



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO BIOLÓGICAS

**Funcionalización de nanofibras alcohol polivinílico/quitosano  
mediante polimerización *in situ* de polipirrol dopado con ácido  
hialurónico para la producción de nanofibras electroconductoras**

# TESIS

Para obtener el grado de Maestra en Ciencias Químicas

Presenta:

**QFB R. Lizbeth Quiroz Oregón**

Directora de tesis:

**Dra. J. Betzabe González Campos**

Codirectora de tesis:

**Dra. Alejandra Pérez Nava**

(UAEM-UNAM)

Morelia Michoacán; agosto 2023.



El presente trabajo de Tesis de Maestría fue realizado en el Laboratorio de Materiales y Polímeros del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo bajo la dirección de la Dra. Betzabe González, en codirección con la Dra. Alejandra Pérez Nava del Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable UAEM-UNAM.



Asimismo, la presente investigación ha sido financiada por el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT), a través del proyecto N° A1-S-21845 del Fondo Sectorial para la Educación, y la Coordinación de la Investigación Científica de la UMSNH. Además, el programa de maestría fue cursado gracias a la beca de posgrado N.º 801364.

Los resultados obtenidos durante el desarrollo del presente trabajo de investigación fueron presentados en:

## 2022

VI Foro del Posgrado en Ciencias Químicas  
Morelia, Michoacán; 8 al 12 de agosto de 2022



XLIII Encuentro Nacional de la AMIDIQ  
Puerto Vallarta, Jalisco; 23 al 26 de agosto de 2022



XXXV Congreso Nacional de la Sociedad Polimérica de  
México A. C.

Monterrey, Nuevo León; 17 al 21 de octubre de 2022



17º Congreso Estatal de Ciencia Tecnología e Innovación  
Morelia Michoacán; 26 al 28 de octubre de 2022

## 2023



2do Congreso Estatal Queretano de Materiales 2023  
Santiago de Querétaro, Querétaro; 24 al 27 de abril de 2023



18 Reunión Internacional de Investigación en  
Productos Naturales  
Morelia, Michoacán; 24 al 27 de mayo de 2023



XLIV Encuentro Nacional de la AMIDIQ  
Bahías de Huatulco, Oaxaca; 30 de mayo al 2 de junio de 2023



<<Chemistry is the science of matter  
and of its transformations, and life is its  
highest expression>>.

-Jean-Marie Lehn.

<<I am not an ugly duckling,  
I'm a swan>>.

-April Kepner



## **Dedicatoria**

### *Para mamá*

<<You were my strength when I was weak.  
You gave me faith 'cause you believed.  
I'm everything I am because you loved me>>.

-Celine Dion

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A la señora Teresa, mi mamá:**

Cada vez que te desvelaste por mí, cada libro que me compraste, cada café que me has preparado antes de salir de casa, cada vez que, de niña, respondías todas las preguntas que tenía acerca del mundo, han ayudado a construir mi vida académica y me han traído hasta aquí. Todo lo que soy, lo que puedo soñar y lo que puedo llegar a ser, te lo debo a ti. Al final, tú me creaste desde cero y me vuelves a construir cada vez que siento que me parto en mil pedazos. A estas alturas de mi vida, todavía te marco cuando siento que no puedo más, simplemente para escuchar a mi ser humano preferido, el amor más puro y real. Gracias mamá por apoyarme en la búsqueda de mi vocación, por ayudarme a lograr lo que parece imposible y por enseñarme, con el ejemplo, lo que es ser una persona íntegra y con valores muy bonitos. Te admiro demasiado, te amo mami, gracias por ser mi mamá.

### **A la doctora Betzabe González:**

Nunca he sido de las que creen en el destino o en que todo llega en el momento adecuado; siempre he sido más de reprocharme cuando las cosas no están sucediendo como me gustaría. Sin embargo, cada vez que pienso en el pasado y me juzgo por haber llegado “tarde” al posgrado llego a la conclusión que, de haber hecho las cosas diferentes, no estaría en su laboratorio y eso, doctora, ha sido lo mejor que ha pasado en mi trayectoria. Usted me devolvió la esperanza de alcanzar sueños que quizá veía perdidos, me ha dado la posibilidad de vivir experiencias que no había imaginado. Gracias doctora, por trabajar hombro a hombro conmigo, por escuchar mis ideas, por sus comentarios que me ayudan a ser una mejor profesionalista, e incluso un mejor ser humano. Gracias por ser una líder en toda la extensión de la palabra, por ser la mejor mentora del mundo. Es un honor ser su alumna.

### **A la doctora Alejandra:**

Mi gran codirectora de tesis, este trabajo de investigación se pudo llevar a cabo y quedo muy bonito, gracias a ti. Gracias por tus acertadas observaciones, consejos y por compartir conmigo tantos recursos que me ayudaron en la realización de esta tesis. Me emociona muchísimo ser tu primera estudiante de maestría, un gusto.

## A mis amigos:

*Time, mystical time, cutting me open then healing me fine...*

Nestor Hurtado, Betty R. Ponce, José Luis Ramírez; mis hermanos que conocí a los 18 años. Gracias por regalarme los mejores 5 años de mi vida en la facultad. Los 4 dejamos nuestro *hometown* y llegamos llenos de incertidumbre a Morelia, pero entre nosotros nos dimos la mano e hicieron que el camino fuera más fácil. Estuvieron ahí en momentos muy difíciles para no rendirme. Después llegaron Noé Ruiz, Francisco Urbano, Eduardo Caballero (mi Yuyita) y ahora bebé Beatrice, al grupo. Ustedes son mi segunda familia, yo no volví a ser la misma después de conocerlos, los tiempos de *bullying* y de sentirme que no era parte de un grupo de personas terminaron cuando los conocí, ustedes me sanaron en ese sentido. Gracias, mamá Cande, por impulsarme, por empatizar con mis ideales, por apoyar mis objetivos y por abrirme las puertas de su casa. Ya son 12 años desde que empezó esta hermandad.

Dicen que los amigos de la facultad (y posgrado también, en este caso) te salvan un poco la carrera y otro poco la vida.



A Sinuhé Galván, Gabriela Servín, Yoaly Delgado, Armando León; ustedes hacen que la vida de posgrado sea más bonita. Gracias por abrirme las puertas después de pasar por una etapa muy difícil. Francisco Equihua, Ximena Ponche y Rodrigo Ponche; gracias por tu amistad.

A Marlene Pureco El Mosri... hermana, gracias por siempre estar ahí, por tu empatía, cariño y consejos. ¡Me honras demasiado con tu amistad! ¡Te quiero y te admiro mucho, Mar!

*All I can say is I was enchanted to meet you.*

Gracias amigos por enseñarme lo que es la verdadera amistad, por darme un espacio seguro, por apoyar mis sueños, por sus consejos, el hospedaje, las risas, los viajes, los pleitos (los hermanos se pelean), las lágrimas que nos limpiamos entre nosotros y por siempre estar ahí.

*Long live all the magic we made.*

### **A todos mis amigos del instituto:**

A la maestra Melissa Tapia, mi tutora, amiga y la primera mentora que tuve cuando llegué al instituto. Gracias Meli por las pláticas que hemos tenido, por tus consejos y por haberme dado la mano en mis primeros pasos en la investigación científica.

Mis amigos del laboratorio: Fanny, Néstor, Rocío, Jesús, Mario, Juan Antonio, Juanito, Abel, Rolando y la maestra Lore. Adán (mi compañero de generación), Ponti, David, Cesia, Gaby, Ode, Esaú, Montse, Toñito, Jacob, Laura, Anahí, Maritsa, Brayán, Daniel e Irving. Todos ustedes hacen que el ambiente de trabajo sea el mejor, muchas gracias por todo el apoyo y por ayudarme a construir este camino.

Al grupo de trabajo del Laboratorio de Materiales y Biopolímeros, dirigido por la Dra. Betzabe González.

### **A mi familia:**

Son un montón, ¡disculpen si nos los menciono a todos! A mi abuelito Pedro Quiroz, abuelita Reyna Oregón †, tía Betty, tío Elpy, tía Lichita †, madrina Mary, madrina Caty, tía Lolys, tíos y primos; con ustedes crecí y son parte de quién soy.

Perla, Elisa, Krystal, Chuchin, Katia, Rigo, Meli, Karime, Ana, Ofe... gracias por sus muestras de apoyo durante la maestría.

### **A mi comité tutural:**

Dr. Pedro Navarro, Dra. Gabriela Rodríguez y Dr. Manuel Arroyo; muchas gracias por haber aceptado ser parte de este proyecto, por sus atinados comentarios que enriquecieron este trabajo. ¡Mi admiración para cada uno de ustedes!

**A todas las personas mencionadas anteriormente y a los doctores que me impartieron clases en la maestría, ¡muchas gracias!**

## RESUMEN

**Palabras clave:** Biomateriales, andamios celulares, polímeros, nanofibras, electrohilado, polímeros conductores.

Los andamios celulares desarrollados a partir de polímeros representan la nueva era de los biomateriales, los cuales pueden obtenerse a partir de biopolímeros derivados de origen natural, como el quitosano, en mezcla con biopolímeros sintéticos como el alcohol polivinílico; estas mezclas a su vez presentan versatilidad de procesamiento y propiedades fisicoquímicas mejoradas. Su obtención a través de la formación de colecciones de nanofibras proporciona una estrategia novedosa para el desarrollo de biomateriales con importantes aplicaciones en ingeniería de tejidos; debido a su microestructura porosa y biomimética con el entorno extracelular. La técnica de electrohilado es una de las metodologías de mayor uso en la actualidad para la obtención de este tipo de nanoarquitecturas, debido a que es sencilla, versátil y de bajo costo. Durante el electrohilado de soluciones poliméricas para la obtención de nanofibras, influyen diversos parámetros, relacionados al proceso y a la disolución, así como parámetros ambientales, los cuales deben ser estandarizados para la obtención de colecciones de nanofibras de alta calidad microestructural.

Por su parte, la bioelectricidad es otra de las propiedades altamente deseables en un andamio celular biomimético debido a que puede proporcionar una guía de crecimiento y diferenciación celular en la regeneración de tejidos, por lo cual, el incorporar biopolímeros electroconductores puede dar paso a la nueva generación de andamios celulares. El método de polimerización electroquímica representa una novedosa estrategia de síntesis de polímeros conductores debido a la sencillez del método y a que el polímero puede depositarse *in situ* sobre diferentes superficies.

En el presente trabajo de investigación, se describe el proceso minucioso de estandarización del proceso de electrohilado para la obtención de una plantilla polimérica basada en la mezcla alcohol polivinílico/quitosano, y la electropolimerización *in situ* de polipirrol, un polímero conductor biocompatible, dopado con ácido hialurónico, sobre la colección de nanofibras, para la obtención de un andamio celular con potencial aplicación en ingeniería de tejidos especializados.

## ABSTRACT

**Keywords:** Biomaterials, cellular scaffolds, polymers, nanofibers, electrospinning, conducting polymers.

Polymer-based cellular scaffolds are the new age of biomaterials, which can be obtained from naturally derived biopolymers, such as chitosan, or in blends with synthetic biopolymers like polyvinyl alcohol. These polymer blends show processing versatility and improved physicochemical properties. Cellular scaffolds in the form of nanofibers provide a novel strategy for developing biomaterials with important tissue engineering applications because of their porous structure and biomimetic extracellular environment microstructure. Nowadays, electrospinning technique is one of the most employed approaches for the fabrication of this kind of nanoarchitectures, because it is simple, versatile, and low cost. Different parameters influence the electrospinning process for obtaining nanofibers from polymeric solutions. These factors are related to the process itself, the polymeric solution, and environmental conditions. To fabricate high quality microstructural nanofiber collections, these parameters must be standardized.

On the other hand, bioelectricity is another highly desired property in a biomimetic cell scaffold, because it can guide the growth and cellular differentiation in tissue regeneration. That is why the incorporation of electroconductive biopolymers can lead the way to the new generation of cellular scaffolds. Electrochemical polymerization is a novel strategy for conductive polymers synthesis because it is a simple method, and the polymer could be deposited *in situ* over different surfaces.

This work describes the painstaking standardization of the electrospinning process for obtaining a polymeric template based on polyvinyl alcohol/chitosan blends. Moreover, the *in situ* electropolymerization of polypyrrole doped with hyaluronic acid onto the surface of nanofibers template is also described for the fabrication of a cellular scaffold with potential application in tissue engineering.

# ÍNDICE GENERAL

<b>RESUMEN</b> .....	I
<b>ABSTRACT</b> .....	II
<b>ÍNDICE GENERAL</b> .....	III
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	V
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	VI
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	11
<b>2. MARCO TEÓRICO</b> .....	15
2.1 Biomateriales.....	15
2.3 Electrohilado.....	16
2.3.1 Quitosano (CTS).....	18
2.3.2 Alcohol polivinílico (PVA).....	19
2.3.3 Mezclas PVA/CTS.....	20
2.2 Biomateriales electroconductores.....	20
2.4 Nanoestructuras poliméricas conductoras basadas en el uso de plantillas electrohiladas .....	21
2.4.1 Polipirrol (PPy).....	22
2.4.2 Electropolimerización de PPy.....	23
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b> .....	26
<b>4. HIPÓTESIS</b> .....	28
<b>5. OBJETIVOS</b> .....	30
5.2 Objetivo general.....	30
5.2.1 Objetivos específicos.....	30
<b>6. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	32
6.1 Estrategia experimental.....	32
6.2 Estandarización de los parámetros de electrohilado.....	32
6.3 Materiales.....	33
6.4 Electrohilado.....	33
6.4.1 Preparación de las disoluciones poliméricas.....	33
6.4.2 Preparación de las mezclas poliméricas.....	34
6.5 Obtención de NF-PVA/CTS.....	35
6.6 Entrecruzamiento de NF-PVA/CTS.....	36
6.7 Electrohilado de NF-PVA/CTS sobre vidrio-ITO.....	36
6.8 Electropolimerización/deposición de PPy:HA sobre NF-PVA/CTS.....	36
6.9 Caracterización de los materiales obtenidos.....	39
6.9.1 Ensayos de viscosidad.....	39
6.9.2 Análisis morfológico y estructural.....	39
6.9.3 Análisis térmico.....	39
6.9.4 Pruebas de solubilidad.....	40

6.9.5 Caracterización electroquímica del proceso de electropolimerización de PPy:HA ....	40
<b>7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	42
7.1 Estandarización de los parámetros de electrohilado.....	42
7.2 Efecto de la variación de voltaje .....	42
7.3 Efecto de la variación en la velocidad de flujo.....	43
7.4 Efecto de la variación de distancia de trabajo (desde la punta de la aguja al colector)..	45
7.5 Efecto de la variación en la proporción de PVA/CTS .....	47
7.6 Efecto de la concentración y de la proporción de disolventes AcOH/H <sub>2</sub> O de la disolución de CTS .....	48
7.7 Análisis de viscosidad de las disoluciones .....	51
7.8 Electrohilado de la mezcla PVA/CTS estandarizada.....	55
7.9 Influencia de los factores ambientales en la obtención de nanofibras de PVA/CTS.....	56
7.10 Electrohilado de nanofibras PVA/CTS sobre diferentes colectores .....	58
7.11 Electrohilado de nanofibras PVA/CTS sobre vidrio-ITO .....	59
7.12 Pruebas de solubilidad.....	60
7.13 Entrecruzamiento de nanofibras PVA/CTS .....	61
7.14 Caracterización por FT-IR de NF-PVA/CTS.....	63
7.15 Caracterización por DSC y TGA de NF-PVA/CTS.....	64
7.16 Polimerización de PPy dopado con AH sobre NF-PVA/CTS.....	66
7.16.1 Estandarización de la concentración de Py.....	70
7.16.2 Adición de HA a la disolución de trabajo.....	71
7.16.3 Estandarización del número de ciclos del proceso de polimerización electroquímica 72	
7.17 Obtención del [NF-PVA/CTS]/PPY:HA.....	74
7.18 Caracterización electroquímica de los materiales obtenidos.....	76
7.19 Conclusiones.....	77
<b>8. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	79

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Factores generales que influyen en el proceso de electrohilado.....	17
<b>Tabla 2.</b> Descripción de las mezclas poliméricas PVA/CTS 1.5 p/v.....	34
<b>Tabla 3.</b> Parámetros para la obtención de NF-PVA/CTS.....	35
<b>Tabla 4.</b> Parámetros para la electropolimerización/deposición de PPy:HA sobre NF-PVA/CTS.....	37
<b>Tabla 5.</b> Parámetros del proceso de electrohilado de la mezcla PVA/CTS 1.5:1 v/v variando el voltaje.....	41
<b>Tabla 6.</b> Parámetros del proceso de electrohilado de la mezcla PVA/CTS 1.5:1 v/v variando la velocidad de flujo.....	43
<b>Tabla 7.</b> Parámetros del proceso de electrohilado de la mezcla PVA/CTS 1.5:1 v/v variando la distancia de trabajo.....	44
<b>Tabla 8.</b> Parámetros del proceso de electrohilado de la mezcla PVA/CTS, variando la proporción de las disoluciones poliméricas en la mezcla.....	46
<b>Tabla 9.</b> Descripción de las muestras electrohiladas en el proceso de estandarización de la disolución polimérica.....	48
<b>Tabla 10.</b> Parámetros de electrohilado de la mezcla PVA/CTS estandarizada.....	54
<b>Tabla 11.</b> Resultados cualitativos de los ensayos de solubilidad de NF-PVA/CTS.....	60

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> a) Esquema general del proceso de electrohilado. b) Formación del cono de Taylor.....	16
<b>Figura 2.</b> Estructura química del CTS.....	17
<b>Figura 3.</b> Estructura química del PVA.....	18
<b>Figura 4.</b> Estructura química del pirrol.....	21
<b>Figura 5.</b> Esquema general de las etapas para la obtención de polipirrol a partir de pirrol....	23
<b>Figura 6.</b> Estrategia experimental para la obtención de [NF-PVA/CTS]/PPy:HA.....	31
<b>Figura 7a.</b> Estructura química del hialuronato de sodio.....	36
<b>Figura 7b.</b> Esquema general de la reacción de polimerización con un agente dopante.....	36
<b>Figura 8.</b> Esquema de la conformación de la celda empleada para el proceso de electrosíntesis de [NF-PVA/CTS]/PPy:HA.....	37
<b>Figura 9.</b> Micrografías FE-SEM a 10 000x, de muestras obtenidas a un voltaje de a) 10 kV, b) 12 kV y c) 14 kV.....	42
<b>Figura 10.</b> Micrografías FE-SEM a 5 000x, de muestras obtenidas a velocidades de flujo de a) 0.1 ml/h, b) 0.3 ml/h y c) 0.5 ml/h.....	44
<b>Figura 11.</b> Micrografías FE-SEM a 10 000x, de muestras obtenidas a distancias de trabajo de a) 15 cm, b) 17.5 cm y c) 20 cm.....	45
<b>Figura 12.</b> Micrografías FE-SEM a 5,000x, de muestras obtenidas con mezclas poliméricas de PVA/CTS en proporciones de a) 1:1 v/v, b) 1.5:1 v/v y c) 2:1 v/v.....	47
<b>Figura 13.</b> Micrografía FE-SEM a 10,000x, de disoluciones electrohiladas con una disolución AcOH/H <sub>2</sub> O 70:30 v/v.....	49
<b>Figura 14.</b> a) Micrografía FE-SEM a 10,000x, de disoluciones electrohiladas con una disolución de AcOH/H <sub>2</sub> O 90:10 v/v y una velocidad de flujo de 0.5 ml/h. b) Micrografía FE-SEM, con magnificación de 10,000x, de disoluciones electrohiladas con una disolución AcOH/H <sub>2</sub> O 90:10 v/v con velocidad de flujo de 0.3 ml/h.....	49
<b>Figura 15.</b> a) Micrografía FE-SEM a 20,000x, de las nanofibras electrohiladas con una disolución de CTS 4% p/v de medio peso molecular en un sistema AcOH/H <sub>2</sub> O 80:20 v/v. b) Histograma de distribución de diámetro de nanofibras.....	50

<b>Figura 16.</b> Viscosidad vs velocidad de corte de las mezclas poliméricas electrohiladas.....	51
<b>Figura 17.</b> Ajuste de la dependencia de la viscosidad vs velocidad de corte a modelos teóricos.....	53
<b>Figura 18.</b> Fibra obtenida con las condiciones de electrohilado estandarizadas descritas en la <i>Tabla 10</i> .....	55
<b>Figura 19.</b> a) Micrografía FE-SEM a 10,000x, de las colecciones de nanofibras PVA/CTS 1.5:1 v/v. b) Micrografía FE-SEM, con magnificación de 20 000x, de las colecciones de nanofibras PVA/CTS 1.5:1 v/v desprendidas del colector.....	55
<b>Figura 20.</b> Micrografías FE-SEM a 10,000x, de ensayos realizados empleando un colector de vidrio-ITO en un rango de humedad relativa de 51-99% y en un tiempo de trabajo de a) 3 h, b) 8 h, c) 16 h y d) 24 h.....	56
<b>Figura 21.</b> Micrografías FE-SEM (a 20,000x) e histograma de distribución de diámetro de nanofibras obtenidas con las condiciones estandarizadas en colectores de a) aluminio y b) cobre.....	57
<b>Figura 22.</b> Micrografías FE-SEM a 10,000x, de ensayos realizados empleando un colector de vidrio-ITO en un rango de humedad relativa de 20-40% y en un tiempo de trabajo de a) 8 h, b) 12 h, c) 16 h y d) 24 h.....	58
<b>Figura 23.</b> a) Micrografía FE-SEM a 20,000x, de la colección de nanofibras PVA/CTS antes de haber estado en contacto con ACN. b) Micrografía FE-SEM a 20,000x, de colección de la nanofibras PVA/CTS después de haber estado en contacto con ACN.....	59
<b>Figura 24.</b> Micrografías FE-SEM, a 10000x de magnificación, de a) NF-PVA/CTS previo al tratamiento de entrecruzamiento con NaOH y ácido cítrico, b) muestra obtenida después del tratamiento de entrecruzamiento químico y c) muestra obtenida del entrecruzamiento térmico.....	61
<b>Figura 25.</b> Espectros FT-IR de NF-PVA/CTS y los polímeros que integran la estructura, el PVA y el CTS.....	63
<b>Figura 26.</b> Termogramas DSC para nanofibras de PVA, CTS y PVA/CTS.....	64
<b>Figura 27.</b> Termogramas TGA de nanofibras de PVA, CTS y PVA/CTS.....	65

<b>Figura 28.</b> Celda empleada para la electropolimerización/deposición de PPy dopado.....	66
<b>Figura 29.</b> Voltamperograma de la electropolimerización de PPy con ClO <sub>4</sub> como dopante.....	66
<b>Figura 30.</b> Electrodo de trabajo de vidrio-ITO desnudo e ITO recubierto de PPy:ClO <sub>4</sub> .....	67
<b>Figura 31.</b> Voltamperograma de la electropolimerización/deposición de PPy con ClO <sub>4</sub> como dopante y nanofibras de PVA/CTS sobre colector de vidrio-ITO.....	67
<b>Figura 32.</b> Celda electroquímica durante el proceso de electropolimerización/deposición de PPy:HA sobre NF-PVA/CTS.....	68
<b>Figura 33.</b> Voltamperograma de la electropolimerización/deposición de PPy:HA sobre nanofibras de PVA/CTS en colector de vidrio-ITO.....	69
<b>Figura 34.</b> Voltamperogramas de: a) Ensayos realizados para la determinación de la concentración del monómero Py con disoluciones de TBAP 0.1 M en ACN y Py 5 mM, Py 8 mM y Py 10 mM. b) Comparativo entre las tres concentraciones.....	70
<b>Figura 35.</b> Micrografía obtenida (a 10,000 x) de películas de PPy.....	71
<b>Figura 36.</b> a) Micrografía FE-SEM (a 5,000x) de NF-PVA/CTS. b) Voltamperograma cíclico de polimerización de Py dopado con HA durante 60 ciclos y micrografía FE-SEM (a 5,000x) del material obtenido después de 50 ciclos de polimerización de PPy:HA. c) Voltamperograma cíclico de polimerización de Py dopado con HA durante 60 ciclos y micrografía FE-SEM (a 5,000x) del material obtenido después de 15 ciclos de polimerización de PPy:HA.....	72
<b>Figura 37.</b> Histograma de distribución de diámetro de NF-[PVA/CTS]/PPy:HA obtenido durante 15 ciclos de polimerización de PPy:HA.....	72
<b>Figura 38.</b> a) Micrografía FE-SEM, a 20,000x, de NF-PVA/CTS obtenida sobre vidrio-ITO e histograma de distribución de diámetro. b) Micrografía FE-SEM a 20,000x, de NF-PVA/CTS obtenida sobre vidrio-ITO después del proceso de entrecruzamiento e histograma de distribución de diámetro. c) Micrografía FE-SEM, a 20, 000x, de [NF-PVA/CTS]PPy:HA e histograma de distribución de diámetro.....	74

