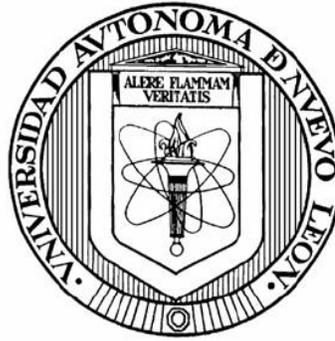


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE MEMBRANAS ELECTROHILADAS A  
BASE DE MUCÍLAGO Y ACEITE DE *Salvia hispanica* L./ACETATO DE  
CELULOSA, CONTRA MICROORGANISMOS DE IMPORTANCIA MÉDICA

POR

KARLA KATIUSHKA SOLÍS ARÉVALO

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN MICROBIOLOGÍA

D i c i e m b r e , 2 0 2 0

**Actividad antimicrobiana de membranas electrohiladas a base de mucílago y aceite de *Salvia hispanica* L./Acetato de celulosa, contra microorganismos de importancia médica**

**Comité de Tesis**



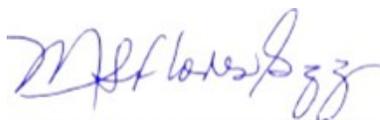
---

Dr. Hamlet Avilés Arnaut  
Presidente



---

Dr. Luis Jesús Galán Wong  
Secretario



---

Dra. María del Socorro Flores González  
Vocal 1



---

Dr. José Santos García Alvarado  
Vocal 2



---

Dra. Luisa Yolanda Solís Soto  
Vocal 3

**ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE MEMBRANAS ELECTROHILADAS  
A BASE DE MUCÍLAGO Y ACEITE DE *Salvia hispanica* L./ACETATO  
DE CELULOSA, CONTRA MICROORGANISMOS  
DE IMPORTANCIA MÉDICA**

**Dirección de Tesis**

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'H. Arnaut', is positioned above a horizontal line.

---

**DIRECTOR**  
Dr. Hamlet Avilés Arnaut

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Dr. Hamlet Avilés Arnaut, por sus enseñanzas, su tiempo y dedicación a este proyecto.

A la Dra. Katiushka Arévalo Niño, por sus consejos, enseñanzas, guía, dedicación y tiempo a este proyecto.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, por la formación que me ha brindado en este posgrado y la posibilidad de realizar este proyecto.

Al Instituto de Biotecnología, por las facilidades brindadas para realizar este proyecto.

A los miembros del L1 por su apoyo y consejos para este proyecto.

## DEDICATORIA

A mi madre, Katiushka Arévalo Niño, quien me ha hecho la persona que soy hoy, quien siempre ha sido mi ejemplo a seguir y mi orgullo más grande. Porque eres mi mejor amiga, mi mentora y mi pilar, siempre lo has dado todo por mi felicidad y siempre estás dispuesta a ayudar. Por todos los momentos que he pasado a tu lado y porque la vida no sería lo mismo sin ti. Por todo, infinitas gracias mamá, te amo.

A mi padre, Carlos Solís Rojas, por siempre sacarme una sonrisa. Porque para ti no hay nada inalcanzable y me has enseñado que no hay cosas imposibles. Porque me has enseñado muchas lecciones valiosas (y que las arañas no pican, sino muerden). Gracias papá, te amo.

A mi familia por siempre estar ahí para mí, por sus enseñanzas de vida y los momentos que hemos compartido.

A todos mis compañeros y ex compañeros del L1, Eugenia, Héctor, Isabel, Ernesto, Mauro, Renato, Raúl, Vero, Melissa, Jacobo, Jorge y demás, por siempre contagiar el lugar de trabajo con sonrisas, por sus enseñanzas y porque de ustedes me llevo una amistad y una segunda familia.

A mis compañeras de la maestría, Dannie Apresa y Maribel Domínguez porque juntas compartimos momentos de alegría y de tristeza, de fiesta y de estrés. Porque estos 2 años con ustedes no los olvidaré nunca y siempre tendrán un lugar en mi corazón, esperando verlas en el doctorado y en nuestra futura vida profesional.

A todos mis maestros de la Facultad de Ciencias Biológicas, por sus enseñanzas.

# ÍNDICE

<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	<b>I</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>II</b>
<b>LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS</b> .....	<b>III</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>IV</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>V</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>II. ANTECEDENTES</b> .....	<b>3</b>
<b>2.1 Biopolímeros</b> .....	<b>3</b>
2.1.1 Biopolímeros vegetales.....	3
2.1.2 Acetato de celulosa.....	3
<b>2.2 <i>S. hispanica</i></b> .....	<b>4</b>
2.2.1 Mucílago de <i>S. hispanica</i> .....	4
<b>2.3 Infecciones asociadas a la atención de la salud en México</b> .....	<b>5</b>
2.3.1 Microorganismos que afectan piel.....	5
<b>2.4 Biomateriales en biomedicina</b> .....	<b>6</b>
2.4.1 Electrohilado .....	8
<b>2.5 Ensayos biológicos</b> .....	<b>9</b>
2.5.1 Actividad antimicrobiana.....	9
<b>III. JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>10</b>
<b>IV. HIPÓTESIS</b> .....	<b>11</b>
<b>V. OBJETIVOS</b> .....	<b>11</b>
5.1 Objetivo general.....	11
5.2 Objetivos específicos .....	11
<b>VI. MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	<b>11</b>
6.1 Extracción de mucílago de <i>S. hispanica</i> L. ....	11
6.2 Determinación de concentración mínima inhibitoria.....	12
6.3 Elaboración de membranas por electrohilado .....	12
6.3.1 Preparación de las soluciones poliméricas .....	12
6.3.2 Características de las soluciones poliméricas .....	13
6.3.3 Electrohilado .....	13
6.4 Determinación de actividad antimicrobiana contra <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> y <i>C. albicans</i> .....	13

6.5 Análisis estadístico .....	14
<b>VII. RESULTADOS.....</b>	<b>14</b>
7.1 Extracción de mucílago de <i>S. hispanica</i> L. ....	14
7.2 Pruebas preeliminares de electrohilado .....	14
7.3 Determinación de concentración mínima inhibitoria .....	16
7.4 Proceso de electrohilado .....	16
7.5 Actividad antimicrobiana contra <i>S. aureus</i> , <i>C. albicans</i> y <i>P. aeruginosa</i> .....	20
<b>VIII. DISCUSIÓN .....</b>	<b>21</b>
8.1 Extracción de mucílago de <i>S. hispanica</i> L. ....	21
8.2 Pruebas preeliminares de electrohilado .....	22
8.3 Determinación de concentración mínima inhibitoria .....	22
8.4 Proceso de electrohilado .....	23
8.5 Actividad antimicrobiana contra <i>S. aureus</i> , <i>C. albicans</i> y <i>P. aeruginosa</i> .....	24
<b>IX. CONCLUSIONES .....</b>	<b>25</b>
<b>X. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>26</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1. Valores de concentración mínima inhibitoria de ASH contra microorganismos.....</b>	<b>16</b>
<b>Tabla 2. Condiciones probadas de electrohilado para solución AC y características de fibras colectadas a 25° C.....</b>	<b>17</b>
<b>Tabla 3. Condiciones probadas de electrohilado para solución AC y características de fibras colectadas a 3 voltajes seleccionados a 25° C.....</b>	<b>18</b>
<b>Tabla 4. Condiciones probadas de electrohilado para solución ASH y características de fibras colectadas a 3 voltajes seleccionados a 28° C.....</b>	<b>19</b>
<b>Tabla 5. Halos de inhibición en mm.....</b>	<b>20</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1. Mucilago extraído de semillas de <i>S. hispanica</i> (a) previo y (b) posterior al secado.....</b>	<b>14</b>
<b>Figura 2. Membrana obtenida de solución 0.5%:8% MSH:PVA.....</b>	<b>15</b>
<b>Figura 3. Recolección de fibras en portaobjetos (izquierda) fibras obtenidas de solución 0.5%:8% MSH:PVA observadas en microscopía óptica (derecha).....</b>	<b>15</b>
<b>Figura 4. Formación de cono de Taylor (izquierda) y recolección de membrana en colector de aluminio de solución AC (derecha).....</b>	<b>17</b>
<b>Figura 5. Morfología de fibras obtenidas con la solución ASH a 13 kV, 15 cm, 1.0 mLh<sup>-1</sup> y 28° C observadas por microscopía óptica bajo objetivo 100X.....</b>	<b>19</b>
<b>Figura 6. Halos de inhibición de membrana de AC (MAC) en a) <i>Staphylococcus aureus</i>, b) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y c) <i>Candida albicans</i>.....</b>	<b>21</b>

## LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

IAAS	Infecciones asociadas a la atención a la salud
CMI	Concentración Mínima Inhibitoria
AC	Acetato de celulosa
MSH	Mucílago de <i>Salvia hispanica</i> L.
ASH	Aceite de <i>Salvia hispanica</i> L.
PVA	Alcohol polivinílico
CN	Caldo nutritivo
YPD	Medio Extracto de levadura-Peptona-Dextrosa
min	Minuto
h	Hora
kV	Kilovolt
cm	Centímetro mm Milímetro
mL	Mililitro
μL	Microlitro
°C	Grados Celsius
g	Gramos
mg	Miligramos

## RESUMEN

Debido al inadecuado uso de antimicrobianos, los patógenos en general y principalmente nosocomiales se han convertido en un reto el cual se convierte en un problema especializado de prevención y control de enfermedades infecciosas entre los pacientes con lesiones graves particularmente de piel, ya que el ambiente en las unidades hospitalarias puede contaminarse con organismos resistentes. Los productos avanzados y activos para el cuidado de estas lesiones como los apósitos antimicrobianos están siendo ampliamente usados después de las cirugías para prevenir infecciones (IAAS). Los biomateriales son sustancias no farmacológicas adecuadas para su inclusión en sistemas que aumentan o reemplazan la función de los tejidos u órganos corporales. El uso de biopolímeros es aceptado en el área médica por sus características de biodegradabilidad y biocompatibilidad y pueden obtenerse de diversas fuentes naturales de origen vegetal, animal, marino y microbiano. La diversidad botánica de México permite buscar fuentes de biopolímeros de origen vegetal como la *Salvia hispanica* L., rica en mucilago y aceites, los cuales han demostrado propiedades biológicas en el área de alimentos y cosmética. La creciente conciencia sobre el manejo del cuidado de heridas y el incremento de la población permite estimar que el mercado mundial de apósitos para heridas alcance 8,46 mil millones USD para 2021. Por lo anterior el objetivo del presente estudio fue evaluar la actividad antimicrobiana de membranas elaboradas con mucilago y aceite de semilla de *Salvia hispanica* L. y acetato de celulosa por electrohilado, contra *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y *Pseudomonas aeruginosa*, para lo cual se llevó a cabo recuperación de mucilago de *Salvia hispanica* por extracción con calor, así mismo se determinó la CMI del aceite de la semilla contra los microorganismos mencionados. Posteriormente, se llevó a cabo la elaboración de membranas por el método de electrohilado con acetato de celulosa y el mucilago recuperado incorporando el aceite como potencial agente antimicrobiano. Así mismo, se determinó la actividad antimicrobiana de las membranas contra *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y *Pseudomonas aeruginosa*. Este proyecto permitió la obtención de una membrana a base de materias primas de origen etnobotánico y procesos innovadores como el electrohilado con potencial uso como apósito en el tratamiento de lesiones graves particularmente de piel.

