

Trabajo Fin de Grado

**“NUEVOS MATERIALES
NANOCOMPUESTOS BASADOS EN
POLIÓXIDO DE ETILENO Y
NANOPARTÍCULAS DE COBRE”**

Grado en Ingeniería Mecánica

Autor: Miguel Díaz Rivadulla

Tutor: Francisco Javier González Benito

Curso 2016/17

Índice

Índice.....	2
Índice de figuras.....	5
Índice de tablas.....	7
Agradecimientos.....	8
Resumen.....	10
Abstract.....	11
1. Introducción.....	12
1.1. Estado del arte.....	15
1.1.1. <i>Electrospinning</i> (electrohilado).....	15
1.1.2. <i>Melt spinning</i> (hilado de un fundido).....	16
1.1.3. <i>Melt blowing</i> (soplado de un fundido).....	17
1.1.4. <i>Force spinning</i> (hilado por fuerza).....	18
1.2. Solution blow spinning (SBS).....	20
1.3. Objetivos.....	24
2. Fundamentos.....	25
2.1. Materiales nanocompuestos.....	25
2.1.1. Introducción.....	25
2.1.2. Tipos de matrices.....	28
2.1.3. Tipos de nanorefuerzos.....	30
2.1.4. Nanocompuestos para aplicaciones biomédicas.....	33
2.2. Materiales antibacterianos.....	35

2.2.1. Introducción	35
2.2.2. Propiedades de los materiales antibacterianos.....	36
2.2.3. Propiedades antibacterianas de las nanopartículas metálicas	37
2.3. Polímeros biomédicos.....	39
2.3.1. Propiedades de los polímeros biomédicos:	39
2.3.2. Tipos de polímeros biomédicos	39
3. PARTE EXPERIMENTAL	41
3.1 Materiales	41
3.1.1. Polióxido de etileno (PEO)	41
3.1.2. Nanopartículas de cobre	43
3.1.3. <i>Otros materiales</i>	44
3.2. Preparación de las muestras para la elección de las condiciones de fabricación	45
3.2.1. Preparación de disolución de PEO	45
3.2.2. Preparación de los films de PEO mediante SBS	46
3.3. Preparación de las muestras con 1% de nanopartículas de cobre	47
3.3.1. Preparación de suspensión de nanopartículas de Cu en disolución de PEO.	47
3.3.2. Preparación de films de PEO/Cu mediante SBS.....	48
3.4. Técnicas instrumentales	49
3.4.1. Microscopía electrónica de barrido (SEM).....	49
3.4.2. Espectrometría infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)	51
3.4.3. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)	53
3.4.4. Análisis de las imágenes del SEM.....	55
4. RESULTADOS	56
4.1. Estudio morfológico para la elección de las condiciones de fabricación.....	56

4.1.1. Efecto de la presión del gas	57
4.1.2. Efecto de la variación de la distancia de trabajo	62
4.2. Elección de las condiciones de fabricación	65
4.3. Estudio morfológico de PEO con 1% de nanopartículas de cobre.....	66
4.3.1. Análisis de los diámetros de las fibras	70
4.4. Calorimetría diferencial de barrido (DSC).....	72
4.5. Espectrometría Infrarroja (FTIR)	75
4.6. Conclusiones	77
5. Anexos.....	78
5.1. Presupuesto	78
5.2. Marco regulador	79
6. Referencias bibliográficas	81

Índice de figuras

<i>Figura 1. Esquema de funcionamiento del electrospinning.</i>	15
<i>Figura 2. Esquema de funcionamiento del melt spinning.</i>	16
<i>Figura 3. Melt blowing: A) Esquema de funcionamiento. B) Fotografía del proceso.</i>	17
<i>Figura 4. Mecanismo de formación de fibras en el forcespinning</i>	18
<i>Figura 5. Esquema de funcionamiento de un sistema de SBS</i>	22
<i>Figura 6. Nanofibras producidas mediante SBS aplicadas sobre piel humana.</i>	23
<i>Figura 7. Nanotecnología</i>	26
<i>Figura 8. Relación área / volumen y tamaño de partículas esféricas idealmente distribuidas.</i>	26
<i>Figura 9. Variación del % de átomos interiores/átomos en superficie con tamaño de partícula.</i>	27
<i>Figura 10. Esquema tipos de nanorefuerzos</i>	30
<i>Figura 11. Fotografía de nanofibras de polióxido de etileno</i>	32
<i>Figura 12. Esquema nanotubos: a) nanotubo de pared simple. b) nanotubo de pared múltiple.</i>	33
<i>Figura 13. Gráfico del Aumento de brotes de bacterias en Europa. Fuente: Centro europeo de prevención y control de enfermedades</i>	36
<i>Figura 14. Esquema de un enlace éter</i>	41
<i>Figura 15. Aspecto de PEG de distintos pesos moleculares.</i>	42
<i>Figura 16. Esquema del mecanismo de bactericida del cobre.</i>	43
<i>Figura 17. Fotografía de SEM modelo Philips XL30.</i>	50
<i>Figura 18. Fabricación de pastillas de bromuro potásico. Izquierda: molde. Derecha: prensa.</i>	52
<i>Figura 19. Pastilla de bromuro potásico situada en el colector utilizado para el SBS.</i>	52
<i>Figura 20. Gráfica del análisis DSC de la muestra con 1% Cu.</i>	54
<i>Figura 21. Fotografías del SEM a 250 aumentos de las muestras PEO 1, PEO 2, PEO 3, PEO 4.</i>	58

<i>Figura 22. Fotografía del SEM que muestra esferulitas en la muestra de PEO 5 .</i>	59
<i>Figura 23. Muestra PEO 1. Izquierda: fotografía del SEM. Derecha: frecuencia de distribución de los diámetros.</i>	60
<i>Figura 24 Muestra PEO 2. Izquierda: fotografía del SEM. Derecha: frecuencia de distribución de los diámetros.</i>	61
<i>Figura 25. Muestra PEO 3. Izquierda: fotografía del SEM. Derecha: frecuencia de distribución de los diámetros.</i>	61
<i>Figura 26. Muestra PEO 4. Izquierda: fotografía del SEM. Derecha: frecuencia de distribución de los diámetros.</i>	61
<i>Figura 27. Fotografías del SEM a 250 aumentos que muestran las zonas planas del PEO 3 y PEO 4.</i>	62
<i>Figura 28. Fotografía del SEM a 250 aumentos de las muestras de PEO 1 y PEO 2.</i>	63
<i>Figura 29. Gráfico de distribución de los diámetros para la elección de las condiciones de fabricación.</i>	64
<i>Figura 30. Fotografías del SEM a 250 aumentos de las muestras de PEO 0% Cu y PEO 1% Cu.</i>	66
<i>Figura 31. Fotografía del SEM a 500 aumentos de la muestra de PEO 1% Cu.</i>	67
<i>Figura 32. Fotografía del SEM a 1500 aumentos de la muestra de PEO 1% Cu.</i>	68
<i>Figura 33. Fotografía del SEM a 1500 aumentos del PEO 1% Cu y detector BSE.</i>	69
<i>Figura 34. Microanálisis con SEM de las nanopartículas de cobre.</i>	69
<i>Figura 35. Frecuencia de distribución de los diámetros del PEO 1% Cu.</i>	70
<i>Figura 36. Gráfica de distribución de los diámetros del PEO 0% Cu y PEO 1% Cu.</i>	71
<i>Figura 37. Termograma del primer calentamiento de las muestras PEO 0% Cu y PEO 1% Cu.</i>	72
<i>Figura 38. Espectro infrarrojo obtenido experimentalmente de las muestras de PEO con 0% y 1% Cu.</i>	76
<i>Figura 39. Desglose del presupuesto.</i>	78

Índice de tablas

<i>Tabla 1. Parámetros para la elección de las condiciones de fabricación.....</i>	<i>57</i>
<i>Tabla 2. Diámetros medios y desviación típica de las muestras PEO 1 y PEO 3.....</i>	<i>59</i>
<i>Tabla 3. Diámetros medios y desviación típica de las muestras de PEO 2 y PEO 4.....</i>	<i>60</i>
<i>Tabla 4. Diámetro medio y desviación típica de las muestras PEO 0% Cu y PEO 1% Cu.</i>	<i>71</i>
<i>Tabla 5. Entalpías y temperaturas de fusión de las muestras de PEO 0% Cu y PEO 1% Cu, obtenidas con DSC.....</i>	<i>73</i>
<i>Tabla 6. Frecuencias de absorción de referencia del PEO obtenidas de la bibliografía.</i>	<i>75</i>

Agradecimientos

No puedo ni quiero dejar pasar esta oportunidad para recordar a todas las personas que me ayudaron durante estos años de carrera.

A mis padres, especialmente a mi madre por el esfuerzo y dedicación puestos en mi educación a lo largo de toda mi vida. A mi padre, quien siempre creyó en mí. A mi abuela, que siempre ha estado ahí, apoyándome. Gracias a mi hermana también, por aguantarme.

A mis amigos, que aunque muchas veces me lo pusieron más difícil, me enseñaron a elegir mis prioridades.

A mi tutor y compañeros del Departamento de Ciencia e Ingeniería de Materiales, gracias por la confianza depositada y por vuestra ayuda desinteresada.

A todas las personas de la Universidad que entendieron el significado de la palabra compañerismo.

Y por supuesto, un recuerdo muy especial para los que se fueron durante este tiempo. En realidad, nunca os marchasteis.

*“Siempre creí que la musa
venía cuando ella quería y es mentira,
llega trabajando.”*

Paco de Lucía.

Resumen

En el presente trabajo se prepara y estudia un nuevo material nanocompuesto con potenciales propiedades antibacterianas. El material está basado en una matriz polimérica de fibras de polióxido de etileno con nanopartículas de cobre en su interior. El cobre, al igual que otros metales, posee propiedades antibacterianas. Gracias a los avances en nanotecnología se disponen de nuevas técnicas y métodos que ayudan a preparar materiales nanocompuestos en los que distintos tipos de nanopartículas quedan uniformemente dispersas en el interior de una matriz. De esta manera se espera fabricar un material nanocompuesto que combine las propiedades de ambos materiales sinérgicamente.

En concreto, en este trabajo, se muestra el proceso de producción de películas finas, “films”, del material nanocompuesto descrito anteriormente y se exponen las condiciones óptimas para fabricar los films, las cuales podrán ser de utilidad en futuras investigaciones. Además, se caracterizan muestras del material y se estudia el efecto de la presencia de nanopartículas en la estructura, morfología y propiedades térmicas del polímero. De los resultados que se obtuvieron, especialmente relevante fue el cambio en la cristalinidad del polímero que produjo la presencia de nanopartículas, por ello se propone realizar más estudios, ya que otras propiedades importantes pudieron verse afectadas.

El método de fabricación propuesto se denomina “*Solution Blow Spinning*”. Se trata de una técnica con la que, dependiendo de las condiciones de trabajo, se pueden producir nanofibras poliméricas. Es una técnica desarrollada recientemente que se encuentra en fase de investigación. En particular, es una técnica que utiliza elementos de otras más conocidas como son el *electrospinning* y el soplado de un fundido.

El hecho de que el polióxido de etileno sea un polímero biocompatible y el cobre un metal con propiedades antibacterianas, hace que su aplicación en biomedicina resulte muy atractiva. Además, debido a la aparición de bacterias cada vez más resistentes a los antibióticos, existe una gran demanda de materiales con propiedades antibacterianas para otras aplicaciones, como las del sector alimentario, en particular, para el empaquetado de alimentos.

Abstract

The aim of the current document is to prepare and study a new nanocomposite material with potential antibacterial properties. This material is based on a polymeric matrix composed of polyethylene oxide with copper nanoparticles inside. Copper, just like other metals, has antibacterial properties. As a result of the progress made in nanotechnology, new techniques and methods to prepare nanocomposite materials with different types of nanoparticles dispersed inside a matrix are available. In this way a nanocomposite material which combines the properties of both materials synergistically is expected to be produced.

In particular, this work, shows the process of production of thin films, of the nanocomposite material described previously and optimum conditions to produce films are set out, which could be useful in future investigations. Moreover, material samples are characterized and nanoparticles effect on structural, morphological and thermal properties of the polymer are studied. From the obtained outcome, specially relevant was the change in the polymer crystallinity produced due to the presence of nanoparticles, thus more studies are proposed to be made, as other important properties could be affected.

The proposed manufacturing method is called "Solution Blow Spinning". With this technique, depending on the working conditions, polymeric nanofibers can be produced. It's a recently developed technique, in research phase. In particular, this technique uses elements of electrospinning and melt blowing, which are well known polymeric nanofibers production methods.

The fact that polyethylene oxide is a biocompatible polymer and copper is a metal with antibacterial properties, makes it's application in biomedicine very attractive. Also, due to the emergence of increasing antibiotics resistant bacteria, there is a big demand for materials with antibacterial properties for other uses, such as food sector, in particular, food packaging.

1. Introducción

El Presente Trabajo de Fin de Grado, TFG, está enmarcado dentro de un proyecto de investigación del Departamento de Ciencia e Ingeniería de Materiales e Ingeniería Química de la Universidad Carlos III de Madrid. Este proyecto consiste en la preparación de nuevos materiales nanocompuestos con propiedades antibacterianas mediante un nuevo método de fabricación conocido como *Solution Blow Spinning, SBS*. Mediante este método se pueden producir fibras de tamaño submicrónico con dispersión uniforme de nanopartículas en su interior. En particular, en este TFG se procesó un material basado en una mezcla de polióxido de etileno, PEO, con nanopartículas de cobre uniformemente dispersas su interior.

La creciente preocupación por el auge de los microorganismos resistentes a los antibióticos, ha elevado el esfuerzo por la búsqueda de materiales antibacterianos que sean efectivos para su aplicación en áreas tan diversas como la industria textil, alimentación animal, industria médica, farmacéutica y cosmética.

El proceso por el cual las bacterias se hacen más resistentes es un fenómeno natural generalmente producido por modificaciones genéticas. Este fenómeno natural se ve acelerado por el mal uso y el abuso de los medicamentos antimicrobianos tanto en personas como animales, el mal control de las infecciones, las condiciones sanitarias deficientes y la manipulación inadecuada de los alimentos. [1]

La resistencia de las bacterias a los antibióticos provoca un incremento mortalidad, alarga los tratamientos y estancias hospitalarias. Los tratamientos se vuelven más difíciles ya que los antibióticos son menos eficaces, lo que constituye una pesada carga económica para los sistemas de salud.

La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, AEMPS, estima que más de 25.000 muertes anuales en la UE son debidas a bacterias multirresistentes y se calculan unos costes añadidos de aproximadamente 1.500 millones de euros por cuidados hospitalarios. [2]

La lucha contra la resistencia a los antibióticos reviste alta prioridad para la Organización Mundial de la Salud, OMS. La Asamblea Mundial de la Salud aprobó en mayo de 2015 un plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos, incluida la resistencia a los antibióticos. En dicho plan se hace hincapié en la complejidad del problema y la necesidad de acciones coordinadas entre distintas ramas de la ciencia.

Desde el punto de vista de la ingeniería se trabaja en desarrollar materiales que no puedan ser colonizados por bacterias. Se trata de una estrategia muy efectiva para combatir la proliferación de microorganismos multirresistentes y prevenir enfermedades transmitidas por bacterias patógenas.

En los últimos años, gracias a los avances en nanotecnología, han atraído especial atención por parte de investigadores, las nanopartículas de plata, cobre, óxido de zinc y óxido de cobre. Estos materiales poseen propiedades antibacterianas. Además su estabilidad y bioseguridad los hace ideales para aplicaciones médicas. Una solución consiste en dispersar nanopartículas de estos materiales en una matriz polimérica, y producir un material con propiedades antibacterianas.

El uso de nanopartículas optimiza las propiedades del polímero más que las micropartículas ya que son partículas tan pequeñas que tienen más áreas específicas por lo que, en general, potencian más sus características en el polímero [3]. El interés de aplicar esta tecnología a los polímeros reside la versatilidad de los mismos.

El PEO es un polímero termoplástico, biocompatible y poroso, lo que le convierte en un excelente candidato para utilizarse en aplicaciones biomédicas. Concretamente en ingeniería de tejidos (*scaffolds*) o apósitos para heridas. Una peculiaridad del PEO es que es soluble en agua y en otros disolventes comunes como la acetona (pertenece a familia de los poliéteres), por ello también se utiliza como catalizador biológico. [4]

El hecho de otorgar propiedades antibacterianas a un tejido biocompatible es un método eficaz de protección frente a las bacterias multirresistentes. Sin embargo, debido a la complejidad técnica de los métodos de fabricación existentes hasta la fecha, estos materiales no han sido implantados de forma generalizada.

La mayoría de las soluciones propuestas hasta la fecha para la fabricación de nanofibras de PEO y su aplicación en biomedicina, utilizan la técnica del *electrospinning* [5, 6, 7, 8]. Este método presenta inconvenientes en cuanto a las superficies de aplicación. La nueva técnica que se presenta en este trabajo, el *SBS*, no presenta este inconveniente, pues permite la producción de fibras *in situ* sobre cualquier superficie.

El *SBS* se trata de una técnica relativamente nueva, que aún se encuentra en fase experimental. El principal reto es optimizar los parámetros de procesado que nos permiten relacionar las propiedades del producto final con las de los componentes y las condiciones de fabricación.

En este proyecto se buscarán las condiciones óptimas para fabricar un material nanocompuesto basado en polióxido de etileno con dispersión de nanopartículas de cobre, que pueda ser aplicado a la industria biomédica.

El proyecto consta de dos partes:

- Búsqueda de condiciones óptimas para la fabricación de fibras de PEO mediante *SBS*.
- Estudio del efecto de la presencia de nanopartículas de cobre en la morfología, estructura y propiedades térmicas del PEO.

1.1. Estado del arte

Los principales métodos de obtención de micro y nano fibras poliméricas utilizados en la actualidad son “*melt spinning*”, “*melt blowing*” y “*electrospinning*”. Hay otros métodos menos conocidos, que han sido desarrollados recientemente y que se encuentran en fase de investigación, estos son “*blow spinning*” y “*force spinning*”.

1.1.1. *Electrospinning* (electrohilado)

Este método consiste en hacer girar soluciones de polímero a través de altos campos eléctricos. Cuando las fuerzas eléctricas vencen a las fuerzas de tensión superficial del polímero, la solución polimérica es expulsada a través de un capilar, el disolvente se evapora y las fibras poliméricas impactan al azar en el colector.

Los polímeros son dieléctricos, en presencia de un campo eléctrico pueden considerarse como una especie de dipolos eléctricos. Estos dipolos cambian de posición por acción de fuertes campos eléctricos lo que explicaría por qué ocurre el estiramiento coaxial de la solución. [9]

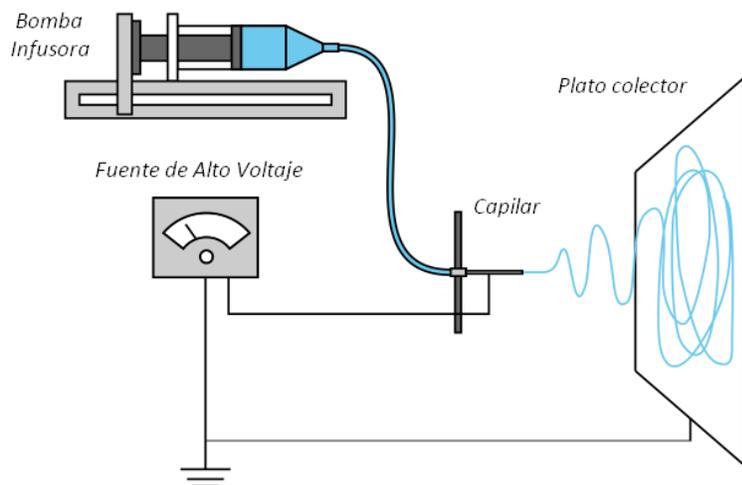


Figura 1. Esquema de funcionamiento del electrospinning.