**Figura 39.** Voltamperogramas cíclicos del proceso de electropolimerización de a) PPy:ClO<sub>4</sub>,  
b) PPy:ClO<sub>4</sub> sobre NF-PVA/CTS y c) PPy:HA sobre NF-PVA/CTS.....75

---

## **1. INTRODUCCIÓN**

---

# 1. INTRODUCCIÓN

Las lesiones tisulares son alteraciones comunes que pueden deteriorar severamente la fisiología y limitar la calidad de vida de un paciente.<sup>1</sup> La regeneración de tejidos después de una lesión, es un proceso complejo en el cual, dependiendo de la capacidad regenerativa y de la calidad de la respuesta inflamatoria, el resultado suele ser imperfecto.<sup>2</sup> La ingeniería de tejidos enfoca su estudio al desarrollo de andamios biomiméticos, biocompatibles y biodegradables, con el objetivo de mantener, estimular o reparar órganos y tejidos dañados.<sup>3-5</sup>

Los andamios celulares (AC) son estructuras basadas en biomateriales (BMs) que proporcionan un marco estructural que se asemeja al componente proteico fibroso de la matriz extracelular (MEC), el cual debe proveer al tejido de un microentorno que facilite el crecimiento, adhesión, diferenciación y proliferación celular.<sup>3,6</sup> Recientemente, las nanofibras poliméricas han sido de gran interés debido a que poseen una microestructura porosa, una alta área de superficie específica y sitios activos, lo cual incrementa el funcionamiento de los materiales obtenidos.<sup>7</sup> En la actualidad, entre los métodos más comunes para la obtención de BMs con arquitectura nanofibrosa destaca la técnica de electrohilado, debido que los AC nanofibrosos electrohilados presentan una alta porosidad y tamaño de poro ajustable.<sup>8</sup>

El proceso de electrohilado se lleva a cabo aplicando un campo eléctrico entre un contraelectrodo y una aguja metálica conectada a una jeringa con una disolución polimérica. Lo anterior lleva a la formación de un *jet* líquido, el cual eventualmente se desplaza hacia el colector metálico conectado al contraelectrodo. En el transcurso, el disolvente es evaporado y el polímero es colectado en forma de fibras de tamaño nanométrico. Los BMs poliméricos utilizados para la obtención de nanofibras pueden ser de origen natural, sintético o una mezcla de ambos.<sup>8</sup>

Entre los polímeros naturales empleados para el desarrollo de andamios celulares basados en nanofibras, se encuentra el quitosano (CTS), derivado de la quitina, el segundo biopolímero más abundante en la naturaleza después de la celulosa, el cual destaca por sus propiedades biocompatibles, biodegradables, no tóxicas, antimicrobianas y hemostáticas.

embargo, este BM presenta baja electrohilabilidad, por lo cual diversos reportes señalan la importancia de utilizarlo en mezcla con otros biopolímeros de origen sintético como el alcohol polivinílico (PVA) para la obtención de colecciones de nanofibras, debido a su alta electrohilabilidad y excelentes propiedades mecánicas.<sup>6,8</sup>

Por su parte, las señales eléctricas son parte inherente de varias funciones del organismo humano, incluyendo la comunicación neural, el desarrollo embrionario, los latidos del corazón y la reparación de tejidos después de una lesión.<sup>9</sup> Para la ingeniería de tejidos, otra de las cualidades deseables al desarrollar un AC es la incorporación de BMs con propiedades electroconductoras que incrementen la respuesta biológica a estímulos externos con la finalidad de proveer un entorno similar al de los tejidos *in vivo*.<sup>9,10</sup>

Los polímeros conductores (CPs) son empleados en el desarrollo de BMs conductores debido a su buena conductividad, facilidad de síntesis y biocompatibilidad.<sup>11</sup> El polipirrol (PPy) es un polímero conjugado capaz de llevar a cabo interacciones eléctricas eficientes con sistemas biológicos.<sup>10,11</sup> Además de su excelente biocompatibilidad, es químicamente estable bajo condiciones fisiológicas. Inherentemente, el PPy en su estado de oxidación requiere de un dopante aniónico para neutralizar la carga positiva en su estructura, el cual además tendrá influencia en las propiedades mecánicas, eléctricas y biológicas del BM resultante.<sup>11</sup> En este sentido, se ha reportado la viabilidad de sintetizar películas de PPy dopado con ácido hialurónico (HA) mediante el método electroquímico.<sup>11</sup> El HA es un componente mayoritario de los tejidos conectivos y de la ECM, el cual en su forma de hialuronato funciona como biodopante en la síntesis de CPs.<sup>11,12</sup>

La electropolimerización (EP) es un método *in situ* de un solo paso que integra la síntesis del CP con la deposición simultánea de una película sobre una superficie específica.<sup>13</sup> Asimismo, esta técnica evita reacciones de polimerización inmanejables y purificaciones.<sup>14</sup> Sin embargo, esta metodología produce la deposición de películas poliméricas lisas, no tridimensionales, y comparado con las películas lisas, las nanoestructuras de polímeros conductores muestran un desempeño mejorado debido a las propiedades únicas que surgen de su tamaño a nanoescala: alta conductividad eléctrica, gran área de superficie, longitudes

de camino corto para el transporte de iones y alta actividad electroquímica.<sup>15</sup> De tal forma que, se ha reportado el uso de plantillas basadas en nanoestructuras poliméricas para la electrodeposición de polímeros conductores para la generación de nanoestructuras poliméricas conductoras.<sup>15</sup>

Por lo expuesto anteriormente, el presente trabajo de tesis de Maestría propone la obtención de BMs compuestos mediante la funcionalización de colecciones de nanofibras PVA/CTS (NF-PVA/CTS) con microestructuras de PPy:HA mediante deposición electroquímica. El interés en la obtención de este tipo de estructuras reside en la necesidad de desarrollar BMs conductores donde los estímulos eléctricos, eventualmente, pueden favorecer la regeneración tisular. Para tal fin, se ha proyectado la obtención de NF-PVA/CTS mediante la técnica de electrohilado para posteriormente efectuar la polimerización/deposición de PPy:HA, mediante el método electroquímico, sobre electrodos recubiertos con NF-PVA/CTS realizando la funcionalización *in situ* de la matriz electrohilada PVA/CTS durante esta etapa. El uso de las colecciones de NF-PVA/CTS como plantilla durante el proceso de electropolimerización/deposición promoverá la formación de microarquitecturas con morfología controlada en el material final, produciendo así un material compuesto y microestructurado con potencial aplicación como AC en la regeneración de tejido especializado.

---

## **2. MARCO TEÓRICO**

---

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Biomateriales

Un biomaterial (BM) es una sustancia, o mezcla de sustancias, de origen natural o sintético que pueden ser usadas con la finalidad de mejorar o reemplazar de manera parcial o total algún tejido, órgano o función del organismo.<sup>16</sup> En la actualidad, los BMs son ampliamente utilizados en el área biomédica.<sup>17</sup>

Hace aproximadamente 70 años, la palabra *biomaterial* no era empleada, por ende, no había un área formal dedicada su desarrollo o aplicación, y sobre todo no se tenía un entendimiento de la biocompatibilidad. Sin embargo, los BMs se han utilizado a lo largo de la historia, de manera consciente o no, aunque en algunas ocasiones con resultados pobres o mixtos.<sup>17</sup>

Los primeros BMs fueron usados por las civilizaciones más antiguas;<sup>16</sup> posiblemente el primer registro de una técnica de injerto de piel, que se tiene documentado en uno de los primeros textos quirúrgicos, data al año 600 a. C. donde se reportaba la reconstrucción de nariz a partir de un colgajo de la piel de frente.<sup>17</sup> Los restos humanos encontrados cerca de Kennewick, Washington, correspondientes al ahora conocido como <<Hombre Kennewick>>, de aproximadamente 9000 años de antigüedad reportan que quizá esta persona anduvo con una punta de lanza incrustada en la cadera.<sup>16,17</sup> Este hecho, y el uso de partículas de carbono empleadas para tatuajes desde hace alrededor de 5000 años, son ejemplos de materiales externos tolerados por el organismo.<sup>17,18</sup>

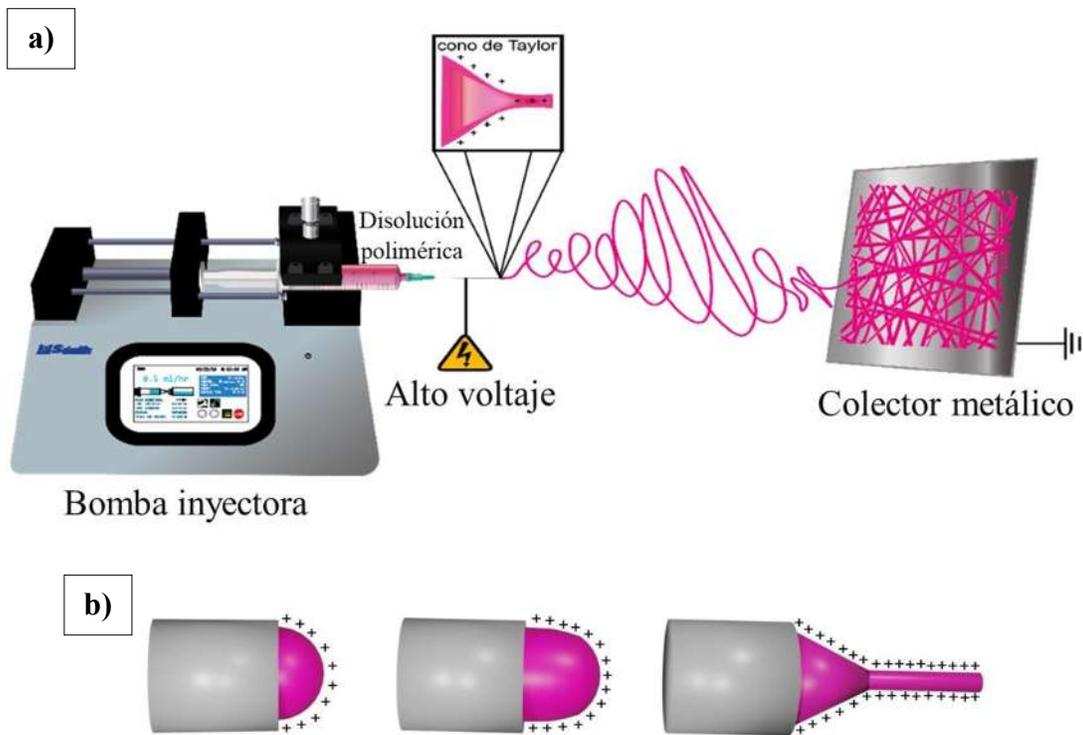
La era de los metales como BMs es quizá de las más antiguas; en la antigua Grecia, el médico Galeno de Pergamo (siglo II a. C.) describía el uso de alambres de oro como ligaduras. En 1829 se empezaron a estudiar especímenes de oro, plata, plomo y platino en perros, demostrando este último metal ser particularmente bien tolerado. Con el tiempo, se empezaron a usar estructuras metálicas como implantes biomédicos.<sup>17,18</sup>

La era de los polímeros no es tan antigua como la de los metales, posiblemente el primer reporte de implantación de un BM polimérico fue en 1941 con la primera sutura de nailon. En 1508, Leonardo DaVinci desarrolló el concepto de lentes de contacto, aunque no fue hasta la época entre 1936 y 1948 cuando estos fueron desarrollados a partir de polimetilmetacrilato.<sup>17</sup> Desde entonces, el mundo de los materiales poliméricos se encuentra en constante desarrollo y actualmente se pueden producir una gran variedad de BMs con diferentes formas y características, entre los cuales destacan las nanofibras e hidrogeles biomiméticos con importantes aplicaciones en el área biomédica; como la ingeniería de tejidos.<sup>18</sup>

### 2.3 Electrohilado

El electrohilado, o *electrospinning* por su denominación en inglés, es uno de los métodos para el desarrollo de BMs basados en polímeros con importantes aplicaciones como AC para la ingeniería de tejidos. Esta técnica permite la fabricación de nanofibras con una gran área de superficie a partir de disoluciones poliméricas.<sup>21</sup>

En general, un equipo de electrohilado consiste en tres partes principales: una bomba inyectora (a la cual se le carga una jeringa con la disolución polimérica), una fuente de alto voltaje y un colector metálico (*Figura 1a*).<sup>22</sup> El proceso se lleva a cabo induciendo una disolución polimérica, o mezcla, mediante la bomba de inyección a una velocidad de flujo constante en una jeringa conectada a una aguja metálica, a la cual se le aplica un alto voltaje formando una gota esférica en la punta de aguja. Después, la gota es elongada y adquiere una forma cónica, conocida como cono de Taylor (*Figura 1b*), para emitir un *jet* líquido hacia el colector metálico, durante esta etapa el disolvente se evapora llevando a la formación de nanofibras poliméricas en el colector.<sup>22,23</sup> A la distancia entre la punta de la aguja y el colector metálico se le denomina <<distancia de trabajo>>.



**Figura 1.** a) Esquema general del proceso de electrohilado. b) Formación del cono de Taylor.

Varios parámetros desempeñan un rol muy importante para que el proceso de electrohilado se lleve a cabo de manera exitosa, los cuales pueden estar relacionados al proceso, a la disolución o al ambiente (*Tabla 1*). En la literatura, se describe de manera general la influencia de estos parámetros en la morfología de las nanofibras obtenidas.<sup>23</sup> Asimismo, se requiere cierto voltaje para poder obtener nanofibras, pero un alto voltaje genera fibras con diámetros menores. Por su parte, una baja velocidad de flujo provoca un decremento en el diámetro de las nanofibras, pero elevarla de más ocasiona la formación de nanoestructuras esféricas; también se requiere que la distancia de trabajo permita la formación de nanoarquitecturas y que estas posean una buena calidad microestructural. Por otro lado, la viscosidad es un parámetro relacionado a la concentración de la disolución polimérica, la cual al ser muy elevada puede afectar la velocidad de flujo y llevar a la formación de esferas. En el caso de que la cámara de electrohilado no se encuentre aislada, las condiciones ambientales influyen de manera importante; a temperatura y humedad alta, el disolvente puede ser removido con mayor facilidad, a la vez que la viscosidad de la disolución disminuye.<sup>23,24</sup>

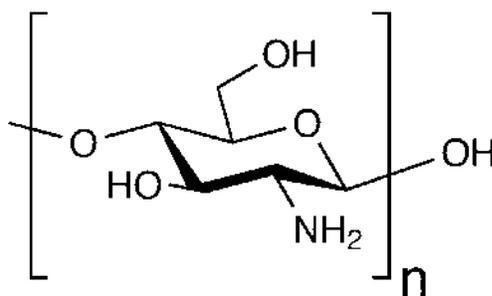
Una idónea estandarización en los parámetros de estos factores llevará, invariablemente, a la obtención de nanofibras de alta calidad, libres de defectos y, sobre todo, con una nanoarquitectura enfocada a la aplicación deseada.

**Tabla 1.** Factores generales que influyen en el proceso de electrohilado.

Parámetros del proceso	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Voltaje</li> <li>• Velocidad de flujo</li> <li>• Distancia de trabajo</li> <li>• Colector</li> </ul>
Disolución de trabajo	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Concentración</li> <li>• Viscosidad</li> <li>• Estructura química</li> <li>• Volatilidad del disolvente</li> </ul>
Parámetros ambientales	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Temperatura</li> <li>• Humedad</li> </ul>

### 2.3.1 Quitosano (CTS)

El CTS es un polímero semisintético que puede ser empleado como biomaterial debido a su carácter biocompatible, biodegradable y sus propiedades antimicrobianas; además no provoca toxicidad.<sup>25,26</sup> La quitina, el precursor del quitosano, es uno de los biopolímeros más comunes en la naturaleza y se encuentra en el exoesqueleto de los crustáceos.<sup>27</sup> La *Figura 2* muestra la estructura química del CTS.



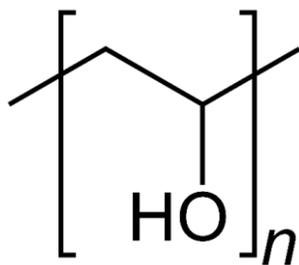
**Figura 2.** Estructura química del CTS

El proceso de electrohilado de CTS puro resulta complicado debido a la limitada solubilidad que presenta y la alta viscosidad de sus disoluciones. Se ha reportado que el electrohilado de quitosano puro requiere que el compuesto se disuelva en mezclas de disolventes altamente corrosivos como el ácido trifluoroacético (TFA) y el 1,2-dicloroetano (DCA), estos disolventes implican un alto riesgo de exposición, con la desventaja de que las colecciones de nanofibras generadas son altamente solubles en medio acuoso.<sup>28</sup> En este sentido, en nuestro grupo de trabajo recientemente se ha desarrollado una metodología exitosa para la producción de nanofibras insolubles de CTS puro basada en una mezcla de disolventes mucho más adecuada, no obstante, las propiedades mecánicas aún representan una desventaja de las colecciones de nanofibras generadas.<sup>29</sup>

### 2.3.2 Alcohol polivinílico (PVA)

El alcohol polivinílico (*PVA* por sus siglas en inglés) es un polímero semicristalino hidrofílico, termoestable, biocompatible y biodegradable, es estable en disolventes orgánicos y altamente electrohilable en medio acuoso.<sup>30,31,32</sup>

Las cualidades mecánicas y fisicoquímicas del PVA se deben a los grupos hidroxilo presentes en su estructura (*Figura 3*), los cuales incrementan la formación de enlaces de hidrógeno, conocidos también como puentes de hidrógeno.<sup>31,32</sup>



**Figura 3.** Estructura química del PVA.

Su carácter biocompatible, lo hace adecuado para aplicaciones farmacéuticas y en el desarrollo de andamios celulares avanzados.<sup>33</sup> Es un polímero altamente electrohilable comúnmente empleado para el electrohilado de polímeros con baja electrohilabilidad, al mismo tiempo que mejora sus propiedades mecánicas.<sup>34</sup>

### **2.3.3 Mezclas PVA/CTS**

Las mezclas de polímeros se emplean para obtener nuevos materiales poliméricos con una mejora en las propiedades. En diversas ocasiones, el nuevo material polimérico expone características que el polímero de forma individual no tendría.<sup>35</sup>

Uno de los inconvenientes de CTS es que debido a sus escasas propiedades mecánicas y baja estabilidad térmica sus potenciales aplicaciones se pueden ver afectadas.<sup>36</sup> Por su parte, el PVA expone buenas propiedades mecánicas y resistencia química.<sup>30,34</sup> Los compósitos obtenidos de la mezcla de PVA/CTS han demostrado buena resistencia mecánica y pueden conducir a nuevos materiales con aplicaciones biomédicas específicas.<sup>37</sup>

En términos de andamios celulares, la combinación PVA/CTS ha exhibido buenos resultados para la regeneración de tejidos y en cicatrización de heridas. Además, estas mezclas también han sido empleadas como plantilla para la elaboración de materiales que pueden fungir como sistema de liberación de fármacos.<sup>38</sup>

## **2.2 Biomateriales electroconductores**

En el organismo humano, la bioelectricidad es parte esencial de las funciones fisiológicas de varios órganos y tejidos, tales como el corazón, cerebro, sistema nervioso periférico y músculo esquelético. Asimismo, esta electricidad endógena desarrolla un rol importante en la regeneración de órganos y tejidos, incluyendo extremidades, fracturas óseas, córnea y heridas en la piel.<sup>19,20</sup>

Para la ingeniería de tejidos, el diseño y desarrollo de BMs electroconductores ha generado un enorme avance en la obtención de AC con propiedades adecuadas para mimetizar el microambiente fisiológico tisular.<sup>19,20</sup> Estos BMs tienen potencial no solo como andamios para la adhesión celular y el soporte estructural, sino también como moduladores para regular el comportamiento y la función de células y tejidos, especialmente aquellos que responden a los estímulos eléctricos.<sup>19</sup>

## 2.4 Nanoestructuras poliméricas conductoras basadas en el uso de plantillas electrohiladas

Las microarquitecturas generadas mediante electrohilado son una plantilla ideal para la deposición de polímeros conductores biocompatibles para la producción de andamios celulares y su aplicación en tejidos especializados. Las estructuras nanofibrosas son capaces de promover la adhesión y guiar la extensión de las neuronas para la regeneración del tejido nervioso, al mismo tiempo que también se ha demostrado que la estimulación eléctrica de las neuronas en ausencia de características topográficas guía la extensión axonal.<sup>39</sup>

Se ha reportado la obtención de nanofibras electrohiladas de poliácido láctico-co-ácido glicólico (*PLGA*, por sus siglas en inglés), recubiertas con PPy mediante el crecimiento del PPy por síntesis química. Las mallas de nanofibras respaldaron el crecimiento de células de feocromocitoma 12 de rata y neuronas del hipocampo en comparación con el control de maya de PLGA sin recubrir, lo que sugiere que las mallas recubiertas pueden ser adecuadas como andamios para el crecimiento de tejido neuronal.<sup>39</sup>

Respecto al uso de plantillas basadas en colecciones de nanofibras PVA/CTS, Alhosseini y colaboradores<sup>40</sup> reportaron el recubrimiento de la plantilla de nanofibras PVA/CTS mediante la polimerización de polipirrol como una interfase electroactiva. La funcionalización en la interfaz para impulsar las interacciones celulares se llevó a cabo por glicina y gelatina. Los andamios electrohilados fueron polimerizados químicamente en la superficie por monómeros de pirrol para formar una interfaz electroactiva para aplicaciones de tejidos neuronales empleando una sal sódica de ácido 4-toluensulfónico como dopante, confirmando una proliferación acelerada de células nerviosas y la no toxicidad de los andamios.<sup>40</sup>

Como puede observarse, existen varios reportes sobre el uso de plantillas fabricadas a partir de diferentes mezclas de polímeros para la incorporación de polímeros conductores en su superficie. Sin embargo, no se ha reportado al momento el uso de la plantilla de

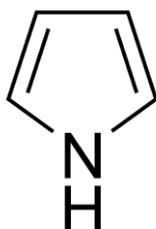
nanofibras PVA/CTS para la electrodeposición de PPy dopado con HA para su potencial aplicación en ingeniería de tejidos.

