

Efectos del tratamiento térmico y del método de colección sobre la estructura cristalina de las nanofibras electrohiladas de ácido poli (láctico)

Effects of heat treatment and the method of collection on the crystal structure of the poly lactic acid electrospun nanofibers

Edwin Gómez-Pachón^{1*} Ricardo Vera-Graziano² Raúl Montiel³
William Cardenas-Aguazaco⁴ Andrés Felipe Ochica⁴

Recibido 29 de octubre de 2017, aceptado 13 de septiembre de 2018
Received: October 29, 2017 Accepted: September 13, 2018

RESUMEN

Estudios anteriores indican que las nanofibras de ácido poli (láctico) (PLA) obtenidas por electrohilado reportan una baja resistencia mecánica. Por ello se pretende mostrar los cambios en las propiedades mecánicas de módulo de Young y resistencia a la tensión de las nanofibras de PLA por efectos del tipo de colección y de tratamiento térmico. Para ello se prepararon nanofibras de PLA por electrohilado colectadas aleatoria y ordenadamente con la aplicación de un tratamiento térmico a 80 °C por 8 horas con el fin de incrementar el entrecruzamiento y la fase cristalina del andamio. Las nanofibras fueron caracterizadas por medio de microscopía electrónica de barrido (SEM), microscopía electrónica de transmisión (TEM), dispersión de rayos X a bajo ángulo (SAXS), calorimetría diferencial de barrido (DSC) y una evaluación a la resistencia a la tensión. Los resultados mostraron nanofibras orientadas con una estructura semicristalina claramente definida, con un menor diámetro promedio de fibra y un notorio aumento de resistencia a la tensión como del Módulo de Young en relación a las depositadas aleatoriamente. Por otra parte, el tratamiento térmico influyó en el diámetro promedio y la porosidad final del andamio, pero no generó un cambio notorio en las propiedades mecánicas en estudio. Por lo tanto, se concluye que el proceso de colección rotatorio genera un mayor ordenamiento molecular, incremento en las propiedades mecánicas en estudio, mientras el recocido extiende la cristalinidad de las nanofibras pero no afecta estas propiedades.

Palabras clave: Acido Poli (láctico), electrohilado, nanofibras, cristalinidad, propiedades mecánicas.

ABSTRACT

Previous studies indicate that poly (lactic acid) (PLA) nanofibers obtained by electrospinning report a low mechanical strength. Therefore, it is intended to show the changes in the mechanical properties of Young's modulus and tensile strength of PLA nanofibers due to the type of collection and thermal treatment. For this, PLA nanofibers were prepared by electrospinning collected randomly, and orderly with thermal treatment was carried out at 80 °C for 8 hours to increase the cross-linking and the crystalline phase of the scaffolding. The nanofibers were characterized by means of scanning electron microscopy

¹ Grupo de investigación Diseño, Innovación y Asistencia Técnica de Materiales Avanzados DITMAV. Facultad Duitama. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (UPTC), Carrera 18 con Calle 22, Duitama, Colombia. E-mail: edwin.gomez02@uptc.edu.co

² Instituto de Investigaciones en Materiales, UNAM Apdo. postal 70-360 Cd. Universitaria, CDMX, México.
E-mail: graziano@unam.mx

³ Departamento de polímeros. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa (UAM-I), CDMX, México.
E-mail: luar@xanum.uam.mx

⁴ DANUM, Facultad de Ciencias Básicas. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (UPTC). Avenida Central del Norte 39-115, Tunja, Colombia. E-mail: williamantonio.cardenas@uptc.edu.co; andres-felipe21@hotmail.com

* Autor de correspondencia: edwin.gomez02@uptc.edu.co

(SEM), transmission electron microscopy (TEM), low angle X-ray scattering (SAXS), differential scanning calorimetry (DSC), and stress evaluation. The results showed oriented nanofibers with a clearly defined semicrystalline structure and a smaller average fiber diameter and a notorious increase of tensile strength concerning those collected randomly. Additionally, the thermal treatment influenced the average diameter and the porosity of the scaffolding but did not generate a significant change in the mechanical properties. Therefore, it is concluded that the rotary collection process generates a higher molecular order, increase in the mechanical properties under study, while annealing extends the crystallinity of the nanofibers but does not affect these properties.

Key words: Poly Lactic Acid, electrospinning, nanofibers, crystallinity, mechanic properties.

INTRODUCCIÓN

La medicina regenerativa, es un campo interdisciplinario que combina los principios e innovaciones de la ingeniería y ciencias de la vida con el propósito de la mejora, reparación o sustitución de la función de un tejido u órgano [1]. En este campo de la ciencia se combinan células, andamios (matriz extracelular artificial) y tecnologías de diseño y fabricación de los nuevos tejidos u órganos, dado que cada tejido u órgano en nuestro cuerpo está compuesto de células del parénquima (células funcionales) y células madre mesenquimales (células de apoyo) contenidos dentro de una matriz extracelular (MEC) para formar un microambiente, los cuales en conjunto forman tejidos y órganos [2].

Entre las propiedades más importantes que deben poseer los andamios fabricados por electrohilado está la capacidad de promover la adhesión, crecimiento y diferenciación de células *in-vitro*, además de su biocompatibilidad, biodegradabilidad y soporte celular [2]. Para el desarrollo de andamios se han utilizado diferentes materiales tales como: sintéticos orgánicos (polímeros), sintéticos inorgánicos (hidroxiapatita, fosfato tricálcico, yeso, cerámica de vidrio), orgánicos de origen natural (colágeno, ácido hialurónico) e inorgánicos (hidroxiapatita) [3-7].

Los andamios celulares a base de fibras con diámetros nanométricos tienen varias ventajas en comparación con otro tipo de andamios. Por ejemplo, las nanofibras poseen mayor probabilidad de que se adhieran las células, así como una mejor porosidad para la entrada y salida de nutrientes, control de la degradación, entre otras. Sin embargo, dada su baja densidad y estructura requieren de propiedades mecánicas que permitan soportar todo

el proceso que implica el desarrollo de los tejidos [8]. Las nanofibras poliméricas pueden presentar propiedades físicas, químicas y en algunos casos propiedades mecánicas similares a las que poseen algunos tejidos vivos (hueso, cartílago, músculo, venas y arterias). Además presentan propiedades como: elevada relación superficie/volumen, buena resistencia mecánica, posibilidad de funcionalizar su superficie y facilidad para adoptar la forma de un tejido, cuando se utiliza como andamio celular [1]. Las nanofibras poliméricas garantizan el soporte de las células durante un período de tiempo, para luego degradarse a medida que se obtiene el nuevo tejido, así como una respuesta biológica favorable del organismo receptor [9].

La técnica de electrohilado ha mostrado varias ventajas para fabricar redes o andamios de microfibras y nanofibras, ya que permite controlar el diámetro de las fibras, así como la estructura del andamio (dirección de nanofibras, porosidad, estructura, entre otros), lo que facilita la manufactura controlada de andamios celulares útiles en la ingeniería de tejidos [9, 10]. Los andamios poliméricos producidos por el proceso del electrohilado resultan ser una alternativa a los inconvenientes que presentan otros tipos de materiales porosos, que no permiten el desplazamiento de fluidos dentro de sus poros. El proceso de electrohilado ofrece la posibilidad de mejorar algunas propiedades de los polímeros para satisfacer los requerimientos mecánicos del andamio celular y del ambiente biológico al que va a estar sometido. Otra ventaja que presentan cuando el andamio se manufactura por electrohilado es su versatilidad para construir formas complejas en 2D y 3D [9, 11].