La conductividad de la solución juega un papel importante en el *electrospinning*, a mayor conductividad de la solución, se requiere mayor fuerza eléctrica para el estiramiento del chorro, lo que promueve una reducción en el diámetro de las fibras.

Los parámetros que determinan la morfología de las nanofibras son: la concentración de polímero, el efecto dieléctrico de la disolución, el voltaje, flujo de salida, distancia entre capilar y colector, parámetros ambientales tales como la humedad o la temperatura [10].

Las nanofibras obtenidas tienen un diámetro de 100 a 500 nm.

1.1.2. *Melt spinning* (hilado de un fundido)

El polímero se funde para formar una disolución. El material fundido se deposita en un recipiente y se hace pasar, mediante una bomba, por unos pequeños orificios. Las fibras que salen por los orificios se juntan formando hebras. El número de orificios determinará el tamaño final de la hebra. En la Figura 2 puede verse el esquema de funcionamiento. Según van saliendo las fibras se enfrían mediante un chorro de aire.

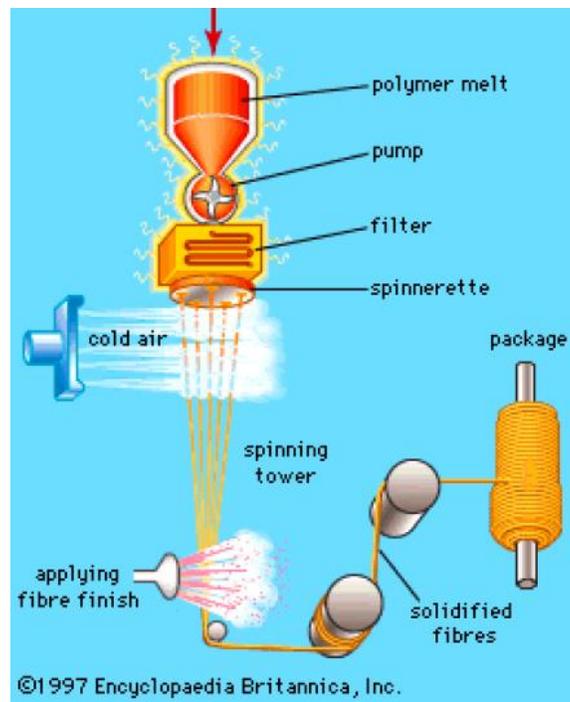


Figura 2. Esquema de funcionamiento del *melt spinning*.

Las fibras producidas por este método superan los 2 micrómetros [11]. El principal inconveniente que tiene, es la limitación en cuanto a materiales que pueden ser procesados, ya que no todos pueden soportar el proceso [12]. Las fibras producidas mediante *melt spinning* son de nylon, polietileno (PE), polipropileno (PP) y poliéster.

1.1.3. *Melt blowing* (soplado de un fundido)

Es un método de fabricación de micro y nano fibras poliméricas. En este método gránulos de polímero termoplástico se introducen en una tolva extrusora. El polímero se funde por la presión ejercida por la tolva. A continuación, el polímero fundido es bombeado hacia una matriz. La bomba permite regular el flujo de material fundido. En la matriz se introduce aire caliente a alta velocidad que sopla el polímero hacia el exterior. De la matriz salen las fibras que impactan sobre un colector.

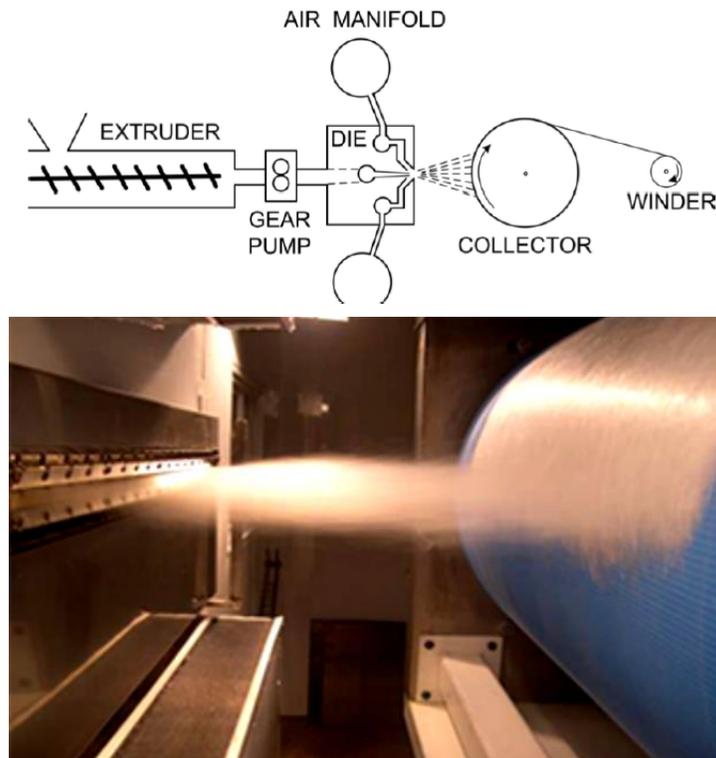


Figura 3. *Melt blowing*: A) Esquema de funcionamiento. B) Fotografía del proceso.

Las ventajas que tiene el *melt blowing* frente a otros métodos son la alta productividad y relativa sencillez. Se utiliza en la fabricación de filtros, productos de higiene y prendas de vestir, entre otros [13]. Los principales tipos de polímeros procesados por este método son: PP, PE, poliésteres, poliuretano, poliamidas y policarbonatos. Las fibras obtenidas tienen un diámetro que va desde 0,3 a 20 micrómetros [14].

1.1.4. Force spinning (hilado por fuerza)

Es un método de producción de fibras poliméricas *in situ* desarrollado recientemente que utiliza fuerzas centrífugas para producir nanofibras.

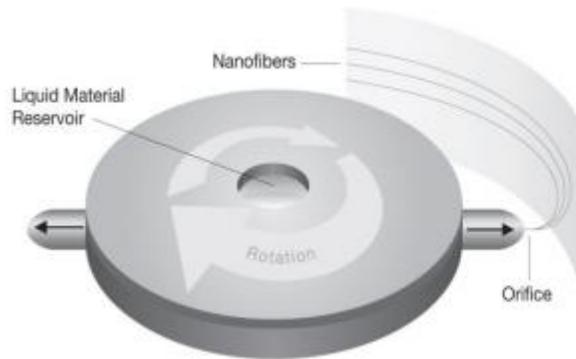


Figura 4. Mecanismo de formación de fibras en el forcespinning

El funcionamiento es el siguiente: se hace girar un centrifugador con una solución polimérica en su interior. La solución polimérica es expulsada mediante fuerza centrífuga a través de un conjunto de orificios que tiene el centrifugador tal y como se observa en la Figura 4.

La solución polimérica viaja por el ambiente, y antes de que impacte en el colector, los disolventes se evaporan. Sobre el colector se forma una fina red o tela compuesta por fibras poliméricas.

Las fibras se forman debido a la acción de la fuerza centrífuga aplicada por el centrifugador y a la fuerza cortante actuando en la punta de los orificios de salida.

La formación de fibras y la morfología del tejido dependen por tanto de la concentración de polímero, la viscosidad, la velocidad de giro y la distancia entre el centrifugador y el colector.

Las nanofibras tienen un diámetro similar a las del *electrospinning*, con la ventaja de que no es necesario aplicar una diferencia de potencial entre la salida y el colector, por lo que puede aplicarse a más tipos de superficies. Además tiene un mayor ratio de producción de fibras y es más barata. Sin embargo, el hecho de que el colector deba estar especialmente diseñado confiere al SBS mayor versatilidad en cuanto superficies de aplicación. [15]

1.2. Solution blow spinning (SBS)

El *solution blow spinning* es un método alternativo de producción de micro y nano fibras poliméricas patentado en 2014.

La principal novedad es que pueden producir *in situ* fibras de diámetro entre uno y dos órdenes de magnitud más pequeñas que en otros métodos más convencionales como *melt spinning* o *melt solution*. El diámetro de las nanofibras producidas por SBS es similar a las del *electrospinning* [16].

Elementos que componen el sistema de SBS:

- Máquina compresora de gas.
- Máquina inyectora (en nuestro caso, un aerógrafo).
- Boquilla central y capilar (forman parte de máquina inyectora).
- Colector

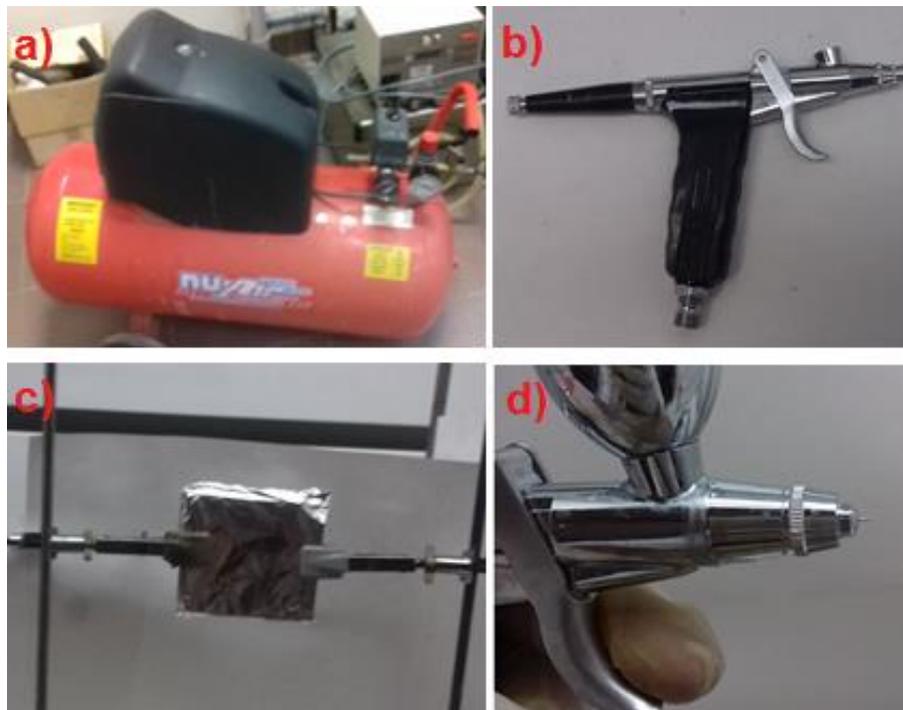


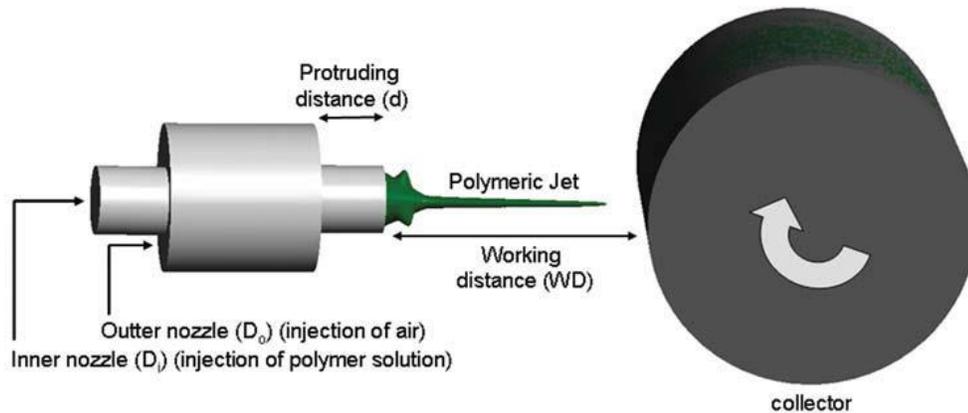
Figura 5. Elementos del sistema SBS: a) Máquina compresora. b) Aerógrafo. c) Colector. d) Boquilla y capilar.



Figura 6. Sistema SBS: Departamento de Ciencia e Ingeniería de Materiales, UC3M.

Funcionamiento:

Una disolución polimérica es extruida por la máquina inyectora, en nuestro caso un aerógrafo comercial, mientras que aire a alta presión se inyecta desde el exterior, haciendo circular la disolución polimérica, a flujo constante, a través de un capilar localizado dentro de la boquilla. La disolución es estirada por la alta presión del gas comprimido que proviene del conducto externo, y sale por una abertura hacia la superficie del colector. Los disolventes de la disolución polimérica se evaporan en el ambiente y las fibras poliméricas impactan sobre el colector [17]. Como se observa en la Figura 5, en nuestro experimento se utiliza un colector plano.



- **Figura 7.** Esquema de funcionamiento de un sistema de SBS

El hecho de que en nuestro sistema se utilice un aerógrafo comercial como máquina inyectora da idea de la simplicidad del método. No obstante, es más conveniente utilizar una máquina inyectora, ya que permite controlar la velocidad de alimentación de la disolución y ésta influye en el diámetro de la fibra.

Parámetros que influyen en el proceso:

- Presión del gas suministrado por la máquina compresora.
- Velocidad de alimentación de la disolución.
- Distancia de trabajo. Es la distancia entre la salida de la máquina inyectora y el colector.
- Temperatura.
- Concentración de polímero en la disolución. Se ha demostrado que aumentar la concentración de polímero produce un aumento del diámetro de la fibra. [18].
- Distancia entre el capilar y la pieza central (en la máquina inyectora utilizada esta distancia es fija (1mm)).

Ventajas del SBS:

- Elevado ratio de producción de fibras.
- Los disolventes no están limitados por su constante dieléctrica.
- Mayor versatilidad en cuanto a superficies de aplicación *in situ*. Por ejemplo, puede aplicarse sobre piel humana, metal o tejidos.

- Sencillez del método y bajo coste de los materiales.

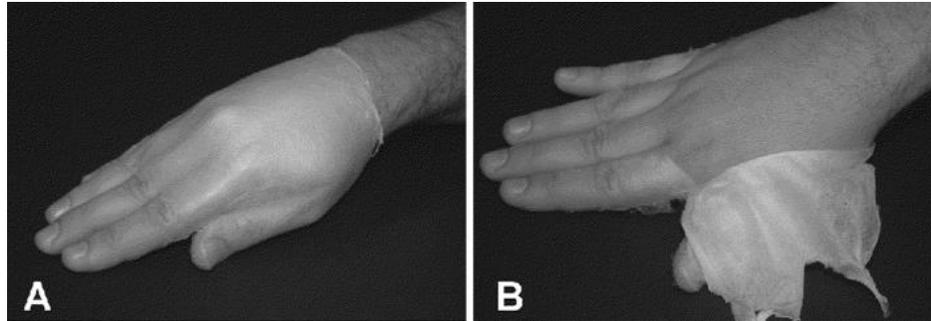


Figura 8. Nanofibras producidas mediante SBS aplicadas sobre piel humana.

El *electrospinning* sigue siendo el método de producción de nanofibras más utilizado a gran escala, sin embargo el *SBS* tiene propiedades novedosas que podrían aumentar el rango de utilización de las nanofibras y aplicarse sobre superficies en las que hasta la fecha no había sido posible, como se observa en la Figura 8.

1.3. Objetivos

- Determinación de las condiciones óptimas de fabricación de nanofibras de PEO mediante SBS.
- Preparación mediante SBS de un material nanocompuesto basado en PEO con nanopartículas cobre.
- Caracterización de las propiedades y estudio del efecto de la presencia de nanopartículas de cobre en la morfología, estructura y propiedades térmicas del PEO.

2. Fundamentos

2.1. Materiales nanocompuestos

2.1.1. Introducción

Un nanomaterial compuesto o nanocompuesto es un material compuesto o multifásico donde una de las fases tiene una, dos o tres dimensiones en la nanoescala. Existe cierto debate sobre a qué materiales se les puede aplicar el término “nano”. Una definición lógica sitúa la nanoescala entre la microescala (1 μm) y la escala atómica/molecular (alrededor de 0.2 nm). No obstante, algunos autores restringen su tamaño de 1 a 100 nm. [19]. En este trabajo la situamos entre 1 μm y 0.2 nm.

Al igual que ocurre con los materiales compuestos, en un material nanocompuesto las propiedades del material final son superiores a las que tienen los materiales constituyentes por separado. Sin embargo los materiales nanocompuestos presentan propiedades novedosas que los diferencian de los materiales compuestos convencionales. Es por ello que son foco de interés de la investigación científica moderna.

El concepto de combinar propiedades y mejorar las características de los materiales mediante la obtención de nanocompuestos multifásicos no es reciente. A lo largo de la historia distintas civilizaciones han empleado materiales nanocompuestos. Un ejemplo son los mayas. Estos utilizaban pinturas basadas en una matriz cerámica (arcilla), colorantes orgánicos y nanopartículas metálicas. Las nanopartículas se formaban al realizar un tratamiento térmico de eliminación de impurezas de la arcilla (Mn, Fe, Cr). Sin duda, el tamaño y contenido de estas nanopartículas influenciaba en las propiedades ópticas finales de la pintura.

En la actualidad diseñar materiales por debajo de 100nm es un reto para las distintas ramas de la ciencia. Desde el punto de vista ingenieril, se trata de una escala muy pequeña y las herramientas que se utilizaban para la microfabricación no valen, mientras que para los químicos más de 10 nm es una escala extraordinariamente grande. Aunar esfuerzos entre las distintas ramas de la ciencia es uno de los principales retos de la nanotecnología.



Figura 9. Nanotecnología

Las principales causas de las diferencias de comportamiento en sus propiedades respecto a los materiales compuestos convencionales son principalmente dos:

1ª. Incremento de la superficie específica de las nanopartículas: La relación entre el área y el volumen se hace extremadamente elevada en partículas de menos de 100nm. Así, un pequeño volumen de refuerzo puede llevar a una excepcionalmente alta área interfacial en el material nanocompuestos. La interfaz controla el grado de interacción entre la matriz y el relleno, y de esta manera se controlan las propiedades del compuesto final. Uno de los mayores retos de la nanotecnología es controlar esta interfaz. [3]

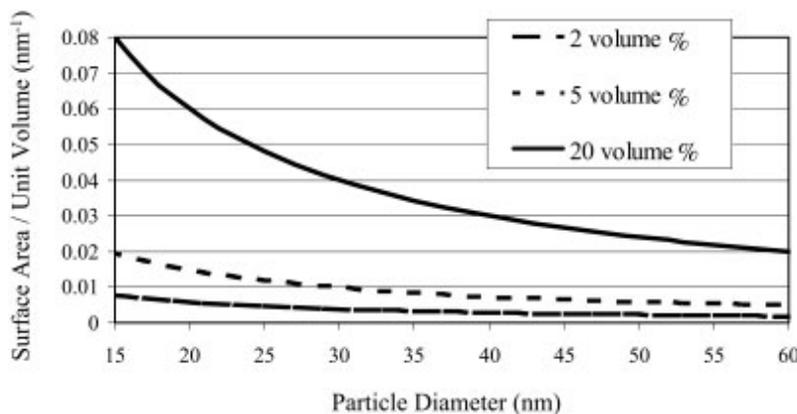


Figura 10. Relación área / volumen y tamaño de partículas esféricas idealmente distribuidas.