## ABSTRACT

Due to the inappropriate use of antimicrobials, pathogens in general and mainly nosocomial have become a challenge, which has become a specialized problem of prevention and control of infectious diseases among patients with serious skin injuries, since the environment in hospital units can become contaminated with resistant organisms. Advanced and active products for the care of these injuries such as antimicrobial dressings are being widely used after surgery to prevent infections (HCAI). Biomaterials are non-pharmacological substances suitable for inclusion in systems that enhance or replace the function of body tissues or organs. The use of biopolymers is accepted in the medical area due to its biodegradability and biocompatibility characteristics and they can be obtained from various natural sources of vegetable, animal, marine and microbial origin. The botanical diversity of Mexico makes it possible to search for sources of biopolymers of plant origin such as *Salvia hispanica* L., rich in mucilage and oils, which have demonstrated biological properties in the food and cosmetic area. The growing awareness in wound care management and the increase in the population allows estimating that the global market for wound dressings will reach 8.46 billion USD by 2021. Therefore, the objective of this study was to evaluate the antimicrobial activity of membranes made with *Salvia hispanica* L.'s mucilage and seed oil and cellulose acetate by electrospinning against *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* and *Pseudomonas aeruginosa*, for which recovery of *Salvia hispanica*'s mucilage will be carried out by heat extraction. Also, the MIC of the seed oil against the mentioned microorganisms was determined. Subsequently, the preparation of membranes was carried out by the electrospinning method with cellulose acetate and the recovered mucilage incorporating the oil as a potential antimicrobial agent. Likewise, the antimicrobial activity of the membranes against *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* and *Pseudomonas aeruginosa* was determined. This project allowed the obtention of a membrane based on raw materials of ethnobotanical origin and innovative processes such as electrospinning with potential use as a dressing in the treatment of serious injuries, particularly in skin.

## I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones asociadas a la atención de la salud (IAAS) son uno de los principales retos para los hospitales modernos, pues se encuentran entre las principales causas de defunción, aumento de morbilidad y discapacidad en pacientes hospitalizados. El manejo de estas infecciones es sumamente complejo debido a que generalmente son causadas por microorganismos altamente resistentes a los antimicrobianos. En México, según la OMS, se calcula que 450 mil casos de infección relacionada con la atención sanitaria causan 32 muertes por cada 100 mil habitantes por año (Rodríguez Salgado, 2018); así mismo se identificó que entre los principales microorganismos aislados en 48,377 infecciones asociadas a la atención de la salud en hospitales se encontraban *Pseudomonas aeruginosa* (10.9 %), *Staphylococcus aureus* (9.8 %) y *Candida albicans* (6.4 %) (Arias Flores et al., 2016). La prevención y el control de enfermedades infecciosas entre los pacientes con lesiones graves de piel representan un problema especializado, ya que el ambiente en las unidades hospitalarias puede contaminarse con organismos resistentes. En lesiones en piel, particularmente las úlceras, cuando estas requieren de tratamiento hospitalario, presentan un alto potencial de complicaciones durante el periodo agudo después de la lesión. Los productos tradicionales para el cuidado de heridas tardan más en curarlas y son menos efectivos en comparación con los productos avanzados y activos para el cuidado de estas como los apósitos antimicrobianos, que se usan ampliamente después de las cirugías para prevenir infecciones (IAAS). Un número creciente de cirugías y políticas reguladoras por parte de autoridades de control de infecciones, han aumentado la demanda de este tipo de apósitos antimicrobianos. Por otro lado, un biomaterial por definición es "una sustancia no farmacológica adecuada para su inclusión en sistemas que aumentan o reemplazan la función de los tejidos u órganos corporales". Los biopolímeros pueden obtenerse de diversas fuentes naturales de origen vegetal, animal, marino y microbiano. Los polímeros a base de polisacáridos vegetales (por ejemplo, celulosa, hemicelulosa, lignina, almidón y pectina) son materiales prometedores para la ingeniería de tejidos y la administración de fármacos, ya que se ha demostrado que estos polímeros naturales son biocompatibles (Mohammadinejad et al., 2019). La diversidad botánica de México permite buscar fuentes de biopolímeros de origen vegetal como la *Salvia hispanica*, la

cual posee semillas (Chia) ricas en mucilago y aceites, los cuales han sido de interés en la industria alimentaria principalmente. Por otro lado, la celulosa, uno de los polisacáridos más abundantes en la naturaleza ha sido ampliamente estudiado en su forma natural o modificada por sus propiedades, en terapias de purificación de la sangre, como hemofiltración, hemodiálisis y hemodiafiltración (Peng *et al.*, 2016). Los dispositivos médicos y los innovadores sistemas de administración de medicamentos compuestos de materiales biocompatibles se utilizan para interactuar con el cuerpo humano para evaluar, reemplazar, tratar o modificar una función, tejido u órgano específico. El ambiente en el área de contacto dentro del organismo define las propiedades mecánicas requeridas de un biomaterial. Se ha reportado la importancia de las propiedades de la superficie del biomaterial, como las funciones químicas, la hidrofilia o la hidrofobicidad, la energía superficial, la humectabilidad, el hinchamiento, los efectos electrostáticos, en la determinación de la respuesta celular (Bernard *et al.*, 2018). El proceso de electrohilado es un fenómeno electrohidrodinámico basado en la extrusión y estiramiento de filamentos delgados de soluciones de polímeros mediante la aplicación de una fuerza eléctrica, este ha sido estudiado y utilizado en la elaboración de membranas con diversas aplicaciones en ingeniería de tejidos y sistema de liberación de medicamentos, ya que durante su elaboración se obtienen fibras de escala nano o micrométrica que incrementa el área superficial del dispositivo permitiendo la incorporación de biomoléculas con diversas actividades biológicas como actividad antimicrobiana. Por lo anterior, es importante contar con nuevos productos a base de biopolímeros obtenidos de fuentes naturales como *S. hispanica*, para la elaboración de apósitos avanzados con las características de biodegradabilidad y biocompatibilidad de sus componentes y con actividad antimicrobiana para el manejo heridas en piel con alto potencial de infección sobre todo asociadas a la atención de la salud (IAAS). Por lo que el objetivo para el presente trabajo es evaluar la actividad antimicrobiana de membranas elaboradas con mucilago y aceite de semilla de *S. hispanica* L. y acetato de celulosa por electrohilado, contra *S. aureus*, *C. albicans* y *P. aeruginosa*.

## II. ANTECEDENTES

### 2.1 Biopolímeros

Los biopolímeros pueden obtenerse de diversas fuentes naturales de origen vegetal, animal, marino y microbiano. Actualmente su aplicación se ha extendido en aplicaciones diarias, como los plásticos de consumo masivo, sobre todo aquellos polímeros biodegradables obtenidos de materias primas renovables (Kumar & Sinha-Ray, 2018).

Los biopolímeros han sido aprovechados para ser usados en diversas áreas en dispositivos médicos, materiales para empaques, cosméticos, aditivos alimenticios, industria textil, químicos para tratamiento de agua, plásticos industriales, absorbentes, biosensores, e incluso elementos de almacenamiento de datos. Hay tres grupos principales de biopolímeros: polisacáridos, proteínas y polinucleótidos (*Rebelo et al.*, 2017).

#### 2.1.1 Biopolímeros vegetales

Los polímeros a base de polisacáridos vegetales (por ejemplo, celulosa, hemicelulosa, lignina, almidón y pectina) son materiales biocompatibles prometedores para la ingeniería de tejidos y la administración de fármacos. (Mohammadinejad *et al.*, 2019)

#### 2.1.2 Acetato de celulosa

La celulosa es un material natural insoluble en agua que se encuentra en la madera, algodón y otros materiales a partir de plantas, además de ser producida por varios microorganismos (Valencia Gomez *et al.*, 2016).

El acetato de celulosa es un polímero natural modificado producido por acetilación de la celulosa, uno de los polímeros más abundantes y renovables de bajo costo, el cual es utilizado en un amplio campo de aplicaciones como textil, membranas y filtros (Mikaeili & Gouma, 2018).

El acetato de celulosa se obtiene en un proceso de acetilación en dos etapas por la reacción de celulosa con ácido acético, un exceso de anhídrido acético y ácido sulfúrico como el catalizador, seguido por una reacción de hidrólisis para producir un acetato de

celulosa con el grado de sustitución deseable, (aproximadamente 2.45-2.5), que otorga alta solubilidad (en varios tipos de sistemas de solventes) y buenas propiedades de fusión. Estas propiedades facilitan el uso del acetato de celulosa en una amplia variedad de productos de consumo (Candido *et al.*, 2017).

El desarrollo de membranas multifuncionales de acetato de celulosa (AC) con hemocompatibilidad mejorada y actividades antibacterianas y antioxidantes es extremadamente importante para aplicaciones biomédicas, por lo que las membranas de AC se han utilizado con frecuencia en terapias de purificación de la sangre, como hemofiltración, hemodiálisis y hemodiafiltración (Peng *et al.*, 2016).

El mercado mundial de acetato de celulosa se estimó en 614.03 kilo toneladas en 2016 y llegará a 820.04 mil toneladas para 2024 (Sayyed *et al.*, 2019); Su precio de mercado es de aproximadamente US \$ 1.00/kg (Sayyed *et al.*, 2019).