### 2.4.1 Polipirrol (PPy)

Los materiales poliméricos tradicionales poseen buenas propiedades de aislamiento y son los materiales más empleados en el mundo en la actualidad. Sin embargo, el descubrimiento de una serie de polímeros con propiedades similares, con dobles enlaces conjugados, como la polianilina, el politiofeno y el polipirrol (PPy), motivó en gran medida al desarrollo de los polímeros conductores.<sup>41,42</sup>

El PPy ha llamado la atención para su uso en la ingeniería de tejidos, especialmente para regeneración de tejidos electroactivos, debido a que posee buena conductividad, biocompatibilidad y, además, no presenta citotoxicidad.<sup>43</sup> Asimismo, destaca por su estabilidad bajo condiciones fisiológicas y ambientales, por ser fácil de sintetizar y poseer una conductividad mayor que la de otros polímeros conductores.<sup>42,44</sup> El PPy es sintetizado a partir de la polimerización oxidativa del pirrol.<sup>42</sup>

La estructura química de este polímero consta de unidades repetidas de su correspondiente monómero, el pirrol, el cual es un anillo aromático de cinco miembros donde uno de ellos es nitrógeno (*Figura 4*).<sup>44</sup>



**Figura 4.** Estructura química del pirrol.

EL PPy convencional con una fase amorfa es poco soluble y dúctil, lo que resulta en insolubilidad e infusión en la mayoría de los solventes orgánicos, dificultando su procesamiento para la obtención de formas específicas. Más importante aún, el PPy en bulto, carece de buenas propiedades eléctricas, ópticas y biológicas debido a su morfología amorfa,

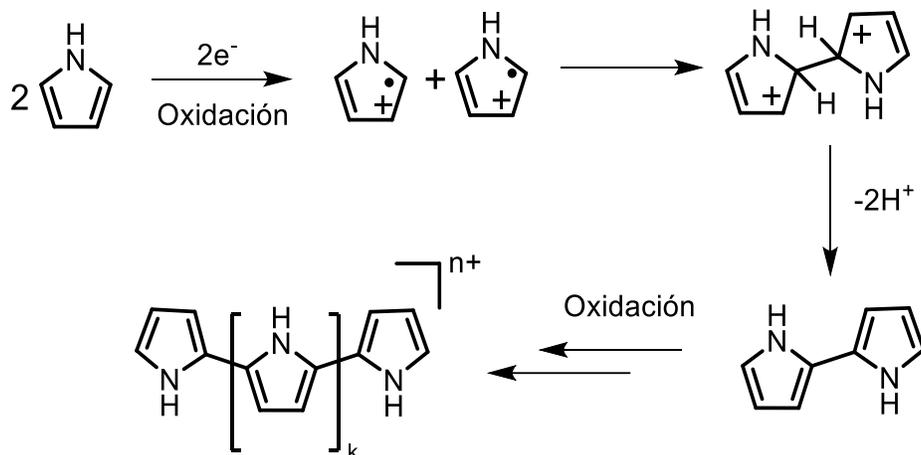
por lo que la estructura y el tamaño deben ajustarse para lograr un rendimiento óptimo.<sup>41</sup> Por lo que, beneficiándose de la nanotopografía bien definida y mayor área de superficie, el nano-PPy tiene actividad electroquímica peculiar, mejores propiedades ópticas y una excelente biocompatibilidad en comparación con el PPy a escala macro.<sup>41</sup>

Asimismo, este polímero conductor a menudo es combinado con biomateriales para polimerización *in situ*.<sup>43</sup>

## 2.4.2 Electropolimerización de PPy

En comparación con la síntesis química, la electropolimerización es un proceso rápido que permite la obtención del material dopado, no requiere de purificación y, además, permite la obtención de compósitos microestructurados. En esta técnica, los reactantes son disueltos en una disolución electrolítica; después los productos reducidos u oxidados suelen depositarse en la superficie colectora (electrodo de trabajo).<sup>45</sup>

Durante la etapa de síntesis electroquímica es necesaria la adición de contraiones que compensen la carga positiva del polímero conductor generado.<sup>46</sup> En el campo de los polímeros conductores, un dopante es una sustancia que cambia las propiedades electrónicas del polímero, lo que resulta en un incremento de su conductividad.<sup>47</sup> Por lo anterior, la naturaleza química de los dopantes empleados en la electropolimerización de PPy son de tipo aniónico. entre los más empleados se encuentran el ácido *p*-toluensulfónico (pTS), el ácido dodecibencensulfónico (DBS) y el ácido poliestirensulfónico (PSS).<sup>48</sup> La *Figura 5* muestra, a manera de esquema, las principales etapas para la obtención de polipirrol a partir de su monómero, el pirrol.<sup>49</sup>



**Figura 5.** Esquema general de las etapas para la obtención de polipirrol a partir de pirrol

El método electroquímico ofrece como ventaja la obtención de estructuras conductoras de espesor controlado, en tiempos de reacción breves. El proceso de polimerización/deposición ocurre de manera simultánea, y las entidades conductoras son obtenidas en su fase dopada; hecho que facilita la incorporación de biomoléculas de carácter aniónico, ejerciendo el rol de dopantes.<sup>48</sup> En este sentido, se ha reportado la viabilidad de sintetizar películas de PPy dopado con ácido hialurónico (HA) mediante el método electroquímico.<sup>11</sup> El AH es un componente mayoritario de los tejidos conectivos y de la ECM, el cual en su forma de hialuronato funciona como biodopante en la síntesis de CPs.<sup>11,12</sup>

Todo esto hace posible la incorporación del PPy dopado con HA sobre la superficie de una platilla de colecciones de nanofibras de alcohol polivinílico/quitosano mediante electropolimerización *in situ*.

---

### **3. JUSTIFICACIÓN**

---

### 3. JUSTIFICACIÓN

El diseño de andamios celulares para la regeneración de tejidos altamente especializados, como el cardíaco y el nervioso, requiere del empleo de polímeros conductores en su estructura para mimetizar la función biológica y el microentorno extracelular.

Se ha demostrado que los materiales basados en PPy poseen adecuada citocompatibilidad, además de presentar carácter electroactivo y estabilidad en condiciones fisiológicas. Mediante el método electroquímico, se han integrado biomoléculas como dopantes durante la polimerización de PPy, lo que incrementa su biocompatibilidad.

Bajo esta premisa, en ingeniería de tejidos se estudia el desarrollo de biomateriales avanzados basados en híbridos de polímeros conductores. Sin embargo, la obtención de microarquitecturas PPy:biomoléculas no es un procedimiento trivial. Por lo anterior, y dado el bajo rendimiento mecánico de estas estructuras, el presente trabajo de investigación propone la electropolimerización/deposición de PPy:HA empleando colecciones de nanofibras PVA/CTS como plantillas, las cuales facilitarán la construcción de entornos nanométricos para guiar el crecimiento del complejo electroactivo PPy:HA durante la etapa de polimerización/deposición.

Esta novedosa estrategia permitirá la producción de microestructuras PPy:HA sobre nanofibras de PVA/CTS; generando materiales avanzados con propiedades mecánicas mejoradas y potencial bioactividad para su aplicación como andamios celulares en la regeneración de tejido especializado.

---

## **4. HIPÓTESIS**

---

## 4. HIPÓTESIS

Las colecciones de nanofibras PVA/CTS (NF-PVA/CTS) pueden ser funcionalizadas al emplearlas como plantillas en la deposición electroquímica para la incorporación de entidades electroactivas basadas en polímeros conductores, como el PPy.

Mediante el método electroquímico, resulta factible la construcción de microarquitecturas de PPy dopado con biomoléculas, tales como el HA, hecho que incrementa el carácter citocompatible de este polímero conductor.

Durante la etapa de electropolimerización/deposición, las colecciones de nanofibras PVA/CTS actuarán como plantillas inductoras de microarquitecturas, guiando la construcción de los conjugados PPy:HA, para lograr la obtención de compósitos [NF-PVA/CTS]/PPy:HA.

La deposición de PPy:HA sobre colecciones de nanofibras PVA/CTS promoverá la construcción de microentornos con potencial bioactividad, para su aplicación como andamios celulares, para la regeneración de tejidos especializados.

---

## **5. OBJETIVOS**

---

## **5. OBJETIVOS**

### **5.2 Objetivo general**

Fabricar compósitos nanoestructurados [NF-PVA/CTS]/PPy:HA mediante la deposición electroquímica de microestructuras de polipirrol (PPy) dopado con ácido hialurónico (HA) sobre colecciones de nanofibras compuestas alcohol polivinílico/quitosano (PVA/CTS), para su potencial aplicación como andamios celulares avanzados.

#### **5.2.1 Objetivos específicos**

- Estandarizar las condiciones para el electrohilado de mezclas de PVA/CTS para la obtención de colecciones de nanofibras de alta calidad.
- Obtener colecciones de nanofibras PVA/CTS sobre electrodos conductores de vidrio-ITO, reemplazando los colectores convencionales empleados durante el proceso de electrohilado.
- Parametrizar la electropolimerización de PPy:HA mediante el método electroquímico.
- Construir híbridos PPy:HA empleando colecciones de nanofibras de PVA/CTS, soportadas en electrodos de vidrio-ITO, como plantillas para la obtención de biomateriales microestructurados.
- Realizar la caracterización morfológica, térmica y espectroscópica de los materiales compuestos [NF-PVA/CTS]/PPy:HA.

---

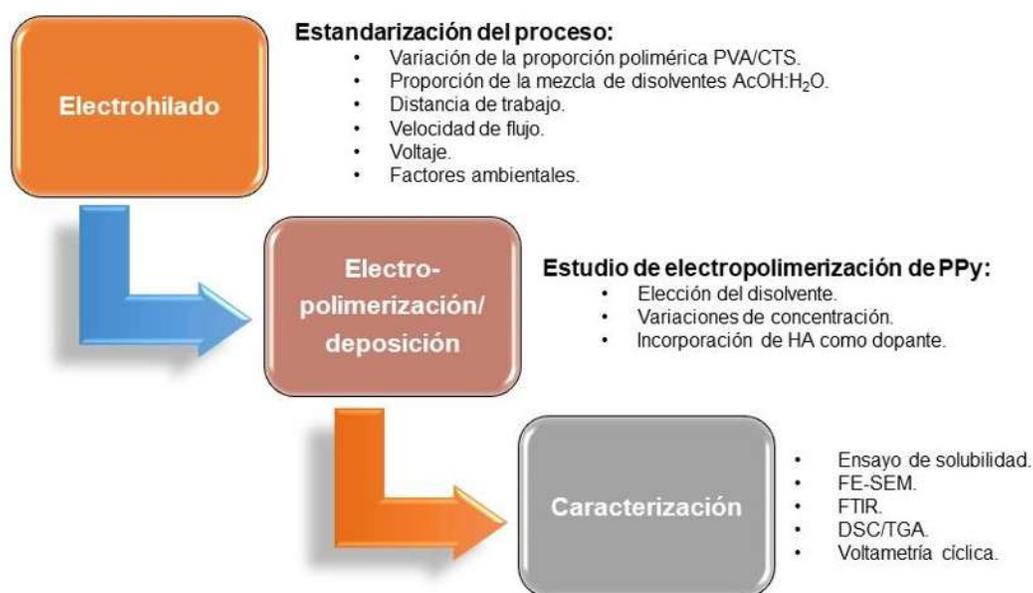
## **6. MATERIALES Y MÉTODOS**

---

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1 Estrategia experimental

El trabajo diseño experimental para la obtención del material [PVA/CTS]/PPy:HA consiste en tres etapas principales: la estandarización del proceso de electrohilado, la electropolimerización/deposición de PPy:HA sobre la matriz polimérica NF-PVA/CTS y la caracterización de los materiales. En la *Figura 6* se muestra un esquema general de la estrategia experimental.



**Figura 6.** Estrategia experimental para la obtención de [NF-PVA/CTS]/PPy:HA

### 6.2 Estandarización de los parámetros de electrohilado

Se llevaron a cabo diferentes ensayos para la estandarización de los parámetros del proceso de electrohilado, de la disolución y de las condiciones de humedad y temperatura ambiente, con la finalidad de obtener nanofibras de alta calidad y libres de defectos, las cuales puedan funcionar como plantilla para la electropolimerización/deposición de PPy dopado con HA y la obtención de nanoestructuras conductoras. Los parámetros por estandarizar fueron:

Concentración de la disolución de CTS.
Proporción de la mezcla de disolventes H <sub>2</sub> O:AcOH v/v.
Proporción de la mezcla polimérica PVA/CTS v/v.
Voltaje.
Distancia de trabajo.
Velocidad de flujo.
Factores ambientales (temperatura y humedad).

### 6.3 Materiales

- Ácido acético glacial de J. T. Baker con peso molecular de 60.05 g/mol.
- Quitosano de Sigma-Aldrich, alto peso molecular y grado de desacetilación  $\geq 75\%$ .
- Quitosano de Sigma-Aldrich, medio peso molecular.
- Alcohol polivinílico 99+% hidrolizado de Sigma Aldrich con peso molecular de 89,000-98,000 g/mol.
- Pirrol de Sigma-Aldrich con peso molecular 67.09 g/mol y pureza de 98%.
- Sal sódica de ácido hialurónico de *Streptococcus equi* de Sigma-Aldrich con peso molecular de 8,000 a 15,000 g/mol.
- Perclorato de tetrabutilamonio de Sigma-Aldrich con peso molecular de 341.91 g/mol y pureza  $\geq 98\%$ .
- Acetonitrilo de Tecsiquim, grado HPLC, peso molecular 41.05 g/mol.

### 6.4 Electrohilado

#### 6.4.1 Preparación de las disoluciones poliméricas

- **Disolución de PVA 8% p/v.**

Se preparó una disolución acuosa de PVA 8% p/v a 90 °C durante 12 h.

- **CTS 3.5% p/v, con CTS de alto peso molecular.**

Se prepararon disoluciones de AcOH (ácido acético) en H<sub>2</sub>O destilada en diferentes proporciones:

- H<sub>2</sub>O/AcOH 80:20 v/v.
- H<sub>2</sub>O/AcOH 70:30 v/v.
- H<sub>2</sub>O/AcOH 90:10 v/v.

En las disoluciones enlistadas se agregó la cantidad adecuada de quitosano de alto peso molecular a cada una. Estas mezclas se dejaron en agitación magnética durante 3 h a 60 °C y después de 24 h a temperatura ambiente para obtener disoluciones de CTS 3.5% p/v.

- **CTS 4% p/v, con CTS de medio peso molecular.**

Se prepararon disoluciones de AcOH en H<sub>2</sub>O destilada en diferentes proporciones:

- H<sub>2</sub>O/AcOH 70:30 v/v.
- H<sub>2</sub>O/AcOH 80:20 v/v.
- H<sub>2</sub>O/AcOH 90:10 v/v.

En las disoluciones enlistadas se agregó la cantidad requerida de quitosano de medio peso molecular a cada una. Estas mezclas se dejaron en agitación magnética durante 3 h a 60 °C para obtener las disoluciones de CTS 4% p/v.

- **CTS 3.5% p/v, con CTS de medio peso molecular.**

Para la obtención de 20 ml de disolución de CTS 3.5%, se pesaron 0.7 g de CTS de medio peso molecular. Por otro lado, se preparó una mezcla de disolventes AcOH:H<sub>2</sub>O 80:20 v/v, con 15.44 ml de AcOH y 3.86 ml de H<sub>2</sub>O. La mezcla de disolventes fue agregada al soluto y se llevaron a agitación magnética a 60 °C durante 3 h.

## **6.4.2 Preparación de las mezclas poliméricas**

Para la estandarización del proceso de electrohilado, se prepararon mezclas PVA/CTS 1.5:1 v/v con las disoluciones de CTS 3.5% p/v y CTS 4% p/v descritas en el apartado anterior 5.5.1, agregando la disolución acuosa de PVA 8% p/v en la proporción indicada y

dejando en agitación magnética a 70 °C durante 1 h, y después a temperatura ambiente (la cual rondaba entre los 20-25°C) durante 12 h.

En la *Tabla. 2* se enlistan y describen las mezclas poliméricas de PVA/CTS obtenidas para los ensayos de estandarización del proceso de electrohilado para la obtención de NF-PVA/CTS.

Además, se prepararon mezclas poliméricas con CTS 4% p/v (medio peso molecular) y PVA 8% p/v, en proporciones de 2:1 y 1:1 (PVA/CTS), siguiendo la metodología descrita en este apartado.

**Tabla 2.** Descripción de las mezclas poliméricas PVA/CTS 1.5 p/v.

N.º	Proporción de las disoluciones poliméricas	Concentración de la disolución de PVA	Concentración de la disolución de CTS	Proporción de AcOH/H <sub>2</sub> O	CTS de alto peso molecular	CTS de medio peso molecular
1	1.5:1 v/v	8% p/v	4% p/v	80:20		X
2	1.5:1 v/v	8% p/v	4% p/v	70:30		X
3	1.5:1 v/v	8% p/v	4% p/v	90:10		X
4	1.5:1 v/v	8% p/v	3.5% p/v	80:20	X	
5	1.5:1 v/v	8% p/v	3.5% p/v	70:30	X	
6	1.5:1 v/v	8% p/v	3.5% p/v	90:10	X	

### Obtención de la mezcla polimérica PVA/CTS v/v

Se agregaron 30 ml de disolución acuosa de PVA 8% p/v a 20 ml de la disolución de CTS 3.5% p/v, con CTS de medio peso molecular y se dejaron en agitación magnética durante 15 h a 60 °C. Posteriormente, se llevó a temperatura ambiente, permaneciendo en agitación magnética durante 72 h más.

### 6.5 Obtención de NF-PVA/CTS

Empleando un equipo de *electrospinning* TL-01 de NaBond Technologies Co. y partiendo de la configuración establecida mediante los ensayos de estandarización de electrohilado de la mezcla de PVA/CTS descrita en la *Tabla 3*, se llevó a cabo la obtención de NF-PVA/CTS. Las colecciones fueron obtenidas empleando colectores de acero

inoxidable y cobre. Es importante mencionar que, para la obtención de nanofibras de alta calidad, la humedad relativa debe ser menor al 40%.

**Tabla 3.** Parámetros para la obtención de NF-PVA/CTS.

Parámetro	Valor
Disolución de CTS p/v	4% (medio peso molecular)
Mezcla de disolventes para CTS	AcOH:H <sub>2</sub> O 80:20 v/v
Disolución acuosa de PVA p/v	8%
Proporción PVA/CTS	1.5:1 v/v
Distancia (cm)	17.5
Flujo (ml/h)	0.5
Voltaje (kV)	12
Temperatura	25-40 °C
Humedad relativa	25-40%

## 6.6 Entrecruzamiento de NF-PVA/CTS

El entrecruzamiento térmico de las colecciones NF-PVA/CTS se realizó exponiendo las colecciones de nanofibras a calentamiento en parrilla a 140°C durante 40 minutos. El entrecruzamiento es necesario debido a que las colecciones de nanofibras no son estables en medio acuoso y pierden su microestructura.

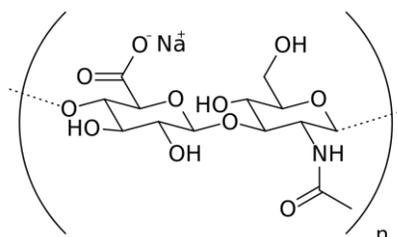
## 6.7 Electrohilado de NF-PVA/CTS sobre vidrio-ITO

Empleando las condiciones del proceso de electrohilado descritas en la *Tabla 3* y con un tiempo de electrohilado de 20 h, se llevó a cabo la obtención de NF-PVA/CTS sobre el electrodo óxido de indio y estaño (ITO) de 10  $\Omega$ , soportado en vidrio de 2 x 1 cm, en un equipo de electrospinning TL-01 de NaBond Technologies Co. La colección obtenida fue empleada como plantilla durante el proceso de electropolimerización/deposición de PPy:HA.

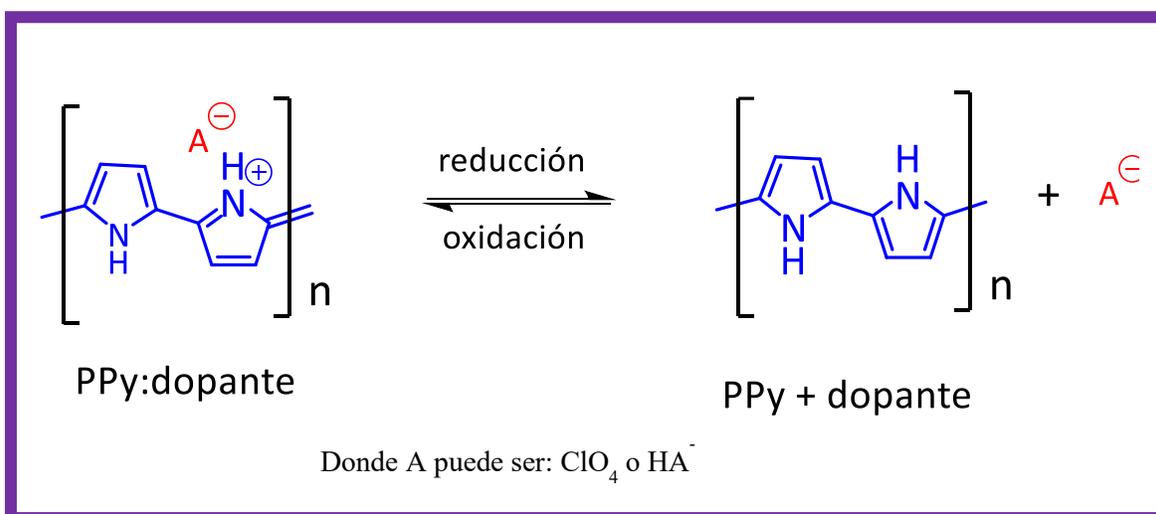
## 6.8 Electropolimerización/deposición de PPy:HA sobre NF-PVA/CTS

El PPy se sintetizó mediante la electropolimerización de pirrol, en una celda de tres electrodos empleando un potencióstato/galvanostato Autolab PSTAT204 (Metrohm) en medio acuoso en una celda de tres electrodos, utilizando dopantes tradicionales como TBAP. La estandarización del proceso se realizó empleando este material funcionará como control, después las condiciones de síntesis electroquímica se extrapolaron para el desarrollo de los

compósitos PPy:HA. La *Figura 7a* se muestra la estructura química del hialuronato de sodio empleado como agente dopante, asimismo, en la *Figura 7b* se muestra el esquema general de la reacción de polimerización de pirrol.



**Figura 7a.** Estructura química del hialuronato de sodio.



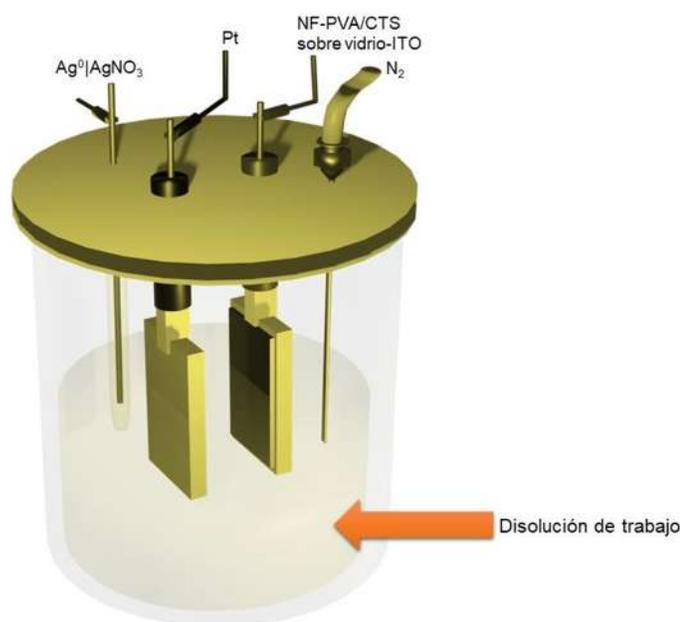
**Figura 7b.** Esquema general de la reacción de polimerización con un agente dopante.

- **Preparación de la disolución de trabajo**

La disolución de trabajo se obtuvo con 8 mM de pirrol, una disolución 0.05 M de TBAP empleada como electrolito de soporte y 0.16 mg/ml de HA empleado como biodopante, en una mezcla de disolventes ACN:H<sub>2</sub>O 75:25 v/v. Previo al proceso de electropolimerización, la disolución es llevada a sonicación durante 1 h a temperatura ambiente, para solubilizar el HA.