En estudios realizados con anterioridad se desarrolló un andamio con PLA e hidroxiapatita

para la regeneración dental, utilizando la técnica de electrohilado [12]. Se obtuvieron andamios de PLA mezclado e injertado con nano partículas de hidroxiapatita. Se lograron buenas propiedades mecánicas, químicas y biológicas, en comparación con otros andamios desarrollados hasta ese momento. Sin embargo, no se estableció una relación entre la caracterización estructural y sus propiedades mecánicas. Varios estudios se han enfocado en el análisis de las propiedades elásticas y resistencia a la tensión de nanofibras poliméricas [13, 14] y a la observación de la estructura superficial de nano y microfibras por técnicas como microscopía electrónica de barrido (SEM) [9], los cuales brindan algunas descripciones de la morfología, pero no han logrado hacer una correlación de la morfología interna de las nanofibras con sus propiedades elásticas, para usarse en el diseño de andamios celulares y materiales compuestos a base de nanofibras poliméricas.

El estudio reportado por You *et al.* [15], indica una disminución en el área de las fibras de PLA al ser sometidas a una temperatura de 180°C, pero no se estudió el efecto de los diferentes tipos de colector y del tratamiento térmico de recocido sobre las estructura semicristalina interna de las fibras de PLA.

El objetivo del estudio consiste en evaluar el efecto generado en las nanofibras de acuerdo al método de colección y del tratamiento térmico. Para ello se utilizan diferentes técnicas analíticas para determinar los cambios morfológicos de las nanofibras de PLA, analizando específicamente los efectos sobre las propiedades estructurales cristalinas. Lo anterior pretende correlacionar estas propiedades morfológicas con las propiedades mecánicas, las cuales dan un avance significativo al desarrollo de andamios para la utilización en el campo de la ingeniería de tejidos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

El PLA fue adquirido de Ingeo, Cargill Dow Co (división Natureworks 2002D) en forma de pellets. Para la obtención de los andamios de PLA fue utilizado el solvente 2,2,2-Trifluoroetanol (N° CAS 75-89-8) el cual fue adquirido de Sigma-Aldrich a una concentración de 99%.

Electrohilado

Las soluciones de PLA fueron preparadas según la metodología usada por Vera *et al.* [12] usando 2,2,2-Trifluoroetanol (TFE) como solvente. Las soluciones fueron agitadas magnéticamente hasta lograr una solución homogénea. Los andamios se fabricaron utilizando el equipo de electrohilado (Figura 1) en el Instituto de Investigación en Materiales de la Universidad Nacional Autónoma de México (IIM-UNAM).

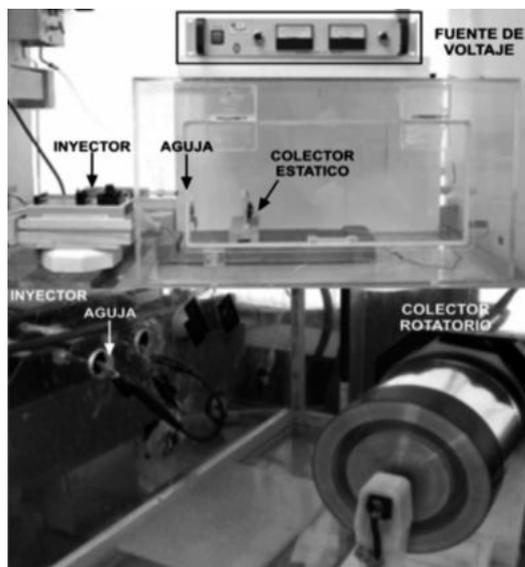


Figura 1. Equipo de electrohilado del IIM-UNAM.

Los parámetros utilizados en el electrohilado de las fibras colectadas aleatoriamente son descritos en la Tabla 1:

Tabla 1. Parámetros de electrohilado de las fibras colectadas aleatoriamente.

Parámetro	Valor
Distancia del colector al inyector	30 cm
Voltaje	15 KV
Velocidad de Inyección	0,6 ml/h
Temperatura del proceso	25 °C

Para la obtención de las nanofibras de PLA ordenadas, se modificó el voltaje y la velocidad del colector rotatorio. Los valores son descritos en la Tabla 2.

Tabla 2. Parámetros de electrohilado usados en las fibras colectadas ordenadamente.

Voltaje (KV)	RPM	V_{\tan} (m/min)
13,6	3491	1096.7
15	3876.9	1217.9
18	4703.6	1477.7

Tratamiento post electrohilado

Con el fin de mejorar las propiedades estructurales y mecánicas de las fibras, estas fueron sometidas a un proceso de calentamiento a 80 °C durante 10 horas. La temperatura de este proceso fue dada de acuerdo a la temperatura de transición vítrea del polímero ($T_g = 60$ °C), con lo cual se asegura un cambio en la estructura interna del polímero. Las muestras con post tratamiento térmico se presentan en los resultados como NAR (Nanofibras colectadas aleatoriamente recocidas) y NOR (Nanofibras colectadas ordenadamente recocidas).

Caracterización por SEM

Con la ayuda de la microscopia electrónica de barrido (SEM) fue posible observar los aspectos morfológicos, diámetro y porosidad de las nanofibras de PLA. Para tal fin fue utilizado el equipo JEOL-JSM-7600F (Japón) con filamento de Tungsteno, el cual poseen un cañón de electrones con un diferencial de 20.0 kV. Para la realización de esta caracterización se tomó 0,5 cm² de las nanofibras obtenidas de los diferentes tratamientos descritos anteriormente. Para el análisis fue necesario recubrir con oro a un vacío de 10E-8 Torr con una corriente de 30 mA durante 5 minutos. Se tomaron dos fotografías de cada probeta en diferentes lugares con aumentos entre 1000x y 50000x. Con las imágenes obtenidas se realizó un análisis del diámetro y porosidad de las nanofibras mediante software Image J.

Caracterización por TEM

Con la Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM) es posible observar los cambios de estructura interna de las nanofibras. Las nanofibras fueron encapsuladas en una resina epóxica (Epon® 812) y calentadas por tres días en un horno a 50 °C. Posterior a este procedimiento, las nanofibras fueron cortadas en discos de 100 nm de espesor con un ultra micrótopo MRC-7000. Para obtener un buen contraste en las observaciones de TEM, las muestras fueron colocadas en un horno en presencia

de tetróxido de rutenio durante 20 minutos, con el objetivo de oxidar el polímero y así poder observar claramente los contrastes entre las fases amorfas y las semicristalinas. El equipo utilizado en esta caracterización fue JEOL-2100f.

Caracterización por DRX y SAXS

La determinación de la estructura cristalina interna de las nanofibras fue llevada a cabo mediante caracterización por Dispersión de rayos X a bajo ángulo (SAXS), se empleó el equipo Xeuss SAXS/WAXS (Francia), el cual posee un tubo de rayos X Genix de baja divergencia y un detector Dectris pilatus 300K, con tubo de dispersión al vacío. Se usó el tubo de rayos X con un voltaje de 50 kV y una corriente de 0,6 mA. La emisión de rayos X fue de 120 segundos de exposición y la dispersión se realizó a ángulos inferiores de 1.