## **2.2 *S. hispanica***

La chía (*S. hispanica* L.) se originó en México y Guatemala; ha sido parte de la alimentación humana durante unos 5500 años. Tradicionalmente las semillas eran utilizadas por los Aztecas y los Mayas en la preparación de medicinas populares, alimento y lienzos.

Por otro lado, el aceite de la chía contiene una gran cantidad de ácidos grasos omega-3, proteína de calidad superior, mayor cantidad de fibra dietética, vitaminas, minerales y una amplia gama de antioxidantes polifenólicos que actúan como antioxidantes y protegen a las semillas de la descomposición química y microbiana.

La chía ofrece una gran perspectiva de futuro para los sectores de alimentos, médicos, farmacéuticos y nutracéuticos, aunque se considera que su gran potencial nutricional y terapéutico aún es poco conocido (Ullah *et al.*, 2016).

### **2.2.1 Mucílago de *S. hispanica***

El mucílago de la semilla de chía es un heteropolisacárido aniónico. Es una sustancia que se hincha en contacto con el agua formando una cápsula pegajosa y gelatinosa alrededor de la semilla y está adherida fuertemente a ella (Valdivia-López & Tecante, 2015).

Información actual acerca de las propiedades funcionales del mucílago indica que es un polímero con una alta viscosidad en agua, con acción espesante y posibles efectos benéficos en el metabolismo (Capitani *et al.*, 2016).

De acuerdo a diversas teorías propuestas puede jugar un rol en el desarrollo de la tolerancia al frío, transporte de agua, curación de heridas, balance iónico de células y reserva de carbohidratos para la planta (Mujtaba *et al.*, 2019).

### **2.3 Infecciones asociadas a la atención de la salud en México**

Las infecciones asociadas a la atención de la salud (IAAS) son uno de los principales retos para los hospitales modernos, pues se encuentran entre las principales causas de defunción, aumento de morbilidad y discapacidad en pacientes hospitalizados. Asimismo, generan un incremento en los días de estancia, en los costos directos e indirectos de la atención en salud (por los días laborales perdidos) y en la morbilidad de los prestadores del servicio; su manejo es sumamente complejo debido a que generalmente se trata de infecciones causadas por microorganismos altamente resistentes a los antimicrobianos.

Debido al inadecuado uso de antimicrobianos, los patógenos nosocomiales han dejado de ser microorganismos fácilmente tratables y son ahora altamente resistentes, lo cual representa un problema de gran importancia para la prevención y el control de las infecciones nosocomiales (Rincón León & Navarro Fuentes, 2016).

En México, según la OMS, se calcula que 450 mil casos de infección relacionada con la atención sanitaria causan 32 muertes por cada 100 mil habitantes por año (cuyo costo de atención anual se aproxima a los 1,500 millones) (Rodríguez Salgado, 2018).

En México, se identificó que entre los principales microorganismos aislados en 48,377 infecciones asociadas a la atención de la salud en hospitales del Instituto Mexicano del Seguro Social se encontraban *P. aeruginosa* (10.9 %), *S. aureus* (9.8 %) y *C. albicans* (6.4 %) (Arias Flores *et al.*, 2016)

#### **2.3.1 Microorganismos que afectan piel**

*Staphylococcus spp.*, son cocos Gram positivos de 0.5 a 1.5µm de diámetro, se agrupan en racimos, son inmóviles, anaerobios facultativos, fermentadores de glucosa,

catalasa positivo y oxidasa-negativo con contenido de G+C del 30 a 39% y se consideran oportunistas. *S. aureus* es la especie más virulenta, responsable de varias infecciones en el humano. Se considera como bacteria que induce alteraciones en los tejidos y produce lesiones localizadas, con supuración y cicatrización. En México, la Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica (RHOVE), notificó que la mortalidad en pacientes infectados con *S. aureus* varía de 5-70% (García *et al.*, 2019)

*Pseudomonas aeruginosa* es una bacteria Gram-negativa formadora de biopelículas frecuentemente detectada en heridas de la piel, especialmente en regiones más profundas de los lechos de las heridas. Las heridas infectadas por este microorganismo se caracterizan por grandes áreas de lesión y un proceso de curación tardío. Esto, asociado con el hecho de que *P. aeruginosa* presenta resistencia intrínseca y adquirida a antibióticos, hace que el manejo clínico de heridas infectadas por este patógeno sea un gran desafío (Ferro *et al.*, 2019).

*Pseudomonas aeruginosa* posee muchos factores de virulencia como pili, lipopolisacárido (LPS), enzimas extracelulares, exotoxinas, flagelo y cinco tipos de sistemas de secreción (TSSs). Esta bacteria tiene un solo flagelo polar que es crucial para la motilidad, quimiotaxis y adhesión (García *et al.*, 2018).

Por otro lado, *C. albicans* es un miembro de la microbiota humana sana, que coloniza asintóticamente varios nichos en el cuerpo, incluidos, entre otros, el tracto gastrointestinal (GI), el tracto reproductivo femenino, la cavidad oral y la piel. En la mayoría de las personas con un sistema inmunitario saludable, *C. albicans* es un comensal inofensivo que existe en armonía con otros miembros de la microbiota. Sin embargo, las alteraciones de este delicado equilibrio, que resultan, por ejemplo, de variaciones en el entorno local (cambios de pH o cambios nutricionales), el uso de antibióticos o alteraciones en el sistema inmune (causadas por una infección o terapia inmunosupresora), pueden permitir que *C. albicans* prolifere rápidamente y cause infecciones (Gulati & Nobile, 2016).

#### **2.4 Biomateriales en biomedicina**

Un biomaterial por definición es "una sustancia no farmacológica adecuada para su inclusión en sistemas que aumentan o reemplazan la función de los tejidos u órganos

corporales". Estos materiales son capaces de estar en contacto con fluidos corporales y tejidos durante períodos prolongados, mientras que provocan reacciones adversas nulas o mínimas. En este sentido, los biomateriales se clasifican como sustancias sintéticas o naturales. El campo de los biomateriales que trabajan bajo restricciones biológicas se está expandiendo rápidamente y representa el 2-3% de los gastos generales de salud en los países desarrollados. Los biomateriales sintéticos más comunes utilizados para implantes son titanio, productos de plata, poliéster y porcelana. Los biomateriales naturales se derivan de animales, microbios o plantas. Estos biomateriales son típicamente similares a las sustancias macromoleculares que están sintetizadas para las rutas metabólicas. Como resultado, disminuyen los problemas de toxicidad y de reacciones inflamatorias crónicas provocadas por muchos polímeros sintéticos.

El proceso de cicatrización de heridas se divide en inflamación, proliferación y remodelación. El objetivo del tratamiento de la herida es curar la herida en el menor tiempo posible para prevenir infecciones y minimizar el dolor, la incomodidad y las cicatrices. El tratamiento exitoso de una herida debe asegurar que la cantidad de tejido necrótico se reduzca y que se evite la invasión microbiana.

Los polisacáridos son biopolímeros naturales que son económicos y la mayoría de ellos son fácilmente degradables. Los biomateriales basados en polisacáridos utilizados para el cuidado de heridas pueden clasificarse en varias categorías: neutros ( $\beta$ -glucanos, dextranos, celulosa), ácidos (ácido algico, ácido hialurónico), básicos (quitina, quitosano) o sulfatados (heparina, heparán sulfato, sulfato de condroitina, dermatán sulfato, queratán sulfato) (Aramwit, 2016).

Un apósito es cualquier material empleado para cubrir, proteger y curar heridas de un tejido dañado (Valencia Gomez *et al.*, 2016). Los materiales para apósitos en heridas deben actuar como barrera física semipermeable a la humedad y el oxígeno, protegiendo a esta contra la presencia de microorganismos causantes de infecciones (Mogoşanu & Grumezescu, 2014). Los apósitos para heridas juegan un papel importante en la gestión de la cicatrización, en particular, los apósitos elaborados con polímeros se utilizan ampliamente para heridas exudativas; ya que, por lo general, estos apósitos son biodegradables, biocompatibles y no tóxicos para la piel (Valencia Gomez *et al.*, 2016).

Los apósitos de celulosa modificada para heridas pueden incorporar moléculas activas como enzimas, factores de crecimiento, agentes antimicrobianos, antioxidantes, hormonas, vitaminas y otros agentes que pueden beneficiar en el proceso de cicatrización (Aramwit, 2016).

#### **2.4.1 Electrohilado**

El proceso de electrohilado es un fenómeno electrohidrodinámico basado en la extrusión y estiramiento de filamentos delgados de soluciones de polímeros mediante la aplicación de una fuerza eléctrica. Los componentes principales de un aparato de electrohilado son un sistema de suministro, un colector y un generador de energía de alto voltaje. El sistema de suministro es típicamente una aguja metálica conectada a una jeringa llena con una solución de polímero a base de solvente (solución de electrohilado). En ambos casos, cuando se aplica un voltaje en el rango de 5–60 kV entre la aguja y el colector metálico conectado a tierra, se generan cargas eléctricas en la superficie de la gota de polímero al final de la aguja. La gota, en consecuencia, se deforma y adquiere una forma de cono (conocida como cono de Taylor). Si la fuerza eléctrica supera la tensión superficial del líquido, se extruye un filamento polimérico en la punta del cono de Taylor y se atrae hacia el colector. En esta fase, el filamento se alarga aún más y se produce la evaporación del disolvente, lo que da como resultado una red de fibras no tejidas en la superficie del colector (*W. Zhang et al., 2017*).

La técnica de electrohilado se ha aplicado con éxito en la producción de membranas porosas en la ingeniería de tejidos. Las membranas y los andamios electrohilados tienen una amplia gama de aplicaciones biomédicas, como la administración de medicamentos, apósitos para heridas e injertos vasculares (*Trinca et al., 2017*). Una de los principales retos para la cicatrización de heridas es la inhibición de las cicatrices, que es un obstáculo duradero en los estudios clínicos. Para prevenir la formación de cicatrices, se debe dilucidar el efecto de las nanofibras sobre los mecanismos de señalización celular y las vías bioquímicas. Aún debe determinarse si las características de las nanofibras, como el diámetro y la alineación de las fibras, influirían en la inhibición de la cicatriz (*Liu et al., 2020*).