2ª. El confinamiento cuántico de los electrones dentro de la nanopartícula: La extraordinaria área superficial de las nanopartículas origina una redistribución de los átomos, incrementándose la fracción de átomos que se encuentran en su superficie. El número de átomos en la superficie crece parabólicamente, a medida que la nanopartícula es más pequeña. En la Figura 11 puede verse esta la relación. Así, una nanopartícula de tamaño 1nm tiene más del 90% de sus átomos situados en su superficie. Los átomos situados en la superficie de las nanopartículas son inestables, tienen un mayor nivel energético y las fuerzas de atracción de los átomos situados en el interior de la masa son muy débiles.

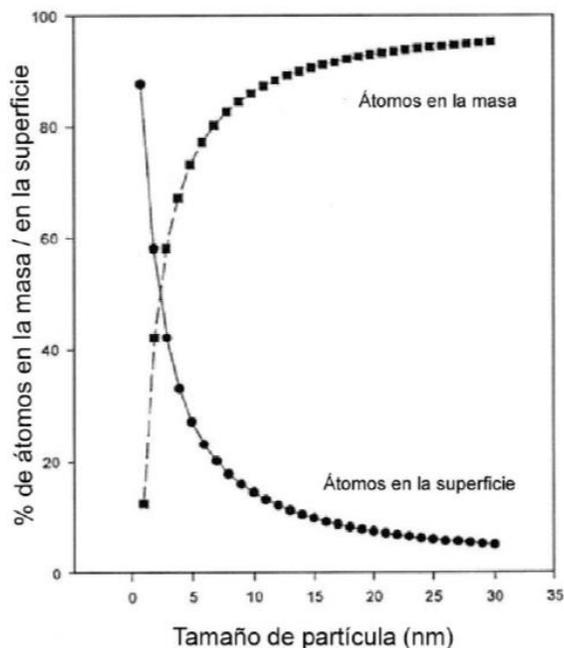


Figura 11. Variación del % de átomos interiores/átomos en superficie con tamaño de partícula.

En consecuencia, tienen un mayor potencial de reacción, son muy reactivos químicamente teniendo la capacidad de unirse a otros átomos superficiales de otras nanopartículas más próximas (autoensamblado), con velocidades de reacción muy superiores y formando enlaces químicos más fuertes.

Esto hace que una cantidad relativamente pequeña de refuerzo a escala nanométrica pueda tener un efecto observable a escala macroscópica en las propiedades del compuesto. Ambas

fases actúan de forma sinérgica obteniéndose propiedades físicas y químicas realmente inusuales si se comparan con el material a granel. [20]

Algunas ventajas evidentes de utilizar refuerzos nanométricos son, por ejemplo, que las nanopartículas, por su diminuto tamaño, no dispersan la luz significativamente obteniéndose compuestos con propiedades eléctricas o mecánicas mejoradas sin que se vean afectadas sus propiedades ópticas.

Otro ejemplo, es el de los polímeros reforzados con nanopartículas. Estos pueden aumentar su módulo de Young y su resistencia mecánica sin ver afectada la ductilidad del polímero. Esto es debido al pequeño tamaño que poseen comparadas con los refuerzos micrométricos.

La combinación más común es la de un sólido que actúa como matriz y una fase (o más) nano-dimensional dispersa en la matriz. También pueden consistir en dos o más fases combinadas de cualquier forma con la restricción de que una de ellas esté en la escala nanométrica. Hay casos extremos de nanocompuestos, como los geles o los coloides, donde una de las fases se encuentra en estado líquido.

2.1.2. Tipos de matrices

Matriz metálica:

En las últimas décadas se ha hecho un considerable esfuerzo dirigido al desarrollo in situ de materiales nanocompuestos de matriz metálica, en los que los refuerzos se añaden a la matriz mediante reacciones exotérmicas [21]. En los nanocompuestos de matriz metálica, generalmente se combinan refuerzos cerámicos rígidos con una matriz metálica dúctil.

Gracias a la formación in situ de refuerzos submicrométricos cerámicos estables, los nanocompuestos de matriz metálica presentan excelentes propiedades mecánicas (capacidad resistente, buena rigidez y tenacidad a la fractura) además de buen comportamiento frente a las altas temperaturas [22].

Son utilizados en elementos aeroespaciales, motores de automoción y otras aplicaciones estructurales. Los materiales más utilizados como son aluminio, cobre, níquel, titanio o hierro.

Matriz cerámica:

Los cerámicos, por sus propiedades, han recibido gran atención para utilizarse como materiales estructurales en condiciones de alta temperatura, desgaste y ataque químico (condiciones que son demasiado severas para los metales) [23].

Sin embargo, presentan algunas desventajas que han impedido que puedan ser adoptados de forma generalizada: tenacidad de fractura relativamente baja, degradación de las propiedades mecánicas a altas temperaturas y poca resistencia a la fatiga y al shock térmico.

Estos problemas se intentaron solucionar incorporando segundas fases de tamaño micrónico como partículas, fibras o laminas a matrices cerámicas. No obstante, los resultados no fueron los esperados. Los compuestos seguían siendo demasiado frágiles ya que no se conseguía transmitir una significativa cantidad carga al refuerzo.

Recientemente gracias al surgimiento de la nanotecnología, se han incorporado dispersiones nanométricas de segunda fase a matrices cerámicas. Se comprobó que la dispersión de nanopartículas metálicas en la cerámica, mejora propiedades mecánicas como la tenacidad de fractura [24].

En la actualidad pese a la gran complejidad que siguen presentando tanto en su comportamiento, como en su producción industrial, las extraordinarias propiedades de estos nanocompuestos hacen que sean utilizados en aplicaciones tan exigentes como transbordadores espaciales y en frenos para vehículos de competición.

Matriz Polimérica:

Los nanocompuestos basados en matrices poliméricas permiten combinar sinérgicamente las propiedades de distintos materiales de forma única. Esto hace que los nanomateriales de matriz polimérica tengan un elevado potencial de desarrollo comercial.

Las propiedades físicas, térmicas o mecánicas varían dependiendo del tipo de polímero. De forma general podemos decir que tienen alta resistencia al ataque químico, no son conductores de la electricidad, tienen alta relación resistencia mecánica-densidad, son relativamente fáciles de fabricar y tienen un coste bajo [25].

Para poder fabricar e implementar materiales con las propiedades deseadas, es necesario controlar los métodos de procesado. El reto principal es relacionar las propiedades del producto final con las propiedades de los componentes, precursores de la reacción y las condiciones de fabricación; controlar el tamaño, la forma, la fracción de volumen, el grado de dispersión o agregación y las interacciones interfaciales, es fundamental para que el producto final tenga las propiedades esperadas.

Existen refuerzos tienen distintas formas y tamaños. Los métodos de procesado y las propiedades de los materiales obtenidos dependerán en gran medida la geometría de los refuerzos.

2.1.3. Tipos de nanorefuerzos

Por simplicidad, pueden agruparse en las 3 categorías que observan en la Figura 12:

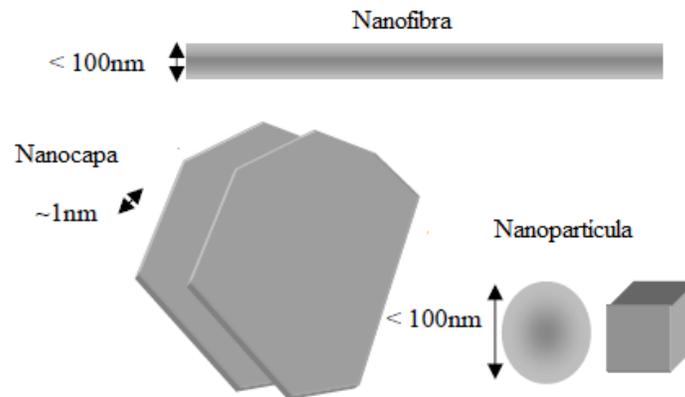


Figura 12. Esquema tipos de nanorefuerzos

Nanopartículas:

Son partículas microscópicas tridimensionales con diámetro de 1-100 nm. Una de las ventajas del uso de nanopartículas en la estructura de un material compuesto es que el tamaño y distribución de las partículas puede ser estabilizado.

Las nanopartículas de metales o de óxidos de metales son las que han atraído mayor interés. Estas pueden dotar a los materiales de novedosas propiedades magnéticas, ópticas, biológicas, mecánicas, eléctricas y catalíticas, que no podrían obtenerse con partículas convencionales [26].

Las nanopartículas metálicas pueden obtenerse principalmente por dos métodos:

- El método físico (top-down): consiste en la subdivisión mecánica del metal.
- El método químico (bottom-up): consiste en la nucleación y el crecimiento de las partículas a partir de los átomos metálicos. El método químico ofrece ventajas en cuanto al control del tamaño y reproducibilidad.

Algunos ejemplos de aplicaciones de las nanopartículas metálicas son: En tecnologías de almacenamiento de energía: (nanopartículas metálicas como componentes esenciales de los catalizadores en la conversión electroquímica de energía y en los dispositivos de almacenamiento [27]), catalizadores (presentan una mejor actividad catalítica en comparación con sus homólogos monometálicos [28]), administración de fármacos, electrónica (fabricación dispositivos microelectrónicos), plasma, sensores o celdas solares.

Nanofibras y nanotubos:

Tienen estructuras tubulares cilíndricas, muestran una relación longitud/diámetro muy elevada: su diámetro es del orden de los nanómetros y su longitud puede variar desde unas micras hasta varios milímetros. Por ello se les puede considerar unidimensionales.

La elevada área superficial en relación al volumen hace que las nanofibras tengan propiedades muy particulares: baja densidad, flexibilidad en la superficie, elevado volumen de los poros, poros interconectados y rendimiento mecánico superior a otras formas conocidas de este material. Esto hace que sean un material muy apropiado para dispositivos biomédicos, ingeniería de tejidos, prendas de vestir, e incluso productos industriales de catálisis, filtración, barrera y aislamiento. [29]

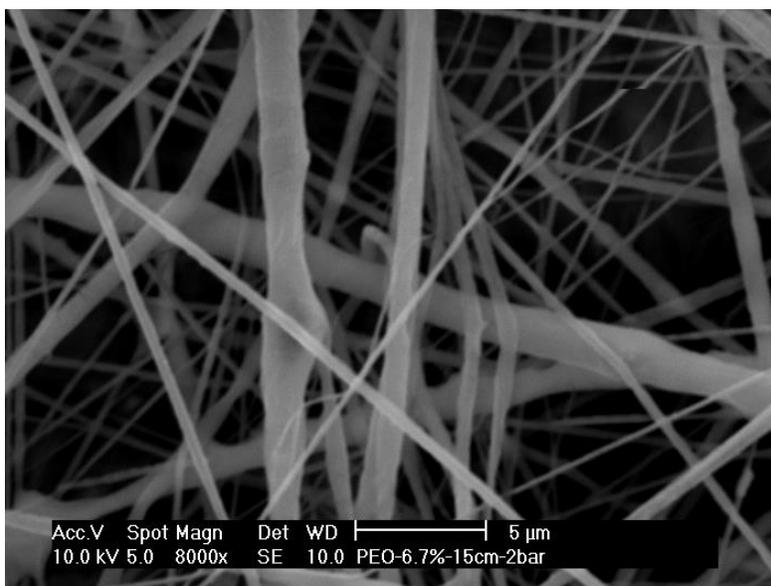


Figura 13. Fotografía de nanofibras de polióxido de etileno

Los nanotubos tienen una estructura similar a las nanofibras, morfológicamente se diferencian en que el cilindro está hueco por dentro. El término nanotubo se aplica generalmente a los nanotubos de carbono, aunque existen nanotubos de otros materiales. Las propiedades de los nanotubos de carbono son únicas comparadas con otras fibras de grafito. Su estructura es distinta a la de las tradicionales fibras de carbono. Los nanotubos tienen una estructura ideal, perfectamente ordenada y conocida a nivel atómico. Las propiedades mecánicas, térmicas, eléctricas, químicas y ópticas de los nanotubos de carbono les capacitan para ser ampliamente utilizados en nanotecnología. Una de las propiedades más destacadas es que son hidrófobos [30].

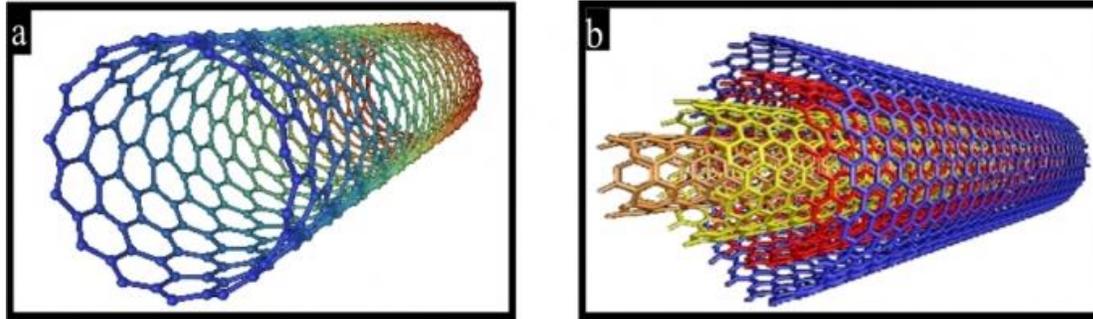


Figura 14. Esquema nanotubos: a) Nanotubo de pared simple. b) Nanotubo de pared múltiple.

Nanoláminas:

El término nanolámina es un término colectivo utilizado para denotar a una estructura bidimensional, capa o película con espesor nanométrico. Pueden tener diferente naturaleza química y física; desde membranas de liposomas y células hasta láminas de grafeno y silicatos laminares.

2.1.4. Nanocompuestos para aplicaciones biomédicas

En los últimos años, la nanotecnología se ha desarrollado al punto que es posible producir, caracterizar y diseñar nanopartículas específicamente para aplicaciones biomédicas. Se destacan las nanopartículas magnéticas y las nanofibras poliméricas.

Las nanopartículas magnéticas tienen aplicaciones diagnósticas (resonancias magnéticas, bioseparación, clasificación celular, inmovilización enzimática) y terapéuticas (principalmente administración de fármacos y termo ablación de células malignas). [31]

En el campo de los polímeros, es posible el desarrollo de superficies de nanofibras con integridad estructural y características bioquímicas específicas. Se pueden diseñar y sintetizar redes poliméricas con control a nivel molecular sobre la estructura (por ejemplo, densidad de entrecruzamiento) y con propiedades a medida, tales como la biodegradabilidad, resistencia mecánica y la respuesta química y biológica a los estímulos. Además, los polímeros ofrecen una gran variedad de composiciones, propiedades y formas, lo que los hace muy versátiles.

Las redes de nanofibras poliméricas, tienen una morfología y química similar a la matriz extracelular del tejido natural (amplio rango de distribución de diámetro de poros, alta porosidad, propiedades mecánicas efectivas y propiedades bioquímicas específicas), presentando la posibilidad de aprovechar polímeros y bio-polímeros en aplicaciones como membranas multifuncionales, elementos estructurales biomédicos (ingeniería de tejidos (*scaffolds*), recubrimientos para heridas, órganos artificiales, reparación vascular, etc.), textiles especializados y filtros para partículas sub-micra, entre muchas más aplicaciones de nanofibras poliméricas en el campo de la biomedicina. . [32, 33]

Existe un gran interés en dotar a estos tejidos nanofibrilares de propiedades antibacterianas. Se persigue que los materiales nanocompuestos bactericidas, reduzcan la proliferación de bacterias patógenas, como por ejemplo *Pseudomonas aeruginos*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, principales causantes de infecciones.

Una solución novedosa para conseguir materiales antibacterianos, consiste en dispersar nanopartículas metálicas con propiedades bactericidas en una matriz polimérica. Las nanopartículas atacan a las bacterias y la matriz polimérica actúa de soporte estructural del material.

Las ventajas obtenidas por la dispersión de nanopartículas metálicas dentro una matriz polimérica se encuentran en la combinación única de las características de los constituyentes. Como ya se ha explicado en apartados anteriores, la elevada relación superficie/volumen confiere a los nanomateriales mayor área superficial para interactuar con los microorganismos.

2.2. Materiales antibacterianos

2.2.1. Introducción

El fenómeno por el cual las bacterias se vuelven más resistentes e inmunes a los antibióticos se produce de forma natural y está acrecentada por el mal uso que se hace de los antibióticos.

La resistencia se produce por selección natural a través de mutaciones producidas al azar. El antibiótico, al entrar en contacto con una población bacteriana, permite solo la proliferación de aquellas bacterias que presentan aquella mutación natural que anula la acción del antibiótico. La acción antibiótica es una presión ambiental que sirve para aquellas bacterias que tengan una mutación que les permita sobrevivir se reproducirán. Ellas pasarán este rasgo a su descendencia, que será una generación totalmente resistente [34]. Así mismo las bacterias no resistentes al antibiótico tienen la capacidad de captar el ADN de otras que sí lo sean, haciéndose resistentes también. De este modo las bacterias que no eran resistentes se convierten en resistentes de forma completamente accidental al captar este ADN, e incluso pueden hacerse mucho más virulentas, en parte debido al estrés al que las sometemos cuando abusamos del uso de los antibióticos [35].

AUMENTO DE BROTES DE BACTERIAS EPC***

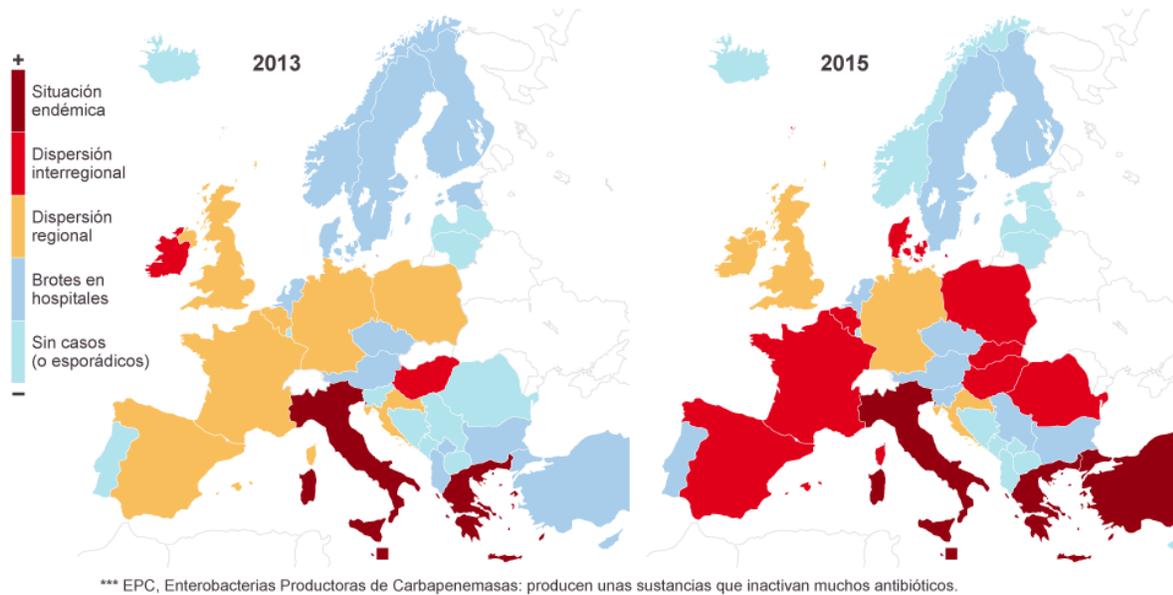


Figura 15. Gráfico del Aumento de brotes de bacterias en Europa. Fuente: Centro europeo de prevención y control de enfermedades

La OMS, sitúa a este problema como “una de las mayores amenazas para la salud mundial, la seguridad alimentaria y el desarrollo” de la actualidad. Este fenómeno provoca un aumento de la mortalidad y sobrecostes en los sistemas de sanidad. [1]

Como se observa en la Figura 15, se trata de un problema actual, por lo que hay gran interés en desarrollar materiales antibacterianos que impidan la proliferación de bacterias multirresistentes. Las áreas que más demandan este tipo de materiales son la medicina y el sector alimentario. Con las nuevas técnicas de procesado de materiales nanocompuestos, se trabaja en el desarrollo de nuevos materiales antibacterianos que puedan ser adoptados de forma masiva a un coste razonable.

