMIENTOS.....	3
RESUMEN.....	4
RESUM	4
ABSTRACT	4
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN	6
1.1 Biomateriales	6
1.1.1 Definición y origen.....	6
1.1.2 Clasificación y características requeridas de los biomateriales.	8
1.1.3 Aplicaciones y sectores de aplicación de los biomateriales.....	12
1.1.4 Biomateriales poliméricos: DL-PLG	17
1.2 Nanofibras.....	22
1.2.1 Definición y propiedades.....	22
1.2.2 Aplicaciones.....	22
1.3 Glicina.....	28
1.3.1 Definición.	28
1.3.2 Propiedades.....	29
1.3.3 Efectos sobre el cartílago	30
1.3.4 Antecedentes en el campo de la electrohilatura.....	31
1.3.5 Tipos de suministración de Glicina.....	31
1.3.6 Proceso de incorporación de Glicina.....	32
1.4 Objetivos	34
CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA Y PROCEDIMIENTO.....	35
2.1 Marco teórico.....	35
2.1.1 Electrohilatura.....	35
2.1.1.1 Orígenes.....	35
2.1.1.2 Descripción de la técnica.....	36
2.1.1.3 Parámetros	40
2.2 Marco experimental	44
2.2.1 Obtención de los velos de nanofibras	44

2.2.1.1 Preparación de las disoluciones de DL-PLG.....	44
2.2.1.2 Equipo de Electrohilatura.....	47
2.2.2 Incorporación del principio activo.....	52
2.2.3 Técnicas de caracterización.....	53
CAPÍTULO 3. ENSAYOS PARA EL ESTUDIO DE LA VARIACIÓN DEL DIÁMETRO DE LAS NANOFIBRAS Y LA ADICIÓN DE PRINCIPIO ACTIVO.....	62
3.1 Ensayos para el estudio de la variación del diámetro de las nanofibras.....	62
3.1.1 Ensayos realizados.....	62
3.1.2 Caracterización de los velos.....	63
3.2 Ensayos para la determinación de la concentración óptima de Glicina.....	77
3.2.1 Ensayos realizados.....	77
3.2.2 Caracterización de los velos con Glicina.....	80
CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	84
4.1 Efectos de los parámetros sobre el diámetro de las nanofibras.....	84
4.2 Efectos de la adición de Glicina.....	95
CAPÍTULO 5. ESTUDIO ECONÓMICO.....	99
5.1 Coste de equipos y materia prima.....	99
5.2 Coste energético e hídrico.....	101
5.3 Viabilidad del proceso.....	103
CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES.....	104
CAPÍTULO 7. TRATAMIENTO DE RESIDUOS DE LABORATORIO Y MANTENIMIENTO DE EQUIPOS.....	105
7.1 Normativa seguida para el tratamiento de residuos de laboratorio.....	105
7.2 Características toxicológicas de los productos utilizados.....	106
7.3 Tratamiento de los residuos generales.....	107
7.4 Mantenimiento de los equipos.....	107
CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA Y ANEXOS.....	109
8.1 Referencias bibliográficas.....	109
8.2 ANEXO I: Hojas de registro de los ensayos.....	114

AGRADECIMIENTOS

Abarcarse en un campo nuevo y desconocido nunca es sencillo, por ello en primer lugar quiero agradecer a mis compañeros de AITEX, Àngela Rabal y Bruno Marco por enseñarme todo lo relacionado con la increíble técnica que es la Electrohilatura.

A mi tutor César Quijada, por su inmediato interés en llevar mi trabajo final de grado y su ansia por conocer más de esta técnica. Además de por su enorme paciencia y sabiduría para guiarme durante la realización del presente trabajo.

Por último agradecerle a mi cotutora y supervisora en el Instituto Tecnológico AITEX, María Blanes, por otorgarme la oportunidad de realizar esta investigación y permitirme el acceso a todo equipo que necesitase.

RESUMEN

La técnica de la Electrohilatura es un proceso a través del cual se consiguen producir fibras de diámetros micro y nanométricos empleando una disolución polimérica y una carga electrostática.

En el presente trabajo se han estudiado y seleccionado los parámetros óptimos a fijar en el proceso, investigando la relación entre la formación de fibras y el flujo de inyección, el voltaje y la distancia entre el colector y punta de aguja, con el fin de reducir el diámetro de las fibras lo máximo posible sin dañar su estructura. Dichos parámetros serán estudiados haciendo uso del polímero DL-PLG.

A su vez se relacionará el diámetro de las fibras con la retención y el efecto producido por un compuesto intrínseco en las nanofibras, en este caso la Glicina.

RESUM

La tècnica de l'electrohilatura es un procés a través del qual es aconseguix produir fibres de diàmetres micro y nanomètrics fent ús d'una dissolució polimèrica i una càrrega electrostàtica.

En el present treball s'han estudiat i seleccionat els paràmetres òptims a fixar en el procés, investigant la relació entre la formació de fibres i el flux d'injecció, el voltatge i la distància entre el col·lector i la punta de l'agulla, amb el fi de reduir el diàmetre de les fibres al màxim possible sense danyar la seua estructura. Aquests paràmetres seran estudiats fent ús del polímer DL-PLG.

A la mateixa vegada, es relacionarà el diàmetre de les fibres amb la retenció i l'efecte produït per un compost intrínsec en les nanofibras, en aquest cas la Glicina.

ABSTRACT

The electrospinning technique is a process whereby fibers with micro and nanometric diameters are achieved using a polymeric solution and an electrostatic charge.

In this work, the optimal parameters to be set in the process have been studied and selected, investigating the relationship between fiber formation and injection flow, voltage and the distance between the collector and the needle tip, in order to reduce the diameter of the fibers as possible without damaging its structure. These parameters will be studied using DL-PLG polymer.

At the same time, retention capacity and effect produced of an intrinsic compound into the nanofibers, Glycine, and fiber diameter will be related.

Keywords: Electrohilatura, DL-PLG, Glicina, parámetros, diámetro, textil biomédico.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

1.1 Biomateriales

1.1.1 Definición y origen

El término Biomaterial designa a aquel material de origen natural o artificial utilizado en la fabricación de dispositivos que interactúan con sistemas biológicos y que son aplicables en diversas ramas de la medicina. En dicha definición están comprendidos una amplia gama de materiales; metales, cerámicos y polímeros naturales y sintéticos. Normalmente estos materiales se utilizan formando compuestos en los que la asociación de dos o más sustancias con características propias forma un nuevo material, cuyas propiedades son superiores a las de cada uno de sus componentes. [1]

El uso de materiales no biológicos para el tratamiento de heridas y de ciertas enfermedades se remonta al siglo XXX a.C., en el Antiguo Egipto. También en las civilizaciones clásicas de Grecia (s. VII a.C) y Roma (s. IV d.C) se usaron materiales no biológicos, en particular metales y otros materiales naturales para aplicaciones médicas. Sin embargo, el impulso necesario para el desarrollo de nuevas disciplinas y técnicas en la ciencia y la ingeniería de materiales aplicadas al campo de la medicina tuvo su auge en los años 50, cuando se comenzó a utilizar materiales comunes en aplicaciones técnicas en este ámbito. Desde la primera toma de contacto, la mejora y la innovación de estos dispositivos médicos de alto rendimiento ha sido constante.

Centrándonos en el continente Europeo, en el siglo XVI se empezó a utilizar el oro y la plata como sustitutos en la reparación de piezas dentales e hilos de hierro para la inmovilización en fracturas óseas. El desarrollo de la anestesia, la cirugía en condiciones estériles y el descubrimiento de los rayos X, avances tecnológicos muy significativos a finales del siglo XIX, dieron un fuerte impulso a la búsqueda de metales que pudieran ser utilizados para aplicaciones intracorpóreas. La corrosión y las propiedades mecánicas de los metales fueron fuertes impedimentos a la hora de establecerlos como materiales idóneos para el uso médico. Para intentar superar dichos inconvenientes se desarrollaron aleaciones metálicas como cromo-cobalto y los aceros inoxidables. Hacia 1949 se consiguió mejorar la resistencia a la corrosión, y en 1960 se desarrollaron metales con menor porcentaje de carbono, pero no fue hasta que se introdujo el Titanio y sus aleaciones cuando las aplicaciones de los metales en la medicina se ampliaron y se reafirmaron como biomateriales adecuados.

Aunque fue ya en la Edad Media cuando la aplicación de biomateriales no metálicos comenzó, sobre todo en el uso de ligaduras destinadas a detener hemorragias y en algunos de los procedimientos quirúrgicos, no fue hasta después de la Segunda Guerra Mundial (1945) cuando la investigación sistemática y planificada de los materiales útiles para la fabricación de prótesis e implantes surge como consecuencia del avance del conocimiento en ciencia y tecnología de materiales.

La razón de que se impulsara el desarrollo de los materiales implantables fue el enorme aumento de su demanda por la necesidad de rehabilitar a millones de inválidos de guerra. Fue en este punto cuando se comenzaron a desarrollar los primeros materiales poliméricos destinados a este fin.

El desarrollo y la investigación de los implantes estuvo únicamente a cargo de los cirujanos durante las décadas 40 y 50. Más adelante, en la década de los 60, se publicaron los primeros estudios oficiales acerca de las lesiones provocadas por la presencia del implante en el cuerpo humano. Surge así el término biocompatibilidad para definir el grado de tolerancia del material por parte de la materia viva. Con el fin de determinar el grado de biocompatibilidad de los materiales se empezaron a estandarizar ciertos ensayos de acuerdo con protocolos preestablecidos y un análisis estadístico posterior de los resultados obtenidos. [2]

El punto de partida de la necesaria integración de disciplinas complementarias a la ingeniería y la medicina para el desarrollo de materiales biomédicos lo marca el primer simposio de Biomateriales que se celebró en 1969 en la Universidad de Clemson (Carolina del Sur, EEUU) En 1978 se llevó a cabo el primer Congreso Internacional sobre Biomateriales y desde entonces se ha producido un notable crecimiento en el número de trabajos realizados así como en el número de personas especializadas en el tema. [3]

1.1.2 Clasificación y características requeridas de los biomateriales.

El número y tipo de biomateriales conocidos en la actualidad es muy variado y extenso. Por ello existen diferentes sistemas de clasificación atendiendo a los siguientes criterios (Tabla 1):

- **Según la naturaleza química:**
 - **Metálicos:** Fueron los primeros biomateriales que se utilizaron ya que son muy blandos y fáciles de conformar. Se emplean básicamente como elementos estructurales, con el objetivo de reemplazar algunas de las partes del cuerpo humano. Son utilizados para soportar cargas pesadas por sus buenas propiedades mecánicas y su alta resistencia a la corrosión. Entre sus campos de aplicación principales se encuentran la ortopedia, en dispositivos de fijación de fracturas, y la ortodoncia, en forma de corrector dental o como implantes y prótesis. Además también se utilizan como dispositivos intrauterinos como método anticonceptivo. Los más utilizados son el acero inoxidable, las aleaciones cobalto-cromo y el titanio.
 - **Cerámicos:** Son compuestos formados por elementos metálicos y no metálicos que se mantienen unidos por enlaces iónicos y/o covalentes. Tienen estructuras cristalinas como los metales, a excepción de los vidrios, que son amorfos. Son malos conductores de la electricidad y el calor, además de ser duros y frágiles y poseer una baja deformación plástica. Se comenzaron a utilizar como biomateriales en la década de los 70 aunque su fragilidad restringió en gran medida su uso, por lo que se utilizan solo en aquellas aplicaciones donde no sea necesario poseer altas prestaciones mecánicas, por ejemplo cirugías de oído, relleno de defectos óseos y recubrimiento de implantes dentales. Los biomateriales cerámicos pueden ser inertes o bioactivos dependiendo de si interactúan o no con el medio biológico.
 - **Poliméricos:** Los biomateriales poliméricos tienen mucha variedad de compuestos y se pueden fabricar en muchas formas: fibras, películas, tejidos, etc. Además, pueden ser de origen natural o sintético y pueden ser bioestables (de carácter permanente) o biodegradables (de carácter temporal). Entre sus aplicaciones se encuentran los implantes quirúrgicos, como membranas protectoras, sistemas de dosificación de fármacos y cementos óseos acrílicos.

- **Compuestos:** También llamados composites. Están formados por dos materiales diferentes, combinados de tal manera que se puedan aprovechar las propiedades mecánicas de cada uno de ellos. Una de sus características principales es su alta resistencia a la fractura. Se utilizan generalmente para la fijación de fracturas, como cemento óseo, para el reemplazo de cartílagos, tendones, ligamentos, fabricación de piernas artificiales, prótesis y cadera.

- **Según la duración:**

- **Temporales:** Los biomateriales temporales son aquellos que desaparecen con el tiempo debido a que el propio cuerpo los reabsorbe. Son bioabsorbibles, biodegradables y no tóxicos. Generalmente se utilizan biopolímeros.
- **Permanentes:** Son aquellos que permanecen de forma indefinida por el cuerpo humano debido a que no sufren degradación ninguna. Destacan las prótesis de cadera y rodilla y los implantes dentales.

- **Según la localización:**

- **Intracorpórea:** Se encuentran en el interior del cuerpo humano. Un ejemplo son los materiales con liberación de fármacos, las prótesis de cadera y pierna y los implantes dentales.
- **Extracorpórea:** Se encuentran en el exterior del cuerpo humano. Destacan las prótesis de miembros, los audífonos y las lentes oculares.

- **Según la función:**

- **Soporte:** Son estructuras que se presentan como una alternativa a los actuales materiales para la reparación de fracturas, ya que facilitan y mejoran la fijación de las células. Un ejemplo son los soportes de biovidrio que sirven para favorecer la fijación de células óseas para la reparación de los huesos.
- **Diagnóstico:** Se tratan de biomateriales cuyo destino es facilitar el diagnóstico de una enfermedad o anomalía. Entre ellos podemos destacar las cámaras intracorpóreas o los equipos de ecografía y colonoscopia.

- **Tratamiento:** Se trata de biomateriales que contienen cierta cantidad de fármaco que se lleva a la fuente exacta del problema. Por ejemplo nanopartículas inoculadas directamente sobre un tumor o sobre células cancerosas para reducirlas o tratarlas.
 - **Según el contenido:**
 - **Medicamentos:** Sistemas de liberación controlada y transporte de medicamentos. Por ejemplo tenemos los parches de nicotina, que liberan regularmente nicotina, la cual traspasa la capa epidérmica y llega al torrente sanguíneo. [4] y las cápsulas que se disuelven en el estómago liberando el principio activo.
 - **Células vivas:** Comúnmente se les llama biomateriales vivos porque están formados por un biomaterial y células vivas. Por ejemplo la empresa BioBots (en EE.UU) fabrica tejidos y órganos con biomateriales y células vivas.
 - **Materiales inteligentes:** Se dice de aquellos materiales que son capaces de cambiar de forma o estructura dependiendo de las condiciones en las que se encuentre. Por ejemplo existen unos stents coronarios que cambian de diámetro según el flujo de sangre que los atraviese. [5]

CLASIFICACIÓN DE LOS BIOMATERIALES	
Según la naturaleza química	Metálicos
	Cerámicos
	Poliméricos
	Compuestos
Según la duración	Temporal
	Permanente
Según la localización	Intracorpórea
	Extracorpórea
Según la función	Soporte
	Diagnóstico
	Tratamiento
Según el contenido	Medicamentos
	Biomateriales vivos
	Materiales inteligentes

Tabla 1. Clasificación de los biomateriales [6]

Cuando se trabaja con biomateriales es necesario tener en cuenta que habrá un efecto acción-reacción entre el implante y el organismo, es decir, una bidireccionalidad. Por lo tanto, es necesario que dicho biomaterial contenga ciertas **características**: [7]

- El material no debe incluir componentes que puedan disolverse en el organismo, a no ser que sea de forma intencionada para conseguir un propósito específico. *Ejemplo: Sistema de liberación de fármacos.*
- El organismo vivo no debe producir degradación en el implante excepto si ésta es intencionada y diseñada junto con el implante. *Ejemplo: Suturas reabsorbibles.*
- Las propiedades físicas y mecánicas del material deben ser plenamente adecuadas para llevar a cabo la función para la que han sido elegidas. *Ejemplo: El material empleado en la sustitución de un tendón debe tener un módulo de tensión adecuado.* Algunas de éstas deben mantenerse durante el tiempo de vida que se espera para el implante.
- Obviamente, el material debe ser biocompatible, siendo este concepto extensible al potencial carcinogénico que pueda poseer y a la interacción con el sistema inmunológico del que va a formar parte.
- El material debe ser esterilizable para evitar cualquier rastro de bacterias y endotoxinas adheridas a las paredes del implante.

En general, la mayor parte de los materiales precandidatos para una aplicación biomédica dada no cumplen con todas estas condiciones, de manera que los biomateriales utilizados deben ser diseñados específicamente para cumplir unas determinadas funciones. Existen organismos oficiales, como la FDA (Food and Drugs Administration, EEUU), que se encargan de regular las características intrínsecas de los biomateriales, exigiendo el cumplimiento de ciertas normas regulatorias para el acceso al mercado y la posterior vigilancia de cualquier tipo de incidencia médica.

1.1.3 Aplicaciones y sectores de aplicación de los biomateriales.

Los biomateriales son empleados en multitud de contextos y cada uno de ellos asociado a algún tipo de aplicación particular. Algunas de las posibilidades se resumen en la tabla adjunta:

APLICACIÓN	MATERIAL FRECUENTEMENTE EMPLEADO
<p>Sistema óseo:</p> <p>Reemplazo de articulaciones, placas para la fijación de fracturas, cemento para huesos, reparación de defectos óseos, ligamentos y tendones artificiales e implantes dentales.</p>	<p>Aleaciones de Titanio, acero inoxidable, polietileno, aleación cobalto-cromo, teflón, Dacrón, polimetilmetacrilato, Titanio, hidroxiapatita, Alúmina y fosfato de Calcio.</p>
<p>Sistema cardiovascular:</p> <p>Prótesis vasculares, válvulas de corazón y catéter.</p>	<p>Dacrón, Teflón, poliuretano, tejido procesado, acero inoxidable y goma de silicona.</p>
<p>Órganos:</p> <p>Corazón artificial, placas para reparación de la piel, riñón artificial (hemodiálisis) y respiradores artificiales.</p>	<p>Poliuretano, materiales compuestos de silicona-colágeno, celulosa, poliacrilonitrilo y goma de silicona.</p>
<p>Sentidos:</p> <p>Lentes intraoculares y lentes de contacto.</p>	<p>Polimetilmetacrilato, goma de silicona, silicona-acrilato e hidrogeles.</p>
<p>Sistema de liberación de fármacos:</p>	<p>Policaprolactona, PLA, PLG, Poliamida, DL-PLG.</p>

Microencapsulación o soporte de principios activos para tratamiento local de síntomas y vacunas.	
Sistema de sutura: Uso de biomateriales como sutura bioabsorbible.	Poliglactin, ácido Poliglicólico, Polidioxanona

Tabla 2. Aplicaciones de los biomateriales.

La razón principal de emplear biomateriales es la de reemplazar físicamente a un tejido blando o duro que ha sido dañado o destruido a través de un proceso patológico o accidental (Ilustración 1).

Aunque los tejidos y las estructuras del cuerpo humano llevan a cabo correctamente su función durante un largo periodo de tiempo, pueden sufrir una amplia variedad de procesos degenerativos, entre los que se incluyen fracturas, infecciones, cáncer, etc. y que causan desfiguraciones y/o pérdidas de la función. Bajo estas circunstancias, es posible retirar el tejido dañado y reemplazarlo con el biomaterial correspondiente. [8]

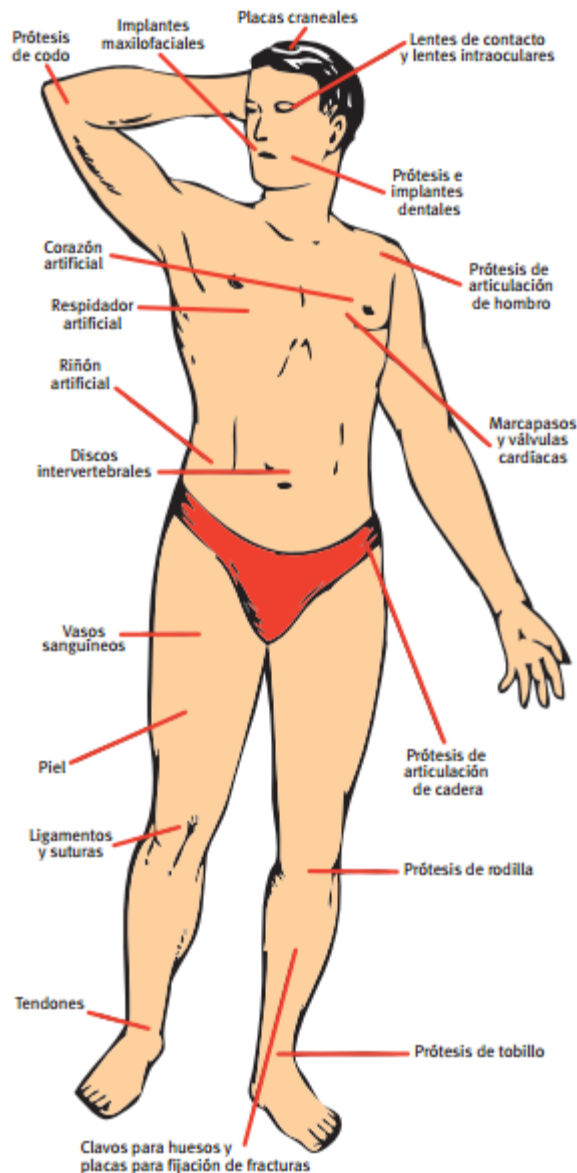


Ilustración 1. Aplicación de biomateriales en la reparación o reemplazo de diversas partes del cuerpo humano.

A continuación se describen más detalladamente algunos de los sectores de aplicación de los biomateriales:

- **ORTOPEDIA:** Es una de las más prominentes áreas de aplicación de biomateriales. Existen enfermedades que afectan la estructura de las articulaciones tales como la cadera, rodilla, hombro, codo, etc. Que originan dolor y posible inmovilidad. Gracias a la anestesia, antisépticos y antibióticos, ha sido posible el reemplazo total de dichas articulaciones y la recuperación de los pacientes, tanto en lo concerniente a la pérdida del dolor como de la movilidad de la articulación es, prácticamente, total.

En particular, la articulación de la cadera humana está sujeta a altas tensiones mecánicas y sufre un desgaste considerable por lo que tras estar sometida a años de tensiones mecánicas cíclicas o debido a alguna enfermedad degenerativa, la articulación natural se desgasta produciendo una considerable pérdida de movilidad al paciente. Es por ello que se fabrican articulaciones artificiales de cadera de diversos biomateriales (Ilustración 2):

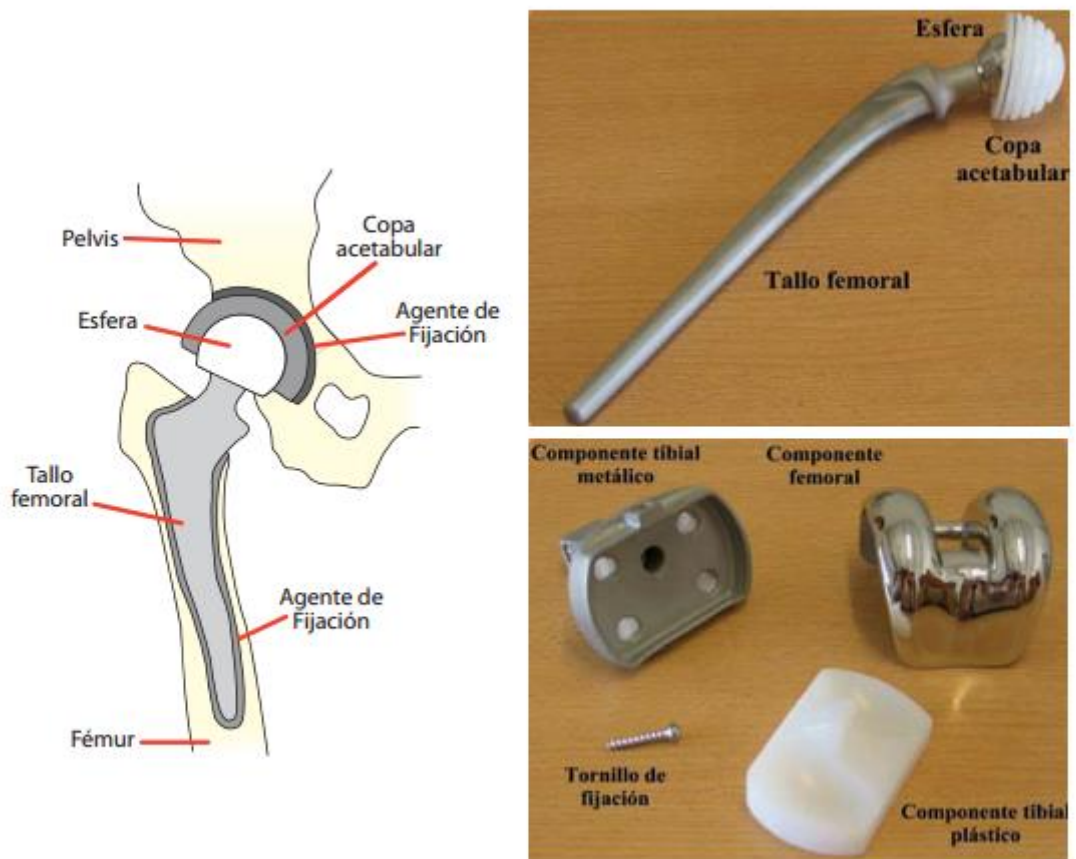


Ilustración 2. Esquema de prótesis total de cadera cementada y componentes principales de la misma.

- **CARDIOVASCULARES:** En el sistema cardiovascular pueden generarse problemas con las válvulas del corazón y las arterias; problemas que pueden subsanarse con el adecuado empleo de biomateriales (Ilustración 3):

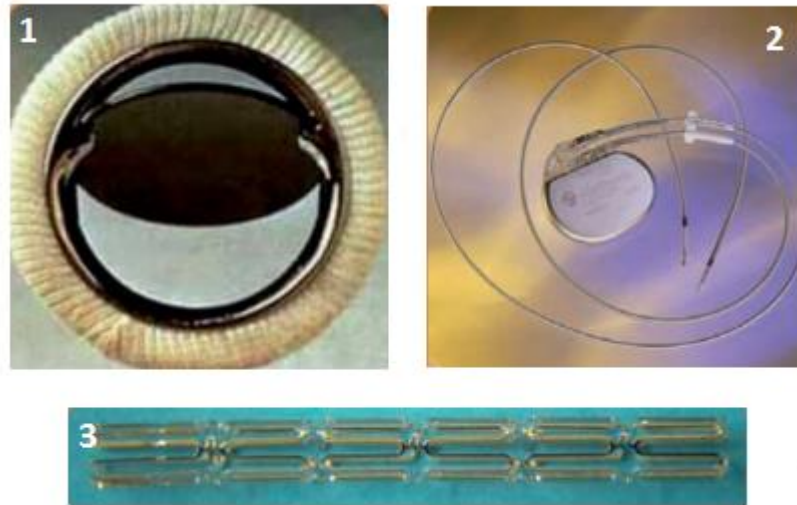


Ilustración 3. 1) Válvula cardíaca artificial con disco de carbono pirolítico y armazón de titanio. 2) Marcapasos y sus correspondientes electrodos para el sentido y estimulación cardíaca. 3) Stent utilizado para ensanchar el diámetro de vasos sanguíneos.

- **OFTALMOLOGÍA:** Los tejidos oculares pueden sufrir diversas enfermedades que conducen a una reducción en la visión llegando a producir incluso una ceguera. Para resolver dichos problemas, se utilizan las lentes intraoculares que se fabrican en polimetilmetacrilato, elastómeros de silicona u otros (Ilustración 4):



Ilustración 4. Lente de contacto intraocular de silicona con asas de poliamida.

- **ODONTOLOGÍA:** Dentro de la boca, las bacterias y demás sustancias dañinas atacan a la dentadura y las encías de manera agresiva. Los biomateriales permiten, a través del empleo de prótesis dentales, fabricadas con diversos cerámicos, polímeros y aleaciones metálicas; de llenados directos con amalgamas; de implantes dentales fabricados con titanio y de aparatos de ortodoncia contruidos en acero inoxidable, restablecer adecuadamente la

función masticatoria ya sea a través de reparaciones o del reemplazo total de las piezas dentarias perdidas (Ilustración 5): [9]



Ilustración 5. 1) Prótesis dentales no permanentes fabricadas con metal, polímero y cerámica. 2) Aparato de ortodoncia fabricado con acero inoxidable y accesorios de material elastomérico. 3) Implantes dentales de titanio comercialmente puro.

1.1.4 Biomateriales poliméricos: DL-PLG

Hoy en día, existe una amplia gama de polímeros cuya aplicación principal es la sustitución o reparación de órganos y tejidos en el campo de la medicina. Como hemos visto en el punto anterior, estos incluyen desde prótesis internas y externas hasta sistemas de liberación controlada de fármacos y suturas bioabsorbibles.

Entre todas ellas cabe destacar que el uso de polímeros como portadores de fármacos está tomando cada vez más terreno. El suministro de fármacos a través de nanofibras de polímero se basa en el incremento de la velocidad de disolución del fármaco debido al incremento del aumento del área superficial. La alta superficie por unidad de área y la posibilidad de controlar el perfil de liberación modificando la morfología de las fibras, la porosidad y la composición convierte las nanofibras poliméricas en potenciales vehículos para la entrega de fármacos. La técnica de electrohilatura permite cierta flexibilidad a la hora de seleccionar los materiales a utilizar, tanto los biodegradables como los no biodegradables pueden ser usados para controlar la liberación del medicamento, ya sea por difusión o por difusión y degradación simultánea del andamiaje polimérico. [10]

Según la procedencia de los polímeros se puede clasificar entre naturales o sintéticos. El término biodegradable se suele asociar más a algo natural, pero los polímeros sintéticos han podido ser modificados para presentar esta propiedad. De hecho, los sintéticos son los más utilizados debido a la posibilidad que presentan para cambiar su estructura, mejorar sus propiedades y hacerlos no dañinos para el cuerpo humano, presentando compatibilidad con el organismo, capacidad de cumplir la función asignada y tener una velocidad de degradación controlable.

Si nos referimos a la degradación del polímero, es difícil establecer una definición consensuada del término biodegradación, debido a la complejidad del tema y de establecer un único mecanismo de degradación. El término biodegradación hace referencia a un proceso de degradación química en el que las enzimas, bacterias u otros microorganismos toman parte. Las consecuencias de este proceso son la degradación del polímero en fragmentos orgánicos simples y la disminución del grado de polimerización.

El polímero que vamos a utilizar para llevar a cabo este proyecto es el DL-PLG, que es un copolímero de ácido glicólico y ácido láctico. Para poder conocer bien la estructura de dicho polímero primero deberemos estudiar cómo está formado y sus características físico-químicas, centrándonos en cada uno de los ácidos que lo conforman.

- **Poli (ácido-láctico) (PLA):** El ácido poliláctico (PLA) es un polímero termoplástico, amorfo y semicristalino que ha sido ampliamente estudiado en aplicaciones como la liberación controlada de fármacos, suturas biodegradables y diferentes implantes para la fijación de fracturas y para la elaboración de dispositivos vasculares. Una de las rutas más habituales de síntesis del PLA es la polimerización por apertura del anillo del diéster cíclico o lacturo [11]

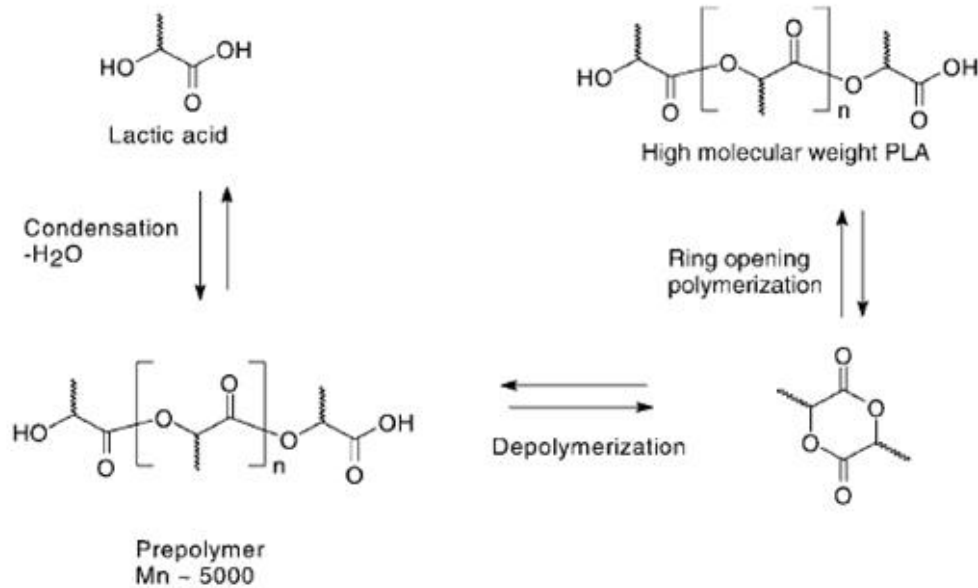


Ilustración 6. Síntesis del ácido poliláctico.

En lo referente a la biocompatibilidad, el uso de este hidroxiaácido es generalmente visto como la situación ideal desde el punto de vista toxicológico debido a que el PLA es un intermediario común en el metabolismo de los carbohidratos de nuestro organismo. Se degrada inicialmente por hidrólisis y su degradación puede ser acelerada in vivo por la presencia de enzimas [11], lo cual conlleva a la liberación de sus respectivos monómeros, ácido láctico en este caso. Estos monómeros son incorporados dentro de los procesos fisiológicos a nivel celular, donde continúa su degradación y da inicio a la ruta metabólica.

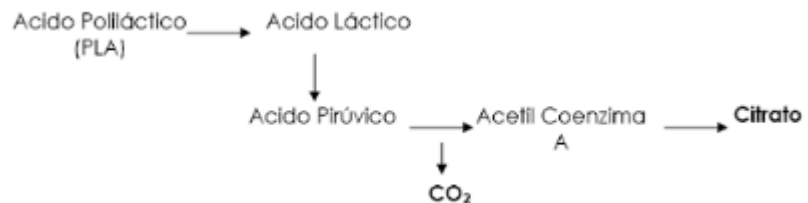


Ilustración 7. Esquema de degradación del PLA en el organismo.

El tiempo real requerido para que los implantes de PLA sean completamente absorbidos es relativamente largo y, obviamente, depende de la calidad del polímero, las condiciones de procesado, el lugar del implante y las dimensiones físicas del implante. Brady calculó un tiempo de absorción de alrededor de 1.5

años para muestras de entre 20 y 90 mg de poli (ácido-D,L-láctico) marcando isotrópicamente e implantando en la pared abdominal de ratas. Placas de PLA puro implantadas en fémures de oveja mostraron deterioro mecánico pero pérdida de masa insignificante, tras cuatro años. No obstante, estos implantes parecían ser bien tolerados por el tejido que los rodeaba. Los estudios con implantes marcados revelaron que su metabolización daba lugar principalmente a excreción vía respiración.

- **Poli (ácido-glicólico) (PGA):** Este es el poliéster alifático más simple. Es degradable hidrolíticamente, y se utilizó para la fabricación de la primera sutura completamente absorbible en la década de los 70 por Davis y Geck (Dexon, Inc. Danbury, CT) [13]. Además es empleado como mecanismo para fijación ósea (Biofix) [14]. Se obtiene por apertura del anillo del dímero del ácido glicólico (glicoluro), produciendo un material de alto peso molecular y con un porcentaje de monómero residual comprendido entre el 1% y el 3% (Ilustración 8).