## **2.5 Ensayos biológicos**

En función de su comportamiento en contacto con tejidos vivos, los biomateriales poliméricos se pueden dividir en categorías bioestables, bioadsorbibles (degradables o reabsorbibles) y parcialmente bioadsorbibles. Aquellos biomateriales que tienen contacto directo con tejido humano o animal, requieren de ensayos biológicos que permitan medir la actividad biológica deseada en base al agente adicionado para la activación del dispositivo, así como de pruebas que aseguren la biocompatibilidad del mismo (Bernard *et al.*, 2018).

### **2.5.1 Actividad antimicrobiana**

Así como la evaluación de la actividad biológica en los antibióticos es esencial para determinación de la susceptibilidad a estos compuestos, también es necesaria para la detección de nuevos agentes antimicrobianos. Los productos naturales, ya sean compuestos puros o extractos estandarizados obtenidos de plantas, brindan grandes oportunidades para aditivos novedosos y tratamientos farmacológicos adecuados debido a su incomparable gama de diversidad química. Actualmente hay varios métodos disponibles para detectar su actividad antimicrobiana y dado que no todos se basan en los mismos principios, los resultados obtenidos están influenciados no solo por el método seleccionado, sino también por los microorganismos utilizados, y por el método de extracción o el grado de solubilidad de cada compuesto de prueba.

Los sistemas de prueba de antimicrobianos deberían ser idealmente simples, rápidos, reproducibles, económicos y maximizar el rendimiento de la muestra para hacer frente a un número variado de extractos y fracciones. El Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ha estandarizado el método de dilución de agar para la determinación cuantitativa de antibióticos. CLSI también recomienda métodos de dilución de caldo para la determinación inhibitoria, utilizando diferentes principios para evaluar el crecimiento microbiano o su inhibición (Klančnik *et al.*, 2010).

### III. JUSTIFICACIÓN

En lesiones en piel, particularmente las úlceras, cuando estas requieren de tratamiento hospitalario, presentan un potencial de complicaciones durante el periodo agudo después de la lesión. Aproximadamente el 73% de todas las muertes puede ser causada directa o indirectamente por procesos sépticos y se ha demostrado que ocurre dentro de los primeros 5 días posteriores a lesiones como quemaduras. La prevención y el control de enfermedades infecciosas entre los pacientes con lesiones graves de piel representan un problema especializado, ya que el ambiente en las unidades hospitalarias puede contaminarse con organismos resistentes. En Monterrey, N.L., el Hospital José Eleuterio González, reportó una tasa de infecciones asociadas al cuidado de la salud (IAAS) del 4.66%, en el 2015, con un 67.3% de los aislamientos de bacterias Gram negativas y 25.9% de Gram positivas.

Los productos tradicionales para el cuidado de heridas tardan más en curarlas y son menos efectivos en comparación con los productos avanzados y activos para el cuidado de estas como los apósitos antimicrobianos, que se usan ampliamente después de las cirugías para prevenir infecciones (IAAS). Un número creciente de cirugías y políticas reguladoras de por parte de autoridades de control de infecciones, han aumentado la demanda de este tipo de apósitos antimicrobianos.

Por lo anterior, es importante contar con nuevos productos a base de biopolímeros obtenidos de fuentes naturales como *S. hispanica*, para la elaboración de apósitos avanzados con las características de biodegradabilidad y biocompatibilidad de sus componentes y con actividad antimicrobiana para el manejo de estas heridas.

Finalmente, la creciente conciencia sobre el manejo del cuidado de heridas, el alto potencial de crecimiento de las economías emergentes permite estimar que el mercado mundial de apósitos para heridas alcance 8.46 mil millones USD para 2021, a una tasa compuesta anual de 6.0% entre 2016 y 2021.

#### **IV. HIPÓTESIS**

Las membranas elaboradas con mucílago y aceite de semilla de *S. hispanica* L. y acetato de celulosa por electrohilado tienen actividad antimicrobiana contra *S. aureus*, *C. albicans* y *P. aeruginosa*.

#### **V. OBJETIVOS**

##### **5.1 Objetivo general**

Evaluar la actividad antimicrobiana de membranas elaboradas con mucílago y aceite de semilla de *S. hispanica* L. y acetato de celulosa por electrohilado, contra *S. aureus*, *C. albicans* y *P. aeruginosa*.

##### **5.2 Objetivos específicos**

1. Extraer el mucílago de *S. hispanica* L. utilizando el método de extracción acuosa con calor.
2. Determinar la concentración mínima inhibitoria del aceite de *S. hispanica* L. contra *S. aureus*, *C. albicans* y *P. aeruginosa*.
3. Elaborar mediante electrohilado las membranas con acetato de celulosa, mucílago y aceite de *S. hispanica* L.
4. Determinar la actividad antimicrobiana de las membranas contra *S. aureus*, *C. albicans* y *P. aeruginosa*.

#### **VI. MATERIAL Y MÉTODOS**

##### **6.1 Extracción de mucílago de *S. hispanica* L.**

Se utilizó el método de extracción por calor (Tavares *et al.*, 2018) para extraer el mucílago de las semillas de *S. hispanica* L. (MSH), las cuales eran provenientes de Chiapas y fueron obtenidas de un mercado local. Brevemente, muestras de 100 g de semillas enteras se agregaron a recipientes que contengan agua destilada en relación semilla:agua de 1:40. La temperatura se mantuvo a  $80 \pm 1.5$  °C. Las mezclas se agitaron magnéticamente durante 2 h. Posteriormente, para la separación de mucílago y determinación de peso seco, la suspensión se extendió sobre una bandeja de secado

y se secó en un horno a 50 °C durante 48 h. El mucílago de la semilla se separó tamizando en una malla 40 y luego se obtuvo el peso.

## **6.2 Determinación de concentración mínima inhibitoria**

La concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite de *S. hispanica* L. se evaluó mediante el método de microdilución en placa. Primeramente, se inocularon cepas (*S. aureus*, *C. albicans* y *P. aeruginosa*) en caldo nutritivo (CN) para las bacterias por 16 h a 37 °C y YPD que se compone de extracto de levadura 10 gL<sup>-1</sup>, peptona 20 gL<sup>-1</sup> y dextrosa 20 gL<sup>-1</sup> para la levadura por 32 h a 28°C. Posteriormente, la concentración celular de los inóculos se ajustó por la escala de Mc Farland a 3.0 x 10<sup>8</sup> celmL<sup>-1</sup> (escala 1 de Mc Farland) en un espectrofotómetro UV/Visible DU 650 (Beckman Coulter) a 625 nm para bacterias (Ardekani *et al.*, 2019), y por cuenta en cámara de Neubauer para la levadura.

Se añadieron 20 µL de un cultivo de 10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup> a una placa estéril de 96 pocillos. El aceite de *S. hispanica* L. (ASH) se diluyó en caldo nutritivo (CN) en caso de las bacterias y caldo papa dextrosa (CPD) en caso de la levadura que contenían Tween 20 al 0.5% (v/v), respectivamente, y se añadieron a los pocillos para dar concentraciones finales de aceite de 0.03, 0.06, 0.12, 0.5, 1, 2 y 4% (v / v). Los pocillos de control positivo contenían el medio líquido correspondiente y células sin ASH, mientras que los pocillos de control negativo contenían solo el medio líquido correspondiente. La densidad óptica (DO) se midió a 595 nm utilizando un lector de microplacas EZ Read 2000 (Biochrom) y se leyeron nuevamente después 24 h de incubación a 37 °C. La CMI se determinó como la concentración de aceite de SH más baja a la que la DO a las 24 h del inóculo permaneció igual o disminuyó en comparación con la lectura inicial (Adukwu *et al.*, 2012).

## **6.3 Elaboración de membranas por electrohilado**

### **6.3.1 Preparación de las soluciones poliméricas**

Se preparó una solución de ASH con acetato de celulosa (AC) primero preparando 15% p/v de AC en acetona y luego agregando el triple de la CMI del ASH.

Posteriormente, se preparó la solución de MSH en agua destilada a una concentración final (%), con base en la viscosidad obtenida del mucilago recuperado.

### **6.3.2 Características de las soluciones poliméricas**

Se registraron los valores de conductividad con un conductímetro (Corning Pinnacle 542), viscosidad (Koehler K447-BR) y pH con un potenciómetro (Beckman 390pH), en condiciones ambiente.

### **6.3.3 Electrohilado**

En base a literatura (Dias Antunes *et al.*, 2017), y en las propiedades fisicoquímicas de las soluciones poliméricas obtenidas en el apartado 6.3.1, se establecieron los valores de los parámetros necesarios para obtener membranas con fibras de diámetro en escala nano o micrométrico y sin presencia de “perlas”, en un equipo Standard Unit NEU-01 (Shenzhen Tong Li Tech Co).

Los parámetros establecidos en base a un diseño de experimentos factorial  $2^3$  con punto central donde el factor de respuesta es la formación de fibras homogéneas sin presencia de “perlas” fueron:

- Voltaje 10 - 25 kV.
- Distancia entre aguja y colector 10 a 20 cm.
- Flujo de alimentación. 0.1 a 1 mL h<sup>-1</sup>.

### **6.4 Determinación de actividad antimicrobiana contra *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *C. albicans***

La evaluación de la actividad antimicrobiana de las membranas se llevó cabo mediante la técnica difusión en agar frente a *S. aureus*, *C. albicans* y *P. aeruginosa*. Primeramente, las bacterias se activaron en CN y se incubaron a 37 °C por 16 h, y en YPD e incubación a 28 °C por 32 h para la levadura. Transcurrido el tiempo de incubación, el inóculo se leyó a 625 nm y se ajustó a la escala 1 de Mc Farland. Posteriormente, se inocularon 0.1 mL de cada bacteria en cajas Petri con AN y de la levadura en YPD. Se colocaron círculos de las membranas obtenidas en el punto 6.3.3 de 6 mm de diámetro, así como papel filtro Whatman no. 40 estéril de 6 mm de diámetro cargados con 30 µg de antibiótico (amikacina) para las bacterias y 30 µg de

antifúngico (fluconazol) para la levadura como control positivo, respectivamente, y agua destilada como control negativo. Las placas se incubaron a 37 °C por 24 h para las bacterias y 28 °C por 48 h para la levadura y se midió el halo de inhibición (Balouiri *et al.*, 2016).

### 6.5 Análisis estadístico

Se llevó a cabo un análisis estadístico realizando análisis de varianzas (ANOVA) de una vía utilizando el software SPSS Statistics 24 (IBM). Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas si  $p < 0.05$ .