Este análisis se llevó a cabo al PLA en pellets, a las nanofibras colectadas aleatoriamente (NA) y a las nanofibras orientadas con una velocidad de 1480 m/min (NO 1480 m/min). La muestra de PLA y las nanofibras fueron analizadas con un espesor de la muestra de 0.5 mm, mientras que el tamaño de las muestras se ajustaron al diámetro por donde pasa el haz de rayos X.

Análisis por Calorimetría diferencia de barrido (DSC)

Las transiciones térmicas que presentan las nanofibras se determinaron por el equipo DSC 2910 TA Instruments. Las muestras se calentaron desde 0 °C hasta 200 °C a una rampa de calentamiento de 10 °C/min. Los termogramas obtenidos se analizaron por medio del software "TA Instruments Universal Analysis 2000".

Caracterización mecánica de los andamios de nanofibras de PLA

Se construyeron probetas ajustadas a la norma técnica ASTM D638, dado que actualmente no existe una norma específica para membranas de nanofibras. Se escogió esta norma porque está recomendada para membranas de materiales poliméricos con fibras reforzadas. Se usó la celda de carga de 50 gramos de fuerza de la empresa Honeywell Sensing & Control, Model 31 (Miniature Load Cell). Para el ensayo se utilizó el equipo universal de ensayo marca MTS minibionix 858. La velocidad del ensayo fue de 10mm/min. Los datos fueron procesados en

MatLab 2010®. Se probaron 5 probetas por cada tratamiento.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Morfología por (SEM)

En un estudio realizado por Gómez *et al.* [16] se comparó el método de colección de las nanofibras de PLA, usando un colector rotacional y un colector fijo. En ese estudio se utilizó una velocidad rotacional de 1100 y 1217 m/min con el fin de determinar posibles cambios morfológicos y estructurales en las nanofibras. Se observó una relación en el diámetro de las nanofibras y la velocidad del colector, siendo a mayor velocidad mayor diámetro de las nanofibras. En el presente estudio se muestran los diámetros y la morfología de nanofibras de PLA obtenidas a una velocidad de 1480 m/min, además de los resultados obtenidos luego de realizar el proceso de calentamiento a las nanofibras. En la Figura 2 se puede apreciar las fibras obtenidas, encontrando una gran similitud respecto a la morfología de las fibras colectadas tanto aleatoria como ordenadamente. Las fibras no presentan microesferas (beads), fracturas o grietas, las cuales tienden a afectar las propiedades mecánicas de los andamios.

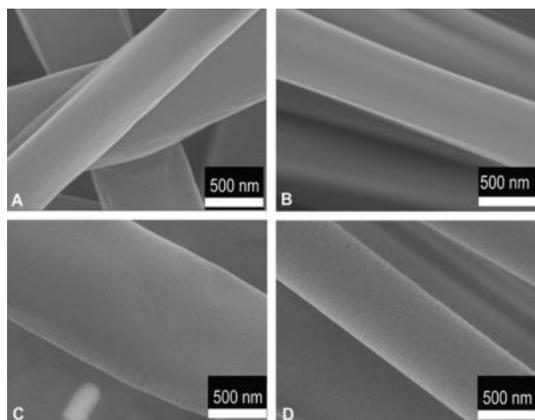


Figura 2. Micrografía electrónica de barrido de nanofibras: A. Colectadas aleatoriamente, B. Colectadas a 1100 m/min, C. Colectadas a 1217 m/min y D. Colectadas a 1480 m/min.

En la Tabla 3 se presentan los diámetros calculados de las nanofibras colectadas aleatoria y ordenadamente, así como de los diámetros de las nanofibras luego del proceso de recocado.

Tabla 3. Resultados de diámetro y porosidad en las nanofibras por microscopía electrónica de barrido.

Tipo de andamio	Diámetro promedio (nm)	Porosidad promedio (%)
NA ¹	992 +/- 25,7	37,6
NAR ²	986 +/-21,1	44,3
NO ³ 1100 m/min	643 +/-50	32,6
NOR ⁴ 1100 m/min	562,884 +/-209,73	30,0
NO 1217 m/min	747,04 +/-116,81	42,5
NOR 1217 m/min	525,8 +/-90,44	40,7
NO 1480 m/min	772 +/- 98	35,8
NOR 1480 m/min	580+/- 90	34,2

¹ NA= nanofibras aleatorias.

² NAR= nanofibras aleatorias recocidas.

³ NO= nanofibras ordenadas.

⁴ NOR= nanofibras ordenadas recocidas.

Las nanofibras de PLA presentan una diferencia en los diámetros de las nanofibras colectadas ordenada y aleatoriamente, siendo estas últimas las de mayor diámetro promedio (992 nm) con una variación de 26 nm. Luego del recocado, estas nanofibras presentan un diámetro promedio de 986 nm con una variación de 21 nm, lo cual no indica un cambio significativo en este parámetro. Sin embargo, se presenta un aumento del 7% en la porosidad de la membrana, la cual es atribuida al aumento de los espacios vacíos dada la disminución del diámetro de las nanofibras. En el caso de las nanofibras ordenadas colectadas a 1100m/min (NO_{1100 m/min}) presentan un diámetro promedio de 643 nm, el cual es 350 nm menor que las obtenidas con el colector estacionario, luego del recocado estas fibras disminuyen 80 nm su diámetro promedio, así como disminuyen en un 2% la porosidad de la membrana. Esta disminución puede ser otorgada a la gran aglomeración de nanofibras en la membrana luego del tratamiento térmico, lo cual genera una disminución de las zonas oscuras en la imagen, parámetro por el cual se mide la porosidad de la membrana.

Con relación a las nanofibras colectadas a 1217 m/min (NO_{1217 m/min}) se encuentra una disminución de 250 nm en el diámetro promedio en comparación con las nanofibras colectadas aleatoriamente y un aumento de 100 nm respecto a las nanofibras

colectadas a 1100m/min. Este incremento es otorgado a los parámetros de electrohilado como el potencial eléctrico y velocidad tangencial, los cuales al tener un mayor valor (15Kv y 1217m/min) tienen una gran influencia en el estiramiento del chorro expulsado por lo que el diámetro de las nanofibras aumenta. Al recocer las nanofibras de este tratamiento, el diámetro promedio y la porosidad de la membrana disminuye 220 nm y 2% respectivamente, siendo esto el resultado esperado dados los resultados obtenidos con las nanofibras colectadas a 1100 m/min.

Por último, el diámetro de las nanofibras colectadas a 1480m/min (NO_{1480} m/min) presenta una disminución en el diámetro promedio de 220 nm con relación a las nanofibras colectadas aleatoriamente y un aumento en esta variable de 130 y 30 nm en comparación con las nanofibras colectadas a 1100m/min y 1217 m/min respectivamente. Luego de realizar el tratamiento térmico a las fibras obtenidas a 1480 m/min, se presenta una disminución en el diámetro promedio de 200 nm aproximadamente, así como una leve disminución (1,6%) en la porosidad de la membrana, siendo esto similar a lo observado en las fibras obtenidas a menor potencial eléctrico y menor velocidad tangencial.