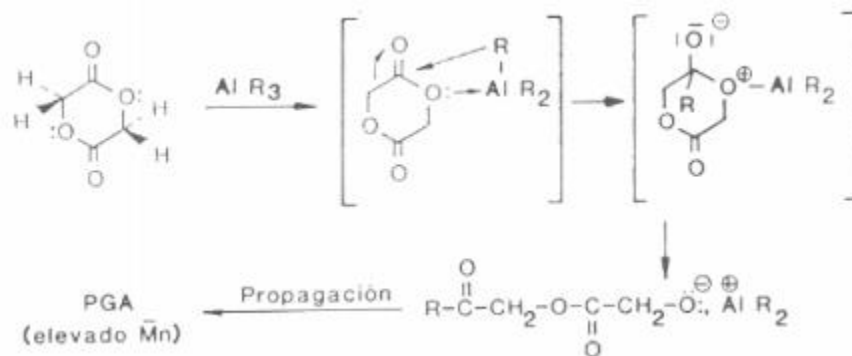


Ilustración 8. Mecanismo de polimerización por apertura de anillo de la glicolida.

Las fibras obtenidas a partir de PGA se caracterizan por su alta fuerza, pero son demasiado rígidas para poder usarlas como suturas. Es por ello que el monómero de poli (ácido glicólico) se copolimeriza con otros monómeros para reducir la rigidez de las fibras resultantes, como es el PLA dando lugar al PLGA, nuestro polímero. Al igual que el PLA se degrada en el organismo dando lugar a una sustancia no tóxica que es metabolizada de la misma manera por el ciclo del ácido cítrico. El PGA es absorbido a los pocos meses de la implantación debido a su susceptibilidad a la hidrólisis. Las suturas de PGA pierden alrededor del 50% de su resistencia después de dos semanas, el 100% en un mes, y son totalmente absorbidas en 4-6 meses.

Como hemos podido observar, tanto el PGA como el PLA con polímeros que presentan buenas propiedades y son idóneos para la implantación intracorpórea. Cuando ambos se unen (Ilustración 9) obtenemos un copolímero, el PLGA, el cual vamos a utilizar para la realización de la parte experimental, más concretamente el Poli (Lacturo Glicoluro) (DL-PLG), ya que los copolímeros son más fácilmente biodegradables que los homopolímeros correspondientes.

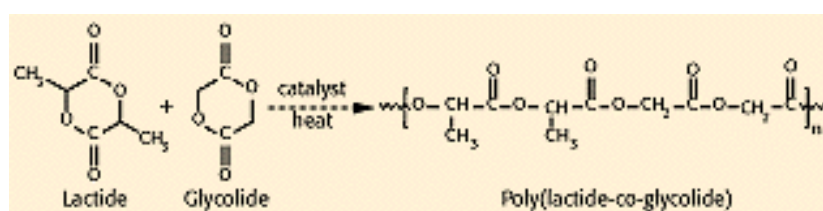


Ilustración 9. Síntesis del poli (ácido láctico co-glicólico)

El primer material clínico de este tipo fue un copolímero constituido por un 90% de ácido glicólico y un 10% de ácido láctico, y fue desarrollado por Ethicon como sutura quirúrgica (VICRYL®). Esta sutura era absorbida entre los 90 y 120 días tras su implantación. Como podemos ver, esta velocidad de absorción es muy diferente a la que presentan el PGA y el PLA por separado, esto se debe a que en los copolímeros la cristalinidad disminuye, incrementándose así las velocidades de hidratación e hidrólisis. Las propiedades físico-mecánicas del copolímero correspondiente se encuentran referenciadas en la Tabla 3.

PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DEL DL-PLG (90%PGA + 10%PLA)	
Conductividad (mS)	4.98
Viscosidad (CPS)	15211
Par de torsión (%)	20.7
Punto de fusión (°C)	Amorfo
Temperatura de transición vítrea (°C)	45-55
Módulo elástico (Gpa)	2.0
Tiempo de degradación (meses)	4-5

Tabla 3. Propiedades físico-químicas del DL-PLG

Este copolímero se ha utilizado para la liberación de esteroides, agentes anticancerígenos, péptidos, proteínas, antibióticos, anestésicos y vacunas.

1.2 Nanofibras

1.2.1 Definición y propiedades

Una nanofibra es una fibra polimérica con diámetro inferior a 500 nanómetros. Se obtienen a partir de técnicas especiales que permiten obtener esas fibras ultra finas, de propiedades muy particulares y de muy diversos usos.

En el material nanofibroso la relación superficie – volumen es muy elevada. Las estructuras obtenidas generan sistemas dinámicos que pueden variar tanto el tamaño de los poros como la forma. Las propiedades de flexibilidad, tenacidad y resistencia a la tracción son imposibles de conseguir con otros materiales de estructuras convencionales. [15]

Un proceso convencional para obtener fibras comunes consiste en el hilado de un polímero fundido o en hacer pasar una disolución por una boquilla de un diámetro determinado a cierta velocidad y temperatura. Además, se estira el material para darle más módulo y resistencia. El tipo de fibras obtenidas mediante los métodos anteriores no pueden considerarse nanofibras debido a su elevado diámetro, por lo que para obtener nanofibras la técnica que se utiliza es la del electrohilado, que permite producir filamentos continuos de diámetro cien veces inferior a los métodos convencionales. Dichos filamentos se depositan formando una membrana o malla no tejida llamada matriz nanofibrosa. [15]

1.2.2 Aplicaciones

Existen múltiples y recientes aplicaciones de las nanofibras obtenidas mediante la electrohilatura en diversos campos científicos. En la siguiente ilustración (Ilustración 10) podemos ver cuáles son los principales campos en los que se han hecho uso de nanofibras en los últimos años según el número de patentes publicadas:

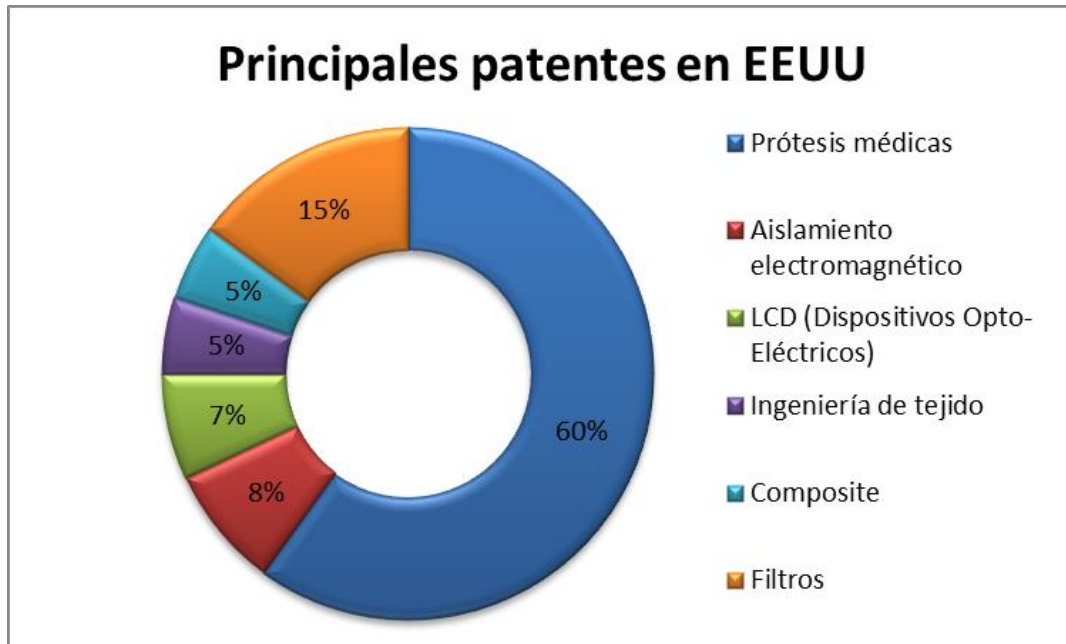


Ilustración 10. Campos de aplicación de las fibras para electrospinning de las patentes de los EEUU

Además de las aplicaciones mencionadas en la ilustración anterior, existen muchos más campos en los que destacan este tipo de fibras, y que están en proceso de expansión:

- **Aplicaciones biomédicas**

El campo de la medicina es en el que más se extiende la aplicación de las nanofibras obtenidas mediante la técnica de electrohilatura. Esto se debe a que la mayoría de los tejidos y órganos humanos, así como los huesos, están estructurados jerárquicamente en redes nanofibrosas. A continuación podemos ver diferentes tipos de aplicaciones en este campo:

- Prótesis médicas: Es la aplicación más extendida actualmente, ya que las nanofibras se pueden utilizar en un gran número de prótesis de tejido blando (venas, arterias, tejido cutáneo, etc) Adicionalmente, las fibras obtenidas mediante la técnica de electrohilatura se pueden usar como films que recubran las prótesis de tejido rígido que actúan como interfaz y que pueden evitar o prevenir el posible fallo de la prótesis. [17]
- Patrón orientado para el crecimiento del tejido humano: Otro campo que destaca, y que ya hemos mencionado con anterioridad en los biomateriales, es el diseño de refuerzos óptimos que sean capaces de imitar las estructuras y funciones biológicas de la matriz extra-celular. Generalmente las fibras de

pequeños diámetros, incluso menores que las células humanas, han sido utilizadas para la adhesión celular. [18]

- Protección de heridas: Las heridas o quemaduras en la piel se pueden tratar con velos poliméricos de nanofibras, El recubrimiento de las heridas con velos se podría aplicar directamente creando un campo eléctrico local, de esta forma se impulsa el crecimiento de la piel y se evita la formación de cicatrices. Una de las limitaciones de este método recae en que, como es lógico, el hueso y la piel no pueden ser tratados con el mismo tipo de fibra, ya que según su procedencia polimérica, en unos casos será efectiva y en otros no. [19][20]
- Administración de medicamentos: Cuando se suministran fármacos a los seres vivos, éstos se distribuyen en el organismo según sus propiedades físicas, tales como la solubilidad, coeficiente de partición y carga. En consecuencia, los fármacos pueden alcanzar gran variedad de tejidos y órganos, tanto los que necesitan el fármaco como otros que no lo necesitan. Además, en muchos de ellos, puede que se encuentren fuera de su intervalo terapéutico, que sean inactivos, o que su acción sea indeseada o nociva, y por tanto, con efectos secundarios negativos.

Actualmente, la administración de fármacos se realiza asociándolos a otras sustancias que mejoran su funcionamiento. En la mayoría de las modernas formulaciones de fármacos, se incluyen sustancias de naturaleza polimérica.

La administración de medicamentos en cuya formulación se empleen nanofibras se puede enfocar desde diferentes puntos de vista:

- ✓ Las partículas de medicamento se incorporan a la superficie de las nanofibras que sirven de matriz.
- ✓ Tanto el medicamento como la matriz se encuentran en la forma de nanofibras y el producto resultante está formado por los dos tipos de fibras entrelazadas.
- ✓ La mezcla del medicamento y del soporte en un solo tipo de fibras que contiene los dos componentes.
- ✓ La matriz se dispone por medio de electrospinning en formas tubulares y las partículas del medicamento se encapsulan.

Es importante destacar que estamos ante una investigación que aún se halla en su primera etapa, es poco el conocimiento de este tipo de métodos y si

finalmente da buen resultado, no será hasta dentro de algunos años su aplicación en pacientes.

- **Composites:**

Una aplicación importante de las fibras obtenidas mediante electrohilatura es su uso como refuerzos en composites con el objetivo de mejorar las prestaciones mecánicas y reducir el peso en relación al material original. [21]

Hasta ahora, en la literatura se describen mayoritariamente trabajos en los que se investigan refuerzos con nanofibras de carbón y nanotubos [22]. Las fibras poliméricas obtenidas por electrohilatura aún no se han desarrollado completamente como material composite de refuerzo. Las razones de este limitado desarrollo son: 1) no se han obtenido suficientes fibras continuas y uniaxiales que se puedan usar como refuerzo, 2) las películas no orientadas no resultan generalmente un refuerzo que mejore significativamente las propiedades mecánicas y 3) los polímeros de los cuales se pueden producir fibras para electrohilatura no son los más apropiados como refuerzos estructurales

Kim y Reneker [23] han estudiado el efecto de las fibras para electrohilatura de polibenzamidazola (PBI) como películas no orientadas en matrices epoxi y de caucho. En el caso de la matriz epoxi se concluyó que las propiedades mecánicas no habían mejorado significativamente contrariamente a la energía de fractura. Para el caucho, el módulo de Young se multiplicó por 10 y la tensión de rotura por 2.

Bergshoef y Vancso estudiaron como composite membranas de fibras no orientadas de nylon-4, 6 en matriz epoxi [21]. De esta manera queda sólo pendiente el conseguir fabricar composites reforzados con fibras orientadas unidireccionalmente.

Otros aspectos de las fibras obtenidas por electrohilatura pueden ser de utilidad para otras aplicaciones. Por ejemplo, la elevada proporción superficie/volumen que puede resultar adecuada para aumentar la rugosidad interlaminar en composites laminados. Una ventaja adicional frente al refuerzo producido por macrofibras consiste en que, debido a su pequeño diámetro, las nanofibras provocan poca difracción de la luz, de modo que las matrices transparentes continúan siéndolo tras el refuerzo, aunque su índice de refracción sea diferente del de las nanofibras [21]

Esta área de aplicaciones de las fibras para electrohilatura tiene un gran potencial y es la que está actualmente más fomentada y extendida.

- **Aplicaciones en cosmética**

Otra de las posibles aplicaciones de las fibras de electrohilatura es el área de la cosmética. En este amplio campo se está investigando en máscaras adaptables a la piel. Se ha estudiado la elasticidad y facilidad de deformación de algunas fibras, gracias a estas características la aplicación de máscaras sobre la piel podría ser posible. Una segunda aplicación serían los apósitos para retirar o aplicar el maquillaje, ya que gracias a la porosidad de la fibra, la retención de pigmentos es posible.

- **Aplicaciones en ingeniería textil para la confección de equipación y vestimenta especializada.**

El campo de la estructura del tejido es un ámbito en el cual se lleva investigando a lo largo de la historia. En este momento, la aplicación de fibras de electrospinning en este ámbito también es posible.

Los tejidos de nanofibras son capaces de neutralizar agentes químicos sin dejar de ser permeables al aire y al vapor debido a su gran superficie. El electrospinning produce capas de nanofibras que presentan una alta porosidad pero tamaños de poros muy pequeños. Esta característica le proporciona buena resistencia a la penetración de agentes químicos nocivos en forma de aerosoles.

La investigación preliminar indica que, en comparación con los tejidos convencionales, las capas de fibras por electrospinning presentan simultáneamente una impedancia mínima a la difusión de vapor de agua y una eficiencia extrema en atrapar partículas de aerosoles. Este tipo de tejidos serían buenos candidatos en vestimentas protectoras. [26]

- **Aplicaciones en filtración**

Este es un proceso muy común en muchos sectores industriales y normalmente se utilizan materiales fibrosos para optimizar su uso. La finura de las fibras juega un papel importante en la eficiencia de filtración. Las películas producidas a partir de fibras preparadas por electrohilatura pueden ser una solución en los casos en que hay que separar micropartículas. De esta forma, se mejoraría la filtración atrapando las partículas más pequeñas en los filtros constituidos por nanofibras.

De esta aplicación existe una patente reciente en los EEUU que presenta un método para hacer bolsas filtrantes. La bolsa es un composite multicapa que alterna las capas de películas de nanofibras no orientadas y un material estructural. [17]

Las aplicaciones futuras se dirigen hacia filtros moleculares y recubrimientos a partir de diversos polímeros específicos.

La limitación que se encuentra en este método recae en que algunas fibras pueden llegar a ser modificadas estructuralmente por el fluido que se está filtrando. Esta carencia podría ser salvada por un previo acondicionamiento de la fibra, en el cual ya se está trabajando.

- **Aplicaciones ópticas y eléctricas (Opto-eléctricas).**

La tecnología eléctrica y electrónica es otro de los campos en los que la técnica de electrohilatura se abre camino. Actualmente se está intentando producir pequeños dispositivos electrónicos y baterías de alto rendimiento a partir de nanofibras que provienen de polímeros conductores. [28]

El principio de estas baterías es que la velocidad de reacción electroquímica es función de la superficie del electrodo. Este tipo de membranas también pueden ser útiles para aplicaciones en las que sea necesaria la disipación electrostática, la protección de la corrosión, el aislamiento electromagnético, etc. Waters ha descrito un obturador óptico hecho de cristal líquido [29]. El dispositivo cierra el circuito cuando un campo eléctrico le provoca un cambio de opacidad. La parte principal del dispositivo tiene unos 10 μm y está constituido por una capa de nanofibras recubierta con un material cristal líquido entre los electrodos. Esta disposición hace posible que se pueda variar la transmisividad del composite cristal/nanofibra. El tamaño de fibra determina la sensibilidad del índice de refracción entre el material cristalino y las nanofibras.

- **Otras aplicaciones**

Se pueden obtener dispositivos piezoeléctricos a partir de polímeros con esta propiedad. Un buen ejemplo de un polímero con esta propiedad es el fluoruro de polivinilideno. Este tipo de fibras por electrohilatura se podrían utilizar en sensores para aumentar la sensibilidad debido a la gran superficie de las fibras.

Los nanotubos son importantes para una larga lista de sectores de la industria. Se pueden fabricar de carbón, cerámicos, metales y polímeros. El procedimiento consiste en realizar la estructura con nanofibras poliméricas y recubrirla con el material que se requiera para el nanotubo, es decir, las nanofibras actúan como estructura y, una vez degradan se obtiene el nanotubo en cuestión. [30]

Tal y como se ha podido observar, la aplicación de fibras de electrohilatura en la ciencia y la tecnología está actualmente en plena investigación. Los resultados, tanto comerciales como en la mejora de diversos campos de la industria y la medicina, se

esperan en un futuro próximo, provocando una posible revolución en diversos campos de la ciencia.

A continuación podemos ver un diagrama de las principales aplicaciones organizadas por sectores (Ilustración 11):



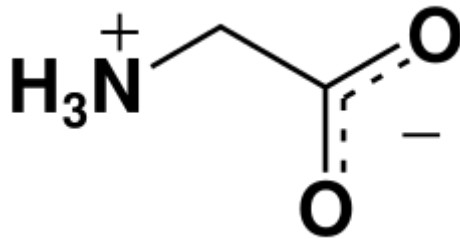
Ilustración 11. Aplicaciones potenciales de las nanofibras poliméricas.

Los sectores más apropiados y relacionados con este trabajo son el de la biomedicina y el de la ingeniería de tejidos, por lo que vamos a enfocarlo todo a ese campo.

1.3 Glicina

1.3.1 Definición.

La Glicina es un aminoácido no esencial utilizado por el organismo para sintetizar proteínas, que está presente en alimentos como el pescado, la carne o los productos lácteos. Es un neurotransmisor inhibitor en el sistema nervioso central, especialmente en la médula espinal, tallo cerebral y la retina. [31]



FÓRMULA QUÍMICA: NH₂CH₂COOH

PESO MOLECULAR: 75.07

Ilustración 12. Estructura de la Glicina y peso molecular.

La Glicina usada como neurotransmisor es almacenada en las vesículas y, es expulsada como respuesta a sustancias. Se encuentra en altas concentraciones en la médula espinal y el bulbo raquídeo. La Glicina no es esencial en la dieta humana, ya que el propio cuerpo se encarga de sintetizarla a través de dos vías: la fosforilada y la no fosforilada. El precursor más importante es la serina. El mecanismo de recaptación es dependiente del sodio y el cloruro. Funciona armónicamente con la glutamina, sustancia que juega un papel fundamental en la función cerebral.

1.3.2 Propiedades

La Glicina se utiliza in-vitro como medio gástrico, en disolución 0.4M, amortiguada al pH estomacal para determinar la bioaccesibilidad de elementos potencialmente tóxicos, como los metales pesados.

Las propiedades de la Glicina se deben a su pequeño tamaño y a la falta de una cadena lateral significativa, lo que podría afectar a las características físicas de este aminoácido por impartir carga, hidrofobicidad u otras limitaciones estructurales.

Estas propiedades permiten a la Glicina desempeñar un papel importante en la estructura de ciertas proteínas y actuar en algunas funciones celulares como un modificador biológico.

Respecto a las proteínas, algunos residuos de Glicina tienden a depositarse en el interior hidrofóbico de las proteínas, lo que les confiere flexibilidad en el pliegue a la hora de formar hélices y les permite versatilidad en la estructura de los receptores.

La conjugación con Glicina también es un importante proceso fisiológico y, la unión a ácidos biliares permite su paso a través de las membranas celulares. La amidación peptídica es necesaria para liberar algunas hormonas de sus precursores ricos en

residuos de glicina. Este proceso es esencial para la activación biológica de muchas hormonas peptídicas, tales como la gastrina y neuropéptidos.

La Glicina es un osmoprotector contra el estrés originado por altas temperaturas, desecación y medios ambientales concentrados en urea.

También tiene funciones como neurotransmisor inhibitor en el sistema nervioso central, especialmente en la médula espinal, tallo cerebral y retina. La DL50 (Dosis letal mediana) de la Glicina es de 7930 mg/Kg en ratas, por vía oral, y normalmente causa la muerte por hiperexcitabilidad.

El Colágeno es rico en moléculas de Glicina y la sustitución de un solo residuo de Glicina por otro residuo dentro de la molécula de colágeno es la base de alguna de las enfermedades hereditarias como el síndrome de Ehlers-Danlos tipo IV, la osteoporosis imperfecta y la epidermólisis bulbosa pruginosa. La síntesis de colágeno significa un gasto de Glicina de más de 15 g diarios, que deben ser suministrados por la dieta. [32]

1.3.3 Efectos sobre el cartílago

La degeneración del cartílago articular puede aparecer en cualquier articulación del organismo pero ocurre con más frecuencia en las zonas sujetas a una carga mayor (rodillas, cadera y columna), a este tipo de degeneración se le denomina Defecto Condral.

La prevalencia de la artrosis sintomática de rodilla en la población adulta española es del 10.2% [33]. La artrosis no tiene cura en la actualidad, sin embargo, un importante factor que puede contribuir a la patogénesis en la artrosis es la dieta. Se ha comprobado que la acumulación de productos glicosilados puede afectar negativamente a la renovación del cartílago [34] y que las deficiencias vitamínicas (B1, B6, B12 y E) provocan daños metabólicos en el cartílago articular. Así mismo, las evidencias indican que la exposición continuada a agentes oxidantes contribuye al desarrollo de muchas enfermedades degenerativas, incluida la artrosis.

La ingestión de determinados aminoácidos como complemento dietético contribuye a un mejor estado de salud en pacientes con diversas patologías. Concretamente, se ha estudiado el efecto de la suplementación de Glicina en la dieta de pacientes con diversos problemas de la estructura mecánica del cuerpo como artrosis, osteoporosis, lesiones físicas, fijación de implantes dentarios, etc. [32]

La disponibilidad de la Glicina aumenta la capacidad de las células para fabricar colágeno en cultivos de fibroblastos y de condrocitos, ambas productoras de colágeno. De esta forma se concluye que muchas enfermedades degenerativas, como la artrosis, pueden tratarse como enfermedades carenciales por deficiencia de Glicina. [36]

1.3.4 Antecedentes en el campo de la electrohilatura.

La bibliografía acerca de nanofibras aditivadas va creciendo conforme avanza la técnica de electrohilatura, siendo común encontrar patentes acerca de la aditivación con quitosán, aceites esenciales y demás, pero todavía no se ha estudiado en profundidad la aditivación de nanofibras con Glicina. En cambio, sí que podemos encontrar varios artículos de aditivación con colágeno [76][77][78][79]

Por lo general se utiliza el colágeno como matriz estructural para el transporte de otros principios activos o para formar velos de nanofibras aditivados para el tratamiento de defectos cutáneos externos (piel arrugada o quemada principalmente) con el fin de ayudar a la auto regeneración de la piel.

1.3.5 Tipos de suministración de Glicina.

Como hemos mencionado anteriormente, un suplemento de Glicina en la alimentación puede prevenir enfermedades degenerativas como la artrosis o la osteoporosis. Una investigación presentada en forma de tesis doctoral entre la Universidad de Granada y el Instituto del Metabolismo Celular de Tenerife ha concluido que la Glicina administrada en dosis de 10 gramos diarios puede producir una mejoría general de estas dolencias en un plazo de tiempo comprendido entre dos semanas y cuatro meses. [37]

El problema de este tipo de suministración de Glicina está en que no siempre llega a los sitios deseados, es decir, al ingerir Glicina por vía oral provocamos que ésta, al llegar al estómago, pueda degradarse en parte debido a los ácidos estomacales y demás. De la dosis diaria que se ingiera, un pequeño porcentaje será el que realmente llegue a nuestros huesos y articulaciones. Para la reparación completa del cartílago se necesita de una dosis directa y bastante elevada de Glicina para poder estimular el crecimiento de condrocitos, cosa que tardaríamos mucho en conseguir en el caso de la ingestión oral.

Es por ello que, para prevenir futuros problemas en las articulaciones, la ingestión de Glicina está bien indicada, pero para resolver problemas existentes en el cartílago articular es más adecuado el suministro de Glicina directo, por lo que la opción de velos de nanofibras aditivados con Glicina colocados exactamente sobre el cartílago provoca una mejor, y más rápida, respuesta de los condrocitos.

1.3.6 Proceso de incorporación de Glicina.

Se incorporará la Glicina a las nanofibras disolviéndola o dispersándola en la disolución polimérica en forma de polvo. De esta forma se logrará que a la vez que se electrohila el polímero éste arrastre a la Glicina haciendo que forme nanofibras y se disponga en la matriz polimérica del colector. Existen varias formas de incorporar la Glicina a un velo de nanofibras. En este caso se ha elegido la disolución debido a que es la forma más sencilla y a su vez proporciona resultados satisfactorios.

Otra forma de incorporar la Glicina es mediante el uso de una aguja coaxial. Este tipo de agujas está formada por una aguja más fina interna y una de mayor diámetro externa, dispuestas de la siguiente forma:

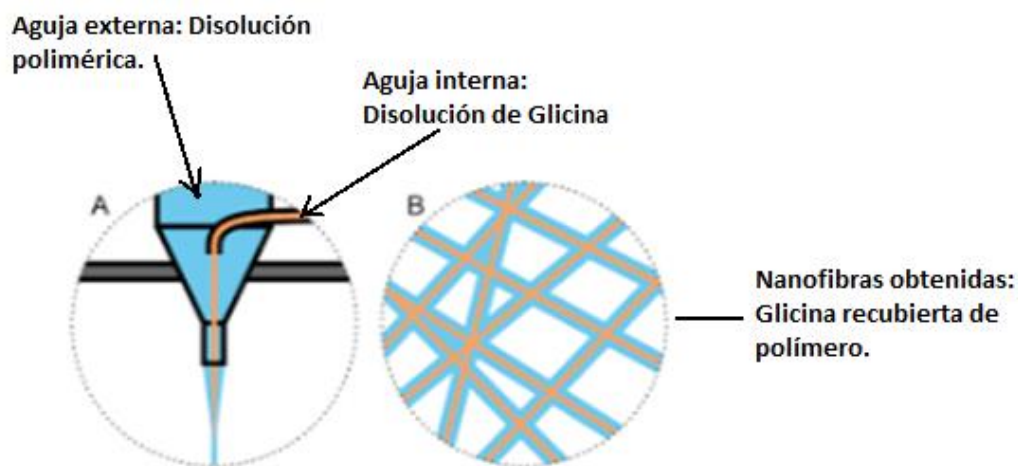


Ilustración 13. Electrohilatura con aguja coaxial.

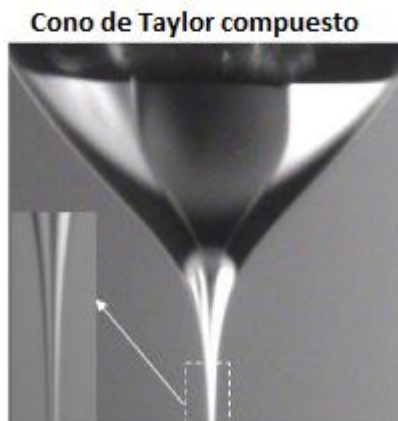


Ilustración 14. Cono de Taylor compuesto obtenido con aguja coaxial.

Esta técnica es bastante efectiva, pero en lo referido a nuestro objetivo, obtener diámetros muy pequeños, no es adecuada, ya que las fibras obtenidas suelen resultar más gruesas.

Además de las técnicas mencionadas con anterioridad, también podríamos conseguir la incorporación de Glicina en la disolución polimérica mediante la microencapsulación. Existen varios procesos para la obtención de microcápsulas y su elección dependerá del tipo de material de la membrana, el principio activo a encapsular y la aplicación final del producto obtenido. Podemos dividir dichos procesos en Físico-Mecánicos; basados en sistemas técnicos de combinación de materias, Físico-Químicos y Químicos; basados en las interacciones de las macromoléculas y polímeros que constituyen las membranas. Siendo nuestro caso el de un polímero y un aminoácido elegiríamos el proceso Químico, más concretamente la polimerización interfacial, el más adecuado para la obtención del producto deseado. De esta forma obtendríamos, mediante agitación, microcápsulas formadas por un núcleo de cristal de Glicina recubierto por el polímero. Así, cuando se electrohilara el DL-PLG también se electrohilaría la Glicina ya que estaría encapsulada en el mismo. [38] [39]

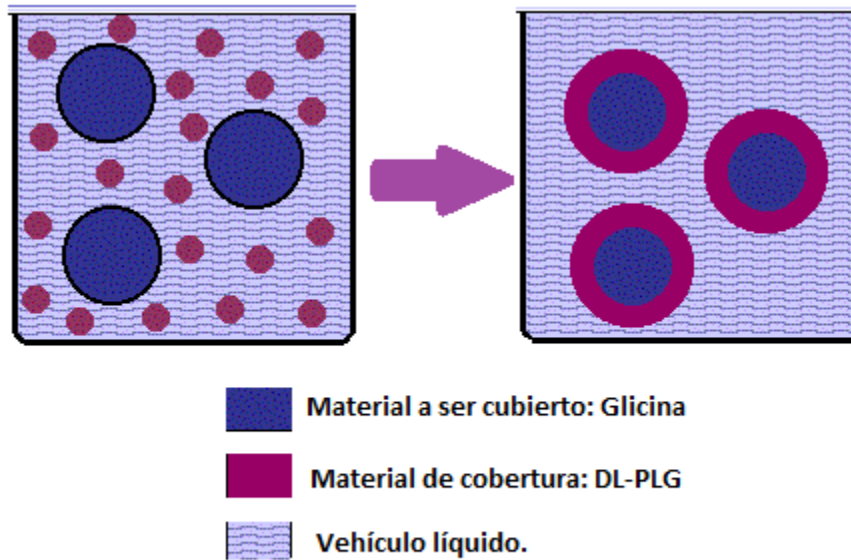


Ilustración 15. Microencapsulación.

Tanto el uso de aguja coaxial como la microencapsulación son técnicas muy interesantes, pero para nuestro proceso nos sirve mejor un proceso más sencillo, por lo que la técnica de disolución, es decir, la mezcla del medicamento y del soporte en un solo tipo de fibras que contiene los dos componentes, es adecuada y es la que utilizaremos.

1.4 Objetivos

El objetivo principal del presente trabajo es fabricar velos no tejidos de nanofibras de poli-DL-lacturo-glicoluro (DL-PLG), utilizando la técnica de electrohilatura y determinar los valores óptimos de los parámetros clave del proceso de fabricación (voltaje, caudal de la disolución precursora y distancia aguja-soporte) para reducir al máximo el diámetro de las fibras, manteniendo su continuidad y morfología, así como la consistencia del velo. De esta forma se podrán utilizar dichos velos en el campo de la medicina con el fin de contener partículas de Glicina. Un objetivo secundario consistiría en el estudio del rendimiento del proceso de liberación de Glicina analizando la efectividad del fármaco en la formación de colágeno y la reparación de defectos condrales.

CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA Y PROCEDIMIENTO.

2.1 Marco teórico

2.1.1 Electrohilatura

La técnica de Electrohilatura consiste en aplicar un campo estático elevado entre una disolución polimérica y una superficie colectora. El polo positivo está unido a un sistema de inyección, en este caso una aguja, y el negativo a una placa metálica o colector donde se recogen las fibras formando una matriz porosa, con textura, color y densidad característicos. Estas propiedades físicas dependen de condiciones como la temperatura, concentración de la solución, humedad, voltaje aplicado, distancia de la placa colectora, facilidad de evaporación del solvente, peso molecular del polímero, tensión superficial, etc. [40]

2.1.1.1 Orígenes

El término Electrohilatura es relativamente reciente pero la técnica en sí se remonta a más de 100 años [41]. Fue observada por primera vez por Rayleigh, físico inglés galardonado con el premio Nobel en 1904, quién se dedicó, en 1897, a evaluar el efecto que producía inducir cargas eléctricas sobre chorros de agua y cómo estos presentaban inestabilidad asimétrica en el flujo.

No fue hasta 1914 cuando Zeleny comenzó a analizar el comportamiento de las gotas de disolución en el extremo del capilar e inició el modelo matemático que describía el comportamiento de los fluidos bajo las fuerzas electrostáticas. Hacia 1934, Cooley [42], Morton [43] y Formhals [44] propusieron dicho modelo matemático perfeccionado y lograron describir de forma explícita el proceso trabajando con acetato de celulosa en la primera patente descrita. Más tarde lograron realizar un prototipo donde se ensambló un nuevo sistema con mayor control de la distancia entre el capilar y el colector, con el cual se redujo de forma considerable los inconvenientes que se presentaban en las primeras investigaciones. Más tarde, en 1994, investigadores como Reneker profundizaron en la técnica [45].

Debido a la gran demanda de materiales con escalas nanométricas que vivimos estos últimos años, la técnica de Electrohilatura se ha convertido en un proceso muy atractivo

gracias a su diversidad, bajo coste y simplicidad [46]. Actualmente, la electrohilatura está fuertemente enfocada a la fabricación de materiales nanofibrosos con muy diversas aplicaciones, desde biomédicas, cosméticas, textiles, optoelectrónicas hasta en catálisis, dispositivos de almacenamiento de energía (baterías, supercondensadores...) o sensores. [47]

En la gráfica mostrada a continuación (Ilustración 16) podemos observar la distribución de las diferentes publicaciones realizadas acerca de la electrohilatura según sus países de origen:

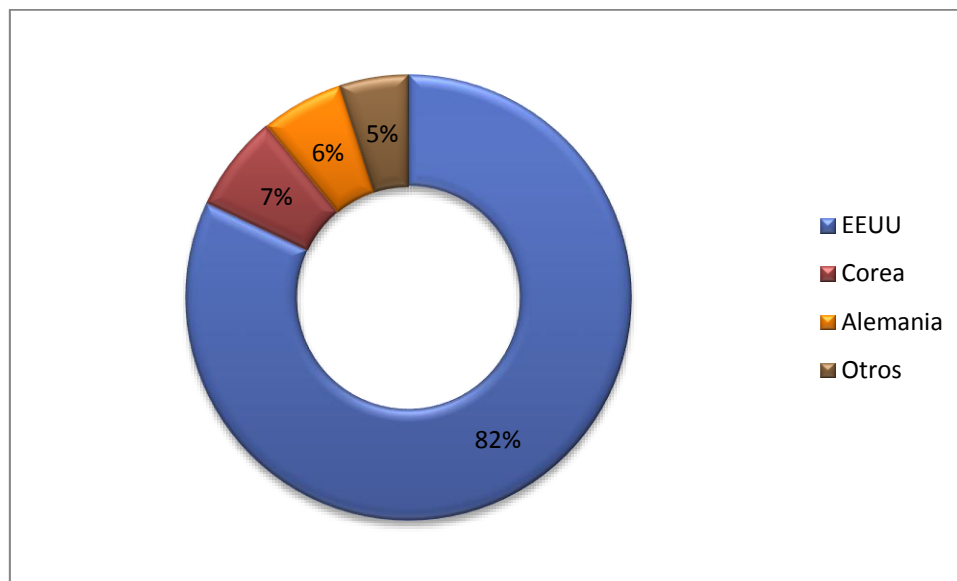


Ilustración 16. Distribución de las publicaciones con trabajos sobre Electrohilatura según sus países de origen, 1994. [48]

Estados Unidos es uno de los países pioneros en este campo, abarcando más del 80% del total de publicaciones.