- **Electropolimerización/deposición de PPy:HA**

Empleando un potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT302N marca Metrohm y partiendo de las condiciones establecidas por el grupo de trabajo descritas en la *Tabla 4*, se realizó la electropolimerización PPy:HA durante 25, 60 y 15 ciclos respectivamente, sobre las colecciones de NF-PVA/CTS en el colector de vidrio-ITO, empleado como electrodo de trabajo. Asimismo, fue utilizada una placa de Pt como contraelectrodo, y un electrodo de  $\text{Ag}^0|\text{AgNO}_3$  fue usado como electrodo de referencia para monitorear el proceso de polimerización. La *Figura 8* muestra un esquema de la conformación de la celda empleada para el proceso de electrosíntesis de PPy:HA sobre NF-PVA/CTS.



**Figura 8.** Esquema de la conformación de la celda empleada para el proceso de electrosíntesis de [NF-PVA/CTS]/PPy:HA

**Tabla 4.** Parámetros para la electropolimerización/deposición de PPy:HA sobre NF-PVA/CTS.

Parámetro	Valor
Potencial de inicio	0
Vértice superior	1.3
Vértice inferior	-0.5
Potencial final	0
Velocidad de barrido	0.05
Intervalo	0.0035

## **6.9 Caracterización de los materiales obtenidos**

### **6.9.1 Ensayos de viscosidad**

La reometría de las disoluciones de PVA/CTS 1:1 v/v, 1.5:1 v/v y 2:1 v/v preparadas a partir de disoluciones de CTS 4% p/v con CTS de medio peso molecular se llevó a cabo en un reómetro Anton PAAR; geometrías: primera serie de geometría fue rugosa, segunda serie geometría economy plato, D: 40 mm, ángulo: 2 grados.

### **6.9.2 Análisis morfológico y estructural**

El análisis morfológico de NF-PVA/CTS se realizó mediante microscopía electrónica de barrido de emisión de campo FE-SEM (*field emission scanning electron microscope* por sus siglas en inglés) en el equipo JOEL JSM-7600F con filamento incandescente de W, del Instituto de Investigaciones Metalúrgicas de la UMSNH. Con esta técnica también, se analizó la morfología de los materiales obtenidos empleando los diferentes parámetros para la estandarización del proceso de electrohilado, además de emplearla también para confirmar la conservación de la morfología microscópica de las nanofibras entrecruzadas, después de sumergirlas en medio acuoso, y de ser empleadas como plantillas en la electropolimerización/deposición del PPy dopado con HA.

A su vez, los histogramas de distribución de diámetro fueron obtenidos a partir de las micrografías, considerando la longitud de al menos 60 diámetros de cada muestra (n=3) haciendo uso del software OriginPro 9.0 para el procesamiento de las gráficas.

Por su parte, para el análisis estructural de los polímeros presentes en los materiales obtenidos se utilizó la técnica FT-IR empleando un equipo Nicolet iS10 de Thermo Scientific.

### **6.9.3 Análisis térmico**

El comportamiento térmico de los materiales se analizó mediante las técnicas de calorimetría diferencial de barrido (DSC por sus siglas en inglés) y análisis

termogravimétrico (TGA por sus siglas en inglés) y calorimetría diferencial de barrido (DSC por sus siglas en inglés).

- **DSC Y TGA**

Los termogramas fueron obtenidos en un analizador termogravimétrico modelo TGA/DSC 2 simultaneo Mettler Toledo, bajo atmósfera dinámica de N<sub>2</sub> (50 ml/min) empleando una rampa de calentamiento de 5°C/min dentro del rango comprendido entre 25 y 500 °C. Asimismo, fueron graficados con el software OriginPro 9.0.

#### **6.9.4 Pruebas de solubilidad**

Se agregaron 2 ml de cada disolvente a una alícuota de las colecciones de NF-PVA/CTS (6 mm de diámetro) obtenidas con las condiciones descritas en el apartado 5.5.4. Después de 48 horas se retira el disolvente y se determina de manera cualitativa la solubilidad de NF-PVA/CTS en:

- Etanol (EtOH): Alcohol Etilico Absoluto de J. T. Baker, peso molecular de 46.07 g/mol.
- Metanol (MeOH): Metanol de J. T. Baker, peso molecular de 32.04 g/mol.
- H<sub>2</sub>O: Agua destilada de Tecnología y Control Ambiental.
- Acetonitrilo (ACN): Acetonitrilo de J.T. Baker, grado HPLC, peso molecular de 41.05 g/mol.
- Solución fisiológica: Solución CS (pH=7) de Pisa.

#### **6.9.5 Caracterización electroquímica del proceso de electropolimerización de PPy:HA**

La caracterización electroquímica del material obtenido por electropolimerización se llevó a cabo con un potencióstato/galvanostato Autolab PGSTAT302N, marca Metrohm. Los voltamperogramas fueron graficados en el software OriginPro 9.0.

---

## **7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

---

## 7. Resultados y discusión

### 7.1 Estandarización de los parámetros de electrohilado

Con la finalidad de estandarizar el proceso de electrohilado y determinar los parámetros que permitieran la obtención de NF-PVA/CTS con alta calidad microestructural, se llevaron a cabo una serie de experimentos variando el voltaje, la velocidad flujo, la distancia de trabajo y la proporción de la disolución polimérica. Se trabajó con temperatura y humedad relativa ambiente; el tiempo de trabajo fue el mismo en todos los ensayos.

### 7.2 Efecto de la variación de voltaje

En la *Tabla 5* se muestran los parámetros del proceso del electrohilado de una mezcla PVA/CTS en proporción 1.5:1 v/v, variando el voltaje y manteniendo la distancia de trabajo y el flujo constantes; cada ensayo se llevó a cabo durante 30 minutos cada uno. A su vez, la temperatura se encontraba en un rango de 21 a 23 °C y la humedad de relativa entre 50 y 70%.

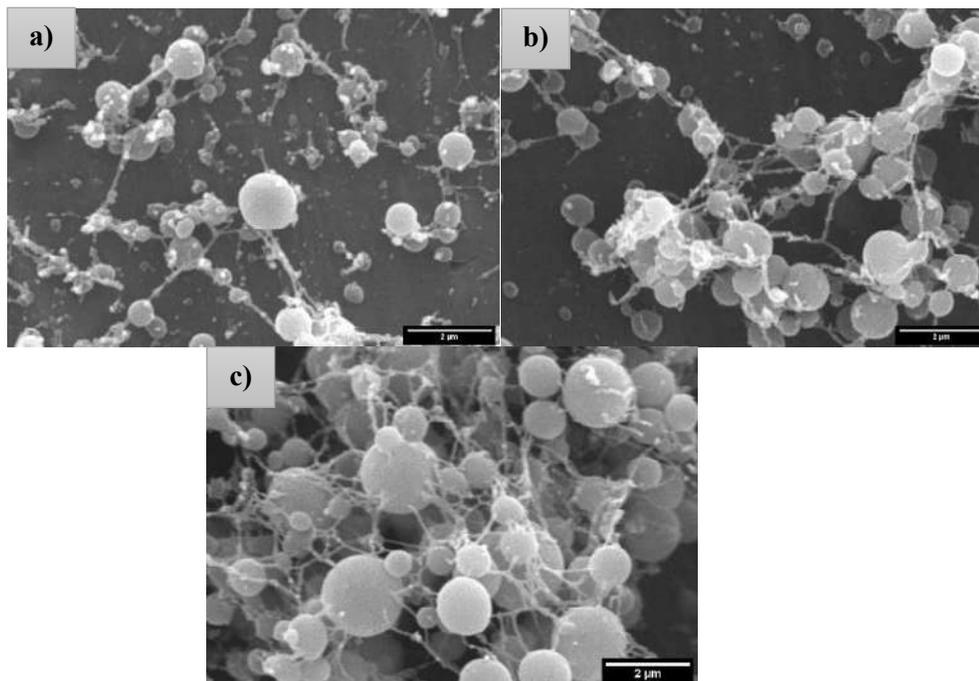
**Tabla 5.** Parámetros del proceso de electrohilado de la mezcla PVA/CTS 1.5:1 v/v variando el voltaje.

Parámetro	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3
Voltaje (kV)*	10	12	14
Flujo (ml/h)	0.5	0.5	0.5
Distancia (cm)	15	15	15
Temperatura (°C)	~ 24	~ 21	~ 23
Humedad relativa (%)	~ 50	~ 70	~ 55

\*Parámetro variado.

Macroscópicamente, la película electrohilada a 12 kV mostró mayor espesor que la obtenida a 10 kV; aplicando 14 kV se observó alta deposición de gotículas en la superficie. El análisis morfológico mediante FE-SEM (*Figura 9*) muestra la formación de esferas en los tres ensayos, observándose una mayor cantidad en la muestra obtenida a 14 kV. Sin embargo, se observa que, al aumentar el voltaje, aumenta la formación de nanofibras, por lo que se seleccionó 12 kV como la opción más adecuada para continuar los ensayos, debido a que a

10 kV no hay formación de estructuras de nanofibras y a 14 kV la deposición de esferas es muy alta.



**Figura 9.** Micrografías FE-SEM a 10 000x, de muestras obtenidas a un voltaje de a) 10 kV, b) 12 kV y c) 14 kV.

### 7.3 Efecto de la variación en la velocidad de flujo

Para la estandarización de la velocidad de flujo, la disolución se electrohiló a 0.1, 0.3 y 0.5 ml/h, obteniendo tres diferentes muestras electrohiladas durante 30 minutos cada una. El voltaje aplicado se mantuvo constante a 12 kV y la distancia de trabajo a 15 cm. La proporción de la mezcla polimérica continuó siendo PVA/CTS 1.5:1 v/v. La temperatura y la humedad relativa fueron las ambientales, en aproximadamente 20 °C y 60-70%, respectivamente. En la *Tabla 6* se muestran los datos con los que se llevaron a cabo las pruebas para la estandarización del flujo.

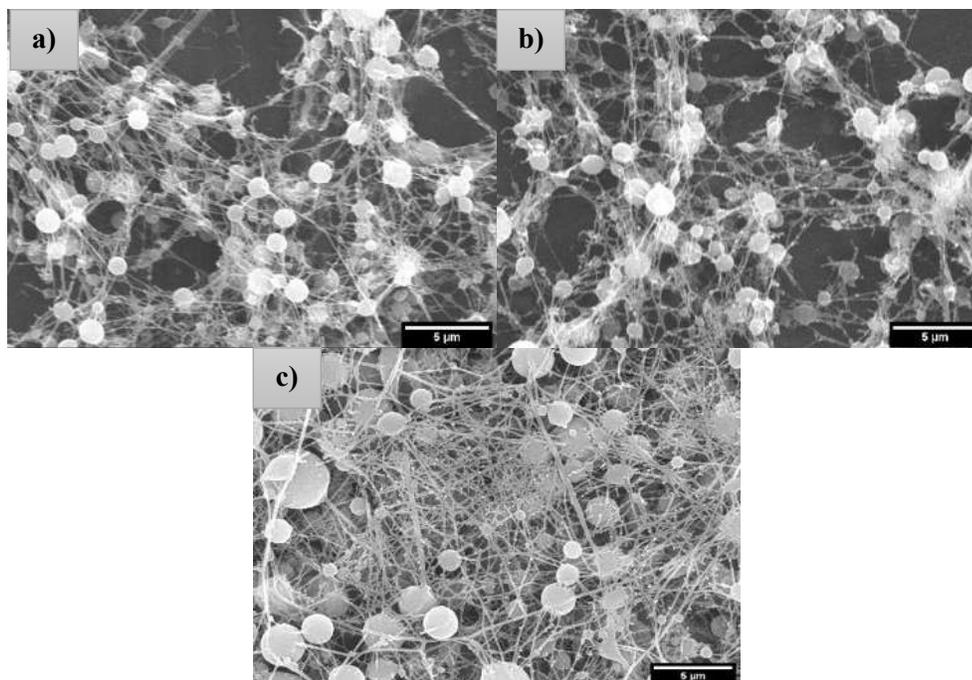
**Tabla 6.** Parámetros del proceso de electrohilado de la mezcla PVA/CTS 1.5:1 v/v variando la velocidad de flujo.

Parámetro	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3
Voltaje (kV)	12	12	12
Flujo (ml/h)*	0.1	0.3	0.5
Distancia (cm)	15	15	15
Temperatura (°C)	~ 21	~ 20	~ 21
Humedad relativa (%)	~ 60	~ 68	~ 70

\*Parámetro variado.

Durante la etapa de fabricación, se observó que la colección electrohilada a 1 ml/h mostraba menor deposición de gotículas en las colecciones, pero poca coloración blanquecina en el colector, lo que es indicativo de una baja tasa de deposición de material en el colector metálico. La muestra obtenida a 3 ml/h mostró alta tasa de deposición de colecciones, pero la deposición de gotículas también fue alta.

En las micrografías obtenidas mediante análisis FE-SEM (*Figura 10*), se observó formación de esferas en las muestras obtenidas a 0.1 ml/h y 0.3 ml/h; teniéndose una menor cantidad a 0.3 ml/h. Por su parte, a una velocidad de flujo de 0.5 ml/h, aunque se observa formación de esferas, también se promovió la formación de nanoarquitecturas más definidas. Por lo anterior, se determinó que la velocidad de flujo para el electrohilado más adecuada es 0.5 ml/h.



**Figura 10.** Micrografías FE-SEM a 5 000x, de muestras obtenidas a velocidades de flujo de a) 0.1 ml/h, b) 0.3 ml/h y c) 0.5 ml/h.

#### 7.4 Efecto de la variación de distancia de trabajo (desde la punta de la aguja al colector)

Los ensayos para la estandarización de la distancia de trabajo se llevaron a cabo realizando el electrohilado de la mezcla PVA/CTS 1.5:1 v/v a 15, 17.5 y 20 cm entre la punta de la aguja y el colector durante 30 minutos de trabajo; manteniendo una velocidad de flujo de 0.5 ml/h y 12 kV de voltaje; condiciones previamente establecidas. En la *Tabla 7* se enlistan los detalles de los parámetros utilizados en esta parte del proceso de estandarización.

**Tabla 7.** Parámetros del proceso de electrohilado de la mezcla PVA/CTS 1.5:1 v/v variando la distancia de trabajo.

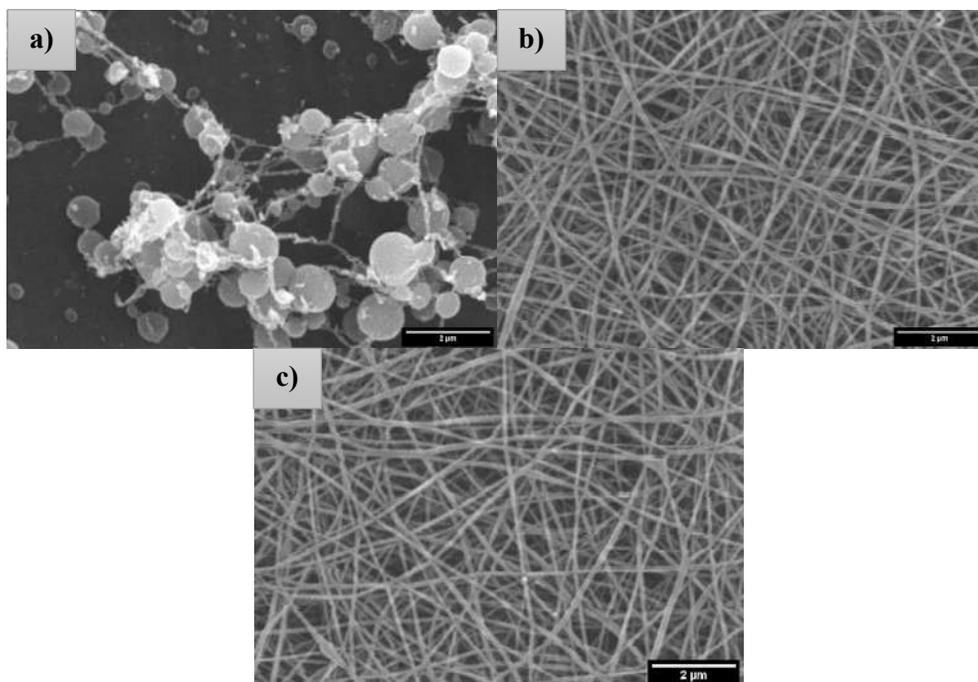
Parámetro	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3
Voltaje (kV)	12	12	12
Flujo (ml/h)	0.5	0.5	0.5
Distancia (cm)*	15	17.5	20
Temperatura (°C)	~ 21	~ 23	~ 23
Humedad relativa (%)	~ 70	~ 31	~ 32

\*Parámetro variado.

Durante la obtención de las colecciones empleando diferentes distancias de trabajo, se observó una mayor tasa de deposición de colección en la muestra obtenida a 17.5 cm y una menor deposición de la mezcla polimérica electrohilada a 20 cm. Asimismo, se obtuvo una disminución considerable en la deposición de gotículas en la colección obtenida a una distancia de trabajo de 17.5 cm, en comparación con la de 15 cm.

Derivado del análisis por FESEM (*Figura 11*), se observa que las estructuras obtenidas a una distancia de 15 cm mantienen la presencia de esferas. Mientras que, a distancias de trabajo de 17.5 y 20 cm se promueve la obtención de microarquitecturas definidas. Al comparar los resultados presentados en las micrografías, se determinó que la distancia de 17.5 cm facilita la obtención de colecciones libres de imperfecciones, incluso en comparación con 20 cm de distancia de trabajo.

Por lo anterior, y en conjunto con las observaciones macroscópicas, la distancia de trabajo seleccionada como la más adecuada fue 17.5 cm.



**Figura 11.** Micrografías FE-SEM a 10 000x, de muestras obtenidas a distancias de trabajo de a) 15 cm, b) 17.5 cm y c) 20 cm.

## 7.5 Efecto de la variación en la proporción de PVA/CTS

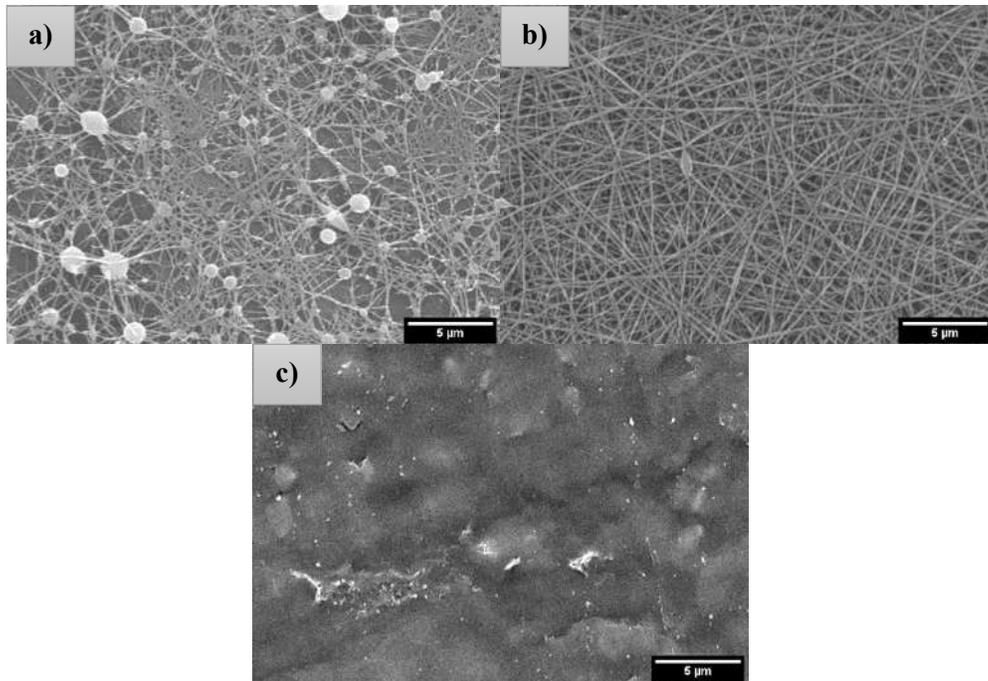
Partiendo de los parámetros obtenidos en los ensayos realizados para la parametrización de voltaje, velocidad de flujo y distancia de trabajo, se electrohilieron mezclas PVA/CTS preparadas en proporciones: 1:1 v/v, 1.5:1 v/v y 2:1 v/v. En la *Tabla 8* se enlistan los parámetros empleados para el proceso de electrohilado de estas mezclas, en un tiempo de 30 minutos de electrohilado para cada ensayo.

**Tabla 8.** Parámetros del proceso de electrohilado de la mezcla PVA/CTS, variando la proporción de las disoluciones poliméricas en la mezcla.

Parámetro	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3
Voltaje (kV)	12	12	12
Flujo (ml/h)	0.5	0.5	0.5
Distancia (cm)*	17.5	17.5	17.5
Temperatura (°C)	~ 24	~ 23	~ 23
Humedad relativa (%)	~ 30	~ 31	~ 34
Proporción PVA/CTS v/v	1:1	1.5:1	2:1

Durante el proceso de electrohilado de las disoluciones, se observó que la mezcla PVA/CTS 1:1 v/v promovía la deposición de gotículas a la par de la deposición de nanofibras. El procesamiento de la mezcla PVA/CTS 1.5:1 v/v mostró adecuada electrohilabilidad, en términos de estabilidad del cono de Taylor y de los subsecuentes *jets* precursores de nanofibras, mientras que el procesamiento de la mezcla PVA/CTS 2:1 v/v mostró inconvenientes asociados a alta inestabilidad del cono de Taylor, ocasionando la deposición de nanoestructuras húmedas.

La *Figura 12*, muestra las imágenes FE-SEM de las microestructuras generadas, se observa que las nanofibras electrohiladas a partir de la disolución PVA/CTS 1:1 v/v muestran una considerable formación de esferas. Por otro lado, a partir de la proporción PVA/CTS 1.5:1 v/v se obtuvieron microarquitecturas bien definidas con escasa acumulación de imperfecciones, y empleando la proporción PVA/CTS 2:1 v/v no se observa formación de nanoestructuras



**Figura 12.** Micrografías FE-SEM a 5,000x, de muestras obtenidas con mezclas poliméricas de PVA/CTS en proporciones de a) 1:1 v/v, b) 1.5:1 v/v y c) 2:1 v/v.

## 7.6 Efecto de la concentración y de la proporción de disolventes AcOH/H<sub>2</sub>O de la disolución de CTS

Las disoluciones poliméricas empleando una disolución CTS 4% p/v de medio peso molecular, se llevaron al proceso de electrohilado bajo las condiciones señaladas, empleando un tiempo de electrohilado de 2 h cada una. Mientras que las preparadas con una disolución CTS 3.5% p/v de alto peso molecular, no fueron electrohiladas debido a que había presencia de partículas suspendidas de CTS en la disolución, lo cual, afecta al proceso de electrohilado al no tener una buena solubilidad en la mezcla.

La *Tabla 9* muestra las diferentes proporciones AcOH/H<sub>2</sub>O ensayadas para el electrohilado de las mezclas PVA/CTS v/v preparadas a partir de disoluciones de CTS 4% p/v con CTS de medio peso molecular, resaltando la que microscópicamente mostró una mejor morfología, además de que macroscópicamente es una muestra con características adecuadas para su manejo.

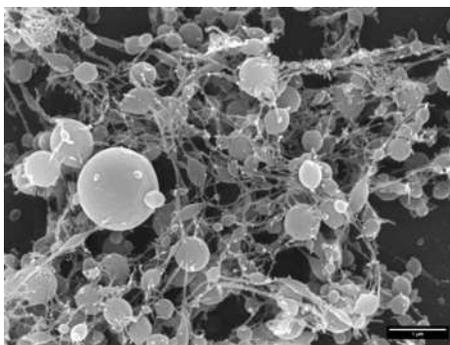
**Tabla 9.** Descripción de las muestras electrohiladas en el proceso de estandarización de la disolución polimérica.