De acuerdo a estos resultados es posible notar un incremento en el diámetro de las fibras colectadas ordenadamente a medida que la velocidad tangencial y el potencial eléctrico aumentan, además no se observa una tendencia con relación a la porosidad de las membranas, dado que en los tres tratamientos de las fibras colectadas ordenadamente la membrana que presenta la mayor porosidad (42,5%) fue obtenida a una velocidad tangencial de 1217 m/min. También es posible notar una diferencia entre los diámetros de las nanofibras colectadas ordenadamente en comparación con las colectadas aleatoriamente, siendo estas últimas las que presentaron el mayor diámetro promedio. La disminución en el diámetro es otorgada al colector rotatorio, el cual, de acuerdo a la velocidad de colección, se genera un mayor o menor estiramiento de la fibra durante el proceso de electrohilado. Sin embargo, en los resultados se observó un aumento en el diámetro de las fibras a medida que aumentaba la velocidad tangencial, por lo tanto, se puede indicar que el voltaje es el factor determinante a la hora de obtener fibras con diámetros nanométricos.

Respecto al tratamiento térmico de las nanofibras, se observa una baja variación en el diámetro de las nanofibras colectadas aleatoriamente (NA), sin embargo en las nanofibras orientadas (NO_{1100} m/min, NO_{1217} m/min, NO_{1480} m/min) se presenta una disminución en el diámetro promedio del 12,5%, 29,6% y 24,87% respectivamente (Figura 3), la cual es otorgada al auto ensamble de las cadenas moleculares de PLA dispuestas en la nanofibra, dado que el tiempo y la temperatura aplicados permiten que las cadenas se organicen mejor para formar cristales más regulares.

La Figura 3 muestra el valor medio y la variación en los diámetros de las fibras obtenidas por los distintos tratamientos descritos anteriormente.

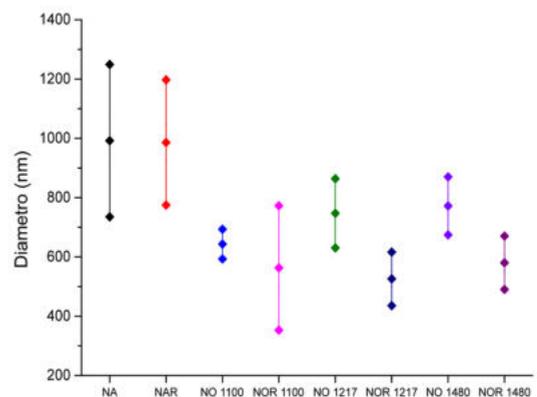


Figura 3. Efectos de la velocidad de colección y recocido en el diámetro de las fibras de PLA.

Se puede evidenciar una disminución en los máximos y mínimos de las fibras de casi todos los tratamientos. El tratamiento que está exento a esto es el tratamiento NOR 1100 dado que luego del recocido la desviación estándar de las fibras se ve incrementado, fenómeno que puede ser ocasionado por algunas fusiones de las fibras dado el tratamiento térmico. Con esto es posible indicar que el recocido es parte importante a la hora de obtener fibras con menor diámetro.

Morfología por microscopía electrónica de transmisión

En la Figura 4 se presentan las imágenes TEM obtenidas de la sección transversal de las nanofibras

colectadas a 1100 m/min y 1480 m/min. En las imágenes obtenidas es posible notar cambios y diferencias en la parte interna de las nanofibras, las cuales dadas las imágenes presentan un núcleo y una corteza.

En la Figura 4A se pueden observar nanofibras con diámetros homogéneos y de una sola tonalidad, mientras que en la Figura 3C, se observa con mayor nitidez el núcleo de las nanofibras NO 1100 m/min de una tonalidad oscura y la parte externa más clara.

A partir de lo observado es posible tener un indicio de la conformación y estructura interna de las nanofibras, en donde se asume que el núcleo presenta una fase con características amorfas mientras la corteza o parte externa de las nanofibras presentaría un estado cristalino. Además, dadas las imágenes se pueden notar dos tipos de nanofibras, las cuales son nanofibras que presentan diámetros grandes

con una estructura distinguible y otras pocas con diámetros pequeños con una corteza delgada. Posiblemente esto sea un reflejo de que no todas las nanofibras tienen las mismas condiciones de electrohilado, debido a que algunas al momento de adherirse al tambor llegan más rápido que otras, lo que les impide estirarse y adelgazar [10]. Otra posible causa puede ser otorgada al movimiento de las nanofibras las cuales son afectadas por el movimiento turbulento del aire producido por la rotación del colector, generando una diferencia en el proceso de curado para cada una de ellas.

En cuanto a las nanofibras con recocido (Figura 5), se observan las nanofibras recocidas obtenidas con las tres velocidades de colección utilizadas en el electrohilado. En las imágenes se notan mayoritariamente fibras con un núcleo bastante homogéneo, lo que indica que se presentaron las condiciones de temperatura y tiempo adecuadas

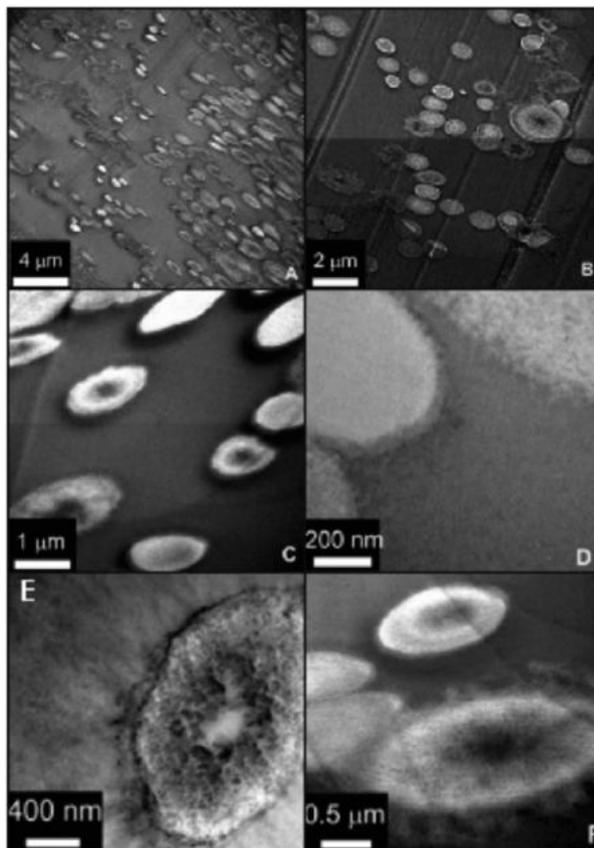


Figura 4. Microscopía electrónica de transmisión de nanofibras orientadas a 1100 m/min (A, C y E) y nanofibras orientadas a 1480m/min (B, D, y F).