2.1.1.2 Descripción de la técnica

Mediante la técnica de electrohilatura es posible obtener fibras con diámetros que van desde las submicras hasta los nanómetros mediante el estiramiento coaxial de una solución viscoelástica. El hecho de poseer un rango de diámetros tan específico nos permite encontrar características únicas, entre las que se encuentra: un área superficial muy grande en relación al volumen (en el caso de las nanofibras, esta relación puede ser de aproximadamente 10^3 veces más que una microfibras), flexibilidad en la superficie, alta porosidad, interconectividad de poros y unas prestaciones mecánicas superiores

comparado con el mismo material en otros estados y formas. Dichas características hacen de las nanofibras unos candidatos idóneos para un gran número de aplicaciones.

La técnica de electrohilatura emplea fuerzas eléctricas para producir fibras de polímeros. Esto se consigue al aplicar un campo eléctrico lo suficientemente fuerte entre dos polos opuestos, conformados por una aguja (capilar metálico) o sistema de inyección y una placa metálica o colector (conectado a tierra) que se encuentra entre 5 y 30 cm de distancia del capilar metálico. Sobre el colector colocaremos un sustrato, donde se depositan las fibras nanométricas formando un tejido con textura, densidad y color característicos. El colector sirve como un conductor sustrato, donde las nanofibras se depositan [49]. Generalmente se utiliza papel de aluminio pero éste presenta varios problemas a la hora de separar el velo de nanofibras, por ello se han comenzado a utilizar otros tipos de colectores como es el papel. En nuestro caso utilizaremos un papel satinado por una cara [50].

La disolución polimérica previamente preparada y homogeneizada, se carga en una jeringuilla de inyecciones. La jeringuilla puede estar conectada directamente al capilar metálico (aguja) o comunicarse con él mediante un tubo de plástico inerte. También se necesita una bomba de infusión o perfusión unida al émbolo de la jeringuilla que genera una presión y un flujo constante que consigue transmitir la disolución polimérica a la punta del capilar metálico.

La gota líquida del polímero está sujeta a la punta del capilar metálico gracias a su tensión superficial hasta que la repulsión de las cargas en la superficie de la gota es mayor y provoca una fuerza en sentido contrario a la contracción de la gota (Ilustración 17). La superficie de la gota sufre el efecto de esta fuerza hasta que comienza a alargarse y a formar un cono inverso (cono de Taylor). El proceso de elongación llega a un punto en el que la concentración de la carga es tan elevada que supera la tensión superficial y provoca un haz en la punta del cono. El haz recorre varias trayectorias inestables durante las cuales se alarga, reduce su diámetro y pierde todo el disolvente (se solidifica). [51]

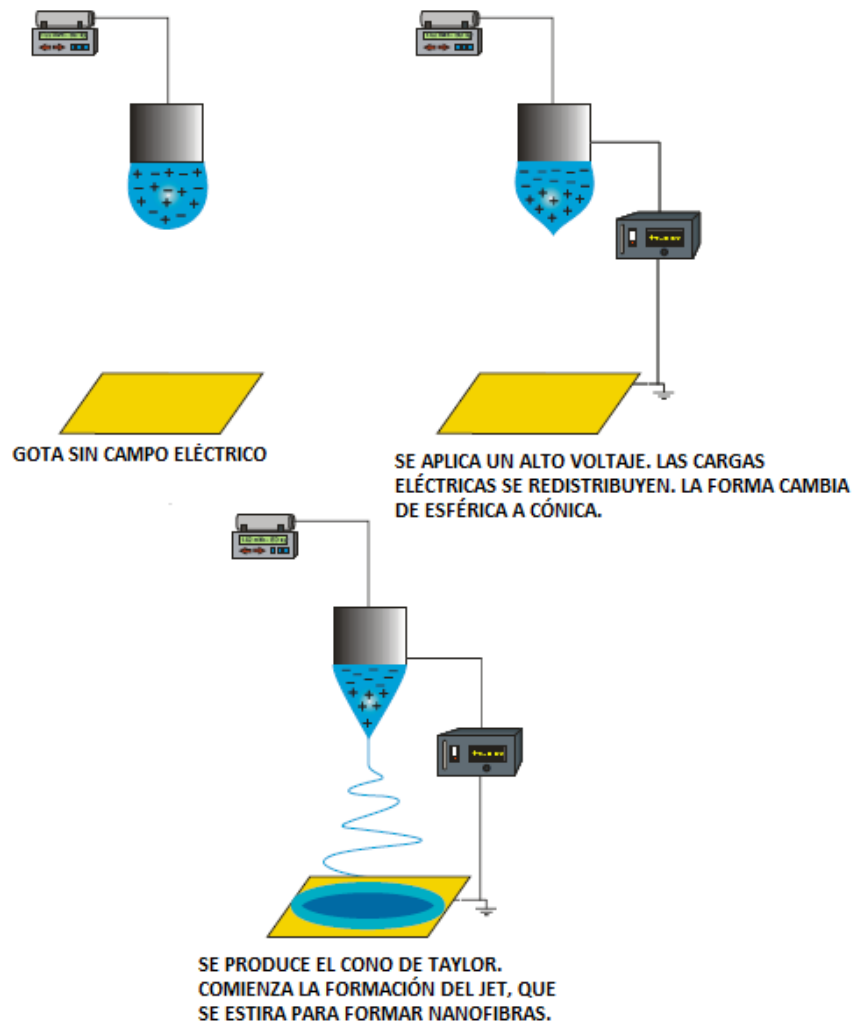


Ilustración 17. Distribución de las cargas. [51]

A medida que aumenta la aceleración del chorro su diámetro disminuye, convirtiéndose en una fibra de tamaño nanométrico con una corriente del orden de micro Amperios.

De este modo no siempre es posible obtener resultados satisfactorios ya que, en ocasiones, según la naturaleza del disolvente empleado para la realización del polímero, la concentración de este o las variables de la máquina de electrohilatura, podemos ver cómo el polímero no se transforma en nanofibras, sino que se queda como polímero (en forma de gotas) o como fibras mezcladas con gotas (electrospraying).

En la ilustración 18 podemos ver el esquema del proceso básico de la electrohilatura. En primer lugar, se coloca el polímero o disolución polimérica en el interior de la jeringuilla (1) procurando que no haya burbujas de aire en su interior. A continuación aplicamos el voltaje (6) para provocar que se forme el cono de Taylor (2). Un hilo de nanofibras

comenzará a surgir desde el cono de Taylor en todas las direcciones, de forma irregular, formando una especie de lluvia (3). Conforme avance el proceso podremos ver cómo se va formando la matriz de nanofibras (7) sobre el colector sin orden definido formando un tejido no tejido (4).

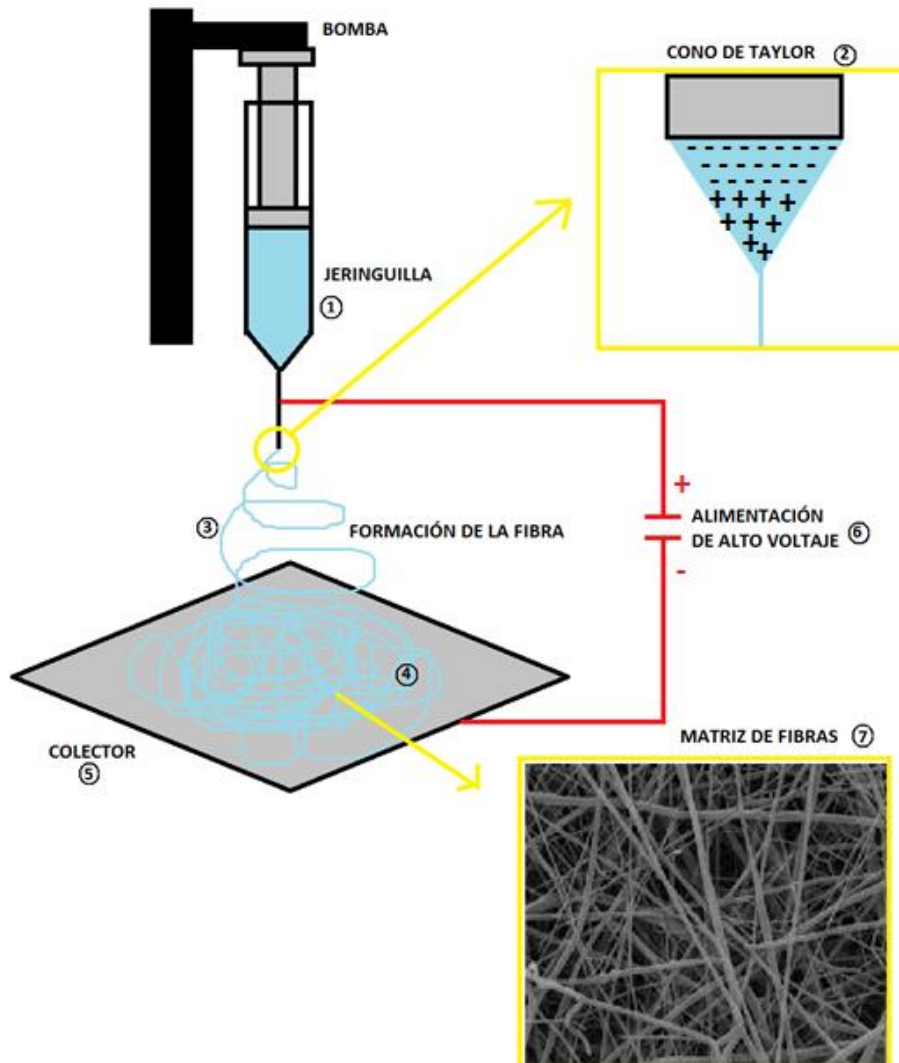


Ilustración 18. Esquema del proceso de electrohilatura

2.1.1.3 Parámetros

Los parámetros globales que afectan a la técnica de electrohilatura se pueden clasificar de tres formas: parámetros de la disolución, parámetros del proceso y parámetros ambientales. Todos ellos influyen en la morfología y diámetro de las fibras.

Los **parámetros de la disolución** son los que tienen que ver con las características y propiedades del polímero utilizado en sí, se incluyen la concentración, el peso molecular, la viscosidad, la tensión superficial y la conductividad.

- **Concentración:** En la técnica de electrohilatura es necesario contar con una concentración mínima del polímero en la disolución. La concentración es un parámetro esencial en la técnica ya que si es muy alta, además de dificultar el paso de la disolución a través del capilar, puede aumentar el diámetro de la fibra, como han afirmado ciertos investigadores que han intentado encontrar una relación entre la concentración de la disolución y el diámetro de la fibra. Por otra parte, debemos tener en cuenta que si la concentración es muy pequeña lo que pasará es que la disolución será tan líquida que se producirán gotas antes de llegar al colector, por lo que se deben realizar diversos ensayos para encontrar la concentración óptima [52].
- **Peso molecular:** El peso molecular del polímero tiene un efecto significativo sobre las propiedades reológicas y eléctricas tales como la viscosidad, tensión superficial, conductividad y resistencia dieléctrica. Se ha observado que una disolución de bajo peso molecular tiende a formar perlas en lugar de fibras y una de alto peso molecular tiende a formar fibras con diámetros grandes. El peso molecular del polímero refleja el número de enredos de cadenas de polímero en una solución, por lo tanto la viscosidad de la disolución y el enmarañamiento de la cadena juegan un papel importante en el proceso de electrospinning [52].
- **Viscosidad:** Durante el proceso de electrohilatura, la viscosidad de la disolución juega un papel importante en la definición del tamaño y la morfología de la fibra. Si la viscosidad es muy baja no hay una formación continua de la fibra, y si es muy alta se presenta una dificultad en la eyección del jet de la disolución del polímero, por lo tanto una viscosidad óptima es un requisito principal para llevar a cabo el proceso de manera satisfactoria [52].
- **Tensión superficial:** La tensión superficial de la disolución dependerá del polímero y del disolvente utilizado. Ésta juega un papel crítico en el proceso ya

que reduciendo la tensión superficial de una disolución se consigue la obtención de fibras sin perlas (beads) [52]. La tensión superficial determina los límites superior e inferior del campo eléctrico, si todas las demás variables se mantienen constantes [56].

- **Conductividad:** La conductividad de la disolución está determinada principalmente por el tipo de polímero, disolvente utilizado y la disponibilidad de sales ionizables [56]. Con el aumento de la conductividad eléctrica de la disolución, hay una disminución significativa en el diámetro de las nanofibras mientras que con una baja conductividad de la disolución, el alargamiento del jet por la fuerza eléctrica resulta insuficiente para producir fibras uniformes [49].

Por otra parte tenemos los **parámetros del proceso**. Estos parámetros son aquellos que nosotros podemos modificar durante la realización del proceso. Son parámetros fácilmente manipulables en la máquina que utilicemos. Dichos procesos son la tensión aplicada, el caudal, el tipo de colector y la distancia al colector. Estos son los parámetros que más nos interesan, ya que son los que vamos a modificar para el desarrollo de este proyecto.

- **Tensión aplicada (voltaje):** En la técnica de electrohilatura, un elemento fundamental es la tensión eléctrica, o voltaje, aplicada a la disolución; pues sólo después de alcanzar la tensión umbral ocurre la formación de las fibras [59]. Se ha demostrado que al aplicar altas tensiones eléctricas, hay más eyección de polímero y esto, a su vez, facilita la formación de una fibra de menor diámetro ya que aumenta la fuerza repulsiva electrostática en el jet del fluido que finalmente favorece la reducción del diámetro de la fibra. Además, al aumentar la tensión aplicada se favorece la rápida evaporación del disolvente. Por otra parte, una consideración a tener en cuenta, es que a mayor tensión eléctrica, mayor es la probabilidad de formación de perlas [50].
- **Caudal:** La velocidad del flujo del polímero en la jeringa es un parámetro importante en el proceso. Una menor velocidad de flujo es más deseable ya que el disolvente tendrá tiempo suficiente para su evaporación [50]. Una alta velocidad de flujo da como resultado que las fibras no cuenten con el tiempo necesario para su secado o evaporación del disolvente antes de llegar al colector [56].

- **Distancia aguja-colector:** La distancia entre la punta de la aguja y el colector ha sido examinada como otro parámetro para controlar los diámetros de las fibras y su morfología. Se requiere una distancia mínima para dar a las fibras el tiempo suficiente para secarse antes de llegar al colector y evitar que se formen perlas o beads sobre el colector. Por otra parte, si la distancia es muy grande, las fibras pueden llegar a romperse debido a su propio peso [50].

Por último, hay una clase de parámetros que son muy difíciles de controlar, los **parámetros ambientales**. Esta clase de parámetros engloban a la temperatura y a la humedad. [64]

- **Temperatura:** Existe una relación directa entre la temperatura y la viscosidad de la disolución, a mayor temperatura menor viscosidad. Esta disminución de la viscosidad puede provocar una disminución del diámetro de las fibras, por lo que podemos decir que el aumento de la temperatura provoca una disminución en el diámetro de las fibras. Además favorece la evaporación del disolvente.
- **Humedad:** En una muy baja humedad, el disolvente volátil se puede evaporar rápidamente. En ocasiones, si la tasa de humedad es muy baja, la evaporación del disolvente es tan rápida que el proceso debe llevarse a cabo en el menor tiempo posible para que la disolución no se seque en la punta de la aguja, obstruyéndola. [50]

Podemos resumir todo lo mencionado anteriormente en la siguiente tabla:

PARÁMETROS DE LA DISOLUCIÓN		
PARÁMETRO	CARACTERÍSTICAS QUE APORTA	
Concentración	↑	Dificulta el paso de la disolución a través del capilar.
	↓	Las fibras producen gotas antes de llegar al colector.
Peso molecular	↑	Dificulta el paso de la disolución a través del capilar.
	↓	Las fibras producen gotas antes de llegar al colector.
Viscosidad	↑	Dificulta el paso de la disolución a través del capilar.

	↓	Las fibras producen gotas antes de llegar al colector.
Tensión superficial	↑	Ausencia de beads en las nanofibras.
	↓	Presencia de beads en las nanofibras.
Conductividad	↑	Disminuye el diámetro de las nanofibras.
	↓	El alargamiento del jet debido a las fuerzas electrostáticas es insuficiente para crear nanofibras uniformes.
PARÁMETROS DEL PROCESO		
PARÁMETRO	CARACTERÍSTICAS QUE APORTA	
Tensión aplicada (voltaje)	↑	Fibras gruesas, distorsión del jet, aparición de beads.
	↓	Poco impulso para la llegada de la disolución al colector.
Caudal	↑	Fibras más gruesas, beads con mayores tamaños.
	↓	Mayor tiempo para la evaporación del disolvente, fibras sin defectos.
Distancia aguja-colector	↑	Las fibras pueden romperse debido a su peso. Mayor estiramiento de la disolución, obtención de fibras delgadas.
	↓	Poco tiempo para la evaporación del disolvente, por lo que las fibras llegan húmedas al plato colector.
PARÁMETROS AMBIENTALES		
PARÁMETRO	CARACTERÍSTICAS QUE APORTA	
Temperatura	↑	El disolvente se evapora demasiado rápido, provoca que el polímero se seque en la punta de la aguja.
	↓	Dificulta el paso de la disolución a través del capilar. El disolvente no se evapora.
Humedad	↑	Aparición de poros en las nanofibras. El disolvente no se evapora bien.
	↓	El disolvente se evapora demasiado rápido, provoca que el polímero se seque en la punta de la aguja.

Tabla 4. Límites en los parámetros de la técnica.

2.2 Marco experimental

2.2.1 Obtención de los velos de nanofibras

2.2.1.1 Preparación de las disoluciones de DL-PLG.

Por experiencias previas, sabemos que el polímero DL-PLG de la casa comercial DURECT LACTEL con una pureza de 99.8% ($\rho=1.34$ g/ml) [70] empleado en la realización de este proyecto trabaja en condiciones óptimas en Electrohilatura con una concentración del 30% m/v de la disolución utilizando como disolvente Dimetilformamida (DMF) de la casa JT Baker [69] con una pureza de 99.9% ($\rho=0.944$ g/ml), por lo que todos los ensayos que vamos a realizar en este punto serán con esta concentración. [66]

En este punto del proyecto va a detallarse el procedimiento general seguido para la preparación de las disoluciones, centrándonos además en los utensilios y equipos empleados, así como en los inconvenientes que han surgido durante la realización del mismo. Debe tenerse en cuenta que las disoluciones se han preparado a demanda ya que los restos almacenados no utilizados pierden propiedades, e incluso pueden quedar inutilizables. Es por ello que prepararemos cada vez pequeños volúmenes de disolución de aproximadamente 20 ml.

El procedimiento de preparación de la disolución es el siguiente

1. En primer lugar debe sacarse el polímero del congelador. El motivo por el cual se debe conservar allí es por que el frío evita que el mismo se degrade o pierda sus propiedades. De esta forma nos aseguramos de que el polímero siga siempre intacto y presente unas características óptimas.



Ilustración 19. Polímero DL-PLG en estado sólido.

2. A continuación, con ayuda de una cucharilla, pesamos la cantidad calculada de polímero sobre un vidrio de reloj o directamente en el bote de muestras de cristal provisto con tapa hermética. La pesada se realizó en una balanza analítica electrónica marca Selecta con una precisión de ± 0.0001 g.
3. La adición del volumen necesario de DMF se realiza utilizando una pipeta de la capacidad adecuada y de su correspondiente propipeta. Esta operación se realiza bajo campana extractora dado que el DMF es un disolvente muy volátil y tóxico, por lo que cualquier riesgo de inhalación debe ser evitado. Es recomendable hacer uso de mascarilla para evitar una posible intoxicación por vía aérea, así como utilizar guantes y bata para que no pueda haber contacto directo con la piel, ya que es muy absorbible.
4. Una vez introducido el disolvente se cierra el bote hasta que esté totalmente hermético y se rotula con la referencia oportuna. Se coloca en agitación para asegurar una correcta homogeneidad de la mezcla. La disolución deberá permanecer en agitación unos 4 o 5 días para conseguir obtener una mezcla correcta. La agitación mecánica suele ir combinada de ultrasonidos lo que ayuda a acelerar el proceso de disolución y mezcla.

AGITACIÓN

La técnica de agitación consiste en forzar un fluido por medios mecánicos para que adquiera un movimiento circulatorio en el interior de un recipiente. En este caso se realiza una agitación sin contacto ni uso de paletas de cualquier tipo; se trata de una base en la cual se colocan las disoluciones previamente selladas y ésta adquiere un movimiento circular con el fin de mezclar dichas disoluciones.



ULTRASONIDOS

La técnica de ultrasonidos se basa en la Sonicación. La sonicación es el acto de aplicación de la energía del sonido para agitar las partículas de una muestra. Una corriente eléctrica transmite su energía a un sistema mecánico que la convertirá en vibraciones de alta intensidad que generan ondas de ultrasonido. Los ultrasonidos generan, a su vez, vibraciones en el material objetivo. Si contiene líquidos, se generarán millones de burbujas microscópicas, las cuales sufren rapidísimos procesos de expansión y colapso que pueden transmitir su energía a otros materiales. Este fenómeno se llama cavitación y puede ser incrementado añadiendo pequeñísimas esferas de vidrio al medio.



Tabla 5.Descripción de equipos utilizados para obtener homogeneidad

Tras la correcta mezcla de la disolución se puede ver que el resultado final es macroscópicamente homogéneo, además no presenta burbujas.



Ilustración 20. Disolución polimérica final.

2.2.1.2 Equipo de Electrohilatura.

En primer lugar, va a hacerse una pequeña descripción del equipo de Electrohilatura empleado en el proyecto y de su funcionamiento.

El equipo de electrohilatura que vamos a utilizar se llama **Y-Flow 2.2.D-350** de la casa Nanotechnology Solutions Yflow.



Ilustración 21. Equipo de electrohilatura utilizado.

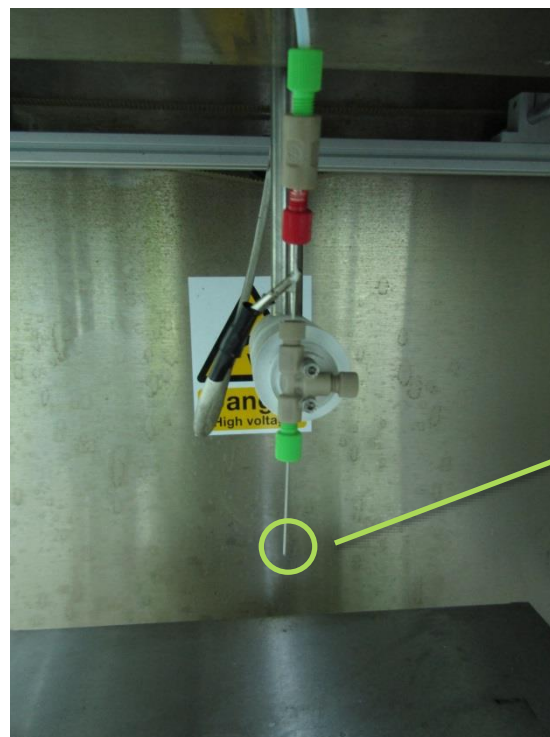
Este equipo está diseñado para trabajar con soluciones poliméricas y permite el proceso de casi todas las soluciones poliméricas presentes en la literatura de la electrohilatura. Las principales características del equipo son la doble polarización, la capacidad de incorporar una aguja coaxial, la posible visualización del cono de Taylor gracias a la cámara de vídeo y la pantalla, panel de control integrado y sistema robotizado para el movimiento de la aguja emisora lo que permite la obtención de matrices de nanofibras por medio estático o dinámico. [51]

- Se coloca la jeringa que contiene la disolución polimérica en la bomba de inyección. Hay que tener en cuenta que no deben quedar burbujas en su interior que puedan interferir en el proceso.



Ilustración 22. Colocación de la jeringuilla, bomba y tubo.

- De forma manual y ejerciendo presión sobre el émbolo de la jeringuilla, hay que pasar la disolución por el tubo dosificador hasta conseguir que ésta llegue hasta la punta del capilar metálico.



Punta del capilar metálico

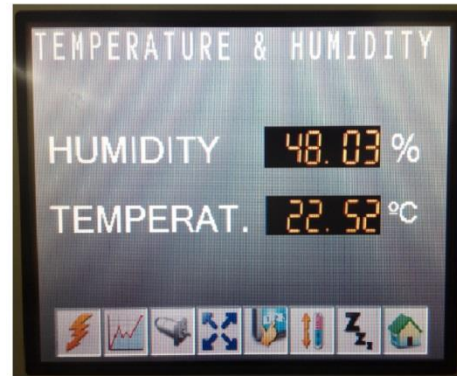
Ilustración 23. Capilar metálico

- Se coloca un sustrato colector sobre la placa metálica inferior, que generalmente suele ser de papel con una cara encerada para facilitar la posterior separación del velo.
- De forma manual, se ajusta la distancia aguja-colector con ayuda de una regla o cintra métrica.
- Se enciende el equipo y se introducen los valores de caudal, voltaje, velocidad y área a cubrir. La velocidad y área a cubrir nos sirve simplemente en el caso de que le apliquemos movimiento a la aguja. De esta forma podremos obtener porciones de velos homogéneas con un tamaño lo suficientemente grande para poder manipularlo manualmente. Si no aplicásemos movimiento, las nanofibras se acumularían en un mismo punto amontonándose, por lo que no se obtendría realmente un velo sino un cúmulo de nanofibras. Se podría pensar que la velocidad puede interferir en la morfología de las nanofibras, pero esto no es así ya que la velocidad es demasiado pequeña, además, se activará el movimiento una vez hayamos comprobado que el jet es estable gracias a una cámara de video que lleva incorporada la máquina de electrohilatura. En la siguiente imagen (Ilustración 23) podemos ver los diferentes paneles de los que dispone la máquina:

CONTROL DE LÁMPARA, VIDEO Y VENTILACIÓN. LA VENTILACIÓN VA CONECTADA A LA CAMPANA EXTRACTORA DEL LABORATORIO.



INDICADORES DE HUMEDAD Y TEMPERATURA EN EL INTERIOR DE LA MÁQUINA.



REGULADOR DEL VOLTAJE. EL EMISOR ES LA AGUJA (+) Y EL COLECTOR LA PLACA COLECTORA (-)



EL HOMING SE REALIZA PARA POSICIONAR LA AGUJA EN EL CENTRO DE LA PLACA. CON EL STROKE REGULAMOS EL ÁREA QUE SE QUIERE CUBRIR. SPEED INDICA LA VELOCIDAD Y CON SWEEP MODE Y START COMENZAMOS EL MOVIMIENTO

Ilustración 24. Distintos paneles de control de la máquina de electrohilatura.

- Finalmente, se inicia el proceso y se deja funcionar el tiempo necesario para obtener un velo que podamos manipular manualmente.
- Una vez hemos obtenido los velos los introducimos en la estufa (o desecador) de vacío durante unas 12 horas. De esta forma nos aseguramos de eliminar cualquier resto de disolvente que pueda quedar.

2.2.2 Incorporación del principio activo

Uno de los objetivos de este proyecto es la obtención de velos con glicina para el tratamiento de defectos condrales. Se emplea Glicina por ser un propulsor muy eficaz para la generación de colágeno, el cual es uno de los componentes principales del cartílago hialino.

La Glicina utilizada es la casa Sigma Aldrich y se presenta en formato polvo de color blanco. Dicha Glicina posee una pureza mayor al 99% y puede contener trazas de cloruros y metales pesados con una concentración menor a 20 ppm. No requiere de ningún tratamiento previo a su utilización. [67]



Ilustración 25. Glicina utilizada en estado sólido.

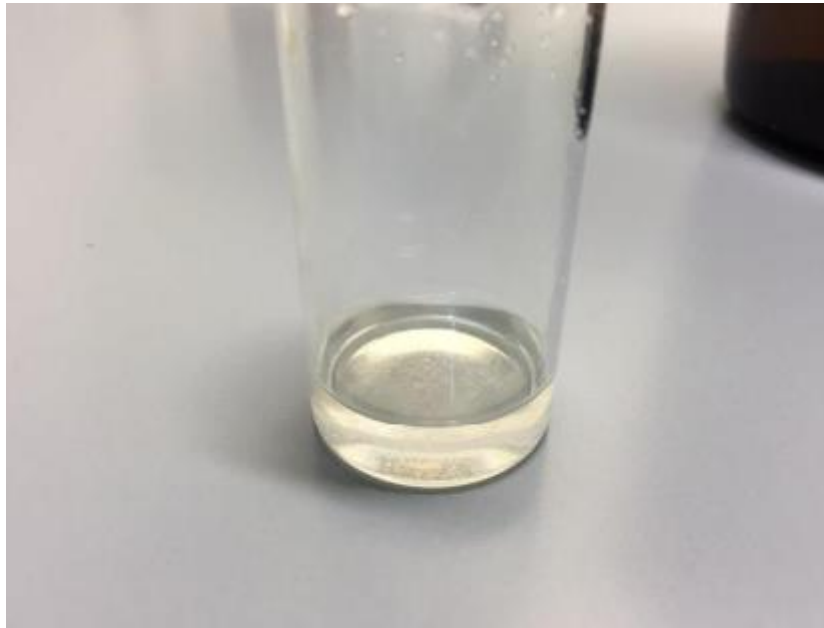


Ilustración 26. Glicina disuelta en DMF.

Los velos de nanofibras aditivadas se obtienen añadiendo el aditivo a la disolución polimérica precursora, en este caso la disolución en DMF de DL-PLG al 30% wt. La saturación de la disolución dependerá de la concentración de Glicina añadida. En el punto 3.2.1 *Ensayos realizados* definiremos la concentración de Glicina aplicada a cada disolución.

Cualquier modificación de la disolución puede alterar su electrohilabilidad, es decir, puede que la disolución de DL-PLG al 30% que en un principio electrohila con mucha facilidad comience a presentar problemas al añadirle el aditivo, por ello es necesario testear cada disolución nueva con la que se pretende trabajar.

2.2.3 Técnicas de caracterización.

Las muestras se caracterizarán de forma tanto microscópica como macroscópica. La forma macroscópica consistirá en observar su elasticidad, suavidad al tacto, presencia de imperfecciones y masa laminar o gramaje y, la forma microscópica consistirá en la observación de las fibras en un microscopio electrónico de barrido (SEM), la medición del diámetro de las fibras obtenidas y el espesor de los velos.

Visión macroscópica

Para considerar que un velo es correcto a simple vista, este debe cumplir unos requisitos:

- En primer lugar debe ser fácil de despegar del sustrato colector.



Ilustración 27. Momento de separación del velo del sustrato colector.

- El velo debe ser suave y elástico, si presenta tacto terroso o es frágil lo descartaremos de inmediato.
- El velo no debe presentar zonas húmedas. La presencia de estas zonas indicaría que el disolvente no se ha evaporado del todo.
- El velo no debe presentar gotas de polímero.

En lo referido a la **masa laminar o gramaje** deberemos seguir un protocolo más complejo que detallaremos a continuación:

La valoración de la masa laminar o gramaje se realiza acorde a un método propio establecido para estas muestras. Se descarta seguir una norma de medición de masa laminar porque actualmente no existe ninguna que se adecue a las características de nuestro textil. La determinación de la masa laminar se determina para todas y cada una de las muestras y de las pruebas realizadas, ya que es un parámetro muy importante para caracterizar el velo. La importancia de la masa laminar radica en que, si el velo es muy grueso tardará mucho en degradarse, retrasando la liberación del principio activo,

mientras que si es muy fino la cantidad de principio activo que contendrá será muy pequeña, siendo insuficiente para el tratamiento de la lesión condral.

El método de ensayo se basa en cortar las muestras una vez acondicionadas en unas dimensiones de 2x8 cm. Previo al corte, el velo se cubre con un film transparente para protegerlo. De este modo, la muestra queda en un formato sándwich formado por **tres capas**: sustrato colector, velo de nanofibras y film protector.

La manipulación del velo y de las muestras debe realizarse en todo momento con guantes ya que el DL-PLG se degrada en contacto prolongado con la piel.

Una vez cortada la muestra, se retira, con la ayuda de pinzas y aguja de disección, el sustrato colector y el film protector, y el velo de nanofibras se coloca en la superficie de pesaje de la balanza de precisión.

El valor de masa medida corresponde a una superficie de 16 cm². Para trabajar con unidades que nos permitan hacer comparaciones entre distintas muestras, se calcula la masa laminar en g/m².

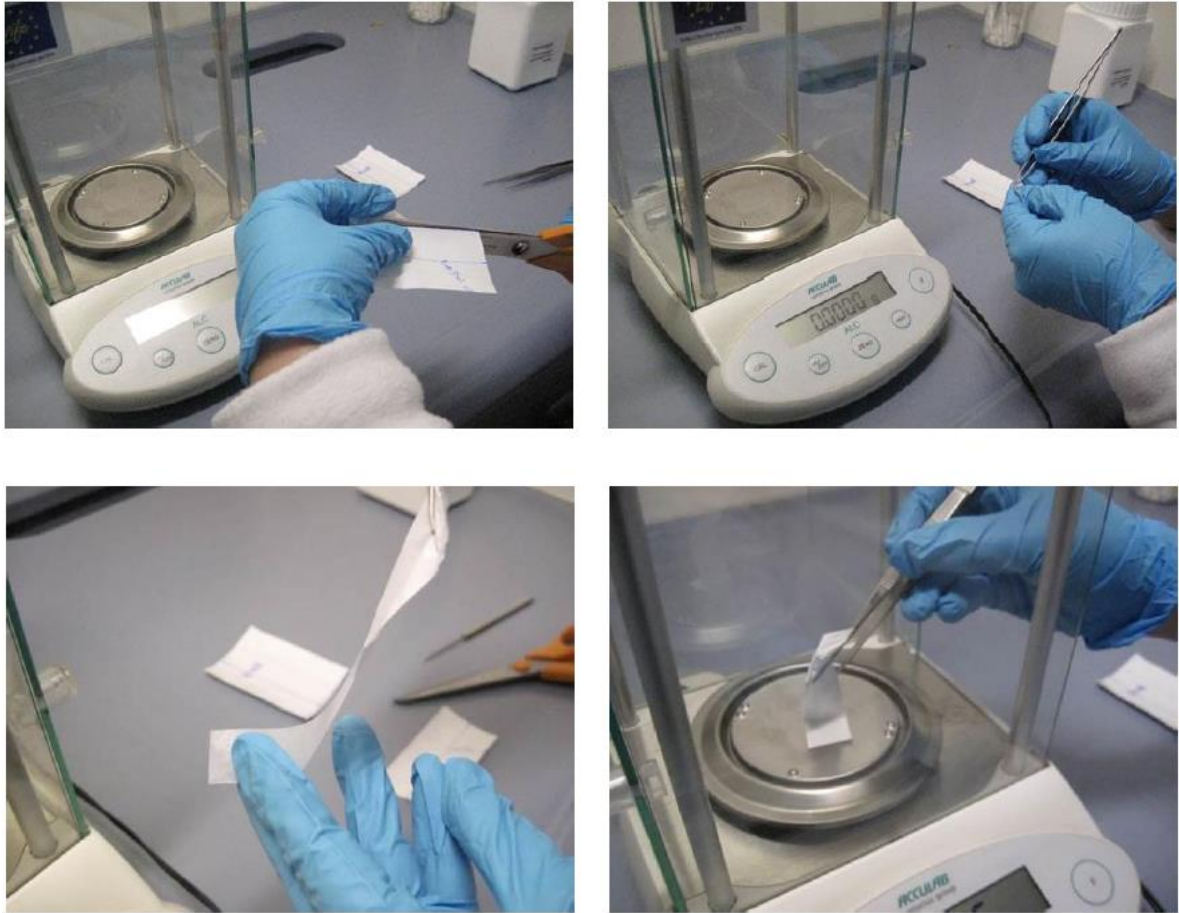


Ilustración 28. Determinación de la masa laminar.