N.º	Proporción de las disoluciones poliméricas	Concentración de la disolución de PVA	Concentración de la disolución de CTS	Proporción de AcOH/H <sub>2</sub> O	CTS
<b>1</b>	1.5:1 v/v	8% p/v	4% p/v	80:20	Medio peso molecular
<b>2</b>	1.5:1 v/v	8% p/v	4% p/v	70:30	Medio peso molecular
<b>3</b>	1.5:1 v/v	8% p/v	4% p/v	90:10	Medio peso molecular

Después de llevar a cabo el electrohilado de las disoluciones de CTS 4% p/v (medio peso molecular), macroscópicamente se observó una deposición de nanofibras más homogénea en la muestra **1**. La muestra que mostraba una mayor deposición de gotículas fue la muestra **3**. Asimismo, el electrohilado de la muestra **2** también fue adecuado, sin embargo, el de la muestra **1** mostró una menor deposición de gotículas.

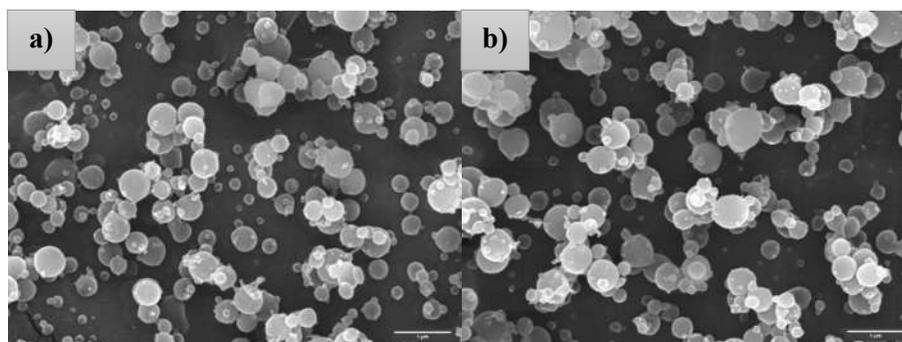
Asimismo, con la finalidad de observar si había una mejora en la formación de nanofibras con las mezclas que contenían disoluciones de CTS 4% p/v en AcOH/H<sub>2</sub>O 70:30 v/v y AcOH/H<sub>2</sub>O 90:10 v/v, respectivamente.

Primeramente, la muestra de CTS 4% en AcOH/H<sub>2</sub>O 70:30 v/v fue electrohilada; sin embargo, macroscópicamente no se observó alguna mejora en las colecciones. La *Figura 13* muestra la microestructura de las fibras electrohiladas con la mezcla que contenía CTS 4% p/v en AcOH/H<sub>2</sub>O 70:30 v/v. Como se puede observar en la micrografía, no se obtuvo la formación de una microarquitectura adecuada empleando esta proporción de AcOH/H<sub>2</sub>O pero sí se observa una gran deposición de esferas.



**Figura 13.** Micrografía FE-SEM a 10,000x, de disoluciones electrohiladas con una disolución AcOH/H<sub>2</sub>O 70:30 v/v.

Por su parte, la mezcla polimérica preparada con la disolución de CTS 4% p/v en AcOH/H<sub>2</sub>O 90:10 v/v, se electrohiló empleando los parámetros previamente establecidos, y un ensayo cambiando la velocidad de flujo a 0.3 ml/h. La *Figura 14* muestra la microestructura obtenida a partir de ambos ensayos.

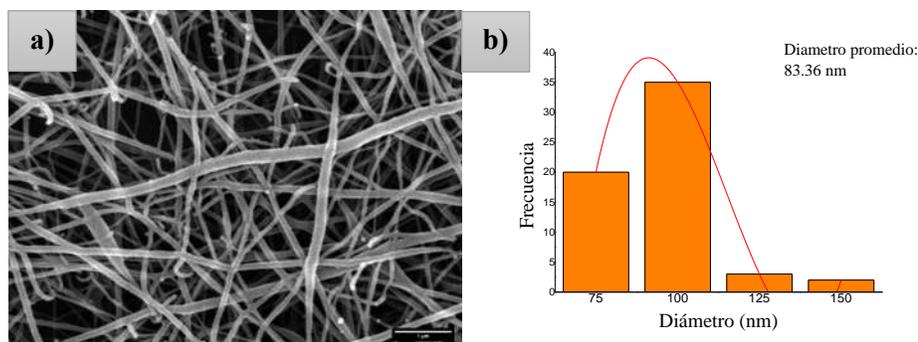


**Figura 14.** a) Micrografía FE-SEM a 10,000x, de disoluciones electrohiladas con una disolución de AcOH/H<sub>2</sub>O 90:10 v/v y una velocidad de flujo de 0.5 ml/h. b) Micrografía FE-SEM, con magnificación de 10,000x, de disoluciones electrohiladas con una disolución AcOH/H<sub>2</sub>O 90:10 v/v con velocidad de flujo de 0.3 ml/h.

Como se observa en las micrografías anteriores (*Figuras 14*) el cambio en la velocidad de flujo no favoreció la formación de nanofibras.

Después del proceso de electrohilado de la disolución **2** (*Tabla 6*), macroscópicamente se observó una morfología de mejor calidad en la muestra electrohilada con la mezcla polimérica de PVA/CTS 1.5:1 v/v, preparada a partir de la disolución de CTS 4% p/v de medio peso molecular en AcOH/H<sub>2</sub>O 80:20 v/v. El análisis FE-SEM muestra que, en efecto, en esta muestra hubo formación de nanofibras, y en general una microestructura

con buena calidad, sin la presencia de defectos, tal y como se muestra en la *Figura 15*; con un diámetro promedio de 83.36 nm.



**Figura 15.** a) Micrografía FE-SEM a 20,000x, de las nanofibras electrohiladas con una disolución de CTS 4% p/v de medio peso molecular en un sistema AcOH/H<sub>2</sub>O 80:20 v/v. b) Histograma de distribución de diámetro de nanofibras.

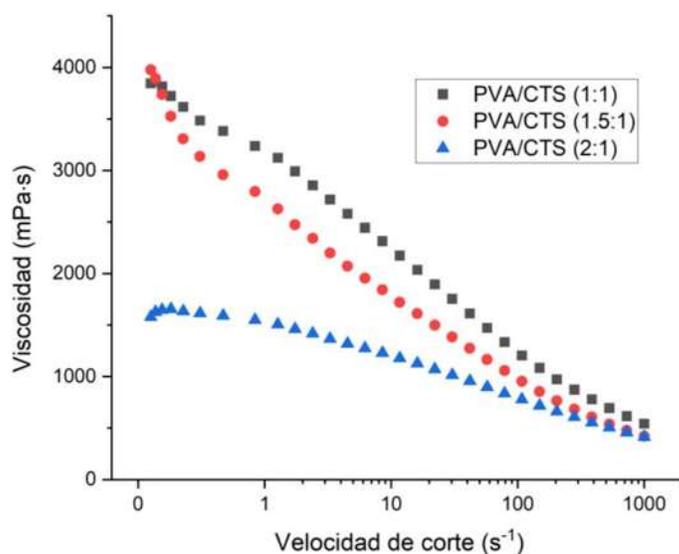
## 7.7 Análisis de viscosidad de las disoluciones

La reología investiga la respuesta de los materiales a una tensión o deformación aplicada. Las propiedades reológicas describen las características de flujo y el comportamiento textural de las sustancias.<sup>50</sup> El éxito de una gran cantidad de procesos industriales, y en este caso, del proceso de electrohilado depende del cumplimiento de requisitos de flujo específicos.

El comportamiento reológico, describe el comportamiento de un fluido al someterse a un esfuerzo de corte o cizalla, y los fluidos pueden clasificarse en la relación entre el esfuerzo aplicado y la relación de deformación en: fluidos Newtonianos y no-Newtonianos. Por su parte, la viscosidad en estos términos es la relación entre el esfuerzo aplicado ( $\sigma$ , expresado comúnmente en Pa) y el gradiente de velocidad generado ( $\gamma$ , expresado comúnmente en s<sup>-1</sup>). En los fluidos Newtonianos la relación entre el esfuerzo cortante y el gradiente de velocidad es constante, por lo que su viscosidad no cambia, mientras que, en los no-Newtonianos, esta relación no es constante, por lo que se habla de viscosidad aparente.

La dependencia de la viscosidad de las mezclas poliméricas empleadas en el proceso de electrohilado (PVA:CTS 1:1, 1.5:1 y 2:1), en función de la velocidad de corte se muestra en la *Figura 16*. Claramente, se observa que la viscosidad de las soluciones depende de la

velocidad de corte, y disminuye al aumentar el gradiente, lo que describe el comportamiento de un fluido no-Newtoniano o pseudoplástico, especialmente en las soluciones con un mayor contenido de CTS (PVA/CTS 1:1 y 1.5:1). Al aumentar el contenido de PVA (disolución PVA:CTS 2:1), se observa un comportamiento de la viscosidad con dos regiones distintas: la región de flujo Newtoniana que muestra la viscosidad relativamente constante de cizallamiento a baja velocidad de corte, y la región de flujo de ley de potencia a una velocidad de corte más alta, que muestra una dependencia de la viscosidad con la velocidad de corte.



**Figura 16.** Viscosidad vs velocidad de corte de las mezclas poliméricas electrohiladas.

Al aumentar la concentración de CTS se incrementa el comportamiento pseudoplástico de las soluciones. A medida que aumenta su concentración, la libertad de movimiento de las cadenas individuales se restringe debido al correspondiente aumento del entrecruzamiento entre las cadenas al aumentar la concentración del CTS. Esto da lugar a un aumento en el tiempo requerido para que las cadenas poliméricas se reacomoden debido a la deformación impuesta externamente.<sup>51</sup> Por lo tanto, la velocidad de corte a la que las soluciones con mayor contenido de PVA (y por ende menor contenido de CTS), disminuyen el comportamiento Newtoniano se mueve hacia valores de velocidad de corte menores, al aumentar también la viscosidad de las soluciones.

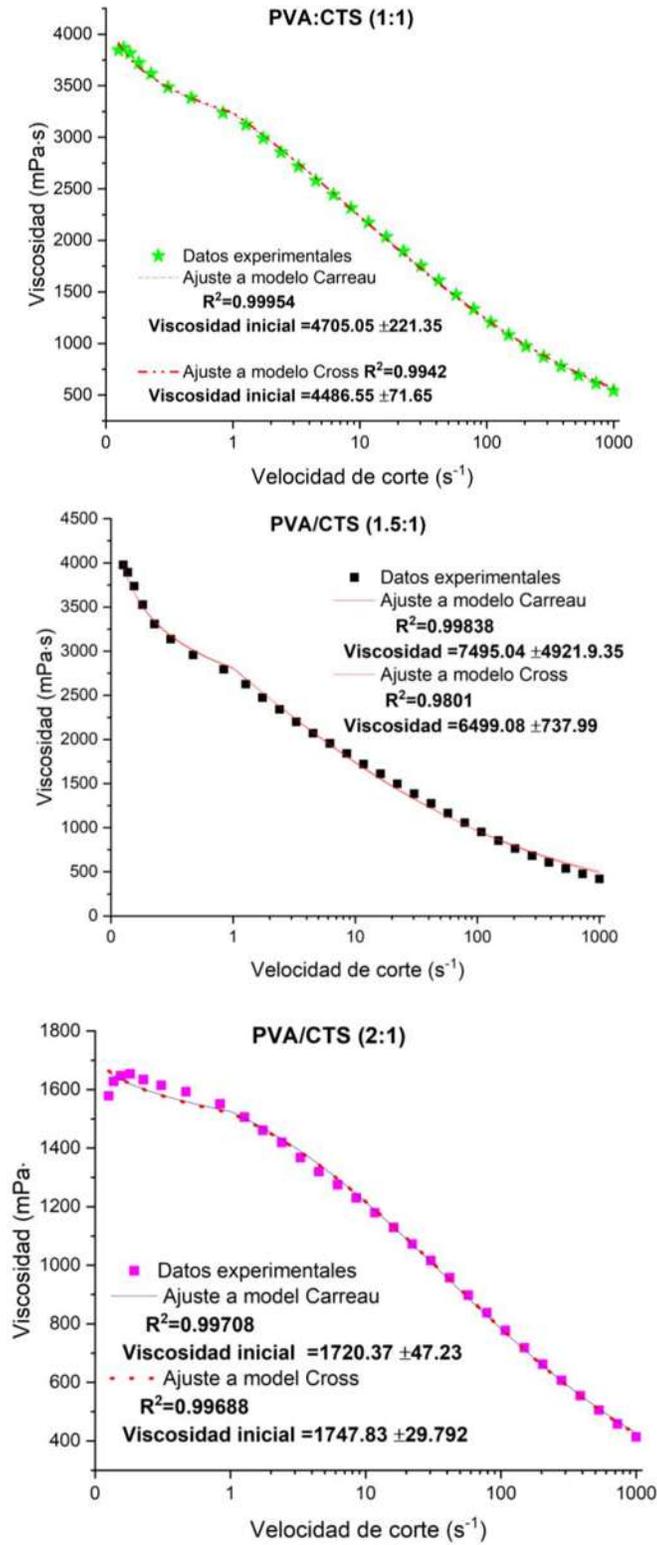
La dependencia de la viscosidad vs la velocidad de corte de las diferentes soluciones, se ajustaron a los modelos teóricos. El modelo Cross que describe el comportamiento de dispersiones de polímeros fundidos y soluciones poliméricas esta expresado por la siguiente ecuación:

$$\frac{\mu - \mu_{\infty}}{\mu_0 - \mu_{\infty}} = \frac{1}{1 + (K\dot{\gamma})^m} \quad (1)$$

En donde  $\dot{\gamma}$  es la velocidad de corte,  $\mu_{\infty}$  es la viscosidad a velocidad de corte infinita,  $\mu_0$  es la viscosidad a velocidad inicial,  $K$  es el tiempo de relajación y  $m$  es un parámetro relacionado con el grado de adelgazamiento al corte. El modelo de Carreau-Yasuda descrito en la ecuación 2, toma en cuenta las mesetas newtonianas y se adapta a una amplia gama de velocidades de deformación.

$$\frac{\mu - \mu_{\infty}}{\mu_0 - \mu_{\infty}} = [1 + (K\dot{\gamma})^a]^{\frac{n-1}{a}} \quad (2)$$

En donde  $\mu_0$  es la viscosidad a velocidad de corte cero,  $\mu_{\infty}$  es una viscosidad a velocidad de corte infinita,  $K$  es la constante de tiempo y  $n$  es el índice de la ley de potencia. El parámetro  $a$  que describe la transición entre la meseta newtoniana y la región de la ley de potencia.



**Figura 17.** Ajuste de la dependencia de la viscosidad vs velocidad de corte a modelos teóricos.

A partir del electrohilado de la solución polimérica de PVA/CTS 1:1 v/v se obtienen nanofibras con una calidad microestructural menor a las obtenidas con la solución de PVA/CTS 1:5:1 v/v, lo cual puede estar directamente relacionado con la concentración de CTS y por ende con la viscosidad de la disolución, ya que, de acuerdo con el comportamiento reológico, la solución PVA/CTS 1:5:1 v/v presenta una menor viscosidad dada la menor concentración de CTS en la mezcla, lo que puede otorgar una mayor maleabilidad en el fluido. Este comportamiento se observa durante el procesamiento de la muestra por electrohilado. Por su parte, a partir de la solución de PVA/CTS 2:1 v/v no se obtuvo formación de nanofibras, lo cual puede deberse a la disminución de la viscosidad en la disolución polimérica, cuyo comportamiento reológico no es favorable para el procesamiento mediante electrohilado.

## 7.8 Electrohilado de la mezcla PVA/CTS estandarizada

Derivado de los ensayos de estandarización de los parámetros de electrohilado y de la disolución polimérica, se llevó a cabo la obtención de una colección de nanofibras bajo las condiciones detalladas en la *Tabla 10*. Después del proceso de electrohilado, fue posible despegar la colección del colector (*Figura 18*).

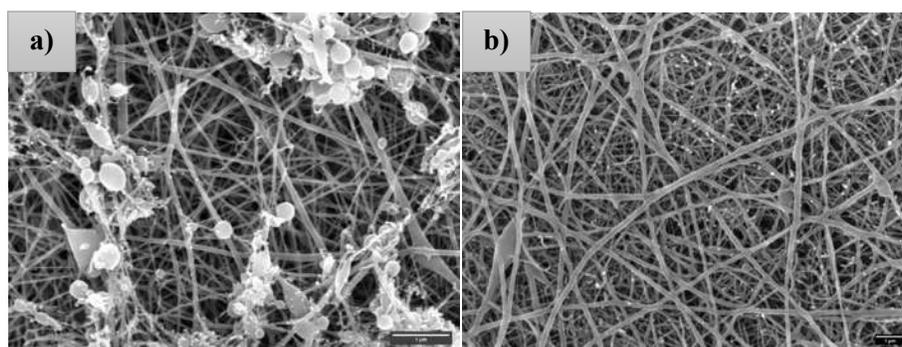
**Tabla 10.** Parámetros de electrohilado de la mezcla PVA/CTS estandarizada.

<b>Proporción PVA/CTS</b>	1.5:1 v/v
<b>Disolución de CTS</b>	4% CTS de medio peso molecular p/v en AcOH/H <sub>2</sub> O 80:20 v/v
<b>Disolución de PVA</b>	8% p/v
<b>Distancia (cm)</b>	17.5
<b>Flujo (ml/h)</b>	0.5
<b>Voltaje (KV)</b>	12
<b>Temperatura</b>	20-30 °C
<b>Humedad relativa (Hr)</b>	15-60 %
<b>Tiempo de electrohilado (h)</b>	52.5



**Figura 18.** Fibra obtenida con las condiciones de electrohilado estandarizadas descritas en la *Tabla 10*.

La *Figura 19* muestra las micrografías obtenidas para esta colección, las cuales muestran que bajo las condiciones estandarizadas es factible obtener una colección de nanofibras de mayores dimensiones, y fácilmente despegable del colector, la cual conserva su microestructura.



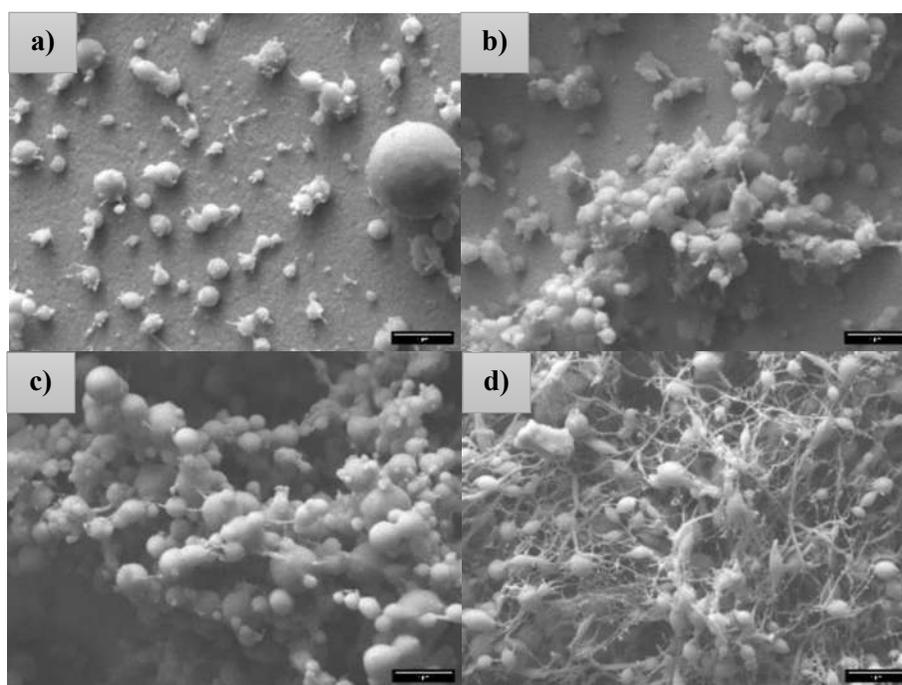
**Figura 19.** a) Micrografía FE-SEM a 10,000x, de las colecciones de nanofibras PVA/CTS 1.5:1 v/v. b) Micrografía FE-SEM, con magnificación de 20 000x, de las colecciones de nanofibras PVA/CTS 1.5:1 v/v desprendidas del colector.

## 7.9 Influencia de los factores ambientales en la obtención de nanofibras de PVA/CTS

Una vez estandarizados los parámetros del proceso y de la disolución, se realizaron los ensayos del proceso de electrohilado sobre colectores de vidrio-ITO llevando a cabo una rampa de tiempo, es decir, la obtención de colecciones a 3 h, 8 h, 16 h y 24 h de tiempo de trabajo, a una temperatura de 14-24 °C y humedad relativa ambiental de 51-99%. El proceso de electrohilado bajo estas condiciones ambientales fue llevado a cabo durante el mes de

septiembre de 2022, en temporada de lluvias. Durante el proceso se observaba, macroscópicamente, la obtención de colecciones con gotículas del disolvente sobre el colector.

Las muestras obtenidas de estos ensayos fueron llevadas a análisis FE-SEM obteniendo las micrografías mostradas en la *Figura 20*, en las cuales se observa que a un tiempo de 3 h de electrohilado se obtiene únicamente la deposición de esferas. A medida que incrementa el tiempo de trabajo, se empieza a observar ligeramente la formación de nanofibras, pero también un incremento de estructuras esféricas; es hasta un tiempo de trabajo de 24 h donde se aprecia mayor formación de nanofibras y menor deposición de defectos.

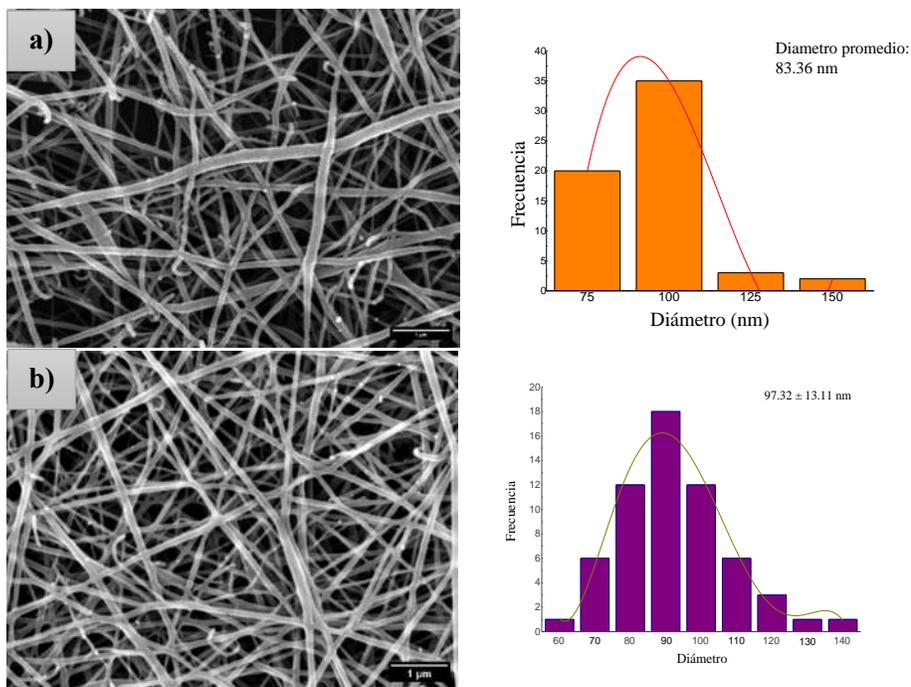


**Figura 20.** Micrografías FE-SEM a 10,000x, de ensayos realizados empleando un colector de vidrio-ITO en un rango de humedad relativa de 51-99% y en un tiempo de trabajo de a) 3 h, b) 8 h, c) 16 h y d) 24 h.

