



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL

**Centro Interdisciplinario de Investigación para
el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca**

Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de
Recursos Naturales

**"Memoria de forma en películas de
quitosano-fibroína obtenidas con un solvente
eutéctico"**

Tesis para obtener el grado de:

Maestro en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de
Recursos Naturales

Línea de investigación en Ingeniería

PRESENTA:

Ing. Edgar Otocani Figueroa Pérez

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Miguel Chávez Gutiérrez

SANTA CRUZ XOXOCOTLAN, DICIEMBRE 2022



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REGISTRO DE TEMA DE TESIS Y DESIGNACIÓN DE DIRECTOR DE TESIS

Ciudad de México, a de del

El Colegio de Profesores de Posgrado de en su Sesión

(Unidad Académica)
 No. celebrada el día del mes de conoció la solicitud presentada por el alumno:

Apellido Paterno:	Figueroa	Apellido Materno:	Pérez	Nombre (s):	Edgar Otocani
-------------------	----------	-------------------	-------	-------------	---------------

Número de registro:

del Programa Académico de Posgrado:

Referente al registro de su tema de tesis; acordando lo siguiente:

1.- Se designa al aspirante el tema de tesis titulado:

Objetivo general del trabajo de tesis:

2.- Se designa como Director de Tesis al profesor:

Director: 2° Director:

No aplica:

3.- El Trabajo de investigación base para el desarrollo de la tesis será elaborado por el alumno en:

que cuenta con los recursos e infraestructura necesarios.

4.- El interesado deberá asistir a los seminarios desarrollados en el área de adscripción del trabajo desde la fecha en que se suscribe la presente, hasta la aprobación de la versión completa de la tesis por parte de la Comisión Revisora correspondiente.

Director de Tesis

Dr. Miguel Chávez Gutiérrez
Aspirante

Figueroa Pérez Edgar Otocani

2° Director de Tesis (en su caso)

<< 2° Nombre Directora(a)>>
Presidente del Colegio

Dr. Salvador Isidro Belmonte Jiménez



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

SIP-14
REP 2017

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Santa Cruz Xoxocotlán, Oax., siendo las 12 horas del día 20 del mes de diciembre del 2022 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Posgrado del: Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca (CIIDIR UNIDAD OAXACA) para examinar la tesis titulada:

"Memoria de forma en películas de quitosano-fibroína obtenidas con un solvente eutéctico"

del alumno:

Apellido Paterno:	Figueroa	Apellido Materno:	Pérez	Nombre (s):	Edgar Otocani
-------------------	----------	-------------------	-------	-------------	---------------

Número de registro: B 2 0 0 8 8 8

Aspirante del Programa Académico de Posgrado: Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales

Una vez que se realizó un análisis de similitud de texto, utilizando el software antiplagio, se encontró que el trabajo de tesis tiene **15%** de similitud. **Se adjunta reporte de software utilizado.**

Después que esta Comisión revisó exhaustivamente el contenido, estructura, intención y ubicación de los textos de la tesis identificados como coincidentes con otros documentos, concluyó que en el presente trabajo SI NO **SE CONSTITUYE UN POSIBLE PLAGIO.**

JUSTIFICACIÓN DE LA CONCLUSIÓN: (Por ejemplo, el % de similitud se localiza en metodologías adecuadamente referidas a fuente original)
Debido a que el % de similitud se encuentra principalmente en palabras específicas que no forman frases completas en todo el documento.

****Es responsabilidad del alumno como autor de la tesis la verificación antiplagio, y del Director o Directores de tesis el análisis del % de similitud para establecer el riesgo o la existencia de un posible plagio.**

Finalmente, y posterior a la lectura, revisión individual, así como el análisis e intercambio de opiniones, los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR** **SUSPENDER** **NO APROBAR** la tesis por **UNANIMIDAD** o **MAYORÍA** en virtud de los motivos siguientes:
Debido que el texto cumple con los requerimientos para que el estudiante presente su examen de grado.

COMISIÓN REVISORA DE TESIS

 Dr. Miguel Chávez Gutiérrez
 Director de Tesis
 Nombre completo y firma

 Dr. Francisco Castellanos León
 Nombre completo y firma

 Dr. Victor Guillermo Jiménez Quero
 Nombre completo y firma

 Dra. Rocío Yapel Aguirre Loredo
 Nombre completo y firma

 M. C. Frank Manuel León Martínez
 Nombre completo y firma

 Dr. Salvador Isidro Beltrán Jiménez
 Nombre completo y firma
PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA DE AUTORIZACIÓN DE USO DE OBRA PARA DIFUSIÓN

En la Ciudad de México el día 12 del mes de diciembre del año 2022, el que suscribe **Figuroa Pérez Edgar Otocani** alumno del programa de **Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales** con número de registro **B200888**, adscrito al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo de tesis bajo la dirección del **Dr. Miguel Chávez Gutiérrez** y cede los derechos del trabajo intitulado **“Memoria de forma en películas de quitosano-fibroína obtenidas con un solvente eutéctico”** al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expresado del autor y/o director. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección de correo. **edgar_figuroa_perez@outlook.com**. Si el permiso se otorga, al usuario deberá dar agradecimiento correspondiente y citar la fuente de este.



Edg.

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO
DE INVESTIGACIÓN PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
UNIDAD OAXACA

Figuroa Pérez **Edgar Otocani**

DEDICATORIA

A mi esposa Aleyda por todo su apoyo, por ser mi razón de ser y la fuerza que me impulsa siempre hacia adelante, por todos los años que hemos compartido juntos, por cuidarme, muchas gracias hermosa, TE AMO.

A toda mi familia por su apoyo incondicional, en especial a mi abuelita Efigenia y mi tío Cuauhtémoc, por ser mi luz durante toda la vida.

A mis padres Donaji y Filadelfo por ser mis primeros maestros en la vida, siéntanse orgullosos.

A Dios por darme la oportunidad de existir en este tiempo y lugar, por las experiencias que me ha dado en la vida.

“¡Nunca permitas que la lealtad ni la bondad te abandonen! Átalas alrededor de tu cuello como un recordatorio. Escríbelas en lo profundo de tu corazón”

“El camino no está en el cielo. El camino está en el corazón”

“¿Porque me aferro a mis creencias?, todos estos años y nada ha cambiado...
...tal vez nos dejaste, para vivir sin ti, para aprender a volar por nuestra cuenta”

AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis, Dr. Miguel Chávez Gutiérrez, por su apoyo brindado en la realización de esta tesis y en el proyecto de innovación, por su asesoría en el área de polímeros.

Al Dr. Gonzalo Santos López por su soporte brindado en esta tesis, por su asesoría en el área de solventes eutécticos, por su apoyo técnico en el TMA.

A la M.C. Maaya Tonatzin Oliver Cadena por su soporte brindado en esta tesis, por su asesoría en el área de biopolímeros, por su apoyo técnico en el TMA y en el FTIR.

Al Dr. Francisco Castellanos por su apoyo brindado en esta tesis y en el proyecto de innovación, por su asesoría en el área de caracterización de materiales y por su paciencia.

Al Dr. Víctor Guillermo Jiménez Quero por su apoyo brindado en esta tesis, por su asesoría en el área de estadística y por confiar en mí.

A la Dra. Roció Yaneli Aguirre Loredo por su apoyo brindado en esta tesis, por toda su amabilidad.

Al M.C. Frank Manuel León Martínez por su soporte brindado en esta tesis, por su asesoría en el área de caracterización de materiales y por su apoyo técnico en el SEM y FTIR.

Al Instituto Politécnico Nacional, CIIDIR Oaxaca, por permitirme utilizar su infraestructura, equipos y bibliografía, al proyecto SIP 20220743, lo que resultó en la culminación de este proyecto de investigación.

Al laboratorio de Biomacromoléculas por la infraestructura para el desarrollo de este proyecto y el uso de sus equipos.

A los profesores y profesoras del CIIDIR-Unidad Oaxaca por ser parte de mi formación académica y también en mi formación como ser humano.

A mis amigos y amigas del CIIDIR por compartir su tiempo conmigo.

Al CONACYT por los recursos otorgados con la beca para la realización de este proyecto de investigación.

RESUMEN

En el presente trabajo se estudió el fenómeno de memoria de forma en los parámetros de razón de estabilidad y razón de recuperación de las películas de quitosano-fibroína con diferentes contenidos de fibroína 0 %, 0.72 %, 1.5 % en peso/peso y agregando glicerol como plastificante. Las películas se obtuvieron usando como solvente cloruro de colina-ácido cítrico a una razón molar 1:3 por el método de vaciado en placa. La caracterización de las películas fue realizada con técnicas de FTIR, TMA, TGA y SEM. La temperatura de transición vítrea de las películas varía de 27-43°C. El análisis termogravimétrico muestra una descomposición con cuatro etapas; la primera a 81 °C para la evaporación del agua, la segunda a 204 °C relacionado con la pérdida de componentes de bajo peso molecular, la tercera 296 °C relacionada con la descomposición de la cadena polimérica del quitosano y la fibroína, la última a 374 °C asociada a la degradación térmica del solvente eutéctico. La película formulada con quitosano y 0.72 % de fibroína sin glicerol presenta el mayor módulo de Young con un promedio de 12.2 MPa. La razón de recuperación de las películas quitosano-fibroína varían de 86 a 78 %, siendo la película con quitosano y glicerol la que presentó el valor más alto. La razón de estabilidad de las películas varía de 71 a 85 %, siendo la película de quitosano y 0.72 % de fibroína sin glicerol la del valor más alto con un valor promedio de 85 %. El porcentaje de fibroína tiene un efecto la razón de estabilidad (R_f) con una significación de $\alpha=0.05$. Por los anteriores resultados estos materiales podrían ser aplicados en aplicaciones biomédicas.

ABSTRACT

In the present work, the shape memory phenomenon was studied in the parameters of stability ratio and recovery ratio of chitosan-fibroin films with different fibroin contents 0%, 0.72%, 1.5% w/w and adding glycerol as plasticizer. Films were obtained using choline chloride-citric acid as solvent at a 1:3 molar ratio by the casting method. The characterization of the films was carried out with FTIR, TMA, TGA and SEM techniques. The glass transition temperature of the films varies from 27-43°C. The thermogravimetric analysis shows a decomposition with four stages; the first at 81 °C for the evaporation of water, the second at 204 °C related to the loss of low molecular weight components, the third 296 °C related to the decomposition of the chitosan and fibroin polymer chain, the last at 374 °C associated with the thermal degradation of the eutectic solvent. The film formulated with chitosan and 0.72 % fibroin without glycerol presents the highest Young's modulus with an average of 12.2 MPa. The recovery ratio of the chitosan-fibroin films varies from 86 to 78 %, with the film with chitosan and glycerol presenting the highest value. The stability ratio of the films varies from 71 to 85%, being the film of chitosan and 0.72% of fibroin without glycerol the highest value with an average value of 85%. The percentage of fibroin has an effect on the stability ratio (Rf) with a significance of $\alpha=0.05$. Due to the previous results, these materials could be applied in biomedical applications.

INDICE

Lista de Figuras	iii
Lista de tablas	iv
CAPÍTULO I. INTRODUCCION	1
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	3
2.1 Materiales con memoria de forma	3
2.1.1 Polímeros con memoria de forma	4
2.1.2 Principios que explican la memoria de forma en los polímeros	6
2.1.3 Cuantificación de la memoria de forma en polímeros	7
2.2 Biomateriales	10
2.3 Quitosano	12
2.3.1 Propiedades del quitosano	14
2.4 Obtención de películas poliméricas de quitosano	15
2.5 Gusano de seda	18
2.6 Fibroína de seda	20
2.7 Obtención de películas poliméricas de la seda de <i>Bombix mori</i>	22
2.7.1 Proceso de desgomado	24
2.8 Materiales de quitosano-fibroína (Q-F)	26
2.8.1 Películas de quitosano-fibroína (Q-F)	27
2.9 Solventes eutécticos (DES)	29
2.9.1 Cloruro de colina – ácido cítrico	30
2.10 Plastificantes	31
CAPÍTULO III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	33
3.1 Objetivos	34
3.1.1 Objetivo principal	34
3.1.2 Objetivos específicos	34
3.2 Hipótesis de trabajo	35
3.3 Justificación	35
3.3.1 Científica y Tecnológica	35
3.3.2 Social y económica	35
3.3.3 Ambiental	36
CAPÍTULO IV. MATERIALES Y MÉTODOS	37
4.1 Materiales	37
4.1.1 Obtención y selección de los capullos de seda de <i>Bombix mori</i>	37

4.2 Metodología	39
4.2.1 Desgomado	39
4.2.2 Obtención de las películas poliméricas	39
4.3 Caracterización de las películas poliméricas	41
4.3.1 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR)	41
4.3.2 Análisis termo mecánico (TMA)	41
4.3.3 Análisis termogravimétrico (TGA)	42
4.3.4 Análisis del módulo de Young (TMA)	42
4.3.5 Microscopia electrónica de barrido (SEM)	42
4.4 Medición de la memoria de forma	42
4.4 Diseño experimental	43
4.4.1 Hipótesis estadística	44
CAPITULO V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	45
5.1 Selección de capullos de seda	45
5.2 Desgomado	45
5.3 Elaboración de películas poliméricas (Cloruro de colina-ácido cítrico)	46
5.4 Caracterización de las películas quitosano/fibroína de seda	48
5.4.1 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR)	48
5.4.2 Temperatura de transición vítrea (Tg)	50
5.4.4 Análisis termogravimétrico (TGA)	51
5.4.5 Propiedades mecánicas	55
5.4.6 Microscopia electrónica de barrido (SEM)	57
5.5 Memoria de forma	59
5.5.1 Razón de recuperación (Rr)	59
5.5.2 Razón de estabilidad (Rf)	61
5.5.3 Pruebas de normalidad, aleatoriedad, igualdad de varianza e independencia	63
CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES	64
6.1 Perspectivas y recomendaciones	65
BIBLIOGRAFÍA	66
ANEXOS	74

Lista de Figuras

Figura 1. Proceso de memoria de forma en polímeros. Tomado de Oliver et al. 2016	6
Figura 2. Medición de la memoria de forma. Reportado por Kim et al (2021)	9
Figura 3. Estructura química del quitosano	12
Figura 4. Estructura química de la quitina y la celulosa. Barikani et al., (2014)	13
Figura 5. Etapas de desarrollo del gusano de seda, basado en FAO (1990)	19
Figura 6. Regiones de la glándula de seda de <i>Bombix mori</i>	20
Figura 7. Filamento de seda de <i>Bombix mori</i> y estructura primaria de la fibroína	21
Figura 8. Diagrama del punto eutéctico. Reportado por Pena-Pereira y Calle, 2018	29
Figura 9. Selección de capullos	38
Figura 10. Medición de la memoria de forma	38
Figura 11. Capullo sucio con pupa pulverizada	39
Figura 12. Porcentaje en peso de seda obtenido a 80°C	46
Figura 13. Comparación de FTIR de las películas QE y QE150F	49
Figura 14. Curvas DTGA para películas quitosano-fibroína sin glicerol	52
Figura 15. Curvas DTGA para películas de quitosano-fibroína con glicerol	53
Figura 16. Módulo de Young de las películas quitosano-fibroína	55
Figura 17. Micrografías de las películas de quitosano-fibroína a 1000x	58
Figura 18. Muestras QE72F y QE150F con pequeñas protuberancias	59
Figura 19. Gráfica de probabilidad normal Rr	63

Lista de tablas

Tabla 1. Características de materiales con memoria de forma	4
Tabla 2. Módulo de Young de tejidos humanos	11
Tabla 3. Comparación de solventes para disolver fibroína de seda	23
Tabla 4. Composición de las soluciones filmogénicas	40
Tabla 5. Películas de quitosano-fibroína obtenidas sin glicerol	47
Tabla 6. Películas de quitosano-fibroína obtenidas con glicerol	48
Tabla 7. Temperaturas de transición vítrea y CTE térmica de las muestras	50
Tabla 8. Etapas de descomposición de las películas quitosano-fibroína	54
Tabla 9. Módulo de Young para películas quitosano-fibroína sin glicerol	56
Tabla 10. Módulos de Young para las películas quitosano-fibroína con glicerol	56
Tabla 11. ANOVA de la razón de recuperación (Rr) de películas CTS-SF	60
Tabla 12. Promedio de Rr de películas de Q-F	60
Tabla 13. ANOVA de la razón de estabilidad (Rf) de películas CTS-SF	62
Tabla 14. Promedio de Rf de películas de Q-F	62

CAPÍTULO I. INTRODUCCION

Los polímeros con memoria de forma (SMP) son materiales que tienen la capacidad de cambiar de una forma permanente a una forma temporal bajo estímulos externos y con una programación previa (Sessini et al., 2016). Los SMP son más baratos en comparación con otros materiales con memoria de forma como los cerámicos y aleaciones metálicas, además, sus temperaturas de procesamiento son menores, son menos densos y en algunos casos pueden ser biodegradables (Peponi et al., 2014).

En los últimos 20 años, biomateriales de quitosano y fibroína de seda han sido reportados en la obtención de espumas, películas, hidrogeles, fibras, entre otros, para diferentes aplicaciones (Vepari y Kaplan, 2007; Rockwood et al., 2013; Tuwalska et al. 2022). Por ejemplo, las películas obtenidas a partir de una mezcla quitosano-fibroína podrían ser enfocadas en aplicaciones como apósitos para heridas y vendajes para quemaduras (Grabska-Zielinska y Sionkowska, 2021); debido a su biocompatibilidad, resistencia mecánica y elasticidad (Tuwalska et al. 2022).

Estudios de la memoria de forma han sido reportadas en películas de quitosano (Correia et al., 2014; Zhang et al., 2018) usando estímulos de humedad; y en películas de fibroína/policaprolactona (Sun et al., (2017) usando un estímulo térmico, en el cual un contenido menor del 15% p/p de fibroína mejora la razón de recuperación del efecto de memoria de forma.

Las películas de fibroína pueden ser obtenidas usando diferentes solventes: ácidos/álcalis inorgánicos, soluciones acuosas de sales neutras (ejemplo: LiBr) sistemas complejos de ácidos orgánicos (ejemplo: Acido Formico-Cl₂Ca), acido/álcali inorgánico

concentrado y líquidos iónicos (Wang, et al., 2020). Mientras que las películas de quitosano se obtienen en soluciones ácidas: ácido acético, ácido clorhídrico, ácido fórmico y ácido láctico (Espinosa-Cavazos et al. 2020). Recientemente se ha descrito el uso de un solvente eutéctico (DES) formado por cloruro de colina-ácido cítrico para obtener películas de quitosano (Smirnov et al., 2021); este solvente eutéctico se presentó como un candidato favorable para solubilizar la fibroína, debido al contenido de sales de cloruro que favorecen la disolución de este biopolímero (Meng et al. 2012); al obtener películas usando un solo solvente se reducen los tiempos de obtención de las películas.

El objetivo principal de este estudio fue el estudio de la memoria de forma de películas quitosano-fibroína bajo los parámetros de razón de estabilidad y razón de recuperación aplicándoles un estímulo térmico a diferentes contenidos de fibroína (0%, 0.72%, 1.5%) y usando glicerol como plastificante. Las películas fueron obtenidas mediante un solvente eutéctico (cloruro de colina-ácido cítrico) por el método de vaciado en placa. Se espera que un contenido mínimo de fibroína afecte significativamente la razón de recuperación y la razón de estabilidad de la memoria de forma de las mezclas, mientras que al agregar glicerol a las películas se busca que sean termosensibles a la temperatura del cuerpo humano.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1 Materiales con memoria de forma

La memoria de forma es la habilidad que tiene un material de recuperar su forma original después de haberle aplicado un estímulo externo, como temperatura, luz, humedad o electricidad; para lo cual se requiere de un proceso de dos fases llamados "programación" y "recuperación". En la fase de programación el material es deformado en presencia de un estímulo, térmico principalmente, y cambia su estructura para ser estabilizado en una forma temporal. En la fase de "recuperación" después de aplicar un estímulo externo el material recupera su forma original permanente (Sessini et al., 2016). Diferentes materiales pueden presentar el fenómeno de memoria de forma: aleaciones metálicas, polímeros y cerámicos; debido a la diferencia en estructura de estos materiales el mecanismo de memoria de forma es diferente para cada caso (Peponi et al., 2014).