Visión microscópica:

Para la visualización microscópica de los velos nos ayudaremos de un microscopio electrónico de barrido que analiza electrones retrodispersados. El microscopio electrónico de barrido permite la observación y caracterización superficial de materiales orgánicos e inorgánicos, analizando la morfología del material. A partir de ella se producen distintos tipos de señal que se utilizan para estudiar sus características. La imagen que se obtiene con el microscopio corresponde a electrones secundarios o retrodispersados, emitidos tras la interacción con la muestra de un haz de electrones incidente de entre 5 y 30 KeV. Se aplica una señal eléctrica y el haz de electrones se desplaza sobre la muestra realizando un barrido en las direcciones X e Y. De esta forma, mediante movimientos rápidos del haz, la superficie entera de la muestra puede ser irradiada con el haz de electrones.

En la siguiente imagen podemos ver un esquema general del microscopio:

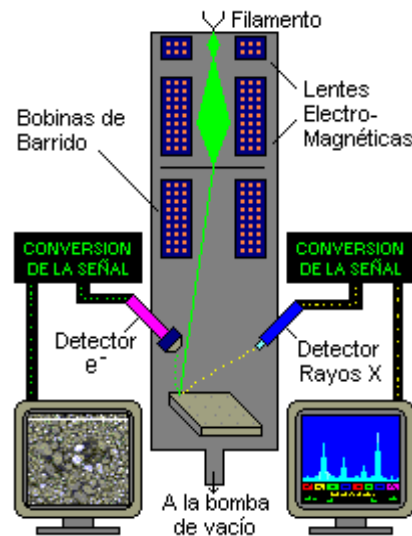


Ilustración 29. Esquema del microscopio electrónico de barrido.

En nuestro caso, el microscopio SEM que hemos utilizado es de la casa Phenom, más concretamente el **Phenom Pro-X/Pro/Pure**.



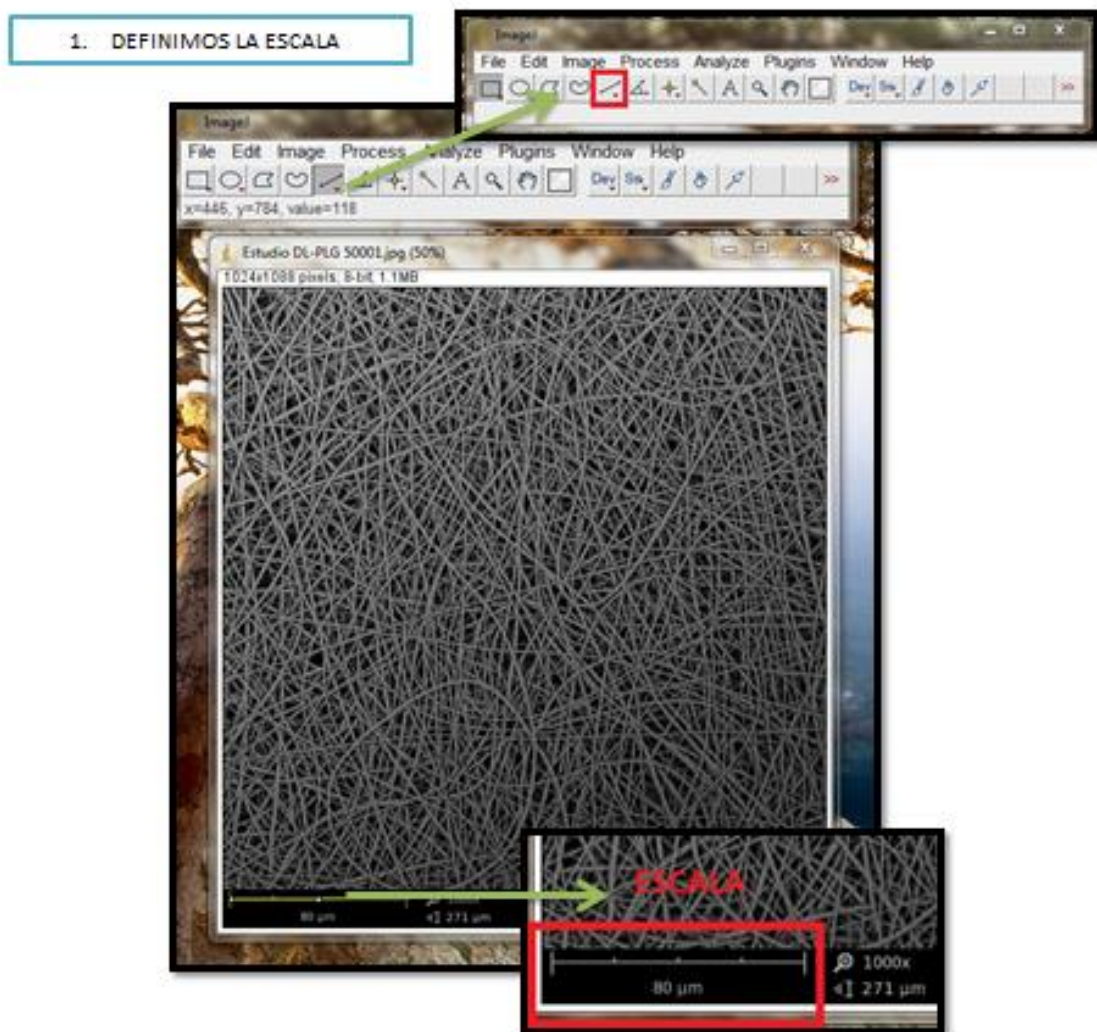
Ilustración 30. Microscopio SEM Phenom.

- 1) **MEDIDA DEL DIÁMETRO:** Para la medida del diámetro de las nanofibras nos ayudaremos de un software especial llamado Image J. El **Image J** es un programa que permite medir distancias estableciendo previamente una escala para asegurarnos de que las medidas que proporciona son correctas. Además tiene una ventaja primordial, y es que los datos obtenidos pueden extrapolarse a Excel para facilitar su manipulación. A pesar de las ventajas que tiene el programa también tiene una desventaja notable: las medidas se realizan manualmente, es

decir, es el usuario el que debe marcar las distancias que representan el diámetro de las fibras, no es el mismo programa el que realiza un barrido y analiza las fibras, por lo que el error cometido es bastante significativo.

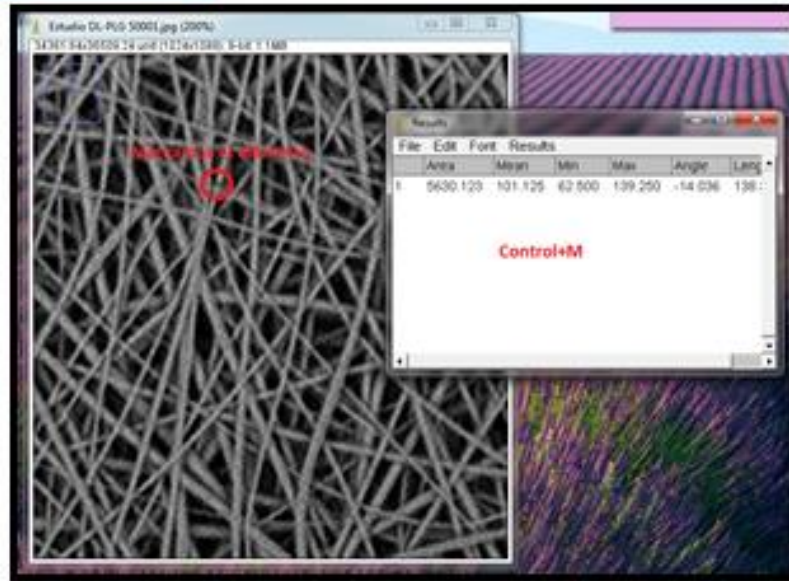
El programa funciona de la siguiente manera:

- a. Definimos la escala: Marcamos la escala con la herramienta definida para establecer los aumentos con los que se ha trabajado en el microscopio.



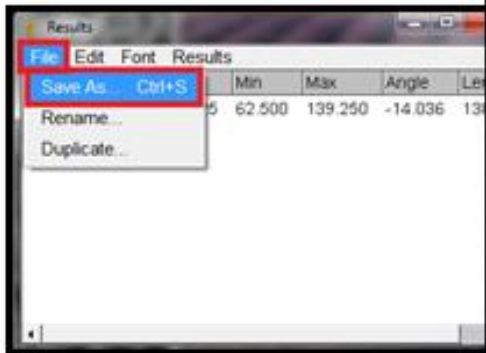
- b. Marcamos el diámetro: Con la ayuda de la misma herramienta que para definir la escala vamos marcando los diámetros de las fibras. Procuraremos no coger ningún bead ya que queremos el diámetro medio, sin tener en cuenta las posibles deformaciones.

2. MARCAMOS EL DIÁMETRO



- c. Extrapolamos a Excel las medidas tomadas para poder trabajar con ellas y obtener el histograma de frecuencias.

3. GUARDAMOS EN EXCEL



	A	B	C	D	E	F	G	H
	Area	Mean	Min	Max	Angle		length	
1	1	11.316.709	126.660	104.312	147.500	135.000	300.889	
2	2	8.801.931	110.857	89.000	128.000	90.000	212.761	
3	3	11.316.709	140.556	119.000	161.000	0.000	283.681	
4	4	17.603.863	99.655	78.426	110.728	71.565	448.539	
5	5	11.316.709	108.639	89.000	131.250	14.036	292.411	
6	6	13.831.606	102.855	89.000	117.800	78.690	361.623	
7	7	11.316.709	136.444	118.000	146.000	0.000	283.681	
8	8	3.772.256	120.667	110.000	128.000	0.000	70.920	
9	9	8.801.931	118.571	93.000	143.000	90.000	212.761	
10	10	8.801.931	58.286	42.000	87.000	90.000	212.761	
11	11	8.801.931	113.000	87.000	140.000	90.000	212.761	
12	12	6.287.094	131.600	106.000	151.000	180.000	141.840	
13	13	6.287.094	106.400	66.000	141.000	-26.565	158.582	
14	14	8.801.931	102.857	83.000	131.000	0.000	212.761	
15	15	10.059.350	123.515	66.000	141.580	123.690	255.706	
16	16	11.316.709	117.657	96.000	141.000	-14.036	292.411	
17	17	3.772.256	126.667	118.000	132.000	0.000	70.920	
18						90.000	354.601	
						153.435	317.165	
						45.000	100.290	
						104.036	292.411	
						0.000	212.761	
						123.690	255.706	

DIÁMETROS	RANGO	LÍMITES	FREC. ABSOLUTA	FREC. RELATIVA
31.955	94014,00		5	8,33
31.955	94014,00	50-100	35	60,33
44.342	36503,50	100-150	12	20,00
44.342	36503,50	150-200	2	3,33



4. OBTENEMOS EL HISTOGRAMA DE FRECUENCIA PARA LOS DIÁMETROS.

RANGO: Establece un valor de rango entre el máximo y el mínimo de los diámetros.
INTERVALOS: Separamos los valores medidos por intervalos de 50 en 50.
AMPLITUD: Valor de rango en cada intervalo.
LÍMITES: Intervalos seleccionados.
FREC.ABSOLUTA: Número de medidas incluidas en cada intervalo.
FREC.RELATIVA: Porcentaje de medidas en cada intervalo.

60
 95.300,00

RECUENTO DE MEDIDAS

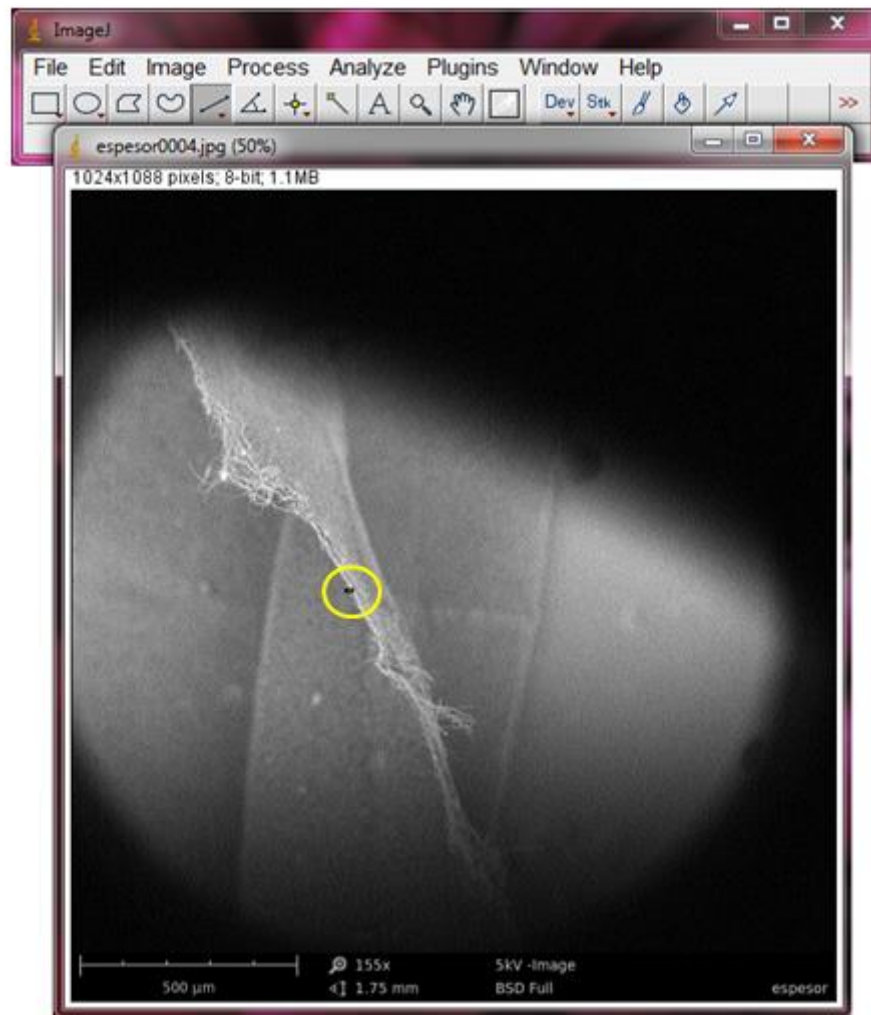
PROMEDIO DE LAS MEDIDAS REALIZADAS

2) CÁLCULO DEL ESPESOR:

Teóricamente el espesor de un textil se define como la distancia perpendicular entre dos placas de referencia que aplican sobre el textil una presión igual o inferior a 1 kPa, pero como no nos es posible realizar el método de esta forma lo realizaremos de otra, más manual y sin tener que manipular presiones.

Para calcular el espesor se necesita hacer uso del microscopio electrónico.

Cortaremos con mucho cuidado una pequeña porción de velo y lo colocaremos en el soporte de tal manera que el corte trasversal quede en la parte superior, para así verlo en el microscopio. Tras esto podremos medir el espesor haciendo uso del programa Image J.



3) Ilustración 31. Medida del espesor.

CAPÍTULO 3. ENSAYOS PARA EL ESTUDIO DE LA VARIACIÓN DEL DIÁMETRO DE LAS NANOFIBRAS Y LA ADICIÓN DE PRINCIPIO ACTIVO.

3.1 Ensayos para el estudio de la variación del diámetro de las nanofibras.

En este apartado procederemos a explicar las condiciones de cada ensayo realizado así como los resultados previos obtenidos. El total de ensayos realizados asciende a 18.

3.1.1 Ensayos realizados

El hecho de realizar tantos ensayos nos ayudará a relacionar las tres variables principales de la técnica de Electrohilatura (voltaje, distancia y caudal) con las características del velo obtenido, especialmente con el diámetro de las fibras.

Con el fin de trabajar de manera ordenada se ha diseñado un plan de pruebas caracterizado por quedarse fijas 2 variables y manipular la tercera. Puesto que la distancia se modifica de manera manual, teniendo que estar el equipo desconectado, las pruebas se han organizado de modo que se tuviese que modificar la distancia el menor número de veces posible. El caudal y el voltaje se pueden manipular durante el proceso a voluntad, pero el voltaje tiende a variar ligeramente a lo largo del proceso, aunque no de forma significativa.

Tabla resumen:

MUESTRA	VOLTAJE INYECTOR (kV)	VOLTAJE COLECTOR (kV)	CAUDAL (ml/h)	DISTANCIA (cm)
1	4,4	-4,48	1	20
2	5,28	-5,31	1	20
3	4,43	-4,41	2	20

4	3,84	-3,9	1	20
5	5,65	-5,91	1	20
6	5,65	-5,96	2	20
7	5,63	-5,91	3	20
8	4,08	-3,96	3	20
9	4,07	-3,95	2	20
10	5,81	-6,02	2	20
11	5,34	-5,32	1	20
12	3,99	-3,95	1	20
13	6,05	-6,02	1	23,5
14	6,02	-6,03	2	23,5
15	6,38	-6,35	3	23,5
16	6,38	-6,36	2	20
17	7,83	-7,36	2	15
18	7,84	-7,38	1	15

Tabla 6. Tabla resumen de los ensayos realizados.

En el anexo veremos las Hojas de Registro de los ensayos de Electrohilatura realizados donde se detalla también los parámetros ambientales del proceso.

3.1.2 Caracterización de los velos

Visión macroscópica

Seguidamente se muestra algunas de las imágenes de las diferentes muestras obtenidas:







Ilustración 32. Velos obtenidos de DL-PLG al 30%

En las fotografías anteriores podemos observar los velos obtenidos así como las imperfecciones que presentan algunos de ellos. La mayoría de imperfecciones se deben a gotas de la disolución polimérica que han caído en el velo, como podemos ver en la muestra 8.

Podemos resumir las características de cada velo obtenido en la siguiente tabla:

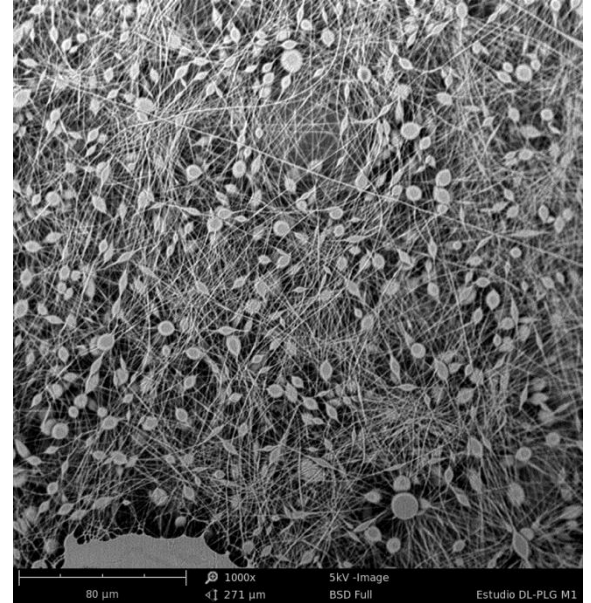
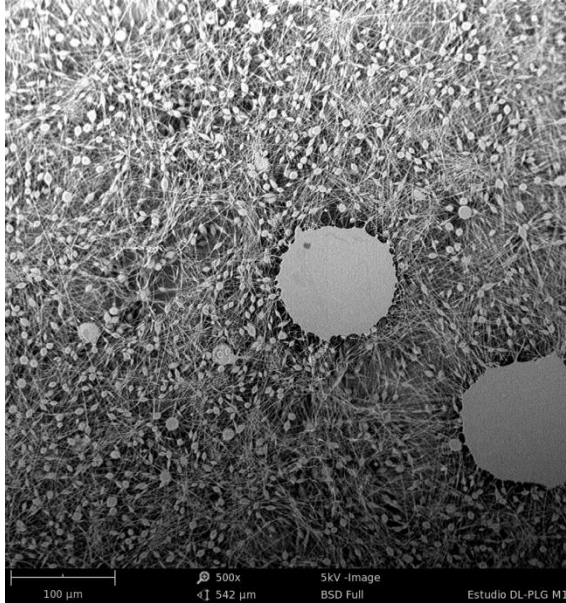
Muestra	Desprendimiento	Tacto suave / elástico	Presencia humedad	Presencia de gotas
1	Si	Si	No	No
2	Si	Si	No	No
3	Si	Si	No	No
4	Si	Si	No	No
5	Si	Si	No	No
6	Si	Si	No	No
7	Si	Si	No	No
8	Si	Si	No	Si
9	Si	Si	No	Si
10	Si	Si	No	Si
11	Si	Si	No	Si
12	Si	Si	No	Si
13	Si	Si	No	No
14	Si	Si	No	No
15	Si	Si	No	Si
16	Si	Si	No	Si
17	Si	Si	No	No
18	Si	Si	No	No

Tabla 7. Características preliminares de los velos obtenidos.

Visión microscópica

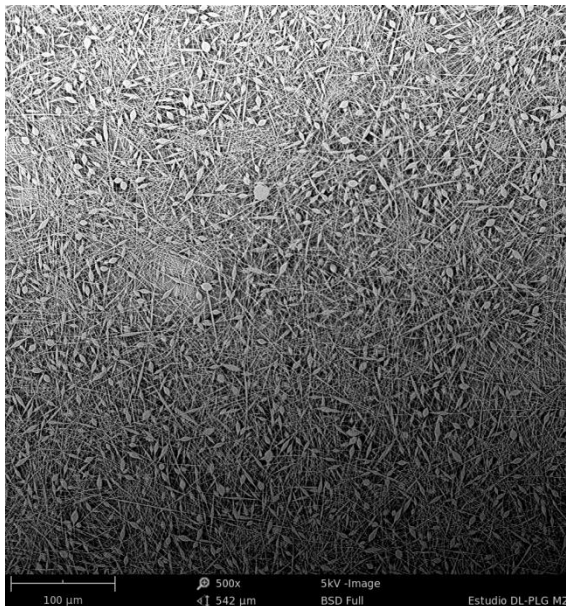
A continuación se muestran parte de las imágenes tomadas. Cada una de ellas está referenciada con el número de prueba, por lo que para más aclaración conviene revisar la tabla resumen.

MUESTRA 1



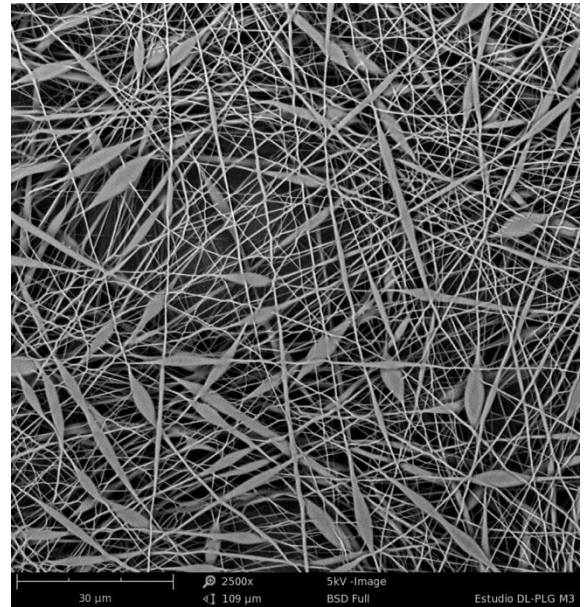
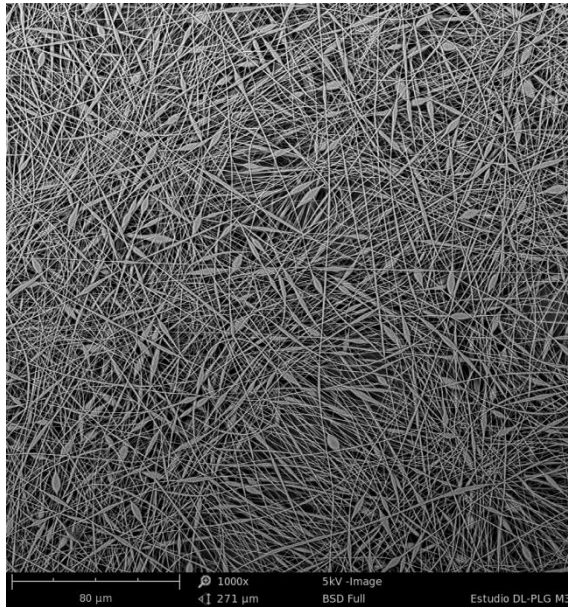
Presencia de beads en las fibras y gotas.

MUESTRA 2



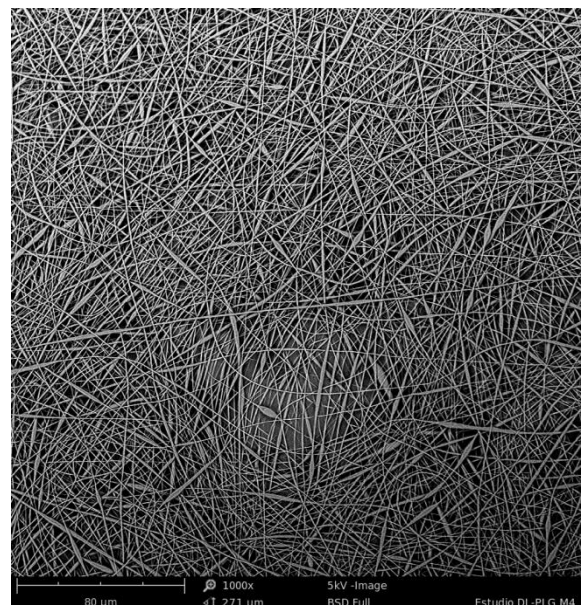
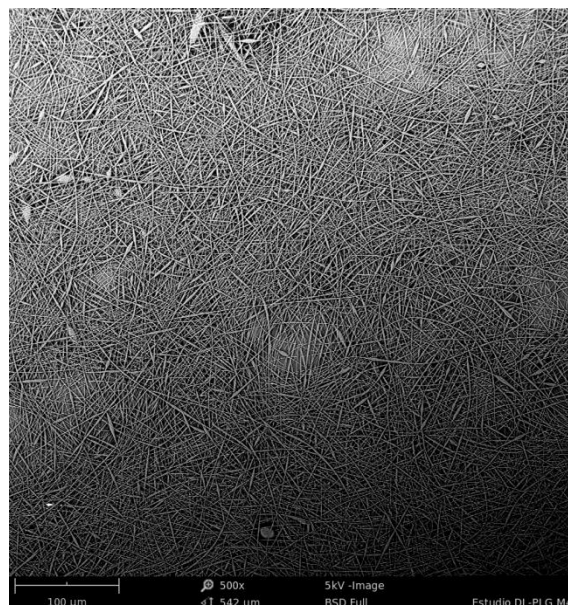
Presencia de beads en las fibras.

MUESTRA 3



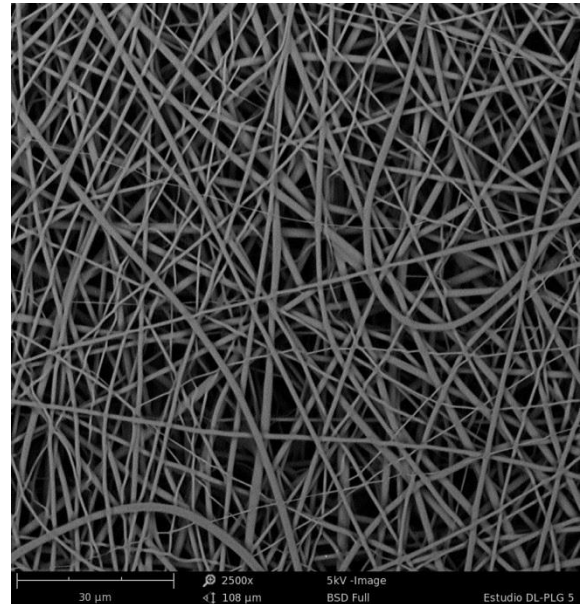
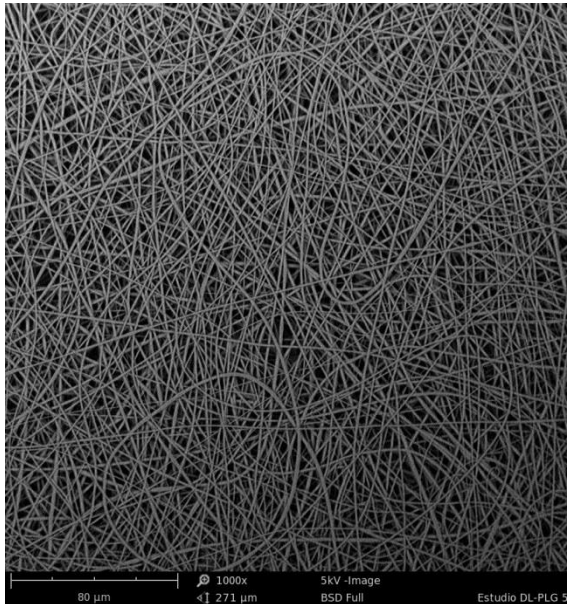
Presencia de beads en las fibras.

MUESTRA 4



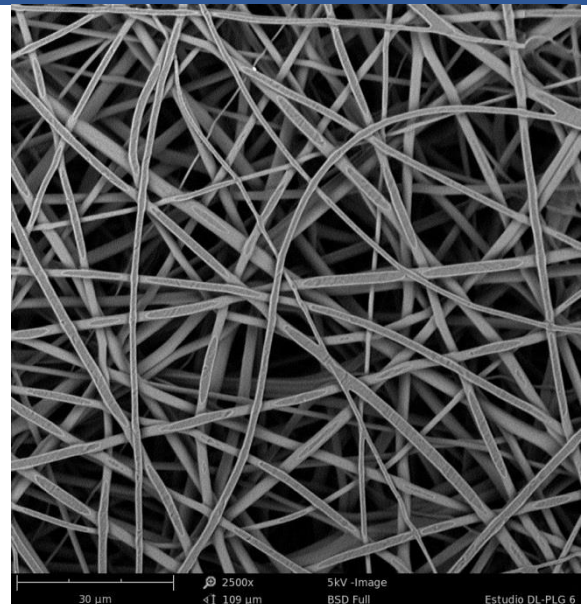
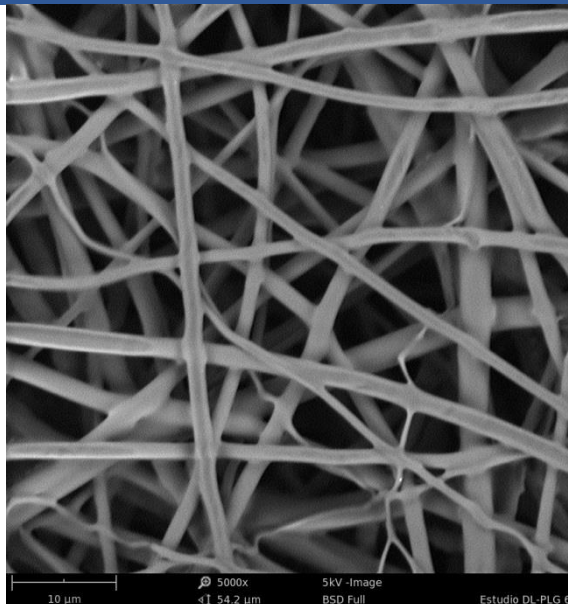
Presencia de beads en las fibras, aunque más finos que en las pruebas anteriores.

MUESTRA 5



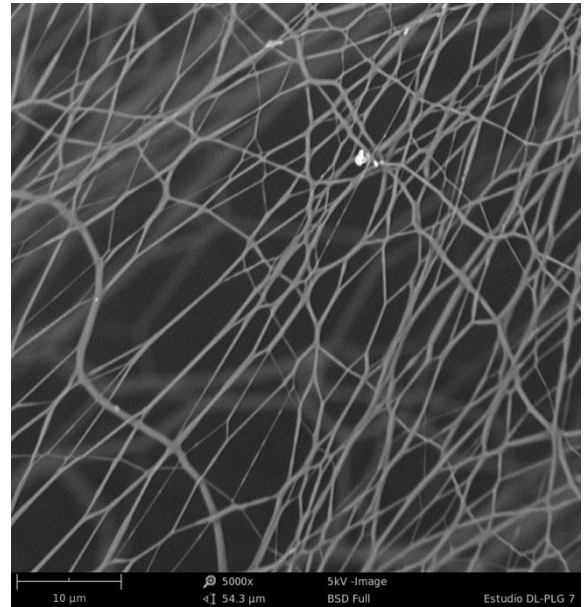
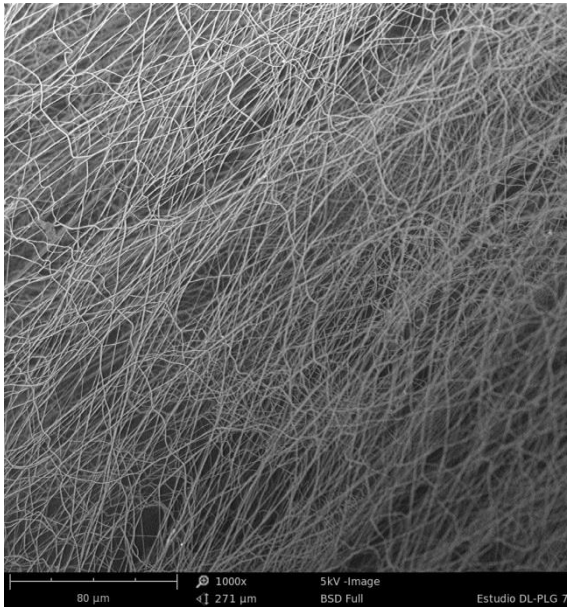
Fibras sin presencia de beads y muy uniformes.

MUESTRA 6



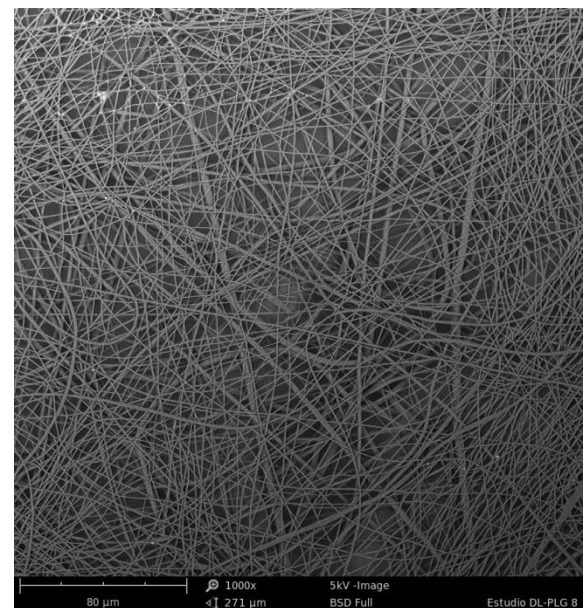
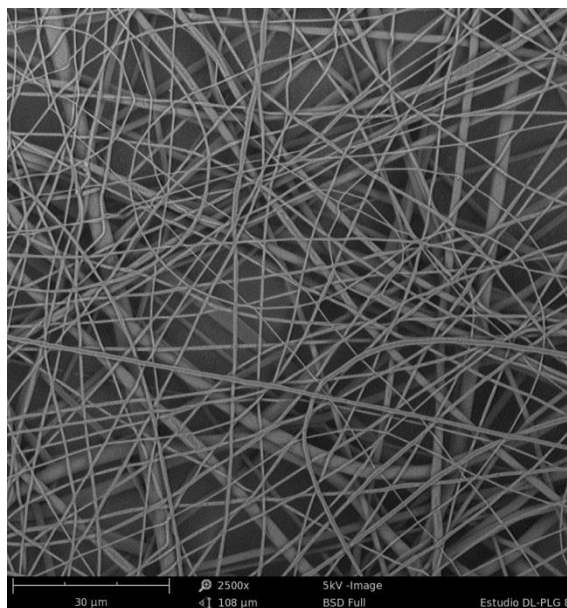
Fibras sin presencia de beads pero con grosores dispares y mucho hueco entre fibras.