2.2.2. Propiedades de los materiales antibacterianos

Cuando se diseñan objetos en los que se quiere evitar que las bacterias colonicen la superficie del objeto, la adhesión del material es una propiedad que se debe tener en cuenta. Un material que tenga buena adhesión será más propenso a que bacterias multirresistentes puedan

reproducirse sobre su superficie, ya que como se ha explicado anteriormente, las bacterias se vuelven más resistentes mediante intercambio de ADN. [35]

En un material antibacteriano, es el propio material el que ataca a las bacterias, no obstante, siempre es preferible que la superficie del material no sea propensa a la adhesión, ya que con el tiempo y uso se pueden deteriorar las propiedades antibacterianas del material.

Se define a un material antibacteriano como aquel que tiene la capacidad de reducir o eliminar microorganismos patógenos.

El ataque contra los organismos patógenos se produce mediante dos mecanismos:

- 1) Efecto bacteriostático: El material genera una lesión metabólica en los patógenos que es reversible tras la eliminación o la neutralización del mismo. Aunque no produce la muerte de la bacteria, impide su reproducción; la bacteria envejece y muere sin dejar descendencia. [36]
- 2) Efecto bactericida: Es irreversible ya que afecta estructuras celulares vitales. Produce la muerte de la bacteria. Por ejemplo, un antibiótico es un bactericida [37]

2.2.3. Propiedades antibacterianas de las nanopartículas metálicas

Los metales que poseen propiedades bactericidas son principalmente el cobre, zinc, plata, mercurio y dióxido de titanio.

Las nanopartículas se dispersan en una matriz, normalmente polimérica, creando material nanocompuesto con propiedades antibacterianas. Las nanopartículas nos permiten ampliar el rango de aplicación de los metales antibacterianos, ya que se puede dotar de la propiedad antibacteriana a todo tipo de materiales.

La efectividad de las nanopartículas como material antibacteriano ha sido demostrada por múltiples investigaciones. Una de ellas es la publicada por los científicos Damm, Münstedt, y Rösch sobre el nanocompuesto Poliamida 6 (PA6) y Plata (Ag). En su estudio demostraron que el nanocompuesto PA6 / Ag presentaba mayor eficacia contra la bacteria *Escherichia coli*

comparado a el microcompuesto de PA6/Ag. Estos estudios se basaron en muestras con un contenido de 2% en masa de Ag. [38]

En el mundo de la biomedicina, la plata, el dióxido de titanio, y el cobre han atraído una atención especial debido a su alta estabilidad en contacto con sistemas biológicos [39,40] Cada una de ellas actúa de forma distinta frente a las bacterias:

- Los iones de cobre penetran en la célula bacteriana e infringen daño en la membrana citoplasmática, produciendo la muerte de las células y la degradación del ADN. [41]
- Los iones de plata que se desprenden consiguen la inactivación de las bacterias.[42]
- El dióxido de titanio degrada compuestos orgánicos por oxidación o reducción, produciendo la muerte de la bacteria. [43]

2.3. Polímeros biomédicos

Un polímero biomédico es un material adaptado para su uso en aplicaciones biomédicas.

2.3.1. Propiedades de los polímeros biomédicos:

- Biocompatibilidad: Habilidad de un material para interactuar con sistemas biológicos sin que cause rechazo. Es una de las propiedades más importantes en biomedicina.
- Bioestabilidad: Habilidad de un material de permanecer químicamente estable cuando se encuentra bajo condiciones de exposición hidrolítica o de oxidación a temperatura corporal. Estos materiales se utilizan en aplicaciones a largo plazo como órganos o articulaciones artificiales.
- Biodegradabilidad: Habilidad para descomponerse en pequeñas moléculas en un periodo corto de tiempo y que además puedan ser metabolizadas. Sirven a propósitos a corto plazo, por ejemplo: crecimiento de tejidos, liberación de fármacos o suturas.
- Otras propiedades: Que el material esté disponible en multitud de composiciones con distintas propiedades físicas y mecánicas, solubilidad en el agua y que sea fácil de fabricar.

Los materiales nanoestructurados presentan una mejor biocompatibilidad, mejores propiedades mecánicas y eléctricas que los materiales convencionales. Esto se debe a las características únicas ya discutidas de los nanomateriales y en particular las propiedades superficiales. [44]

2.3.2. Tipos de polímeros biomédicos

Respecto a los polímeros que se utilizan, existe una gran diversidad de biomateriales para aplicaciones biomédicas [45]. Se pueden clasificar en 2 grupos:

Naturales:

Derivados de organismos vivos, biodegradables, propensos al crecimiento mediante la adhesión de otras células, fáciles de producir y baratos, no son tóxicos.

Ejemplos: Colágenos, alginatos y quitosan.

Aplicaciones: se utilizan en cirugía, ingeniería de tejidos, de hígado, cartílagos, nervios, corazón, etc.

Sintéticos:

Se obtienen de forma artificial, por lo general se requieren que sean biocompatibles, con propiedades físicas adecuadas, fáciles de producir y esteriles.

Ejemplos: Polietileno (PE), Polimetilmetacrilato (PMMA), Politetrafluoroetileno (PTFE), Polipropileno (PP), Polióxido de etileno (PEO).

Aplicaciones: se utilizan en elementos médicos desechables, materiales protésicos, vendajes, implantes, productos de ingeniería de tejidos, etc.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Materiales

3.1.1. Polióxido de etileno (PEO)

Para la fabricación de las nanofibras se utilizó polióxido de etileno ($M_v=100,000$ g/mol) suministrado por la empresa Sigma-Aldrich.

El PEO es un polímero semicristalino, termoplástico y soluble en agua y en otros disolventes orgánicos comunes. Su estructura se expresa como: $H - (O-CH_2-CH_2)_n - OH$. [46]

Pertenece a la familia de los poliéteres que se caracterizan por tener propiedades marcadamente diferenciadas de sus análogos vinílicos. En el caso del PEO estas diferencias son muy acusadas, ya que su solubilidad en el agua contrasta con la insolubilidad de su análogo el polietileno.

Las propiedades diferentes de este tipo de poliéteres se deben fundamentalmente a la presencia del enlace éter en la cadena principal:

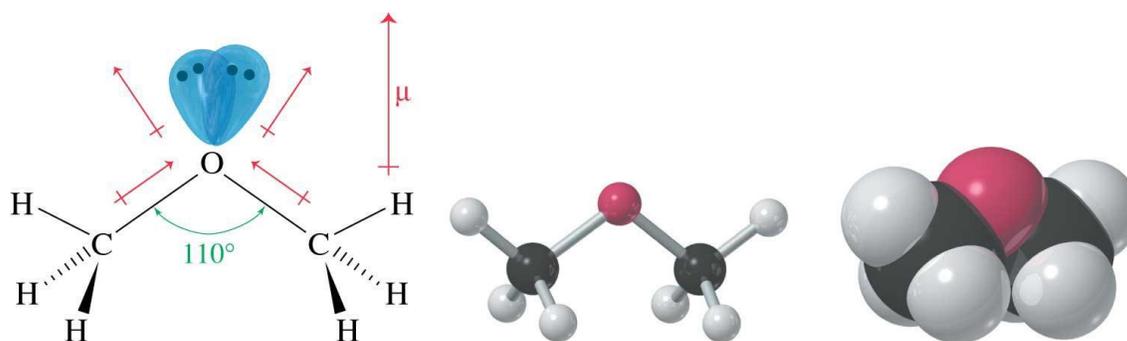


Figura 16. Esquema de un enlace éter

El ángulo C-O-C de los éteres es de alrededor de 110° y hay un dipolo a lo largo del enlace C-O porque el oxígeno es más electronegativo que el carbono. Las uniones éter poseen una baja polaridad relativa y unas interacciones de Van der Waals relativamente débiles. [47]

El polióxido de etileno está disponible en gran variedad de pesos moleculares. Cuando el peso molecular es inferior a 100,000 g/mol, se le suele denominar Polietilenglicol (PEG). El PEG con peso molecular inferior a 1000 g/mol es un líquido viscoso y transparente, mientras que los PEG de mayor peso molecular son sólidos cerosos, de color blanco, con puntos de fusión que aumentan proporcionales al peso molecular (puede llegar hasta los 67°C).

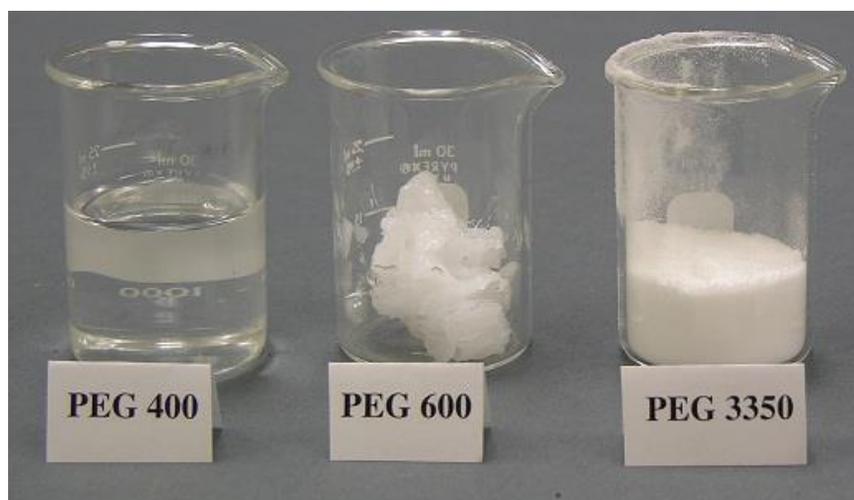


Figura 17. Aspecto de PEG de distintos pesos moleculares.

El PEO ($M_v > 100,000$ g/mol) en cambio se comporta como un sólido termoplástico duro, capaz de ser moldeado [48].

El PEO es un polímero biocompatible y con capacidad de prepararse con alto contenido de poros, lo que le convierte en un excelente candidato para utilizarse como catalizador biológico y para aplicaciones de ingeniería de tejidos (*scaffolds*) [4].

3.1.2. Nanopartículas de cobre

Para dotar a la matriz polimérica de propiedades antibacterianas se utilizaron nanopartículas de cobre. Las nanopartículas van incrustadas dentro de las nanofibras que forman la matriz.

El cobre, el latón y el bronce fueron declarados los primeros materiales antibacterianos de superficie sólida en 2008 por la Agencia de Protección Ambiental (EPA) de Estados Unidos. Más tarde otros materiales metálicos como la plata o el dióxido de titanio también fueron declarados como antibacterianos.

El mecanismo por el cual el cobre ataca a las bacterias es el siguiente [41]:

1. Iones de cobre se desprenden de la superficie, penetran en la célula bacteriana e infringen daño a la membrana citoplasmática.
2. Ruptura de la membrana citoplasmática y entrada de iones de cobre, esto conduce a la disfunción de la membrana y aumento de estrés oxidativo.
3. Alteración de la síntesis proteica a nivel citoplasmático y daño funcional de las enzimas principales.
4. Muerte celular y degradación del ADN bacteriano.

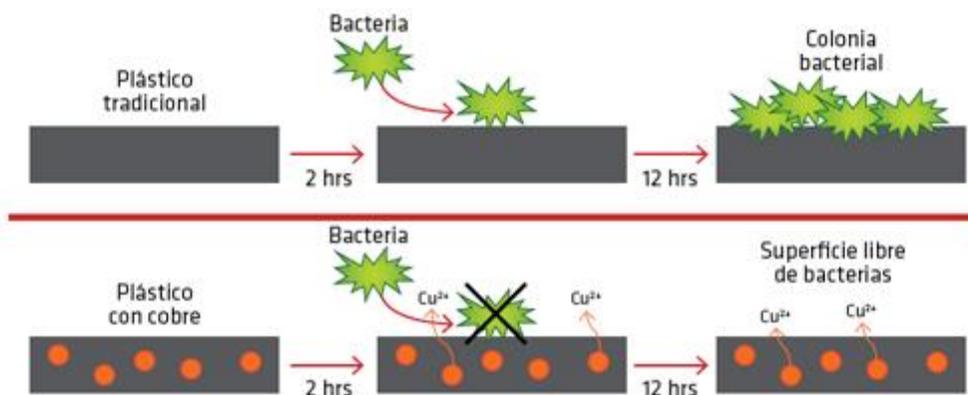


Figura 18. Esquema del mecanismo de bactericida del cobre.

La ventaja de utilizar nanopartículas dispersas en una matriz, es que se pueden ampliar las posibilidades de manejo y aplicación de la propiedad bactericida del cobre. Con el nanocompuesto se tiene capacidad de control sobre la cantidad de iones de cobre que queremos que nuestro material desprenda, con las aleaciones de cobre esto no ocurre. Además, como se ha mostrado en otros apartados, puede combinarse sinérgicamente con multitud de matrices, lo que permite disponer de multitud de materiales con distintas propiedades. Otra ventaja frente a las aleaciones es la oxidación (el cobre para que sea antibacteriano tiene que oxidarse). El proceso de oxidación es mucho más lento y menor debido a que siempre hay una película polimérica que lo protege. El costo de producción y material también es menor. El uso de nanopartículas de cobre supone por tanto una ampliación del rango de aplicaciones del cobre [49].

3.1.3. Otros materiales

Para la preparación del nanocompuesto se utilizaron 2 disolventes:

Acetona (C₃H₆O):

Densidad: 0,784 g/cm³

Masa molecular: 58,08 g/mol

Temperatura de evaporación: 56 °C

Cloroformo (CHCl₃):

Densidad: 1,49 g/cm³

Masa molar: 119,38 g/mol

Temperatura de evaporación: 61,2 °C

3.2. Preparación de las muestras para la elección de las condiciones de fabricación

Con objeto de encontrar las mejores condiciones para preparar fibras submicrométricas de polióxido de etileno, se variaron la presión y la distancia de trabajo. Las muestras se preparan mediante el método de Solution Blow Spinning (SBS), para lo que se necesita preparar en primer lugar las disoluciones o mezclas y posteriormente fabricar mediante SBS.

La concentración de polímero en la disolución es del 6,67% en peso en todas las muestras. Se eligió esta concentración debido a las pruebas previas realizadas por el Departamento de Ciencia e Ingeniería de Materiales de la UC3M. En dichas pruebas se fabricó con distintas concentraciones de PEO y se concluyó que las disoluciones de PEO con concentración de 6,67% en peso poseían la viscosidad más adecuada para fabricar con nuestro aerógrafo.

3.2.1. Preparación de disolución de PEO

- Cantidad de disolventes:

$$m_{Acetona} = 7g.$$

$$m_{Cloroformo} = 7g.$$

- Cantidad de polímero:

$$m_{PEO} = 1g.$$

- Cantidad de disolución:

$$m_{disolución} = m_{Ac} + m_{Cl} + m_{PEO} = 15g.$$

3.2.2. Preparación de los films de PEO mediante SBS

El proceso se llevó a cabo en 6 pasos:

1. Se pesa un vial de 30 mL. en el que se encuentra contenida una pequeña barra magnética (necesaria para la agitación).
2. Se introduce 1 g. de PEO.
3. Se le añaden los 2 disolventes (7 g. de acetona y 7 g. cloroformo) y se pesa.
4. El vial se pone en agitación magnética a 40°C, hasta conseguir una disolución homogénea a la vista (transparente e incolora).
5. Durante el proceso, parte de la acetona se puede evaporar, de manera preferencial por lo que es necesario rellenar con más acetona.
6. Fabricación de fibras mediante SBS:

En primer lugar, se ajustan las condiciones de fabricación: presión del compresor y distancia de trabajo. Posteriormente, con una jeringuilla, se extraen 3ml. de disolución del vial y se vierten en la copa del aerógrafo, acto seguido se acciona manualmente el disparador del aerógrafo y se mantiene pulsado hasta que la copa del aerógrafo se vacíe por completo.

3.3. Preparación de las muestras con 1% de nanopartículas de cobre

Se preparan fibras de polióxido de etileno con 1% de nanopartículas de cobre (Cu). Las fibras se preparan mediante SBS. La concentración en peso de polímero es igual al apartado anterior, 6,67% en peso.

Se utiliza la siguiente fórmula para calcular la cantidad de nanopartículas que se deben incluir en la mezcla (disolución polimérica) en función de la concentración final deseada de nanopartículas en el material compuesto:

$$X\% Cu = \frac{m_{cu}}{m_{PEO} + m_{cu}}$$

Donde $X\% Cu$ es la composición en tanto por ciento en peso de nanopartículas del material final, m_{PEO} es la masa de PEO y m_{Cu} es la masa de nanopartículas.

3.3.1. Preparación de suspensión de nanopartículas de Cu en disolución de PEO.

- Cantidad de disolventes:

$$m_{Acetona} = 7g.$$

$$m_{Cloroformo} = 7g.$$

- Cantidad de polímero:

$$m_{PEO} = 1g.$$

- Cantidad de cobre:

$$1\% Cu = \frac{m_{cu}}{m_{PEO} + m_{cu}}$$

$$m_{cu} = 0,0101 g.$$

- Cantidad de mezcla:

$$m_{mezcla} = m_{Ac} + m_{Cl} + m_{PEO} + m_{Cu} = 15,0101g.$$

3.3.2. Preparación de films de PEO/Cu mediante SBS.

El proceso se llevó a cabo en 10 pasos:

1. En un vial de 30 ml. se introducen 0,0101 g. de nanopartículas de cobre y se pesa.
2. Se añaden 2 g. de acetona y 2 g. de cloroformo y se vuelve a pesar.
3. El vial con la mezcla se introduce durante 30 minutos en un generador de ultrasonidos.
4. Paralelamente se pesa otro vial de 30 ml. en el que se encuentra contenida una pequeña barra magnética (necesaria para la agitación).
5. Se introduce 1 g. de PEO.
6. Se le añaden 5 g. de acetona y 5 g. cloroformo y se pesa.
7. El vial se pone en agitación magnética a 40°C, hasta conseguir una disolución visualmente homogénea.
8. Inmediatamente después de haber transcurrido los 30 minutos desde que se introdujo el vial con nanopartículas de cobre en el generador de ultrasonidos, se vierte el contenido de la disolución de PEO en el vial que contiene nanopartículas. La mezcla se deja en agitación durante al menos 20 minutos más.
9. Durante el proceso los disolventes pueden evaporarse y alterar la concentración. Se debe controlar la cantidad de disolvente que se evapora y rellenar con más disolvente si fuese necesario. Para ello se prepara un vial con acetona y cloroformo a partes iguales.
10. Fabricación de fibras de PEO+1%Cu mediante SBS.

Se sigue el mismo procedimiento que para fabricar films de PEO con 0% Cu, que se describió anteriormente.

3.4. Técnicas instrumentales

3.4.1. Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Los materiales preparados por SBS se analizaron por microscopía electrónica de barrido. Se utilizó el microscopio electrónico de barrido (SEM) Philips XL30.