## VII. RESULTADOS

### 7.1 Extracción de mucílago de *S. hispanica* L.

Utilizando el método de extracción por calor se obtuvo como resultado un 1.59% de rendimiento en peso seco en la recuperación de mucílago de la semilla de *S. hispanica* L. (Figura 1).

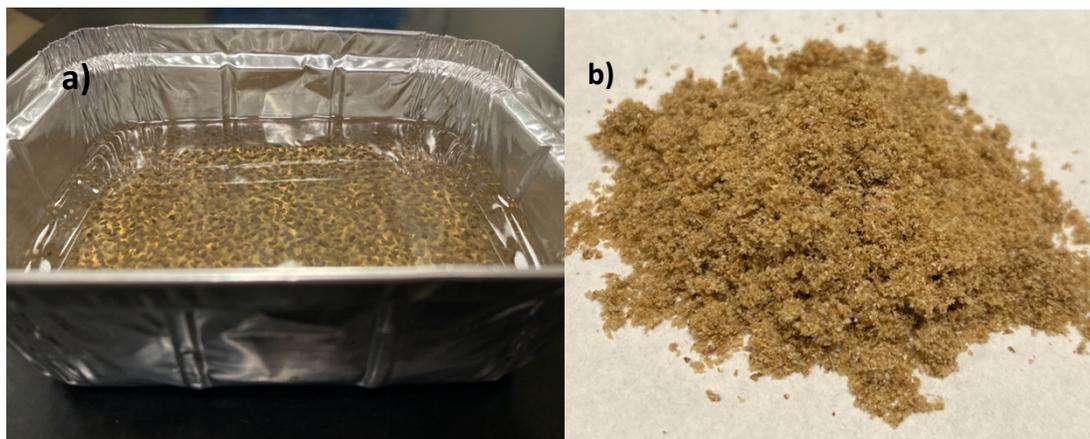


Figura 1. Mucílago extraído de semillas de *S. hispanica* (a) previo y (b) posterior al secado.

### 7.2 Pruebas preliminares de electrohilado

Se realizaron pruebas preliminares para probar la capacidad de procesamiento del MSH obtenido. Para esto, se preparó una solución de mucílago al 4% en agua destilada, la cual no tuvo las características necesarias para poder procesarse. Para ayudar al procesamiento se optó por agregar un polímero guía como el polivinil alcohol (PVA). Se prepararon soluciones 4%:4%, 2%:2%, 2%:4% y 0.5%:8% MSH:PVA. De las cuales sólo la última fue procesable utilizando los parámetros de

0.1 mLh<sup>-1</sup> de flujo, 18.5 kV de voltaje y 10 cm de distancia entre agujas y colector. Sin embargo, aún después de 3 h de procesamiento, la membrana obtenida con esta mezcla polimérica no pudo recuperarse debido a que era muy delgada, como puede observarse en la Figura 2.



Figura 2. Membrana obtenida de solución 0.5%:8% MSH:PVA

Se colectaron algunas fibras en un portaobjetos y se observaron mediante microscopía óptica como se observa en la Figura 3.

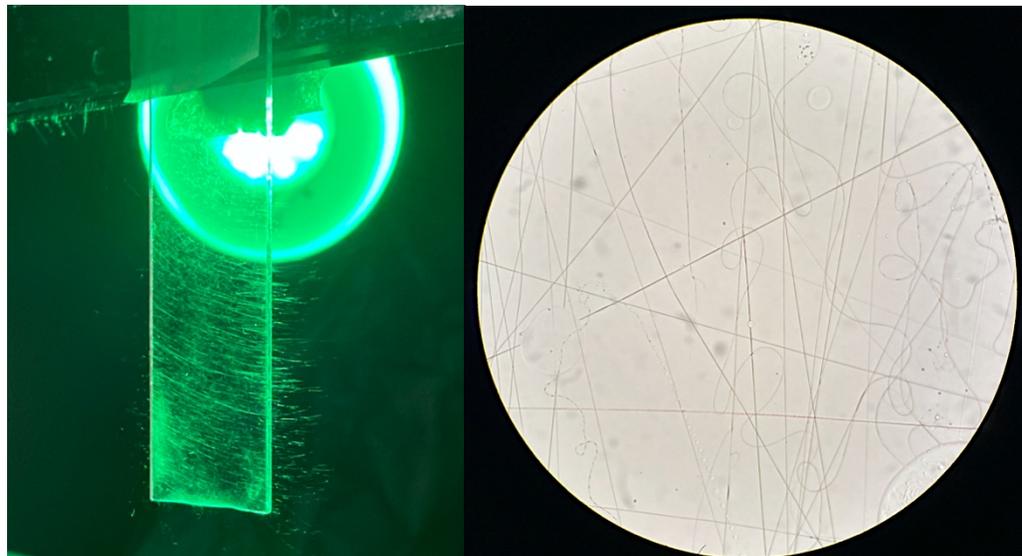


Figura 3. Recolección de fibras en portaobjetos (izquierda) fibras obtenidas de solución 0.5%:8% MSH:PVA observadas en microscopía óptica (derecha).

Se observó la presencia de fibras uniformes en su mayoría, sin embargo, existía la presencia de algunas fibras con “perlas” lo que indica que el proceso de electrohilado no se llevó a cabo correctamente con esa solución.

### 7.3 Determinación de concentración mínima inhibitoria

Los inóculos de las bacterias se ajustaron a  $3.0 \times 10^8$  cel/mL<sup>-1</sup>. Mientras que la levadura sólo pudo ajustarse a  $4.5 \times 10^7$  cel/mL<sup>-1</sup>. Los valores de la CMI determinada para cada uno de los microorganismos probados se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Valores de concentración mínima inhibitoria de ASH contra microorganismos

<b>Microorganismo</b>	<b>Concentración mínima inhibitoria (CMI)</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	4% ± 2%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4% ± 0%
<i>Candida albicans</i>	4% ± 0%

### 7.4 Proceso de electrohilado

Se preparon las soluciones como se menciona en el punto 6.3.1 y se sometió al proceso de electrohilado. Sin embargo, tanto la solución de AC/ASH como la solución de AC que se utilizó como control, presentaron dificultades al momento del procesamiento. Ya que sí se observaba la recolección de fibras y se apreciaba el cono de Taylor, lo que indicaba que sí se estaba electrohilando la solución, sin embargo, aún a un voltaje bajo de 10 kV, se producía una obstrucción en la aguja por parte del mismo polímero, lo cual impedía tener un proceso de electrohilado continuo.

Debido a lo anterior, se optó por cambiar de solvente para poder obtener un electrohilado continuo. Se prepararon soluciones de AC al 15% en ácido acético glacial y se agregó el doble de la CMI del ASH para evitar la pérdida de actividad al pasar por alto voltaje en el proceso de electrohilado.

Esta solución si fue procesable por electrohilado, ya que se observó la formación del cono de Taylor y colección de material como se puede observar en la Figura 4. Las fibras colectadas se observaron mediante microscopía óptica para ver su morfología. Las condiciones probadas y sus resultados se resumen en la Tabla 2.

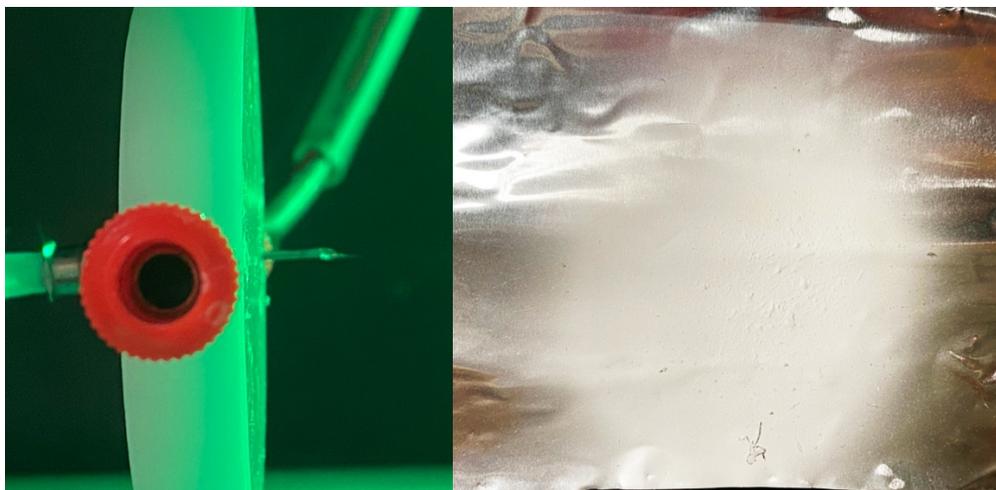


Figura 4. Formación de cono de Taylor (izquierda) y recolección de membrana en colector de aluminio de solución AC (derecha).

**Tabla 2.** Condiciones probadas de electrohilado para solución AC y características de fibras colectadas a 25° C

Solución AC	Voltaje (kV)			Flujo (mLh <sup>-1</sup> )
	10	17.5	25	
10	X	X	X	0.5
	X	X	X	0.7
	X	X	X	1.0
15	X	X	X	0.5
	X	X	X	0.7
	-	-	X	1.0
20	X	X	X	0.5
	X	X	X	0.7
	-	-	X	1.0

(-) fibras con presencia de perlas; (X) sin fibras.

Debido a que solo se obtuvieron fibras con los voltajes 10 y 17.5 kV pero estas presentaban “perlas”, se probaron tres voltajes diferentes dentro de este rango para poder obtener fibras con morfología adecuada. Las condiciones probadas se presentan en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Condiciones probadas de electrohilado para solución AC y características de fibras colectadas a 3 voltajes seleccionados a 25° C

Solución AC	Voltaje (kV)			Flujo (mLh <sup>-1</sup> )
	13	14	15	
10	X	X	X	0.5
	X	X	X	0.7
	-	-	-	1.0
15	X	X	X	0.5
	-	-	X	0.7
	✓	✓	-	1.0
20	X	X	X	0.5
	-	-	-	0.7
	✓	-	-	1.0

(✓) Fibras sin presencia de perlas; (-) fibras con presencia de perlas; (X) sin fibras.

Para la solución de ASH se probaron las mismas condiciones mencionadas en la Tabla 3. De igual manera, se hizo la recolección en un portaobjetos para observar las fibras mediante microscopía óptica como se muestra en la Figura 5. Debido a que se observaba una falta de evaporación del solvente al momento de ver las fibras al microscopio, se optó por realizar los experimentos a 28° C para la evaporación total del solvente. Los resultados se resumen en la Tabla 4.