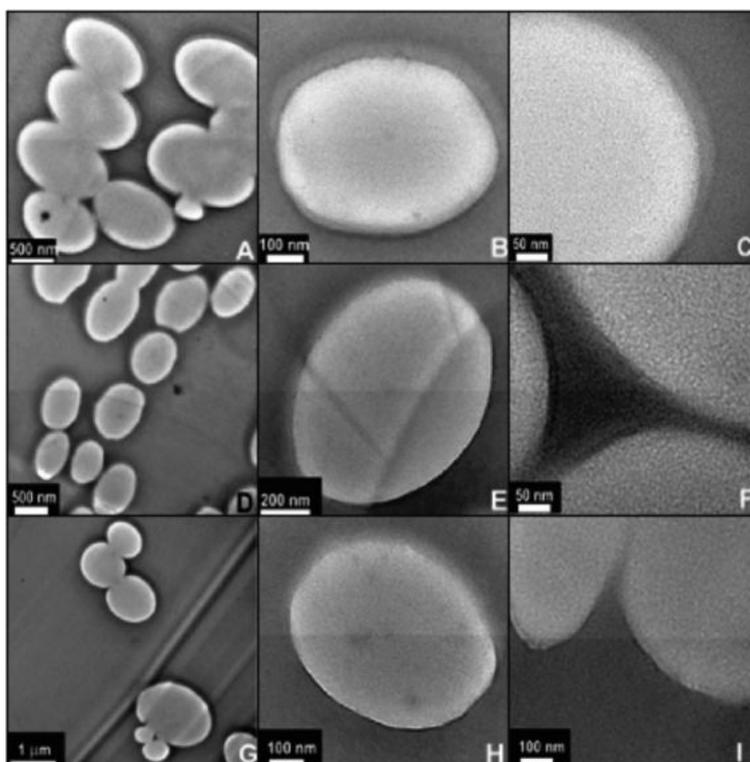


Figura 5. Observación de la estructura de las nanofibras orientadas recocidas mediante micrografías de TEM a diferentes aumentos. A), B) y C) sección transversal de NO 1100m/min. D), E) y F) sección transversal de NO 1217m/min. G), H) y I) sección transversal de NO 1480m/min.

para reorganizar las cadenas poliméricas, mejorando el grado de cristalinidad del polímero. Esto puede generar un mejoramiento en las propiedades mecánicas del material. La mencionada delgada capa de corteza, se puede observar claramente en la Figura 4 (C, F).

Estructura cristalina

En los resultados de DRX obtenidos por Gómez *et al.* [16], se presenta evidencia de un incremento en el estado amorfo de las nanofibras al ser colectadas ordenadamente, sin esta mayor a una mayor velocidad tangencial, pero luego del recocido de las nanofibras se presenta una señal definida a los $16,8^\circ$, por lo tanto es evidente que el tratamiento térmico realizado promueve una cristalización extensiva de las cadenas poliméricas. Estos resultados también presentan una gran similitud a lo observado en el difractograma de PLA grado ACS, además de ser similares a los reportados por Inai *et al.* [13].

Para obtener un análisis detallado sobre la estructura de las nanofibras, fue necesario realizar técnicas que presenten y revelen detalles a nivel nanométrico, por ello, mediante el análisis SAXS realizado a las nanofibras es posible determinar la conformación o estructura cristalina del polímero. La Figura 6 presenta los resultados obtenidos luego del análisis SAXS realizado tanto al PLA comercial como a las nanofibras colectadas aleatoriamente y ordenadamente (1480m/min).

Al igual que los resultados de DRX, los espectros obtenidos por SAXS de los andamios de nanofibras aleatorias (NA) y de nanofibras orientadas (NO $_{1480\text{ m/min}}$) presentan una diferencia significativa con relación al espectro de PLA grado ACS. Al enfocar la atención en las nanofibras, se observa un corrimiento de la señal correspondiente al tamaño de cristal de las nanofibras colectadas ordenadamente.

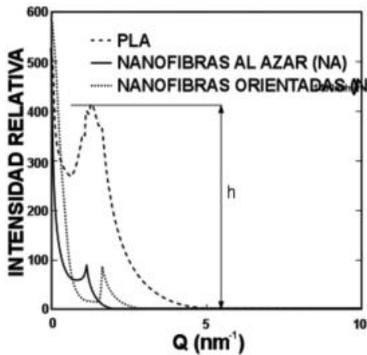


Figura 6. Espectros del PLA grado ACS, de las nanofibras colectadas aleatoriamente y de las nanofibras orientadas a una velocidad de 1480 m/min.

A partir de la curva de la Figura 7 se obtiene la distancia entre bloques cristalinos y el tamaño de los cristales del polímero en el material [17]. Se grafican las intensidades relativas en función del vector de dispersión (Q). A partir de la ecuación de dispersión (1), se calcula el valor del ángulo (θ) donde se generó la difracción, obteniendo Q de la figura y con una longitud de onda de rayos X incidente de $\lambda = 1.5418\text{\AA}$.

$$Q = \frac{4\pi}{\lambda} \text{seno}\left(\frac{\theta}{2}\right) \quad (1)$$

Se calculó la distancia entre bloques a partir de la ecuación (2).

$$d = \frac{\lambda}{2 \text{seno}\left(\frac{\theta}{2}\right)} \quad (2)$$

Para el cálculo del tamaño del cristal, se usa la ecuación (4).

$$B = \frac{K\lambda}{S \cos(\theta)} \quad (3)$$

$$S = \frac{K\lambda}{B \cos(\theta)} \quad (4)$$

Donde K es considerado como una constante igual a 0,94, S es el tamaño del cristal y B es el ancho de la línea a media altura máxima.

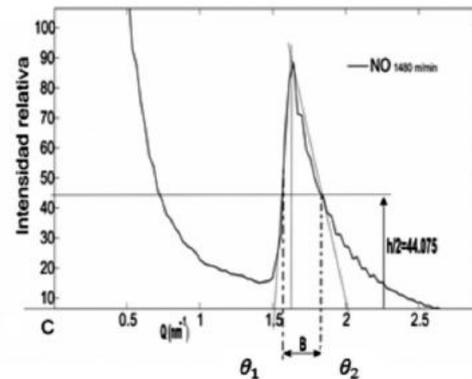
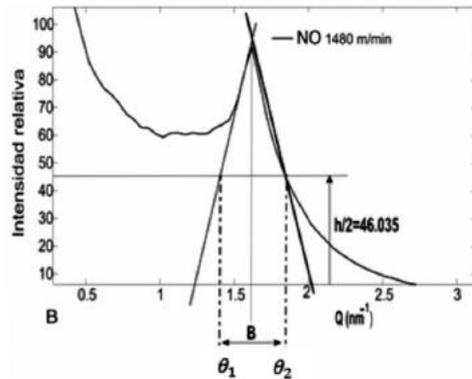
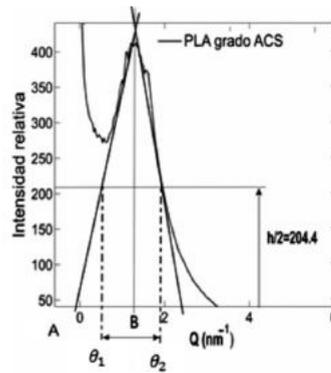


Figura 7. Geometrías para el cálculo de B y el cálculo del tamaño del cristal A.