Los resultados obtenidos con los parámetros estandarizados, pero bajo las condiciones ambientales descritas en la *Tabla 10* muestran que no es factible la formación de nanofibras bajo un alto grado de humedad en el ambiente.

## 7.10 Electrohilado de nanofibras PVA/CTS sobre diferentes colectores

Con la finalidad de obtener colecciones de nanofibras que puedan ser fácilmente desprendibles del colector metálico y así poder llevar a cabo caracterizaciones térmicas y pruebas mecánicas, se llevó a cabo el proceso de electrohilado empleando diferentes colectores. Así pues, se empleó papel aluminio y cobre; observándose que la fibra obtenida en colector de cobre muestra mayor facilidad para desprenderse del colector, mientras que, la colección de nanofibra PVA/CTS se adhiere fuertemente a la superficie del papel aluminio. En la *Figura 21*, se muestran las microestructuras FE-SEM obtenidas a partir del empleo de los diferentes colectores. Se observa la formación de nanoarquitecturas en ambos colectores y con diámetro promedio similar; sin embargo, la colección de nanofibras obtenida es desprendible con mayor facilidad del colector de cobre, y la colección de nanofibras presenta una pequeña mejora en la calidad microestructural.

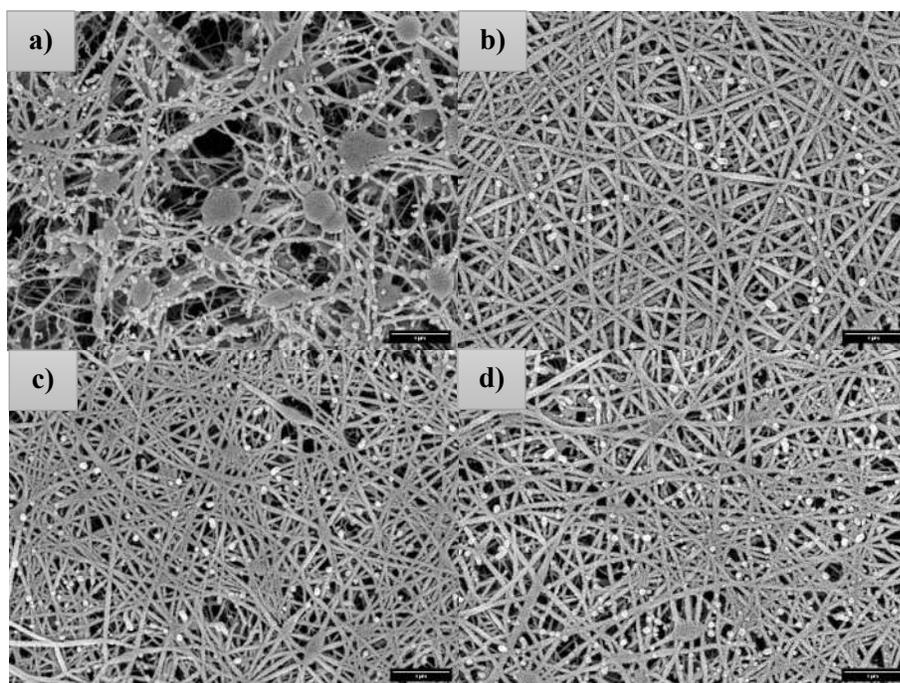


**Figura 21.** Micrografías FE-SEM (a 20,000x) e histograma de distribución de diámetro de nanofibras obtenidas con las condiciones estandarizadas en colectores de a) aluminio y b) cobre.

## 7.11 Electrohilado de nanofibras PVA/CTS sobre vidrio-ITO

Una vez que se logró la estandarización de los parámetros de electrohilado relacionados al equipo y a la disolución, y se había llevado el registro de las condiciones de temperatura y humedad del ambiente en cada ensayo; con una humedad en un rango del 30 al 70% de Hr, se incrementó la temperatura en la cámara de electrohilado, con la intención de disminuir la humedad dentro del equipo, y se repitió el proceso de electrohilado con las condiciones estandarizadas pero empleando vidrio-ITO como colector, debido a que éste se requiere como electrodo de trabajo para la electrodeposición.

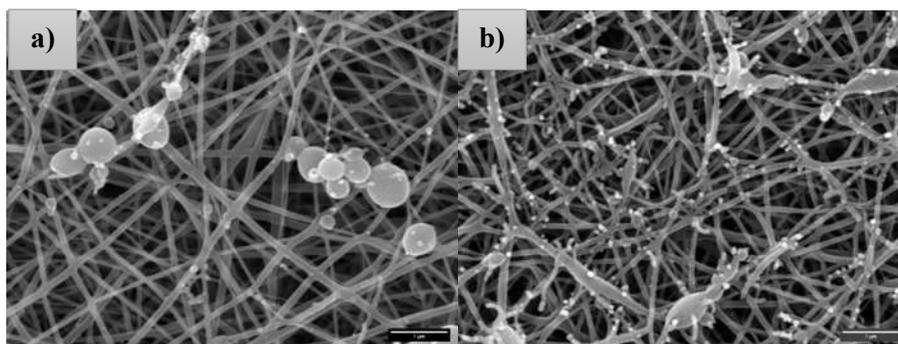
Los ensayos se llevaron a cabo con una Hr un rango de 20 al 40% y con tiempos de trabajo de 8 h, 16 h y 24 h, obteniendo colecciones de nanofibras de alta calidad y libres de defectos que puedan ser empleadas en el proceso de electropolimerización/deposición lo cual se muestra en la *Figura 22*. Se observa que el ajuste en la temperatura, y, por ende, en la humedad relativa, permite la formación de nanofibras de alta calidad cuando la humedad del ambiente es menor a 40%.



**Figura 22.** Micrografías FE-SEM a 10,000x, de ensayos realizados empleando un colector de vidrio-ITO en un rango de humedad relativa de 20-40% y en un tiempo de trabajo de a) 8 h, b) 12 h, c) 16 h y d) 24 h.

## 7.12 Pruebas de solubilidad

La electropolimerización/deposición, de PPy:HA sobre la plantilla de PVA/CTS requiere el uso de acetonitrilo (ACN) como disolvente para la síntesis de PPy, ya que este solvente provee buena adhesión y estabilidad.<sup>52</sup> Con la finalidad de asegurar que la plantilla de PVA/CTS no se desintegraría en ACN y que la morfología microscópica de esta colección no se vería afectada, se llevó a cabo un ensayo colocando una parte de la plantilla de PVA/CTS en ACN durante 30 minutos. La *Figura 23* muestra la micrografía obtenida para la plantilla de PVA/CTS antes y después de haber estado en contacto con el ACN, el resultado fue favorable, demostrando que la microarquitectura de estas colecciones no es afectada por el disolvente.



**Figura 23.** a) Micrografía FE-SEM a 20,000x, de la colección de nanofibras PVA/CTS antes de haber estado en contacto con ACN. b) Micrografía FE-SEM a 20,000x, de colección de la nanofibras PVA/CTS después de haber estado en contacto con ACN.

De esta forma, se observa que la calidad de las colecciones de nanofibras PVA/CTS obtenidas es adecuada para proceder al estudio de funcionalización con polímeros conductores mediante el método electroquímico.

La solubilidad de esta colección de NF-PVA/CTS, también se analizó en agua destilada, metanol, etanol y disolución fisiológica. Los resultados se muestran en la *Tabla 11*. Las nanofibras se mantuvieron sumergidas en los disolventes durante 48 horas, sin embargo, desde el inicio del experimento se observaba el mismo comportamiento. Debido a que la aplicación objetivo del material obtenido es la de fungir como andamio celular, se busca que este sea insoluble en agua, y por ende en disolución fisiológica, con la finalidad

de mantenerse por un periodo considerable en contacto con el organismo, sin desintegrarse.

**Tabla 11.** Resultados cualitativos de los ensayos de solubilidad de NF-PVA/CTS

ID	Disolvente	Solubilidad
S1	Agua destilada	Soluble
S2	ACN	Insoluble
S3	MeOH	Soluble
S4	EtOH	Soluble
S5	Solución fisiológica	Soluble

Debido a la naturaleza química de los monómeros de PVA y CTS, estos polímeros son solubles en disolventes polares. Sin embargo, la escasa solubilidad que presentan las colecciones NF-PVA/CTS en ACN, resulta favorable para la siguiente etapa de la obtención del material planteado, debido a que este disolvente es empleado en el proceso de electropolimerización del PPy.

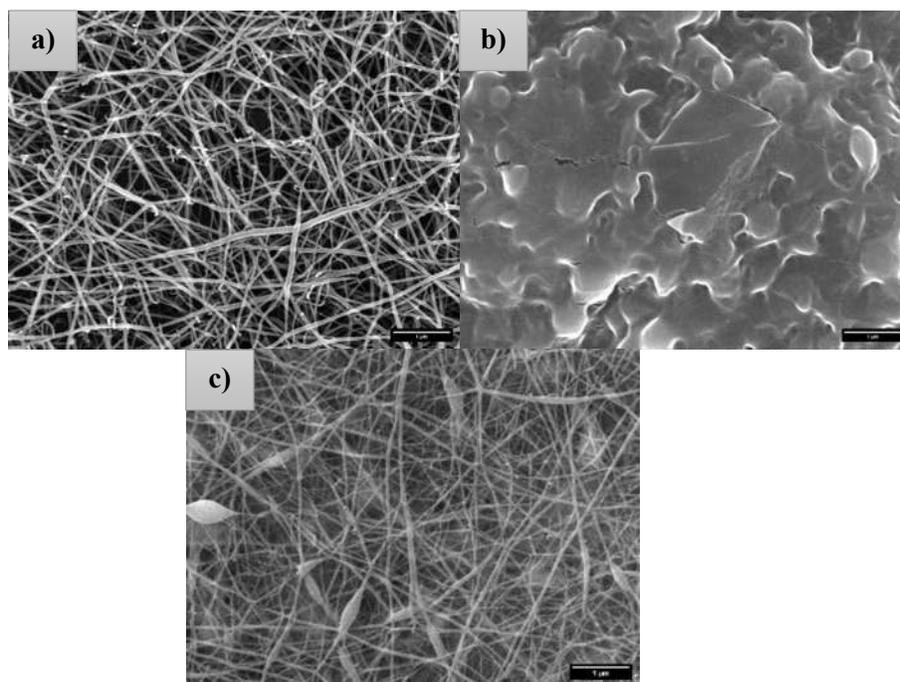
### 7.13 Entrecruzamiento de nanofibras PVA/CTS

Dado que las NF-PVA/CTS son solubles en agua, es necesario llevar a cabo su entrecruzamiento para obtener colecciones de nanofibras estables en medio acuoso. Partiendo de la metodología reportada por el grupo de trabajo para el entrecruzamiento de nanofibras de PVA/sulfato de condroitina/colágeno,<sup>53</sup> se llevó a cabo este ensayo para el entrecruzamiento de las NF-PVA/CTS. Se inició cortando una muestra de la fibra y se pesó el 10% de ácido cítrico del peso de esta para obtener una disolución con ACN; posteriormente se sumergió la muestra en la disolución durante 24 h. Sin embargo, la NF-PVA/CTS continuaba siendo soluble en EtOH.

La disolución de CTS preparada en disolución acuosa de AcOH presenta grupos  $\text{NH}_3^+$  protonados, por lo que se realizó un ensayo en el cual se sumergió la muestra de NF-PVA/CTS en una disolución acuosa de NaOH 14% p/v y se realizaron lavados en agua

destilada hasta neutralizar, para posteriormente continuar el tratamiento en ácido cítrico, pero ahora con alcohol isopropílico en lugar de ACN.<sup>54</sup> De este tratamiento, se obtuvo un compuesto insoluble en agua, sin embargo, el análisis microscópico mostró que se perdió la estructura de las nanofibras (*Figura 24b*).

Derivado de los resultados obtenidos por FE-SEM, se optó por realizar un ensayo de entrecruzamiento con calor y siguiendo de la metodología reportada por Sau *et al.*<sup>55</sup> Sobre una placa de cobre se llevó a calentamiento una colección de nanofibras, durante 40 minutos a 140 °C. Después de este proceso, la colección de NF-PVA/CTS se sumergió en agua destilada durante 12 h, resultando insoluble. Esta colección se secó y fue llevada al análisis mediante microscopía FE-SEM (ver *Figura 24c*), mostrando que la microestructura nanofibrosa se conserva, lo que evidencia que el entrecruzamiento térmico confiere estabilidad en medio acuoso a las nanofibras.

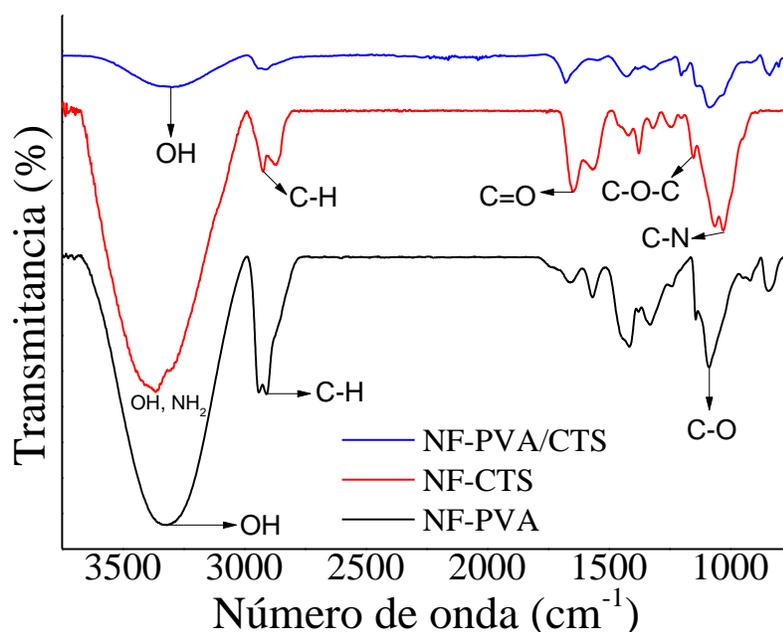


**Figura 24.** Micrografías FE-SEM, a 10000x de magnificación, de a) NF-PVA/CTS previo al tratamiento de entrecruzamiento con NaOH y ácido cítrico, b) muestra obtenida después del tratamiento de entrecruzamiento químico y c) muestra obtenida del entrecruzamiento térmico.

## 7.14 Caracterización por FT-IR de NF-PVA/CTS

Las NF-PVA/CTS fueron analizadas mediante FT-IR además de los polímeros que integran la mezcla, el PVA y el CTS. En la *Figura 25*, se muestra el espectro obtenido para PVA, CTS y la mezcla polimérica de PVA/CTS; donde las vibraciones de estiramiento de los grupos hidroxilo -OH y amino NH<sub>2</sub>, presentes en el PVA y el CTS, aparecen entre 3200-3500 cm<sup>-1</sup>, mismas que se encuentran traslapadas debido a la formación de enlaces por puentes de hidrógeno. Las vibraciones de los grupos alquilo -CH<sub>2</sub> y -CH<sub>3</sub>, aparecen entre 2900 y 3000 cm<sup>-1</sup>. Asimismo, las vibraciones de C-O del PVA son encontradas en aproximadamente 1085 cm<sup>-1</sup>. El CTS, por su parte, exhibe la presencia de grupos acetilo residuales con las vibraciones de la amida I (C=O) alrededor de 1644 cm<sup>-1</sup> y de amida III (C-N) alrededor de 1023 cm<sup>-1</sup>. Asimismo, la banda de absorción en 1150 cm<sup>-1</sup> corresponde a la vibración de C-O-C.

Por su parte, en el espectro de NF-PVA/CTS se observan los picos característicos de las vibraciones -OH y -NH<sub>2</sub> características de PVA y CTS alrededor de 3297 cm<sup>-1</sup>, la cual es menos pronunciada y en un número de onda más bajo, lo cual sugiere un acoplamiento entre los grupos hidroxilo de PVA y CTS. Asimismo, se encuentran algunos remanentes de los grupos funcionales en la mezcla. En la *Figura 25* se muestran los espectros correspondientes a CTS, PVA y la mezcla polimérica PVA/CTS 1.5:1 v/v.

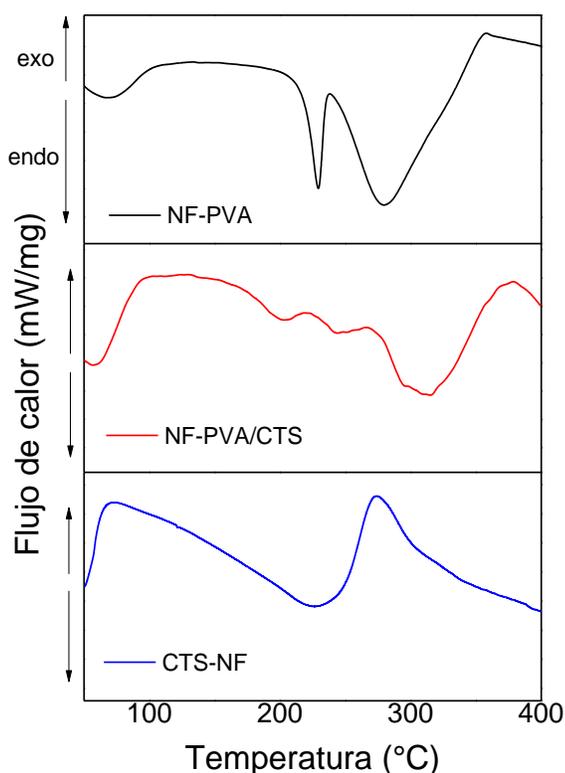


**Figura 25.** Espectros FT-IR de NF-PVA/CTS y los polímeros que integran la estructura, el PVA y el CTS.

### 7.15 Caracterización por DSC y TGA de NF-PVA/CTS

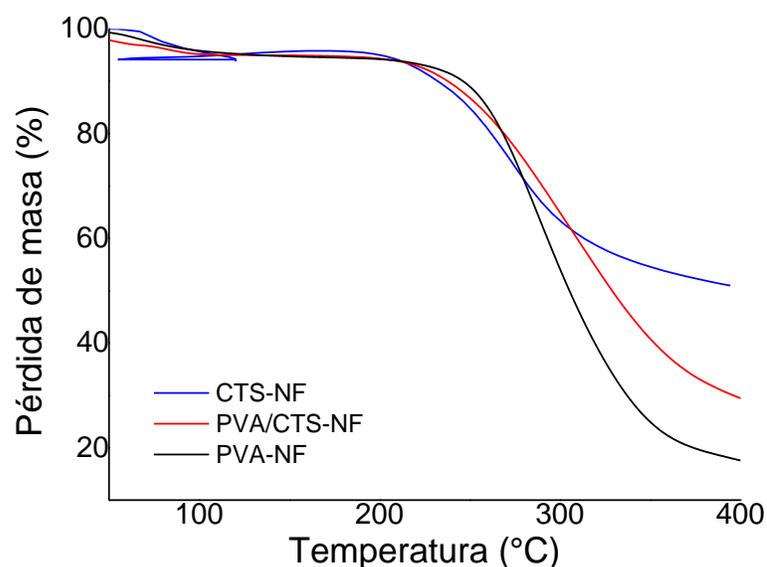
La *Figura 26* muestra los termogramas de PVA y CTS puros, y de la mezcla polimérica PVA/CTS no entrecruzada. En el termograma DSC para CTS, registra un primer evento térmico por debajo de los 100°C, el cual está relacionado con la pérdida de agua ligada, mientras que la segunda exoterma en 297 °C, debido a la degradación térmica del CTS por la deshidratación de las unidades monoméricas del azúcar, por la escisión de los enlaces glucosídicos y la descomposición de unidades de acetiladas y desacetiladas.<sup>56</sup> Por su parte, el PVA también registra la pérdida de agua ligada debajo de los 100 °C; un segundo evento térmico alrededor de 220 °C, relacionado con la fusión de los dominios cristalinos, y en 288 °C la degradación térmica del polímero.<sup>53</sup> Por su parte la mezcla PVA/CTS muestra una señal exotérmica que inicia alrededor de los 100 °C debida a la pérdida de agua ligada, seguida de dos eventos térmicos anchos y obtusos entre 200 y 290 °C, el primero de ellos podría estar relacionados con la fusión de zonas cristalinas del PVA. Sin embargo, al estar desplazado hacia baja temperatura, puede indicar que la microestructura cristalina de las fibras electrohiladas no se desarrolló adecuadamente debido a que la mayoría de las cadenas están

en el estado no cristalino por al rápido proceso de solidificación de cadenas estiradas durante el electrohilado.<sup>57</sup> A su vez, se observa que la mezcla PVA/CTS despliega un ligero aumento en la temperatura de degradación térmica respecto de los componentes individuales, alrededor de los 320 °C. Este comportamiento térmico es indicativo de una mezcla simple entre los componentes, sin llegar a la interacción química entre los componentes, lo que es congruente con la baja estabilidad en medio acuoso de las nanofibras antes del entrecruzamiento.



**Figura 26.** Termogramas DSC para nanofibras de PVA, CTS y PVA/CTS.

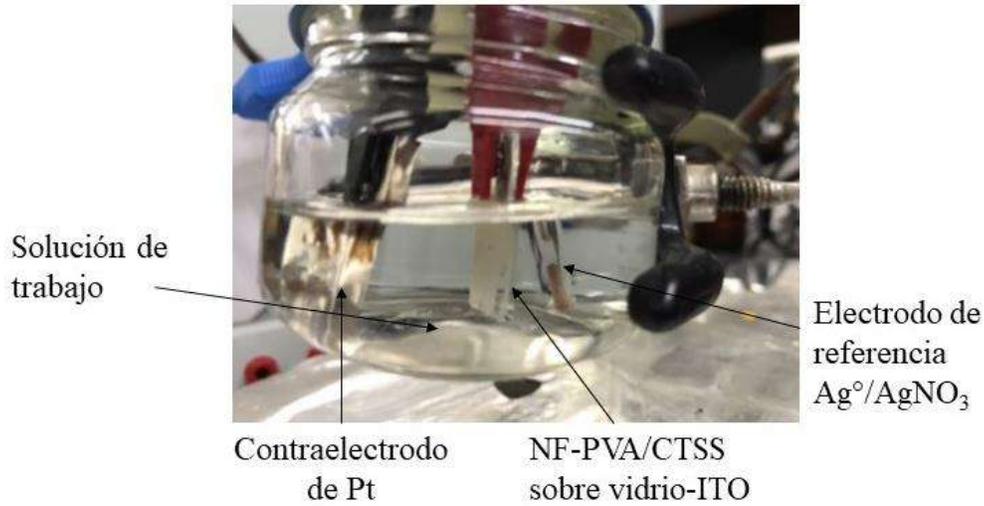
El análisis TGA (*Figura 27*) muestra también la pérdida de agua ligada por debajo de los 100 °C en las tres muestras (PVA y CTS puros y la mezcla PVA/CTS), evidenciando un contenido de humedad muy similar en todas las muestras (entre 5 y 7%). Mientras que, se observa que la degradación térmica de la mezcla se lleva a cabo más lentamente respecto de los componentes puros. Estos resultados son congruentes con el comportamiento observado mediante análisis DSC.



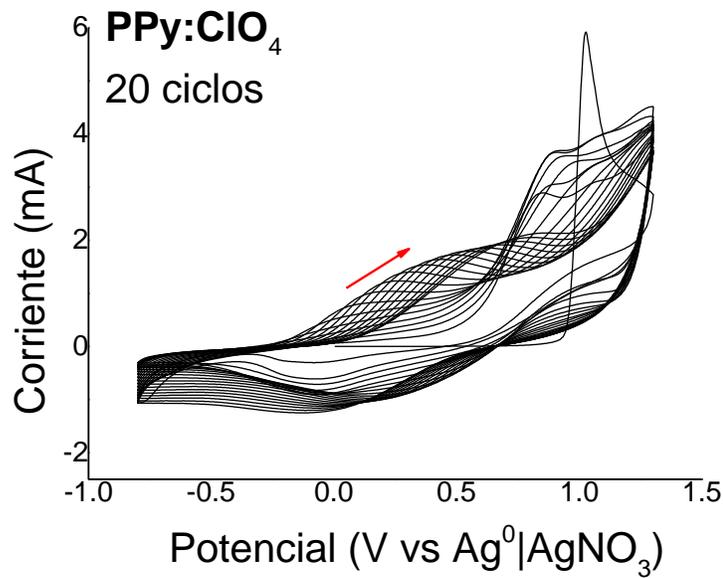
**Figura 27.** Termogramas TGA de nanofibras de PVA, CTS y PVA/CTS.