Figura 5. Morfología de fibras obtenidas con la solución ASH a 13 kV, 15 cm, 1.0 mLh<sup>-1</sup> y 28° C observadas por microscopía óptica bajo objetivo 100X.

**Tabla 4.** Condiciones probadas de electrohilado para solución ASH y características de fibras colectadas a 3 voltajes seleccionados a 28° C

Solución ASH	Voltaje (kV)			Flujo (mLh <sup>-1</sup> )
	13	14	15	
	X	X	X	0.5
10	X	X	X	0.7
	X	X	X	1.0
	X	X	X	0.5
15	X	X	X	0.7
	✓	-	X	1.0
	X	X	X	0.5
20	X	X	X	0.7
	-	-	X	1.0

(✓) Fibras sin presencia de perlas; (-) fibras con presencia de perlas; (X) sin fibras.

### 7.5 Actividad antimicrobiana contra *S. aureus*, *C. albicans* y *P. aeruginosa*

En la prueba de actividad antimicrobiana, se probó tanto la membrana AC como la ASH, así como las soluciones que se utilizaron para electrohilar las membranas. Los resultados se resumen en la Tabla 5.

Tabla 5. Halos de inhibición en mm

	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
<b>Membrana AC</b>	0	0	0
<b>Membrana ASH</b>	0	0	0
<b>Solución AC</b>	16 ± 3	24 ± 5	16 ± 2
<b>Solución ASH</b>	16 ± 3	23 ± 5	10 ± 1
<b>Control positivo</b>	11 ± 1	7 ± 0	0

Valor promedio ± desviación estándar

Como se puede observar, tanto la membrana AC como la membrana ASH no presentaron actividad antimicrobiana contra los tres microorganismos en cuestión. Sin embargo, ambas soluciones sin previo procesamiento por electrohilado mostraron una inhibición de crecimiento de los microorganismos similar. En *S. aureus* ambas presentaron la misma inhibición, mientras que en *P. aeruginosa* y *C. albicans*, la solución AC presentó mayor actividad antimicrobiana. En el caso de la levadura, el control positivo (fluconazol) no mostró efecto inhibitorio.

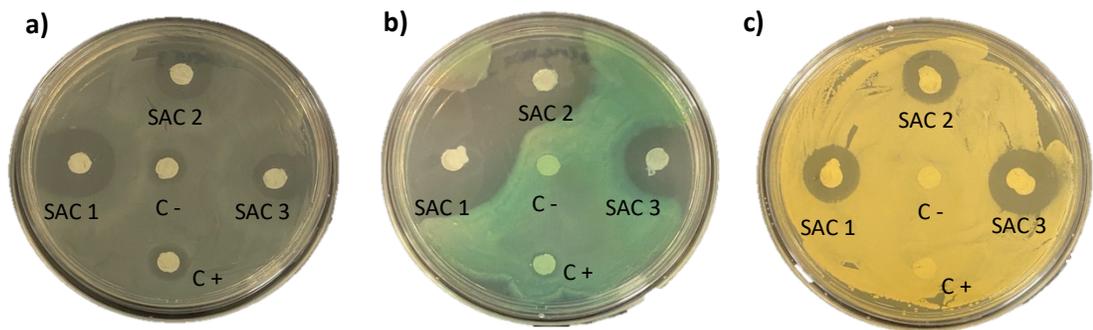


Figura 6. Halos de inhibición de solución de AC (SAC) en a) *Staphylococcus aureus*, b) *Pseudomonas aeruginosa* y c) *Candida albicans*

## 7.6 Análisis estadístico

La influencia del tipo de microorganismo (*S. aureus*, *P. aeruginosa* y *C. albicans*) y el tipo de tratamiento (membrana AC, membrana ASH, solución AC, solución ASH y controles positivos) en la actividad antimicrobiana fue analizado utilizando un ANOVA de una vía. Los resultados mostraron que hay diferencia altamente significativa entre el diámetro de los halos de inhibición debido al tipo de microorganismo ( $F_{2,30} = 10.37$ ,  $P < 0.01$ ), el tipo de tratamiento ( $F_{4,30} = 65.99$ ,  $P < 0.01$ ) y la interacción entre ambos factores ( $F_{8,18} = 4.18$ ,  $P < 0.01$ ).

## VIII. DISCUSIÓN

### 8.1 Extracción de mucílago de *S. hispanica* L.

El porcentaje de rendimiento obtenido en la extracción de MSH fue menor a la reportada en literatura (Muñoz Hernandez, 2012; Tavares *et al.*, 2018), en donde reportan porcentajes de rendimiento desde 2 hasta 8.7 %. Esto pudo deberse a que las características de la semilla varían de acuerdo a su región de procedencia y la temporada en la que son cosechadas (Coorey *et al.*, 2014; Tunçil & Çelik, 2019).

## 8.2 Pruebas preliminares de electrohilado

En las pruebas preliminares se optó por agregar el polímero guía debido a que la solución de MSH era muy viscosa y no formaba una disolución homogénea, lo que no permitía el paso correcto de la solución polimérica por la aguja del equipo. Esto se solucionó bajando la concentración del MSH en la solución y agregando el polímero guía, en este caso PVA. Este polímero ha sido ampliamente utilizado en los procesos de electrohilado y cuenta con características adecuadas para formar fibras homogéneas y sin presencia de perlas (Cimadoro & Goyanes, 2020; Hussein *et al.*, 2020; Rwei & Huang, 2012; C. Zhang *et al.*, 2005).

Al adicionar el PVA fue posible el procesamiento de la membrana, sin embargo, como se mencionó, aún después de 3 h de proceso, la membrana era muy delgada y eso no permitía la recuperación desde el colector de aluminio.

Debido a esto y al bajo rendimiento obtenido de la extracción de MSH, se optó por solo realizar las membranas con acetato de celulosa y ASH.

## 8.3 Determinación de concentración mínima inhibitoria

Debido a que los valores de concentración mínima inhibitoria utilizando ASH no han sido reportados, se comparó con literatura de un aceite similar, en este caso el aceite de *Helianthus annuus* L., debido a que este aceite contiene ácido caféico y clorogénico (De Leonardis *et al.*, 2003). Estos componentes fenólicos están presentes en el ASH y pueden dar su posible actividad antimicrobiana (Kobus-Cisowska *et al.*, 2019; Oliveira-Alves *et al.*, 2017; Tunçil & Çelik, 2019)

En un estudio previo, el aceite de *Helianthus annuus* L. presentó una CMI de 0.062 % contra *C. albicans* (Tabassum & Vidyasagar, 2014). De igual manera, en otro estudio donde se probó contra *S. aureus* y *P. aeruginosa*, se obtuvieron CMIs de 1.5625 y 3.125 %, respectivamente, mientras que no pudo obtenerse una CMI para *C. albicans* (Shehu Busu *et al.*, 2019).

Al comparar con esta literatura, se observa que la CMI obtenida fue más alta que la requerida para los microorganismos de interés. Esto puede deberse a que, aunque los compuestos fenólicos mencionados anteriormente también están presentes en el

ASH, estos se encuentran en diferente proporción. De igual manera, la región de procedencia de las semillas afecta la composición, inclusive el lote de la muestra.

#### **8.4 Proceso de electrohilado**

A pesar de que existe literatura en donde se utilizan soluciones poliméricas de acetato de celulosa con acetona como solvente para realizar nanofibras (*Chantarodsakun et al.*, 2014; *Liakos et al.*, 2017; *Majumder et al.*, 2020). En el presente trabajo, se tuvo dificultad para el procesamiento debido a que ocurría una solidificación del polímero en la aguja, lo que impedía continuar el proceso de electrohilado. Esto coincide con los reportes en donde mencionan que las soluciones de acetona con acetato de celulosa no pueden electrohilarse fácilmente debido a la rápida obstrucción de las agujas. Además, cabe mencionar que la obstrucción es un problema crítico pero común que se experimenta durante el electrohilado, especialmente cuando se usa un solvente de alta volatilidad para preparar una solución de polímero. Debido a que el punto de ebullición de la acetona es de 56° C, esto puede dar lugar a la evaporación prematura del solvente y causar una obstrucción en la aguja (*Wsoo et al.*, 2020; *Yu et al.*, 2012). Por lo anterior, se optó por cambiar de solvente para elaborar las soluciones poliméricas.

Se consultó literatura en donde se utilizaba ácido acético glacial como solvente para crear desde fibras de tamaño micrométrico hasta nanométrico de acetato de celulosa mediante electrohilado para diversas aplicaciones (*Fu et al.*, 2019; *Meng et al.*, 2020), por lo que se utilizó este, no teniendo problemas de obstrucción de la aguja. Esto puede deberse a que el punto de ebullición del ácido acético es de 117.9° C, no se presentó el problema de la evaporación antes de salir de la aguja, por lo que hubo un proceso de electrohilado continuo. Una vez sometida la solución AC a los parámetros establecidos en el apartado 6.3.3, se observó que solo podían obtenerse fibras entre los voltajes 10 y 17.5 kV a 15 o 20 cm de distancia con un flujo de 1.0 mLh<sup>-1</sup>. Sin embargo, las fibras obtenidas presentaban “perlas”, lo que indicaba que no se estaba dando un proceso de electrohilado adecuado. Debido a esto, se optó por realizar el proceso de electrohilado a 3 voltajes predeterminados dentro de el rango de 10 a 17.5 kV, por lo que se escogieron 13, 14 y 15 kV. Una vez realizado el proceso,

se obtuvieron fibras homogéneas y sin presencia de “perlas” a 13 kV con las distancias entre aguja y colector de 15 y 20 cm y a 14 kV con una distancia de 20 cm, todos a  $1.0 \text{ mLh}^{-1}$ . Sin embargo, se optó por utilizar las condiciones de 15 cm, 13 kV y  $1.0 \text{ mLh}^{-1}$ , debido a que con estas condiciones se requeriría un menor gasto energético. El proceso de electrohilado de esta solución fue de 3 h.

En cuanto a la solución ASH, se probaron las mismas condiciones que en la solución control y sólo se pudieron obtener fibras homogéneas a 15 cm, 13 kV y  $1.0 \text{ mLh}^{-1}$ . Se observó que el proceso de recolección de la membrana con la solución ASH fue más rápida que con la solución AC, ya que el colector se llenó de manera similar con solo 1 h 20 min de procesamiento.