Como en el caso actual los picos de dispersión no son simétricos, se debe proyectar líneas tangentes a las curvas y su corte con Q, determinan θ_1 y θ_2 , donde $B = \theta_2 - \theta_1$ (expresado en radianes). En la Figura 10, se observan las líneas que resumen este procedimiento, aplicado a las 3 dispersiones.

En la Tabla 4 se resumen los valores para cada material probado por SAXS. Los resultados indican que el proceso de electrohilado aumenta hasta 4 veces el tamaño de los cristales, desde el PLA en

Tabla 4. Valores cristalográficos de las nanofibras obtenidas por SAXS.

Parámetro	PLA		
	Pellets	Nanofibras aleatorias	Nanofibras ordenadas a 1480m/min
Q(NM ⁻¹)	1,264	1,620	1,642
Angulo (Θ)	0,0310	0,0397	0,0403
Distancia entre bloques cristalinos (d)	4,971	3,879	3,827
B = (Θ ₁ -Θ ₂) Rad	0,00124	3,167e ⁻⁴	2,654e ⁻⁴
Tamaño de cristal (s) nm	11,66	45,74	54,59

grado ASC hasta las nanofibras orientadas. Por otro lado, la nanofibra aumenta 5 veces el tamaño del cristal, cuando está orientada. Por esta razón no es detectable en DRX, siendo tan grande el tamaño de estos cristales no se pueden difractar los rayos X en las nanofibras. Por otro lado, se observa que el electrohilado disminuye la distancia entre bloques cristalinos y al orientar la nanofibra se disminuye más. La presencia de cristales grandes con menos distancia entre ellos indica una orientación de las nanofibras en su estructura interna.

Transiciones térmicas

En los análisis de DSC presentados por Gómez *et al.* [16] (Figura 8) se muestra una variación entre el tipo de colección y la velocidad de colección. Los pellets de PLA presentan un Tg a los 60 °C, una cristalización cercana a 100 °C y luego una última señal a 150 °C. Este mismo patrón lo sigue las nanofibras colectadas aleatoriamente, sin embargo el último punto de fusión de las fibras con y sin recocido presenta dos señales, las cuales son otorgadas a la fusión de los componentes α y α' [18], por lo tanto se puede indicar

que este método de colección genera fibras con PLA de dos diferentes estructuras. En esta temperatura se presenta inicialmente la fusión de la forma α' y su recristalización en la forma α , mientras que la segunda señal corresponde a la fusión de la forma α [19].

Allí también es posible dilucidar el grado de desorden molecular de las cadenas el cual es reflejado por la relajación entálpica, siendo esta alta en las NA en comparación con NAR y PLA grado ACS, que muestran valores de entalpía de 6,3 J/g, 5,8 J/g y 2,4 J/g, respectivamente.

Con relación a los termogramas de las nanofibras colectadas ordenadamente NO (Figura 8B) también se muestran picos de relajación entálpica alrededor de los 65 °C, con una entalpía de 5,8 J/g para NO 1100 m/min, NO 1217 m/min y NO 1480 m/min, valor que presenta similitud al observado en las nanofibras colectadas aleatoriamente. En el termograma de las nanofibras ordenadas (NO) no se observa temperatura de cristalización como el encontrado en la Figura 8A y una sola señal en su temperatura de

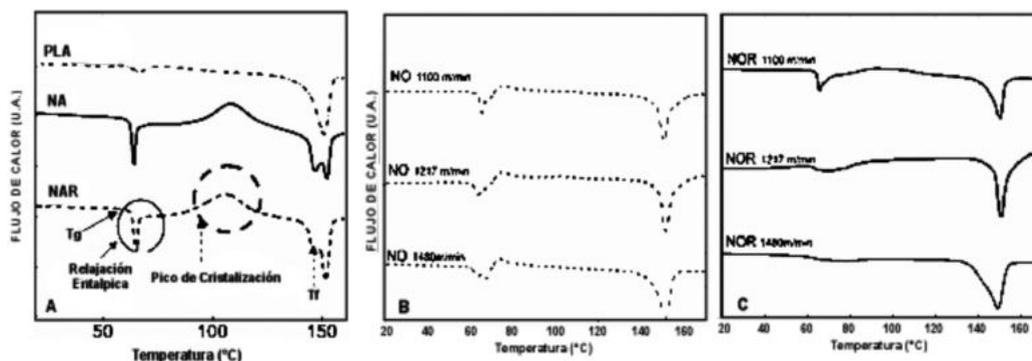


Figura 8. Calorimetría diferencial de barrido (A) PLA grado ACS y nanofibras colectadas aleatoriamente sin y con tratamiento térmico respectivamente (NA) y (NAR), (B) Nanofibras de PLA orientadas (NO_{1100 m/min}, NO_{1217 m/min}, NO_{1480 m/min}) y (C) Nanofibras de PLA orientadas con recocido (NOR_{1100 m/min}, NOR_{1217 m/min} y NOR_{1480 m/min}).

fusión, por lo cual se puede indicar que este proceso de colección provoca una sola estructuración del polímero, la cual viene siendo la estructura α dada la temperatura requerida para la fusión.

Las nanofibras ordenadas y recocidas (NOR) presentan una diferencia con la Figura 8B, con relación a la temperatura de transición vítrea, dado se observa una tendencia la cual disminuye la energía de transición vítrea a medida que se incrementa la velocidad de colección, llegando hasta el punto de desaparecer la Tg, tal y como se observa con el termograma de las nanofibras recocidas colectadas a 1480m/min.

En la Tabla 5 se resumen los valores de la entalpia de cristalización, de fusión y el cálculo del porcentaje de cristalinidad tanto del PLA comercial en pellets, como en fibras obtenidas aleatorias y ordenadas.

Propiedades mecánicas de los andamios de PLA por tracción uniaxial

En las Figura 9A y 9B, se observa que las nanofibras colectadas aleatoriamente se presenta un pico bastante pronunciado después del punto de “fluencia” de la red en comparación con las nanofibras alineadas. Este punto llamado de “fluencia” refleja la rotura masiva de las nanofibras que se alinearon en la dirección de la carga para ambos tipos de andamios. Sin embargo, las nanofibras dispuestas aleatoriamente presentan una menor probabilidad de tener nanofibras alineadas en el andamio inicial y por lo tanto son muy pocas las fibras que se alinean para soportar

la carga, mientras que en el caso de nanofibras orientadas (NO) existe una gran cantidad de fibras en la misma dirección generando una mayor resistencia a la rotura.

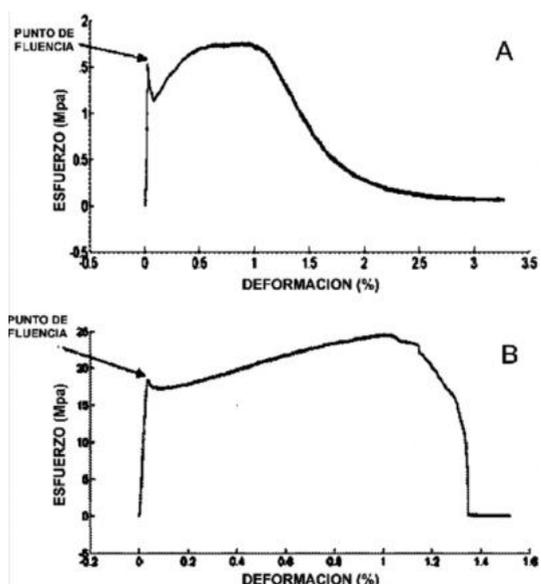


Figura 9. Comportamiento mecánico (A) nanofibras dispuestas al azar y (B) nanofibras orientadas NO_{1100m/min}.