Para que las muestras puedan observarse en el SEM sin acumulación de carga electrostática deben conducir corriente eléctrica. El PEO no es conductor, por lo que antes de analizar las muestras se recubrirán con una fina capa de oro mediante el método conocido como “sputtering” o pulverización anódica.

Para ello se introducen las muestras en un recubridor de vacío y se inyecta gas argón (Ar). Se establece una diferencia de potencial entre el material utilizado para recubrir (oro) y el soporte donde se encuentra la muestra que se quiere analizar. La diferencia de potencial provoca que se forme plasma de argón del que se desprenden iones de Ar^+ que impactan contra el oro, que actúa de cátodo. Los átomos de oro se desprenden y caen por gravedad sobre las muestras que están en la parte inferior recubriéndolas

El proceso de recubrimiento por plasma se establece en 1 minuto y 30 segundos. Se utilizó un recubridor de vacío Leica EM ACE200. Una vez recubiertas las muestras, se introducen en el SEM (Figura 19).

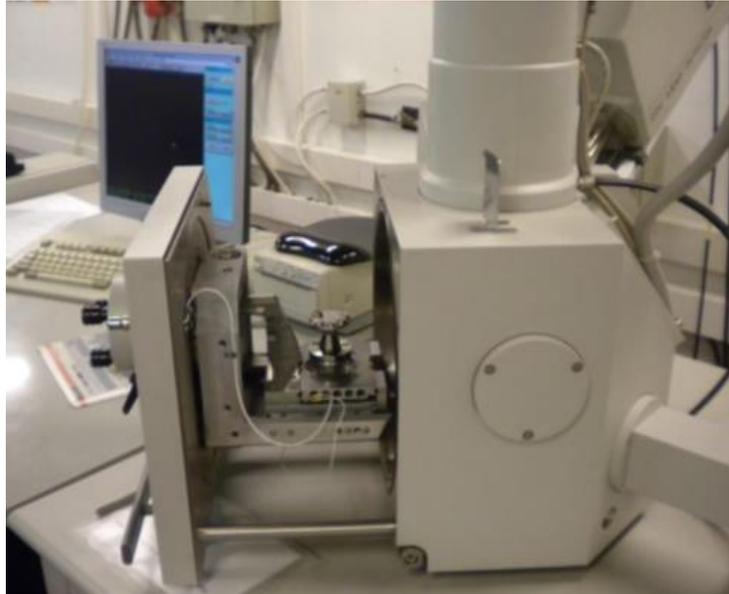


Figura 19. Fotografía de SEM modelo Philips XL30.

Esta microscopía utiliza un haz de electrones que interacciona con el material y emite señales que son las que se utilizan para generar las imágenes con información topográfica y composicional. El SEM detecta distintos tipos de electrones, en función del detector que se haya seleccionado. Cada detector muestra información distinta. En este trabajo se han utilizado 3 tipos de detectores:

- Detector de electrones secundarios (SE): Es la señal que posee más resolución, por lo que es la más adecuada para la observación de la morfología de las muestras.
- Detector de electrones retrodispersados (BSE): Ofrece una imagen de superficie similar al SE aunque de menor resolución. Su ventaja consiste en que es sensible a las variaciones en el número atómico de los elementos presentes en la superficie.
- Detector de rayos X (EDS): Recibe rayos X procedentes de cada uno de los puntos de la superficie sobre los que pasa el haz de electrones. La energía de cada rayo X es característica de cada elemento, se puede obtener información analítica cualitativa y cuantitativa del área del material que se desee. Esta técnica se conoce como microanálisis.

3.4.2. Espectrometría infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

La espectrometría infrarroja se basa en el principio de que, a longitudes de ondas específicas, las moléculas absorben energía de la luz y se activan movimientos vibracionales asociados a grupos atómicos unidos por enlaces covalentes. Es decir, la molécula comienza a vibrar de una determinada manera gracias a la energía que se le suministra mediante luz infrarroja.

Cada molécula presenta un espectro infrarrojo característico. Esto se debe a que cada molécula tiene vibraciones que al ser activadas producen la absorción de una determinada longitud de onda.

De esta forma, viendo las bandas de absorción en el infrarrojo, es posible identificar los grupos cuyas vibraciones se activan y determinar la cantidad de dichos grupos absorbentes.

Para obtener los espectros FTIR se utilizó un espectrofotómetro infrarrojo FTIR Spectrum GX (Perkin-Elmer) - Nicolette Avatar ATR-FTIR 360.

Para el análisis es necesario producir el material sobre unas pastillas de bromuro potásico, pues este material es completamente transparente a la radiación infrarroja.

Se fabricaron pastillas de bromuro potásico siguiendo los siguientes pasos (Figura 20):

1. Se pesan 200 mg. de bromuro potásico en polvo
2. El polvo se muele en un mortero de ágata.
3. Se introducen los 200 mg. de bromuro potásico molido en un molde.
4. El molde se prensa a 7-8 toneladas de presión durante 5 minutos.



Figura 20. Fabricación de pastillas de bromuro potásico. Izquierda: molde. Derecha: prensa.

Una vez se obtienen las pastillas, se recubren de nanofibras mediante SBS (Figura 21):

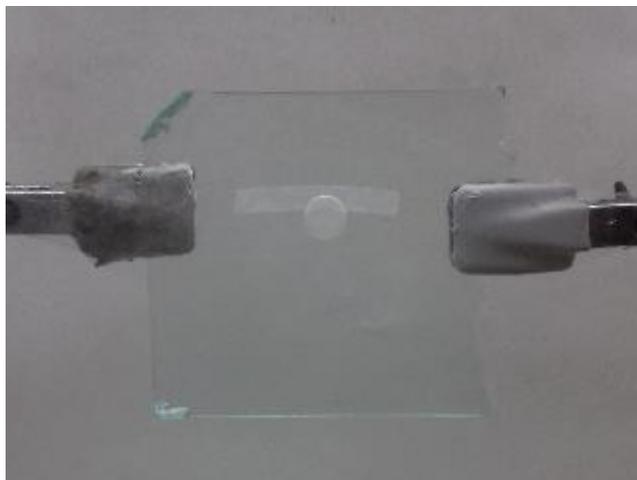


Figura 21. Pastilla de bromuro potásico situada en el colector utilizado para el SBS.

La pastilla recubierta se introduce en una celda dentro del espectrofotómetro infrarrojo, donde es sometida a una fuente de luz policromática infrarroja. Para nuestro análisis se realizaron 10 barridos con longitudes de onda de 4000 cm^{-1} hasta 400 cm^{-1} .

El software al que está conectado el espectrómetro proporciona las gráficas del espectro infrarrojo.

El análisis FTIR proporciona información sobre la estructura interna del polímero, el objetivo es saber si su estructura inicial se modificó debido al proceso de fabricación y la presencia de nanopartículas. Además, la espectrometría infrarroja tiene la ventaja de proporcionar análisis rápidos y a bajo coste.

3.4.3. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

La calorimetría diferencial de barrido (DSC, por sus siglas en inglés) es una técnica termo-analítica que permite conocer las transiciones térmicas de un material (temperatura de fusión o cristalización, temperatura de transición vítrea y temperatura de degradación). En concreto se utilizó un calorímetro diferencial de barrido Metler Toledo 822E.

Hay dos tipos de Calorimetría Diferencial de Barrido, de flujo de calor o de potencia compensada. En el primer caso, se mide la variación en el flujo de calor entre la muestra del material a analizar y una referencia cuando dicha muestra se somete a un programa de temperatura. En el segundo caso se mide la potencia que hay que aportar o retirar del sistema para que la muestra y la referencia se mantengan a la misma temperatura cuando dicha muestra se somete a un programa de temperatura. El enfriamiento o calentamiento de programa de temperaturas se hace a velocidad constante y atmósfera controlada (en nuestro caso de nitrógeno).

Pasos:

1. Se pesan 4 mg. material
2. El material deposita en una cápsula y se sella. A la cápsula debe hacerse un agujero para evitar sobrepresión dentro ella.
3. Se sella una cápsula vacía, que actuará de referencia.
4. Se enciende el equipo y se depositan en la máquina de DSC las dos cápsulas: la muestra y la referencia.
5. Se abre el nitrógeno líquido comprimido que actúa de atmósfera controlada en el ensayo.

6. Se introducen en el equipo las condiciones a las que se realizará el ensayo (programa de temperatura y peso de los materiales). Nuestro programa de temperatura consta de las siguientes etapas:

- Calentamiento de 10°C a 90°C a una velocidad de 10°C/min
- Se mantiene a 90°C durante 2 minutos.
- Enfriamiento de 90°C a 10°C a una velocidad de 10°C/min
- Se realiza un segundo calentamiento, de 10°C a 90°C a 10°C/min
- Se deja enfriar

7. Una vez aplicado el programa de temperatura, un software conectado al DSC proporciona los datos necesarios para realizar el termo-análisis (ver Figura 22).

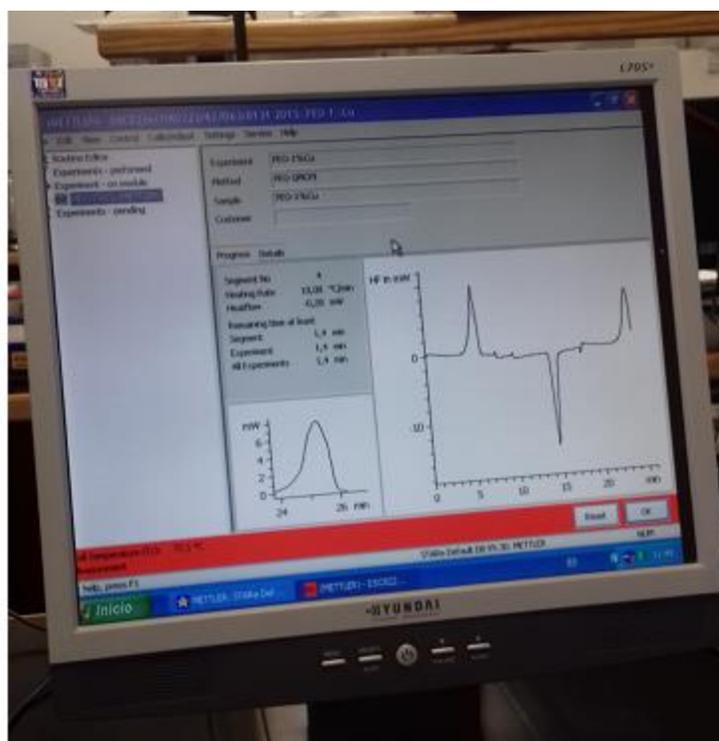


Figura 22. Gráfica del análisis DSC de la muestra con 1% Cu.

3.4.4. Análisis de las imágenes del SEM

La medición de los diámetros de las fibras se llevó a cabo mediante el software de análisis de imágenes Image J. Para obtener una muestra representativa de los diámetros de las fibras, se trazaron 3 líneas rectas en la zona superior, central e inferior de cada imagen y se midieron los diámetros de las fibras intersectadas por alguna de las líneas (Figura 23).

Para cada una de las muestras analizadas en este trabajo se midieron entre 40 y 50 diámetros de fibras.

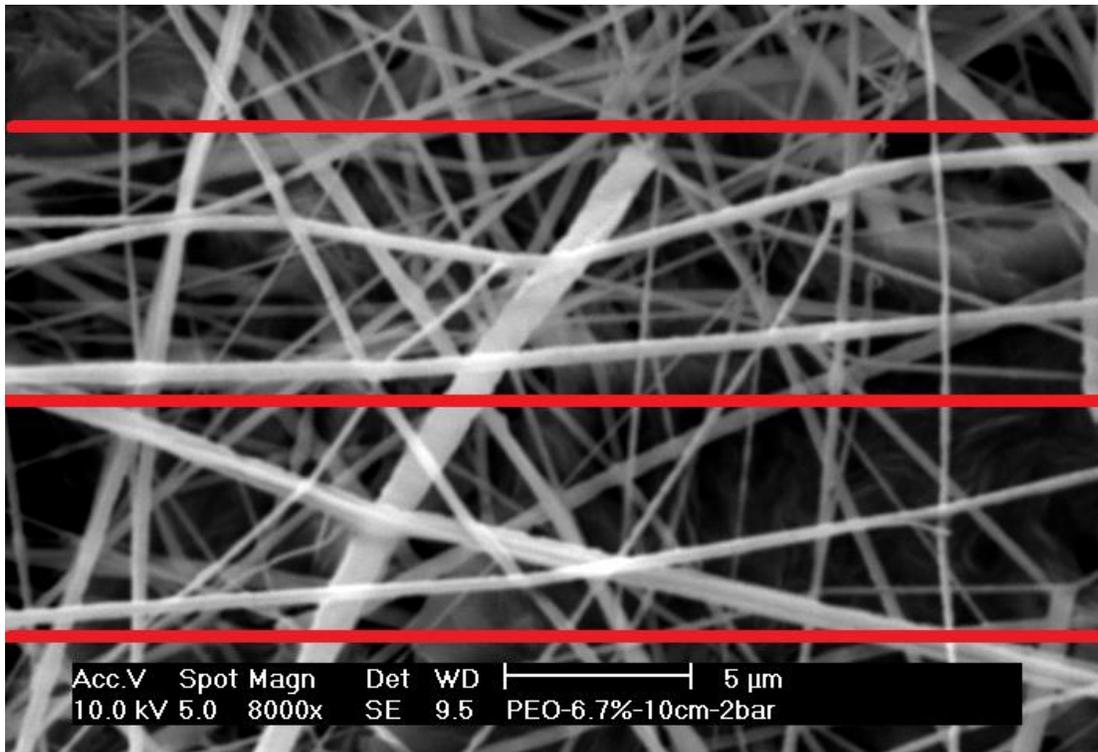


Figura 23. Fotografía del SEM para el análisis de los diámetros.

El análisis estadístico de los diámetros obtenidos se realiza con el software Origin 8.6. Este software ofrece todo tipo de herramientas avanzadas para el de análisis de datos. Concretamente, en este trabajo se realizan histogramas y curvas de ajuste normales y gaussianas asociadas a la distribución de los diámetros.

4. RESULTADOS

4.1. Estudio morfológico para la elección de las condiciones de fabricación

Para el estudio morfológico de las fibras, se fabricaron films mediante SBS sobre un colector plano recubierto de papel de aluminio como se muestra en la Figura 24. Posteriormente las muestras se observan con el detector de electrones secundarios (SE) del SEM y se realiza un análisis del diámetro de las fibras.



Figura 24. Film de PEO obtenido mediante SBS sobre un colector plano recubierto de papel de aluminio.

En este apartado se variaron las condiciones de fabricación: distancia de trabajo (W_d) y presión del compresor de aire (Tabla 1). La velocidad de alimentación de la disolución fue constante, ya que la maquina inyectora utilizada en el experimento no permite su variación.

Condiciones de Fabricación			
Código	Velocidad de alimentación	W_d (cm)	Presión (bar)
PEO1	Gravitacional	10	2
PEO2	Gravitacional	15	2
PEO3	Gravitacional	10	4
PEO4	Gravitacional	15	4
PEO5	Gravitacional	10	6

Tabla 1. Parámetros para la elección de las condiciones de fabricación.

4.1.1. Efecto de la presión del gas

Las Figura 25 muestra imágenes del SEM de films de PEO obtenidos mediante SBS a 2 presiones diferentes, 2 y 4 bares respectivamente:

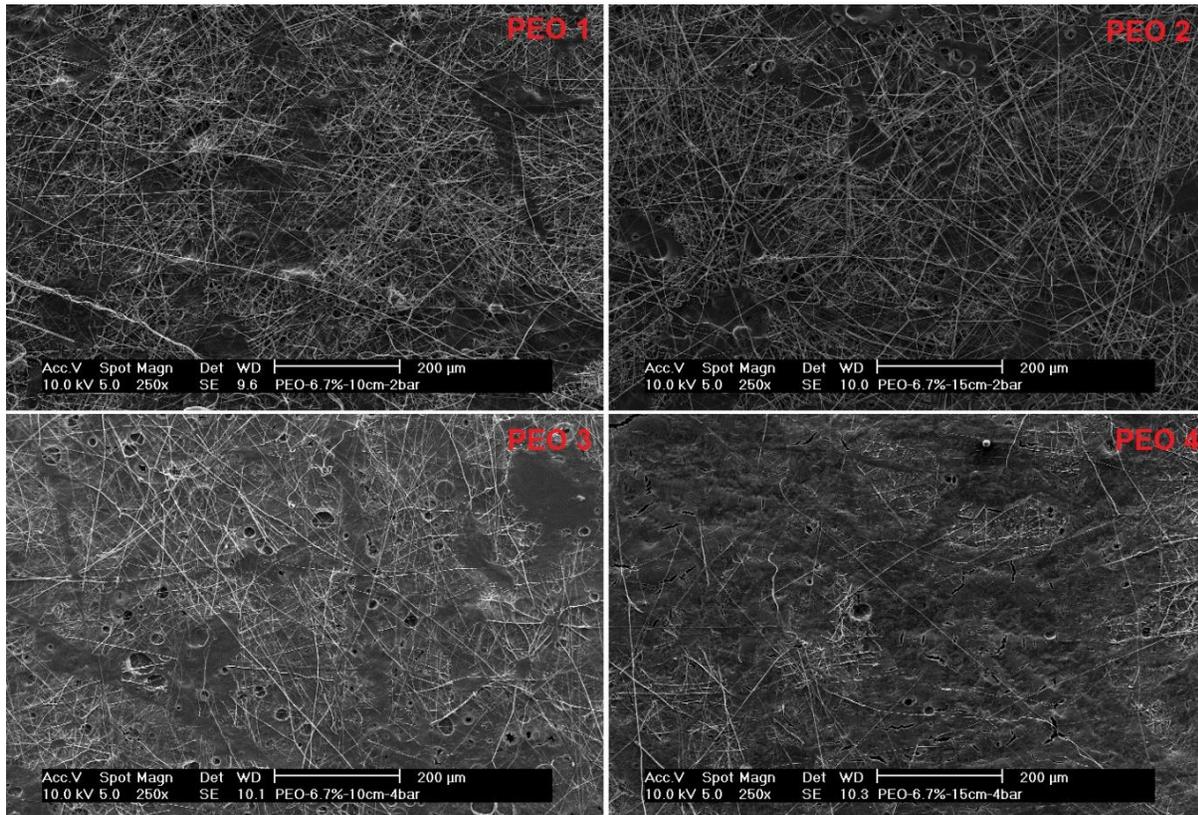


Figura 25. Fotografías del SEM correspondientes según la Tabla 1.

Se puede observar que al aumentar la presión, independientemente de la distancia de trabajo, hay una disminución de la cantidad de fibras. Esto se puede explicar considerando que los disolventes no tienen tiempo de evaporarse durante el vuelo antes de impactar en el colector y la disolución en forma líquida incide directamente sobre el colector. El polímero cristaliza desde la disolución en la superficie del colector. En las muestras PEO 3 y PEO 4, obtenidas a 4 bares, pueden observarse incluso indicios de presencia de esferulitas.

En la Figura 26 se muestra el PEO procesado a 6 bares. En este caso, la presión es tan alta que ya no se observan fibras. La imagen ampliada muestra con detalle la presencia clara de esferulitas.