## 7.16 Polimerización de PPy dopado con AH sobre NF-PVA/CTS

El primer ensayo de electropolimerización de PPy se llevó a cabo empleando una disolución de pirrol 10 mM y TBAP 0.1 M en ACN a 15 ciclos. A manera de control, se obtuvo una película de PPy dopado con el anión perclorato ( $\text{ClO}_4^-$ ). Dicho proceso fue realizado empleando la configuración estándar de tres electrodos, siguiendo un protocolo de potenciodinámica y monitoreado mediante voltametría cíclica. En la *Figura 28* se muestra la celda empleada para la electropolimerización/deposición de PPy dopado. En la *Figura 29* se muestra el voltamperograma obtenido durante el proceso de electropolimerización, en el cual, se observa el comportamiento de redox que característico del PPy frente al potencial dinámico aplicado.



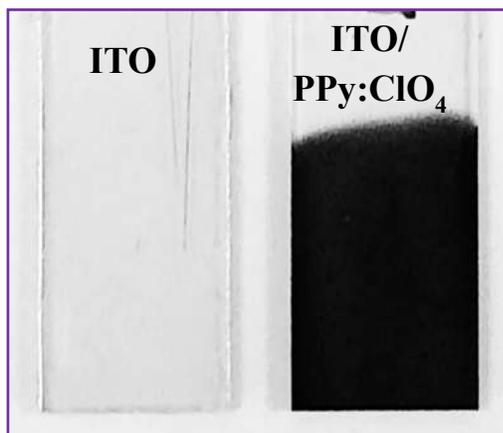
**Figura 28.** Celda empleada para la electropolimerización/deposición de PPy dopado.



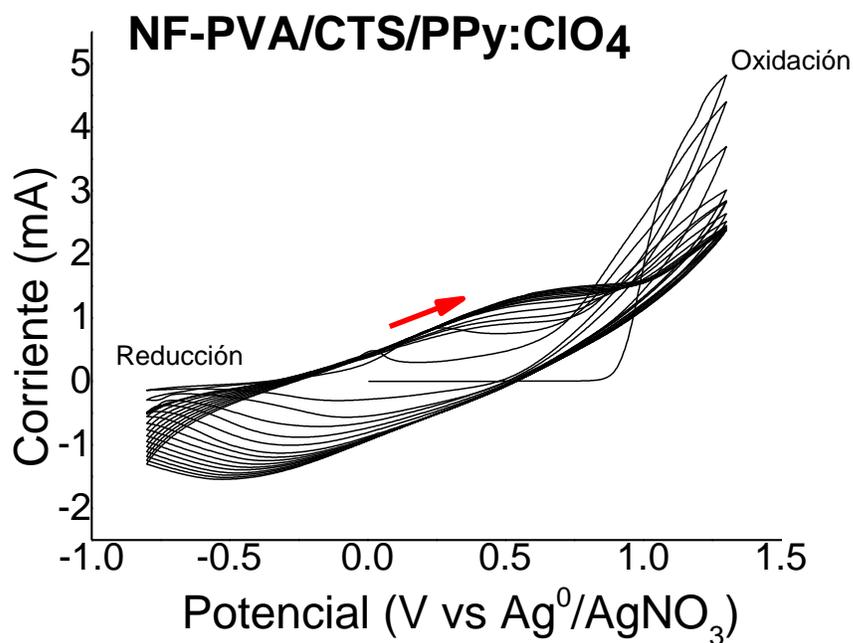
**Figura 29.** Voltamperograma de la electropolimerización de PPy con ClO<sub>4</sub> como dopante.

Las condiciones de electropolimerización de PPy:ClO<sub>4</sub>, fueron extrapoladas para realizar la funcionalización de las colecciones de nanofibras PVA/CTS colectadas en electrodos de vidrio-ITO, mediante este experimento fue posible realizar la electropolimerización/deposición del compuesto electroactivo PPy:ClO<sub>4</sub>. En la *Figura 30* se muestra el electrodo de vidrio-ITO desnudo y el material obtenido de la electropolimerización de PPy:ClO<sub>4</sub>. En la *Figura 31* se muestra el voltamperograma

obtenido, en el cual se aprecia que el carácter redox del PPy no se ve afectado por la presencia de las NF-PVA/CTS.



**Figura 30.** Electrodo de trabajo de vidrio-ITO desnudo e ITO recubierto de PPy:ClO<sub>4</sub>.

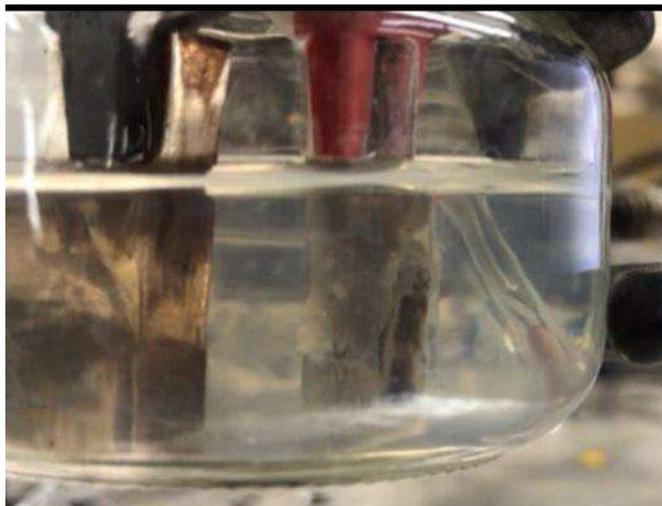


**Figura 31.** Voltamperograma de la electropolimerización/deposición de PPy con ClO<sub>4</sub> como dopante y nanofibras de PVA/CTS sobre colector de vidrio-ITO.

Adicionalmente, es destacable que los valores de potencial, tanto de reducción como de oxidación, no presentan desplazamientos significativos respecto a la construcción de PPy:ClO<sub>4</sub> obtenida en el electrodo de vidrio-ITO sin modificar, es decir si nanofibras PVA/CTS depositadas en su superficie. Otro punto destacable es que, el valor de densidad de

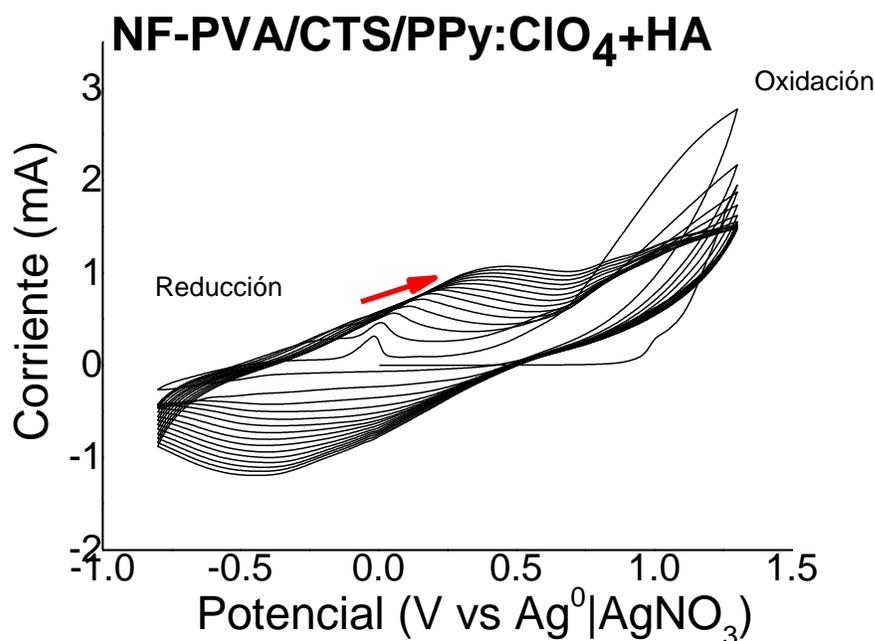
corriente incrementa tras cada ciclo de polimerización, lo que se traduce como el crecimiento de la cadena polimérica de PPy.

En un tercer ensayo se realizó la polimerización de PPy en presencia del biodopante HA, con la finalidad de avanzar hacia la obtención del material final propuesto [NF-PVA/CTS]PPy:HA, para dicho proceso se mantuvo el TBAP como electrolito de soporte con la finalidad de facilitar el proceso de electropolimerización. La *Figura 32* muestra la celda electroquímica empleada y en la *Figura 33* el voltamperograma obtenido del proceso de electropolimerización/deposición de PPy:HA sobre nanofibras PVA/CTS en colector de vidrio-ITO.



**Figura 32.** Celda electroquímica durante el proceso de electropolimerización/deposición de PPy:HA sobre NF-PVA/CTS.

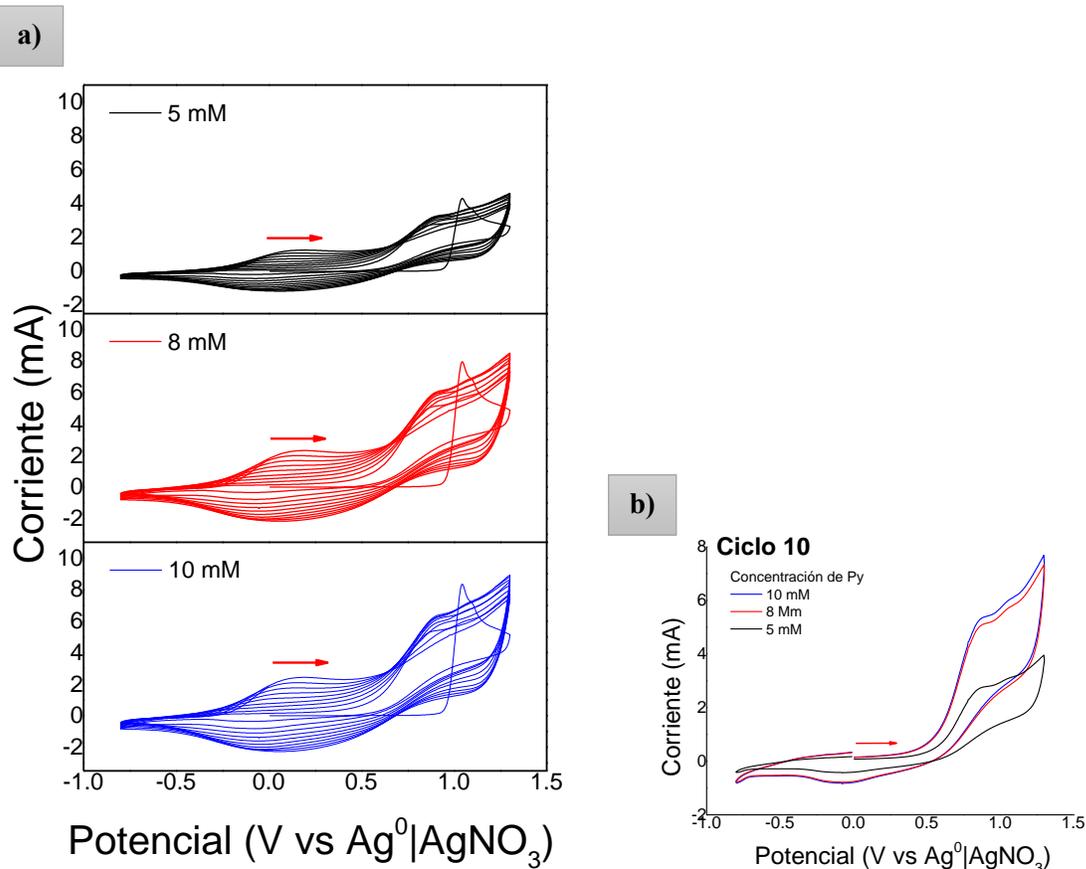
En el voltamperograma del compuesto bioconjugado [NF-PVA/CTS]/PPy:HA es posible apreciar el incremento en la densidad de corriente (a 1.3 V) asociado con el crecimiento del polímero conductor depositado sobre el electrodo modificado con las NF-PVA/CTS. La forma del voltamperograma también indica la reversibilidad electroquímica típica en la matriz de PPy.



**Figura 33.** Voltamperograma de la electropolimerización/deposición de PPy:HA sobre nanofibras de PVA/CTS en colector de vidrio-ITO.

### 7.16.1 Estandarización de la concentración de Py

Para la polimerización de PPy a partir del monómero Py, se tomó como partida una disolución de trabajo con Py 5 mM ,y TBAP 0.1 M como agente dopante, disuelto en ACN. Así pues, partiendo de los parámetros estandarizados por el grupo de trabajo (*Tabla 4*) se llevó a cabo por voltametría cíclica dicho proceso durante 25 ciclos de polimerización. Sin embargo, el voltamperograma no mostraba un comportamiento redox definido. Por lo anterior, se elevó la concentración de Py a 8 mM y 10 mM, obteniendo un voltamperograma más definido con la concentración de Py 8 mM (*Figura 34*).



**Figura 34.** Voltamperogramas de: a) Ensayos realizados para la determinación de la concentración del monómero Py con disoluciones de TBAP 0.1 M en ACN y Py 5 mM, Py 8 mM y Py 10 mM. b) Comparativo entre las tres concentraciones.

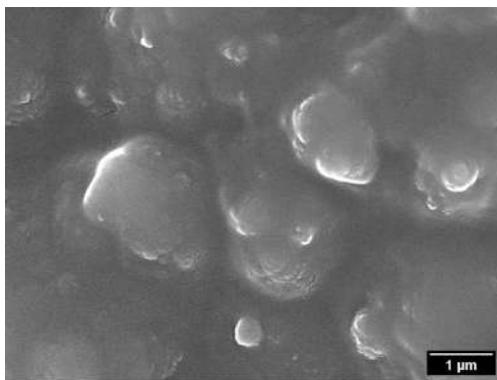
### 7.16.2 Adición de HA a la disolución de trabajo

Para la adición de HA a la disolución de trabajo, se tomó como partida la concentración reportada por Kim *et al.*,<sup>11</sup> agregando 0.16 mg/ml de HA en la disolución. Sin embargo, debido a que el disolvente de la disolución de trabajo es ACN y el HA es insoluble en ACN, se agregaron 25 ml de H<sub>2</sub>O y 75 ml de ACN, teniendo una proporción ACN:H<sub>2</sub>O 75:25 v/v, la cual facilitó la incorporación del HA sin interferir en el proceso de electropolimerización. Posteriormente, la mezcla se llevó a sonicación durante 1 h para lograr incorporar totalmente el HA a la disolución de trabajo.

### 7.16.3 Estandarización del número de ciclos del proceso de polimerización electroquímica

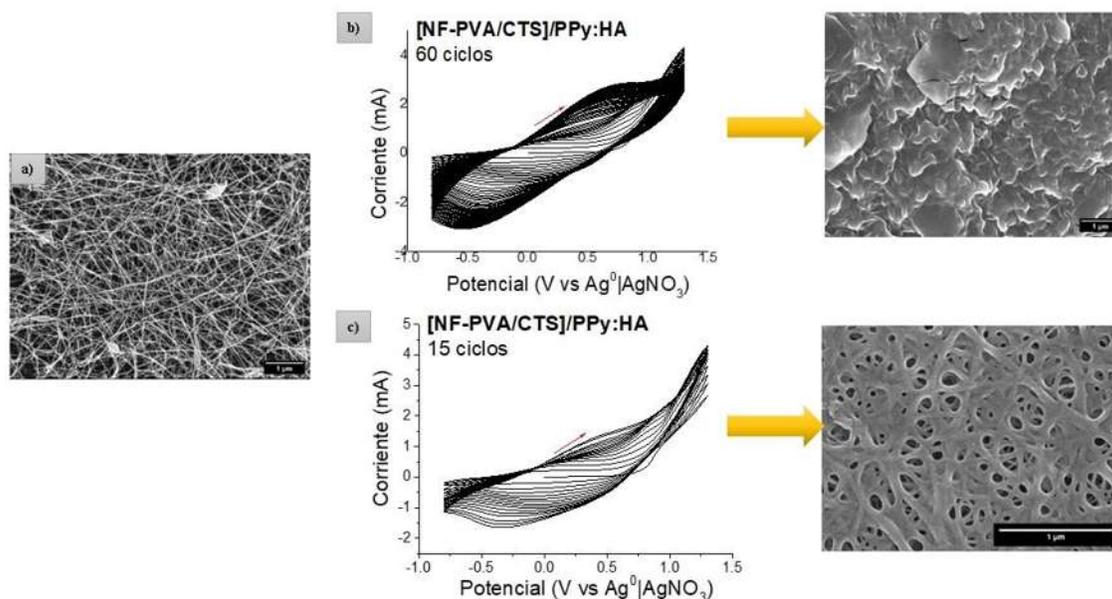
Con la disolución de trabajo conteniendo Py, TBAP y HA, se llevó a cabo el proceso de polimerización electroquímica con las condiciones descritas en la *Tabla 4* empleando 50 ciclos de electrodeposición. Sin embargo, el análisis morfológico por FE-SEM muestra que el número de ciclos empleados es muy elevado, ya que la película de PPy:HA cubrió en su totalidad la estructura propia de las nanofibras, tal y como se observa en la *Figura 36b*, en comparación con la microestructura antes de la electropolimerización. En la *Figura 36a* también se muestra el voltamperograma del proceso, donde se observa un proceso constante de oxidación y reducción del monómero para la formación de PPy.

Por lo anterior, se llevó a cabo el proceso de polimerización electroquímica de PPy:HA empleando las mismas condiciones, pero disminuyendo el número de ciclos a 15 (*Figura 36c*), obteniendo resultados favorables, como lo muestra el análisis morfológico, donde se observa la microestructura del compuesto [NF-PVA/CTS]PPy:HA. Si bien se observan algunas zonas de fusión entre las nanofibras, la microestructura es porosa con fibras de un diámetro promedio de  $101.45 \pm 39.98$  nm. Asimismo, en las nanofibras obtenidas después de la electropolimerización/deposición de PPy:HA sobre la plantilla de NF-PVA/CTS se observa una superficie rugosa a diferencia de la NF-PVA/CTS (*Figura 35a*), lo cual también es propio de estructura del PPy. En la *Figura 35* se muestra una micrografía del PPy.



**Figura 35.** Micrografía obtenida (a 10,000 x) de películas de PPy.

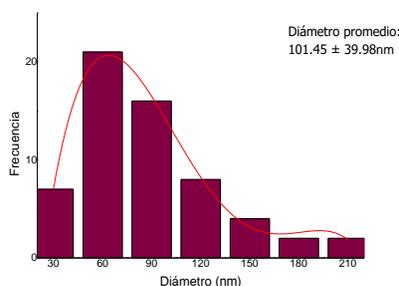
## Electropolimerización de PPy variando el número de ciclos



Py 8 mM, TBAP 0.05 M en ACN, -0.8 a 1.3 V vs  $\text{Ag}^0/\text{AgNO}_3$ ,  $\text{N}_2$ , 0.05 V/s, HA

**Figura 36.** a) Micrografía FE-SEM (a 5,000x) de NF-PVA/CTS. b) Voltamperograma cíclico de polimerización de Py dopado con HA durante 60 ciclos y micrografía FE-SEM (a 5,000x) del material obtenido después de 50 ciclos de polimerización de PPy:HA. c) Voltamperograma cíclico de polimerización de Py dopado con HA durante 60 ciclos y micrografía FE-SEM (a 5,000x) del material obtenido después de 15 ciclos de polimerización de PPy:HA.

Asimismo, en la *Figura 37* se muestra el histograma de distribución de diámetro del material NF-[PVA/CTS]/PPy:HA obtenido, en el cual se tiene un diámetro promedio de  $101.45 \pm 39.98$  nm.



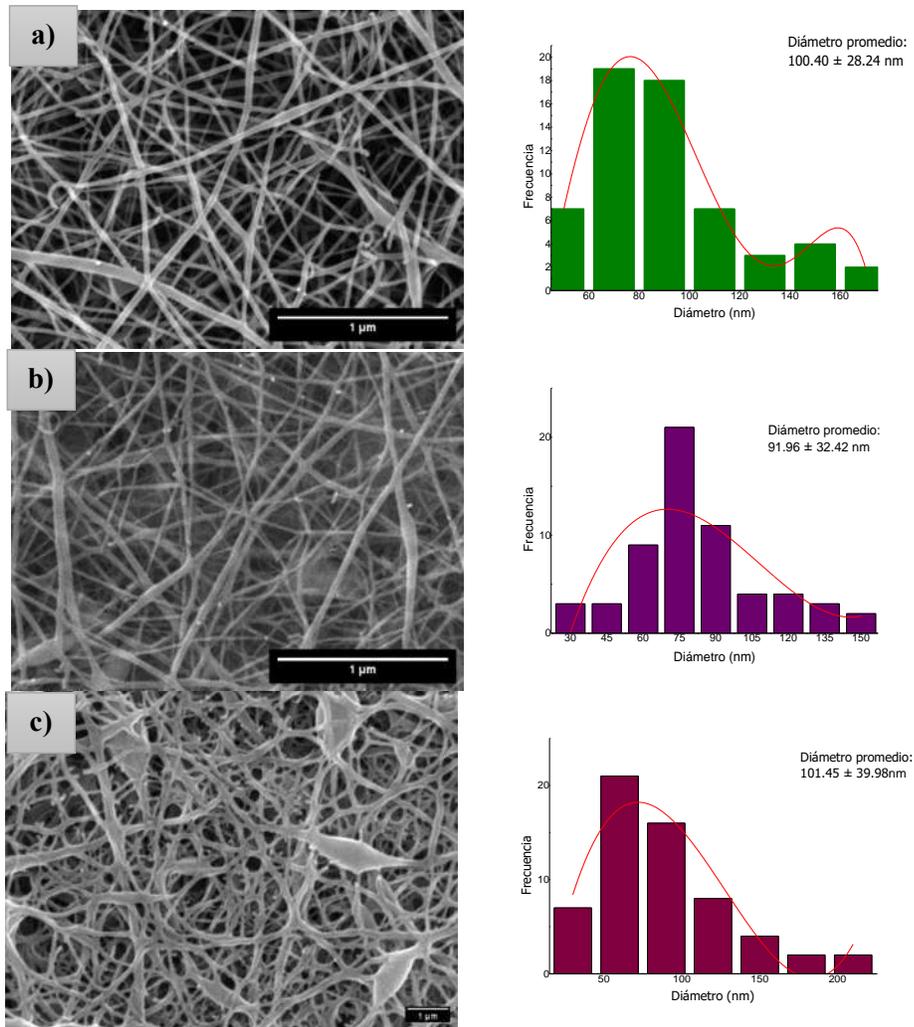
**Figura 37.** Histograma de distribución de diámetro de NF-[PVA/CTS]/PPy:HA obtenido durante 15 ciclos de polimerización de PPy:HA

## 7.17 Obtención del [NF-PVA/CTS]/PPY:HA

Para la obtención de NF-PVA/CTS sobre vidrio-ITO, las cuales funcionaran como plantilla para la electropolimerización/deposición de PPy dopado con HA, se llevó a cabo el proceso de electrohilado de la mezcla de PVA/CTS 1.5:1 v/v con las condiciones previamente estandarizadas.