MUESTRA 7



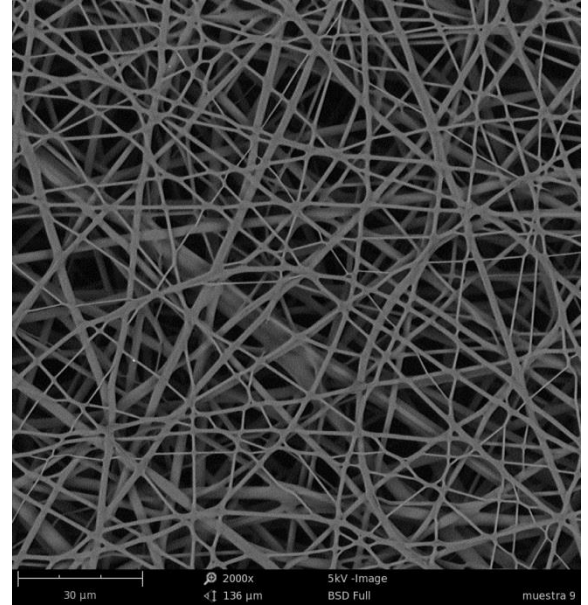
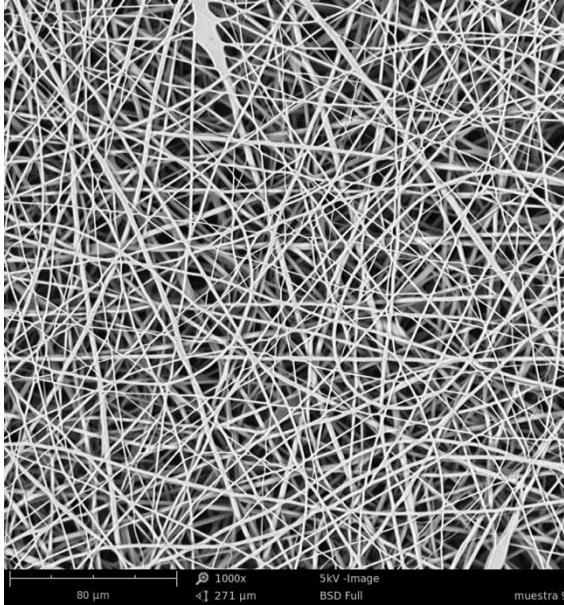
Fibras finas y sin presencia de beads pero con mucho hueco entre ellas.

MUESTRA 8



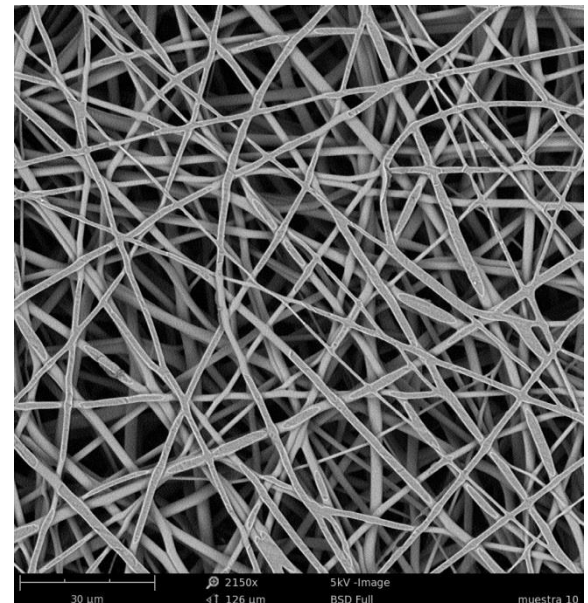
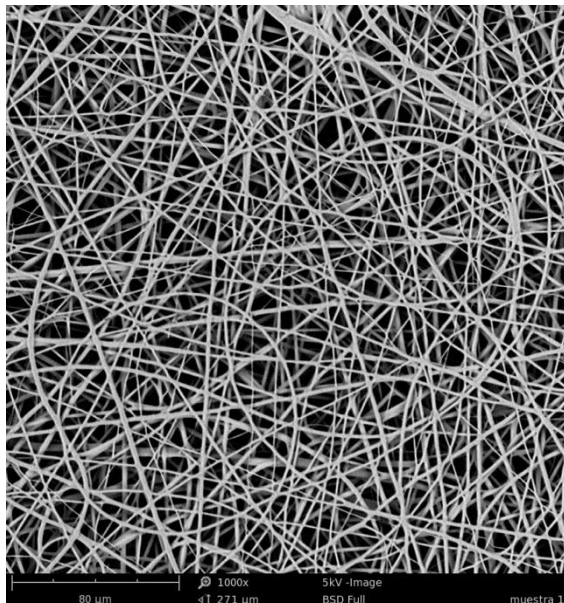
Fibras sin presencia de beads, con grosores muy dispares y con acumulación de polímero en ciertas zonas.

MUESTRA 9



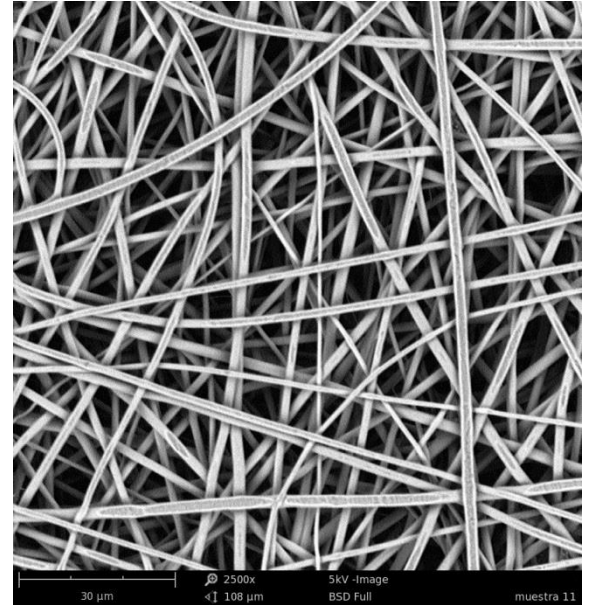
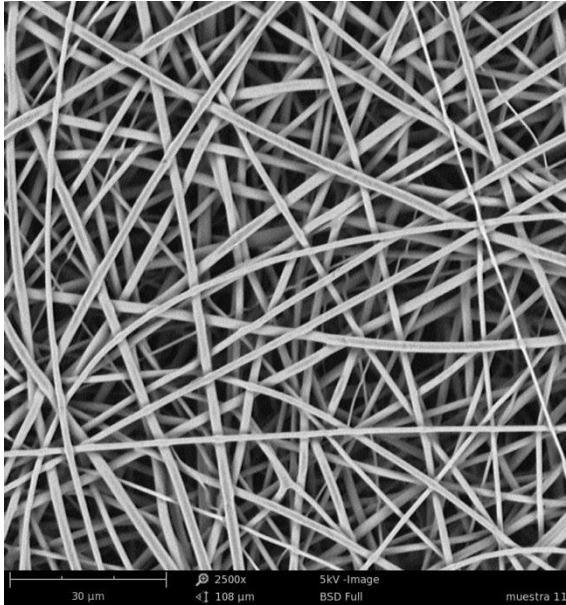
Fibras relativamente uniformes.

MUESTRA 10



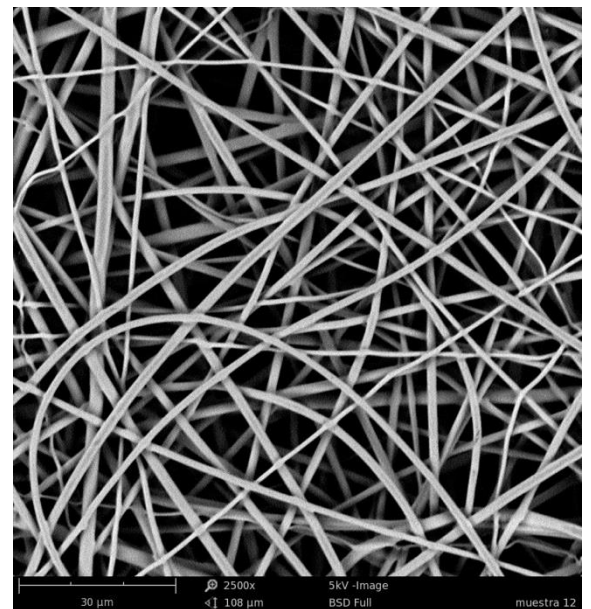
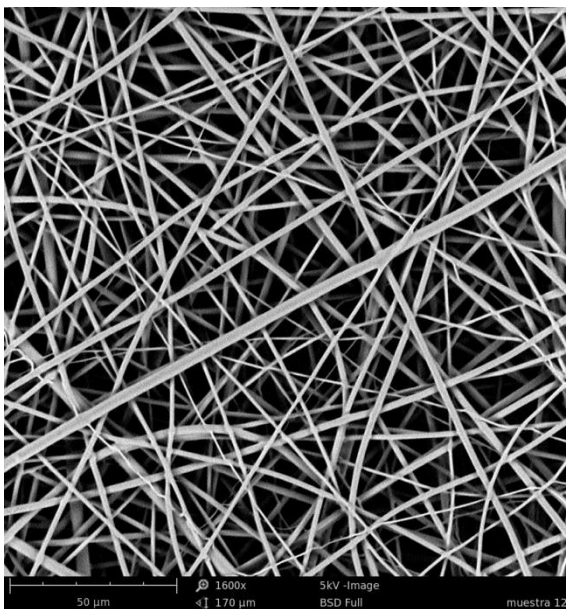
Fibras relativamente uniformes.

MUESTRA 11



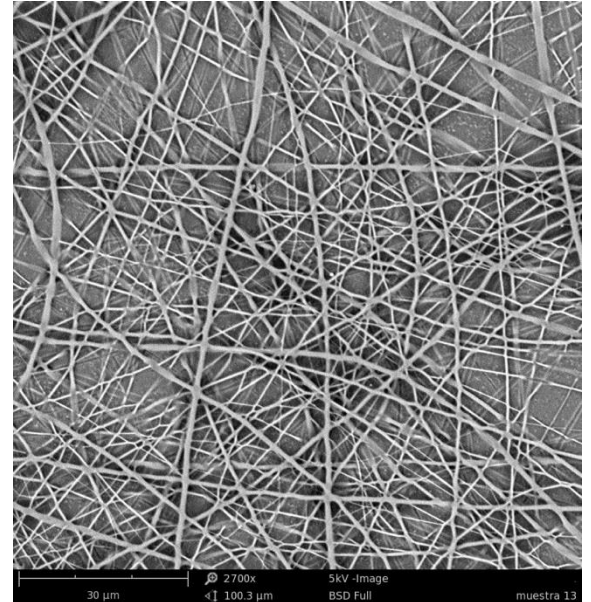
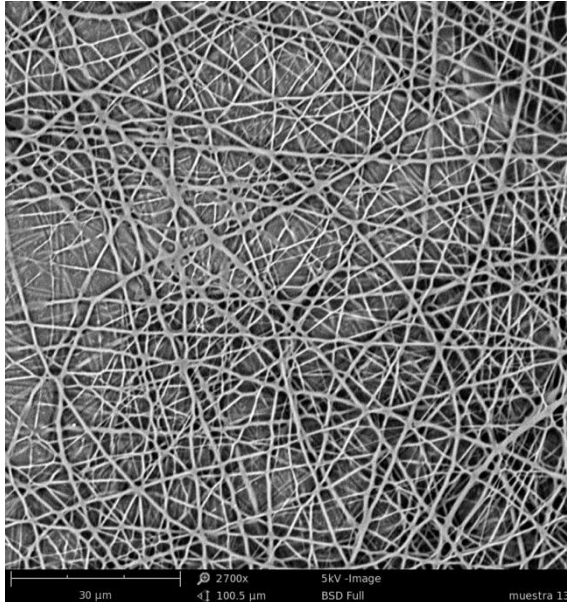
Fibras relativamente uniformes.

MUESTRA 12



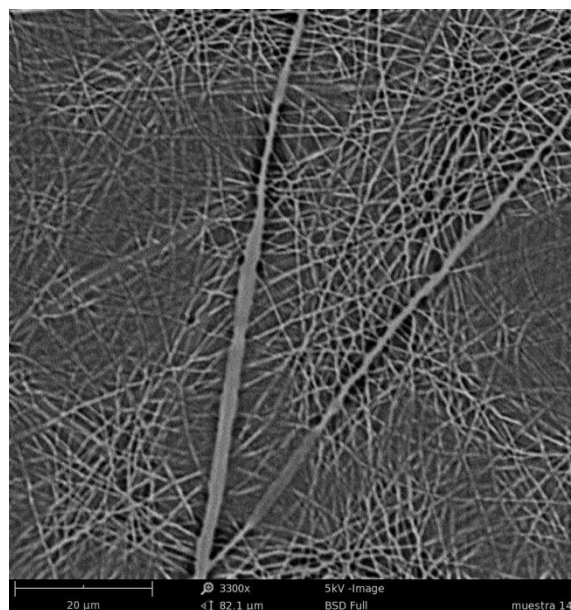
Fibras relativamente uniformes.

MUESTRA 13



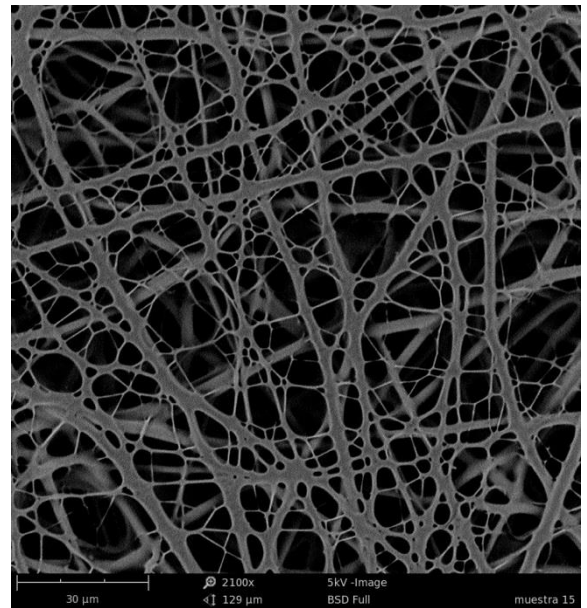
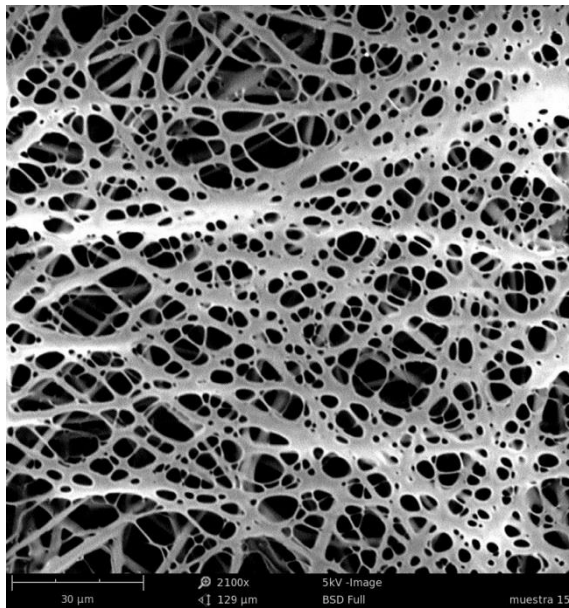
Fibras poco definidas, con mucho hueco entre ellas y con presencia de film de polímero.

MUESTRA 14



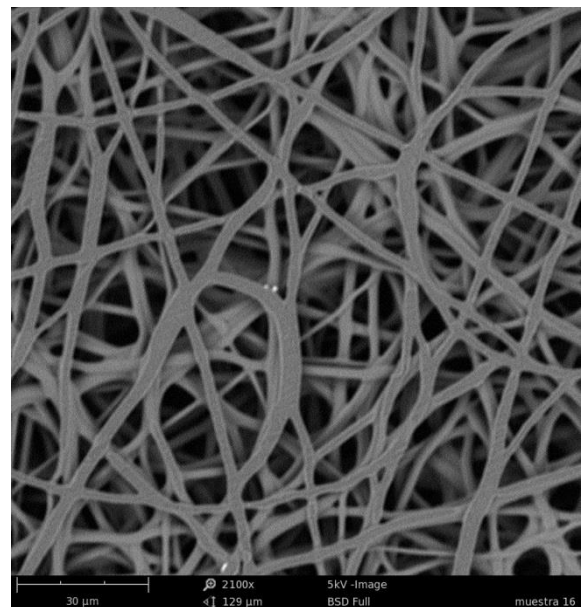
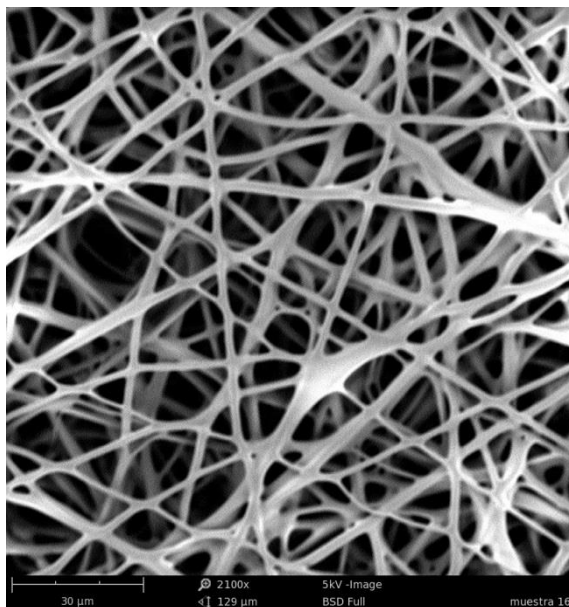
Fibras poco definidas, con mucho hueco entre ellas y con presencia de film de polímero.

MUESTRA 15



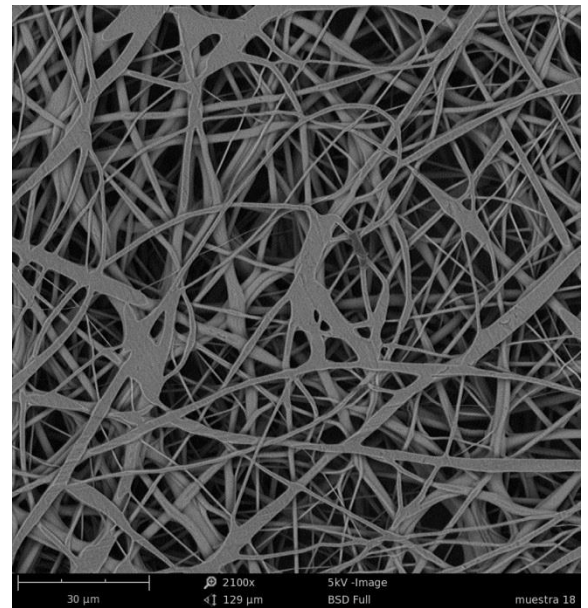
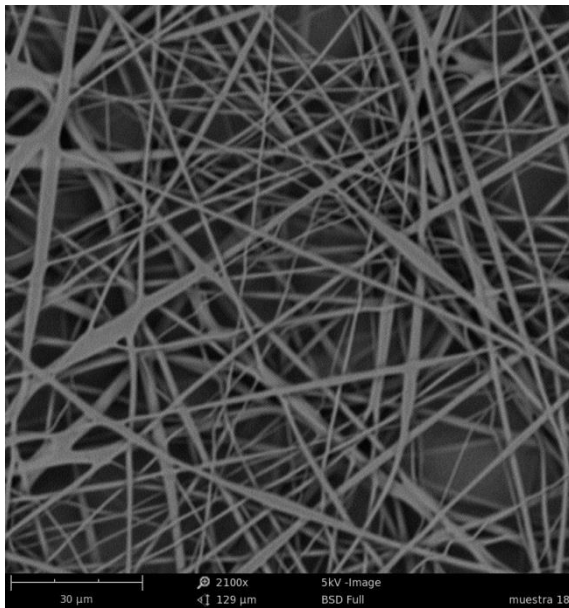
Fibras poco definidas, con mucho hueco entre ellas y con presencia de film de polímero.

MUESTRA 16



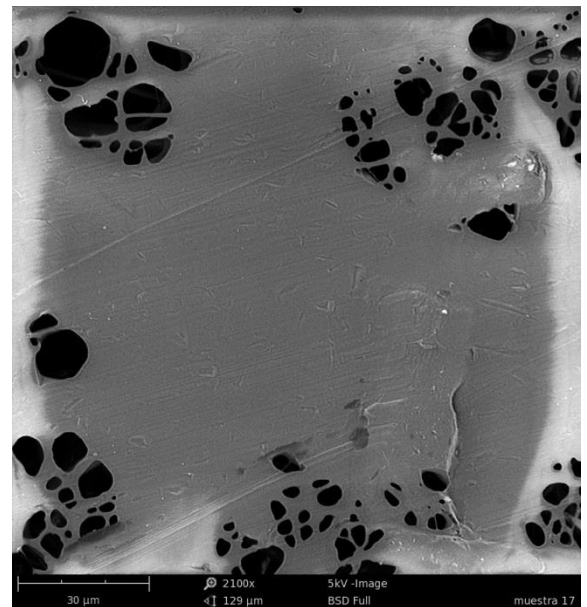
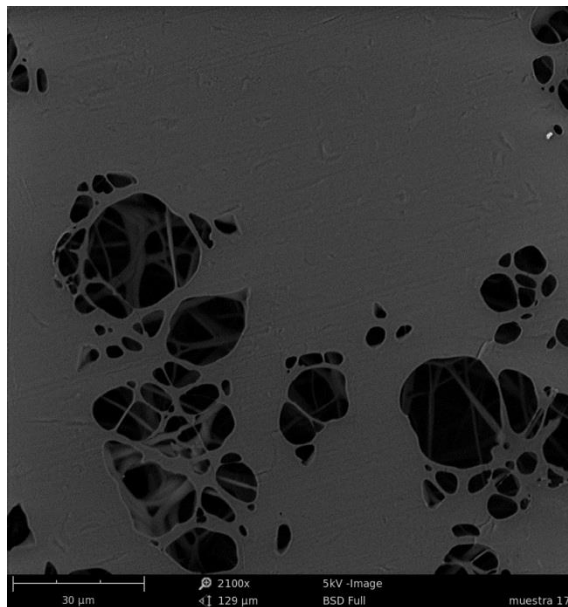
Fibras poco definidas y planas, unidas entre sí y con depósitos de polímero.

MUESTRA 17



Fibras poco definidas, unidas entre sí.

MUESTRA 18



Poca presencia de fibras, se ha producido una capa de film de polímero, la técnica ha resultado totalmente fallida.

Como podemos ver, los tipos de velos obtenidos son muy dispares entre sí. Se han obtenido velos con la estructura adecuada (sin beads, sin depósitos de polímero y con fibras uniformes) como el 5, el 9 y el 11 y también se han obtenido velos totalmente fallidos (con gran presencia de beads o con ausencia de fibras definidas) como el 3, el 14, el 15 y el 18.

3.2 Ensayos para la determinación de la concentración óptima de Glicina.

En primer lugar, debemos destacar que la Glicina es un compuesto bastante difícil de disolver, ya que en seguida satura la disolución, además de que no es miscible con un disolvente apolar como el DMF. Para evitar que esto ocurra se han realizado varias pruebas para saber qué concentración es la óptima para conseguir que la disolución no se sature pero que, a su vez, fuese lo suficientemente grande como para tener algún efecto.

3.2.1 Ensayos realizados

La cuestión en este punto es determinar la concentración de glicina que permita obtener nanofibras en formato de velo. Deberemos tener en cuenta la solubilidad de la Glicina en DMF y también que si la disolución queda saturada resultará muy complicado electrohilarla, además de que se quedarán beads en todo el velo.

Para ello, se plantean tres disoluciones con diferente concentración de glicina y se prueba su electrohilatura.

1. DL-PLG 30% + Glicina 0.5%
2. DL-PLG 30% + Glicina 1 %
3. DL-PLG 30% + Glicina 2 %

El porcentaje de Glicina irá referido únicamente al polímero, ya que el disolvente se evaporará antes de llegar al colector, es decir, si queremos aplicar un 2% de Glicina deberemos calcularlo sobre la masa de DL-PLG que vamos a añadir.

$$m_{\text{glicina}} = m_{\text{polímero}} \cdot [\text{glicina}]$$

Con el fin de no desperdiciar material ni producto sólo se preparan 5 mL de cada disolución y se testea en un equipo de Electrohilatura básico, a escala de laboratorio, el cual requiere poco volumen de disolución para trabajar.



Ilustración 33. Máquina de electrohilatura a escala de laboratorio.

Tras preparar las disoluciones, se mantienen en agitación para asegurar la correcta distribución de la glicina. Cabe destacar que la glicina tiende a depositarse en el fondo del frasco, por lo que antes de realizar el ensayo de electrohilatura mantendremos el frasco en un baño de ultrasonidos para homogeneizar la mezcla. Esto se debe a que la agitación se produce de forma vertical u horizontal, no se puede agitar la disolución circularmente, por lo que si está mucho tiempo en estado vertical la Glicina se depositará en el fondo y si está mucho tiempo en estado horizontal se depositará en las paredes. Podemos evitar que esto ocurra o bien cambiando la posición del frasco cada cierto tiempo o bien, como hemos mencionado anteriormente, introduciendo el frasco en el baño de ultrasonidos para conseguir una mezcla totalmente homogénea y sin depósitos.

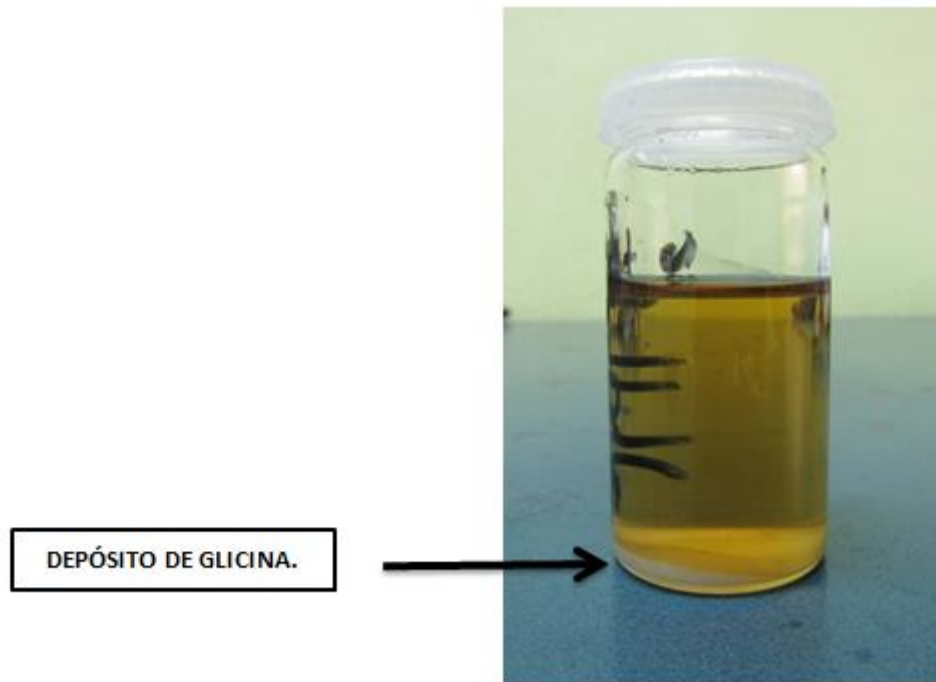


Ilustración 34. Disolución polimérica con depósito de Glicina.

La siguiente tabla muestra las condiciones del proceso con las que se han electrohilado las 3 disoluciones con glicina.

MUESTRA	CAUDAL (ml/h)	VOLTAJE (kV)	DISTANCIA (cm)
DL-PLG 30% + Glicina 0.5%	1	5.65/-5.91	20
DL-PLG 30% + Glicina 1%	1	5.70/-5.90	19.5
DL-PLG 30% + Glicina 2%	1	5.70/-5.91	20.2

Tabla 8. Ensayos con Glicina

3.2.2 Caracterización de los velos con Glicina.

Tras el secado de las muestras, se observan los tres velos tanto de forma microscópica como macroscópica. Las Hojas de Registro de los velos se encuentran adjuntas al anexo.

Visión macroscópica



Ilustración 35. DL-PLG 30% + Glicina 0.5%

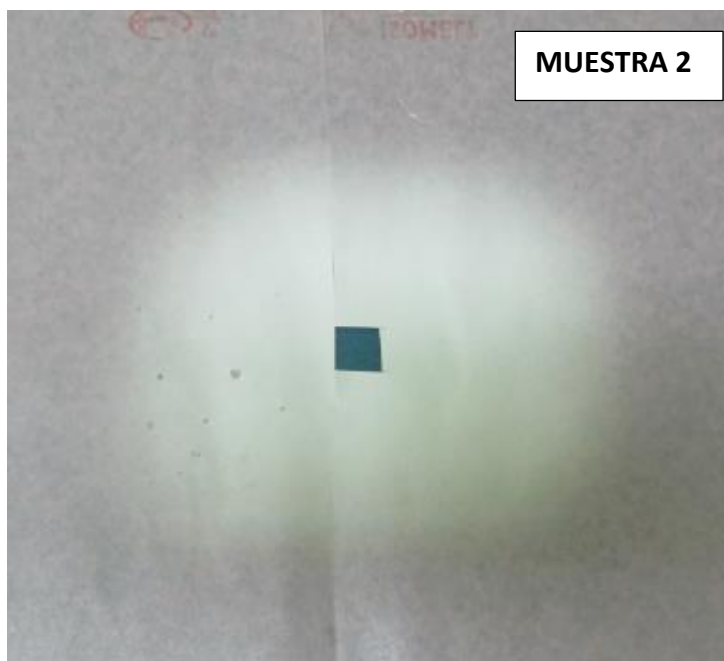


Ilustración 36. DL-PLG 30% + Glicina 1%

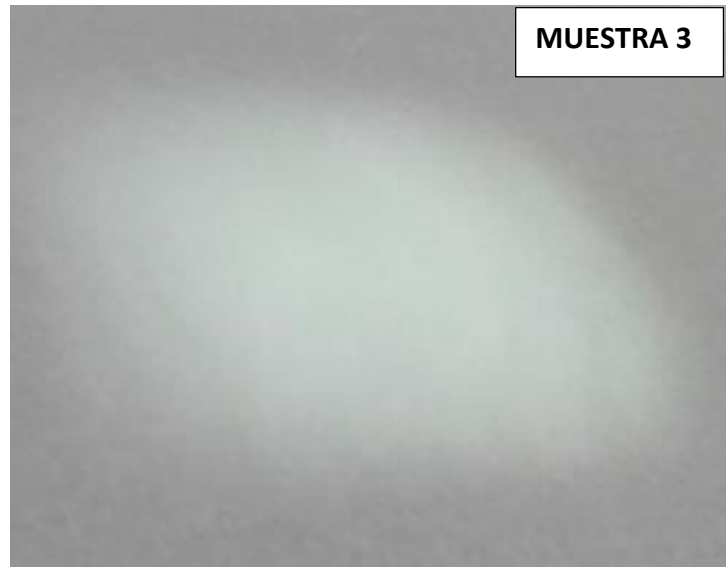


Ilustración 37. DL-PLG 30% + Glicina 2%

Visión microscópica

1. DL-PLG 30% + Glicina 0.5%

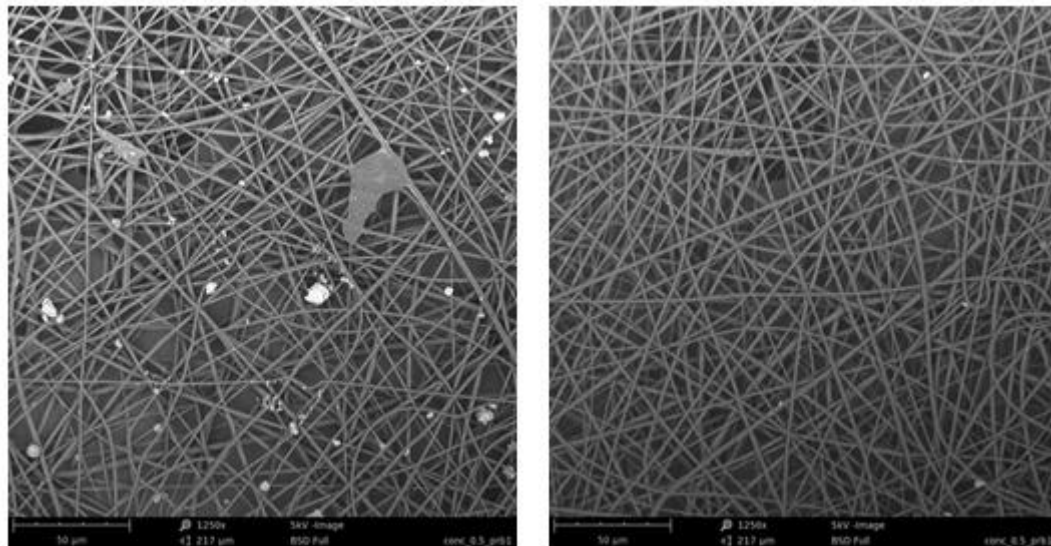


Ilustración 38. Imágenes SEM muestra 1.

2. DL-PLG 30% + Glicina 1%

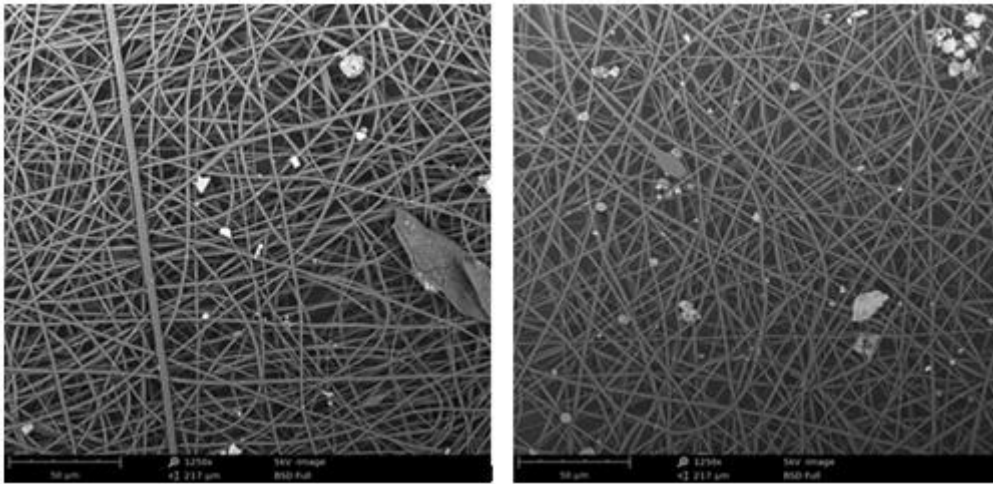


Ilustración 35. Imágenes SEM muestra 2.