El fenómeno de memoria de forma fue descrito por primera vez en una aleación de Niquel-Titanio, denominado Nitinol en 1967, este material tenía un porcentaje de recuperación del 8.5%, (Honkala, 2006). En aleaciones metálicas el mecanismo de memoria de forma funciona al ser activado por un estímulo externo, de temperatura, en el que ocurre una transformación reversible denominada martensita-austensita (Rottiers et al., 2006). Esta transformación consiste en un cambio de fase, debido al estímulo, en la aleación capaz de cambiar la simetría de su red cristalina, de un estado cubico (fase austensita) a un estado de deformación (fase martensita) que puede ser revertida (Peponi et al., 2014).

Algunas características de comparación de materiales con memoria de forma, aleaciones metálicas (SMA), cerámicos (SMC) y polímeros (SMP) son la densidad, temperatura de transición, biocompatibilidad, biodegradabilidad, condiciones de procesamiento y precio (Peponi et al., 2014). En la Tabla 1 podemos observar que los SMP son más baratos en comparación con los cerámicos y aleaciones metálicas, sus temperaturas de procesamiento son menores y los polímeros pueden llegar a ser biodegradables y son más livianos en comparación con las aleaciones metálicas y los cerámicos.

Tabla 1. Características de materiales con memoria de forma

	SMA	SMC	SMP
Densidad, g/cm ³	6-8	2	0.9-1.1
Temperaturas de transición vítrea, °C	5-30	300	10-50
Biocompatibilidad y Biodegradabilidad	Pueden ser biocompatibles	Pueden ser biocompatibles	Pueden ser biocompatibles y/o biodegradables
Temperatura de procesamiento, °C	>1000	>1000	<200
Precio, \$/kg	6300 aprox.	>10 000	300 aprox.

Elaborado en base a los datos de (Peponi et al., 2014), precios en pesos mexicanos

2.1.1 Polímeros con memoria de forma

Los materiales inteligentes fabricados con polímeros tienen la ventaja de tener buena elasticidad, baja densidad y alta transparencia, pero sufren las desventajas de tener una débil fuerza de tensión, baja respuesta a los estímulos y una inestabilidad ambiental (Wuang y Huang, 2020). El efecto de memoria de forma no es una propiedad específica de un polímero (Hu y Mondal, 2006); se presenta como el resultado de la combinación de la arquitectura del polímero y un procedimiento llamado programación en base a

un estímulo externo (Wagermaier et al., 2009), así como también una fase de transición reversible (Thomas et al., 2017).

La arquitectura principal de una red estable es el punto de red (netpoint), estos pueden ser de naturaleza química (enlaces covalentes), o de naturaleza física (interacciones por puentes de hidrogeno) (Behl et al., 2009; Thomas et al., 2017). Las cadenas poliméricas no se “desenredan” durante la deformación debido a los puntos de red formados por los entrecruzamientos, esto provoca que la forma permanente original puede ser “recordada” (Rottiers et al., 2006).

Todo este proceso de programación y recuperación se ejemplifica en la figura 1, si se tiene un material polimérico y se le aplica un estímulo y un esfuerzo mecánico para deformarlo hasta adquirir una forma temporal estable y posteriormente se deja enfriar bajo tensión, a este proceso se le conoce como programación, si se le vuelve a aplicar otro estímulo al material y regresa a su forma original el proceso se conoce como recuperación.

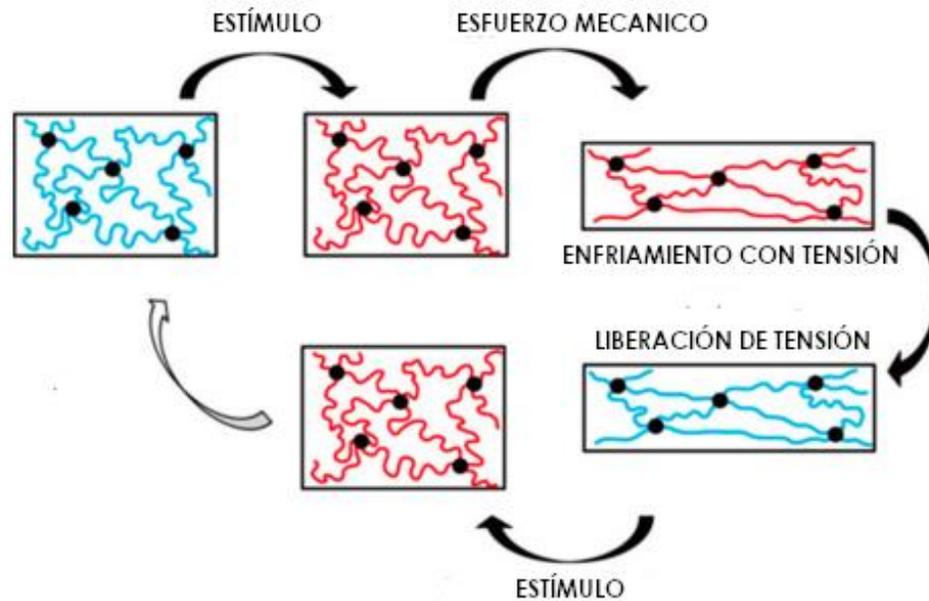


Figura 1. Proceso de memoria de forma en polímeros. Tomado de Oliver et al. 2016

2.1.2 Principios que explican la memoria de forma en los polímeros

El efecto de memoria de forma en materiales poliméricos puede clasificarse en dos tipos principalmente según sus mecanismos: a) Mecanismo de dos estados (DSM) y b) Mecanismo de dos componentes (DCM) (Huang et al., 2012).

El DSM explica que cuando un polímero es calentado por encima de su temperatura de transición vítrea (T_g) entra en un estado elástico "gomoso", el cual es fácil de deformar, al mantener la deformación y enfriarse por debajo de la temperatura de transición sus moléculas son "congeladas" y el polímero mantiene su deformación. La recuperación de la forma solo ocurre cuando el polímero es calentado nuevamente y el movimiento molecular es reactivado debido a que en el mecanismo intervienen los "estados" gomoso y vítreo, por lo cual se considera mecanismo de dos estados (Huang et al., 2012). Wagermaier et al. (2009) llaman a este mecanismo la teoría de transformación de fase, con temperatura de transición vítrea como temperatura de

transición, mencionan que los SMP tienen una fase “congelada” a una temperatura menor a la T_g y una fase “activa” a una temperatura mayor a la T_g .

El mecanismo DCM explica que un segmento (componente elástico-suave) es siempre altamente elástico dentro del rango de temperatura de interés, mientras que el otro segmento (componente de transición-duro) tiene una fase de transición reversible dependiente de la temperatura (Huang et al., 2012). Existen copolímeros con memoria de forma, como el SEBS (estireno etileno butileno estireno) en el que la porción de etileno-butileno funciona como componente elástico y la porción estireno funciona como componente de transición (Quiñonez, 2019).

2.1.3 Cuantificación de la memoria de forma en polímeros

El fenómeno de la memoria de forma se describe a través de dos parámetros, la razón de estabilidad (R_f) que describe la habilidad de la fase reversible (switch fase) de estabilizar la deformación mecánica que se aplica durante la fase de programación; y la razón de recuperación (R_r) que cuantifica la habilidad del material para recuperar su forma original permanente (Lendlein y Langer, 2002).

No existe un procedimiento estándar para medir la memoria de forma en materiales poliméricos, la cuantificación de este fenómeno puede dividirse en pruebas de tensión-deformación (stress-strain) y pruebas de flexión (bending), con una programación de temperatura basado en las temperaturas de transición de los materiales (Peponi et al., 2014).

Para cuantificar la memoria de forma a través de pruebas de deformación es necesario aplicar estímulos de tensión y un estímulo temperatura constante, que debe ser superior a una temperatura de transición, como la temperatura de transición vítrea,

para después enfriar la muestra por debajo de la temperatura de transición. La longitud inicial (L_i) de la muestra es medida para posteriormente aplicar los estímulos de tensión y temperatura, la longitud temporal (L_t) resultante debido a los estímulos es cuantificada, para después liberar la tensión y medir la longitud descargada (L_u) y finalmente volver a aplicar un estímulo de temperatura y registrar la recuperación de la forma y la longitud final (L_f) (Liu et al. (2007).

Kallel et al. (2016) y Rieder et al. (2020) explican como cuantificar la memoria de forma de los polímeros, a través de una prueba de tensión y midiendo la longitud, usando los parámetros de razón de recuperación (R_r) y razón de estabilidad (R_f) a través de las siguientes ecuaciones:

$$R_f = \frac{L_u}{L_m} \times 100\% \quad , \quad R_r = \frac{L_u - L_f}{L_u - L_i} \times 100\%$$

Donde L_i es la longitud inicial de la muestra, L_u (length unload) es la longitud después de la prueba sin tensión, L_f (length fixed) es la longitud después de la recuperación y L_m es la longitud después de la deformación con tensión.

Kim et al. (2021) miden la memoria de forma con una prueba de flexión, al medir la relación de los ángulos antes (θ_{max}) y después de la recuperación (θ_{fixed}) como se indica en las siguientes ecuaciones de razón de estabilidad (1) y de razón de recuperación (2):

$$(1) R_f = \frac{\theta_{fixed}}{\theta_{max}} \times 100\% \quad , \quad (2) R_r = \frac{\theta_{max} - \theta_i}{\theta_{max}} \times 100\%$$

Donde R_f es la razón de estabilidad (R_f) de la forma, θ_{fixed} es el ángulo recuperado, θ_{max} es el ángulo deformado máximo, la razón de recuperación (R_r) es la recuperación de forma por cada θ_i ángulo recuperado medido cada 10 s hasta su recuperación final.

En la Figura 2 se muestra el procedimiento utilizado, primero se dobla el polímero con el molde aplicando un estímulo térmico de 100° C hasta que alcance un ángulo máximo de deformación (θ_{max}) y se quita el molde y se mide el ángulo obtenido de la forma temporal (θ_{fixed}) y posteriormente se vuelve a aplicar el estímulo térmico y se mide cada 10 segundos los ángulos de recuperación hasta que el proceso llegue a su final.

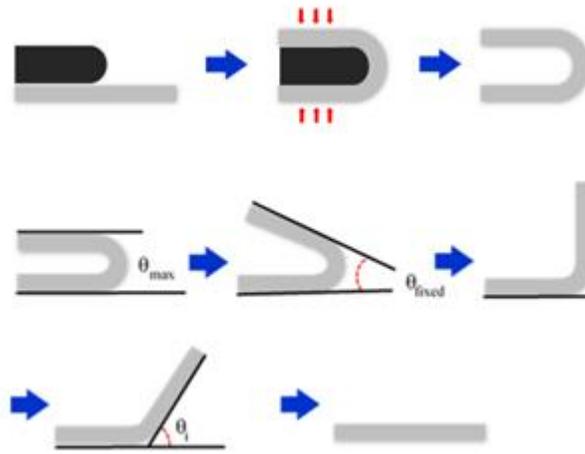


Figura 2. Medición de la memoria de forma. Reportado por Kim et al (2021)

Los SMP pueden presentar un efecto parcial de memoria de forma, el límite es incierto debido a la falta de investigación de las aplicaciones que se les puede dar a estos (Hu, 2007). Aunque, Tcharkhtchi et al. (2014) mencionan que para valores de entre 24 % y 72 % para la razón de recuperación (R_r) se tiene un efecto parcial de memoria de forma; mientras que Abdallah-Elhirsy et al. (2015) indican que el valor de recuperación de un polímero para tener un efecto de memoria de forma completo debe ser mayor o igual a 99 %. La importancia de R_r de un SMP depende de la aplicación, mientras que el porcentaje de recuperación cumpla con los requerimientos de una aplicación en particular no es necesario un porcentaje de recuperación del 100 % (Huang et al., 2012).

2.2 Biomateriales

Los biomateriales son sustancias o combinación de sustancias, de origen sintético o natural, que pueden ser usados para mejorar o reemplazar, parcial o totalmente un tejido, órgano o función del cuerpo humano para mantener o mejorar la calidad de vida de una persona (Bergmann y Stumpf, 2013).

En algunos casos para producir biomateriales se suele usar polímeros sintéticos, debido a sus propiedades mecánicas y estabilidad térmica (Sionkowska, 2011); sin embargo, en los últimos años han sido utilizados los biopolímeros debido a que tienen menos reacciones inflamatorias en el cuerpo humano que los polímeros sintéticos (Delaey, et al. 2020). La reacción inflamatoria generada por los biomateriales puede ser persistente y se debe a una respuesta inmune, en primera instancia, por el contacto con el sistema vascular y la sangre con el biomaterial, donde intervienen células conocidas como glóbulos blancos (neutrófilos, monocitos y macrófagos) que buscan la degradación del biomaterial, y si la inflamación se prolonga puede causar una infección (Anderson y Jiang, 2017).

La obtención de biomateriales con polímeros naturales como la fibroína de seda, o los polisacáridos, como el quitosano, han sido reportadas en la literatura, presentando ventajas como la biocompatibilidad y biodegradabilidad (Grabska-Zielinska y Sionkowska, 2021). La biocompatibilidad significa que la respuesta del anfitrión a la implantación del material no presenta efectos adversos, ni nocivos en órganos o tejidos en la zona de implantación (Hudecki et al. 2019). La biodegradabilidad es necesaria para el caso de aplicaciones donde se necesite aplicar un material destinado a

favorecer la cicatrización de una herida para prevenir remover la sutura (Delaey, et al. 2020). Los biomateriales biodegradables estimulan la infiltración celular y la vascularización para fomentar la regeneración de tejido (Leal-Egaña y Scheibel, 2010).

Las propiedades mecánicas de los biomateriales constituyen una de las propiedades más importantes para su utilidad (Osorio-Delgado et al. 2017). Por ejemplo, un módulo de Young apropiado relacionado con el tejido donde se quiere implantar es necesario para evitar alteraciones en la biomecánica de la región a tratar (Delaey, et al. 2020). En la Tabla 2 se tienen los módulos de elasticidad longitudinal de varios tejidos en el cuerpo humano en comparación con algunos materiales poliméricos en los que se ha reportado la memoria de forma; se puede observar que los SMP tienen módulos de Young similares a los tejidos del cuerpo humano.

Tabla 2. Módulo de Young de tejidos humanos

<i>Tejido/Material</i>	<i>Módulo (MPa)</i>
<i>Fémur</i>	$2-19 \times 10^3$
<i>Tejido mamario</i>	3.25×10^{-3}
<i>Córnea</i>	24.5×10^{-3}
<i>Tendones</i>	1.2×10^{-3}
<i>Piel</i>	0.42-0.85
<i>Músculo</i>	1.45-20
<i>Poliuretanos</i>	5-600
<i>Poliésteres</i>	0.3-500

Elaborado en base a los datos de (Delaey, et al. 2020)

2.3 Quitosano

El quitosano es un polímero biodegradable no tóxico, biocompatible, bioactivo, cuenta con actividad antimicrobiana y tiene diversas aplicaciones en las industrias: cosmética, textil, agricultura, alimentos, empaques, farmacéutica, médica, entre otras (Espinosa-Cavazos et al. 2020). En la figura 3 se muestra la composición del quitosano formada por unidades repetitivas de β -(1-4)-2-acetamida-D-glucosa y β -(1-4)-2-amino-D-glucosa.

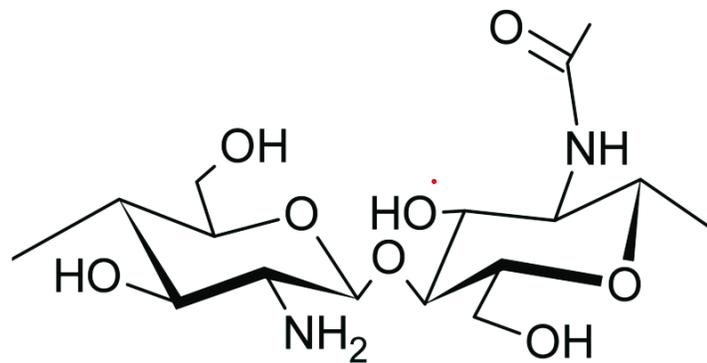


Figura 3. Estructura química del quitosano

La quitina, de la que se obtiene el quitosano, es el segundo polímero más abundante en la naturaleza, después de la celulosa, siendo el componente estructural de los exoesqueletos de artrópodos y algunas paredes celulares fúngicas (Velasco-Rodríguez, et al., 2012). La estructura de la quitina consiste en unidades repetidas de β -(1-4)-N-acetil-D-glucosamina, en la figura 4 podemos ver la similitud química con la celulosa, con la diferencia que en la quitina el grupo hidroxilo ha sido sustituido por el grupo acetamida.

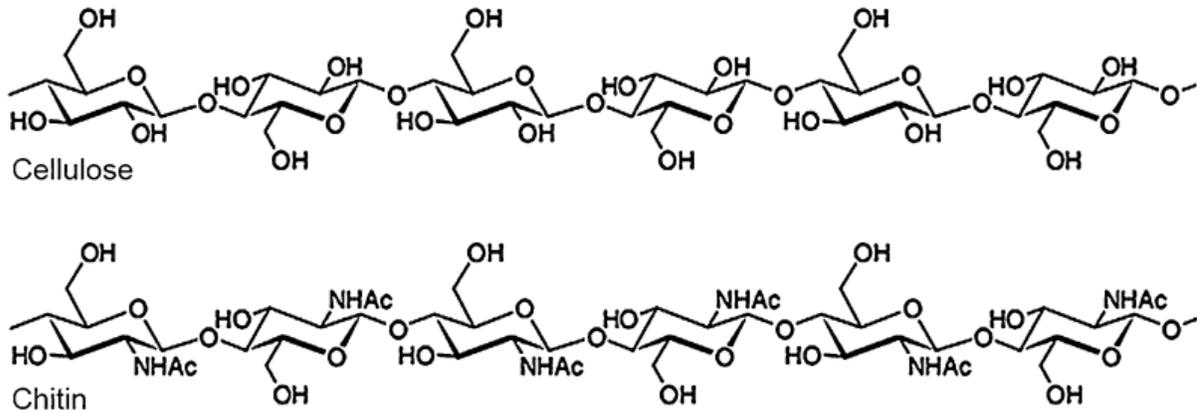


Figura 4. Estructura química de la quitina y la celulosa. Barikani et al., (2014)

La quitina se obtiene a un relativo bajo precio de desperdicios de la industria de alimentos marinos, especialmente de la cáscara o caparazones de camarones, langostinos y cangrejos (Barikani et al., 2014). Para obtener quitina se utiliza un proceso para desnaturalizar proteínas, y retirar las grasas por saponificación, realizado con una solución alcalina acuosa de hidróxido de sodio con una concentración que va de 1–10% en peso. El siguiente proceso, la desmineralización, consiste en un tratamiento en medio ácido (principalmente una solución acuosa de ácido clorhídrico) en concentraciones de 5-20% en peso para descomponer los carbonatos presentes, sin embargo, las condiciones ácidas pueden degradar las cadenas de quitina y dar lugar a una reducción importante de su peso molecular. La quitina resultante es un sólido blando y liviano que puede tener una coloración amarillenta o anaranjada dependiendo de la fuente biológica y de las condiciones del tratamiento, esta coloración puede ser eliminada con el uso de peróxido de hidrógeno o de hipoclorito de sodio en bajas concentraciones (Nakamatsu, 2012).

Para obtener quitosano es necesario un proceso de desacetilación que requiere concentraciones de hidróxido de sodio entre 40% y 45% en peso y temperaturas de 120°C, de una a tres horas, dando como resultado quitosano con grados de desacetilación entre 70 y 90% (Bakshia, et al., 2019). El quitosano tiene ventajas económicas al obtenerse de una fuente natural renovable por ser un subproducto de la industria pesquera (Espinosa-Cavazos et al. 2020).

2.3.1 Propiedades del quitosano

El peso molecular del quitosano es afectado por el proceso de desacetilación de la quitina y el procedimiento de obtención, por lo anterior el peso molecular puede oscilar entre 50 y 2000 kDa (Bakshia, et al., 2019).

Otra característica importante del quitosano como biomaterial, es su actividad antimicrobiana y antifúngica, las cuales pueden ser explicadas a través de varios mecanismos; por ejemplo, la naturaleza policatiónica del quitosano interviene en el metabolismo bacteriano y sus paredes celulares; el quitosano de bajo peso molecular puede entrar en los núcleos celulares inhibiendo su multiplicación; y puede funcionar como un agente quelante, formando un ion metálico, que impide las reacciones químicas de ciertos minerales esenciales (van den Broek, et al., 2015).