### **8.5 Actividad antimicrobiana contra *S. aureus*, *C. albicans* y *P. aeruginosa***

En la prueba realizada, no se observó actividad antimicrobiana, lo anterior era esperado en la membrana de AC, sin embargo, la falta de actividad en la membrana de ASH pudo deberse a que la concentración del aceite, aunque se adicionó en una concentración correspondiente a dos veces la CMI, al momento de pasar la solución por el proceso de electrohilado y el alto voltaje, esto pudiera haber modificado la composición del aceite y por ende su actividad. Existe literatura que reporta que el electrohilado a menudo requiere condiciones de procesamiento severas, así como el uso de soluciones volátiles, que pueden resultar en la pérdida de actividad de los componentes biológicos incorporados (DeSimone *et al.*, 2020).

Lo anterior puede relacionarse al observar que ambas soluciones antes de ser procesadas por electrohilado sí presentaron actividad, sin embargo, dicha actividad también puede atribuirse a la presencia de ácido acético, ya que el mecanismo de inactivación microbiana por ácidos orgánicos, incluido el ácido acético, implica la entrada de una forma no disociada de ácido orgánico (HA) a través de la membrana celular de acuerdo con el pH intracelular y la disociación en iones ( $\text{H}^+$ ) y ( $\text{A}^-$ ). El protón provoca el aumento de la acidez y el aumento de la acidez del citoplasma conduce al daño celular y la modificación o desnaturalización de enzimas y proteínas estructurales, además de obstaculizar la síntesis de ADN/ARN, y también obliga a la célula a utilizar el ATP para exportar el exceso de iones ( $\text{H}^+$ ) que conduce al

agotamiento de la energía, así impidiendo el crecimiento microbiano y conduciendo a la muerte celular (Bakir *et al.*, 2017; Mani-López *et al.*, 2012; Ricke, 2003). De igual manera, debido a que en la solución de AC había mayor concentración de ácido acético ya que no contenía aceite de *Salvia hispanica* L., esto puede ser el motivo de que esta solución presentara mayor actividad antimicrobiana contra *P. aeruginosa* y *C. albicans*. Sin embargo, debido a que ambas soluciones contienen ácido acético, no puede decirse con certeza si el aceite de *S. hispanica* también influyó en la actividad antimicrobiana obtenida.

Aunque el ácido acético glacial resultó ser una opción viable como solvente para las soluciones para electrohilado, en trabajos que implementan esta técnica ha habido una inquietud sobre la evaporación del solvente. Ya que la potencial aplicación de estos materiales es como apósitos en piel, en caso de que la evaporación fuera solo parcial, causaría irritación o hasta quemaduras en el caso del ácido acético glacial (Doles *et al.*, 2015). Sin embargo, debido a que las membranas no presentaron ningún halo de inhibición contra ninguno de los microorganismos probados, se puede inferir que la evaporación del solvente fue total, sin embargo, se requeriría de pruebas adicionales para poder asegurar que las membranas son adecuadas para su aplicación en piel.

El control positivo (fluconazol) no tuvo actividad antimicrobiana contra *C. albicans*, esto posiblemente debido a que la cepa utilizada es un aislado multirresistente obtenido de un área hospitalaria.

## **IX. CONCLUSIONES**

Se obtuvo un rendimiento de extracción de MSH de 1.59%, lo cual es hasta 5.5 veces menor a lo reportado.

No fue posible trabajar con el MSH para lograr un proceso de electrohilado.

Se obtuvo una concentración mínima inhibitoria de 4% para *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *C. albicans* lo cual es mayor a lo reportado para aceites de composición similar.

Fue posible incorporar el ASH en membranas mediante el proceso de electrohilado.

Las membranas obtenidas de ASH no tuvieron actividad antimicrobiana contra *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *C. albicans*.

## X. PERSPECTIVAS

Debido a la contingencia por el SARS-CoV-2, no fue posible el realizar la caracterización de las soluciones utilizadas para el proceso de electrohilado, así como las membranas obtenidas, por lo que se propone que se continúe con la investigación realizando dichas caracterizaciones mediante características fisicoquímicas como viscosidad, conductividad eléctrica y espectroscopía FTIR, y micrografías con microscopía electrónica de barrido (SEM). También se propone el estudio de citotoxicidad de las membranas utilizando una línea celular de fibroblastos humanos, así como la posible incorporación de otro principio activo u otro método de electrohilado para poder obtener una membrana que presente actividad antimicrobiana.

## XI. BIBLIOGRAFÍA

- Adukwu, E. C., Allen, S. C. H., & Phillips, C. A. (2012). The anti-biofilm activity of lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*) and grapefruit (*Citrus paradisi*) essential oils against five strains of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Applied Microbiology*, *113*, 1217–1227. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05418.x>
- Aramwit, P. (2016). Wound Healing Biomaterials Volume 2: Functional Biomaterials. In *Wound Healing Biomaterials Volume 2: Functional Biomaterials* (pp. 3–12). <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-456-7.00023-4>
- Ardekani, N. T., Khorram, M., Zomorodian, K., Yazdanpanah, S., Veisi, H., & Veisi, H. (2019). Evaluation of electrospun poly (vinyl alcohol)-based nanofiber mats incorporated with *Zataria multiflora* essential oil as potential wound dressing. *International Journal of Biological Macromolecules*, *125*, 743–750.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.085>

- Arias Flores, R., Rosado Quiab, U., Vargas Valerio, A., & Grajales Muñiz, C. (2016). Los microorganismos causantes de infecciones nosocomiales en el Instituto Mexicano del Seguro Social. *Revista Médica Del Instituto Mexicano Del Seguro Social*, 54(1), 20–24.
- Bakir, S., Devecioglu, D., Kayacan, S., Toydemir, G., Karbancioglu-Guler, F., & Capanoglu, E. (2017). Investigating the antioxidant and antimicrobial activities of different vinegars. *European Food Research and Technology*, 243(12), 2083–2094. <https://doi.org/10.1007/s00217-017-2908-0>
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Bernard, M., Jubeli, E., Pungente, M. D., & Yagoubi, N. (2018). Biocompatibility of polymer-based biomaterials and medical devices – Regulations, In Vitro Screening and Risk-Management. *Biomaterials Science*, 6(8), 2025–2053. <https://doi.org/10.1039/C8BM00518D>
- Candido, R. G., Godoy, G. G., & Gonc, A. R. (2017). Characterization and application of cellulose acetate synthesized from sugarcane bagasse. *Carbohydrate Polymers*, 167, 280–289. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.03.057>
- Capitani, M. I., Matus-Basto, A., Ruiz-Ruiz, J. C., Santiago-García, J. L., Betancur-Ancona, D. A., Nolasco, S. M., Tomás, M. C., & Segura-Campos, M. R. (2016). Characterization of Biodegradable Films Based on *Salvia hispanica* L. Protein and Mucilage. *Food and Bioprocess Technology*, 9(8), 1276–1286. <https://doi.org/10.1007/s11947-016-1717-y>
- Chantarodsakun, T., Vongsetskul, T., Jangpatarapongsa, K., Tuchinda, P., Uamsiri, S., Bamrungcharoen, C., Kumkate, S., Opaprakasit, P., & Tangboriboonrat, P. (2014). [6]-Gingerol-loaded cellulose acetate electrospun fibers as a topical carrier for controlled release. *Polymer Bulletin*, 71, 3163–3176.

<https://doi.org/10.1007/s00289-014-1243-x>

- Cimadoro, J., & Goyanes, S. (2020). Reversible swelling as a strategy in the development of smart membranes from electrospun polyvinyl alcohol nanofiber mats. *Journal of Polymer Science*, 58(5), 737–746.  
<https://doi.org/10.1002/pol.20190156>
- Coorey, R., Tjoe, A., & Jayasena, V. (2014). Gelling Properties of Chia Seed and Flour. *Journal of Food Science*, 79(5). <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12444>
- De Leonardis, A., Macciola, V., & Di Rocco, A. (2003). Oxidative stabilization of cold-pressed sunflower oil using phenolic compounds of the same seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(6), 523–528. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1376>
- DeSimone, E., Aigner, T. B., Humenik, M., Lang, G., & Scheibel, T. (2020). Aqueous electrospinning of recombinant spider silk proteins. *Materials Science and Engineering C*, 106. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110145>
- Dias Antunes, M., Silva Dannenberg, G. da, Fiorentini, Â. M., Zanella Pinto, V., Lim, L., Rosa Zavareze, E. da, & Guerra Dias, A. R. (2017). Antimicrobial electrospun ultrafine fibers from zein containing eucalyptus essential oil/cyclodextrin inclusion complex. *International Journal of Biological Macromolecules*, 104, 874–882.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.06.095>
- Doles, W., Wilkerson, G., Morrison, S., & Richmond, R. (2015). Glacial acetic acid adverse events: Case reports and review of the literature. *Hospital Pharmacy*, 50(4), 304–309. <https://doi.org/10.1310/hpj5004-304>
- Ferro, T. A. F., Souza, E. B., Suarez, M. A. M., Pereira, D. M. S., Mendes, S. J. F., Gonzaga, L. F., Bomfim, M. R. Q., Arbiser, J. L., & Fernandes, E. S. (2019). Topical Application of Cinnamaldehyde Promotes Faster Healing of Skin Wounds Infected with *Pseudomonas aeruginosa*. *Molecules*, 24(1627), 1–17.
- Fu, W., Dai, Y., Meng, X., Xu, W., Zhou, J., Liu, Z., Lu, W., Wang, S., Huang, C., & Sun, Y. (2019). Electronic textiles based on aligned electrospun belt-like cellulose acetate nanofibers and graphene sheets: Portable, scalable and eco-friendly strain