3. DL-PLG 30% + Glicina 2%

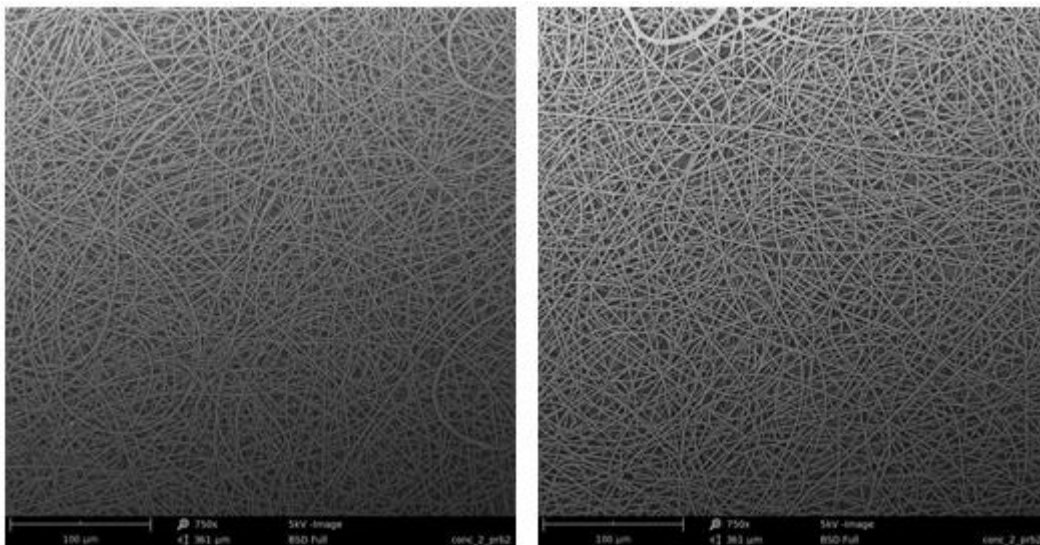


Ilustración 39. Imágenes SEM muestra 3.

Como se puede ver en las fotografías, cuando la concentración de Glicina es del 0.5% o del 1% se producen depósitos claramente visibles, por lo que esos ensayos son fallidos. Por otra parte, cuando la concentración de Glicina es del 2% no se muestran depósitos de Glicina y las nanofibras son bastante uniformes, por lo que se toma esa concentración

para la realización de los ensayos finales en la máquina de electrohilatura a escala semi industrial Y-FLOW.

Para la realización de los velos definitivos con Glicina utilizaremos los mismos parámetros que utilizamos con la muestra de Glicina al 2% por saber que se obtienen fibras uniformes y sin depósitos.

CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

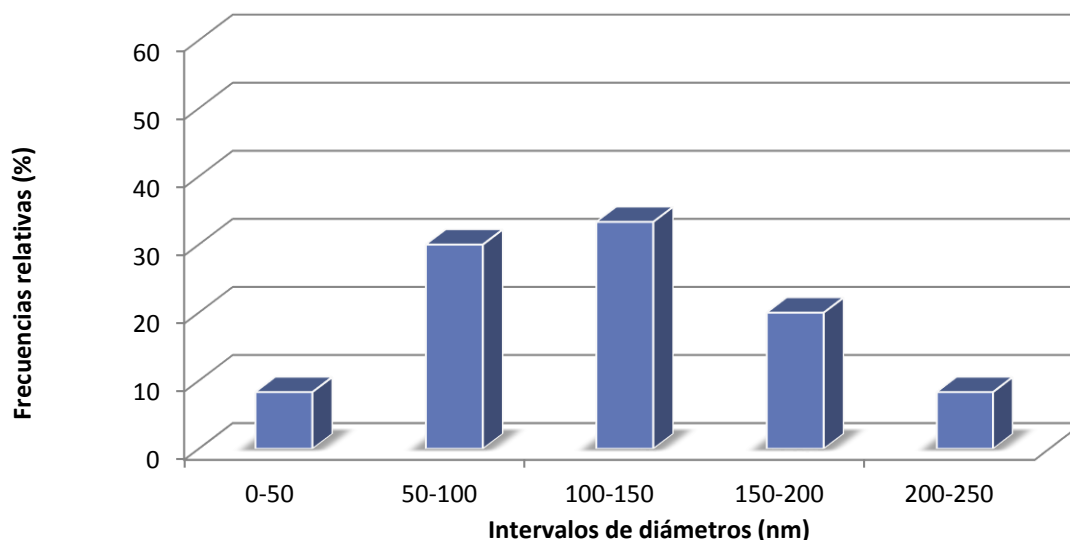
4.1 Efectos de los parámetros sobre el diámetro de las nanofibras

Para poder ver cómo afecta la variación de los parámetros sobre las nanofibras tendremos que fijarnos en la visión microscópica y macroscópica.

Para el cálculo del diámetro excluimos las muestras 14 y 18 por ser claramente defectuosas. Cabe destacar que aunque a simple vista veamos las fibras más finas o más gruesas en las imágenes a microscopio, éstas están sometidas a diferentes aumentos. Al colocar la imagen en el Image J, el programa ya analiza la escala a la que están las fibras, es decir, analiza el aumento al que están, para dar los valores de los diámetros. Por este motivo, aunque nos parezca que una muestra posee fibras más finas que otra, esto puede no ser así porque todo dependerá de los aumentos que tengan y la escala a la que estén.

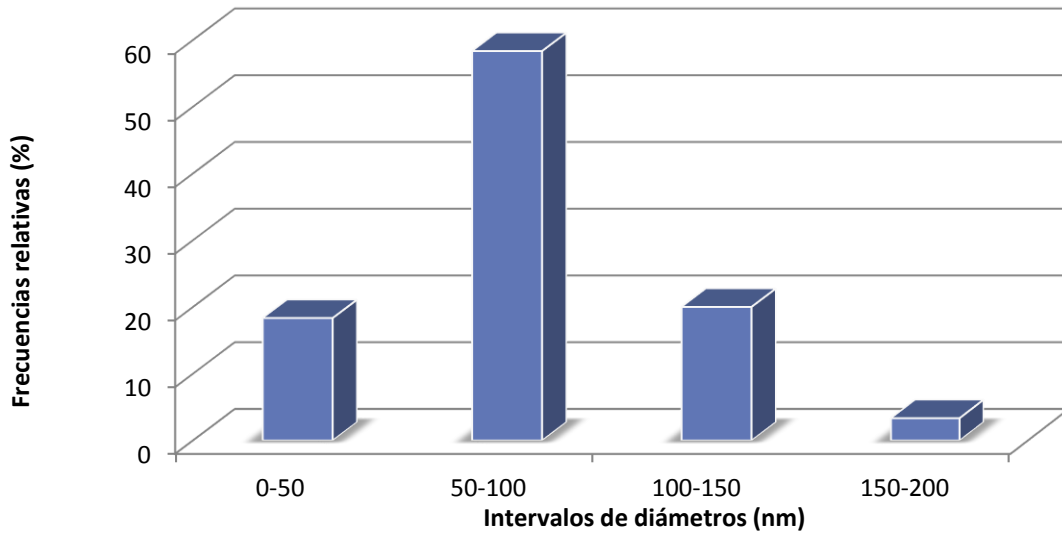
MUESTRA 1

HISTOGRAMA DE FRECUENCIAS



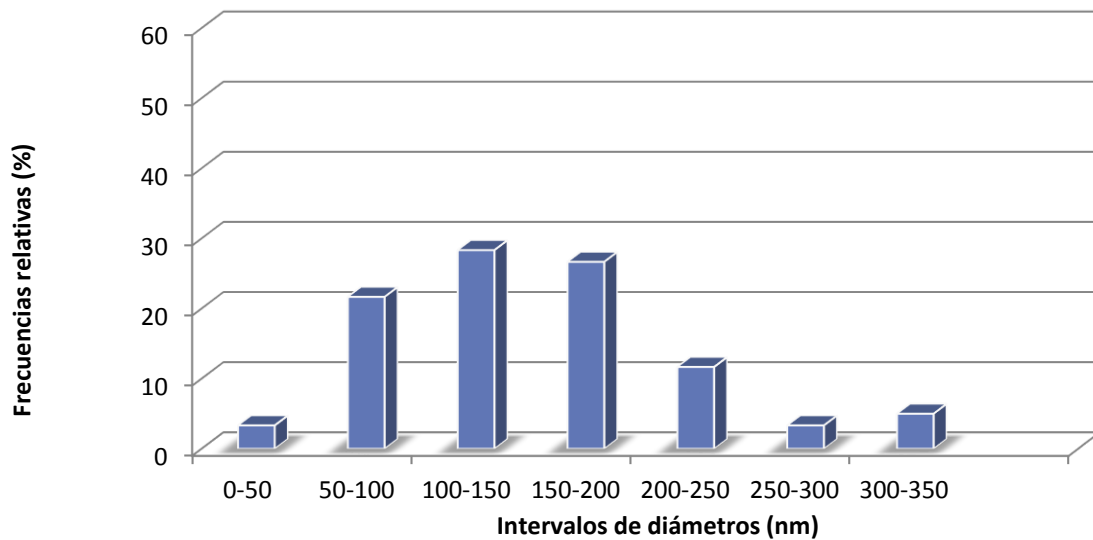
MUESTRA 2

HISTOGRAMA DE FRECUENCIAS



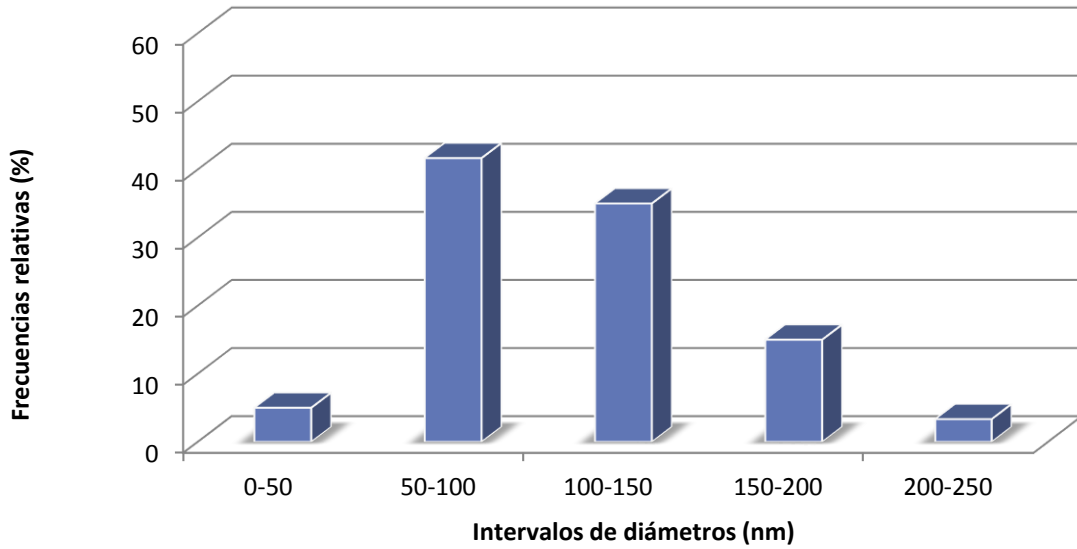
MUESTRA 3

HISTOGRAMA DE FRECUENCIAS



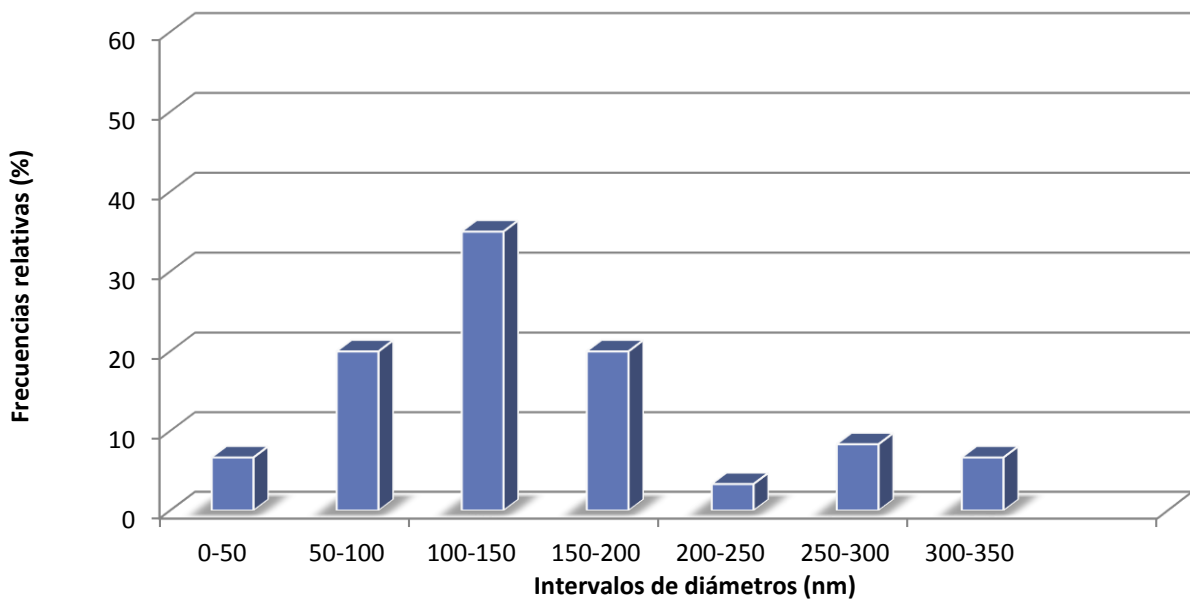
MUESTRA 4

HISTOGRAMA DE FRECUENCIAS



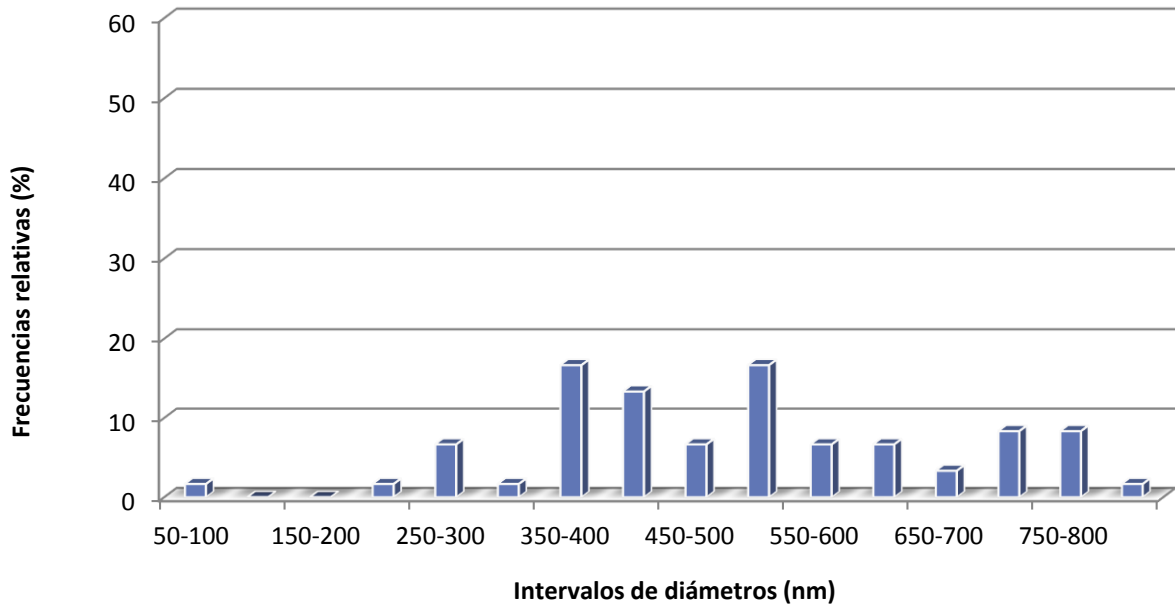
MUESTRA 5

HISTOGRAMA DE FRECUENCIAS



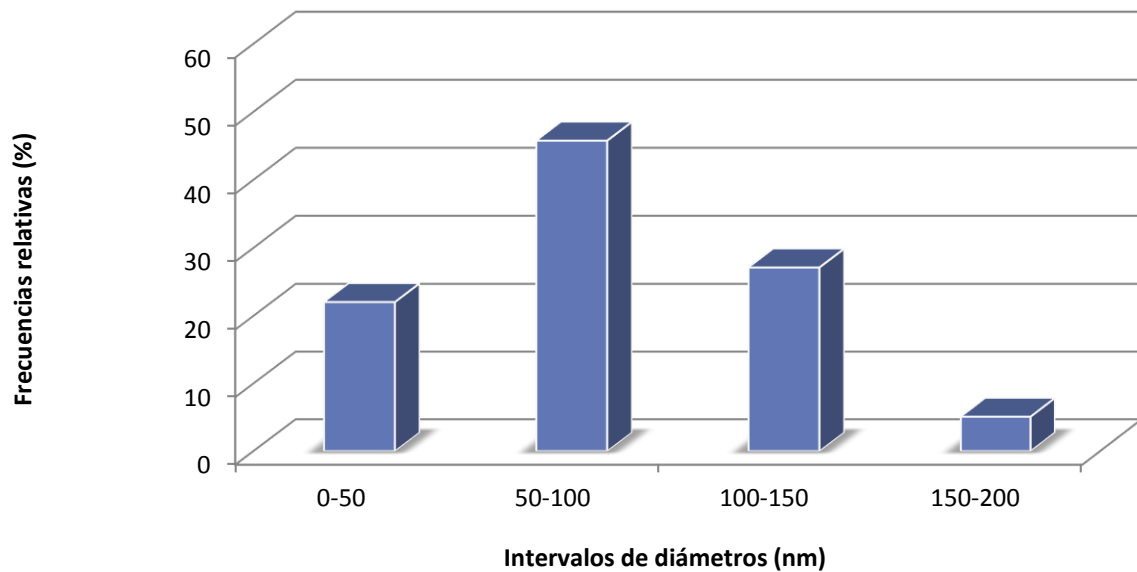
MUESTRA 6

HISTOGRAMA DE FRECUENCIAS



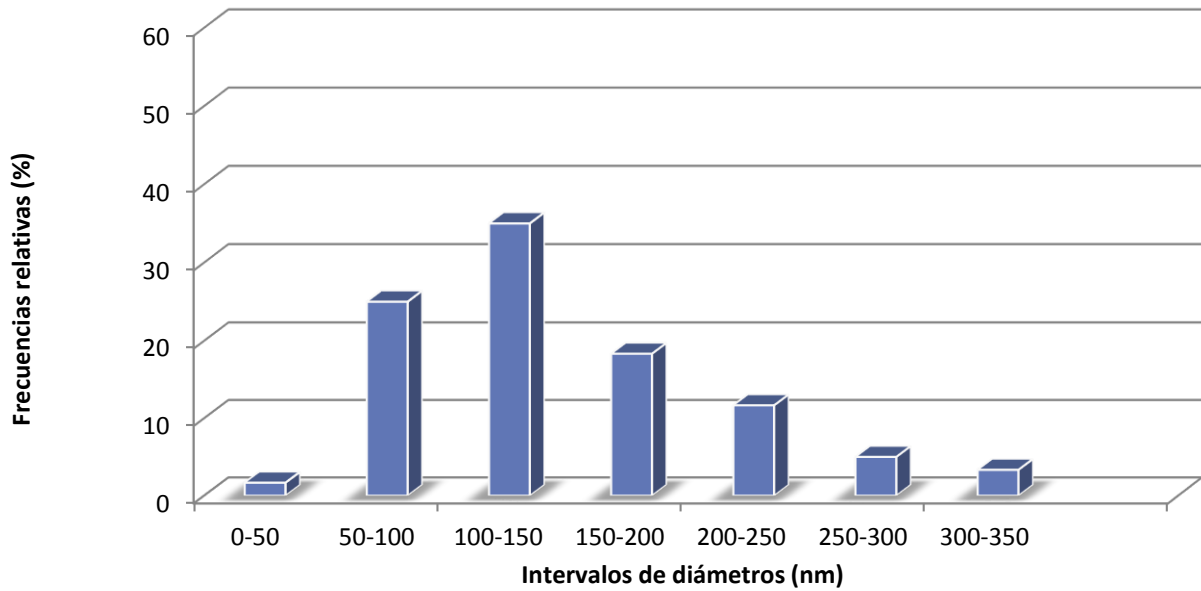
MUESTRA 7

HISTOGRAMA DE FRECUENCIAS



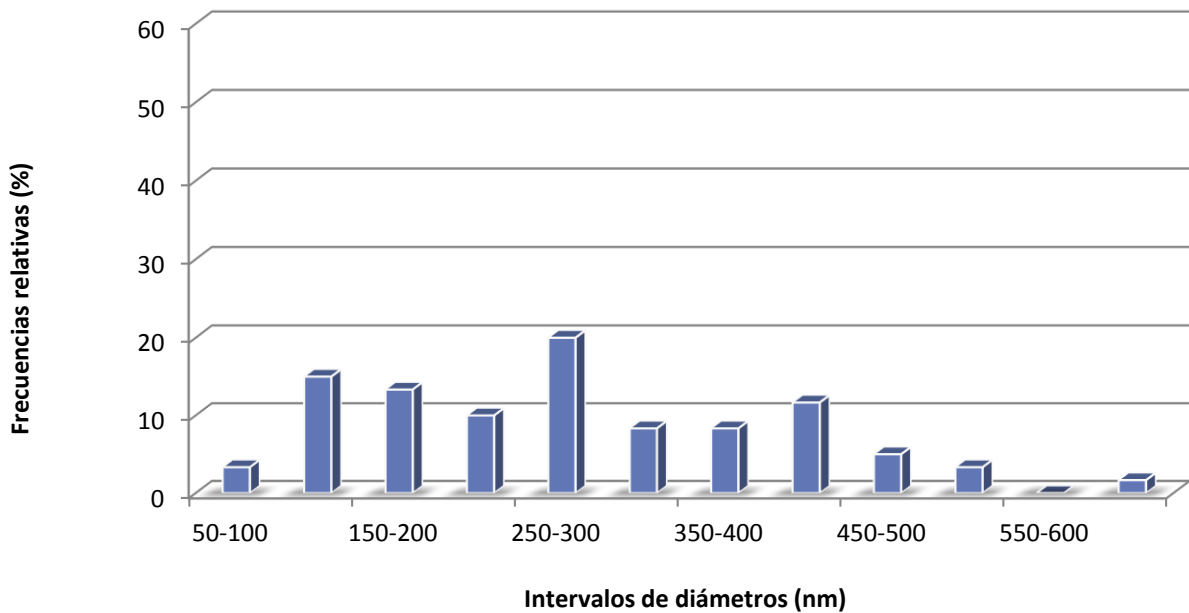
MUESTRA 8

HISTOGRAMA DE FRECUENCIAS



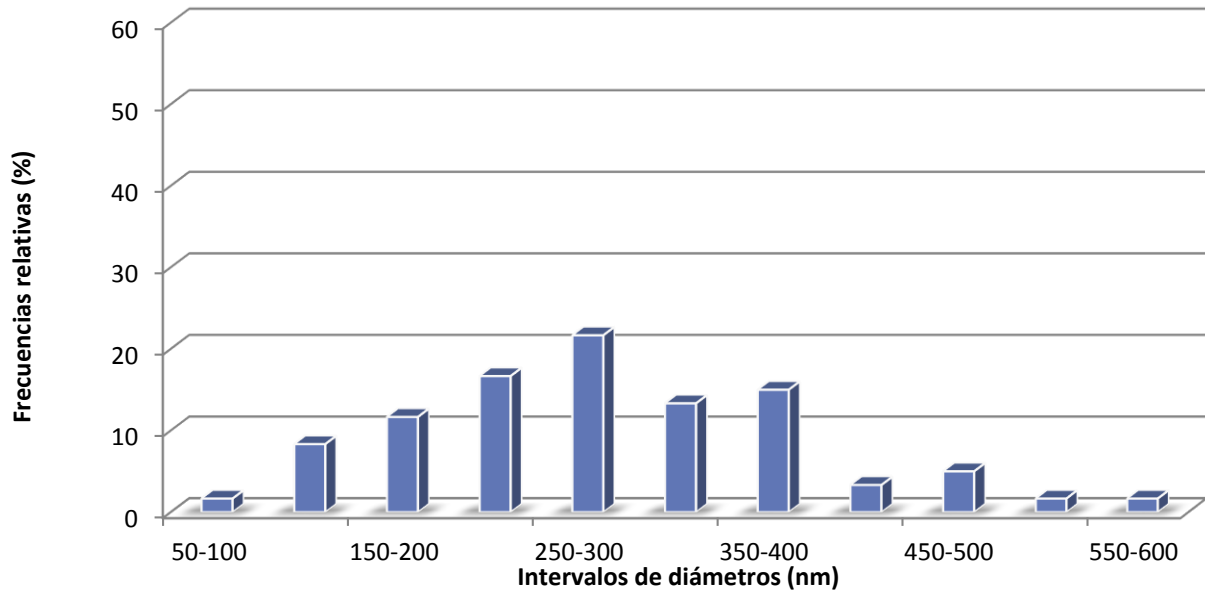
MUESTRA 9

HISTOGRAMA DE FRECUENCIAS



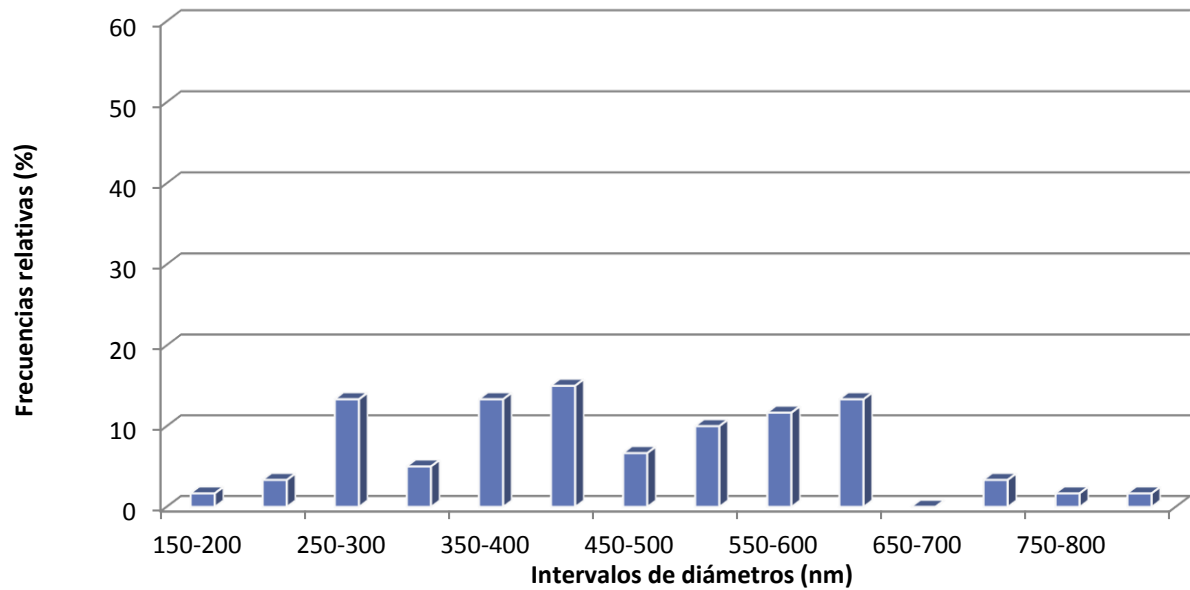
MUESTRA 10

HISTOGRAMA DE FRECUENCIAS



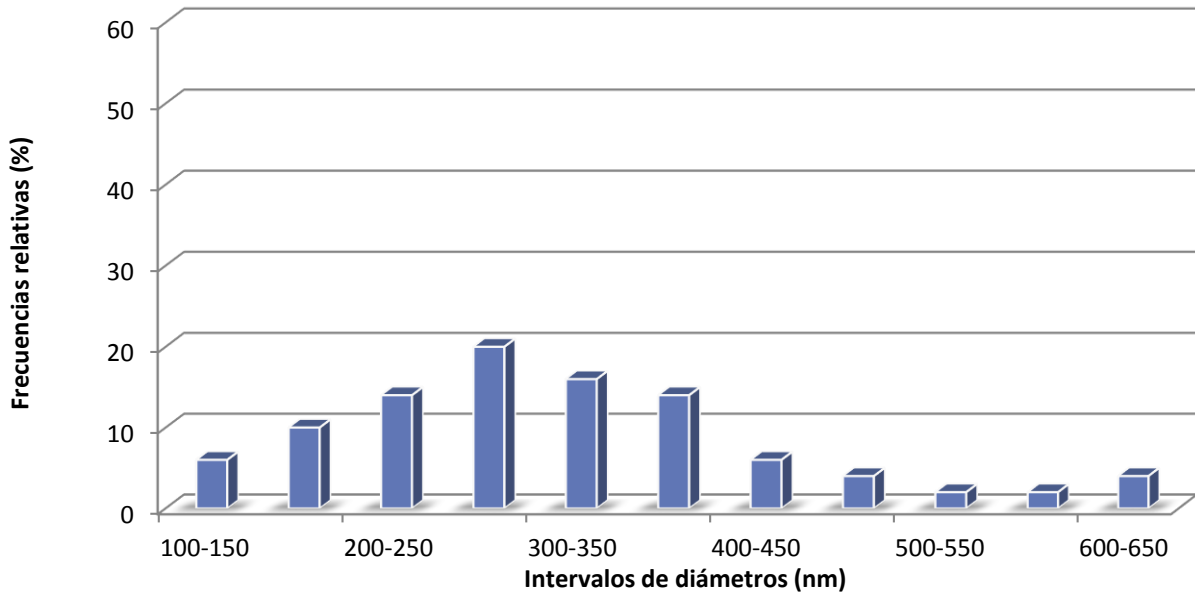
MUESTRA 11

HISTOGRAMA DE FRECUENCIAS



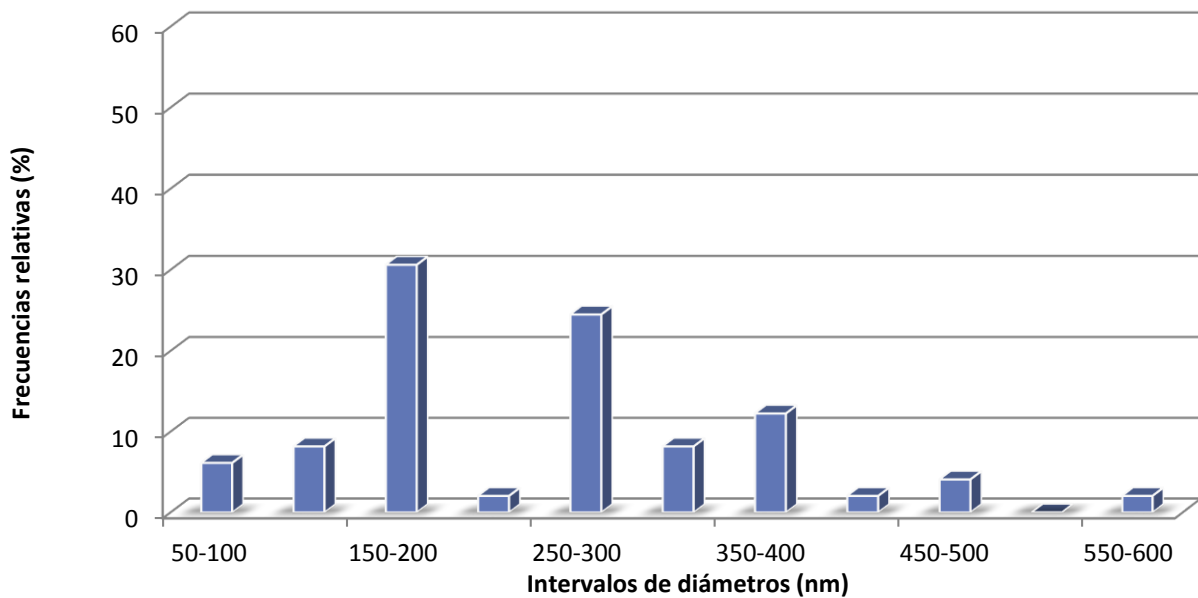
MUESTRA 12

HISTOGRAMA DE FRECUENCIAS



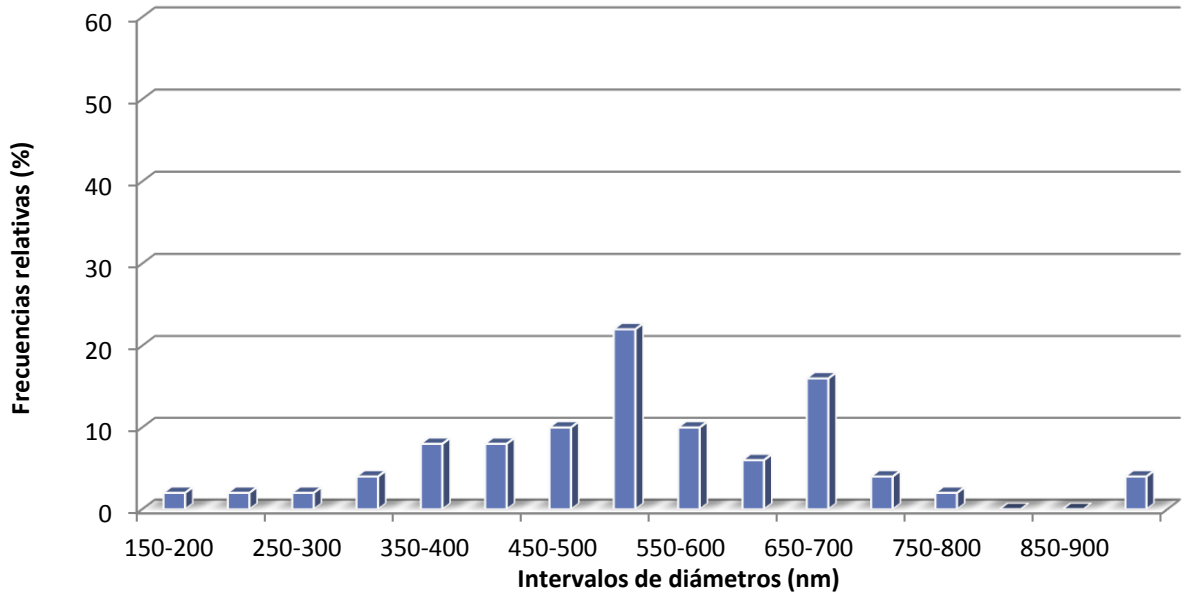
MUESTRA 13

HISTOGRAMA DE FRECUENCIAS



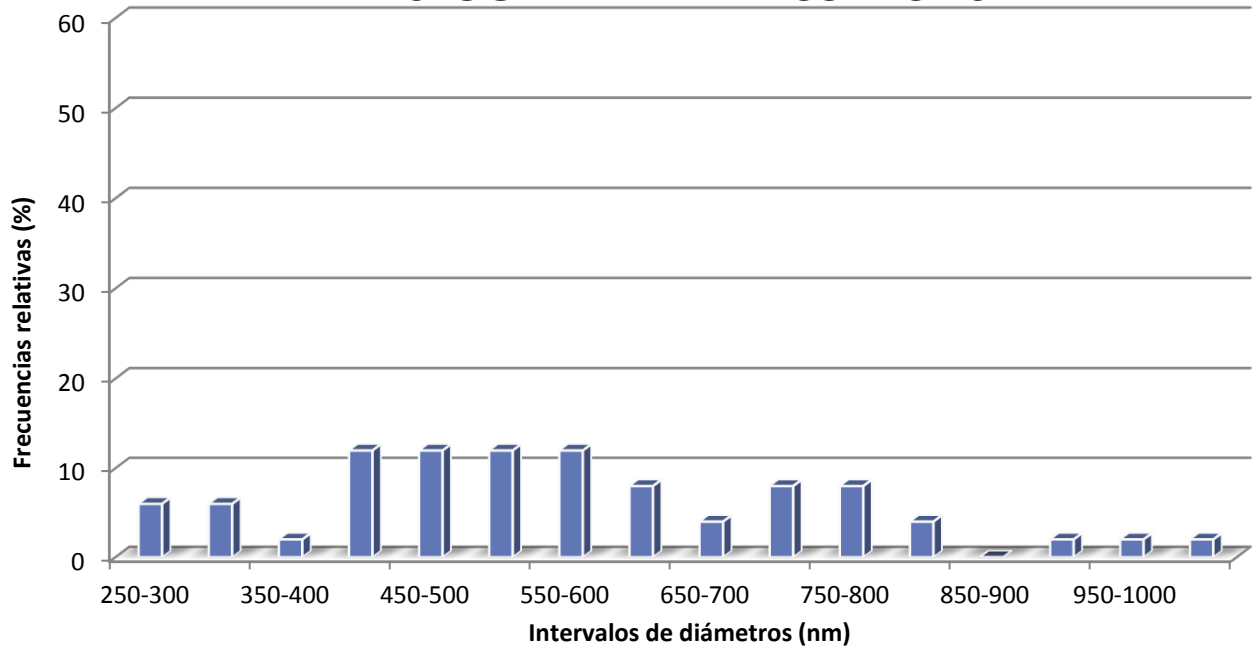
MUESTRA 15

HISTOGRAMA DE FRECUENCIAS



MUESTRA 16

HISTOGRAMA DE FRECUENCIAS



MUESTRA 17

HISTOGRAMA DE FRECUENCIAS

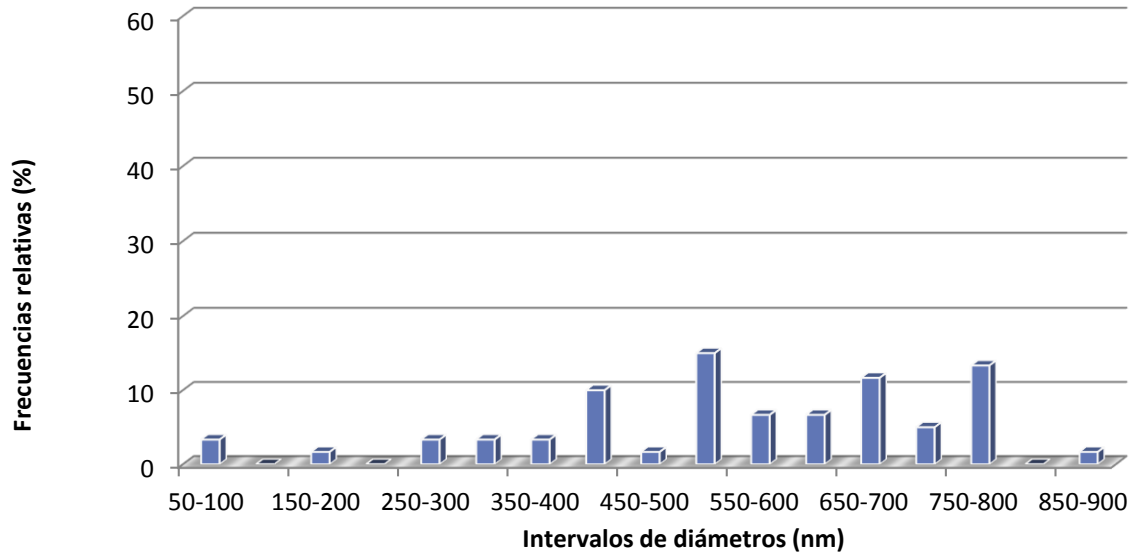


Tabla 9. Histogramas de frecuencias de cada muestra estudiada.