Por otro lado, el quitosano al ser un polímero natural alcalino es inodoro y tiene la capacidad de ser biocompatible y biodegradable, al descomponerse en productos inofensivos como azúcares, esta propiedad puede ser aprovechada en biomedicina ya que puede ser absorbido por el cuerpo humano (Espinosa-Cavazos et al. 2020). La biodegradabilidad del quitosano se debe a la actividad de enzimas como la

glucosamidasa que transforman las glucosaminas en oligómeros (Bakshia, et al., 2019). Dentro de organismos vivos el quitosano puede ser catalizado por bioenzimas para despolimerizar la molécula, descomponiéndose en N-acetil-glucosa y glucosamina que no son tóxicos para el ser humano y no se acumulan en el cuerpo, ni generan respuestas inmunes (Zhao et al., 2018). Además, el esqueleto polisacárido del quitosano es estructuralmente similar a los glucosaminoglicanos del cuerpo que son los componentes principales de la matriz extracelular de hueso y cartílago (Sionkowska y Płanecka, 2013).

Los grupos aminos que posee el quitosano dentro de su estructura química le atribuyen características importantes para la formación de puentes de hidrógeno. La biodegradabilidad y actividad antimicrobiana hacen a este material ideal para la elaboración de películas utilizadas en la industria alimenticia y biomédica (Espinosa-Cavazos et al. 2020).

2.4 Obtención de películas poliméricas de quitosano

El quitosano se disuelve en soluciones ácidas, por esa razón, las películas de quitosano son obtenidas principalmente con soluciones de ácido acético, ácido clorhídrico, ácido fórmico y ácido láctico (Espinosa-Cavazos et al. 2020).

Adila et al. (2013) estudiaron las propiedades físicas de películas de quitosano obtenidas con diferentes ácidos, tales como: ácido acético, ácido láctico, y ácido cítrico. La tensión de ruptura de las películas formadas con ácido acético mostró valores mayores de 329.1 MPa, en comparación con las películas obtenidas con ácido cítrico y ácido láctico, las cuales presentaron valores de tensión a la ruptura por debajo de 50 MPa. Respecto al porcentaje de elongación a la ruptura, las películas obtenidas con ácido acético tuvieron los porcentajes de elongación más bajos con un valor de 25%,

las películas obtenidas con ácido cítrico obtuvieron valores medios de elongación de 100% y las películas obtenidas con ácido láctico valores altos de elongación de 260%, indicando que la interacción intermolecular entre el quitosano y el ácido acético es relativamente más alta en comparación con los otros dos ácidos.

En 2021 Smirnov et al. prepararon películas de quitosano con un solvente eutéctico de ácido cítrico (AC) y cloruro de colina (ChCl), las películas utilizaron un contenido de DES del 67 % p/p al 82 % p/p a una concentración de sólidos del 2 % y con una razón 1:1 de ChCl-AC. El análisis con el microscopio de fuerza atómica (AFM) muestra que la película con 67 % de DES presenta una superficie menos rugosa ($r_q=11$ nm), en comparación con las películas con mayor contenido de solvente eutéctico, que aumentan la rugosidad en su superficie para las películas de 75 % de DES con $R_q=13$ nm y para las películas con 82 % de DES con $R_q=13$ nm; en cuanto al porcentaje de elongación a la ruptura, al 67 % de DES se tiene un valor de 84 %, al 75 % de DES se tiene un valor de 71 % de elongación y para películas al 82 % de DES se tienen una elongación de 40 %; La resistencia a la tracción para películas al 67 %, 75 % y 82 % de DES, se obtuvieron valores de 18 MPa, 14 MPa y 8 MPa respectivamente. También, las películas presentaron una propiedad de auto reparación que podría estar asociado a los entrecruzamientos de puentes de hidrogeno de los componentes de la película. Finalmente, los autores lograron inducir un movimiento al aplicar vapor de agua en las películas de quitosano que imita el movimiento de algunos tipos de plantas (Ej. *Mimosa pudica*).

2.4.1 Memoria de forma en películas de quitosano

Correia et al., (2014) prepararon películas de quitosano purificado con NaOH a una concentración de 1% p/v en una solución acuosa de 2 % v/v de ácido acético y posteriormente sumergidas y estabilizadas en una solución de genipina al 3 % y 37 °C por 6 h. Las películas de quitosano se sometieron a estímulos previos de hidratación con agua/etanol a diferentes concentraciones (0/100, 10/90, 20/80, 30/70, 40/60, 50/50, 70/30, 80/20, 100/0), los autores observaron que el módulo de Young decrece con el contenido de agua de 4.2 a 0.008 GPa, la resistencia a la tracción disminuye con el contenido de agua de 81.54 a 11.82 MPa y el porcentaje de elongación a la rotura aumenta de 0.51 a 10.61 %. El efecto de memoria fue estudiado usando un estímulo de hidratación-deshidratación usando genipina como un agente entrecruzante para lograr obtener la forma estabilizada, aunque no llegan a medir cuantitativamente la memoria de forma.

Zhang et al., (2018) prepararon películas de quitosano (CT) con ácido acético al 1 % v/v y al 1% v/v de CT, además agregaron un 30 % de glicerol en peso total respecto al CT en la solución filmogénica y a través de un proceso de vaciado en placa se formaron las películas en un horno al vacío (50 °C y -0.1 MPa) por 72 horas. Estudiaron la memoria de forma de la película obteniendo una razón de estabilidad (Rf) de 93 % y estudiaron la razón de recuperación de la película en un medio líquido con diferentes concentraciones de agua/etanol (0/100, 25/75, 50/50, 75/25, 100/0). Cuando el contenido de agua fue del 100% la razón de recuperación (Rr) obtuvo el valor más alto de 93% y el contenido de agua disminuyó el tiempo de recuperación de la película de 103 s a 27 s. Por otro lado, en una concentración de etanol de 100 % la película no

presento memoria de forma con 0 % de Rr debido a que no existe una interacción entre las moléculas de quitosano y las de etanol.

2.5 Gusano de seda

Bombix mori es un insecto del orden de los lepidópteros del género *Bombyx* que atraviesa por 5 etapas larvales para formar su capullo y llegar a transformarse en mariposa. Las mariposas son de cuerpo grueso y velludo con antenas con forma de peine y trompa atrofiada que sólo llegan a sobrevivir durante 2 a 5 días ya que no toman ningún alimento en el estado adulto. La mariposa de *Bombix mori* ha perdido la capacidad de volar. Las razas criadas en el mundo han sido derivadas de un gusano silvestre *Bombyx mandarina* originario de China, India y Corea (FAO, 1990; Pescio, 2006; Martínez, 2011; Rodríguez et al., 2012). Para la producción de capullos las condiciones ambientales más importantes son: temperatura, humedad relativa, ventilación e iluminación (Rodríguez et al., 2012). Los gusanos de seda (*Bombix mori*) producen capullos a partir de su alimentación exclusiva con hojas de morera (*Morus spp*).

En la figura 5 podemos observar las etapas de desarrollo del *Bombyx mori*, el gusano recién nacido es llamado gusano hormiga y después pasa por 5 etapas larvarias o edades a través de cuatro mudas, de la primera a la tercera edad se conoce como gusano joven, al llegar a la 5a edad el *Bombix mori* produce un capullo de seda para proteger su pupa durante la metamorfosis a mariposa. Todo este proceso desde el nacimiento del gusano hasta la muerte de la mariposa dura aproximadamente de 30 a 37 días (FAO, 1990; Herrera, 2017).



Figura 5. Etapas de desarrollo del gusano de seda, basado en FAO (1990)

La producción de seda de *Bombix mori* ocurre en la glándula sericígena del gusano que se divide en tres regiones: anterior, media y posterior (Herrera 2017). En la figura 6 se ve el esquema de la región donde se produce las proteínas de la seda de *Bombix mori*, la fibroína se forma en la región posterior de la glándula de seda para después ser almacenada en la región media donde se produce la sericina que recubre a la fibroína y finalmente sale de forma líquida por el hilador que es un conducto situado en la región anterior de la glándula de seda ubicada en la boca del gusano y se solidifica por deshidratación al contacto con el aire (Ling et al., 2017).

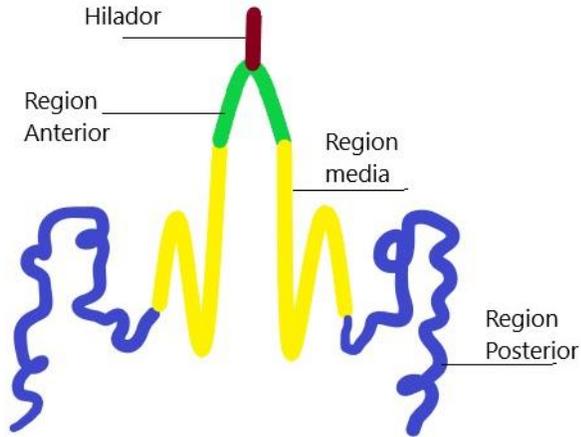


Figura 6. Regiones de la glándula de seda de *Bombix mori*

2.6 Fibroína de seda

La fibroína de seda del gusano *Bombix mori* es un polímero natural que ha sido estudiada por sus propiedades de biocompatibilidad para aplicaciones médicas, este biopolímero puede ser solubilizado y regenerado en una solución acuosa para formar diversos materiales, como películas (Vepari y Kaplan, 2007). La seda sirve como punto de referencia para obtener polímeros estructurales imitando a la naturaleza (biomimética) y desarrollar biomateriales (Porter y Vollrath, 2009).

En la figura 7 se observa como la seda de *Bombix mori* está formada por filamentos de dos diferentes proteínas: la fibroína está en el centro de la seda y la sericina es el material pegajoso que la rodea (Meng et al. 2012). La estructura primaria de la seda de *Bombix mori* está constituida de aminoácidos, principalmente glicina (43 %), alanina (30 %) y serina (12 %) (Vepari y Kaplan, 2007). La fibroína corresponde a un 70-75 % del peso total y la sericina que la recubre en un 30-25% (Costa et al. 2018). La fibroína se compone de una cadena pesada (390 kDa) y una cadena ligera (26 kDa) unidas entre sí por un

enlace disulfuro y una glicoproteína con un peso molecular de 25 kDa llamada P25 la cual se encuentra unida de manera no covalente a las cadenas ligeras y pesadas. La sericina es una proteína hidrofílica de 20-310 kDa (Vepari y Kaplan, 2007; Gaviria y Caballero, 2015).

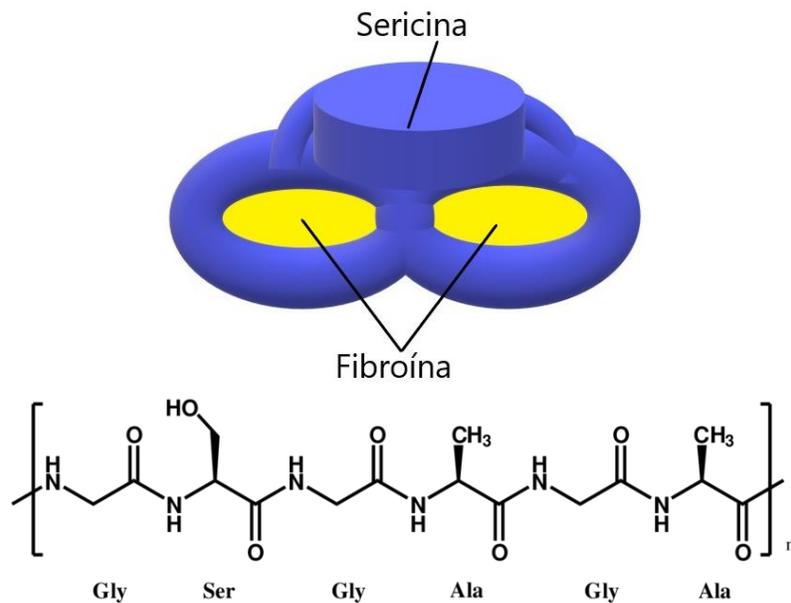


Figura 7. Filamento de seda de *Bombix mori* y estructura primaria de la fibroína

La fibroína posee en su estructura secundaria grandes dominios repetitivos hidrofóbicos modulares (dominio cristalino) interrumpidos por pequeños grupos hidrofílicos (dominio amorfo) (Gaviria y Caballero, 2015). Los bloques hidrofóbicos son predominantes y producen interacciones de hidrogeno a través de las cadenas de la proteína que producen estructuras denominadas laminas beta (β sheets) que son responsables de la cristalinidad de la fibroína (Costa et al. 2018).

2.7 Obtención de películas poliméricas de la seda de *Bombix mori*

Las películas de fibroína de seda son biomateriales que pueden ser fabricados de manera económica y con una gran calidad en el laboratorio (Lawrence et al. 2012). Varios solventes han sido reportados para obtener materiales de seda de *Bombix mori*: ácidos/álcalis inorgánicos, soluciones acuosas de sales neutras (ejemplo: LiBr) (Lawrence et al., 2012, Rockwood et al. 2013; Gaviria et al., 2019); sistemas complejos de ácidos orgánicos (ejemplo: Ácido Fórmico- Cl_2Ca) (Zhang et al., 2017), ácido/álcali inorgánico concentrado (Wang, et al., 2020) y líquidos iónicos (Philips et al., 2004). Todos estos solventes tienen un impacto principalmente en las propiedades de los materiales resultantes debido a la degradación que provocan en la seda al romper sus enlaces de hidrogeno y cadenas de aminoácidos (Wang, et al., 2020). En la tabla 3 se presentan algunas ventajas y desventajas de varios tipos de solventes para disolver seda.

Tabla 3. Comparación de solventes para disolver fibroína de seda

Disolvente	Ejemplos	Ventajas	Desventajas
Ácido/álcali inorgánico concentrado	HCl H ₃ PO ₄ ,	Bajo costo y fácil de operar	La degradación e hidrólisis de la fibroína es muy alta
Solución salina acuosa o un sistema complejo de sal con solvente orgánico	LiBr-H ₂ O, CaCl ₂ -Etanol-H ₂ O	Fáciles de operar	Altos costos de producción y se necesitan usar una gran cantidad de sales, necesitan diálisis
Sistemas complejos de ácidos orgánicos	Fa-LiBr Fa-CaCl ₂ ,	Simple y de bajo costo	Algunas necesitan diálisis, puede contener impurezas
Líquidos iónicos	Líquidos iónicos basados en 3-metilimidazolio	Disuelven seda sin desgomar y sin proceso de diálisis	Alto costo de producción

Elaborado en base a los datos de Wang et al., (2020)

El método convencional para la obtención de una solución filmogénica de seda es a través del uso de una solución de bromuro de litio (LiBr) a una concentración molar de 9.3 M y una concentración de 20 % p/v de fibroína (Rockwood et al., 2013). Las sales de LiBr a una mayor concentración molar tienen un mayor nivel de solubilidad de fibroína de seda ya que esta aumenta el rompimiento de las uniones disulfuro entre las cadenas pesadas y ligeras de la fibroína, (Sah y Pramanik, 2010).

El solvente más utilizado para la obtención de películas de fibroína es una solución de LiBr pero el proceso de diálisis para remover las sales hace la obtención de las películas es caro y lento por lo que Huang et al., (2017) propone un método alternativo para remover las sales a través de un proceso de lavado con etanol y posteriormente ácido fórmico al 98 % para obtener la solución filmogénica y usar el proceso de vaciado para obtener las películas.

En cuanto a los líquidos iónicos, la solubilidad de la seda depende de las propiedades de cationes y aniones, pero el anión tiene un efecto más amplio, siendo los líquidos iónicos con contenido de Cl los que son más efectivos para disolver fibroína debido a que actúan sobre las uniones de hidrógeno de las regiones cristalinas de la fibroína (Meng et al. 2012). Los líquidos iónicos con contenido de cloro: BMIM Cl (Cloruro de 1-butil-3-metilimidazolio), DMBIM Cl (Cloruro de 1-butil-2,3-dimetilimidazolio) y EMIM Cl (Cloruro de 1-etil-3-metilimidazolio); resultaron los más efectivos para disolver seda en un baño de aceite a 100 °C con un porcentaje de saturación de solubilidad del 8.3 % al 23.3 % en comparación con líquidos iónicos con aniones Br, I, BF₄ y AlCl₄ con porcentajes de solubilidad de la seda de 0 al 0.7% (Philips et al., 2004).

2.7.1 Proceso de desgomado

Para obtener películas de fibroína es necesario un proceso previo de desgomado que consiste en separar la sericina de la fibroína debilitando las interacciones intermoleculares no covalentes de las cadenas polipéptidos de la sericina usando una solución de Na₂CO₃ (Luong et al. 2014). El proceso de desgomado es una combinación de varios efectos: dispersión, solubilización e hidrólisis de los polipéptidos de la sericina sin llegar a degradar la fibroína (Sah y Pramanik, 2010). La concentración más usada de Na₂CO₃ para el proceso de desgomado es de 0.02 M de Na₂CO₃ (Lawrence et al. 2012; Rockwood, et al. 2013). La sericina tiene que ser removida, sobre todo en biomateriales, debido a que al estar combinada con fibroína aumenta la respuesta inflamatoria en el cuerpo humano (Allardyce et al., 2016). Sah y Pramanik (2010) recomiendan usar una concentración de Na₂CO₃ de 0.02 M, 80 °C de temperatura y tiempos de 40 minutos o más de desgomado para obtener la fibroína de manera óptima, debido que al ser

observada por el microscopio electrónico de barrido se nota la disminución de la sericina.

En películas de fibroína obtenidas con LiBr como solvente el proceso de desgomado tuvo una correlación negativa entre la pérdida de peso y la resistencia a la tracción donde con una pérdida de peso del 12.2% se obtienen películas con 8.9 MPa de resistencia, y con un desgomado con pérdida de peso del 29.4 % se obtienen películas de 4.3 MPa, esto se debe a que a pérdidas de peso menores al 28 % se mantienen sericina residual que mejora las propiedades mecánicas, principalmente la resistencia a la tracción (Allardyce et al., 2016).

2.7.2 Memoria de forma en películas de fibroína

Sun et al., (2017) estudiaron la memoria de forma de películas de fibroína mezcladas con poli-caprolactona(CPL) y óxido de benzoílo; obtenidas por un método de moldeo por compresión; el estímulo utilizado fue agua a 70 °C, concluyendo que el porcentaje de recuperación (Rr) se incrementa significativamente cuando el porcentaje de fibroína es menor al 15 % p/p, siendo el máximo un 90 % cuando la película contiene 5 % en peso de fibroína; además el contenido de fibroína aumenta el módulo de Young de 80 MPa a 240 MPa y disminuye la resistencia a la tracción de 24 MPa a 12 MPa; un análisis de SEM mostró que a una concentración mayor a 15 % de fibroína ocurre una dispersión desigual en la matriz de PCL en la película debido a una separación de fases y agregación de partículas de fibroína.

2.8 Materiales de quitosano-fibroína (Q-F)

Los materiales más comunes hechos con la mezcla quitosano (Q) – fibroína de seda (F) son: soluciones, nanofibras, estructuras en tres dimensiones, películas, micropartículas e hidrogeles; las aplicaciones de estos materiales se encuentran en una etapa muy temprana ya que su comercialización hasta ahora ha sido baja (Tuwalska et al. 2022).

Cai et al., (2010) mencionan que las nanofibras fabricadas por electrospinning de Q-F pueden ser utilizadas para el tratamiento de heridas debido a su biocompatibilidad y actividad antibacterial. Para obtener las fibras usaron como disolvente Hexafluoro-2-propanol (HFIP); los investigadores reportaron que cuando se añade fibroína (20 %, 50 %, 80 % en peso total) al quitosano, se mejora la resistencia mecánica del quitosano, de 1 MPa, 1.1 MPa a 1.2 MPa respectivamente; por otro lado, se incrementa el diámetro de las nano fibras de 185 nm, 214 nm a 249 nm. La mezcla al 80 % de quitosano presentó una mayor actividad antimicrobiana respecto a las otras mezclas y se pudo observar que el efecto antibacterial de la fibroína pura es menor que la de las mezclas Q-F.