En la Tabla 6, se presentan los resultados de los ensayos de tracción a los diferentes andamios. Los datos del módulo elástico presentan variabilidad debido a la estructura del andamio influenciada por distribución de poros, densidad, distribución

Tabla 5. Grado de cristalinidad de las nanofibras electrohiladas.

Tipo de PLA	ΔH_f	ΔH_c	Cristalinidad considerando la cristalización $= \frac{\chi_{bc} \Delta H_f}{\Delta H_f^0}$	Cristalinidad después de la cristalización $\chi_{ac} = \frac{\Delta H_f}{\Delta H_f^0}$
PLA grado ACS	28,60	N.E	30,75	30,75
NA	21,20	19,43	1,90	22,8
NAR	25,67	23,13	2,73	27,60
NO _{1100 m/min}	28,63	3,947	26,54	30,78
NOR _{1100 m/min}	19,39	7,69	12,58	20,9
NO _{1217 m/min}	31,93	4,604	29,38	29,38
NOR _{1217 m/min}	29,84	N.E	32,09	32,09
NO _{1480 m/min}	29,43	4,109	27,22	31,64
NOR _{1480 m/min}	29,89	N.E	32,14	32,14

de nanofibras y presencia de cúmulos con diferentes tamaños.

En la Figura 10, se realiza la comparación de los resultados de tracción. El módulo elástico y el esfuerzo a la tracción de los andamios con nanofibras orientadas (NO) fueron 7-9 veces y 10-13 veces respectivamente, mayor que los andamios con nanofibras dispuestas al azar (NA). Estas diferencias en las propiedades elásticas se explican en términos de la orientación molecular y de las nanofibras. En contraste, a los andamios con nanofibra aleatoria (NA), las nanofibras orientadas (NO) están orientadas paralelas a la dirección de carga. Por lo tanto, casi todas las nanofibras soportan y distribuyen la carga de forma simultánea durante el ensayo de tracción uniaxial.

Además, la orientación de las cadenas poliméricas sugerida por las pruebas de caracterización es mayor en las (NO) que en las (NA) debido al estiramiento de las (NO) durante el proceso de electrohilado. Como las cadenas de los polímeros se orientan a lo largo del eje principal de las nanofibras, el mejoramiento del módulo elástico en la dirección de las nanofibras es debido a la presencia de los fuertes enlaces covalentes entre los átomos de carbono en la cadena de polímero, en comparación con los enlaces intermoleculares entre las cadenas del polímero del PLA (enlaces de Van der Waals, enlaces de hidrógeno y otros). Durante el curso de los ensayos de tensión, las nanofibras de las NA en andamios fueron orientadas a lo largo de la dirección de la carga

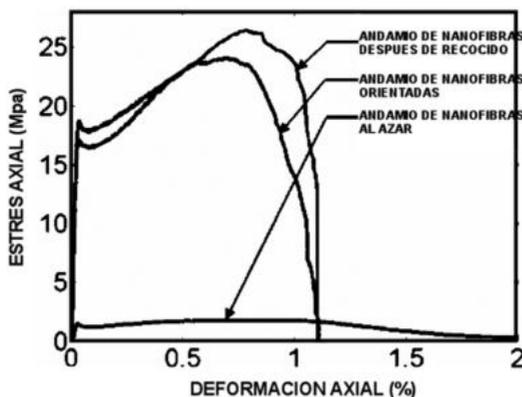


Figura 10. Ensayos de tracción de andamios con (NA) y andamios con (NO_{1100 m/min}).

aplicada y por ello algunas nanofibras fallaron mientras otras soportaron la carga aplicada hasta que se produce la fractura final. Como resultado, los andamios con NA presentan los más pequeños esfuerzos de límite elástico σ_{ys} y resistencia a la tensión σ_{us} (esfuerzo último), en comparación con los andamios de nanofibras orientadas (NO).

El módulo elástico de Young de las (NO) colectado a 1480 m/min, es más alto que las colectadas a 1217m/min y que las colectadas a 1100 m/min, esto indica que a mayor rotación se genera una disminución del tamaño de cristal lo que influirá en el aumento del módulo de Young. En la Figura 11 se observa que las nanofibras con recocido NOR_{1217m/min} no presentaron un efecto en las propiedades elásticas de las nanofibras orientadas (NO_{1217m/min}), ya que la alta desviación estándar en los resultados de ambos tipos de nanofibras muestra que son estadísticamente iguales (881.3+/-100.2 y 854.2+/-60.7 para NO_{1217 m/min} y NO_{1217m/min}). Este hecho sugiere que el cambio en la cristalización no afecta las propiedades elásticas de las nanofibras orientadas.

Esto se puede explicar porque el recocido genera una homogenización de los cristales hacia todas direcciones, por lo que no generaría un mejoramiento preferencial de la orientación de los cristales respecto de las nanofibras orientadas sin recocidas en la dirección de la aplicación

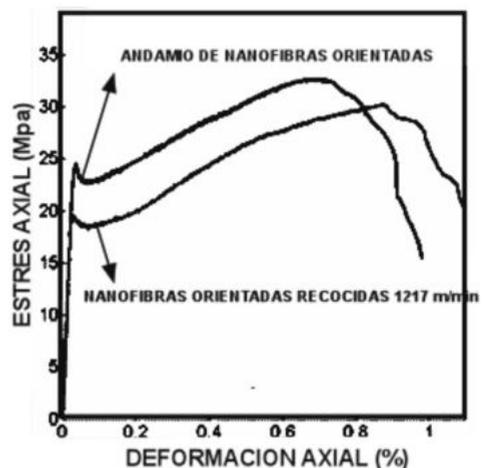


Figura 11. Comparación de resultados de los ensayos de tracción de andamios con NO_{1217 m/min}.

Tabla 6. Resultados de los ensayos de tracción en los diferentes tipos de nanofibras.

Tipo de Andamio	Módulo de Young E (MPa)	Esfuerzo de fluencia σ_{ys} (MPa)	Deformación a la fluencia %	Resistencia a la tensión σ_{us} (MPa)	Deformación última max %
NA	96,8+/-32,5	1,7+/-0,2	4,2+/-2,4	2,8+/-0,6	129,6+/-32,5
NO _{1100m/min}	683,6+/-33,2	18,4+/-0,6	3,4+/-0,3	24,0+/-0,7	86,4+/-15,2
NOR _{1100m/min}	620,8+/- 74,2	13,8+/-4,8	3,6+/-0,4	20,3+/-8,8	95,5+/-10,0
NO _{1217 m/min}	881,3+/-100,2	25,0+/-2,2	3,7+/-0,4	32,2/-2,9	75,0+/-7
NOR _{1217m/min}	854,2+/-60,7	19,4+/-1,1	3,5+/-0,7	31,0+/-3,0	93,0+/-4,9
NO _{1480 m/min}	1026,73+/-320	29,23+/-2,2	4,73+/-1,7	30,29+/-2,5	75,2+/-1,9
NOR _{1480 m/min}	1177,4+/-106	31,68+/-4,25	3,549+/-0,69	44,43+/-12,5	80,17+/-39,5

de la carga. Estos resultados contrastan con los obtenidos por C.T Lim *et al.* [20], donde indicaron un mejoramiento de las propiedades elásticas de nanofibras orientadas al azar de Policaprolactona por efecto del tratamiento térmico, pero en ese estudio no se compara con nanofibras orientadas, y como se ha indicado en el presente estudio la orientación de nanofibras genera una orientación molecular que afectarán el módulo de Young.