Tras los diversos ensayos realizados, los diámetros predominantes de cada muestra son los siguientes:

MUESTRA	DÍAMETRO PREDOMINANTE (nm)
1	100-150
2	50-100
3	100-150
4	50-100
5	100-150
6	350-400
7	50-100
8	100-150

9	250-300
10	250-300
11	400-450
12	250-300
13	150-200
14	-
15	500-550
16	400-600
17	500-550
18	-

Tabla 10. Diámetros predominantes de cada muestra estudiada.

Como podemos ver en la tabla anterior, las muestras que presentan un menor diámetro predominante son la 2, la 4 y la 7 pero, fijándonos, en las fotografías obtenidas mediante microscopía electrónica, estas muestras no son perfectas, presentan gotas de polímero y bastante irregularidad de las nanofibras, por lo que no son del todo adecuadas aunque el diámetro sea tan pequeño. Por otra parte, si nos fijamos en la **Muestra 5** podemos ver que su diámetro también es bastante reducido (100-150 nm) y además las fibras son muy uniformes y sin presencia de gotas o imperfecciones, por lo que podemos deducir que los parámetros óptimos se acercarán más a los utilizados para la realización de esta muestra.

MUESTRA	5
VOLTAJE	5,65/-5,91 kV
CAUDAL	1 ml/h
DISTANCIA AGUJA- COLECTOR	20 cm
HUMEDAD	47,62%

TEMPERATURA	23,85 °C
--------------------	----------

Tabla 11. Parámetros óptimos.

Además también medimos la masa laminar y el espesor de todas las muestras:

Masa laminar:

MUESTRA	MASA LAMINAR (g/m ²)
1	0.150
2	0.149
3	0.300
4	0.151
5	0.150
6	0.302
7	0.450
8	0.451
9	0.303
10	0.302
11	0.151
12	0.150
13	0.150
14	0.302
15	0.454
16	0.301
17	0.305
18	0.150

Tabla 12. Masa laminar de los velos de nanofibras.

Espesor:

Esta medición se ha realizado en las 18 muestras y los valores promedios obtenidos de 50 mediciones se muestran en la siguiente tabla.

MUESTRA	ESPESOR (micras)
1	12.10
2	6.70
3	4.75
4	3.50
5	3.30
6	7.50

7	4.70
8	3.60
9	3.40
10	3.30
11	4.56
12	4.58
13	6.70
14	3.35
15	6.90
16	7.00
17	4.70
18	6.00

Tabla 13. Masa laminar y espesor de cada muestra.

Como ya hemos decidido que la muestra 5 es la que mejor características muestra microscópicamente, nos fijamos en sus valores de masa laminar y espesor. Ambos parámetros deben ser relativamente pequeños para que la absorbancia en el tejido vivo sea lo más eficaz posible:

Masa laminar muestra 5: 0.150 g/m²

Espesor muestra 5: 3.30 micras

Como vemos, en comparación con los valores del resto de las muestras, los obtenidos de la muestra 5 son bastante bajos, lo que reafirma nuestra teoría de clasificar la muestra 5 como la más satisfactoria.

4.2 Efectos de la adición de Glicina

Tras deducir que los parámetros adecuados para obtener un velo correcto son los utilizados en la muestra 5 y, concluir que el porcentaje de Glicina adecuado es del 2% hemos obtenido un velo de DL-PLG 30% + Glicina 2%. La Hoja del Registro del proceso se encuentra adjunta en el Anexo.

Visión macroscópica:

A primera vista el velo se muestra uniforme, elástico y suave.

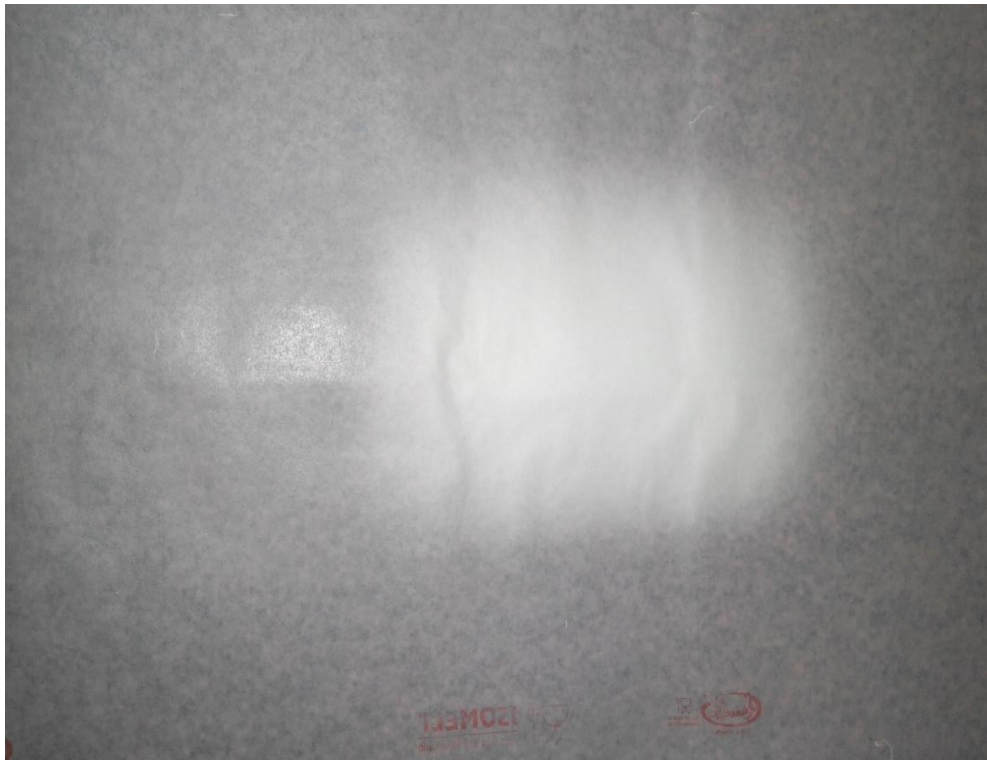


Ilustración 40. Velo definitivo aditivado con Glicina.

Visión microscópica:

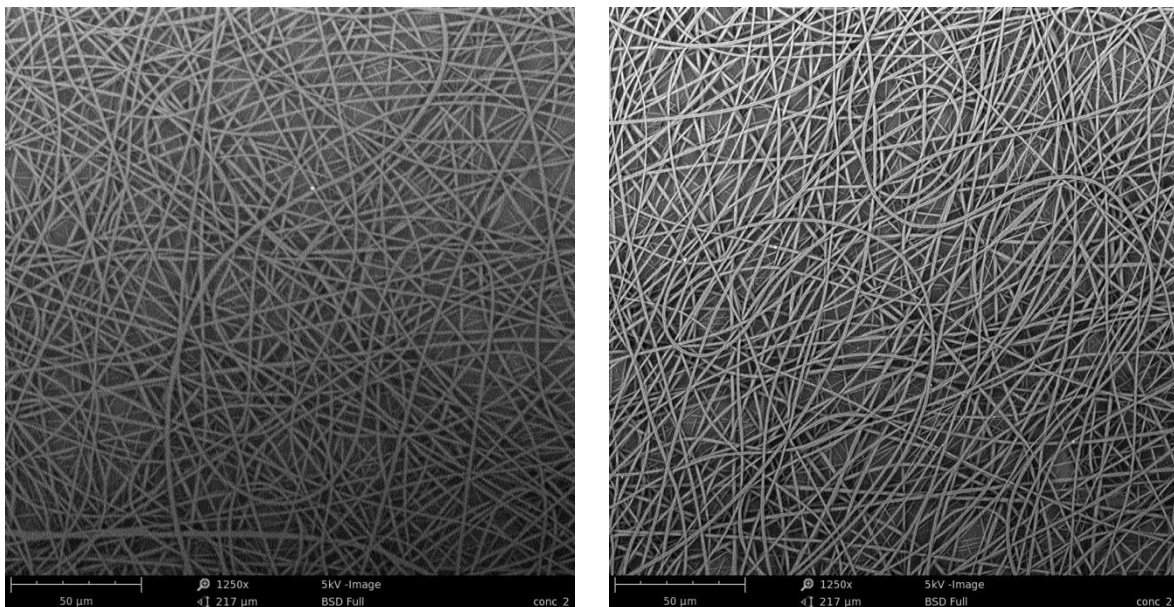


Ilustración 41. Visión microscópica del velo definitivo aditivado con Glicina.

Como podemos ver en las fotos anteriores, los velos aditivados con Glicina presentan unas fibras uniformes, sin beads y sin depósitos de Glicina.

Para caracterizar la muestra con el 2% de Glicina se mide el diámetro de las nanofibras mediante el programa Image J y el espesor y masa laminar del velo.

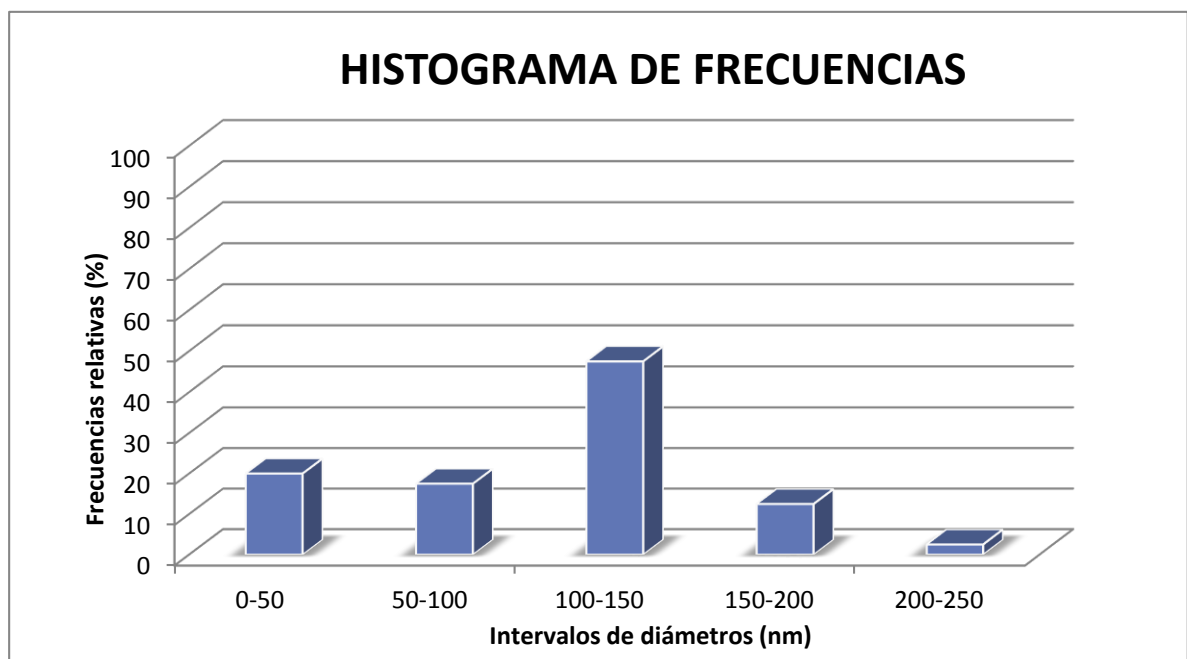


Ilustración 42. Histograma de frecuencias de la muestra con Glicina.

Tras medir el diámetro, la masa laminar y el espesor, obtenemos unos valores para esta muestra de:

DIAMETRO PREDOMINANTE (nm)	MASA LAMINAR (g/m ²)	ESPESOR (micras)
100-150	0.175	4.57

Tabla 14. Masa laminar y espesor de la muestra con Glicina.

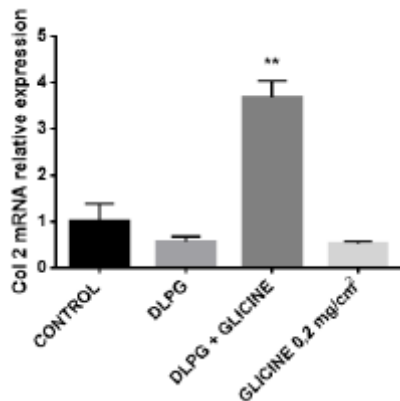
Podemos ver que el diámetro de esta muestra y de la muestra 5 es el mismo, esto se debe a que se han utilizado los mismos parámetros. En cambio, si nos fijamos en el espesor y en la masa laminar son ligeramente superiores al velo original. Esto se debe, supuestamente, a la adición de Glicina.

Complementariamente a este estudio, gracias a la colaboración de Aitex, las muestras de los velos aditivados con Glicina al 2% han sido testadas sobre tejido vivo por el instituto **Bionos Testing Efficacy**. Dicho instituto ha probado la expresión del Colágeno 2 tras la adición de los velos.

Los resultados obtenidos son los siguientes:

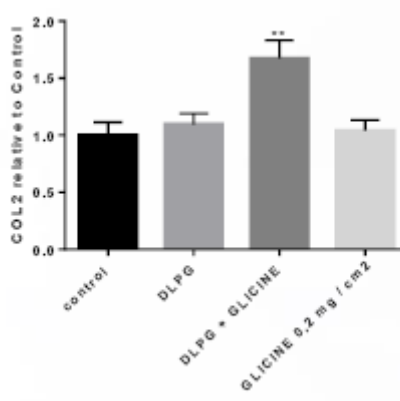
- **COLÁGENO 2:** Se encuentra principalmente en el cartílago y es sintetizado por el condroblasto. Es utilizado como marcador de condrocitos.

○ **Colágeno 2 (gen):**



El tratamiento de los condrocitos humanos con nanofibras con Glicina estimula la expresión del gen Colágeno 2 en un 268.5±34.3%

○ **Colágeno 2 (proteína):**



El tratamiento de los condrocitos humanos con nanofibras con Glicina estimula la síntesis de la proteína Colágeno 2 en un 67.3±11.1%

Debido a los resultados obtenidos podemos afirmar que la adición de velos de nanofibras aditivados con Glicina sí favorece el crecimiento de colágeno, ayudando a la reparación de cartílago dañado.

CAPÍTULO 5. ESTUDIO ECONÓMICO.

En el presente apartado de este TFG se realizará una breve estimación de costes preliminar para tener una idea aproximada acerca de la viabilidad del proceso. Dicho estudio económico abarcará los gastos iniciales referidos a los equipos y materia prima, así como los gastos referidos al suministro eléctrico e hídrico necesario.

El proceso de obtención de velos de nanofibras aditivados con Glicina tiene aplicación médica en el tratamiento de defectos condrales. Puesto que no podemos saber los ingresos futuros que tendrá esta aplicación vamos a centrarnos únicamente en la estimación de los costos de producción.

Al realizarse todo el proceso en el Instituto tecnológico textil AITEX no abordaremos costes referidos a instalaciones, gastos administrativos, financieros, inversiones, etc., puesto que el proceso es experimental y no se ha establecido o patentado como proceso industrial real.

5.1 Coste de equipos y materia prima

En este punto nos centraremos en el coste de los equipos y la materia prima empleada, así como en el material auxiliar que hayamos necesitado. En lo referido a los equipos sólo daremos un valor inicial de compra, es decir, la inversión inicial que se realiza al comprar los equipos.

EQUIPOS	MARCA	CANTIDAD	COSTE (€)
Equipo de electrohilatura Y-Flow	Nanotechnology Solutions Yflow	1	57475
Agitador automático	Selecta	1	2700
Campana de extracción de gases	Formimetal	1	15000
Equipo de ultrasonidos	Selecta	1	3500
Cámara de vacío	Selecta	1	10000
Microscopio electrónico de barrido	Phenom	1	100000
Balanza electrónica	Acculab	1	3400

Tabla 15. Coste unitario de los equipos utilizados. [68]

Coste total de los equipos = 192075 €

En lo referido a materia prima tendremos en cuenta la materia prima aproximada empleada para cada muestra y, teniendo en cuenta el número de muestras realizadas podremos obtener un coste aproximado:

MATERIA PRIMA	MARCA	CANTIDAD MEDIA NECESARIA POR MUESTRA	Nº DE MUESTRAS	CANTIDAD TOTAL	PRECIO	COSTE TOTAL (€)
Polímero DL-PLG	Durect - Lactel	7 gramos	22	154 gramos	15 €/100g	23.10 €
DMF	J.T.Baker	16 ml	22	352 ml	130.80 €/500 ml	92.08 €
Glicina	Sigma Aldrich	0.1 gramos	4	0.4 gramos	69.80 €/500 g	0.06 €

Tabla 16. Coste unitario de la materia prima empleada. [69] [70]

Coste total de la materia prima = 115.24 €

Además de lo mencionado anteriormente, tendremos en cuenta el material auxiliar que hemos utilizado para realizar los procesos. Dado que no se conoce la cantidad exacta empleada en cada muestra haremos un coste aproximado.

MATERIAL AUXILIAR	CANTIDAD APROXIMADA EMPLEADA	COSTE APROXIMADO (€)	COSTE TOTAL (€)
Agua destilada	2 litros	1.10 € el litro	2.20
Acetona	1 litro	14 € el litro	14
Rollo de papel	½ rollo	40 € el rollo	20
Frascos de vidrio de clic	5 frascos	0.70 € el frasco	3.5
Vidrio de reloj	1	1.26 € la unidad	1.26
Pipetas	2	75 € la unidad	150
Propipetas	1	13 € la unidad	13
Cronómetro	1	13 € la unidad	13

Papel colector	25 piezas de papel	47 € el pack de 100 unidades	11.75
Cucharilla de metal	1	23 € la unidad	23
Máscara protectora	1	33 € la unidad	33
Guantes	100	5.56 € 100 unidades	5.56

Tabla 17. Coste unitario aproximado del material auxiliar empleado.

Coste total del material auxiliar = 276.27 €

Coste total equipos y materia prima = 192466.51€

5.2 Coste energético e hídrico

En nuestro caso, el consumo energético es uno de los más relevantes del proceso. Por el contrario, el coste hídrico no es importante, ya que no necesitamos el agua más que para la limpieza.

Se considera que el coste energético está compuesto por la potencia consumida por los principales equipos:

- Equipo de electrohilatura Y-Flow.
- Agitador automático.
- Campana de extracción de gases.
- Equipo de ultrasonidos.
- Cámara de vacío.
- Microscopio electrónico de barrido.
- Balanza electrónica.

Puesto que el proceso se ha realizado a lo largo de algunos meses, trabajando más unos días que otros, no podemos calcular el coste diario o mensual, por lo que procedemos a calcular el coste total del proceso en lo referido a la energía consumida por los equipos. En todo caso los cálculos son aproximados por lo que no sabemos las horas exactas que ha estado en funcionamiento cada equipo.

EQUIPOS	Potencia consumida (kW)	Nº de horas en funcionamiento	kW totales consumidos	Precio del kW·h (€)[75]	COSTE TOTAL (€)
Equipo de electrohilatura Y-Flow	60*	11 horas	660	0.0576 [80]	38.016
Agitador automático	2.3	72h por disolución · 5 disoluciones = 360 horas	828	0.098	81.14
Campana de extracción de gases	1.3	15 h aproximadamente	19.5	0.098	1.9
Equipo de ultrasonidos	2.15	2.5 horas	5.38	0.098	0.53
Cámara de vacío	2	12 horas para cada velo · 11 velos (se meten de dos en dos) = 132 horas.	264	0.098	25.87
Microscopio electrónico de barrido	15	½ hora por velo · 22 velos = 11 horas	165	0.0576 [80]	9.504
Balanza electrónica	0.06	4 horas aproximadamente	0.24	0.098	0.02

Tabla 18. Coste eléctrico por equipo. [71] [72]

* Depende del voltaje al que trabajamos, este es el mayor al que puede trabajar.

Coste energético total = 156.98€

En cuanto al coste de consumo de agua no podemos detallarlo con exactitud dado que ningún equipo consume agua, excepto el equipo de ultrasonidos que trabaja con medio litro aproximadamente, podemos definir el coste total en el empleado en limpieza de material y del espacio de laboratorio. Puesto que este coste está referido en las instalaciones completas y no podemos obtenerlo no haremos referencia a él.

Por lo que el coste total del proceso, sumando equipos, material prima y gasto eléctrico es:

Coste total del proceso = 192623.49€

5.3 Viabilidad del proceso

En primer lugar debemos destacar que los costes que más impactan a priori son los gastos de inversión de los equipos, ya que la mayoría, al ser a escala semi industrial, poseen un coste bastante elevado.

En cuanto a las materias primas, suponen un pequeño porcentaje de todos los costes detallados. Puesto que utilizamos muy poca cantidad de cada material en cada muestra no podemos afirmar que estos gastos sean significativos. En el momento en el que lleguen a realizarse velos a gran escala sí que se necesitará una mayor cantidad de materia prima. La cantidad de materia prima necesaria depende del tipo de máquina que se utilice. En nuestro caso, el equipo Y-Flow utiliza poca cantidad para realizar los velos pero, por ejemplo, otro equipo llamado NanoSpider realiza velos de varios metros cuadrados utilizando litros de disolución polimérica. Si hubiésemos utilizado dicho equipo sí que tendríamos un gasto significativo en materias primas pero en nuestro caso no lo es tanto.

Dado que no podemos conocer la inversión futura que supondrá la fabricación a gran escala de velos aditivados no podemos conocer los beneficios que obtendrá la empresa que los fabrique. Para tener una ligera idea de lo que puede suponer la fabricación de dichos velos podemos basarnos en la empresa Germaine de Capuccini que está comercializando velos de nanofibras con base de colágeno para aportar hidratación, suavidad y frescor a la piel; cada pack de 5 velos tiene un precio de 39.00€.

Dado que el campo de la medicina siempre está avanzando podemos afirmar que la aplicación de velos de nanofibras aditivados con glicina sí que puede poseer cierta importancia en un futuro. Tras diversas investigaciones y tras testarlo en humanos con sus correspondientes resultados satisfactorios este tipo de aplicación biomédica podría llegar a ser uno de los métodos más empleados en la regeneración de cartílago dañado. Pero como todavía no podemos predecir el impacto futuro este estudio económico únicamente puede especificar los gastos empleados en la investigación preliminar.

CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES.

Tras la realización del presente trabajo podemos concluir que el proceso ha resultado satisfactorio. Pese a que aún queda mucha investigación por realizar, los resultados obtenidos por el momento corroboran la efectividad de la aplicación de la técnica de electrohilatura en el campo de la medicina así como la posibilidad de aditivar velos de nanofibras con principios activos para asignarles propiedades específicas.

Se ha conseguido cumplir los objetivos principales mencionados al principio del presente TFG sin atravesar grandes dificultades, lo que ha provocado que este proyecto se realizase con ganas.

Es cierto que, al ser una técnica poco estudiada, ha sido complicado tener que leer y comprender detenidamente todo acerca de la misma, teniendo que empezar de cero, pero finalmente se ha conseguido entender el proceso de manera clara, gracias además de los expertos que han prestado su ayuda durante el proceso.

El campo de la biomedicina es un campo que a duras penas se nombra a lo largo del Grado de Ingeniería Química pero que es muy interesante para poder diseñar y aplicar procesos físicos y químicos en algo tan importante e interesante como es la mejora de la salud humana.

En conclusión, desde mi punto de vista, la realización del presente trabajo ha resultado interesante y útil. No siempre se tiene la oportunidad de trabajar con un equipo especializado y estudiar un proceso novedoso y el haber podido realizar el presente estudio me ha otorgado dicha oportunidad.

CAPÍTULO 7. TRATAMIENTO DE RESIDUOS DE LABORATORIO Y MANTENIMIENTO DE EQUIPOS.

7.1 Normativa seguida para el tratamiento de residuos de laboratorio

Hay multitud de documentos donde se indica cómo gestionar los residuos de un laboratorio. Para la realización del presente trabajo se han seleccionado y utilizado los siguientes.

- Guía de buenas prácticas NTP 276: Eliminación de residuos en el laboratorio: procedimientos generales. Regida por el Ministerio de trabajo y asuntos sociales de España y el Instituto nacional de seguridad e higiene en el trabajo.
- Manual de gestión de residuos de laboratorio. Regida por el Servicio de prevención y salud laboral de Madrid y el CSIC (Centro superior de investigaciones científicas)
- Guía de buenas prácticas NTP 359: Seguridad en el laboratorio: gestión de residuos peligrosos en pequeñas cantidades. Regida por el Ministerio de trabajo y asuntos sociales de España y el Instituto nacional de seguridad e higiene en el trabajo.
- Guía de buenas prácticas NTP 480: La gestión de residuos peligrosos en los laboratorios universitarios y de investigación. Regida por el Ministerio de trabajo y asuntos sociales de España y el Instituto nacional de seguridad e higiene en el trabajo.

7.2 Características toxicológicas de los productos utilizados

- **Dimetilformamida (DMF):**

Este compuesto está clasificado con un rango de toxicidad de 4, el cual equivale a ligeramente tóxico. No está clasificado como carcinógeno humano, pero puede causar defectos congénitos. En algunos sectores de la industria se prohíbe a las mujeres trabajar con DMF por los efectos que puede tener sobre el aparato reproductor femenino, sobre todo si éstas están en estado de gestación. Para algunas reacciones de aconseja sustituirlo por Dimetilsulfóxido. De acuerdo a la IARC (Agencia internacional para la investigación del cáncer) el DMF puede ser posible agente cancerígeno, pero la EPA (Agencia de protección ambiental, EEUU) no lo considera como tal. [73]

CLASIFICACIÓN DE LA TOXICIDAD SEGÚN OMS					
Rango de Toxicidad	Denominación usual	DL50 oral rata	DL 50 cutánea conejo	CL50, inhalación 4 horas, rata (ppm)	Posible dosis letal, hombre
1	Extremadamente tóxico	< 1 mg/kg	< 5 mg/kg	10	1 gota, 1 grano
2	Altamente tóxico	1-50 mg/kg	5-50 mg/kg	10-100	1 cucharilla
3	Moderadamente tóxico	50-500 mg/kg	50-350 mg/kg	100-1.000	30 g
4	Ligeramente tóxico	0,5-5 g/kg	0,35-3 g/kg	1.000-10.000	250 g
5	Prácticamente no tóxico	5-15 g/kg	3-25 g/kg	10.000-100.000	1 litro
6	Relativamente inocuo	> 15 g/kg	> 25 g/kg	> 100.000	> 1 litro

Ilustración 43. Clasificación de la toxicidad según la Organización Mundial de la Salud

- **DL-PLG:**

Este polímero está catalogado como estable, ninguno de sus componentes están en la lista de la IARC (International Agency for Research on Cancer), NTP (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, España), OSHA (Occupational Safety and Health Administration, EEUU) o ACGIH (Association Advancing Occupational and Environmental

Health, EEUU) de compuestos cancerígenos. Puede ocasionar irritación cutánea y ocular en contacto. Se aconseja evitar el contacto con la piel, ojos y ropa. Se aconseja no respirar el polvo que desprende y utilizar guantes, bata y gafas protectoras para su manipulación. [74]

7.3 Tratamiento de los residuos generales

El medio ambiente es problema de todos, es por ello que una gestión ambiental limpia de los diferentes residuos que se generan a la hora de llevar a cabo un experimento es clave para la protección del medio ambiente, tanto terrestre, acuático y aéreo. Además esto nos ayuda a proteger los recursos naturales de los que disponemos el desarrollo sostenible de los procesos. De esta forma, toda persona que trabaje en un laboratorio, debe llevar a cabo un estudio detallado sobre la gestión y el tratamiento de los productos utilizados en el mismo.

A lo largo del experimento se ha trabajado generalmente con polímeros. El polímero utilizado (DL-PLG) no es tóxico para el medio ambiente, ya que está considerado biodegradable, pero el disolvente que lleva (DMF) sí que lo es, por lo que todos los residuos que contengan este disolvente se almacenarán en bidones debidamente etiquetados que luego gestionarán una empresa externa (Acteco SL) subcontratada por el instituto donde se está realizando la parte experimental.

Además dispondremos de dos bidones más; uno para residuos plásticos y otros para residuos de vidrio. En el de residuos plásticos dispondremos todas las jeringuillas utilizadas durante los ensayos y en el de residuos de vidrio los botes de clic utilizados para almacenar las disoluciones. Los guantes y papeles utilizados se introducirán en otro bidón de sólidos contaminados.

7.4 Mantenimiento de los equipos

Los equipos utilizados y las consideraciones a tener en cuenta para su mantenimiento son los siguientes:

- **Agitador automático:** El agitador puede funcionar durante días, pero es conveniente apagarlo cada 3 o 4 días para evitar su sobrecalentamiento.

- **Equipo de ultrasonidos:** Es conveniente cambiar el agua de su interior cada vez que se va a utilizar una disolución distinta de la anterior, ya que aunque los botes estén debidamente sellados puede haber escapes que perjudiquen a la seguridad y eficacia del equipo.
- **Campana extractora de gases:** La mayor consideración a tener en cuenta respecto a la campana es que debemos mantenerla limpia y despejada. Para limpiarla utilizaremos un trapo con acetona.
- **Microscopio electrónico de barrido (SEM):** Este equipo es especialmente delicado por lo que debemos tratarlo con sumo cuidado y mucha paciencia. No hacer las cosas demasiado rápido ni introducir muestras inadecuadas en su interior. Se puede mantener en hibernación durante unos días pero es aconsejable apagarlo completamente una vez a la semana. El mantenimiento interno del propio lo lleva a cabo una empresa externa.
- **Equipo de electrohilatura Y-FLOW:** Es la máquina que más se va a utilizar por lo que procuraremos dejarla siempre lo más limpia y despejada posible. Para limpiar la placa colectora y las paredes de la máquina utilizaremos acetona y para limpiar los tubos y la aguja utilizaremos DMF, de esta forma disolveremos los restos de polímero que puedan quedar. En el caso de que la aguja o los tubos estuvieran obstruidos por polímero seco, y fuese imposible limpiarlos con el disolvente, los introduciremos en un baño de ultrasonidos para conseguir que el polímero se desincruste de su interior.

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA Y ANEXOS.

8.1 Referencias bibliográficas

[1] VALLET-REGI M., Biomateriales: Repuestos para el cuerpo humano, Discurso de Ingreso Real Academia de Ingeniería, España (2004.)

[2] Los Biomateriales,
http://essa.uncoma.edu.ar/academica/materias/morfo/ARCHIVOPDF5/10-LOS_BIOMATERIALES.pdf Visitada el 12/05/2016

[3] The history of the Annual International Biomaterials Symposium & Annual Meeting of the Society of Biomaterials,

<http://www.clemson.edu/centers-institutes/cwhall/index.html> Visitada el 12/05/2016

[4] ARTÍCULO MÉDICO: Parche transdérmico de nicotina, Biblioteca Nacional de Medicina de los EEUU, MedlinePlus.

[5] ARTÍCULO MÉDICO: Stent PK Papyrus, empresa Biotronik.

[6] MOSQUERA TRUJILLO G.A., Clasificación de los biomateriales,
<https://es.scribd.com/doc/219288005/CLASIFICACION-BIOMATERIALES> Visitada el 05/06/2016.

[7] DR. HADUCH Z., HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ M.A.L, Biomateriales: Características y aplicaciones., Universidad autónoma de Nuevo León, Ciudad de México, 2012.

[8] VALDEZ S., SCHORR W., VALDEZ S. Y CARRILLO B. ‘Biomateriales para la rehabilitación del cuerpo humano’ Ciencia y desarrollo en internet, 2005

[9] PIÑA BARBA M.C., ‘Los biomateriales y sus aplicaciones’ Tempo 55 apuntes, 2010

[10] YIH TC, AL-FANDI M., Engineered Nanoparticles as Precise Drug Delivery Systems", J. Cell. Biochem, 97, 1184 (2006)

[11] SÁNCHEZ C. MOLINA M^oJ., Plásticos aplicados en medicina, Ed UNED.

[13] ARTÍCULO MÉDICO: Nombre comercial de la primera sutura patentada de PGA y empresa propietaria.

[14] ARTÍCULO MÉDICO: Nombre de la marca comercial de los mecanismos de fijación ósea basados en PGA.