Gobin et al. (2005) fabricaron andamios hechos de Q-F, disolviendo seda en una solución de nitrato de calcio-metanol a un radio de 1:4:2 Ca:H₂O:MeOH a 65 °C, y disolviendo quitosano al 2 % p/v en ácido acético, las soluciones fueron mezcladas en una razón 50:50, 25:75 y 75/25 y dializadas. Los resultados indicaron que el incremento de fibroína incrementa la tensión a la ruptura y el módulo elástico significativamente debido a que la fibroína incrementa la cristalinidad del material.

Silva et al. (2012) usaron como solvente un líquido iónico (Acetato de 1-butil-3-metilimidazolio), [bmim][Ac], para la fabricación de hidrogeles de Q-F para aplicaciones en regeneración de tejidos, donde el módulo elástico se incrementa con el incremento

de fibroína haciendo el material más cristalino; además, la fibroína aumenta el crecimiento de fibroblastos dérmicos humanos que hacen este material útil para aplicaciones de apósitos para heridas.

2.8.1 Películas de quitosano-fibroína (Q-F)

Las películas Q-F se presentan como materiales con aplicaciones en ingeniería de tejidos por su biocompatibilidad, su resistencia mecánica y su afinidad con el agua. También, las películas de Q-F pueden ser usadas como revestimiento para implantes metálicos y cerámicos en ingeniería de tejidos. En las películas de Q-F el incremento de peso de fibroína en la mezcla disminuye la resistencia a la tracción, aumenta el módulo de Young y disminuye el porcentaje de elongación a la rotura (Grabska-Zielinska y Sionkowska, 2021)

Niamsa et al., (2009) estudiaron películas de Q-F, para lo cual utilizaron una solución filmogénica de quitosano con ácido acético; mientras la fibroína fue desgomada con carbonato de sodio al 0.5 % p/v y disuelta en un sistema de CaCl_2 -Etanol-agua (proporción, 1:2:8), posteriormente, un proceso de diálisis fue realizado. Finalmente las soluciones fueron mezcladas a diferentes proporciones de peso (2:0, 2:1, 2:2 y 1:2), los autores mencionan que las películas de Q-F pueden tener un porcentaje de elongación de entre 69 % a 5 % dependiendo de la cantidad de fibroína , el módulo de Young aumenta con el contenido de fibroína, por lo cual la presencia de fibroína disminuye la flexibilidad de las películas.

Luangbudnark et al., (2012) estudiaron películas de Q-F, para lo cual usaron una solución de cloruro de calcio a 3 M para disolver la fibroína y paso por un proceso de

diálisis y de liofilización. Posteriormente se mezcló la fibroína y quitosano en ácido láctico a diferentes proporciones (3:1, 2:1, 1:1 y 1:2) a una temperatura de 37-40 °C, las películas fueron obtenidas por el método de vaciado en placa y fueron tratadas con hidróxido de amonio y metanol para estabilizar las películas y disminuir su solubilidad en agua con un porcentaje de hinchamiento de 48 % a 57 %. Las películas tuvieron un porcentaje de elongación de 6.4 % a 14.4 % y una resistencia a la tracción de 52.8 a 58.3 MPa, el incremento de quitosano aumenta la flexibilidad de las películas ya que mediante la interposición de quitosano en la cadena de fibroína se perturba el empaquetamiento cristalino.

Li et al., (2018) prepararon películas de Q-F, para lo cual desgomaron la seda en una solución de Na_2CO_3 a 0.02 M y usaron una solución de LiBr a 9.3 M para disolver la fibroína resultante, posteriormente realizaron un proceso de diálisis y liofilización. La solución filmogénica de quitosano fue obtenida en una solución de ácido acético al 2 % v/v; posteriormente se mezcló el Q y la F a una proporción de volumen 1:1. Las películas fueron preparadas por el método de vaciado en placa y posteriormente fueron tratadas con metanol e hidróxido de sodio, de forma que las películas sean insolubles en agua. Las películas proporcionaron un entorno favorable para el crecimiento de células madre derivadas de medula ósea de rata por lo que podrían usarse en ingeniería de tejidos de hueso, cartílago y piel, mencionan que la fibroína es la que tiene la capacidad de provocar una proliferación de las células de ratón, mientras que el quitosano actúa en la diferenciación de células osteogénicas, aunque los mecanismos para que esto suceda son desconocidos para los autores.

2.9 Solventes eutécticos (DES)

Un solvente eutéctico es una mezcla de dos o más sólidos que sufren un cambio de fase a líquido a una temperatura que va de los 75 a los 120 ° C (Alonso et al., 2017). La temperatura mínima de fusión de los componentes de un solvente eutéctico recibe el nombre de punto eutéctico (Pena-Pereira y Calle, 2018). En la figura 8 podemos observar que al mezclar dos componentes (A y B) y aumentar la temperatura encontramos el punto eutéctico, siendo este menor al punto de fusión individual de cada componente.

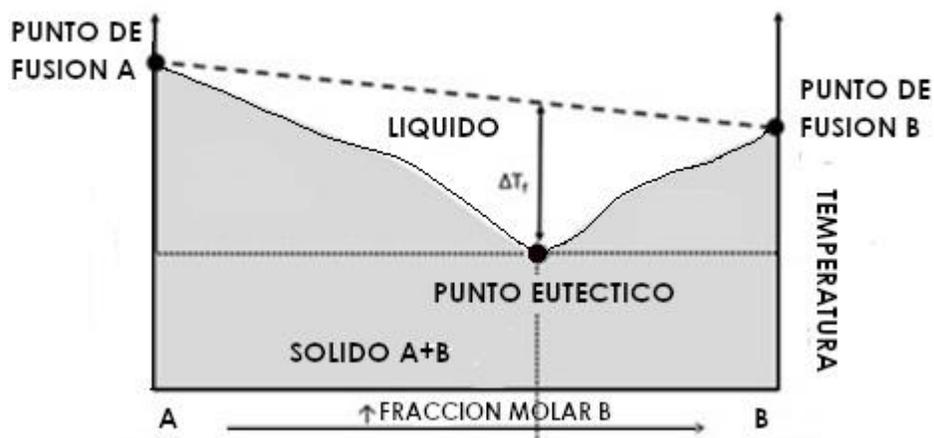


Figura 8. Diagrama del punto eutéctico. Reportado por Pena-Pereira y Calle, 2018

Los solventes eutécticos, denominados en inglés “Deep eutectic solvents” (DES), son fáciles de preparar, la mayoría no son tóxicos, son biodegradables y son una clase de solventes que poseen características como amplio rango de viscosidad, bajo punto de fusión, no son reactivos con agua, no son volátiles, son térmicamente estables, tienen alta conductividad y bajo precio en comparación con los líquidos iónicos (Ghaedi, et al 2017). Los DES han sido comparados con los líquidos iónicos (IL), siendo los primeros más

fáciles de preparar y su pureza depende de sus componentes, mientras que los IL necesitan pasar por un proceso de purificación (Pena-Pereira y Calle, 2018).

Los DES se pueden clasificarse en cuatro tipos: los de tipo I contienen una sal de amonio cuaternaria y un haluro metálico anhidro, son poco usados debido a sus puntos de fusión altos; los de tipo II tienen en su estructura haluros metálicos hidratados que no son sensibles a la humedad; los de tipo III contienen una sal de amonio cuaternaria y compuestos donadores de hidrógeno; los de tipo IV están formados por un haluro metálico con un ácido de Lewis o de Brønsted (Alonso, et al. 2018; Pena-Pereira y Calle, 2018).

Los primeros DES desarrollados fueron del tipo III que son obtenidos generalmente al mezclar un compuesto con carácter aceptador de enlaces de hidrógeno con una sustancia que actúe como donadora de enlaces de hidrógeno. Los DES del tipo III más reportados en la literatura están constituidos de cloruro de colina, una sal de amonio, barata, no tóxica y empleada como suplemento alimenticio para animales; combinado con amidas, ácidos carboxílicos y alcoholes, esto debido a su fácil preparación, agentes baratos y no reactividad con el agua (Pena-Pereira y Calle, 2018).

2.9.1 Cloruro de colina – ácido cítrico

El cloruro de colina (ChCl) es una sal con alto punto de fusión que funciona como aceptadora de enlaces de hidrógeno, mientras que el ácido cítrico (AC) funciona como donador de enlaces hidrógeno (Alonso, et al. 2018). Un solvente eutéctico sintetizado a partir de ChCl y AC fue estudiado siendo la proporción 1:1 la que se consideró en el punto eutéctico con el menor punto de fusión. Cuando se aumenta la cantidad de

ácido cítrico en el DES se observan altos valores de viscosidad, tensión superficial y densidad. Este solvente es soluble en agua y en solventes altamente polares y algunos semi polares debido al comportamiento higroscópico del cloruro de colina y la alta polaridad del ácido cítrico. El DES ChCl-AC puede ser utilizado para la extracción de componentes hidrofílicos, solubles en agua, de plantas y animales (Shafie et al. 2019).

Recientemente, Smirnov et al. (2021) han reportado el uso del cloruro de colina y ácido cítrico como solvente eutéctico para la formación de películas de quitosano por el método de vaciado en placa formando películas con concentraciones que van de 67 al 82% de peso de DES. Sugiriendo que el ácido cítrico genera un entrecruzamiento de enlaces de hidrógeno en la cadena polimérica de quitosano y señalando que el cloruro de colina hace más granular la superficie de las películas. El incremento en el porcentaje del peso total del solvente eutéctico decrece el módulo de Young y el punto de rotura de los filmes de quitosano.

2.10 Plastificantes

Los plastificantes son una clase de compuestos de bajo peso molecular que se usan como aditivos para películas poliméricas. El objetivo primario de un plastificante es mejorar la flexibilidad y la procesabilidad al disminuir su temperatura de transición vítrea (T_g). Los plastificantes disminuyen la fragilidad y evitan el encogimiento de las películas durante su manejo y almacenamiento. Algunos plastificantes utilizados en películas poliméricas, obtenidas con proteínas o polisacáridos, son el glicerol y el sorbitol (Adeodato et al. 2011).

En películas de quitosano el glicerol decrece la resistencia del material, incrementando su elasticidad, su permeabilidad al vapor de agua y decrece la temperatura de transición vítrea (Rivero et al. 2016). En un estudio realizado por Adila et al. (2013) el uso de glicerol como plastificante hizo que las películas de quitosano obtenidas con ácido acético redujeran su tensión de rotura haciendo películas más elásticas.

En películas de fibroína, el glicerol reduce la temperatura de transición vítrea y la temperatura de cristalización. Cuando el contenido de glicerol se incrementa más del 12 % del peso total, se incrementa la cristalinidad y la insolubilidad en el agua, hace la película más elástica y flexible disminuyendo el módulo de Young y aumentando el porcentaje de tensión a la rotura (Lyu et al., 2022).

CAPÍTULO III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la literatura se pueden encontrar, desde hace 20 años, investigaciones donde se usan mezclas de quitosano-fibroína para la elaboración de diversos biomateriales: películas, micropartículas, hidrogeles, nano fibras, estructuras en tres dimensiones (andamios) y soluciones (Tuwalska et al. 2022).

Una película elaborada con la mezcla quitosano-fibroína que presente memoria de forma a la temperatura del cuerpo humano puede aplicarse en biomedicina como apósito para mejorar el proceso de cicatrización. A este tipo de materiales Blacklow et al., (2019), lo denominan vendaje adhesivo activo (active adhesive dressings), estos materiales al activarse térmicamente permiten que el proceso de cicatrización sea más rápido.

En 2021, Smirnov et al., lograron obtener filmes de quitosano usando como solvente eutéctico cloruro de colina-ácido cítrico. Este solvente se presentó como un candidato para solubilizar fibroína debido a su contenido de sales de cloruro que han sido reportadas por Meng et al. (2012) como más efectivas para disolver esta proteína.

El efecto de la memoria de forma de películas de quitosano y fibroína ha sido estudiado por separado, por lo que se esperaba que las películas combinadas de quitosano-fibroína presentarán el efecto de memoria de forma, se buscó que la fibroína en porcentajes menores mejorara las propiedades mecánicas de las películas además de afectar significativamente el efecto de memoria de forma.

En esta investigación se plantea estudiar el efecto del contenido de fibroína y glicerol como plastificante, cuando el contenido de quitosano es constante, en la razón de

recuperación y razón de estabilidad de la memoria de forma de las películas obtenidas con cloruro de colina-ácido cítrico.

3.1 Objetivos

3.1.1 Objetivo principal

- Estudiar la memoria de forma de películas de quitosano-fibroína obtenidas mediante un solvente eutéctico aplicándoles un estímulo térmico.

3.1.2 Objetivos específicos

- Establecer parámetros para la selección de capullos de seda para la obtención de fibroína para fabricar películas poliméricas, en base a su tamaño: largo del capullo, ancho del capullo; y al peso de la corteza seca (peso del capullo sin pupa)

- Obtener películas poliméricas de quitosano-fibroína usando un solvente eutéctico (ácido cítrico-cloruro de colina) a diferentes concentraciones de fibroína, con y sin glicerol.

- Caracterizar la temperatura de transición vítrea de las películas de quitosano-fibroína para posteriormente estudiar la memoria de forma

- Estudiar la memoria de forma, razón de estabilidad (Rf) y razón de recuperación (Rr), de las películas poliméricas obtenidas a través de un solvente eutéctico ante un estímulo térmico con una prueba de tensión.

- Caracterizar la morfología de la superficie, estructura, propiedades mecánicas y térmicas, de las películas poliméricas de quitosano-fibroína.

3.2 Hipótesis de trabajo

Contenidos de fibroína del 0.72 % y 1.5 % en peso total y el glicerol (plastificante) agregado tendrán una diferencia significativa en los parámetros de memoria de forma: razón de estabilidad (Rf) y razón de recuperación (Rr) en las películas de quitosano-fibroína.

3.3 Justificación

3.3.1 Científica y Tecnológica

Para la obtención de películas de quitosano-fibroína normalmente se usan procesos por separado para solubilizar por un lado la fibroína y con otro solvente el quitosano, para posteriormente mezclar las soluciones filmogénicas. La fibroína es más lenta de procesar, y comúnmente necesita un proceso de diálisis que dura días. El solvente eutéctico cloruro de colina-ácido cítrico se presentó como un candidato para procesar ambos polímeros haciendo el proceso de obtención de películas más rápido. Por otro lado, una película quitosano-fibroína con memoria de forma que sea termosensible a la temperatura del cuerpo humano podría desarrollar, a largo plazo, apósitos para mejorar el proceso de cicatrización.

3.3.2 Social y económica

En México, la crianza de gusano de seda solo ha sido aprovechada para la confección de artesanías textiles. En el estado de Oaxaca, según el gobierno del estado, se encuentran alrededor de 1400 productores sericícolas, siendo el estado con mayor número de artesanos del país. La utilización de capullos de *Bombix mori* para el desarrollo

de nuevos materiales de fibroína extendería el aprovechamiento de la seda producida por los artesanos del estado.

3.3.3 Ambiental

La combinación cloruro de colina-ácido cítrico, se considera por sus componentes un solvente eutéctico natural. La biodegradabilidad de los solventes eutécticos basados en cloruro de colina ha sido probada (Radosevic et al., 2015), por lo cual al trabajar con estos compuestos se reducen los residuos que podrían permanecer en los ecosistemas y causar deterioro ambiental. Al trabajar con capullos de seda producidos artesanalmente en el estado de Oaxaca es un primer paso para crear una cadena de producción de materiales cuyo manejo y aprovechamiento sea sustentable.

CAPÍTULO IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Materiales

Para la obtención de las películas poliméricas de quitosano-fibroína de seda, se utilizaron capullos de seda, carbonato de sodio ($\text{Na}_2\text{CO}_3 \geq 99.5\%$, Sigma-Aldrich CAS:497-19-8, 105.99 g/mol), agua destilada (REPROQUIFIN), ácido cítrico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \geq 99.5\%$, Sigma-Aldrich CAS:77-92-9, 192.12 g/mol), cloruro de colina ($\text{C}_5\text{H}_{14}\text{ClNO} \geq 98\%$, Sigma-Aldrich CAS:67-48-1, 139.52 g/mol) y quitosano (Quitina desacetilizada, Sigma-Aldrich CAS:9012-76-4, de bajo peso molecular: 50,000 - 190,000 g/mol).

4.1.1 Obtención y selección de los capullos de seda de *Bombix mori*

La seda utilizada para la elaboración de películas en este estudio fue obtenida de capullos de seda producidos en la comunidad de San Pablo Villa de Mitla, Oaxaca. La primera etapa de crianza de larva joven (1ª a 3ª edad) fue realizada en el Centro de Sericultura estatal de Oaxaca y la segunda etapa (4ª a 5ª edad) se hizo en San Pablo Villa de Mitla durante los periodos de marzo-abril y septiembre-octubre de 2018.

Para la selección de capullos de *Bombix mori* se utilizó una muestra de 250 capullos. La primera parte consistió en separar los capullos por su morfología en: elípticos, acacahuatados, redondos y deformes (figura 9) similar a la clasificación de Rodríguez-Ortega et al. (2013).

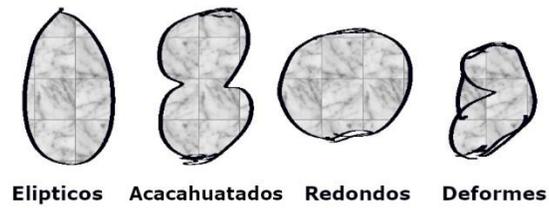


Figura 9. Selección de capullos

El peso promedio de la corteza seca (PCs) fue medido con una balanza analítica y el ancho promedio de los capullos se midieron con un vernier (figura 10). Los capullos que estaban sucios por dentro (figura 11), con la pupa pulverizada, tuvieron que ser descartados para evitar que dejaran impurezas al momento de formar las películas.

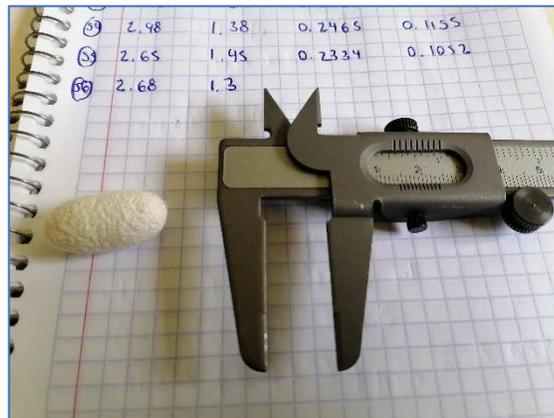


Figura 10. Medición de la memoria de forma



Figura 11. Capullo sucio con pupa pulverizada

4.2 Metodología

4.2.1 Desgomado

El proceso de desgomado fue realizado en tiempos de 20, 30 y 40 minutos utilizando 1.25 g de seda en una solución de carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 0.02 M, calentándola a 80 °C (Anexo 1). Los extractos de seda se lavaron dos veces con agua destilada durante 20 minutos con un agitador magnético a 100 rpm (Anexo 2) y posteriormente secados a temperatura ambiente en una campana de extracción durante un día. Después del proceso de secado se guardaron las muestras de seda dentro de un recipiente seco. El peso de la fibroína obtenida fue medido después del proceso de desgomado en una balanza analítica (VELAB-204B).

4.2.2 Obtención de las películas poliméricas

La seda desgomada a 40 minutos fue seleccionada para molerla durante 30 segundos con un molino (Fritsch Pulverisette 19, Oberstein, Germany) usando una criba de 0.2 mm (Fritsch, Oberstein, Germany).

La fibroína se disolvió en una mezcla de cloruro de colina-ácido cítrico con una relación molar 1:3, dentro de un matraz bola de 100 mL sellado con un corcho. EL cual

se colocó en un baño de aceite sobre una plancha de calentamiento a una temperatura de 130 °C y usando un agitador magnético a 200 rpm durante 6 horas. Posteriormente, a la fibroína de seda disuelta en el solvente eutéctico (Anexo 3) se le agregó 48 mL de agua destilada por cada gramo de material sólido y fue agitada vigorosamente. Posteriormente, a la solución de solvente eutéctico (SE) y fibroína (F) se le agregó quitosano para tener un contenido de SE 72.32 % y quitosano al 27.68 % de peso total. Igualmente, por cada gramo de quitosano (Q) se agregó 48 mL de agua destilada para obtener una solución filmogénica final al 2 % de peso por volumen (p/v) (Anexo 4). Las soluciones filmogénicas fueron agitadas durante 48 horas con un agitador a 300 rpm, siguiendo la metodología de Smirnov et al. (2021), y finalmente el pH de las soluciones filmogénicas fue medido con un potenciómetro (OHAUS).