CONCLUSIONES

Mediante la aplicación de diferentes técnicas de caracterización se logró determinar las propiedades morfológicas y estructurales de las nanofibras con lo cual fue posible obtener una descripción completa y detallada de la estructura de las nanofibras de PLA y su relación con variables tales como la orientación de nanofibras en los andamios, velocidad de rotación del colector y tratamientos térmicos posteriores al electrohilado. Mediante esta experimentación se evidencio la relación y los cambios que genera el tipo de colector, siendo mejor el colector rotatorio debido a que disminuye los defectos en las fibras. En cuanto al recocado se presenta una mejora en la cristalinidad, sin embargo, no existe cambio considerable en las propiedades elásticas como en la respuesta a la resistencia a tensión. Este trabajo permitió observar las propiedades elásticas de nanofibras, a partir de las variables mencionadas, lo que se puede usar a futuro en el diseño de los andamios celulares de nanofibras de PLA. Además, las condiciones en que se realizó el electrohilado son aceptables y muy cercanos a los ideales.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece el apoyo del Instituto de Investigaciones en Materiales, UNAM, así como de sus técnicos académicos por el apoyo en la realización de los análisis: Adriana Tejeda (DRX), Eriseth Fregoso (DSC), Omar Novelo and Esau González (SEM), Carlos Flores (TEM). Yiguel Ángel Canseco (ATR-FTIR). Se agradece también a DGAPA, UNAM por el apoyo económico a este trabajo a través del proyecto PAPIIT IN 108116.

REFERENCIAS

- [1] C.P. Barnes, S.A. Sell, E.D. Boland, D.G. Simpson, and G.L. Bowlin. "Nanofiber technology: Designing the next generation of tissue engineering scaffolds". *Advanced Drug Delivery Reviews*. Vol. 59, pp. 1413-1433. 2007.
- [2] G. Chen, T. Ushida, and T. Tateishi. "Scaffold Design for Tissue Engineering". *Macromolecular Bioscience*. Vol. 2, pp. 67-77. 2002.
- [3] B.D. Ulery, L.S. Nair, and C.T. Laurencin. "Biomedical applications of biodegradable polymers". *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*. Vol. 49, pp. 832-864. 2011.
- [4] N. Ninan, M. Muthiah, I.-K. Park, A. Elain, T. W. Wong, S. Thomas, et al. "Faujasites incorporated tissue engineering scaffolds for wound healing: in vitro and in vivo analysis". *ACS applied materials & interfaces*. Vol. 5, pp. 11194-11206. 2013.
- [5] L. Kong, Y. Gao, G. Lu, Y. Gong, N. Zhao, and X. Zhang. "A study on the bioactivity

- of chitosan/nano-hydroxyapatite composite scaffolds for bone tissue engineering". *European Polymer Journal*. Vol. 42, pp. 3171-3179. 2006.
- [6] F.P. La Mantia, R. Arrigo, and M. Morreale. "Effect of the orientation and rheological behaviour of biodegradable polymer nanocomposites". *European Polymer Journal*. Vol. 54, pp. 11-17. 2014.
- [7] K. Ghosal, M.S. Latha, and S. Thomas. "Poly(ester amides) (PEAs) – Scaffold for tissue engineering applications". *European Polymer Journal*. Vol. 60, pp. 58-68. 2014.
- [8] R. Vasita and D.S. Katti. "Nanofibers and their applications in tissue engineering". *International Journal of Nanomedicine*. Vol. 1, pp. 15-30. 2006.
- [9] C.T. Laurencin, S.G. Kumbar, S.P. Nukavarapu, R. James, and M.V. Hogan. "Recent patents on electrospun biomedical nanostructures: an overview". *Recent patents on biomedical engineering*. Vol. 1, pp. 68-78. 2008.
- [10] L.M. D. Sánchez, L. Rodriguez, and M. López. "Electrospinning: la era de las nanofibras". *Revista Iberoamericana de Polímeros*. Vol. 14, pp. 10-27. 2013.
- [11] T. Stylianopoulos, C.A. Bashur, A.S. Goldstein, S.A. Guelcher, and V.H. Barocas. "Computational predictions of the tensile properties of electrospun fibre meshes: effect of fibre diameter and fibre orientation". *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*. Vol. 1, pp. 326-335. 2008.
- [12] R. Vera-Graziano, A. Maciel-Cerda, E. Moreno-Rondon, A. Ospina, and E. Gomez-Pachon. "Modified polylactide microfiber scaffolds for tissue engineering". In *MRS Proceedings*. 2012, pp. imrc11-1376-s11-09.
- [13] R. Inai, M. Kotaki, and S. Ramakrishna. "Structure and properties of electrospun PLLA single nanofibres". *Nanotechnology*. Vol. 16, p. 208. 2005.
- [14] E.P.S. Tan, S.Y. Ng, and C.T. Lim. "Tensile testing of a single ultrafine polymeric fiber". *Biomaterials*. Vol. 26, pp. 1453-1456. 2005.
- [15] Y. You, S. Won Lee, S. Jin Lee, and W. H. Park. "Thermal interfiber bonding of electrospun poly(l-lactic acid) nanofibers". *Materials Letters*. Vol. 60, pp. 1331-1333. 2006/05/01/ 2006.
- [16] E.Y. Gómez-Pachón, F.M. Sánchez-Arévalo, F.J. Sabina, A. Maciel-Cerda, R.M. Campos, N. Batina, et al. "Characterisation and modelling of the elastic properties of poly(lactic acid) nanofibre scaffolds". *Journal of Materials Science*. Vol. 48, pp. 8308-8319. 2013.
- [17] R. Parmar, M. Mangrola, B. Parmar, and V. Joshi. "A software to calculate crystalline size by Debye-Scherrer Formula using VB.NET". *Multi Disciplinary Edu Global Quest*. Vol. 1, 2012.
- [18] P. Pan, B. Zhu, W. Kai, T. Dong, and Y. Inoue. "Polymorphic Transition in Disordered Poly(l-lactide) Crystals Induced by Annealing at Elevated Temperatures". *Macromolecules*. Vol. 41, pp. 4296-4304. 2008/06/01 2008.
- [19] P. Pan, W. Kai, B. Zhu, T. Dong, and Y. Inoue. "Polymorphous Crystallization and Multiple Melting Behavior of Poly(l-lactide): Molecular Weight Dependence". *Macromolecules*. Vol. 40, pp. 6898-6905. 2007/09/01 2007.
- [20] C. Lim, E. Tan, and S. Ng. "Effects of crystalline morphology on the tensile properties of electrospun polymer nanofibers". *Applied Physics Letters*. Vol. 92, p. 141908. 2008.