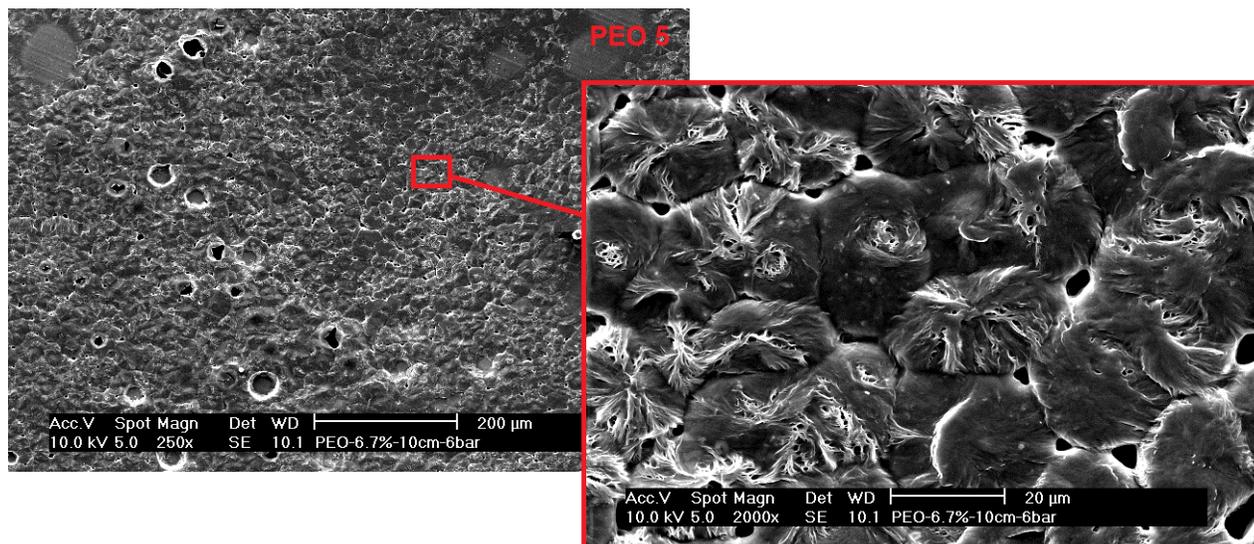


Figura 26. Fotografía del SEM que muestra esferulitas en la muestra de PEO 5 .

Análisis del diámetro de fibras

Las fibras de PEO 1 y 3, fueron producidas a misma distancia de trabajo ($W_d=10\text{cm}$) y a presión 2 y 4 bares respectivamente. Como se observa en la Tabla 2, el aumento de la presión, produjo un incremento del diámetro medio de las fibras.

Código	Diámetro medio (nm)	Desviación típica (nm)
PEO1	351.3	213.4
PEO3	460.7	198.4

Tabla 2. Diámetros medios y desviación típica de las muestras PEO 1 y PEO 3.

Sin embargo, cuando se comparan las muestras de PEO 2 y 4 ($W_d=15\text{cm}$) producidas también a 2 y 4 bares respectivamente, el cambio de presión no afectó al diámetro de las fibras (Tabla 3).

Código	Diámetro medio (nm)	Desviación típica (nm)
PEO2	642.9	474.8
PEO4	606.4	390.0

Tabla 3. Diámetros medios y desviación típica de las muestras de PEO 2 y PEO 4

A continuación, en las Figuras 27, 28, 29 y 30 se analizan con más detalle los diámetros de las fibras. Se muestran imágenes de las distintas muestras obtenidas con el detector SE del SEM. A la derecha de las mismas se encuentra la distribución de los diámetros de las fibras.

Los diámetros fueron obtenidos mediante el software de análisis de imágenes denominado Image J. Posteriormente se realizaron histogramas de frecuencias y curvas de ajuste asociadas a los diámetros de las fibras con el software Origin 8.6.

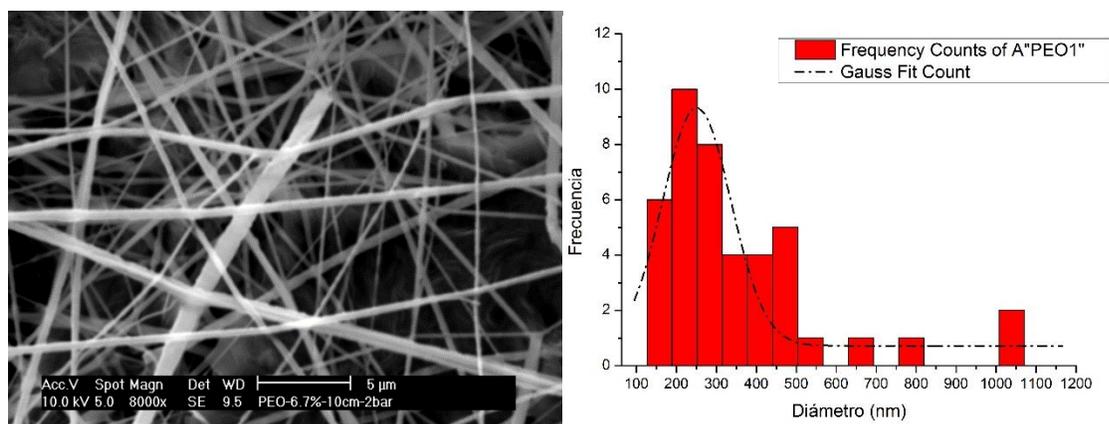


Figura 27. Muestra PEO 1. Izquierda: fotografía del SEM. Derecha: distribución de los diámetros.

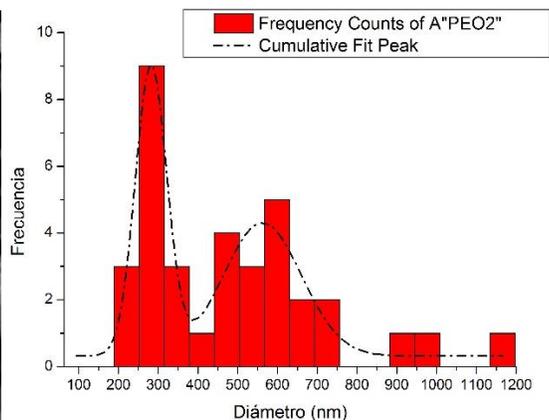
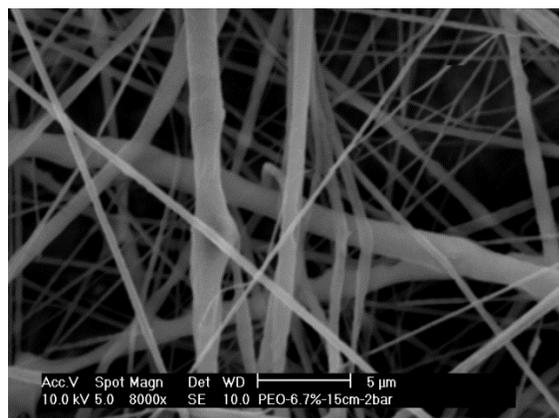


Figura 28 Muestra PEO 2. Izquierda: fotografía del SEM. Derecha: distribución de los diámetros.

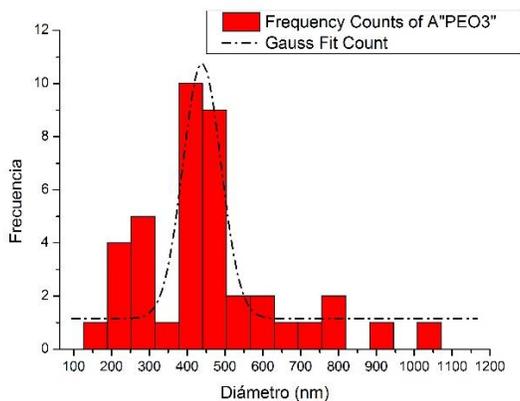
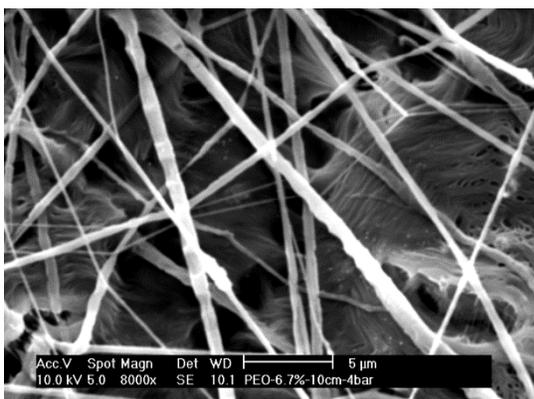


Figura 29. Muestra PEO 3. Izquierda: fotografía del SEM. Derecha: distribución de los diámetros.

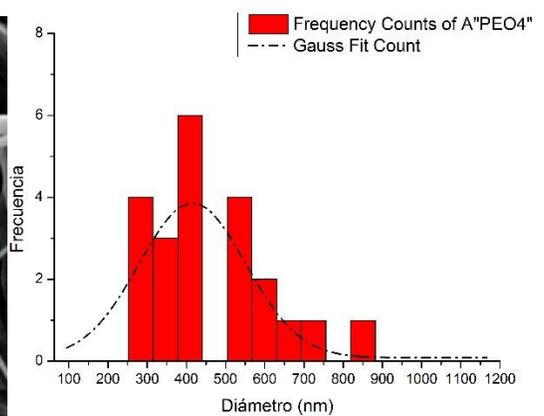
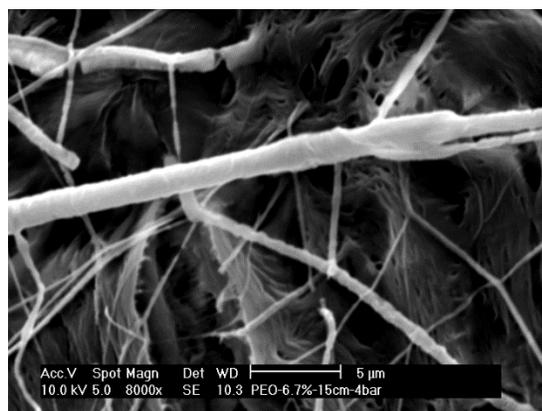


Figura 30. Muestra PEO 4. Izquierda: fotografía del SEM. Derecha: distribución de los diámetros.

En términos generales, cuando aumenta la presión del aire, el diámetro de la fibra aumenta. Esto se debe a una disminución de la temperatura proporcional a la mayor expansión del gas producida por la alta presión. Esto significa que se evapora poco disolvente, dando lugar a una mayor coalescencia entre las fibras húmedas y por tanto mayor diámetro de las fibras [50]. En las muestras producidas a $W_d=10\text{cm}$, se observa este fenómeno. Sin embargo, al aumentar la distancia de trabajo, no se produjo coalescencia de fibras y los diámetros apenas variaron.

4.1.2. Efecto de la variación de la distancia de trabajo

Considerando las presiones de 2 y 4 bares, se estudió el efecto de la variación de la distancia de trabajo. Esta variable influye en el tiempo de vuelo de la disolución, y por lo tanto en la evaporación de los disolventes.

Se observa en la Figura 31 las muestras de PEO 3 y 4, obtenidas a 4 bares. Las regiones planas son mayores cuando se incrementa la distancia de trabajo. En el caso del PEO 4, durante la producción del material, muchas fibras acabaron dispersas por la campana extractora y no llegaron al colector.

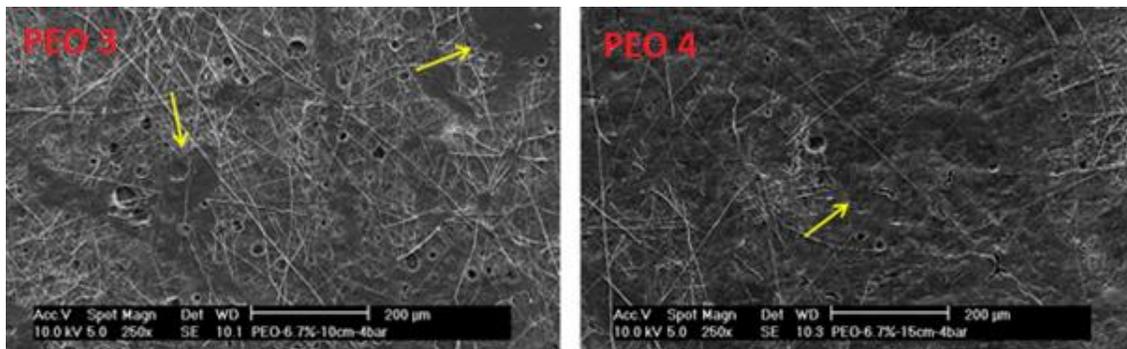


Figura 31. Fotografías del SEM a 250 aumentos que muestran las zonas planas del PEO 3 y PEO 4.

Comparando las muestras de PEO 1 y 2 de la Figura 32 obtenidas a presión 2 bares, y con distancias de trabajo $W_d=10\text{cm}$ y 15cm respectivamente, no se observan grandes diferencias. Si bien es cierto que se aprecia mayor cantidad de fibras cuando se aumenta la distancia de trabajo, no es una diferencia significativa.

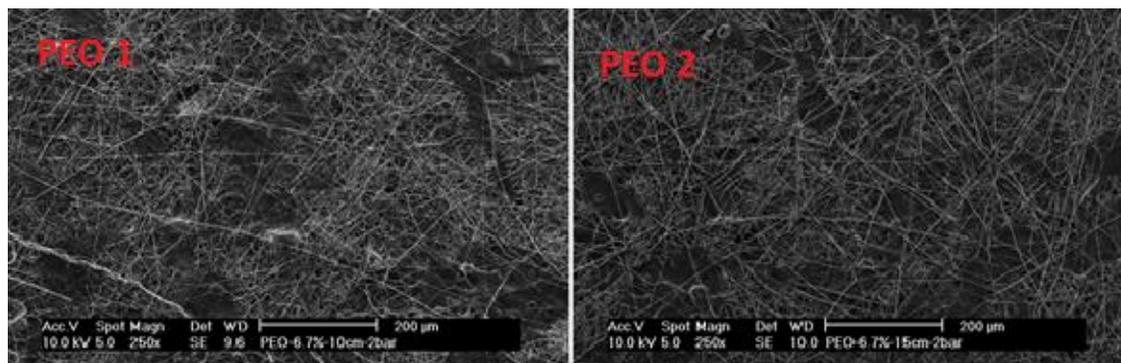


Figura 32. Fotografía del SEM a 250 aumentos de las muestras de PEO 1 y PEO 2.

Análisis del diámetro de las fibras

Comparando las Tablas 2 y 3, del apartado anterior se observa cómo aumentar la distancia de trabajo tuvo un efecto significativo en el diámetro medio de las fibras. Se trata de un fenómeno difícil de explicar, se puede atribuir a los distintos tiempos de evaporación del disolvente. Las fibras producidas a 15 cm se soldaron unas con otras por coalescencia, como ya se explicó en el apartado anterior.

En la Figura 33 se muestran gráficos de distribución normal asociados a los diámetros de las fibras de las distintas muestras obtenidos con *Origin*. Se observa claramente que los diámetros de las muestras de PEO 1 y 3 ($W_d=10\text{cm}$), presentan mayor homogeneidad que las muestras de PEO 2 y 4 ($W_d=15\text{cm}$). Cuando la gráfica es más ancha se interpreta como que hay más dispersión de los valores de la muestra, en este caso las fibras tienen tamaños muy distintos. En las Figuras 28 y 30 del SEM también puede apreciarse como las muestras de PEO 2 y 4 tienen diámetros más heterogéneos.

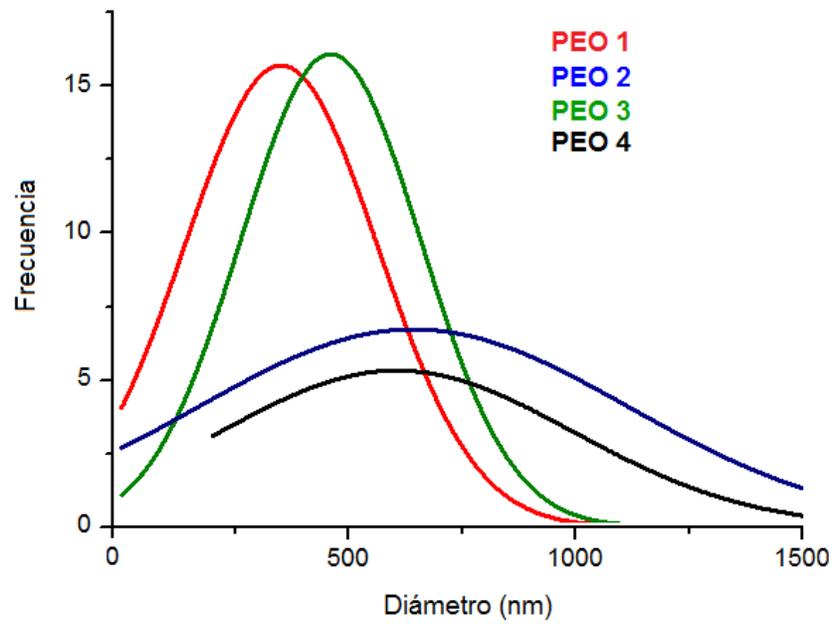


Figura 33. Gráfico de distribución normal de los diámetros para la elección de las condiciones de fabricación.

4.2. Elección de las condiciones de fabricación

En primer lugar se analizó el efecto de la presión. Se observó que al aumentar la presión disminuye la cantidad de fibras producidas, a presión 4 bares se observó una disminución de las fibras y aumento de zonas planas con respecto a la presión de 2 bares. A presión 6 bares no se formaron fibras y el polímero cristalizó sobre la superficie del colector. A presión de 1 bar no fue posible producir nanofibras, ya que la boquilla de nuestra máquina inyectora se atascaba. Por lo tanto, 2 bares es la presión óptima de fabricación.

En segundo lugar, se vio el efecto que tiene la distancia de trabajo. Las distancias elegidas para el estudio fueron 10 cm. y 15 cm. En estudios previos, se descartaron las distancias de trabajo inferiores a 10 cm., puesto que los disolventes no tenían tiempo de evaporarse, y las distancias mayores de 15 cm., ya que había problemas para llegar al colector.

Los diámetros de las fibras producidas a 10 cm. son menores que los producidos a 15 cm., no obstante las diferencias no son importantes, todas las muestras producidas tienen diámetros nanométricos, por lo que esto no será determinante para la elección de la distancia de trabajo.

Al observar la distribución de los diámetros, sí se obtuvieron datos relevantes. Los diámetros de las fibras producidas a 10 cm. presentan mayor homogeneidad. Esta característica reviste de gran importancia para conseguir una buena dispersión de nanopartículas.

Las condiciones de trabajo elegidas son: **P= 2 bares** y **Wd=10cm**.

4.3. Estudio morfológico de PEO con 1% de nanopartículas de cobre

Con las condiciones de fabricación fijadas anteriormente, se fabrican nanofibras de PEO con un 1% de partículas submicrónicas de cobre en la disolución. El proceso seguido para producir el material es el que se explicó en apartados anteriores.

En este apartado se compara la morfología de las nanofibras de PEO fabricadas mediante SBS con 1% y 0% de nanopartículas. Para ello se utilizan fotografías obtenidas mediante el SEM con detector de electrones secundarios (SE), detector de electrones retrodispersados (BSE) y detector de rayos X (microanálisis). Posteriormente se analiza el diámetro de las fibras con las técnicas que se describieron anteriormente.

En un primer análisis visual a 250 aumentos (Figura 34), se observa la gran cantidad de fibras que hay. Cuando se compara con la muestra con 0% Cu, no se observan diferencias significativas. Ambas han sido fabricadas con las mismas condiciones, por lo que es lógico que no se observen diferencias a priori.