En la tabla 4 se presentan las proporciones de cada una de las soluciones filmogénicas con fibroína y solvente eutéctico, cabe destacar que todas tienen el mismo contenido de quitosano del 27.6 % del peso total.

Tabla 4. Composición de las soluciones filmogénicas

<i>Solución filmogénica</i>	<i>Contenido de fibroína (% en peso)</i>	<i>Contenido de solvente eutéctico (% en peso)</i>	<i>Contenido de quitosano (% en peso)</i>
<i>DES 72 CHIT 28 (Blanco)</i>	<i>0</i>	<i>72.32</i>	<i>27.68</i>
<i>DES 72 CHIT 28 (0.72SF)</i>	<i>0.72</i>	<i>71.60</i>	<i>27.68</i>
<i>DES 72 CHIT 28 (1SF)</i>	<i>1</i>	<i>70.82</i>	<i>27.68</i>
<i>DES 72 CHIT 28 (2SF)</i>	<i>2</i>	<i>70.32</i>	<i>27.68</i>

Las soluciones filmogénicas fueron vaciadas en cajas Petri de plástico de 100 x10 mm usando 20 mL de solución filmogénica para obtener las películas. Por cada solución

filmogénica a diferente contenido de fibroína (0.72, 1.5 y 2 % en peso) se obtuvieron dos tipos de películas: SE-F sin glicerol y SE-F-glicerol (0.036 g) para tener un total de 8 películas diferentes. Finalmente, las cajas Petri fueron depositadas dentro de un horno a 37-40 °C (Anexo 5) durante 24 horas para obtener las películas y se midió su espesor con un micrómetro (Mitutoyo, Japón) en tres localizaciones distintas dentro del área más externa de las películas.

Para los ensayos posteriores, las películas se estabilizaron dentro de un desecador a temperatura de laboratorio estándar de 23°C, según la norma ASTM 618-13 para el acondicionamiento de plásticos para pruebas y 50% de HR.

4.3 Caracterización de las películas poliméricas

4.3.1 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR)

Los espectros FT-IR fueron obtenidos en condiciones estándar usando un espectrómetro de IR de rango medio (NICOLET 6700, Thermo SCIENTIFIC), en el rango de número de onda de 4000-650 cm^{-1} con 32 barridos para medir el fondo y 64 barridos para la medición de las películas. Se usó el accesorio de medición de Reflectancia Total Atenuada ATR con ventana de ZnSe.

4.3.2 Análisis termo mecánico (TMA)

La temperatura de transición vítrea (T_g) y el coeficiente de expansión térmica CTE se obtuvo con un analizador termo mecánico (TMAQ400, TA instruments,) con la probeta de penetración, en un rango de temperatura de -20 °C a 130 °C con una velocidad de

calentamiento de 5 °C/min y una fuerza aplicada constante de 0.1 N. Las muestras utilizadas fueron cilíndricas de 0.5 cm de diámetro.

4.3.3 Análisis termogravimétrico (TGA)

El análisis de degradación del material y la medición cuantitativa de los efectos térmicos endotérmicos y exotérmicos de las películas fue realizado en un equipo Q500 (TA instruments). El ensayo TGA se realizó en un rango de temperatura de 25 °C a 600 °C y una velocidad de calentamiento de 10 °C/min. Todo esto en muestras de 16 mg aproximadamente

4.3.4 Análisis del módulo de Young (TMA)

El módulo de Young fue medido con un analizador termo mecánico (TMAQ400, TA instruments) con la probeta de fibra-película, a una temperatura de equilibrio de 25 °C y una fuerza aplicada constante de 0.1 N hasta llegar a 1.2 N. Las muestras utilizadas fueron rectángulos de aproximadamente 8 mm x 4 mm.

4.3.5 Microscopia electrónica de barrido (SEM)

La morfología de la superficie de las películas fue estudiada por medio de imágenes de electrones secundarios (SED) con un microscopio electrónico de barrido, JSM IT300LV JEOL, operado a 5 kV y una magnificación de 500x y 1000x. Las muestras utilizadas midieron 1x1 cm de área y se les aplico un revestimiento de paladio/oro con un equipo DENTON VACUUM DESK V.

4.4 Medición de la memoria de forma

La memoria de forma fue cuantificada a través de una prueba de tensión, midiendo la elongación de las muestras con los parámetros de razón de recuperación (Rr) y razón de

estabilidad (Rf). Para la medición de la memoria de forma las muestras alcanzaron un 70 % de deformación, según lo reportado por Niamsa et al. (2009) como deformación máxima antes de romperse para películas de quitosano-fibroína.

Las ecuaciones (Ec. 1 y Ec. 2) utilizadas fueron propuestas por Kallel et al. (2016) y Rieder et al. (2020):

Ec. 1:

$$Rf = \frac{L_u}{L_m} \times 100\%$$

Ec. 2:

$$Rr = \frac{L_u - L_f}{L_u - L_i} \times 100\%$$

La primera medida fue la longitud inicial (L_i) de la muestra. La siguiente medida fue la longitud máxima de deformación (L_m) para lo cual se usó una pesa de 218 g para aplicar una fuerza de tensión adecuada para alcanzar una elongación del 70 % y al mismo tiempo, con una secadora (Remington, USA) se aplicó un estímulo de temperatura de 75 °C durante un minuto. Posteriormente, las muestras se dejaron enfriar a una temperatura ambiente de 21 °C durante un minuto para estabilizar la forma temporal y medir la longitud estabilizada (L_m). Después se removió el peso y se midió la longitud descargada sin peso (L_u). Finalmente, la longitud final (L_f) fue medida después de aplicar un estímulo de calor de 75 °C durante un minuto con la secadora.

4.4 Diseño experimental

Para el diseño experimental se usó un diseño factorial 3x2, siguiendo el siguiente modelo:

$$Y_{ij} = \mu + A + B + AB + \epsilon_{ij}$$

Los factores estudiados fueron denominados contenido de fibroína y glicerol. El primer factor (A) cuenta con tres niveles (0 %, 0.72 %, 1.5 %) y el segundo factor (B) tiene dos niveles (0 y con glicerol =0.036 g). La variable respuesta a medir serán los parámetros que caracterizan la memoria de forma: razón de estabilidad (Rf) y razón de recuperación (Rr). Para el análisis de varianza se usaron tres repeticiones. Los análisis estadísticos fueron hechos en el programa Minitab® 20.3.

4.4.1 Hipótesis estadística

H1: Los efectos del tratamiento A (% de fibroína) en los parámetros de memoria de forma: razón de estabilidad (Rf) y razón de recuperación (Rr), son significativamente diferentes en tres niveles (0 %, 0.72 %, 1.5 %) con un nivel de significancia de $\alpha = 0.5$

H2: Los efectos del tratamiento B (plastificante) en los parámetros de memoria de forma: razón de estabilidad (Rf) y razón de recuperación (Rr), son significativamente diferentes en los dos niveles (sin glicerol y con glicerol) con un nivel de significancia de $\alpha = 0.5$

H3: Existe un efecto estadísticamente significativo de interacción entre los tratamientos, % de fibroína y plastificante, en los parámetros de memoria de forma: razón de estabilidad (Rf) y razón de recuperación (Rr) con un nivel de significancia de $\alpha = 0.5$.

CAPITULO V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Selección de capullos de seda

Los capullos seleccionados para este estudio fueron elípticos. El promedio del peso de la corteza seca (PCs) fue de 0.11 ± 0.027 g. El ancho promedio de los capullos fue de $1.44 \text{ cm} \pm 0.107$ cm.

Los capullos seleccionados para obtener la fibroína fueron aquellos con un diámetro mayor a 1.33 cm y menor a 1.55 cm. Cifuentes y Kee Wook, (1998) mencionan que los capullos suelen tener de 1.3 a 2.3 cm de diámetro, los capullos con un diámetro menor a 1.5 cm se consideran de segunda, en este estudio se estarán trabajando con capullos de segunda. Los capullos grandes poseen una tendencia a poseer un filamento grueso y largo por lo que es una característica importante para verificar la calidad del filamento (Luzariaga, 2008); por lo que los capullos de segunda podrían ser utilizados para la fabricación de nuevos materiales dejando a los capullos de primera para la fabricación de textiles que necesitan filamentos gruesos y largos para hilarse.

5.2 Desgomado

En la figura 12 se observa el porcentaje de peso obtenido de la seda que representa la fibroína obtenida, en promedio se obtuvieron valores a 40 minutos de 67.90 %, a 30 minutos fue de 68.74 % y para 20 minutos fue de 70.44 %. Para el proceso de desgomado la temperatura fue de 80 °C donde el tiempo tiene un impacto significativo en la reducción de sericina según lo mencionado por Wang et al., (2020). Algunos autores mencionan que la sericina puede tener un porcentaje del 20-30 % del peso total

removido (Rockwood, et al., 2013; Luong et al., 2014, Costa et al.,2018). Por otro lado, Wang et al., (2020) mencionan que el porcentaje de sericina removida varia de 26 % a un máximo de 33 %, similar a lo reportado para este estudio que tuvo un promedio máximo de 32 %.

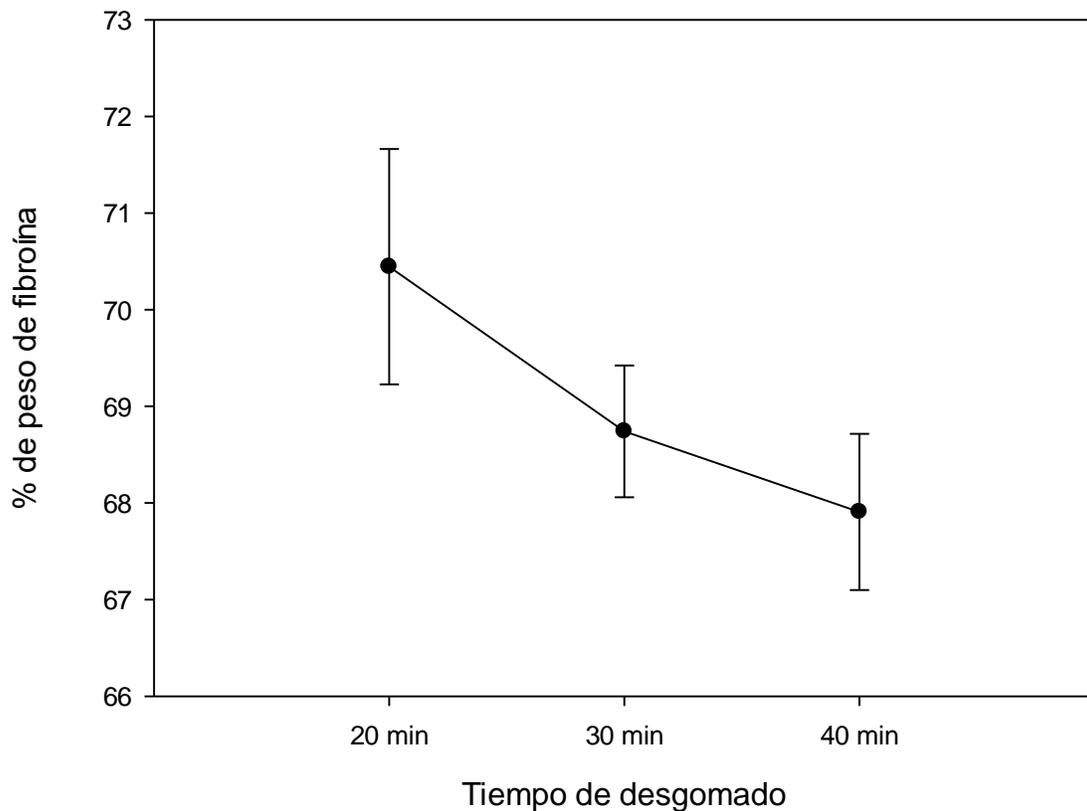


Figura 12 Porcentaje en peso de seda obtenido a 80°C

5.3 Elaboración de películas poliméricas (Cloruro de colina-ácido cítrico)

Para la formación de películas de quitosano-fibroína es necesario que las soluciones filmogénicas tengan un pH de 3.25 o menor según lo reportado por Smirnov et al. (2021), en su estudio los autores mencionan que teóricamente a este pH de 3.25 las

interacciones de los grupos $-\text{COOH}$ y $-\text{NH}_2$ de los componentes logran la formación de las películas. En este estudio las soluciones filmogénicas con diferentes contenidos de fibroína al 0.72, 1.5 y 2 % obtuvieron valores de pH de 3.2, 2.9 y 3 respectivamente. La máxima cantidad de fibroína que se pudo disolver en el SE a 130 °C fue un 2 % del peso total.

El grosor de las películas sin glicerol es presentado en la tabla 5, se puede observar que el grosor de las películas varía de 0.0630 mm a 0.0742 mm y que a mayor contenido de fibroína la película se hace más delgada.

Tabla 5. Películas de quitosano-fibroína obtenidas sin glicerol

<i>Muestra</i>	<i>Contenido de fibroína (%)</i>	<i>Grosor (mm)</i>
QE	0	0.0742 ± 0.006
QE72F	0.72	0.0766 ± 0.005
QE150F	1.5	0.0744 ± 0.009
QE200F	2	0.0630 ± 0.005

*E (solvente eutéctico), F (fibroína de seda), Q(quitosano)

En la tabla 6 se presentan los valores de grosor para las películas con glicerol que varían de 0.0728 mm a 0.1008 mm. A partir de los datos se puede observar que, como en las películas anteriores, al agregar mayor contenido de fibroína las películas se vuelven más delgadas.

Tabla 6. Películas de quitosano-fibroína obtenidas con glicerol

Muestra	Contenido de fibroína (%)	Grosor (mm)
QEG	0	0.0826 ± 0.007
QE72FG	0.72	0.1008 ± 0.009
QE150FG	1.5	0.0770 ± 0.009
QE200FG	2	0.0728 ± 0.007

*E (solvente eutéctico), F (fibroína de seda), Q(quitosano), G(glicerol)

Al comparar las tablas podemos observar el aumento de grosor de las películas a las que se agregó glicerol, en comparación a las que no tienen, esto ha sido reportado por Rivero et al. (2016) para películas de quitosano; igualmente Santos et al. (2021) mencionan que al agregar glicerol se aumenta el grosor de películas de fibroína. Posiblemente, la adición de glicerol como plastificante aumenta el volumen libre de la matriz polimérica y esto aumenta el grosor de las películas (Rivero et al. 2016).

5.4 Caracterización de las películas quitosano/fibroína de seda

5.4.1 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR)

En la figura 9 se muestran la comparación de los espectros de FTIR obtenidos para las películas QE y QE150F, en esta se observan bandas similares en las regiones de enlaces simples de 787 cm^{-1} , 892 cm^{-1} , 950 cm^{-1} ; 1069 cm^{-1} ; 1193 cm^{-1} , del estiramiento C—O; 1316 cm^{-1} y 13781 cm^{-1} , grupo amida III; en el área del espectro correspondiente a los dobles enlaces nos encontramos bandas a 1633 cm^{-1} , del enlace NH_2 ; y 1712 cm^{-1} , de la unión C=O. La única diferencia notable es la banda a 1034 cm^{-1} , de la vibración OH.

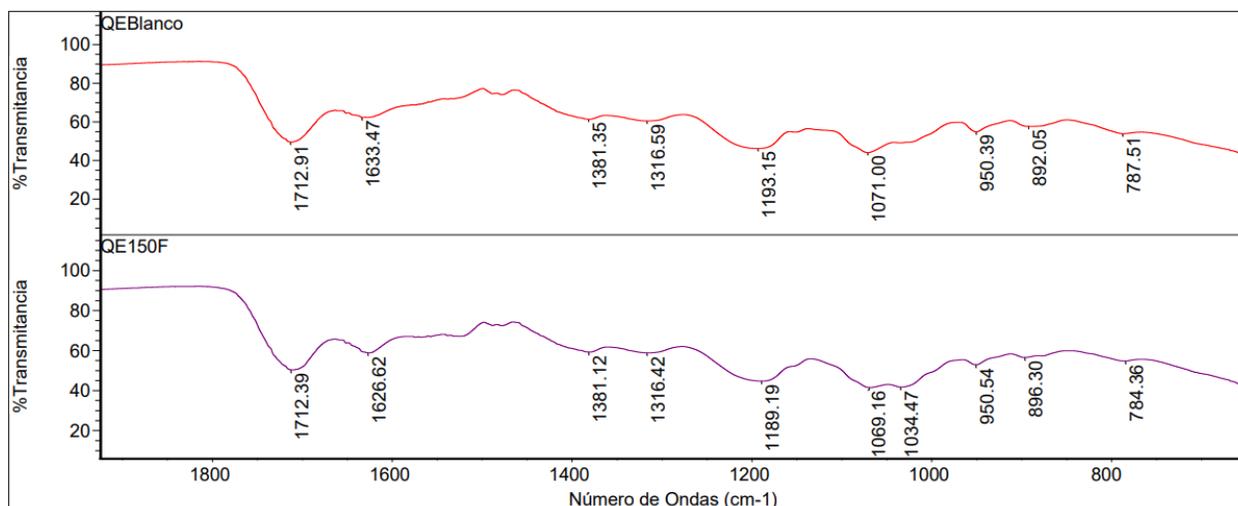


Figura 13. Comparación de FTIR de las películas QE y QE150F

La banda ubicada en 950 cm^{-1} está relacionada al espectro de IR del cloruro de colina para películas de quitosano obtenidas con cloruro de colina-ácido cítrico como solvente eutéctico, en una banda de 955 cm^{-1} , según lo reportado por Smirnov et al., (2021), lo que indica la incorporación de este compuesto a las películas.

En películas de quitosano-fibroína Niamsa et al., (2009) indican que el pico a 1034 cm^{-1} , está relacionado con la interacción intermolecular formada por puentes de hidrogeno entre los dos biopolímeros, indicando un entrecruzamiento. Chen et al., (1997), mencionan que este entrecruzamiento esta dado por un puente de hidrogeno entre el grupo -NH_2 del quitosano y por el grupo carbonilo de la fibroína.

Por otro lado, la banda ubicada a 1633 cm^{-1} podría indicar un entrecruzamiento entre el ácido cítrico y el quitosano según lo reportado por Smirnov et al., (2021) para películas quitosano obtenidas con cloruro de colina-ácido cítrico. Aunque esta banda a 1633 cm^{-1} podría relacionarse a la fibroína, ya que un espectro a 1620 cm^{-1} fue obtenida en el FTIR para el polvo de fibroína (Anexo 6).

La banda de absorción a 1316 cm^{-1} está relacionada con el espectro del quitosano (Park et al., 1999), del enlace C—N en la banda amida III (Fernandes et al., 2015). La banda a 1174 cm^{-1} puede corresponder a un estiramiento del enlace C—O—C, la banda a 1071 cm^{-1} corresponde al enlace C-O, y la banda a 874 cm^{-1} puede corresponder al enlace C—H, todas estas bandas de absorción están asociadas a la estructura del quitosano (Fernandes et al., 2015). Bandas a 1023 cm^{-1} y a 892 cm^{-1} fueron obtenidas en el FTIR para el polvo de quitosano (Anexo 6).

La banda del espectro a 1712 cm^{-1} indica una absorción del grupo carbonilo C=O característico del ácido cítrico (Smirnov et al., 2021; Shafie et al., 2019). Igualmente, el espectro FTIR de cloruro de colina-ácido cítrico, a una razón 1:3 como el usado en el presente trabajo, indica bandas a 1193 cm^{-1} ; esto podría indicar la incorporación de este solvente eutéctico a las películas (Shafie et al., 2019).

5.4.2 Temperatura de transición vítrea (Tg)

Las temperaturas de transición vítrea (Tg) y el coeficiente de expansión térmica CTE para las películas de quitosano-fibroína a diferentes contenidos de fibroína y en ausencia de glicerol son presentados en la Tabla 7.

Tabla 7. Temperaturas de transición vítrea y CTE térmica de las muestras

Muestra	Tg (°C)	CTE (35°C) $\frac{\mu\text{m}}{\text{m}^{\circ}\text{C}}$
QE	27	998
QE72F	28	2713
QE150F	28	2077
QE200F	43	1566

*E (solvente eutéctico), F (Fibroína de seda), Q(quitosano)

Se puede observar que todas las películas, excepto la QE200F, presentan una temperatura de transición vítrea por debajo de la temperatura del cuerpo humano (37 °C) lo que las hace posibles candidatas a aplicaciones biomédicas de apósitos para heridas en la que la memoria de forma pueda activar mecánicamente los apósitos para mejorar el proceso de cicatrización como ha sido discutido por (Blacklow, et al., 2019).