Posteriormente, con la finalidad de mejorar las propiedades mecánicas y, a su vez, obtener colecciones de nanofibras insolubles en agua; se llevó a cabo el proceso de entrecruzamiento térmico de las colecciones obtenidas sobre el vidrio-ITO previo a al proceso de electropolimerización. Las *Figuras 38 a y b*, muestran que después del entrecruzamiento de las colecciones de nanofibras depositadas sobre el vidrio-ITO, la microestructura se conserva exitosamente, siendo además insolubles en medio acuoso. En las micrografías se observa una reducción en el diámetro de las nanofibras, lo cual, puede ser debido a la perdida de agua en los materiales. De tal forma que, las nanofibras depositadas en el vidrio-ITO y entrecruzadas térmicamente, fueron empleadas para el proceso de electropolimerización.

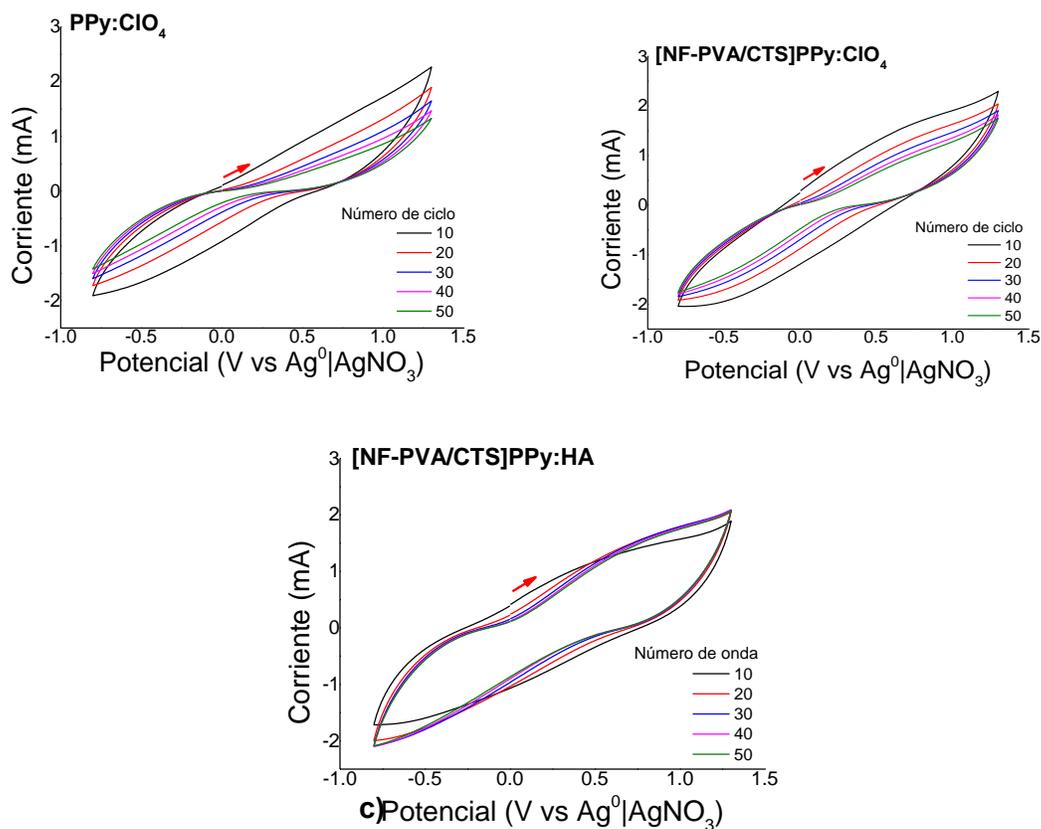
La electropolimerización con PPy:HA de las NF-PVA/CTS entrecruzadas, se llevó a cabo empleando los parámetros descritos en la *Tabla 4* durante 15 ciclos. Como producto de esta electrodeposición el material compuesto [NF-PVA/CTS]/PPy:HA conserva la microestructura nanofibrosa con el polímero conductor en su superficie (*Figura 38c*). Los histogramas de distribución de diámetro de los materiales muestran una disminución en el diámetro promedio de las nanofibras, lo cual puede deberse al tratamiento térmico al que fue sometido la plantilla de NF-PVA/CTS previo a la electropolimerización/deposición.



**Figura 38.** a) Micrografía FE-SEM, a 20,000x, de NF-PVA/CTS obtenida sobre vidrio-ITO e histograma de distribución de diámetro. b) Micrografía FE-SEM a 20,000x, de NF-PVA/CTS obtenida sobre vidrio-ITO después del proceso de entrecruzamiento e histograma de distribución de diámetro. c) Micrografía FE-SEM, a 20,000x, de [NF-PVA/CTS]PPy:HA e histograma de distribución de diámetro.

## 7.18 Caracterización electroquímica de los materiales obtenidos

Los voltamperogramas cíclicos mostrados en la *Figura 39* confirman el proceso de oxidación y reducción reversible, además de mostrar las señales características del PPy, lo cual expone la formación tanto de los compósitos PPy:ClO<sub>4</sub> y su electrodeposición sobre las NF-PVA/CTS, así como del material final fabricado a partir de la polimerización de PPy dopado con HA sobre una matriz polimérica de NF-PVA/CTS.



**Figura 39.** Voltamperogramas cíclicos del proceso de electropolimerización de a) PPy:ClO<sub>4</sub>, b) PPy:ClO<sub>4</sub> sobre NF-PVA/CTS y c) PPy:HA sobre NF-PVA/CTS.

## 7.19 Conclusiones

La estandarización de los parámetros en el proceso de electrohilado de la mezcla polimérica PVA/CTS permite la obtención de nanofibras de alta calidad, las cuales, pueden ser empleadas como plantillas para electropolimerización/deposición de PPy dopado con HA en el desarrollo de biomateriales avanzados. El control de la humedad relativa dentro del equipo de electrohilado y el tipo de colector metálico empleado, es crucial para obtener colecciones de nanofibras de alta calidad.

Las condiciones ensayadas para la electropolimerización de PPy:ClO<sub>4</sub> facilitan el proceso de funcionalización *in situ* mediante electropolimerización sobre las NF-PVA/CTS. Estas condiciones, también son factibles para la preparación del material propuesto como objetivo [NF-PVA/CTS]/PPy:HA.

La pTaolimerización de PPy dopado con HA sobre las NF-PVA/CTS es posible mediante la exploración de las condiciones adecuadas para llevar a cabo dicho proceso; desde los factores que influyen en el proceso de electrohilado de la mezcla polimérica de PVA/CTS, lo cual integra la plantilla estructural sobre la cual será depositado el PPy:HA, hasta los parámetros para la electrosíntesis del polímero conductor biodopado.

La caracterización por voltamperometría cíclica demuestra la formación de PPy:HA depositado sobre NF-PVA/CTS.

---

## **8. BIBLIOGRAFÍA**

---

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Xiong, Y.; Mi, B.; Lin, Z.; Hu, Y.; Yu, L.; Zha, K.; Adriana C. Panayi, A. C.; Yu, T.; Chen, L.; Liu, Z.; Patel, A.; Feng, Q.; Zhou, S.; Liu, G. The role of the immune microenvironment in bone, cartilage, and soft tissue regeneration: from mechanism to therapeutic opportunity. *Military Medical Research*, **2022**, 9, 65. DOI: 10.1186/s40779-022-00426-8
- (2) Eming, S. A.; Wynn, T. A.; Martin, P. Inflammation and metabolism in tissue repair and regeneration. *Science*, **2017**, 356, 1026-1030. DOI: 10.1126/science.aam7928
- (3) Zarrintaj, P.; Seidi, F.; Azarfam, M. Y.; Yazdi, M. K.; Erfani, A.; Barani, M.; Pal Singh Chauhan, N.; Rabiee, N.; Kuang, T.; Kucinska-Lipka, J.; Reza Saeb, M.; Mozafari, M. Biopolymer-based composites for tissue engineering applications: A basis for future opportunities. *Composites Part B*, **2023**, 258. DOI: 10.1016/j.compositesb.2023.110701
- (4) Chen, J.; Fan, Y.; Dong, G.; Zhou, H.; Du, R.; Tang, X.; Ying, Y.; Li, J. Designing biomimetic scaffolds for skin tissue engineering. *Biomaterials Science*, **2023**, 9. DOI: 10.1039/d3bm00046j
- (5) Farshidfar, N.; Fooladi, S.; Nematollahi, M. H.; Iravani, S. Carbon dots with tissue engineering and regenerative medicine applications. *RSC Adv.*, **2023**, 13, 14517-14529. DOI: 10.1039/d3ra02336b
- (6) Jenkins, T. L.; Little, D. Synthetic scaffolds for musculoskeletal tissue engineering: cellular responses to fiber parameters. *Regenerative Medicine*, **2019**, 4, 15. DOI: 10.1038/s41536-019-0076-5
- (7) Wang, P.; Lv, H.; Cao, X.; Liu, Y.; Yu, D., -G. Recent Progress of the Preparation and Application of Electrospun Porous Nanofibers. *Polymers*, **2023**, 15, 921. DOI: 10.3390/polym15040921
- (8) Nemati, S.; Kim, S. -J. Min Shin, Y.; Shin, H. *Nano Convergence*, **2019**, 6, 36. DOI: 10.1186/s40580-019-0209-y
- (9) Alegret, N.; Dominguez-Alfaro, A.; Mecerreyes. 3D Scaffolds Based on Conductive Polymers for Biomedical Applications. *Biomacromolecules*, **2019**. DOI: 10.1021/acs.biomac.8b01382
- (10) Balint, R.; Cassidy, N. J.; Cartmell, S. H. Conductive polymers: Towards a smart biomaterial for tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, **2014**, 10, 2341-2353. DOI: 10.1016/j.actbio.2014.02.015
- (11) Kim, S.; Jang, Y.; Jang, M.; Lim, A.; Hardy, J. G.; Park, H. S.; Lee J. Y. Versatile biomimetic conductive polypyrrole films doped with hyaluronic acid of different molecular weights. *Acta Biomaterialia*, **2018**, 80, 258–268. DOI: 10.1016/j.actbio.2018.09.035
- (12) Burdick, J. A.; Prestwich, G. D. Hyaluronic Acid Hydrogels for Biomedical Applications. *Adv. Mater.* **2011**, H41–H56. DOI: 10.1002/adma.201003963

- (13) Sun, J.; Yang, S.; Wu, J.; He, X.; Zhang, Y.; Ji, J.; Zhang, C.; Liang, Z. *In-Situ* Electro-Polymerization of Fluorescent Electrochromic Thin Films Based on Charge-Transfer Complexes. *Chemical Engineering Journal*, **2022**, 428, 15. DOI: 10.1016/j.cej.2021.132625
- (14) Yan, S.; Fu, H.; Zhang, L.; Dong, Y.; Ouyang, M.; Li, W.; Zhang, C. Conjugated Polymer Multilayer by *in Situ* Electrochemical Polymerization for Black-to-Transmissive Electrochromism. *Chemical Engineering Journal*, **2020**. DOI: 10.1016/j.cej.2020.126819
- (15) Pan, L.; Qiu, H.; Dou, C.; Li, Y.; Pu, L.; Xu, J.; Shi, Y. Conducting Polymer Nanostructures: Template Synthesis and Applications in Energy Storage. *Int. J. Mol. Sci.*, **2010**, 11, 2636-2657. DOI: 10.3390/ijms11072636
- (16) Yasmin, H. Design and Research of Biomaterials. *Coatings*, **2022**, 12, 1684. DOI: 10.3390/coatings12111684
- (17) Ratner, B. D.; Zhang, G. A History of Biomaterials. *Biomaterials Science*, **2020**, 4, 21-34. DOI: 10.1016/B978-0-12-816137-1.00002-7
- (18) Todros, S.; Todesco, M.; Bagno, A. Biomaterials and Their Biomedical Applications: From Replacement to Regeneration. *Processes*, **2021**, 9, 1949. DOI: 10.3390/pr9111949
- (19) Liu, Z.; Wan, X.; Wang, Z. L.; Li, L. Electroactive Biomaterials and Systems for Cell Fate Determination and Tissue Regeneration: Design and Applications. *Adv. Mater.* **2021**, 33. DOI: 10.1002/adma.202007429
- (20) Nikkhah, M.; Rivnay, J. Conductive and Electroactive Biomaterials and Bioelectronics. *Acta Biomaterialia*, **2022**, 139. DOI: 10.1016/j.actbio.2022.01.018
- (21) Rahmati, M.; Mills, D. K.; Urbanska, A. M.; Saeb, M.; Venugopal, J. R.; Ramakrishna, S.; Mozafari, M. Electrospinning for Tissue Engineering Applications. *Progress in Materials Science*, **2021**, 117. DOI: 10.1016/j.pmatsci.2020.100721
- (22) Li, Y.; Zhu, J.; Cheng, H.; Li, G.; Cho, H.; Jiang, M.; Gao, Q.; Zhan, X. Developments of Advanced Electrospinning Techniques: A Critical Review. *Adv. Mater. Technol.*, **2021**, 6. DOI: 10.1002/admt.202100410
- (23) Luraghi, A.; Peri, F.; Moroni, L. Electrospinning for drug delivery applications: A review. *Journal of Controlled Release*, **2021**, 334, 463–484. DOI: 10.1016/j.jconrel.2021.03.033
- (24) Long, Y.-Z.; Yan, X.; Wang, X.-X.; Zhang, J.; Yu, M. Electrospinning: The Setup and Procedure. *Electrospinning: Nanofabrication and Applications*, **2019**, 21–52. DOI: 10.1016/b978-0-323-51270-1.00002-9
- (25) Talikowska, M.; Fu, X.; Lisak, G. Application of conducting polymers to wound care and skin tissue engineering: A review. *Biosensors and Bioelectronics*, **2019**, 135, 50-63. DOI: 10.1016/j.bios.2019.04.001

- (26) Rashki, S.; Asgarpour, K.; Tarrahimofrad, H.; Hashemipour, M.; Ebrahimi, M. S.; Fathizadeh, H.; Khorshidi, A.; Khan, H.; Marzhooseyni, Z.; Salavati-Niasari, M.; Mirzaei, H. Chitosan-based nanoparticles against bacterial infections. *Carbohydrate Polymers*, **2021**, 251, 1.
- (27) Kou, S.; Peters, L. M.; Mucalo, M. R. Chitosan: A review of sources and preparation methods. *International Journal of Biological Macromolecules*, **2021**, 169, 1, 85-94. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.12.005
- (28) Ohkawa, K.; Cha, D.; Kim, H.; A H. Electrospinning of Chitosan. *Macromolecular Rapid Communications*, **2004**, 25, 1600–1605. DOI: 10.1002/marc.200400253
- (29) Pérez-Nava, A.; Espino-Saldaña, A. E.; Pereida-Jaramillo, E.; Hernández-Vargas, J.; Martínez-Torres, A.; Vázquez-Lepe, M. O.; Mota-Morales, J. D.; Frontana Uribe, B. A. González-Campos, J. B. Surface collagen functionalization of electrospun poly(vinyl alcohol) scaffold for tissue engineering. *Process Biochemistry*, **2023**, 126, 1-14. DOI: 10.1016/j.procbio.2022.12.022
- (30) Supaphol, P.; Chuangchote, S. On the electrospinning of poly(vinyl alcohol) nanofiber mats: A revisit. *Journal of Applied Polymer Science*, **2008**, 108, 969–978. DOI: 10.1002/app.27664
- (31) Aslam, M.; Kalyar, M. A.; Raza, Z. A. Polyvinyl alcohol: A review of research status and use of polyvinyl alcohol based nanocomposites. *Polymer Engineering and Science*, **2018**, 58, 2119–2132. DOI: 10.1002/pen.24855
- (32) Al-Tayyar, N. A.; Youssef, A. M.; Al-Hindi, R. R. Antimicrobial packaging efficiency of ZnO-SiO<sub>2</sub> nanocomposites infused into PVA/CS film for enhancing the shelf life of food products *Food Packaging and Shelf Life*, **2020**, 25. DOI: 10.1016/j.fpsl.2020.100523
- (33) Dattola, E.; Parrotta, E. I.; Scalise, S.; Perozziello, G.; Limongi, T.; Candeloro, P.; Coluccio, M. L.; Maletta, C.; Bruno, L.; De Angelis, M. T.; Santamaria, G.; Mollace, V.; Lamanna, E.; Di Fabrizio, E.; Cuda, G. Development of 3D PVA scaffolds for cardiac tissue engineering and cell screening applications. *RSC Advances*, 2019, **9**, 4246–4257. DOI: 10.1039/c8ra08187e
- (34) Enayati, M. S.; Behzad, T.; Sajkiewicz, P.; Rafienia, M.; Bagheri, R.; Ghasemi-Mobarakeh, L.; Kolbuk, D.; Pahlevanneshan, Z.; Bonakdar, SH. Development of electrospun poly (vinyl alcohol)-based bionanocomposite scaffolds for bone tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research: Part A*, **2017**. DOI: 10.1002/jbm.a.36309
- (35) Tommalieh, M. J.; Awwad, N. S.; Ibrahim, H. A.; Menazea, A. A. Gold nanoparticles doped Polyvinyl Alcohol/Chitosan blend via laser ablation for electrical conductivity enhancement. *Journal of Molecular Structure*, **2020**. DOI: 10.1016/j.molstruc.2020.128814
- (36) Premakshi, H. G.; Sajjan, A. M.; Kariduraganavar, M. Y. Development of pervaporation membranes using chitosan and titanium glycine-N,N-dimethylphosphonate for dehydration of isopropanol. *J. Mater. Chem. A*, **2015**, 3, 7, 3952–3961. DOI: 10.1039/c4ta05274a

- (37) Hyder, M. N.; Chen, P. Pervaporation dehydration of ethylene glycol with chitosan–poly(vinyl alcohol) blend membranes: Effect of CS–PVA blending ratios. *Journal of Membrane Science*, **2009**, 340, 171–180. DOI: 10.1016/j.memsci.2009.05.021
- (38) Nathan, K. G.; Genasan, K.; Kamarul, T. Polyvinyl Alcohol-Chitosan Scaffold for Tissue Engineering and Regenerative Medicine Application: A Review. *Mar. Drugs*, **2023**, 21, 304. DOI: 10.3390/md21050304
- (39) Lee, J. Y.; Bashur, C. A.; Goldstein, A. S.; Schmidt, C. E. Polypyrrole-coated electrospun PLGA nanofibers for neural tissue applications. *Biomaterials*, **2009**, 30, 26, 4325–4335. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2009.04.042
- (40) Alhosseini, S. N.; Moztafzadeh, F.; Karkhaneh, A.; Dodel, M.; Khalili, M.; Arshaghi, T. E.; Elahirad, E.; Mozafari, M. Improved cellular response on functionalized polypyrrole interfaces. *Journal of Cellular Physiology*, **2019**, 1-9. DOI :10.1002/jcp.28173
- (41) Hao, L.; Dong, C.; Zhang, L.; Zhu, K.; Yu, D. Polypyrrole Nanomaterials: Structure, Preparation and Application. *Polymers*, **2022**, 14, 5139. DOI: 10.3390/ polym14235139
- (42) Chougule, M. A.; Pawar, S. G.; Godse, P. R.; Mulik, R. N.; Sen, Shashwati; Patil, V. B. Synthesis and Characterization of Polypyrrole (PPy) Thin Films. *Soft Nanoscience Letters*, **2011**, 1, 1, 6–10. DOI:10.4236/snl.2011.11002
- (43) Serafin, A.; Culebras, M.; Oliveira, J. M.; Koffler, J.; Collins, M. N. 3D printable electroconductive gelatin-hyaluronic acid materials containing polypyrrole nanoparticles for electroactive tissue engineering. *Advanced Composites and Hybrid Materials*, **2023**, 6, 109. DOI: 10.1007/s42114-023-00665-w
- (44) Liang, Y.; Goh, J. G.-H. Polypyrrole-Incorporated Conducting Constructs for Tissue Engineering Applications: A Review. *Bioelectricity*, **2020**, 2, 2, DOI: 10.1089/bioe.2020.0010
- (45) Zhisheng; L.; Yanfeng. C.; Hengchen, W.; Fusheng, L.; Yun, H.; Chaohai, W.; Chunhua, F. One-step electrosynthesis of polypyrrole/graphene oxide composites for microbial fuel cell application. *Electrochimica Acta*, **2013**, 111, 366–373. DOI: 10.1016/j.electacta.2013.08.022
- (46) Palma-Cando, A. U.; Frontana-Urbe, B. A.; Maldonado, J. L.; Hernández, M. R. Control of Thickness of PEDOT Electrodeposits on Glass/ITO Electrodes from Organic Solutions and its Use as Anode in Organic Solar Cells. *Procedia Chemistry*, **2014**, 12, 92–99. DOI: 10.1016/j.proche.2014.12.046
- (47) Macdiarmid, A. G.; Epstein, A. J. Secondary doping in polyaniline. *Synthetic Metals*, **1995**, 69, 85-92. DOI: 10.1016/0379-6779(94)02374-8

- (48) Thompson, B. C.; Moulton, S. E.; Richardson, R. T.; Wallace, G. G. Effect of the dopant anion in polypyrrole on nerve growth and release of a neurotrophic protein. *Biomaterials*, **2011**, 32, 15, 3822–3831.
- (49) Heinze, J.; Frontana-Uribe, B. A.; Ludwigs, S. Electrochemistry of Conducting Polymers- Persistent Models and New Concepts. *Chem. Rev.* **2010**, 110, 8, 4724–4771. DOI: 10.1021/cr900226k
- (50) El-hefian, E. A.; Yahaya, A. H. Rheological study of chitosan and its blends: An overview. *Maejo Int. J. Sci. Technol.*, **2010**, 4, 02, 210-220.
- (51) Hwang, J. K.; Shin, H. H. Rheological properties of chitosan solutions. *Korea-Australia Rheology Journal*, **2000**, 12, ¾, 175-179.
- (52) Mametov, R.; Sagandykova, G.; Monedeiro, F.; Buszewski, B.; (2021). Development of controlled film of polypyrrole for solid-phase microextraction fiber by electropolymerization. *Talanta*, **2021**, 232, 122394. DOI: 10.1016/j.talanta.2021.122394
- (53) Delgado-Rangel, L. H.; Hernández-Vargas, J.; Becerra-González, M.; Martínez-Torres, A.; Prokhorov, E.; González Campos, J. B. Development of Collagen/Poly(vinyl alcohol)/Chondroitin Sulfate and Collagen/Poly(vinyl alcohol)/HA Electrospun Scaffolds for Tissue Engineering. *Fibers and Polymers*, **2019**, 20, 12, 2470–2484. DOI: 10.1007/s12221-019-9341-x
- (54) González-Campos, J. B.; Prokhorov, E.; Luna-Bárcenas, G.; Fonseca-García A.; Sanchez, I. Dielectric relaxations of chitosan: The effect of water on the  $\alpha$ -relaxation and the glass transition temperature. *Wiley InterScience*, **2009** 47, 22, 2259–2271. DOI:10.1002/polb.21823
- (55) Sau, S.; Pandit, S.; Kundu, S. *Crosslinked poly (vinyl alcohol)*: Structural, optical and mechanical properties. *Surfaces and Interfaces*, **2021**, 25, 101198. DOI: 10.1016/j.surfin.2021.101198
- (56) Delgado-Rangel, L. H.; Huerta-Saquero, A.; Eufrazio-Garcia, N.; Meza-Villezcás, A.; Mota-Morales, J. D.; Gonzalez-Campos, J. B. (2020). *Deep eutectic solvent-assisted phase separation in chitosan solutions for the production of 3D monoliths and films with tailored porosities*. International Journal of Biological Macromolecules, **2020**, 164, 1, 4084–4094. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.08.254
- (57) Jia, Y.-T.; Gong, J.; Gu, X.-H.; Kim, H.-Y.; Dong, J.; Shen, X.-Y. (2007). *Fabrication and characterization of poly (vinyl alcohol)/chitosan blend nanofibers produced by electrospinning method*. *Carbohydrate Polymer*, **2007**, 67, 403–409. 403–409. DOI: 10.1016/j.carbpol.2006.06.010