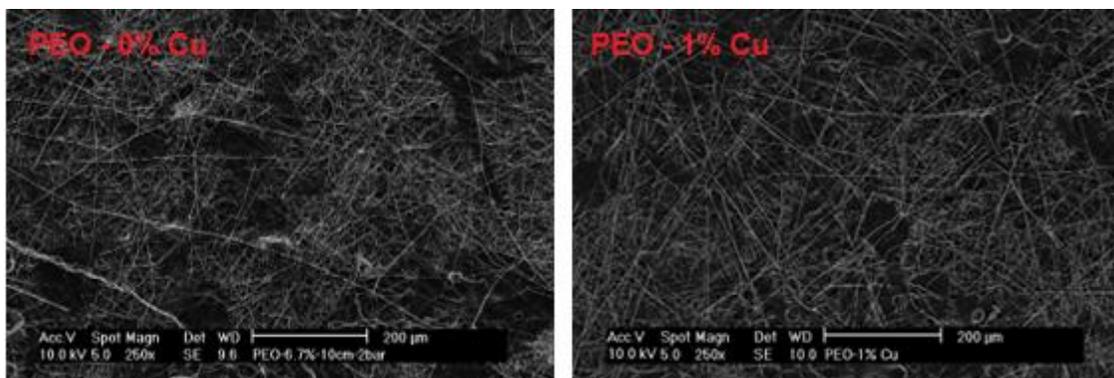


Figura 34. Fotografías del SEM a 250 aumentos de las muestras de PEO 0% Cu y PEO 1% Cu.

A 500 aumentos (Figura 35) se observa en la muestra con nanopartículas zonas donde las fibras se sueldan unas con otras:

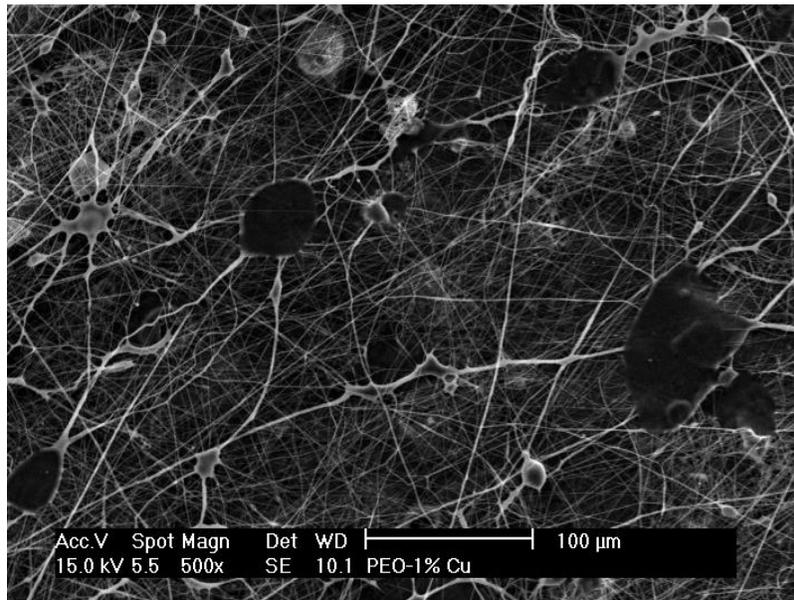


Figura 35. Fotografía del SEM a 500 aumentos de la muestra de PEO 1% Cu

En la Figura 36 se observa la muestra con 1% de Cu a 1500 aumentos. Se puede ver una gran región de coalescencia de fibras, es decir, fibras que se han soldado formando una fibra de mayor tamaño.

Posteriormente se analizará si este fenómeno ha tenido influencia los diámetros.

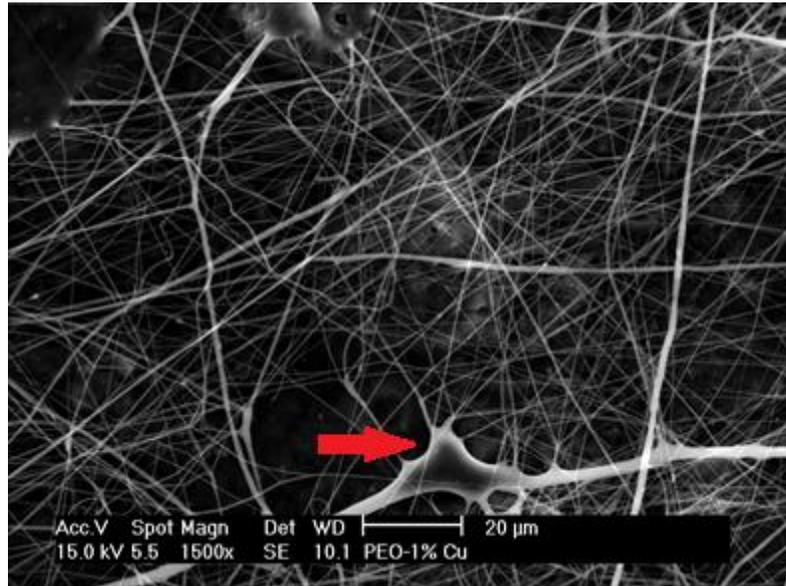


Figura 36. Fotografía del SEM a 1500 aumentos de la muestra de PEO 1% Cu

La fotografía de la Figura 37, corresponde a la misma región de la muestra que la Figura 36 pero obtenida con el detector de electrones retrodispersados (BSE). Este detector también ofrece una imagen que da idea de la topografía de la superficie, aunque de menor resolución. Su ventaja consiste en que es sensible a las variaciones en el número atómico de los elementos presentes en la superficie. En este caso, con el BSE pueden verse con claridad las nanopartículas de cobre, pues el Cu presenta mayor masa atómica que los elementos que forman parte de la matriz de PEO (C, H y O). En concreto, inspeccionando las imágenes de material nanocompuesto la presencia de Cu se asociaría a los diminutos puntos blancos distribuidos por la red nanofibrilar puesto que una mayor masa atómica implica la aparición de más señal asociada a electrones dispersados.

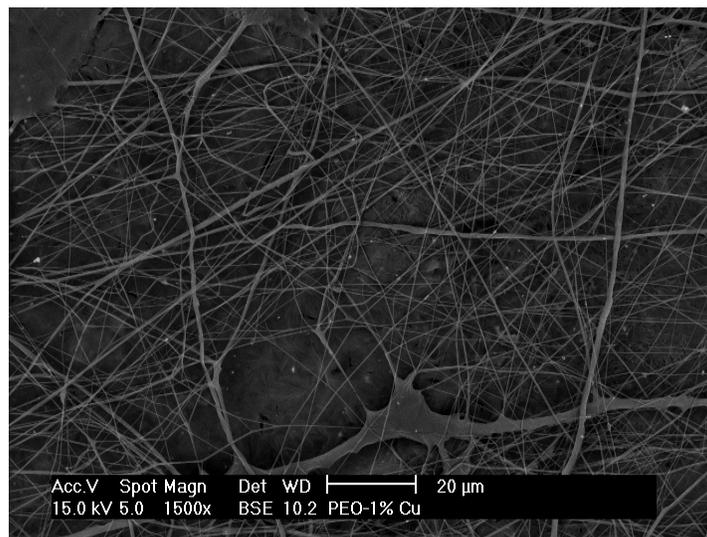


Figura 37. Fotografía del SEM a 1500 aumentos del PEO 1% Cu y detector BSE.

Para comprobar que los puntos blancos son nanopartículas de cobre, se realizó un microanálisis de rayos X. El resultado, como se puede ver en el espectro de rayos X de la Figura 38, es positivo, pues se puede ver con claridad el pico característico de la emisión de rayos X de Cu.

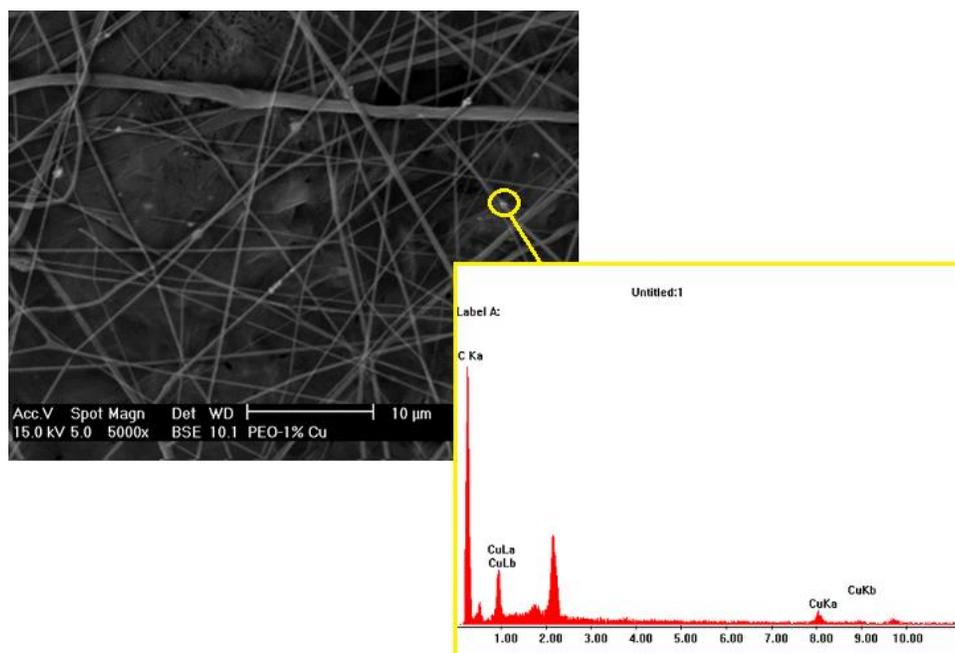


Figura 38. Microanálisis con SEM de las nanopartículas de cobre.

4.3.1. Análisis de los diámetros de las fibras

Como se explicó en el apartado 3.4, los diámetros fueron medidos mediante análisis de imagen utilizando un software específico para ello y posteriormente analizados con un software estadístico.

En la figura 35, se muestra el diagrama de barras y la curva ajustada asociada a la distribución de los diámetros de las fibras. Se puede observar cómo, la distribución tiene una clara forma de campana de Gauss. Se observa como la gran mayoría de fibras se concentran entre 200 y 500 nm.

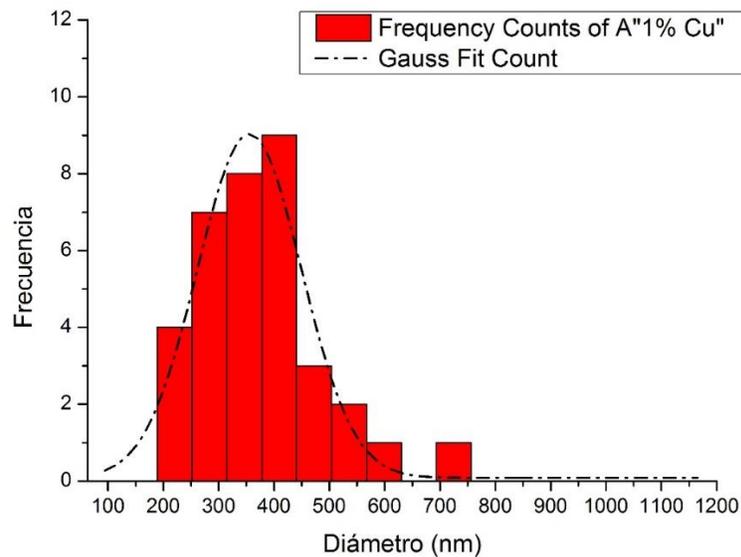


Figura 39. Frecuencia de distribución de los diámetros del PEO 1% Cu.

En la Tabla 4 se comparan los diámetros y desviaciones estándar de las dos muestras. Se observa que los valores medios del diámetro son muy parecidos (en la escala en la que nos encontramos, las diferencias no son significativas). Sin embargo, la desviación típica de la muestra sin cobre es claramente mayor. Esto quiere decir que la muestra con 1% Cu tiene menos valores extremos, por lo que en principio presentaría más homogeneidad en términos de tamaños de fibra.

Código	Diámetro medio (nm)	Desviación típica (nm)
PEO – 0% Cu	351.3	213.4
PEO – 1% Cu	377,21	113,67

Tabla 4. Diámetro medio y desviación típica de las muestras PEO 0% Cu y PEO 1% Cu.

Quando se comparan las curvas de ajuste asociadas a las distribuciones de diámetros (Figura 40), se observa que la campana de la muestra con 0% Cu es más ancha, por lo que, el tamaño de los diámetros está distribuido más heterogéneamente. Se confirma entonces que la muestra con nanopartículas tiene diámetros más homogéneos.

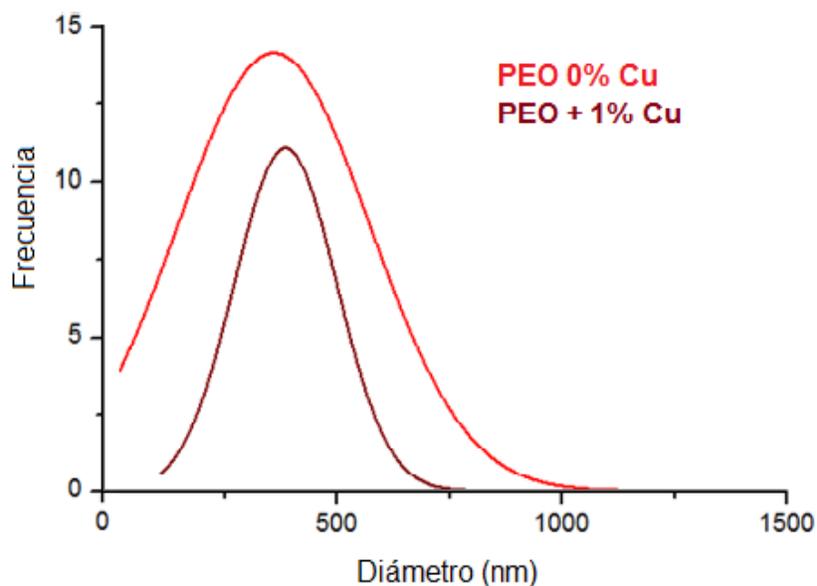


Figura 40. Gráfica de distribución de los diámetros del PEO 0% Cu y PEO 1% Cu.

4.4. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Se realiza un ensayo DSC a dos muestras: una con 0% de nanopartículas de cobre y otra con 1%. El objetivo del ensayo es analizar cómo afecta la presencia de nanopartículas al comportamiento térmico del PEO.

Como se explicó anteriormente, el programa de temperaturas al que se somete a los materiales consta de dos calentamientos y un enfriamiento. Se analizará el termograma correspondiente al primer calentamiento, ya que es cuando el PEO se encuentra en forma de nanofibras, sin que se haya realizado un borrado de su historia térmica y/o procesado.

La Figura 41 muestra el termograma correspondiente al primer calentamiento:

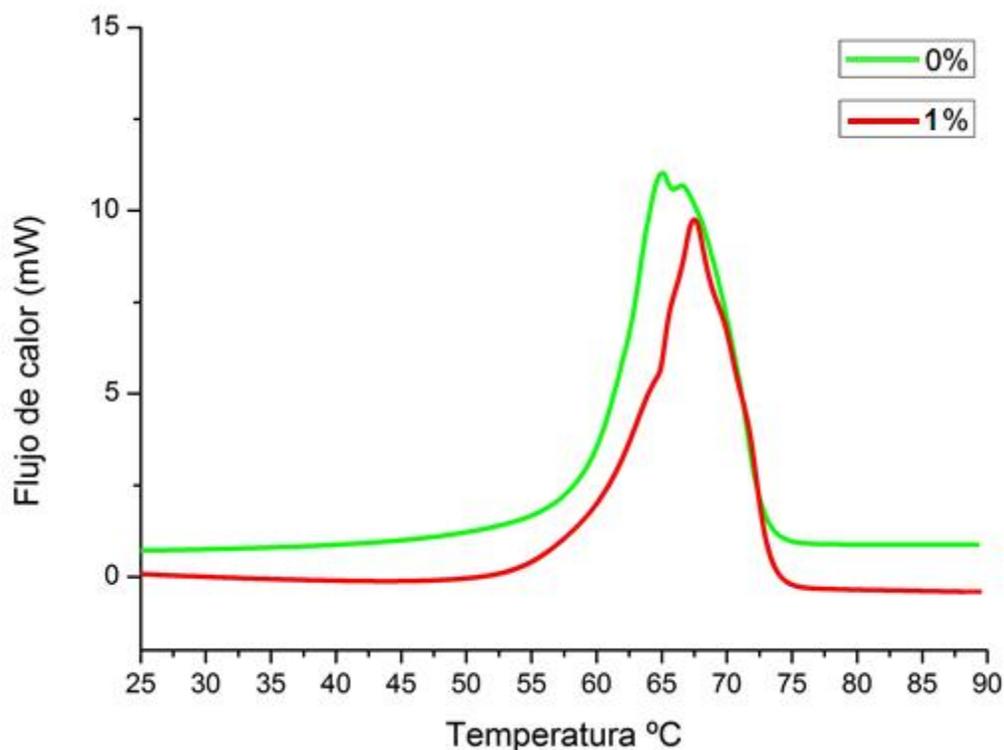


Figura 41. Termograma del primer calentamiento de las muestras PEO 0% Cu y PEO 1% Cu.

Se puede observar como ambos materiales tienen un comportamiento similar, con un único pico endotérmico correspondiente a la fusión del PEO.

De la gráfica se obtiene (Tabla 5):

- Punto de fusión (T_m): es el pico del proceso endotérmico.
- Entalpía de fusión (ΔH_m): es la integral normalizada de la curva.

	ΔH_m (J/g)	T_m (°C)
PEO – 0% Cu	151,7	65
PEO – 1% Cu	126,5	67,5

Tabla 5. Entalpías y temperaturas de fusión de las muestras de PEO 0% Cu y PEO 1% Cu, obtenidas con DSC.

Se ve como la temperatura de fusión del material con 1% de cobre aumenta ligeramente. Esto puede deberse a que las nanopartículas restringen el movimiento de las moléculas cuando aumenta la temperatura y en consecuencia tarda más en fundir o se generan cristales en los que las macromoléculas interaccionan más fuertemente.

A partir de los datos obtenidos, también puede obtenerse el porcentaje de cristalinidad (X_c) por medio de la siguiente ecuación:

$$X_c = \frac{AH_m}{(1-x)AH_{m,o}}$$

Donde x es la fracción de nanopartículas y $AH_{m,o}$ la entalpía de fusión de referencia del PEO, $AH_{m,o} = 197$ g/mol. [51]

	ΔH_m (J/g)	x	X_c
PEO – 0% Cu	151,7	0	77%
PEO – 1% Cu	126,6	0,01	65%

Tabla 6. Grado de cristalinidad de las muestras de PEO-0% Cu y PEO-1% Cu.

Se observa como el grado de cristalinidad decrece en la muestra con 1% de Cu. Esto quiere decir que la presencia de nanopartículas puede ejercer un efecto nucleante dando lugar a la generación de un mayor número de esferulitas que al encontrarse en su crecimiento no permitan la aparición de más fracción cristalina. Esto último es particularmente importante, pues tanto el tipo de cristales como la fracción cristalina existente en un polímero cristalino pueden afectar a propiedades importantes del polímero como la dureza, la densidad, transparencia o propiedades térmicas.