5.4.4 Análisis termogravimétrico (TGA)

En la figura 14 se tiene la curva DTGA para muestras sin glicerol donde podemos observar que existe una descomposición con cuatro etapas; la primera etapa con picos de temperatura entre 81 y 84 °C debido a la evaporación del agua. Una segunda etapa se tienen picos entre 200 y 202 °C, Smirnov et al. (2021) mencionan que a 200 °C existe una descomposición de ácido cítrico debido a una interacción con el quitosano. La tercera etapa entre 273 y 292 °C está relacionada a la degradación térmica del quitosano, Kweon et al., (2001) menciona que esta se debe a la descomposición de las cadenas poliméricas y de los anillos de azúcares del quitosano, además se puede observar que a mayor contenido de fibroína el pico de temperatura aumenta, por lo que está relacionada a la descomposición de la fibroína. La cuarta y última etapa comprendida entre 365 y 371 °C está relacionada a la degradación térmica del solvente eutéctico.

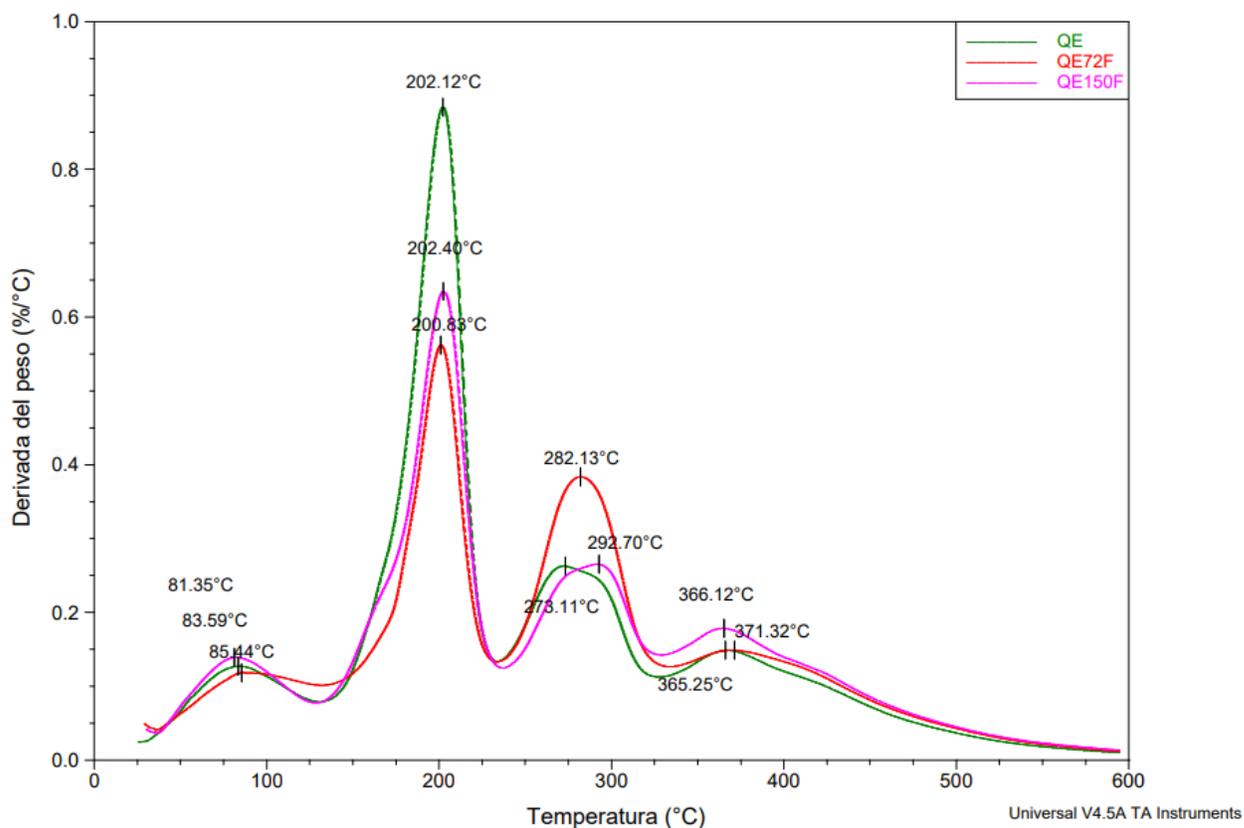


Figura 14 Curvas DTGA para películas quitosano-fibroína sin glicerol

En la figura 15 se tiene la curva DTGA para muestras con glicerol donde podemos observar que existe una descomposición térmica con cuatro etapas similar a las muestras sin glicerol. Alrededor de una temperatura entre 61 y 75 °C para la evaporación de agua. En la segunda etapa se observa un hombro previo a la temperatura comprendida entre 206 y 210 °C, debido posiblemente a la descomposición del glicerol. La tercera etapa alrededor de 296 °C relacionada con la descomposición de las cadenas poliméricas del quitosano. La etapa final entre 365 y 372 °C se relaciona con la degradación térmica del solvente eutéctico.

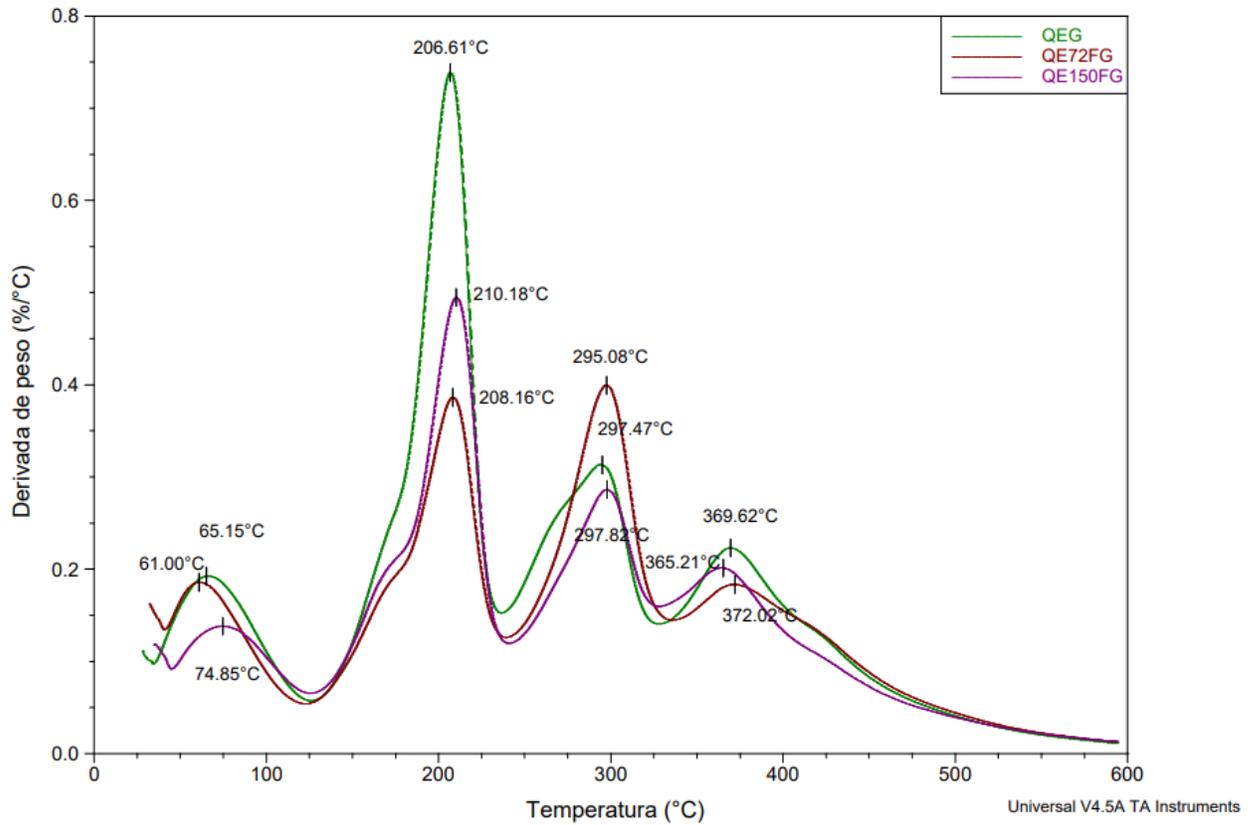


Figura 15. Curvas DTGA para películas de quitosano-fibroína con glicerol

En la tabla 8 se presenta una comparación de las etapas de descomposición de las cuatro etapas de descomposición detectadas en las curvas DTGA.

Tabla 8. Etapas de descomposición de las películas quitosano-fibroína

Muestra	Etapa 1 (°C)	Etapa 2 (°C)	Pérdida de masa Etapa 2	Etapa 3 (°C)	Etapa 4 (°C)	Residuos a 500 °C
QE	83	202	33%	273	365	17%
QEG	65	206	40%	297	369	9%
QE72F	85	200	25%	282	371	21%
QE72FG	61	208	29%	295	372	22%
QE150F	81	202	23%	292	366	25%
QE150FG	74	210	35%	297	365	20%

Se puede observar que la primera etapa relacionada con la evaporación del agua ocurre a temperaturas menores en las películas con glicerol, se reduce de 83 a 66 °C, probablemente a la presencia de este plastificante. Igualmente, la segunda etapa de descomposición se incrementa en las películas en las que se les agregó glicerol, de 201 a 208 °C, debido a la presencia de glicerol.

En la tercera etapa se puede ver un incremento en la temperatura, tanto para películas con glicerol y sin glicerol, al incrementar el contenido de fibroína, posiblemente a esta temperatura ocurre la descomposición del quitosano y la fibroína.

La cuarta etapa, que está relacionada con la descomposición final del solvente eutéctico, destaca que las películas QE72F y QE72FG presentan una temperatura de degradación menor que las demás películas posiblemente a la interacción entre el DES, el quitosano y la fibroína.

5.4.5 Propiedades mecánicas

En la figura 16 se presentan las curvas de deformación/esfuerzo de las películas quitosano-fibroína, así como la pendiente de la curva que representa el valor del módulo de Young. Podemos observar que las películas QE72F presenta un módulo de mayor a las gráficas presentados por las demás películas. Como se esperaba, el glicerol disminuyo el módulo de las películas, aunque las películas QE72FG presenta una gráfica muy similar a las películas con mayor contenido de fibroína Q150FG.

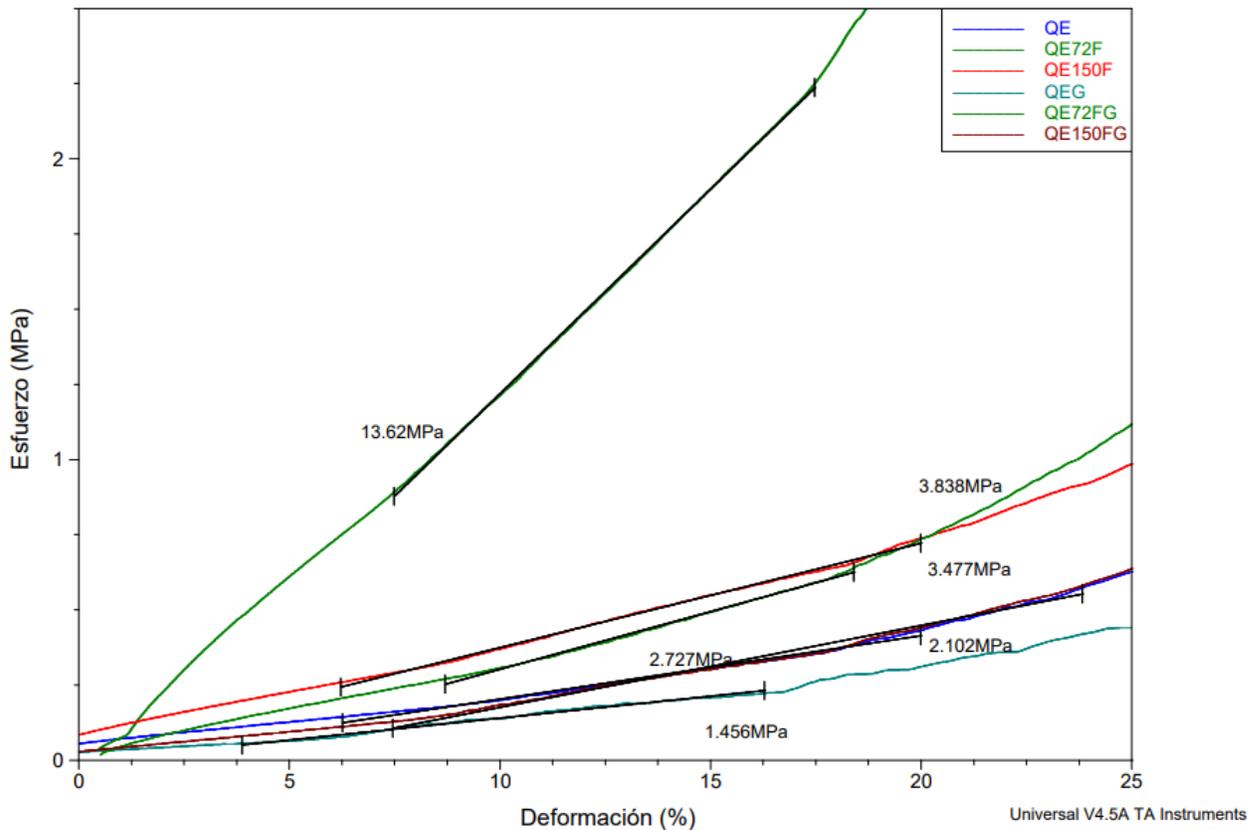


Figura 16. Módulo de Young de las películas quitosano-fibroína

Los valores de módulo de elasticidad para las películas sin glicerol se presentan en la tabla 9, para las repeticiones QE72F se obtuvo el mayor valor con que 12.2 MPa, seguidas

de las películas QE150F con 3.75 MPa, finalmente las repeticiones sin fibroína presentaron un valor mínimo con 2.05 MPa.

Tabla 9. Módulo de Young para películas quitosano-fibroína sin glicerol

<i>Muestra</i>	<i>Porcentaje de fibroína (%)</i>	<i>de</i>	<i>Relación quitosano-fibroína (%)</i>	<i>Módulo de Young (MPa)</i>
QE	0		100:0	2.05 ± 0.53
QE72F	0.72		97.5:2.5	12.2 ± 3.74
QE150F	1.5		95:5	3.75 ± 0.30

Los valores de módulo de Young para películas con glicerol se presentan en la tabla 10, las repeticiones de QE72FG obtuvieron un valor mayor de 3.63 MPa, seguidas de las películas QE150FG con un módulo de 2.61 MPa y para las películas QEG un valor de 2.22 MPa.

Tabla 10. Módulos de Young para las películas quitosano-fibroína con glicerol

<i>Muestra</i>	<i>Porcentaje de fibroína (%)</i>	<i>de</i>	<i>Relación quitosano-fibroína (%)</i>	<i>Módulo de Young (MPa)</i>
QEG	0		100:0	2.22 ± 1.81
QE72FG	0.72		97.5:2.5	3.63 ± 0.90
QE150FG	1.5		95:5	2.61 ± 0.18

Los valores de módulo de Young para este trabajo que varían de 0.29 a 15.34 MPa fueron similares a los valores de módulo para la piel que varían de 0.42-0.85 MPa y de músculo que varía de 1.45-20 MPa según lo reportado por Delaey, et al., (2020).

En el trabajo de Niamsa et al. (2009) se reportan módulos de Young para películas quitosano-fibroína de 3.66 MPa para mezclas al 2/2 p/p (50% de fibroína), y módulos de Young de 5.36 MPa para mezclas al 1:2 p/p (66% de fibroína), similares a los reportados en este trabajo. Posiblemente la diferencia radique en que los materiales de este trabajo se obtuvieron con proporciones de peso de fibroína debajo del 9:1 (10% de fibroína) lo que estaría mejorando la estructura cristalina de la fibroína al combinarse con el quitosano, según lo reportado por Chen et al., (1997), sin la necesidad de porcentajes mayores de fibroína, lo que estaría aumentando el módulo de Young de las películas.

Aunque se esperaba que el módulo de Young se incrementara con el contenido de fibroína según lo mencionado por (Grabska-Zielinska y Sionkowska, 2021; Niamsa et al., 2009), este aumento no ocurre linealmente. Esto podría ser explicado por la compatibilidad entre el contenido de la fibroína a 0.72 % p/p y el quitosano que se pueden observar en la superficie de las películas, para lo cual se realizó un análisis SEM.

5.4.6 Microscopia electrónica de barrido (SEM)

En la Figura 17 se presentan las 6 micrografías de todas las películas (QE, QEG, QE7F, QE72FG, QE150F, QE150FG) de quitosano-fibroína en las que se observa la morfología de la superficie, a un aumento de 1000x. Para el caso de las películas de este estudio se observa una superficie similar en todas las muestras, excepto para las muestras QE72F y QE72FG donde se puede observar zonas con estructuras asociadas con la fibroína, posiblemente estas rugosidades fibrosas de fibroína estén relacionadas con el aumento del módulo de Young de las películas QE72F y QE72FG.

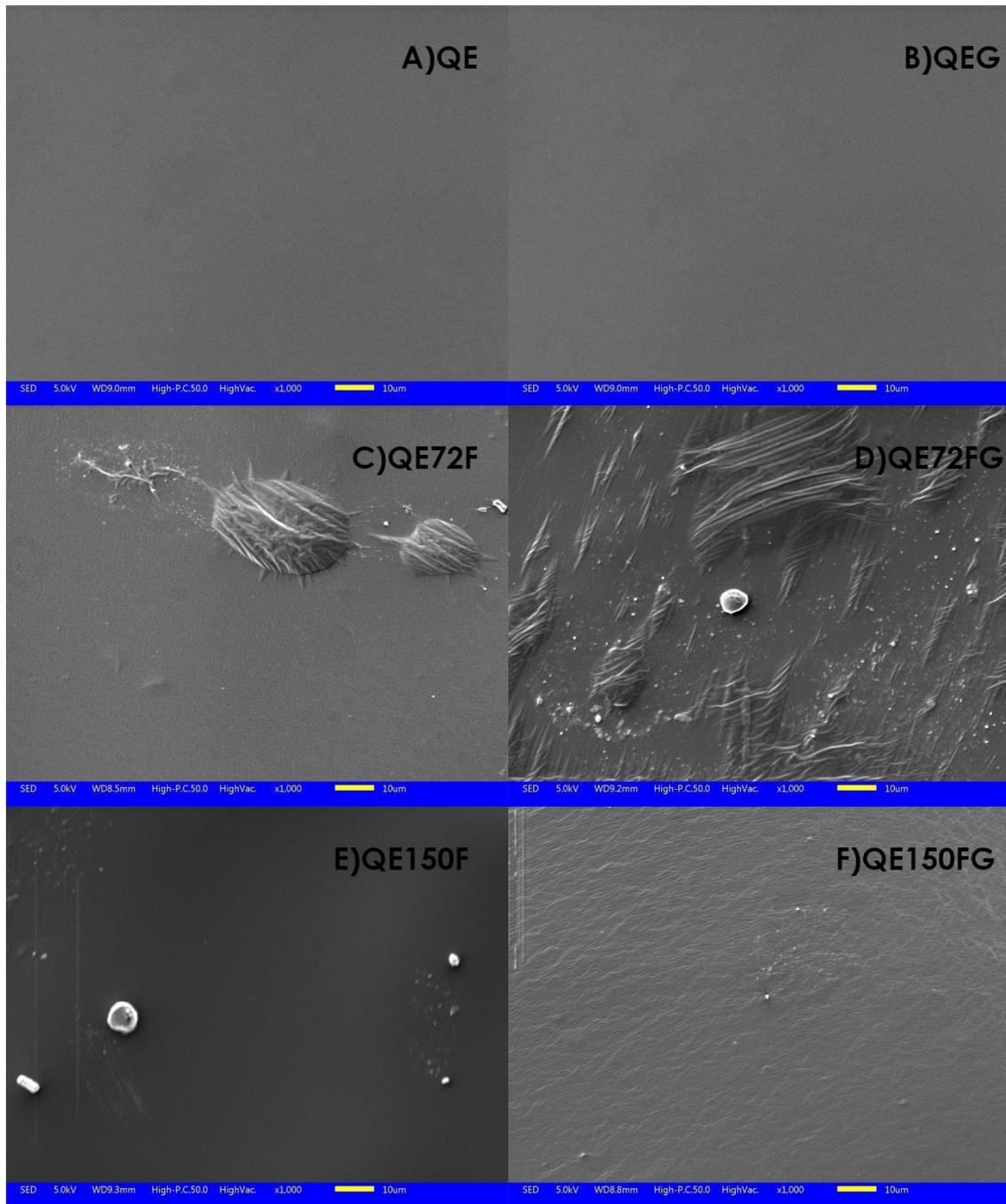


Figura 17. Micrográficas de las películas de quitosano-fibroína a 1000x

En la figura 18 se tienen las muestras QE72F y QE150F en la que podemos observar protuberancias, a un aumento de 180x, en las películas en las que se agregó fibroína. Cuando se obtienen películas de fibroína por el método de vaciado en placa se pueden

llegar a formar pequeños agregados dentro de la película formando pequeñas protuberancias en la superficie (Cheng et al., 2020). Estos agregados son fibras de fibroína, al ser cristalinas mejoran el módulo de Young de las películas, además se puede observar que la compatibilidad entre la fibroína y el quitosano es óptima debido a que las fibras se encuentran embebidas en la matriz de quitosano.