- sensor. *Nanotechnology*, 30(4), 1–10. <https://doi.org/10.1088/1361-6528/aaed99>
- García, A., Martínez, C., Juárez, R. I., Téllez, R., Paredes, M. A., Herrera, M. del R., & Giono, S. (2019). Resistencia a meticilina y producción de biopelícula en aislados clínicos de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus coagulasa* negativa en México. *Biomédica*, 39(3).
- Garcia, M., Morello, E., Garnier, J., Barrault, C., Garnier, M., Burucoa, C., Lecron, J. C., Si-Tahar, M., Bernard, F. X., & Bodet, C. (2018). *Pseudomonas aeruginosa* flagellum is critical for invasion, cutaneous persistence and induction of inflammatory response of skin epidermis. *Virulence*, 9(1), 1163–1175. <https://doi.org/10.1080/21505594.2018.1480830>
- Gulati, M., & Nobile, C. J. (2016). *Candida albicans* biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. *Microbes and Infection*, 18(5), 310–321. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2016.01.002>
- Hussein, Y., El-Fakharany, E. M., Kamoun, E. A., Loutfy, S. A., Amin, R., Taha, T. H., Salim, S. A., & Amer, M. (2020). Electrospun PVA/hyaluronic acid/L-arginine nanofibers for wound healing applications: Nanofibers optimization and in vitro bioevaluation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 667–676. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.126>
- Klančnik, A., Piskernik, S., Jeršek, B., & Možina, S. S. (2010). Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts. *Journal of Microbiological Methods*, 81(2), 121–126. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2010.02.004>
- Kobus-Cisowska, J., Szymanowska, D., Maciejewska, P., Kmiecik, D., Gramza-Michałowska, A., Kulczyński, B., & Cielecka-Piontek, J. (2019). In vitro screening for acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibition and antimicrobial activity of chia seeds (*Salvia hispanica*). *Electronic Journal of Biotechnology*, 37, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2018.10.002>
- Kumar, A., & Sinha-Ray, S. (2018). A Review on Biopolymer-Based Fibers via

- Electrospinning and Solution Blowing. *Fibers*, 6(45), 1–53.  
<https://doi.org/10.3390/fib6030045>
- Liakos, I. L., Holban, A. M., Carzino, R., Lauciello, S., & Grumezescu, A. M. (2017). Electrospun Fiber Pads of Cellulose Acetate and Essential Oils with Antimicrobial Activity. *Nanomaterials*, 7(84), 1–10. <https://doi.org/10.3390/nano7040084>
- Liu, Z., Ramakrishna, S., & Liu, X. (2020). Electrospinning and emerging healthcare and medicine possibilities. *APL Bioengineering*, 4(030901), 1–14.  
<https://doi.org/10.1063/5.0012309>
- Majumder, S., Sharif, A., & Hoque, E. (2020). Electrospun Cellulose Acetate Nanofiber: Characterization and Applications. In *Advanced Processing, Properties, and Applications of Starch and Other Bio-based Polymers*. Elsevier Inc.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819661-8.00009-3>
- Mani-López, E., García, H. S., & López-Malo, A. (2012). Organic acids as antimicrobials to control Salmonella in meat and poultry products. *Food Research International*, 45(2), 713–721. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.043>
- Meng, X., Yang, J., Liu, Z., Lu, W., Sun, Y., & Dai, Y. (2020). Non-contact, fibrous cellulose acetate/aluminum flexible electronic-sensor for humidity detecting. *Composites Communications*, 20(April), 1–5.  
<https://doi.org/10.1016/j.coco.2020.04.013>
- Mikaeili, F., & Gouma, P. I. (2018). Super Water-Repellent Cellulose Acetate Mats. *Scientific Reports*, 8(12472), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30693-2>
- Mogoşanu, G. D., & Grumezescu, A. M. (2014). Natural and synthetic polymers for wounds and burns dressing. *International Journal of Pharmaceutics*, 463(2), 127–136. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.12.015>
- Mohammadinejad, R., Maleki, H., Larra, E., Fajardo, A. R., Bakhshian, A., Cabane, E., Azizi, S., Reza, A., Mozafari, M., Mehrali, M., Thomas, S., Mano, J. F., Kumar, Y., & Kumar, V. (2019). Status and future scope of plant-based green hydrogels in biomedical engineering. *Applied Materials Today*, 16, 213–246.

<https://doi.org/10.1016/j.apmt.2019.04.010>

- Mujtaba, M., Koc, B., Martinez, A., Ilk, S., Cansaran-duman, D., Akyuz, L., Selim, Y., Kaya, M., Mahmood, K., Labidi, J., & Bou, S. (2019). Production of novel chia-mucilage nanocomposite films with starch nanocrystals ; An inclusive biological and physicochemical perspective. *International Journal of Biological Macromolecules*, *133*, 663–673. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.04.146>
- Muñoz Hernandez, L. (2012). *MUCILAGE FROM CHIA SEEDS (Salvia hispanica): MICROESTRUCTURE, PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERIZATION AND APPLICATIONS IN FOOD INDUSTRY*. Pontificia Universidad Católica de Chile.
- Oliveira-Alves, S. C., Vendramini-Costa, D. B., Betim Cazarin, C. B., Maróstica Júnior, M. R., Borges Ferreira, J. P., Silva, A. B., Prado, M. A., & Bronze, M. R. (2017). Characterization of phenolic compounds in chia (*Salvia hispanica* L.) seeds, fiber flour and oil. *Food Chemistry*, *232*, 295–305. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.002>
- Peng, L., Li, H., & Meng, Y. (2016). Layer-by-layer structured polysaccharides-based multilayers on cellulose acetate membrane : Towards better hemocompatibility , antibacterial and antioxidant activities. *Applied Surface Science*, *401*, 25–39. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2016.12.235>
- Rebelo, R., Fernandes, M., & Fangueiro, R. (2017). Biopolymers in Medical Implants : A Brief Review. *Procedia Engineering*, *200*, 236–243. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2017.07.034>
- Ricke, S. C. (2003). Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. *Poultry Science*, *82*(4), 632–639. <https://doi.org/10.1093/ps/82.4.632>
- Rincón León, H. A., & Navarro Fuentes, K. R. (2016). Tendencias de resistencia antimicrobiana en patógenos aislados de infecciones nosocomiales. *Revista Médica Del Instituto Mexicano Del Seguro Social*, *54*(1), 32–41.
- Rodríguez Salgado, M. (2018). *Frecuencia de infecciones asociadas a la atención de la*

*salud en los principales sistemas de información de México.*

- Rwei, S. P., & Huang, C. C. (2012). Electrospinning PVA solution-rheology and morphology analyses. *Fibers and Polymers*, 13(1), 44–50.  
<https://doi.org/10.1007/s12221-012-0044-9>
- Sayed, A. J., Deshmukh, N. A., & Pinjari, D. V. (2019). A critical review of manufacturing processes used in regenerated cellulosic fibres: viscose , cellulose acetate , cuprammonium , LiCl / DMAc , ionic liquids , and NMMO based lyocell. *Cellulose*, 26(5), 2913–2940. <https://doi.org/10.1007/s10570-019-02318-y>
- Shehu Busu, M., Yakubu, aba, Lawal Zubairu, H., Rabi Aishat, S., Ijele, I. G., Raji Abdulmumin, A., & Adigwe, P. O. (2019). Antimicrobial, Phytochemical and Crude Lipid Content of Sunflower (*Helianthus annuus*) and Coconut (*Cocos nucifera*) Oils. *ASJ International Journal of Advances in Scientific Research and Reviews (IJASRR)*, 04(03), 121–128.  
[www.academiascholarlyjournal.org/ijasrr/index\\_ijasrr.htm](http://www.academiascholarlyjournal.org/ijasrr/index_ijasrr.htm)<http://www.drji.org>
- Tabassum, N., & Vidyasagar, G. . (2014). In vitro antimicrobial activity of edible oils against human pathogens causing skin infections. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(10), 4493–4498.  
[https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.5\(10\).4493-98](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.5(10).4493-98)
- Tavares, L. S., Junqueira, L. A., de Oliveira Guimarães, Í. C., & de Resende, J. V. (2018). Cold extraction method of chia seed mucilage (*Salvia hispanica* L.): effect on yield and rheological behavior. *Journal of Food Science and Technology*, 55(2), 457–466. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2954-4>
- Trinca, R. B., Westin, C. B., da Silva, J. A. F., & Moraes, Â. M. (2017). Electrospun multilayer chitosan scaffolds as potential wound dressings for skin lesions. *European Polymer Journal*, 88, 161–170.  
<https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2017.01.021>
- Tunçil, Y. E., & Çelik, Ö. F. (2019). Total phenolic contents, antioxidant and antibacterial activities of chia seeds (*Salvia hispanica* L.) having different coat

- color. *Akademik Ziraat Dergisi*, 8(1), 113–120.  
<https://doi.org/10.29278/azd.593853>
- Ullah, R., Nadeem, M., Khaliq, A., Imran, M., Mehmood, S., Javid, A., & Hussain, J. (2016). Nutritional and therapeutic perspectives of Chia (*Salvia hispanica* L.): a review. *Journal of Food Science and Technology*, 53(4), 1750–1758.  
<https://doi.org/10.1007/s13197-015-1967-0>
- Valdivia-López, M. Á., & Tecante, A. (2015). Chia (*Salvia hispanica*): A Review of Native Mexican Seed and its Nutritional and Functional Properties. In *Advances in Food and Nutrition Research* (1st ed., Vol. 75). Elsevier Inc.  
<https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2015.06.002>
- Valencia Gomez, L. E., Martel Estrada, S. A., Vargas Requena, C. L., Rodriguez González, C. A., & Olivas Armendariz, I. (2016). Apósitos de polímeros naturales para regeneración de piel. *Revista Mexicana de Ingeniería Biomédica*, 37(3), 235–249.
- Wsoo, M. A., Shahir, S., Mohd Bohari, S. P., Mat Nayan, N. H., & Abd Razak, S. I. (2020). A review on the properties of electrospun cellulose acetate and its application in drug delivery systems: A new perspective. *Carbohydrate Research*, 491, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2020.107978>
- Yu, D., Yu, J., Chen, L., Williams, G. R., & Wang, X. (2012). Modified coaxial electrospinning for the preparation of high-quality ketoprofen-loaded cellulose acetate nanofibers. *Carbohydrate Polymers*, 90(2), 1016–1023.  
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.06.036>
- Zhang, C., Yuan, X., Wu, L., Han, Y., & Sheng, J. (2005). Study on morphology of electrospun poly(vinyl alcohol) mats. *European Polymer Journal*, 41(3), 423–432.  
<https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2004.10.027>
- Zhang, W., Ronca, S., & Mele, E. (2017). Electrospun Nanofibres Containing Antimicrobial Plant Extracts. *Nanomaterials*, 7(2), 1–17.  
<https://doi.org/10.3390/nano7020042>