4.5. Espectrometría Infrarroja (FTIR)

Se realiza un análisis FTIR de las muestras con 0% y 1% de nanopartículas de cobre. El espectro infrarrojo proporciona información estructural del material, en concreto del polímero pues es el que presenta enlaces covalentes capaces de vibrar y por tanto activarse ante la presencia de radiación infrarroja. Para cada banda de absorción infrarroja se activan vibraciones de distintos grupos funcionales. El análisis se realiza por tanto observando si la vibración de los grupos funcionales se produce a valores iguales de número de ondas o frecuencia para distintas muestras de material. En nuestro caso, se quiere estudiar si el proceso de fabricación y la dispersión de nanopartículas de Cu afectaron a la estructura interna del PEO. Para ello en primer lugar se debe buscar en la bibliografía el espectrómetro infrarrojo del polióxido de etileno [52] que se utiliza de referencia y realizar la asignación de bandas en el infrarrojo medio para dicho polímero (Tabla 7).

Grupo funcional	Banda de absorción (cm ⁻¹)	Tipo de vibración
CH ₂	2950	Estiramiento asimétrico
CH ₂	1345	Agitación
CO ; CH ₂	1149	Estiramiento de CO ; balanceo de CH ₂
CH ₂	963	Balanceo y flexión
C – O ; C – C ; CH ₂	844	Estiramiento de C – O ; estiramiento de C – C ; balanceo de CH ₂

Tabla 7. Frecuencias de absorción de referencia del PEO obtenidas de la bibliografía [52].

A continuación se comparan los datos de la bibliografía con los valores de la posición de las bandas observadas en los espectros obtenidos experimentalmente para los materiales preparados (Figura 42).

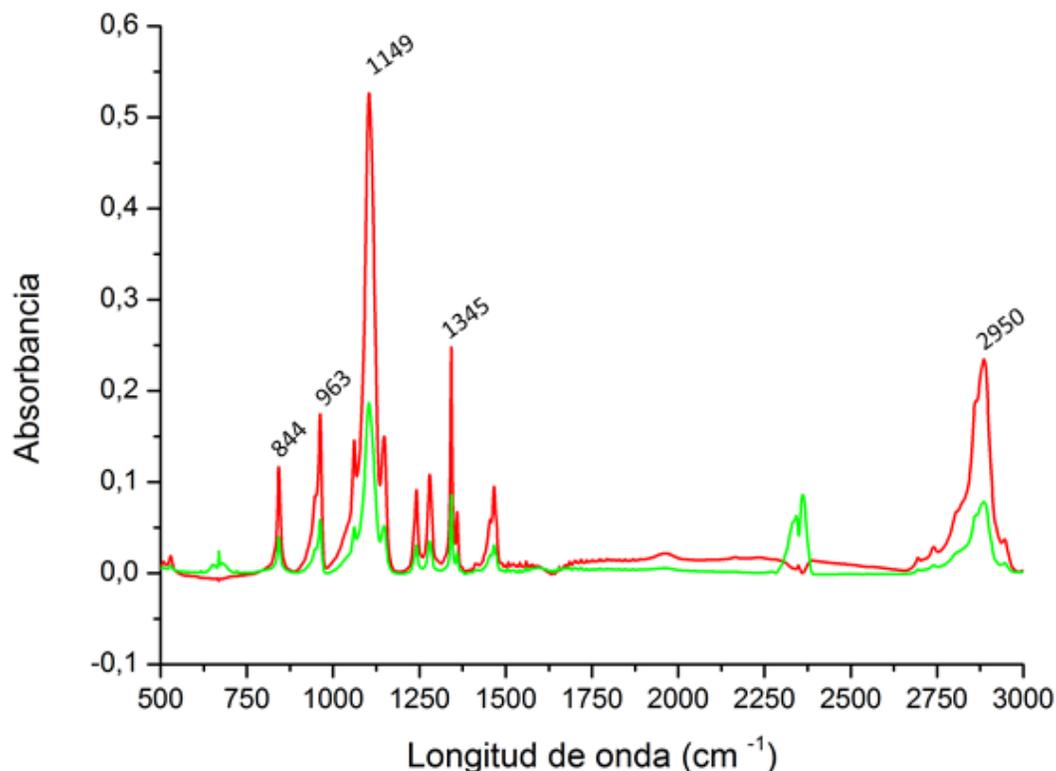


Figura 42. Espectro infrarrojo obtenido experimentalmente de las muestras de PEO con 0% y 1% Cu.

Se observa que los “picos” de ambas gráficas se producen en las mismas longitudes de onda, esto significa que la vibración de los grupos funcionales de ambas muestras produce a la misma longitud de onda. Esto significa que introducir un 1% de nanopartículas de Cu no alteró la estructura interna del PEO.

Si se comparan los valores de la Figura 42 con los valores de referencia de la Tabla 6. Tampoco hay muchas diferencias. De acuerdo con los resultados obtenidos el proceso de fabricación no afectó estructuralmente al PEO. No obstante, llama la atención la vibración que produce en 2400 cm⁻¹ la cual no está identificada en nuestra bibliografía.

4.6. Conclusiones

A tenor de los resultados obtenidos en este proyecto, se han determinado condiciones óptimas para la fabricación de un material nanocompuesto con potenciales aplicaciones biomédicas, mediante un método de fabricación novedoso. Además, se han caracterizado muestras del material y se han presentado resultados que pueden dar pie a futuras investigaciones. De dichos resultados, pueden extraerse varias conclusiones.

Durante la elección de las condiciones óptimas de fabricación, se observó que aumentar la presión produjo una disminución de la cantidad de fibras producidas, a presión 4 bares se observó una disminución de las fibras y aumento de zonas planas, y a 6 bares no se produjeron fibras. Por ello se fabricó a 2 bares. Así mismo se determinó que a una distancia de trabajo de 10 cm las fibras presentaron mayor homogeneidad que a 15cm.

Se comprobó cómo introducir un 1% de nanopartículas dentro de las fibras producidas con las condiciones seleccionadas, no alteró la cantidad ni la morfología de las fibras.

Del análisis de los resultados obtenidos mediante el análisis FTIR, se concluye que el proceso de fabricación y la presencia de nanopartículas no produjeron desplazamientos en las bandas de absorción características del PEO, por lo tanto, estructuralmente el PEO no se vio afectado.

Los resultados obtenidos en el ensayo DSC muestran como introducir nanopartículas produjo una disminución considerable de la cristalinidad del PEO. Las nanopartículas pudieron ejercer un efecto nucleante y propiedades importantes del polímero como la dureza, la densidad, transparencia o propiedades térmicas pudieron verse afectadas. En futuras investigaciones sería interesante realizar más estudios sobre estas propiedades.

Así mismo, queda pendiente realizar un ensayo de tracción mecánica y capacidad bactericida, lo cual sería fundamental si se pretende utilizar este material en la industria biomédica.

5. Anexos

5.1. Presupuesto

El cálculo del presupuesto se dividió en coste material y coste personal.

Para el cálculo del coste en máquinas se supone que el Departamento de Ciencia e Ingeniería de Materiales y Química de la UC3M cede las máquinas gratuitamente. Si se tuviera en cuenta el gasto en máquinas el presupuesto aumentaría considerablemente (para hacernos una idea, el SEM utilizado costó alrededor de 180.000€).

Para el coste de personal, se estableció el salario base de alumno en prácticas, teniendo en cuenta el gasto de la seguridad social de este tipo de trabajadores.

COSTE MATERIAL		COSTE PERSONAL	
Materiales	Coste (€)	Tarea	Horas
PEO	55	Búsqueda previa de información	20
Nanopartículas de cobre	100	Fabricación del material	100
Otros	30	Caracterización de las muestras	60
Máquinas*		Redacción del trabajo	120
SBS	0	Total	300
DSC	0		
SEM	0		Coste
FTIR	0	Retribución por hora trabajada (€/hora)	5
Documentación		Gasto seguridad social (€)	69,02
Bibliografía adquirida	21,8	Total	1569,02
Subtotal	206,8		
Total (+21% IVA)	250,228		
COSTE TOTAL	1819,248		

Figura 43. Desglose del presupuesto

5.2. Marco regulador

Se debe tener en cuenta que las nanopartículas y en general, todos los nanomateriales, son materiales relativamente nuevos de los que se tiene poca información respecto a sus efectos sobre la salud de las personas. Las partículas de tamaño nanométrico pueden interactuar en el organismo de forma diferente y ocasionar en el organismo efectos adversos para la salud. Asimismo, el tamaño de partícula puede afectar al riesgo de incendio y explosión.

La información de la que se dispone sobre los efectos de los nanomateriales para la salud en humanos es limitada. Se han realizado estudios toxicológicos con animales, pero hasta la fecha no han dado resultados concluyentes. Por otro lado, los datos epidemiológicos relacionados con los efectos toxicológicos de los nanomateriales en condiciones reales son escasos a pesar de que algunos nanomateriales se vienen utilizando desde hace tiempo.

Los efectos adversos más importantes de los nanomateriales observados en estudios realizados en animales y a altas dosis, se manifiestan en los pulmones e incluyen entre otros, inflamación, daños en los tejidos, fibrosis y generación de tumores. [53, 54]

En cuanto a normativa se refiere, aunque en la legislación europea no hay un marco específico para los nanomateriales, la normativa existente que corresponda según la situación en que se usen y sus características de peligrosidad, les será de total aplicación, tal y como ha expresado la Comisión Europea en varias de sus publicaciones relativas a los aspectos legislativos de los nanomateriales [55]

Por lo tanto en España son aplicables tanto la normativa general de seguridad y salud en el trabajo, Ley de Prevención de Riesgos Laborales (LPRL) y Reglamento de los Servicios de Prevención (RSP), como las normativas específicas de desarrollo de la LPRL que sean de aplicación en función de sus características de peligrosidad, como, por ejemplo: el Real Decreto 374/2001 (de agentes químicos). [56]

Además, en España el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo elabora documento denominado “Seguridad y salud en el trabajo con nanomateriales” que contiene información y recomendaciones que puedan garantizar una protección adecuada de la salud y la seguridad de los trabajadores expuestos a nanomateriales en los lugares de trabajo.

Medidas de protección y prevención

Medidas de prevención:

- Minimizar el contacto con el nanomaterial: re-diseñar los procedimientos para tener el menor contacto posible con el material y señalar zonas de riesgo.
- Aislamiento: lugares donde se almacenen nanomateriales deben estar lo más aislados posibles.
- Medidas de control: si es posible se debe formar una barrera entre el trabajador y la fuente de nano. Utilizar campanas extractoras es una buena medida

Medidas de protección:

- Equipos de protección respiratoria
- Equipos de protección ocular
- Guantes de protección

Desde el inicio del proyecto, tanto el tutor como los empleados del Departamento de Ciencia e Ingeniería de Materiales, pusieron en conocimiento del alumno todas las normas de seguridad aplicables para manipular nanopartículas con seguridad. Se pusieron a disposición del alumno todos los equipos de protección individual mencionados anteriormente. Además la fabricación mediante SBS se hizo bajo una campana extractora y las nanopartículas estuvieron confinadas en un recipiente hermético.

6. Referencias bibliográficas

- [1] Organización Mundial de la Salud, 2016."Estrategia mundial de la OMS para contener la resistencia a los antimicrobianos".
- [2] Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS). "Plan estratégico y de acción para reducir el riesgo de selección y diseminación de la resistencia a los antibióticos". (p. 7).
- [3] Ajayan P.M. Schadler L.S., Braun P.V. "Nanocomposite Science and Technology", (p.70)
- [4] H.E. Schneider¹, J.G. Steuber², W. Du³, M. Mortazavi³, and D.W. Bullock¹. 2016. "Polyethylene Oxide Nanofiber Production by Electrospinning".
- [5] R. Jayakumar, S. Nair, "Biomedical applications of polymeric nanofibers".
- [6] Uyar T1, Hacaloglu J, Besenbacher F. May 11, 2011. "Electrospun polyethylene oxide (PEO) nanofibers containing cyclodextrin inclusion complex".
- [7] Filippo Pierini, massimiliano Lanzi, Paweł Nakielski, Sylwia Pawłowska, Krzysztof Zembrzycki, tomasz Aleksander Kowalewski. May 11, 2016. "Electrospun poly(3-hexylthiophene)/poly(ethylene oxide)/graphene oxide composite nanofibers: effects of graphene oxide reduction".
- [8] Xiaoli Wang, Feng Cheng, Jing Gao. Oct 2, 2014. "Antibacterial wound dressing from chitosan/polyethylene oxide nanofibers mats embedded with silver".
- [9] Teo WE, Ramakrishna S. 2006."A Review on Electrospinning Design and Nanofiber assemblies", Nanotechnology, (p. 17).
- [10] Tong HW, Zhang X, Wang M 2012."A New Nanofiber Fabrication Technique Based on Coaxial Electrospinning", (p.66, 257).
- [11] Ellison, C. J.; Phatak, A.; Giles, D. W.; Macosko, C. W.; Bates, F. 2007. S. Polymer, (p. 48).

- [12] Delia Sanz. "Resumen Spun bold y melt blow".
- [13] Wehmann, M.; Mcculloch, W.J.G.; Karger-Kocsis, J., ed. 2012. "Melt blowing technology In: Polypropylene: an AZ reference." Springer Science & Business Media.
- [14] Dutton, K.C. 2008."Overview and analysis of the melt blown process and parameters". Journal of Textile and Apparel, Technology and Management.
- [15] Haidy Soto, Karen Lozano, McAllen, Bharath Raghavan, "Fabrication of Melt Spun Polypropylene Nanofibers by Force spinning". University of Texas, Mechanical Engineering Department, Edinburg, TX, UNITED STATES.
- [16] Medeiros, E. S.; Glenn, G. M.; Klamczynski, A. P.; Orts, W. J.; Mattoso, L. H. C., 2010. "Solution Blow Spinning".
- [17] "Nano and Submicrometric Fibers of Poly(D,LLactide) Obtained by Solution Blow Spinning: Process and Solution Variables". JOURNAL OF APPLIED POLYMER SCIENCE.
- [18] Solution blow spinning. Inventores: Eliton S. Medeiros, Gregory M. Glenn, Artur P. Klamczynski, William J. Orts, Luiz H. C. Mattoso
- <https://www.google.es/patents/US8641960>
- [19] Cristina Buzea, Ivan Pacheco, and Kevin Robbie "Nanomaterials and Nanoparticles: Sources and Toxicity" Biointerphases 2 (1007) MR17-MR71.
- [20] Ajayan P.M. Schadler L.S., Braun P.V. Nanocomposite Science and Technology.
- [21] S.C. Tjong Z.Y. Ma, Material Science Engineering (p.29, 49).
- [22] Cesar Edil Da Costa, Francisco Velasco Lopez y Jose Manuel Torralba Castelló. "Materiales Compuestos de matriz metálica".
- [23] William D. Callister, Jr. Ciencia e Ingeniería de los materiales, (p.531).
- [24] K. Niihara, Metal 1999. Powder Report. (p.54 (3), 37).
- [25] William D. Callister, Jr. Ciencia e Ingeniería de los materiales, (p.491).

- [26] A. Heglein, 1989. Chemical, Rev. (p.89).
- [27] C. Sealy, Nano Energy. (p.192). 2012.
- [28] R. K. Rai, D. Tyagi, K. Gupta y S. K. Singh. 2016.Sci. Technol,(6, 3341-3361).
- [29] Pablo C Caracciolo, Pablo R Cortez Tornello, Fabián Buffa, Florencia Montini Ballarin, Teresita R Cuadrado y Gustavo A Abraham. Feb/mar 2011. "Pequeñas fibras, grandes aplicaciones." Revista Ciencia Hoy, Número 121.
- [30] M. S. Dresselhaus, G. Dresselhaus, K. Sugihara, I. L. Spain, H. A. Goldberg New York, USA, 1988. "Graphite Fibers and Filaments".
- [31] K. Gupta, M. Gupta . 2004. "Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications". Biomaterials 26 (18).
- [32] Murugam Ramalingam and Seeram Ramakrishna. 2017. Nanofiber Composites for Biomedical Applications. (p.95).
- [33] Huang ZM, Zhang YZ, Kotaki M, Ramakrishna S "A Review on Polymer Nanofibers by Electrospinning and Their Applications in Nanocomposites".
- [34] Pastor-Sánchez R. 2006. "Alteraciones del nicho ecológico. Resistencias bacterianas a los antibióticos". Gac Sanit. (p. 20(Supl 1):175-81).
- [35] M. Bakkali. "Could DNA uptake be a side effect of bacterial adhesion and twitching motility?". *Archives of microbiology* (Springer).
- [36] «SABER-ULA, Universidad de Los Andes - Mérida – Venezuela. 1 de julio de 2017.: Actividad bacteriostática y bactericida de extractos etanólicos de propóleos venezolanos y europeos sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*».
- [37] Bernatová S, Samek O, Pilát Z, Serý M, Ježek J, Ják P, et al. Following the mechanisms of bacteriostatic versus bactericidal action using Raman spectroscopy. *Molecules*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. 2013 Jan 24;18(11):13188-99.

[38] Damm, C., Münstedt, H., Rösch, A. (2007). Long-Term Antimicrobial Polyamide 6/Silver-Nanocomposites. *Journal of Material Science* 42, 6067–6073.

[39] Dutta RK, Nenavathu BP, Gangishetty MK, Reddy AVR 2012.. “Studies on antibacterial activity of ZnO nanoparticles by ROS induced lipid peroxidation. *Colloids Surf B Biointerfaces*” (p.94, 143).

[40] Salem W, Leitner DR, Zingl FG, Schratte G, Prassl R, Goessler W. 2015.. “Antibacterial activity of silver and zinc nanoparticles against *Vibrio cholerae* and enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Int J Med Microbiol. Elsevier GmbH*”. (p. 85-95).

[41] R. Vidal y C. Durán. “Aplicación de la capacidad bactericida del cobre en la práctica médica”.

[42] Michalak I, Chojnacka 2014. K. *Encyclopedia of Toxicology*.

[43] Walid Bahloul. 2012. “In situ synthesis of titanium dioxide by hydrolysis-condensation reactions in molten polypropylene matrix” (p.134).

[44] L. Zhang y T.J. Webster. 2009. “Nanotechnology and nanomaterials: Promises for improved tissue regeneration”. *Nano Today* . Vol. 4, (p. 66).

[45] Laura Santos Esteve, Dr. Àngel Berna Prats. 2010. “Síntesis y caracterización de *scaffolds* poliméricos para ingeniería de tejidos”. (p.71).

[46] F.E. Bailey, JR. J.V. Koleske, 1.” *Poly(ethylene oxide)*”. (p.5).

[47] “Materiales poliméricos de mayor interés industrial”. Universidad de Oviedo. Asignatura: Materiales poliméricos y compuestos. (Tema 8).

[48] Catálogo Sigma Aldrich: “Poly(ethylene glycol) and Poly(ethylene oxide)”.

<http://www.sigmaaldrich.com/materials-science/material-science-products.html?TablePage=20204110>

[49] Humerto Palza. 2014. “Tecnología antimicrobiana a base de cobre obtiene licencia para su comercialización”. Universidad de Chile.

[50] 28 R. S. Linghao He, Qun Xu, Chengwu Hua. 2010. *Polymeric Composites.*, (p.16, 921–927).

[51] “Crystallization and phase separation in blends of high stereoregular poly(lactide) with poly(ethyleneglycol)” Article in *Polymer*.

[52] *F.E. Bailey, JR. J.V. Koleske. Poly(ethylene oxide).*, (p.116).

[53] Health effects of nanoparticles. Second edition. IRSST. 2008

[54] Workplace exposure nanoparticles. 25 EU-OSHA. 2009

[55] Comisión Europea COM. Aspectos reglamentarios de los nanomateriales. 2008

[56] Seguridad y salud en el trabajo con nanomateriales. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. 2010.