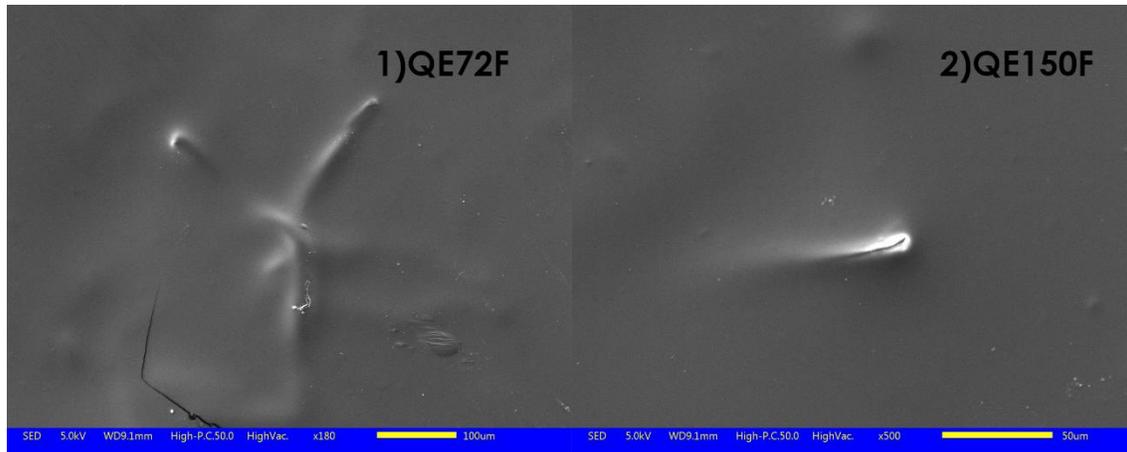


Figura 18. Muestras QE72F y QE150F con pequeñas protuberancias

5.5 Memoria de forma

5.5.1 Razón de recuperación (Rr)

Un análisis de varianza fue realizado para analizar los efectos del tratamiento A (porcentaje de fibroína), tratamiento B (glicerol) y la interacción entre ambos; para el parámetro de razón de recuperación (Rr) y se obtuvieron los siguientes resultados.

Tabla 11. ANOVA de la razón de recuperación (Rr) de películas CTS-SF

variación	SC	Grados de libertad	MC	F calculada	$\alpha = 0.5$	F tablas
A	37.83	2	18.92	0.29	menor	3.89
B	71.16	1	71.16	1.10	menor	4.75
interacción	166.65	2	83.32	1.29	menor	3.89
Error	778.12	12	64.84			
Total	1053.76					

Para la razón de recuperación no hay efectos significativos para ninguno de los factores.

En la tabla 12 se muestran los promedios generales de la razón de recuperación de las películas quitosano-fibroína.

Tabla 12. Promedio de Rr de películas de Q-F

Muestra	Rr (%)
QE	82 \pm 7.90
QEG	86 \pm 0.79
QE72F	78 \pm 3.67
QE72FG	82 \pm 7.92
QE150F	79 \pm 7.30
QE150FG	83 \pm 6.85

Las películas quitosano-fibroína presentan una razón de recuperación (Rr) de 78 a 86 % lo que se considera un comportamiento de memoria de forma, mayor al parcial de memoria de forma, según lo planteado por Tcharkhtchi et al. (2014) de entre 24 y 72% para la razón de recuperación. El autor explica que, aunque los valores de memoria de

forma pueden estar por debajo del 100 %, estos polímeros pueden ser mejorados o acondicionados para mejorar su memoria de forma. En el presente trabajo se piensa que el entrecruzamiento por enlaces por puentes de hidrógeno, mencionados por Smirnov et al. (2021) para películas de quitosano formadas con cloruro de colina-ácido cítrico, más el posible entrecruzamiento entre la fibroína y el quitosano que se observa en el FTIR según lo mencionado por Niamsa et al., (2009), nos son suficientes para alcanzar un porcentaje de recuperación mayor al 99 %.

La muestra QEG fue la que presentó un mejor desempeño de R_r al no agregarle fibroína con un promedio de R_r de 86 %, este incremento de la R_r de la memoria de forma podría atribuirse a la interacción y entrecruzamiento de enlaces de puentes de hidrógeno entre los grupos $-OH$ del glicerol y los grupos funcionales del quitosano como lo mencionan Cedillo-Portillo et al., 2020, para películas de quitosano con glicerol.

5.5.2 Razón de estabilidad (R_f)

Un análisis de varianza, Tabla 13, fue realizado para analizar los efectos del tratamiento A (porcentaje de fibroína), tratamiento B (glicerol) y la interacción entre ambos; para el parámetro de razón de estabilidad (R_f) y se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 13. ANOVA de la razón de estabilidad (Rf) de películas CTS-SF

variación	SC	grados de libertad	MC	F calculada	$\alpha = 0.5$	F tablas
A	346.91	2	173.45	5.83	mayor	3.89
B	46.33	1	46.33	1.56	menor	4.75
interacción	1.16	2	0.582	0.02	menor	3.89
Error	356.81	12	29.734			
Total	751.22					

En base a los análisis de varianza se puede concluir que la razón de estabilidad (Rf) es afectada significativamente por el % de fibroína.

Para el caso de la razón de estabilidad (Rf) se hizo un análisis de medias (Tabla 14) y se encontró que a un contenido de fibroína de 0.72 % (QE72F Y QE72FG) se obtienen valores máximos de Rf de 85 % y 82 % respectivamente.

Tabla 14. Promedio de Rf de películas de Q-F

Muestra	Rf (%)
QE	77 ± 3.48
QEG	71 ± 1.75
QE72F	85 ± 1.79
QE72FG	82 ± 4.07
QE150F	78 ± 7.02
QE150FG	78 ± 3.34

5.5.3 Pruebas de normalidad, aleatoriedad, igualdad de varianza e independencia

El análisis estadístico Anderson-Darling cumple con la normalidad para Rf y Rr (Figura 19), se cumple la aleatoriedad para Rf y Rr, cumplió con la prueba de Levenne para la igualdad de varianzas y la independencia del error no es dudosa.

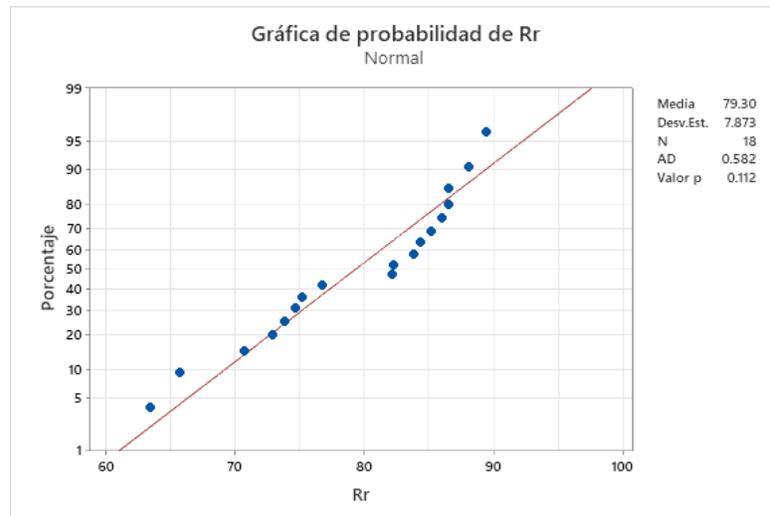


Figura 19. Grafica de probabilidad normal Rr

CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES

En este trabajo fue posible obtener películas quitosano-fibroína usando el mismo solvente, cloruro de colina-ácido cítrico, sin necesidad de procesos secundarios, como la diálisis, hasta un porcentaje de 2% de fibroína en p/p. Los capullos de seda en este estudio, con un diámetro menor a 1.5 cm, pueden ser considerados de segunda.

El análisis de varianza mostró que los factores de % de fibroína a tres niveles (0 %, 0.72 %, 1.5 %) no afectaron significativamente la razón de recuperación (Rr) de la memoria de forma para las películas de quitosano-fibroína con un nivel de significancia de 0.05.

Aunque el análisis de varianza mostró que el plastificante (glicerol) a dos niveles (con y sin) que no hay efectos significativos, un nivel de significancia de 0.05, se puede observar un aumento en Rr para las películas con glicerol con un promedio de 81.2 %, en comparación con las películas sin glicerol con un promedio de 77.3 %.

La razón de estabilidad (Rf) es afectada significativamente por el contenido de fibroína, siendo la muestra QE72F la que obtuvo el promedio máximo de 85 %.

Las películas formadas de mezclas de quitosano-fibroína mostraron valores de Rr de 75 % a 86 %, con un estímulo térmico de 75 °C. Su módulo de Young varió de 0.29 a 15.34 MPa y se encuentran entre el rango dado para tejido muscular de 1.45-20 MPa y piel de 0.42-0.85 MPa, por lo que tendrían compatibilidad mecánica en aplicaciones biomédicas. La película QEG presentó el mayor valor de Rr con un 86 %, aunque su módulo de Young fue de los más bajos 2.22 ± 1.81 MPa.

6.1 Perspectivas y recomendaciones

Las perspectivas de trabajos futuros podrían orientarse, por un lado, en mejorar la razón de recuperación y la razón de estabilidad de las películas, por otro lado, siguiendo la línea de la biomedicina sería comenzar por hacer pruebas de adhesión celular en las películas QE, QEG, QE72F y QE72FG; también buscar la manera de que las películas presenten el fenómeno de memoria de forma a una temperatura similar a la del cuerpo humano (37 °C) para el desarrollo de vendajes para heridas. Otra línea de investigación interesante sería hacer pruebas de conductividad eléctrica para proponer aplicaciones electrónicas para las películas obtenidas en esta investigación.

Dependiendo de las aplicaciones que se busquen para las películas obtenidas de este estudio se puede cambiar la concentración de quitosano, fibroína, solvente eutéctico y aditivo. Se recomendaría usar un agente que mejore el entrecruzamiento por enlaces covalentes de los componentes para alcanzar valores mayores al 90 % para la razón de recuperación.

Se podría obtener quitosano de fuentes naturales, como las pupas de *Bombix mori*, y hacer pruebas para la obtención de películas quitosano-fibroína para crear una cadena de producción basada en la crianza de gusano de seda para la obtención de nuevos materiales cuyo manejo y aprovechamiento sea sustentable.

Sería interesante hacer un estudio socioeconómico en los productores de gusano de seda del estado de Oaxaca para saber si están dispuestos a darle un aprovechamiento secundario a los capullos, que no este enfocado a las artesanías textiles, y tener nuevas perspectivas para el desarrollo de nuevos materiales.

BIBLIOGRAFÍA

- Abdallah-Elhirtsi S., Fitoussi J., Baralu-Jagannatha R., Prashantha K., Farzaneh S., Lacrampe M., Krawczak P., Tcharkhtchi A. (2015). Study of Partial Shape Memory Effect of Polymers by Multicycle Tests. *Polymer Composites*, Vol. 36 (6), pp. 1145 – 1151.
- Adila, S. N., Suyatma, N. E., Firlieyanti, A. S., Bujang, A. (2013). Antimicrobial and physical properties of chitosan film as affected by solvent types and glycerol as plasticizer. *Advanced Materials Research*, Vol. 748, pp.155-159.
- Adeodato Vieira M. G., Altenhofen da Silva M., Loliveira dos Santos L., Masumi Beppu M. (2011). Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. *European Polymer Journal*, Vol. 47 (3), pp. 254-263.
- Allardyce B., Rajkhowa R., Dilley R., Atlas M., Kaur J., Wang X. (2016). The impact of degumming conditions on the properties of silk films for biomedical applications. *Textile Research Journal*. Vol. 86(3), pp. 275-287.
- Alonso, Baeza, Chinchilla, Gómez, Guillena, Maset, Pastor, Ramon, Ñiguez, Saavedra. (2017). Deep Eutectic Solvents: The Organic Reaction Medium of the Century. *European Journal of Organic Chemistry* Vol. 4, pp. 612-632.
- Alonso, Baeza, Chinchilla, Gómez, Guillena, Maset, Pastor, Ramon, Ñiguez, Saavedra. (2018). Mezclas eutécticas como alternativa sostenible a los disolventes convencionales en Química Orgánica. *Anales de la Real Sociedad Española de Química*, Vol. 114 (2), pp. 79-87.
- Anderson, J., Jiang, S. (2017). Implications of the Acute and Chronic Inflammatory Response and the Foreign Body Reaction to the Immune Response of Implanted Biomaterials. In: Corradetti, B. (eds) *The Immune Response to Implanted Materials and Devices*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-45433-7_2
- Bakshia P., Selvakumara D., Kadirvelub K., Kumara N. (2019). Chitosan as an environment friendly biomaterial – a review on recent modifications and applications. *International Journal of Biological Macromolecules* Vol. 150, pp. 1072-1083,
- Barikani M., Oliaei E., Seddiqi H., Honarkar H. (2014). Preparation and application of chitin and its derivatives: A review. *Iranian Polymer Journal (English Edition)*. Vol. 23, pp. 307-326. [10.1007/s13726-014-0225-z](https://doi.org/10.1007/s13726-014-0225-z).
- Behl, M., Zotzmann, J., Lendlein, A. (2009). Shape-Memory Polymers and Shape-Changing Polymers. In: Lendlein, A. (eds) *Shape-Memory Polymers*. *Advances in Polymer Science*, vol 226. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/12_2009_26
- Bergmann, C.P., Stumpf, A. (2013). Biomaterials. In: *Dental Ceramics*. *Topics in Mining, Metallurgy and Materials Engineering*. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-38224-6_2

- Blacklow S., Li J., Freedman B., Zeidi M., Chen C., Mooney D. (2019). Bioinspired mechanically active adhesive dressings to accelerate wound closure. *Science Advances* Vol. 5(7) doi: 10.1126/sciadv.aaw3963.
- Caballero Méndez y Gaviria Arias. (2019). Desarrollo y caracterización de películas de fibroína de seda para reparación condral. *Rev. Colomb. Biotecnología*. Vol. 21(1), pp. 71-81 DOI: 10.15446
- Cai, Z.-X.; Mo, X.-M.; Zhang, K.-H.; Fan, L.-P.; Yin, A.-L.; He, C.-L.; Wang, H.-S. (2010). Fabrication of Chitosan/Silk Fibroin Composite Nanofibers for Wound-dressing Applications. *International Journal of Molecular Sciences*. Vol. 11, pp. 3529–3539.
- Cedillo-Portillo., Castañeda-Facio., Esparza-Gonzales., Sáenz-Galindo. (2020). Estudio del entrecruzamiento de películas a base de quitosano con glicerina y la integración de nanotubos de carbono de pared múltiple. *Afinidad: Revista de química teórica y aplicada*. Vol. 77 (590), pp. 151-157 ISSN 0001-9704.
- Chen X., Li W., Yu T. (1997). Conformation transition of silk fibroin induced by blending chitosan. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, Vol. 35 (14) pp. 2293-2296.
- Chen F., Porter D., Vollrath F. (2012). Structure and physical properties of silkworms cocoons. *Journal of the real society Interface*. Vol. 9 (74)
- Chen P., Xie F., McNally T. (2020). Understanding the effects of montmorillonite and sepiolite on the properties of solution-cast chitosan and chitosan/silk peptide composite films. *Polymer International*. Vol. 70 (5), pp. 1-9
- Cheng G., Wang X., Song C., Zhang X. 2020. Directly self-assembling method to easily prepare rough silk fibroin film. *Soft Materials* Vol. 20 (3), pp. 251-258
- Correia C., Caridade S., Mano J. (2014). Chitosan Membranes Exhibiting Shape Memory Capability by the Action of Controlled Hydration. *Polymers*. Vol. 6, pp. 1178-1186.
- Delaey J., Dubruel P., Van Vlierberghe S. (2020). Shape-Memory Polymers for Biomedical Applications. *Advanced Functional Materials*. Vol. 30 (44)
- Espinoza-Cavzos. Saenz-Galindo. Castañeda-Facio. (2020). Películas de quitosano propiedades y aplicaciones. *Revista de química teórica y aplicada*. Vol. 77 (591), pp. 203-208
- Fernández e Ingber. (2012). Unexpected Strength and Toughness in Chitosan-Fibroin Laminates Inspired by Insect Cuticle. *Advanced Materials* Vol. 24, pp. 480–484
- Fernandes M., Melo K., Sabry D., Sasaki G., Rocha H. (2014). Does the use of chitosan contribute to oxalate kidney stone formation? *Mar Drugs*. Vol. 13(1), pp. 141-158. doi: 10.3390/md13010141.
- F. Costa, R. Silva, A.R. Boccaccini. (2018). Fibrous protein-based biomaterials (silk, keratin, elastin, and resilin proteins) for tissue regeneration and repair. In: *Peptides and Proteins as Biomaterials for Tissue Regeneration and Repair*, Woodhead Publishing, pp. 175-204,
- FAO. (1990). Sericulture training manual. Agricultural Services Bulletin. Rome

- Ghaedi, Ayoub, Sufian, Shariff, Lal. (2017). The study on temperature dependence of viscosity and surface tension of several Phosphonium-based deep eutectic solvents, *Journal of Molecular Liquids*. Vol. 241, pp. 500-510 doi: 10.1016/j.molliq.2017.06.024
- Gaviria Arias y Caballero Méndez. (2015). Uso de biomateriales a partir de la fibroína de la seda de gusano de seda (*Bombyx mori* L.) para procesos de medicina regenerativa basada en ingeniería de tejidos. *Revista Médica de Risaralda* Vol. 21 (1), pp. 38-47
- Gobin, A.S.; Froude, V.E.; Mathur, A.B. (2005). Structural and mechanical characteristics of silk fibroin and chitosan blend scaffolds for tissue regeneration. *Journal Biomedical Materials Research* Vol. 74 (3), pp. 465–473
- Grabska-Zielińska, S. y Sionkowska, A. (2021). How to Improve Physico-Chemical Properties of Silk Fibroin Materials for Biomedical Applications? -Blending and Cross-Linking of Silk Fibroin-A Review. *Materials* (Basel, Switzerland). Vol. 14(6). <https://doi.org/10.3390/ma14061510>
- Herrera C. N. (2017). *Bombyx mori* el gusano productor de seda. *Ciencia y Luz*. Universidad Veracruzana.
- Honkala, M. (2006). Introduction to shape memory materials. Editor(s): H.R. Mattila, In: *Woodhead Publishing Series in Textiles, Intelligent Textiles and Clothing*, Woodhead Publishing, pp. 85-103.
- Huang W., Zhao Y., Wang C. (2012). Thermo/chemo-responsive shape memory effect in polymers: a sketch of working mechanisms, fundamentals and optimization. *Journal Polymer Research* Vol. 19. <https://doi.org/10.1007/s10965-012-9952-z>
- Hu J., Mondal S. (2006). Temperature sensitive shape memory polymers for smart textile applications. Editor(s): H.R. Mattila. In: *Woodhead Publishing Series in Textiles, Intelligent Textiles and Clothing*, Woodhead Publishing, pp. 104-123,
- Hu J. (2007). Characterization of shape memory properties in polymers. *Shape Memory Polymers and Textiles*. pp. 197–217. doi:10.1533/9781845693060.197
- Hudecki A., Kiryczyński G., Łos M. 2019. Biomaterials, Definition, Overview. Editor(s): Łos M., Hudecki A., Wiecheć E., Academic Press. In: *Stem Cells and Biomaterials for Regenerative Medicine*, pp. 85-98
- Huang Y., Bailey K., Wang S. Feng X. (2017). Silk fibroin films for potential applications in controlled release. *Reactive and Functional Polymers*, Vol. 116, pp. 57-68.
- Huang, Ding, Wang, Wei, Zhao., Purnawali. (2010). Shape memory materials. *Materials Today*. Vol.13
- Huang, Bailey, Wang., Feng. (2017). Silk fibroin films for potential applications in controlled release. *Reactive and Functional Polymers* Vol. 116, pp. 57–68
- Kallel A., Lamraoui M., Fitoussi J. y Tcharkhtchi A. (2016). The Residual Stress Effect on the Shape Memory Polymers. *Materials Research Proceedings* Vol. 2, pp. 151-156
- Kim, Jang, Choi, Yang, Kim., Choi. (2021). Analysis of Shape Memory Behavior and Mechanical Properties of Shape Memory Polymer Composites Using Thermal Conductive Fillers. *Micromachines*, Vol. 12. <https://doi.org/10.3390/mi12091107>