- [15] PABLO C CARACCILO, PABLO R CORTEZ TORNELLO, FABIÁN BUFFA, FLORENCIA MONTINI BALLARIN, TERESITA R CUADRADO Y GUSTAVO A ABRAHAM Pequeñas fibras, grandes aplicaciones. Revista Ciencia Hoy, Número 121 - feb/mar 2011.
- [17] BUCHKO C. J., CHEN L. C., SHEN Y., MARTIN D. C. Processing and microstructural characterization of porous biocompatible protein polymer thin films. Polymer. Vol. 40, 1999, p. 7397-407.
- [18] LAURENCIN C. T. [et al.]. Tissue engineering: orthopedic applications. Annual Review Biomedical Applications. Vol. 1, 1999, p. 19-46.
- [19] AGRAWAL C. M., RAY R. B. Biodegradable polymeric scaffolds for musculoskeletal tissue engineering. Journal of Biomedical Materials Research. Vol. 55 (2), 2001, p. 141-150.
- [20] LIAO T., ADANUR S. Computerized failure analysis of nonwoven fabrics based on fiber failure criterion. Textile Research Journal. Vol. 69, 1999, p. 489-96.
- [21] BERGSHOEF M. M., VANCOSO G. J. Transparent nanocomposites with ultrathin, electrospun Nylon-4, 6 fiber reinforcement. Advanced Materials. Vol. 11 (16), 1999, p. 1362-5.
- [22] THOSTENSON E. T., REN Y. F., CHOU T. W. Advances in the science and technology of carbon nanotubes and their composites: a review. Composite Science & Technology. Vol 61 (13), 2001, p.1899-912.
- [23] KIM J-S., RENEKER D. H. Mechanical properties of composites using ultrafine electrospun fibers. Polymer composites. Vol. 20 (1), 1999, p. 124.31.
- [26] ZUSSMAN E., YARIN A. L., WEIHS D. A micro-aerodynamic decelerator based on permeable surfaces on nanofiber mats. Experiments in Fluids. Vol. 33, 2002, p. 315-320.
- [28] NORRIS I. D. [et al.]. Electrostatic fabrication of ultrafine conductive fibers: polyaniline/poly (ethylene oxide) blends. Synthetic Metals. Vol. 114 (2), 2000, p. 109-14.
- [29] WATERS C. M. [et al.]. US Patent. 1992, 5088807.
- [30] BOGNITZKY M. [et al.]. Polymer, metal and hybrid nano- and mesotubes by coating degradable polymer template fibers (TUFT process). Advanced Materials. Vol. 12 (9), 2000, p. 637-40.
- [31] DAWSON, R.M.C., ELLIOTT, D.C., ELLIOTT, W.H., AND JONES, K.M., Data for Biochemical Research (3rd edition), pp. 1-31 (1986)

[32] DE PAZ, PATRICIA, Estimulación de la síntesis de colágeno en cultivos celulares. Universidad de granada, Departamento de bioquímica y biología molecular. ISBN 978-84-338-4042-4. Consultado el 30 de mayo de 2015.

[33] MITCHELL, J. (1999). Measurement in Psychology: A Critical History of a Methodological Concept. Cambridge.

[34] DEGROOT, J.; VERZIIL, N.; WENTING-VANWIJK, M.J.G.; JACOBS, K.M.G.; VAN EL, B.; VAN ROERMUND, P.M.; BANK, R.A.; BIJLSMA, J.W.J.; TEKOPPELE, J.M. & LAFEBER, F.P.J.G. (2004). Accumulation of Advanced Glycation End Products as a molecular mechanism for aging as a risk factor in osteoarthritis. Arthritis and Rheumatism, 50, 1207-1215.

[36] GARCÍA-ÁLVAREZ E., Evaluación de la suplementación de glicina en pacientes con artrosis de rodilla y cadera. Una aplicación del modelo de Rasch, Research Gate, Universidad de La Laguna, 2009.

[37] AGENCIA SINC: <http://www.agenciasinc.es/Noticias/Un-suplemento-de-glicina-en-la-alimentacion-previene-enfermedades-degenerativas-como-la-artrosis-o-la-osteoporosis> Visitada el 11/03/2016.

[38] FERRÁNDIZ GARCÍA M., Encapsulación de agentes esenciales funcionales para su aplicación en agricultura, Diciembre 2015, UPV.

[39] CAPABLANCA FRANCÉS L. Evaluación de las variables que intervienen en el proceso de aplicación de microcápsulas a estructuras textiles, Marzo 2013, UPV.

[40] WANG ZG., WAN L.S., LIU Z., Enzyme immobilization on electrospun polymer nanofibers. Journal of molecular catalysis b-enzymatic. Vol. 56, 2009, p. 189-195.

[41] BHARDWAJ N, KUNDU SC, Electrospinning: A Fascinating Fiber Fabrication Technique, Biotechnol. Adv, 28, 325 (2010)

[42] COOLEY J F, Apparatus for Electrically Dispersing Fluids, U.S Patent No. 692631, (1902)

[43] MORTON W J, Method of Dispersing Fluids, U.S Patent No. 705691, (1902)

[44] FORMHALS A, "Process and Apparatus for Preparing Artificial Threads," U.S. Patent No.1975504, (1934)

[45] DOSHI J, RENEKER DH., Electrospinning Process and Applications of Electrospun Fibers, Journal of Electrostatics, 35, 151 (1995)

- [46] BELLAN LM, CRAIGHEAD HG., Applications of Controlled Electrospinning Systems, Polym. Adv. Technol, 22, 304 (2011)
- [47] Advanced Materials, 2004, 16, 1151-1170: catálisis, biocatálisis, electrodos baterías y supercondensadores, optoelectrónicos.
- [48] THERON S. A., ZUSSMAN E., YARIN A. L. Experimental investigation of the governing parameters in the electrospinning of polymer solutions. Polymer. Vol 45 (6), 2004, p. 2017-30.
- [49] USERO, R., SUÁREZ, N. Electrospinning de poliesteramidas biodegradables, Enero, 2010, vol. 1, 9-59 p.
- [50] BHARDWAJ, N., KUNDU, Subhas C. Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique, Enero, 2010, vol. 28, 325-347 p.
- [51] 2.2.D-350. Operating instructions. Nanotechnology Solutions Y-FLOW
- [52] BHARDWAJ, N., KUNDU, SUBHAS C. Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique, Enero, 2010, vol. 28, 325-347 p.
- [56] CAJERO VÁZQUEZ, P., MELÉNDEZ LIRA, M., CAMACHO LÓPEZ, M., CASTILLO RUBÍ, M., GONZÁLEZ DÍAZ, F. Armazones celulares por la técnica de electrohilado. Mayo, 2010, Vol, 1, 3-5 p.
- [59] GAMBOA, W., MANTILLA, O., CASTILLO, V., Producción de micro y nano fibras a partir de la técnica “Electrospinning” para aplicaciones farmacológicas. Agosto, 2007, vol. 053, 1-4 p.
- [64] HIDALGO A., RAMÍREZ, J., SABINO, M A., MÜLLER, A, Obtención de estructuras tipo andamio de poli(ácido) láctico para bioingeniería mediante electrospinning, Mayo, 2009, vol. 1, 1-2 p.
- [66] Rabal A, Informe de procesado y caracterización de soportes de nanofibras, AITEX Instituto tecnológico textil, diciembre 2015
- [67] SIGMA ALDRICH:
<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/g8898?lang=es®ion=ES>
Visitada el 12/02/2016
- [68] Precios aproximados proporcionados por el departamento de Acabados técnicos y confort, área de proyectos, Instituto tecnológico textil (AITEX)

[69] VENTA DE MATERIALES AVANTOR:

<https://www.avantormaterials.com/commerce/product.aspx?id=4294969616> Visitada el 11/06/2016

[70] CASA DURECT LACTEL: <http://www.direct.com/products/commercial-products/lactel/> Visitada el 05/06/2016

[71] GRUPO SELECTA: <http://www.grupo-selecta.com/es/catalogo> Visitada el 05/06/2016

[72] CONSULTA PARA LA TARIFA ELÉCTRICA: <http://www.tarifadeluz.com/> Visitada el 24/06/2016

[73] Ficha de datos de seguridad conforme al Reglamento (CE) Nº 1907/2006 (REACH) por Acofarma

[74] Material Safety data Sheet Poly(lactide), Poly(glycolide) and Poly(lactide-co-glycolide) by SurModics Pharmaceuticals

[75] Precio de Kw h a día 24 de junio de 2016.

[76] VIGNESWARI. S, MURUGAIYAH. V, ABDUL KHALIL. HP, Amirul.AA. Simultaneous dual syringe electrospinning system using benign solvent to fabricate nanofibrous P(3HB-co-4HB)/collagen peptides construct as potential leave-on wound dressing.

[77] ZANG. Q, LY. S, JLANG. S, LU. J, LIN, L. Characterization of polycaprolactone/collagen fibrous scaffolds by electrospinning and their bioactivity.

[78] CHOI DA. J, CHOI. SM, KANH. HY, MIN. HJ, LEE. R, SUBHAN. E, KIN. SW, JEONG. YH, KWAK. JY, YOON.S. Bioactive fish collagen/polycaprolactone composite nanofibrous scaffolds fabricated by electrospinning for 3D cell culture.

[79] ARAS. Q, KAZANCI. M. Production of collagen micro-and nanofibers for potential drug-carrier systems.

[80] CONSULTA PARA LA TARIFA ELÉCTRICA PARA MÁS DE 10 KW: http://www.tarifa-electrica.es/bt_uno.php Visitada el 05/07/2016

8.2 ANEXO I: Hojas de registro de los ensayos

Muestras para el estudio del diámetro:

HOJA DE ENSAYOS ELECTROSPINNING YFLOW

Cliente / Proyecto:	ESTUDIO DIÁMETRO NANOFIBRAS
Referencia [polímero+aditivo+fecha]:	DL-PLG 30% MUESTRA 1

COLECTOR				
NOMBRE	MATERIAL	TIPO	GRAMAJE (g/m ²)	OBSERVACIONES
Papel de charcutería	Celulosa	Satinado		
PLANO (X, Y)	(100,100)	VELOCIDAD (VX, VY)	(6,0.6)	

DISOLUCIÓN POLIMÉRICA INTERIOR			
POLÍMERO		DISOLVENTES	
NOMBRE	DL-PLG	DISOLVENTE 1	Dimetilformamida (DMF)
CONCENTRACIÓN (%wt)	30%		
ADITIVOS			
-			

PARÁMETROS AMBIENTALES	
HUMEDAD (%)	TEMPERATURA (°C)
35.39	26.15

CONDICIONES DE PROCESO					
CAUDAL (ml/h)	INTERIOR	1.00	DISTANCIA (cm)	20	
	EXTERIOR	-			
TIEMPO	TOTAL	30 minutos	VOLTAJE (KV)	INYECTOR	COLECTOR
				4.40	-4.48

HOJA DE ENSAYOS ELECTROSPINNING YFLOW

Cliente / Proyecto:	ESTUDIO DIÁMETRO NANOFIBRAS
Referencia [polímero+aditivo+fecha]:	DL-PLG 30% MUESTRA 2

COLECTOR				
NOMBRE	MATERIAL	TIPO	GRAMAJE (g/m ²)	OBSERVACIONES
Papel de charcutería	Celulosa	Satinado		
PLANO (X, Y)	(100,100)	VELOCIDAD (VX, VY)	(6,0.6)	

DISOLUCIÓN POLIMÉRICA INTERIOR			
POLÍMERO		DISOLVENTES	
NOMBRE	DL-PLG	DISOLVENTE 1	Dimetilformamida (DMF)
CONCENTRACIÓN (%wt)	30%		
ADITIVOS			
-			

PARÁMETROS AMBIENTALES	
HUMEDAD (%)	TEMPERATURA (°C)
33.75	26.75

CONDICIONES DE PROCESO					
CAUDAL (ml/h)	INTERIOR	1.00	DISTANCIA (cm)	20	
	EXTERIOR	-			
TIEMPO	TOTAL	30 minutos	VOLTAJE (KV)	INYECTOR	COLECTOR
				5.28	-5.31

HOJA DE ENSAYOS ELECTROSPINNING YFLOW

Cliente / Proyecto:	ESTUDIO DIÁMETRO NANOFIBRAS
Referencia [polímero+aditivo+fecha]:	DL-PLG 30% MUESTRA 3

COLECTOR				
NOMBRE	MATERIAL	TIPO	GRAMAJE (g/m ²)	OBSERVACIONES
Papel de charcutería	Celulosa	Satinado		
PLANO (X, Y)	(100,100)	VELOCIDAD (VX, VY)	(6,0.6)	

DISOLUCIÓN POLIMÉRICA INTERIOR			
POLÍMERO		DISOLVENTES	
NOMBRE	DL-PLG	DISOLVENTE 1	Dimetilformamida (DMF)
CONCENTRACIÓN (%wt)	30%		
ADITIVOS			
-			

PARÁMETROS AMBIENTALES	
HUMEDAD (%)	TEMPERATURA (°C)
32.75	27.08

CONDICIONES DE PROCESO					
CAUDAL (ml/h)	INTERIOR	2.00	DISTANCIA (cm)	20	
	EXTERIOR	-			
TIEMPO	TOTAL	30 minutos	VOLTAJE (KV)	INYECTOR	COLECTOR
				4.43	-4.41

HOJA DE ENSAYOS ELECTROSPINNING YFLOW

Cliente / Proyecto:	ESTUDIO DIÁMETRO NANOFIBRAS
Referencia [polímero+aditivo+fecha]:	DL-PLG 30% MUESTRA 4

COLECTOR				
NOMBRE	MATERIAL	TIPO	GRAMAJE (g/m ²)	OBSERVACIONES
Papel de charcutería	Celulosa	Satinado		
PLANO (X, Y)	(100,100)	VELOCIDAD (VX, VY)	(6,0.6)	

DISOLUCIÓN POLIMÉRICA INTERIOR			
POLÍMERO		DISOLVENTES	
NOMBRE	DL-PLG	DISOLVENTE 1	Dimetilformamida (DMF)
CONCENTRACIÓN (%wt)	30%		
ADITIVOS			
-			

PARÁMETROS AMBIENTALES	
HUMEDAD (%)	TEMPERATURA (°C)
31.39	27.28

CONDICIONES DE PROCESO					
CAUDAL (ml/h)	INTERIOR	1.00	DISTANCIA (cm)	20	
	EXTERIOR	-			
TIEMPO	TOTAL	30 minutos	VOLTAJE (KV)	INYECTOR	COLECTOR
				3.84	-3.90

HOJA DE ENSAYOS ELECTROSPINNING YFLOW

Cliente / Proyecto:	ESTUDIO DIÁMETRO NANOFIBRAS
Referencia [polímero+aditivo+fecha]:	DL-PLG 30% MUESTRA 5

COLECTOR				
NOMBRE	MATERIAL	TIPO	GRAMAJE (g/m ²)	OBSERVACIONES
Papel de charcutería	Celulosa	Satinado		
PLANO (X, Y)	(100,100)	VELOCIDAD (VX, VY)	(6,0.6)	

DISOLUCIÓN POLIMÉRICA INTERIOR			
POLÍMERO		DISOLVENTES	
NOMBRE	DL-PLG	DISOLVENTE 1	Dimetilformamida (DMF)
CONCENTRACIÓN (%wt)	30%		
ADITIVOS			
-			

PARÁMETROS AMBIENTALES	
HUMEDAD (%)	TEMPERATURA (°C)
47.62	23.85

CONDICIONES DE PROCESO					
CAUDAL (ml/h)	INTERIOR	1.00	DISTANCIA (cm)	20	
	EXTERIOR	-			
TIEMPO	TOTAL	30 minutos	VOLTAJE (KV)	INYECTOR	COLECTOR
				5.65	-5.91

HOJA DE ENSAYOS ELECTROSPINNING YFLOW

Cliente / Proyecto:	ESTUDIO DIÁMETRO NANOFIBRAS
Referencia [polímero+aditivo+fecha]:	DL-PLG 30% MUESTRA 6

COLECTOR				
NOMBRE	MATERIAL	TIPO	GRAMAJE (g/m ²)	OBSERVACIONES
Papel de charcutería	Celulosa	Satinado		
PLANO (X, Y)	(100,100)	VELOCIDAD (VX, VY)	(6,0.6)	

DISOLUCIÓN POLIMÉRICA INTERIOR			
POLÍMERO		DISOLVENTES	
NOMBRE	DL-PLG	DISOLVENTE 1	Dimetilformamida (DMF)
CONCENTRACIÓN (%wt)	30%		
ADITIVOS			
-			

PARÁMETROS AMBIENTALES	
HUMEDAD (%)	TEMPERATURA (°C)
47.24	24.35

CONDICIONES DE PROCESO					
CAUDAL (ml/h)	INTERIOR	2.00	DISTANCIA (cm)	20	
	EXTERIOR	-			
TIEMPO	TOTAL	30 minutos	VOLTAJE (KV)	INYECTOR	COLECTOR
				5.65	-5.96

HOJA DE ENSAYOS ELECTROSPINNING YFLOW

Cliente / Proyecto:	ESTUDIO DIÁMETRO NANOFIBRAS
Referencia [polímero+aditivo+fecha]:	DL-PLG 30% MUESTRA 7

COLECTOR				
NOMBRE	MATERIAL	TIPO	GRAMAJE (g/m ²)	OBSERVACIONES
Papel de charcutería	Celulosa	Satinado		
PLANO (X, Y)	(100,100)	VELOCIDAD (VX, VY)	(6,0.6)	

DISOLUCIÓN POLIMÉRICA INTERIOR			
POLÍMERO		DISOLVENTES	
NOMBRE	DL-PLG	DISOLVENTE 1	Dimetilformamida (DMF)
CONCENTRACIÓN (%wt)	30%		
ADITIVOS			
-			

PARÁMETROS AMBIENTALES	
HUMEDAD (%)	TEMPERATURA (°C)
46.26	24.71

CONDICIONES DE PROCESO					
CAUDAL (ml/h)	INTERIOR	3.00	DISTANCIA (cm)	20	
	EXTERIOR	-			
TIEMPO	TOTAL	30 minutos	VOLTAJE (KV)	INYECTOR	COLECTOR
				5.63	-5.91

HOJA DE ENSAYOS ELECTROSPINNING YFLOW

Cliente / Proyecto:	ESTUDIO DIÁMETRO NANOFIBRAS
Referencia [polímero+aditivo+fecha]:	DL-PLG 30% MUESTRA 8

COLECTOR				
NOMBRE	MATERIAL	TIPO	GRAMAJE (g/m ²)	OBSERVACIONES
Papel de charcutería	Celulosa	Satinado		
PLANO (X, Y)	(100,100)	VELOCIDAD (VX, VY)	(6,0.6)	

DISOLUCIÓN POLIMÉRICA INTERIOR			
POLÍMERO		DISOLVENTES	
NOMBRE	DL-PLG	DISOLVENTE 1	Dimetilformamida (DMF)
CONCENTRACIÓN (%wt)	30%		
ADITIVOS			
-			

PARÁMETROS AMBIENTALES	
HUMEDAD (%)	TEMPERATURA (°C)
46.11	25.02

CONDICIONES DE PROCESO					
CAUDAL (ml/h)	INTERIOR	3.00	DISTANCIA (cm)	20	
	EXTERIOR	-			
TIEMPO	TOTAL	30 minutos	VOLTAJE (KV)	INYECTOR	COLECTOR
				4.08	-3.96

HOJA DE ENSAYOS ELECTROSPINNING YFLOW

Cliente / Proyecto:	ESTUDIO DIÁMETRO NANOFIBRAS
Referencia [polímero+aditivo+fecha]:	DL-PLG 30% MUESTRA 9

COLECTOR				
NOMBRE	MATERIAL	TIPO	GRAMAJE (g/m ²)	OBSERVACIONES
Papel de charcutería	Celulosa	Satinado		
PLANO (X, Y)	(100,100)	VELOCIDAD (VX, VY)	(6,0.6)	

DISOLUCIÓN POLIMÉRICA INTERIOR			
POLÍMERO		DISOLVENTES	
NOMBRE	DL-PLG	DISOLVENTE 1	Dimetilformamida (DMF)
CONCENTRACIÓN (%wt)	30%		
ADITIVOS			
-			

PARÁMETROS AMBIENTALES	
HUMEDAD (%)	TEMPERATURA (°C)
46.14	25.33

CONDICIONES DE PROCESO					
CAUDAL (ml/h)	INTERIOR	2.00	DISTANCIA (cm)	20	
	EXTERIOR	-			
TIEMPO	TOTAL	30 minutos	VOLTAJE (KV)	INYECTOR	COLECTOR
				4.07	-3.95

HOJA DE ENSAYOS ELECTROSPINNING YFLOW

Cliente / Proyecto:	ESTUDIO DIÁMETRO NANOFIBRAS
Referencia [polímero+aditivo+fecha]:	DL-PLG 30% MUESTRA 10

COLECTOR				
NOMBRE	MATERIAL	TIPO	GRAMAJE (g/m ²)	OBSERVACIONES
Papel de charcutería	Celulosa	Satinado		
PLANO (X, Y)	(100,100)	VELOCIDAD (VX, VY)	(6,0.6)	

DISOLUCIÓN POLIMÉRICA INTERIOR			
POLÍMERO		DISOLVENTES	
NOMBRE	DL-PLG	DISOLVENTE 1	Dimetilformamida (DMF)
CONCENTRACIÓN (%wt)	30%		
ADITIVOS			
-			

PARÁMETROS AMBIENTALES	
HUMEDAD (%)	TEMPERATURA (°C)
46.85	25.11

CONDICIONES DE PROCESO					
CAUDAL (ml/h)	INTERIOR	2.00	DISTANCIA (cm)	20	
	EXTERIOR	-			
TIEMPO	TOTAL	30 minutos	VOLTAJE (KV)	INYECTOR	COLECTOR
				5.81	-6.02

HOJA DE ENSAYOS ELECTROSPINNING YFLOW

Cliente / Proyecto:	ESTUDIO DIÁMETRO NANOFIBRAS
Referencia [polímero+aditivo+fecha]:	DL-PLG 30% MUESTRA 11

COLECTOR				
NOMBRE	MATERIAL	TIPO	GRAMAJE (g/m ²)	OBSERVACIONES
Papel de charcutería	Celulosa	Satinado		
PLANO (X, Y)	(100,100)	VELOCIDAD (VX, VY)	(6,0.6)	

DISOLUCIÓN POLIMÉRICA INTERIOR			
POLÍMERO		DISOLVENTES	
NOMBRE	DL-PLG	DISOLVENTE 1	Dimetilformamida (DMF)
CONCENTRACIÓN (%wt)	30%		
ADITIVOS			
-			

PARÁMETROS AMBIENTALES	
HUMEDAD (%)	TEMPERATURA (°C)
46.94	25.24

CONDICIONES DE PROCESO					
CAUDAL (ml/h)	INTERIOR	1.00	DISTANCIA (cm)	20	
	EXTERIOR	-			
TIEMPO	TOTAL	30 minutos	VOLTAJE (KV)	INYECTOR	COLECTOR
				5.34	-5.32

HOJA DE ENSAYOS ELECTROSPINNING YFLOW

Cliente / Proyecto:	ESTUDIO DIÁMETRO NANOFIBRAS
Referencia [polímero+aditivo+fecha]:	DL-PLG 30% MUESTRA 12

COLECTOR				
NOMBRE	MATERIAL	TIPO	GRAMAJE (g/m ²)	OBSERVACIONES
Papel de charcutería	Celulosa	Satinado		
PLANO (X, Y)	(100,100)	VELOCIDAD (VX, VY)	(6,0.6)	

DISOLUCIÓN POLIMÉRICA INTERIOR			
POLÍMERO		DISOLVENTES	
NOMBRE	DL-PLG	DISOLVENTE 1	Dimetilformamida (DMF)
CONCENTRACIÓN (%wt)	30%		
ADITIVOS			
-			

PARÁMETROS AMBIENTALES	
HUMEDAD (%)	TEMPERATURA (°C)
46.97	25.33

CONDICIONES DE PROCESO					
CAUDAL (ml/h)	INTERIOR	1.00	DISTANCIA (cm)	20	
	EXTERIOR	-			
TIEMPO	TOTAL	30 minutos	VOLTAJE (KV)	INYECTOR	COLECTOR
				3.99	-3.95

HOJA DE ENSAYOS ELECTROSPINNING YFLOW

Cliente / Proyecto:	ESTUDIO DIÁMETRO NANOFIBRAS
Referencia [polímero+aditivo+fecha]:	DL-PLG 30% MUESTRA 13

COLECTOR				
NOMBRE	MATERIAL	TIPO	GRAMAJE (g/m ²)	OBSERVACIONES
Papel de charcutería	Celulosa	Satinado		
PLANO (X, Y)	(100,100)	VELOCIDAD (VX, VY)	(6,0.6)	

DISOLUCIÓN POLIMÉRICA INTERIOR			
POLÍMERO		DISOLVENTES	
NOMBRE	DL-PLG	DISOLVENTE 1	Dimetilformamida (DMF)
CONCENTRACIÓN (%wt)	30%		
ADITIVOS			
-			

PARÁMETROS AMBIENTALES	
HUMEDAD (%)	TEMPERATURA (°C)
45.73	25.47

CONDICIONES DE PROCESO					
CAUDAL (ml/h)	INTERIOR	1.00	DISTANCIA (cm)	23.5	
	EXTERIOR	-			
TIEMPO	TOTAL	30 minutos	VOLTAJE (KV)	INYECTOR	COLECTOR
				6.05	-6.02

HOJA DE ENSAYOS ELECTROSPINNING YFLOW

Cliente / Proyecto:	ESTUDIO DIÁMETRO NANOFIBRAS
Referencia [polímero+aditivo+fecha]:	DL-PLG 30% MUESTRA 14

COLECTOR				
NOMBRE	MATERIAL	TIPO	GRAMAJE (g/m ²)	OBSERVACIONES
Papel de charcutería	Celulosa	Satinado		
PLANO (X, Y)	(100,100)	VELOCIDAD (VX, VY)	(6,0.6)	

DISOLUCIÓN POLIMÉRICA INTERIOR			
POLÍMERO		DISOLVENTES	
NOMBRE	DL-PLG	DISOLVENTE 1	Dimetilformamida (DMF)
CONCENTRACIÓN (%wt)	30%		
ADITIVOS			
-			

PARÁMETROS AMBIENTALES	
HUMEDAD (%)	TEMPERATURA (°C)
46.50	25.48

CONDICIONES DE PROCESO					
CAUDAL (ml/h)	INTERIOR	2.00	DISTANCIA (cm)	23.5	
	EXTERIOR	-			
TIEMPO	TOTAL	30 minutos	VOLTAJE (KV)	INYECTOR	COLECTOR
				6.02	-6.03

HOJA DE ENSAYOS ELECTROSPINNING YFLOW

Cliente / Proyecto:	ESTUDIO DIÁMETRO NANOFIBRAS
Referencia [polímero+aditivo+fecha]:	DL-PLG 30% MUESTRA 15

COLECTOR				
NOMBRE	MATERIAL	TIPO	GRAMAJE (g/m ²)	OBSERVACIONES
Papel de charcutería	Celulosa	Satinado		
PLANO (X, Y)	(100,100)	VELOCIDAD (VX, VY)	(6,0.6)	

DISOLUCIÓN POLIMÉRICA INTERIOR			
POLÍMERO		DISOLVENTES	
NOMBRE	DL-PLG	DISOLVENTE 1	Dimetilformamida (DMF)
CONCENTRACIÓN (%wt)	30%		
ADITIVOS			
-			

PARÁMETROS AMBIENTALES	
HUMEDAD (%)	TEMPERATURA (°C)
46.15	25.48

CONDICIONES DE PROCESO					
CAUDAL (ml/h)	INTERIOR	3.00	DISTANCIA (cm)	23.5	
	EXTERIOR	-			
TIEMPO	TOTAL	30 minutos	VOLTAJE (KV)	INYECTOR	COLECTOR
				6.38	-6.35

HOJA DE ENSAYOS ELECTROSPINNING YFLOW

Cliente / Proyecto:	ESTUDIO DIÁMETRO NANOFIBRAS
Referencia [polímero+aditivo+fecha]:	DL-PLG 30% MUESTRA 16

COLECTOR				
NOMBRE	MATERIAL	TIPO	GRAMAJE (g/m ²)	OBSERVACIONES
Papel de charcutería	Celulosa	Satinado		
PLANO (X, Y)	(100,100)	VELOCIDAD (VX, VY)	(6,0.6)	

DISOLUCIÓN POLIMÉRICA INTERIOR			
POLÍMERO		DISOLVENTES	
NOMBRE	DL-PLG	DISOLVENTE 1	Dimetilformamida (DMF)
CONCENTRACIÓN (%wt)	30%		
ADITIVOS			
-			

PARÁMETROS AMBIENTALES	
HUMEDAD (%)	TEMPERATURA (°C)
45.18	25.70

CONDICIONES DE PROCESO					
CAUDAL (ml/h)	INTERIOR	2.00	DISTANCIA (cm)	20	
	EXTERIOR	-			
TIEMPO	TOTAL	30 minutos	VOLTAJE (KV)	INYECTOR	COLECTOR
				6.38	-6.36

HOJA DE ENSAYOS ELECTROSPINNING YFLOW

Cliente / Proyecto:	ESTUDIO DIÁMETRO NANOFIBRAS
Referencia [polímero+aditivo+fecha]:	DL-PLG 30% MUESTRA 17

COLECTOR				
NOMBRE	MATERIAL	TIPO	GRAMAJE (g/m ²)	OBSERVACIONES
Papel de charcutería	Celulosa	Satinado		
PLANO (X, Y)	(100,100)	VELOCIDAD (VX, VY)	(6,0.6)	

DISOLUCIÓN POLIMÉRICA INTERIOR			
POLÍMERO		DISOLVENTES	
NOMBRE	DL-PLG	DISOLVENTE 1	Dimetilformamida (DMF)
CONCENTRACIÓN (%wt)	30%		
ADITIVOS			
-			

PARÁMETROS AMBIENTALES	
HUMEDAD (%)	TEMPERATURA (°C)
45.47	24.77

CONDICIONES DE PROCESO					
CAUDAL (ml/h)	INTERIOR	2.00	DISTANCIA (cm)	15	
	EXTERIOR	-			
TIEMPO	TOTAL	30 minutos	VOLTAJE (KV)	INYECTOR	COLECTOR
				7.83	-7.36

HOJA DE ENSAYOS ELECTROSPINNING YFLOW

Cliente / Proyecto:	ESTUDIO DIÁMETRO NANOFIBRAS
Referencia [polímero+aditivo+fecha]:	DL-PLG 30% MUESTRA 18

COLECTOR				
NOMBRE	MATERIAL	TIPO	GRAMAJE (g/m ²)	OBSERVACIONES
Papel de charcutería	Celulosa	Satinado		
PLANO (X, Y)	(100,100)	VELOCIDAD (VX, VY)	(6,0.6)	

DISOLUCIÓN POLIMÉRICA INTERIOR			
POLÍMERO		DISOLVENTES	
NOMBRE	DL-PLG	DISOLVENTE 1	Dimetilformamida (DMF)
CONCENTRACIÓN (%wt)	30%		
ADITIVOS			
-			

PARÁMETROS AMBIENTALES	
HUMEDAD (%)	TEMPERATURA (°C)
44.33	25.63

CONDICIONES DE PROCESO					
CAUDAL (ml/h)	INTERIOR	1.00	DISTANCIA (cm)	15	
	EXTERIOR	-			
TIEMPO	TOTAL	30 minutos	VOLTAJE (KV)	INYECTOR	COLECTOR
				7.84	-7.38

Muestras para la deducción de la concentración adecuada de Glicina:

HOJA DE ENSAYOS ELECTROSPINNING ESCALA LABORATORIO

Cliente / Proyecto:	ESTUDIO DIÁMETRO NANOFIBRAS
Referencia [polímero+aditivo+fecha]:	DL-PLG 30% + Glicina 0.5%

COLECTOR				
NOMBRE	MATERIAL	TIPO	GRAMAJE (g/m ²)	OBSERVACIONES
Papel de charcutería	Celulosa	Satinado		
PLANO (X, Y)	-	VELOCIDAD (VX, VY)	-	

DISOLUCIÓN POLIMÉRICA INTERIOR			
POLÍMERO		DISOLVENTES	
NOMBRE	DL-PLG	DISOLVENTE 1	Dimetilformamida (DMF)
CONCENTRACIÓN (%wt)	30%		
ADITIVOS			
Glicina (Formato polvo)			

PARÁMETROS AMBIENTALES	
HUMEDAD (%)	TEMPERATURA (°C)
43.12	25.07

CONDICIONES DE PROCESO					
CAUDAL (ml/h)	INTERIOR	1.00	DISTANCIA (cm)	20	
	EXTERIOR	-			
TIEMPO	TOTAL	30 minutos	VOLTAJE (KV)	INYECTOR	COLECTOR
				5.65	-5.91

HOJA DE ENSAYOS ELECTROSPINNING ESCALA LABORATORIO

Cliente / Proyecto:	ESTUDIO DIÁMETRO NANOFIBRAS
Referencia [polímero+aditivo+fecha]:	DL-PLG 30% + Glicina 1%

COLECTOR				
NOMBRE	MATERIAL	TIPO	GRAMAJE (g/m ²)	OBSERVACIONES
Papel de charcutería	Celulosa	Satinado		
PLANO (X, Y)	-	VELOCIDAD (VX, VY)	-	

DISOLUCIÓN POLIMÉRICA INTERIOR			
POLÍMERO		DISOLVENTES	
NOMBRE	DL-PLG	DISOLVENTE 1	Dimetilformamida (DMF)
CONCENTRACIÓN (%wt)	30%		
ADITIVOS			
Glicina (Formato polvo)			

PARÁMETROS AMBIENTALES	
HUMEDAD (%)	TEMPERATURA (°C)
43.72	25.88

CONDICIONES DE PROCESO					
CAUDAL (ml/h)	INTERIOR	1.00	DISTANCIA (cm)	19.5	
	EXTERIOR	-			
TIEMPO	TOTAL	30 minutos	VOLTAJE (KV)	INYECTOR	COLECTOR
				5.70	-5.90

HOJA DE ENSAYOS ELECTROSPINNING ESCALA LABORATORIO

Cliente / Proyecto:	ESTUDIO DIÁMETRO NANOFIBRAS
Referencia [polímero+aditivo+fecha]:	DL-PLG 30% + Glicina 2%

COLECTOR				
NOMBRE	MATERIAL	TIPO	GRAMAJE (g/m ²)	OBSERVACIONES
Papel de charcutería	Celulosa	Satinado		
PLANO (X, Y)	-	VELOCIDAD (VX, VY)	-	

DISOLUCIÓN POLIMÉRICA INTERIOR			
POLÍMERO		DISOLVENTES	
NOMBRE	DL-PLG	DISOLVENTE 1	Dimetilformamida (DMF)
CONCENTRACIÓN (%wt)	30%		
ADITIVOS			
Glicina (Formato polvo)			

PARÁMETROS AMBIENTALES	
HUMEDAD (%)	TEMPERATURA (°C)
43.61	24.98

CONDICIONES DE PROCESO					
CAUDAL (ml/h)	INTERIOR	1.00	DISTANCIA (cm)	20.2	
	EXTERIOR	-			
TIEMPO	TOTAL	30 minutos	VOLTAJE (KV)	INYECTOR	COLECTOR
				5.70	-5.91

Muestra definitiva de DL-PLG 30% aditivado con 2% de Glicina:

HOJA DE ENSAYOS ELECTROSPINNING YFLOW

Cliente / Proyecto:	ESTUDIO DIÁMETRO NANOFIBRAS
Referencia [polímero+aditivo+fecha]:	DL-PLG 30% + Glicina 2%

COLECTOR				
NOMBRE	MATERIAL	TIPO	GRAMAJE (g/m ²)	OBSERVACIONES
Papel de charcutería	Celulosa	Satinado		
PLANO (X, Y)	(100,100)	VELOCIDAD (VX, VY)		(6,0.6)

DISOLUCIÓN POLIMÉRICA INTERIOR			
POLÍMERO		DISOLVENTES	
NOMBRE	DL-PLG	DISOLVENTE 1	Dimetilformamida (DMF)
CONCENTRACIÓN (%wt)	30%		
ADITIVOS			
Glicina (Formato polvo)			

PARÁMETROS AMBIENTALES	
HUMEDAD (%)	TEMPERATURA (°C)
43.69	25.02

CONDICIONES DE PROCESO					
CAUDAL (ml/h)	INTERIOR	1.00	DISTANCIA (cm)	20.0	
	EXTERIOR	-			
TIEMPO	TOTAL	30 minutos	VOLTAJE (KV)	INYECTOR	COLECTOR
				5.71	-5.92