- Kweon H., Um I., Park Y. (2001). Structural and thermal characteristics of Antheraea pernyi silk fibroin/chitosan blend film, *Polymer*, Vol. 42 (15), pp. 6651-6656,
- Lawrence, Pan, Weber, Kaplan., Rosenblat. (2012). Silk Film Culture System for in vitro Analysis and Biomaterial Design. *Journal of Visualized Experiments*. Vol. 24 (62).
- Leal-Egana., Scheibel. (2010). Silk-based materials for biomedical applications. *Biotechnol. Appl. Biochem.* Vol. 55, pp. 155–167 doi:10.1042/BA20090229
- Lendlein., Kelch. (2002). Shape-Memory Polymers. *Materials Today*. Vol. 10, pp. 20–28.
- Lendlein A., Langer R. (2002). Biodegradable, Elastic Shape-Memory Polymers for Potential Biomedical Applications. *Science*. Vol. 296, pp. 1673–1676. <https://doi.org/10.1126/science.1066102>
- Li D., He J., He F., Liu Y., Liu Y., Ye Y., Deng X., Yin D. (2018). Silk fibroin/chitosan thin film promotes osteogenic and adipogenic differentiation of rat bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Journal of Biomaterials Applications*. Vol. 32(9), pp. 1164-1173.
- Liu., Qin., Mather. (2007). Review of progress in shape-memory polymers. *Journal of Materials Chemistry*. Vol. 17, pp. 1543–1558
- Liu Y., Gall K., Dunn M., Greenberg A., Diani J. (2006) Thermomechanics of shape memory polymers: Uniaxial experiments and constitutive modeling, *International Journal of Plasticity*, Vol. 22 (2), pp. 279-313,
- Ling., Qin., Li., Huan., Kaplan., Buehler. (2017). Polymorphic regenerated silk fibers assembled through bioinspired spinning. *Nature Communications*. Vol. 8 (1).
- Luangbudnark W., Viyoch J., Laupattarakasem W., Surakunprapha P., Laupattarakasem P. (2012). Properties and Biocompatibility of Chitosan and Silk Fibroin Blend Films for Application in Skin Tissue Engineering. *The Scientific World Journal*. <https://doi.org/10.1100/2012/697201>
- Luong., Dang., Ngoc., Dinh-Thuy., Nguyen., Toi., Duong., Son. (2014). Investigation of the Silk Fiber Extraction Process from the Vietnam Natural Bombyx Mori Silkworm Cocoon. 5th International Conference on Biomedical Engineering in Vietnam. *IFMBE Proceedings*. Vol 46. https://doi.org/10.1007/978-3-319-11776-8_79
- Luzuriaga, Z. R. J. (2008). Evaluación del efecto de cuatro cantidades de hoja de morera (*Morus indica* Variedad Kanva 2), y tres áreas de alojamiento sobre la producción de capullo de gusano de seda (*Bombyx Mori* Variedad Pilamo 1), durante la época lluviosa en Santo Domingo de los Colorados. Tesis de grado Facultad de Ingeniería de Ciencias Agropecuarias. ESPE-IASA II. Sede Santo Domingo, Ecuador 163 pp.
- Lyu H., Sun Z., Liu Y., Yu X., Guo C. (2022). Processing-Structure-Properties Relationships of Glycerol-Plasticized Silk Films. *Molecules* (Basel, Switzerland). Vol. 27 (4). <https://doi.org/10.3390/molecules27041339>
- Martínez R. A. (2011). La vida del gusano de Seda. Asociación Ecologista Guardabosques de Jódar. España.

- Meng Z., Zheng X., Tang K., Liu J., Qin S. (2012). Dissolution of natural polymers in ionic liquids: A review. *e-Polymers*. Vol. 12
- Nakamatsu, J. (2012). La quitosana. *Revista De Química, PUCP*. Volumen 26(1-2), pp.10-12.
- Niamsa N., Srisuwan Y., Baimark Y., Phinyocheep P., Kittipoom S. (2009). Preparation of nanocomposite chitosan/silk fibroin blend films containing nanopore structures. *Carbohydrate Polymers*. Vol. 78, pp. 60–65
- Oliver K., Seddon A., Trask, R. (2016). Morphing in nature and beyond: a review of natural and synthetic shape-changing materials and mechanisms. *Journal Material Science*. Vol. 51. 10663–10689. <https://doi.org/10.1007/s10853-016-0295-8>
- Osorio-Delgado, Henao-Tamayo, Velásquez-Cock, Cañas-Gutierrez, Restrepo-Múnera, Gañán-Rojo, Zuluaga-Gallego, Ortiz-Trujillo., Castro-Herazo. (2017). Aplicaciones biomédicas de biomateriales poliméricos. *DYNA* Vol. 84(201), pp. 241-252
- Park S., Lee K., Ha W., Park S. (1999). Structural Changes and Their Effect on Mechanical Properties of Silk Fibroin/Chitosan Blends. *Journal of Applied Polymer Science*. Vol. 74, pp. 2571–2575
- Park S., Marsh K., Rhim J. (2002). Characteristics of different molecular weight chitosan films affected by the type of organic solvents. *Journal of Food Science*, Vol. 67 (1), pp. 194-197.
- Pena-Pereira F., Calle I., (2019). Solvents and Eutectic Solvents. Editor(s): Paul Worsfold, Colin Poole, Alan Townshend, Manuel Miró. In: *Encyclopedia of Analytical Science (Third Edition)*. Pp. 184-190,
- Pescio F., Zunini H. Basso C. P., Sesar M. D., Frank R. G., Pelicano A. E., Vieites C. M. (2006). *Sericicultura, manual para la producción*. INTI. UBA Facultad de Agronomía. Argentina
- Peponi., Navarro-Baena., Kenny. (2014). Shape memory polymers: properties, synthesis and applications. Editor(s): María Rosa Aguilar, Julio San Román, In: *Smart Polymers and their Applications*, Woodhead Publishing. pp. 204-236
- Phillips D., Drummy L., Conrady D., Fox D., Naik R., Stone M., Trulove P., De Long H., Mantz R. (2004). Dissolution and Regeneration of Bombyx mori Silk Fibroin Using Ionic Liquids. *Journal American Chemical Society*. Vol. 126, pp. 14350-14351
- Porter D., Vollrath F. (2009). Silk as a biomimetic ideal for Structural Polymers. *Advance Materials*. Vol. 21(4), pp. 487-492
- Quiñonez, P. (2019). Tailoring Physical Properties of Shape Memory Polymers For FDM-Type Additive Manufacturing. Master's Thesis, University of Texas at El Paso, El Paso, TX, USA.
- Radosevic K., Bubalo M., Srcek, V., Grgas D., Dragicevic T., Redovnikovic I. (2015). Evaluation of toxicity and biodegradability of choline chloride based deep eutectic solvents. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Vol. 112, pp. 46–53. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.09.034>.
- Rieder R., Mehrle A., Kallel A., Tcharkhtchi A. (2020). Modeling of the thermomechanical behavior of shape memory polymers. *AIP Conference Proceedings*.

- Rivero, S., Damonte, L., García, M.A. (2016). An Insight into the Role of Glycerol in Chitosan Films. *Food Biophysics* Vol. 11, pp. 117–127
- Rockwood., Preda., Yücel., Wang., Lovett., Kaplan. (2013). Materials Fabrication from *Bombyx mori* Silk Fibroin. *Natural Protocol*. Vol. 6, pp. 1612–1631. <https://doi.org/10.1038/nprot.2011.379>
- Rodríguez Ortega., Vargas Monter., Ventura Maza., Martínez Menchaca., Rodríguez Martínez., Ehsan., Lara Viveros. 2012. Manual de sericultura en Hidalgo. UPFIM. CONACYT. FOMIX. COCYTEH. Hidalgo.
- Rodríguez Ortega., Vargas Monter., Ventura Maza., Martínez Menchaca., Rodríguez Martínez., Ehsan., Lara Viveros. (2012). Tópicos selectos de sericultura. UPFIM. CONACYT. FOMIX. COCYTEH. Hidalgo.
- Rodríguez Ortega., Vargas Monter., Ventura Maza., Martínez Menchaca., Rodríguez Martínez., Ehsan., Lara Viveros. (2013). Evaluación de variedades de morera en la alimentación del gusano de seda (*Bombyx mori*) en Hidalgo, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* Vol. 4 (5) pp. 701-712
- Rottiers, W., Van den Broeck, L., Peeters, C., & Arras, P. (2011). Shape memory materials and their applications. Samara State Aerospace University.
- Sah., Pramanik. (2010). Regenerated Silk Fibroin from *B. mori* Silk Cocoon for Tissue Engineering Applications. *International Journal of Environmental Science and Development*. Vol.1, (5)
- Sandstrom., Miyazaki. (1998). Shape-memory materials and hybrid composites for smart systems. *Journal of materials science* Vol. 33, pp. 3743 - 3762
- Santos F., Yoshioka S., Branciforti M. (2021). Large-area thin films of silk fibroin prepared by two methods with formic acid as solvent and glycerol as plasticizer. *Journal of Applied Polymer Science*. Vol. 138. doi: 10.1002/app.50759.
- S.E. Stein, NIST chemistry WebBook, NIST standard reference database number 69, national Institute of standards and technology, En línea: <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=77-92-9>. (Consultado el 1 de Junio 2022)
- Sessini V., Raquez JM., Lo Re G., Mincheva R., Kenny JM., Dubois P., Peponi L. (2016). Multiresponsive Shape Memory Blends and Nanocomposites Based on Starch. *ACS Appl Mater Interfaces*. Vol. 8(30), pp. 19197-201. doi: 10.1021/acsami.6b06618.
- Shafie., Yusof., y Gan. (2019). Synthesis of citric acid monohydrate-choline chloride based deep eutectic solvents (DES) and characterization of their physicochemical properties. *Journal of Molecular Liquids* Vol. 288.
- Sionkowska A. (2011). Current research on the blends of natural and synthetic polymers as new biomaterials: Review. *Progress in Polymer Science* Vol. 36, pp. 1254-1276
- Sionkowska A., Płanecka A., (2013). Preparation and characterization of silk fibroin/chitosan composite sponges for tissue engineering. *Journal of Molecular Liquids*, Vol. 178, pp 5-14.

- Silva, S.S.; Santos, T.C.; Cerqueira, M.T.; Marques, A.P.; Reys, L.L.; Silva, T.H.; Caridade, S.G.; Manoab, J.F.; Reis, R.L. (2012). The use of ionic liquids in the processing of chitosan/silk hydrogels for biomedical applications. *Green Chemistry*. Vol. 14, pp. 1463–1470.
- Sun, Luo, Dong, Fu. (2017). Shape memory and mechanical properties of silk fibroin/poly(ϵ -caprolactone) composites. *Materials Letters* Vol. 193, pp. 26–29
- Shivananda, Lakshmesha, Sangappa. (2019). Structural, thermal and electrical properties of silk fibroin–silver nanoparticles composite films. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*. Vol. 31, pp. 41-51
- Sparkes, Holland. (2018). The rheological properties of native sericin. *Acta Biomaterialia*, Vol. 69, pp. 234-242
- Strassburg, Zainuddin, Scheibel. (2021). The Power of Silk Technology for Energy Applications. *Advanced Energy Materials*. Vol. 11 (43).
- Thomas D., Cabibihan J., Kumar S., Khadheer S., Mandal D., Laad M., Yadav B., Patil S., Ghule A., Mazumdar P., Rattan S., Kumar K. (2017). *Biodegradable Nanocomposites for Energy Harvesting, Self-healing, and Shape Memory*. Springer Series on Polymer and Composite Materials.
- Tcharkhtchi A., Abdallah-Elhirsy S., Ebrahimi K., Fitoussi J., Shirinbayan M. (2014). Some New Concepts of Shape Memory Effect of Polymers. *Polymers*, MDPI, Vol. 6 (4), pp.1144-1163.
- Tuwalska A., Grabska-Zielinska S., Sionkowska A. (2022). Chitosan/Silk Fibroin Materials for Biomedical Applications - A Review. *Polymers* Vol. 14, <https://doi.org/10.3390/polym14071343>
- Tulachan B., Kumar M., Kumar R., Mallick C., Sanjeev K., Kumar T., Kumar S., Kalpana B., Bhattacharya , Kumar, Kishore S., Sinha, Kumar S., Das. (2014). Electricity from the Silk Cocoon Membrane. *SCIENTIFIC REPORTS* Vol. 4 .
- Van der Broek, Knoop, Kappen, Boeiru. (2015). Chitosan films and blends for packaging material. *Carbohydrate Polymers* Vol. 116, pp. 237–242
- Velasco-Rodríguez. Cornejo-Mazón. Flores-Flores. Gutiérrez-López. Hernández-Sánchez. (2012). Reparación y propiedades de nanopartículas de quitosano conteniendo ácido alfa lipoico. *Revista de ingeniería Química*. Vol. 11 (1), pp. 155-161
- Vepari C., Kaplan D. (2007). Silk as a Biomaterial. *Progress in Polymer Science*, Vol. 32 (8–9), pp. 991-1007
- Wang C., Huang W., Ding Z., Zhao Y., Purnawali H. (2012). Cooling-/water-responsive shape memory hybrids. *Composites Science y Technology* Vol. 72, pp. 1178–1182.
- Wang, Zhang, Wei. (2020). Dissolution and processing of silk fibroin for materials science. *critical reviews in biotechnology*, vol. 41 (3), pp. 406–424 <https://doi.org/10.1080/07388551.2020.1853030>

- Wagermaier, W., Kratz, K., Heuchel, M., Lendlein, A. (2009). Characterization Methods for Shape-Memory Polymers. Lendlein, A. (eds) In: Shape-Memory Polymers. Advances in Polymer Science, vol 226.
- Wuang, Huan. (2020). New protein-based smart materials. Editor(s): Gang Wei, Sangamesh G. Kumbar. In: Woodhead Publishing Series in Biomaterials, Artificial Protein and Peptide Nanofibers, Woodhead Publishing, pp. 415-436
- Xin, Liu, Liu, Leng. (2019). Mechanical Models, Structures, and Applications of Shape-Memory Polymers and Their Composites. *Acta Mechanica Solida Sinica*, Vol. 32 (5), pp. 535-565
- Xie, Li, Liang, Yu, Li. (2019). Fabrication of robust silk fibroin film by controlling the content of β -sheet via the synergism of uv-light and ionic liquids. *Applied Surface Science* Vol. 492 pp. 55-65
- Zhao D., Yu S., Sun B., Gao S., Guo S., Zhao K. (2018). Biomedical Applications of Chitosan and Its Derivative Nanoparticles. *Polymers (Basel)*. Vol. 10(4). doi: 10.3390/polym10040462.
- Zhang F., You X., Dou H., Liu Z., Zuo B., Zhang X. (2015). Facile Fabrication of Robust Silk Nanofibril Films via Direct Dissolution of Silk in CaCl₂-Formic Acid Solution. *ACS Applied Materials y Interfaces*. Vol. 7(5), pp. 3352-3361. <https://doi.org/10.1021/am508319h>
- Zhang D., Yang S., Zhang K., Zhou G., Jiang Z., Gu J. (2018). Shape memory effect of chitosan/glycerol composite film in mixed water/ethanol solution. *Journal of Applied Polymer Science*. Vol. 136 (6).

ANEXOS



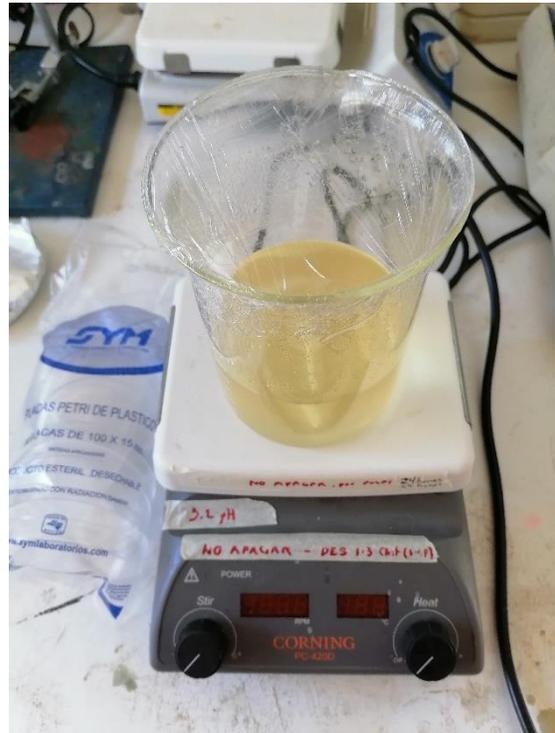
Anexo 1. Proceso de desgomado



Anexo 2. Lavado posterior al desgomado



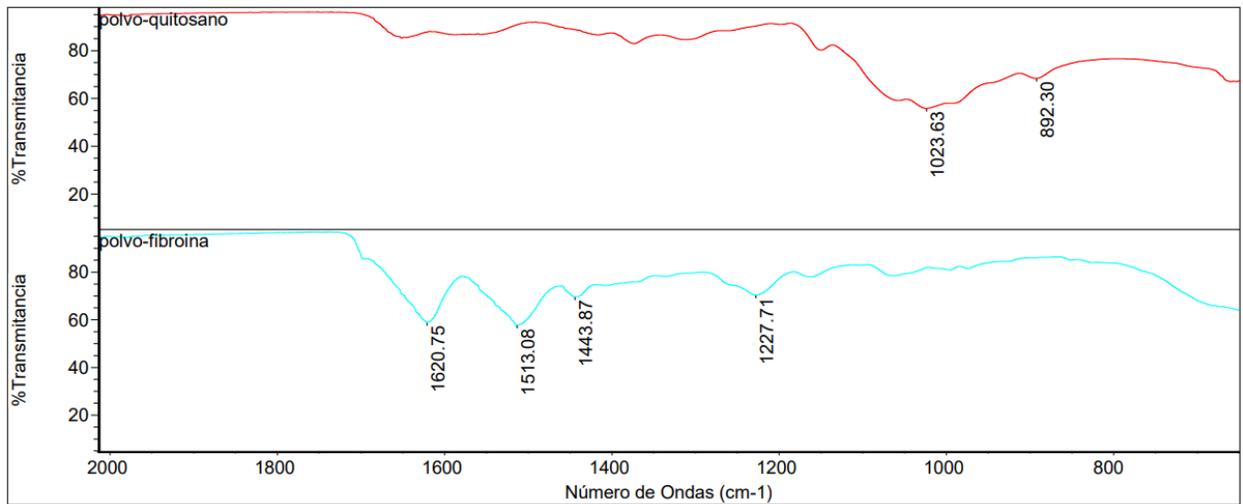
Anexo 3. Solubilización de fibroína en DES filmogénica



Anexo 4. Preparación de la solución



Anexo 5. Preparación de las películas por vaciado en placa



Anexo 6. Espectro FTIR para el polvo de fibroína y para el polvo de quitosano