

# INVESTIGACIONES EN FACULTADES DE INGENIERÍA DEL NOA

---



**FACULTAD DE  
CIENCIAS FORESTALES**  
*Ing. Néstor René Ledesma*



**FE** Facultad de Ciencias  
Exactas y Tecnologías



Universidad Nacional de Salta  
**FACULTAD DE  
INGENIERIA**



Facultad de  
**Agronomía y  
Agroindustrias**  
Universidad Nacional de Santiago del Estero



**FACULTAD DE  
INGENIERIA**  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE JUJUY



## **Autoridades**

**Facultad de Tecnología y Ciencias Aplicadas - Universidad Nacional de Catamarca**  
Ingeniero Agrimensor Carlos Humberto SAVIO

**Facultad de Ingeniería - Universidad Nacional de Jujuy**  
Ingeniero Metalúrgico Gustavo Alberto Lores

**Facultad de Ingeniería - Universidad Nacional de Salta**  
Ingeniero en Construcciones Héctor Raúl Casado

**Facultad de Ciencias Exactas y Tecnologías - Universidad Nacional de Santiago del Estero**  
Ingeniero Vial Pedro Juvenal Basualdo

**Facultad de Agronomía y Agroindustrias - Universidad Nacional de Santiago del Estero**  
Doctora Ingeniera en Industrias Agrícolas y Alimentarias Myriam Elizabeth Villarreal

**Facultad de Ciencias Forestales - Universidad Nacional de Santiago del Estero**  
Doctor Ingeniero en Industrias Forestales Juan Carlos Medina

**Facultad de Ciencias Exactas y Tecnología - Universidad Nacional de Tucumán**  
Doctor Ingeniero Electricista Miguel Angel Cabrera

## **Editor**

Santapaola, Julia Eleonora

## **Comité Organizador**

### **Secretarios de Ciencia y Técnica de las Facultades integrantes del CODINOA**

Acosta, Delicia

Benac, María José

Cañas, Martha

Lopez, Gloria

Manzano, Eduardo

Rizo Patrón, Marcia

Rodríguez, Ivan

Santapaola, Julia Eleonora

Sarmiento, Miguel

Vicente, María Soledad

## **Colaboradores**

Martínez, Daniel

Salvador, Romina Daniela

## **Diseño**

Martínez, Daniel

## **Compaginación**

Martínez, Daniel

Salvador, Romina Daniela

## Comité Científico Evaluador

Ahumada, Hernán César	UNCA
Almirón, Analía	UNCAUS
Andrada, Oscar	UNCA
Acosta, Carina Andrea	UNSE
Albarracín, Leonardo Miguel	UNT
Araujo, Paula	UNT
Arias Figueroa, Daniel	UNSA
Ayala, Myriam	UNF
Barrionuevo, Selva Azucena	UNSE
Barrionuevo, María Julia	UNT
Bazzano, Flavia Marcela	UNT
Bertuzzi, María Alejandra	UNSA
Bevacqua, Cristian Ignacio	UNCA
Brand, Cecilia	UNP
Bravo, Álvaro Javier	UNT
Budán, Paola	UNSE
Cabana, Roxana del Carmen	UNJU
Cañas, Martha Susana	UNCA
Chalabe, Susana Angélica	UNJu
Cheein de Auat, Nori Esther	UNSE
Colombo, Marcela	UNT
Coronel, Eve Liz	UNSE
Demaio Pablo	UNCA
D Urso, Carlos Humberto	UNT
Erdmann, Eleonora	UNSA
Eremchuk, Jorge Enrique	UNCA
Fernández, Norma Beatriz	UNSE
Fernández, Gabriela	UNJU
Ferrari, Ricardo	UNT

Ferreya, Arturo Lorenzo	UNCA
Frau, Silvia Florencia	UNSE
Galiano, José Eduardo	UNSE
Gastaminza, Gerardo	UNT
Generoso, Silvina Marcela	UNSE
Giunta, Sandra Adriana	UNJU
Godoy, Carlos Eduardo	UNSE
Gómez, Sofía Gabriela	UNCA
Gómez, Patricia E.	UNCA
Gómez Marigliano, Ana Clelia	UNT
Guillén, Silvia	UNT
Gulotta, Marta Rosalía	UNSE
Guzmán, María Fernanda	UNT
Heredia, Diego Leonardo	UNCA
Herrera, Carlos Gabriel Rosa	UNCA
Herrera, Walter Edgardo	UNCA
Herrera, Susana	UNSE
Hilal, Mirna Beatriz	UNT
Ingaramo, Alejandra Patricia	UNT
Irahola Ferreyra, Jaime Alfonso	UNJU
Joseau, María Jacqueline	UNC
Juárez, Carlos Ramón	UNSE
Keil, Gabriel	UNLP
Korzeniewski, María Isabel	UNCA
Kulemeyer, Julio José	UNJu
Lazarte, Ivanna Maricruz	UNCA
Leguiza, Pedro Daniel	UNCAUS
Lobo, Manuel Oscar	UNJU
Lobo, Ada Patricia	UNCA
López, Gloria	UNCA
Luna Pizarro, Patricia del Carmen	UNJU

Madregal, Sergio Omar	UNJU
Mainardi, Victoria	UNT
Maldonado, Marta Silvina	UNJU
Maro, Guadalupe	INECOA (CONICET-UNJU)
Martel, Eduardo	UNT
Martín, Guillermo O. (h)	UNT
Martínez, Sergio Luis	UNJU
Medrano, José Federico	UNJU
Mele, Fernando Daniel	UNT
Montserrat, Susana	UNT
Moya, María de las Mercedes	UNSA
Nediani, Miriam Teresa	UNSE
Nieva, Eugenia	UNCA
Ocampo, Alejandra Irupe	UNCA
Oller Aramayo, Sergio	UNSA
Olmos, Luis Alejandro	UNSE
Ortin Vujovich, Adriana	UNSA
Ortiz, Erlinda del Valle	UNCA
Palazzi, Silvia	UNT
Panico, Adriana Fátima	UNT
Parentis, Mónica Liliana	UNSA
Pérez, Carolina	UNLP
Quinzio, Claudia Marcela	UNSE
Ramón, Adriana	UNSA
Rigali, Silvina Luján	UNSE
Robles, Norma Ines	UNT
Rodríguez, Andrés	UNC
Rodríguez, Silvia del Carmen	UNSE
Rodríguez, Iván	UNSA
Rodríguez de Zar, Mirtha I.	UNCA
Roldán, Teresita del Valle	UNCA

Salas, Liliana Beatríz	UNCA
Salvatierra, Nancy Alicia	UNC
Samman, Norma	UNJU
Sánchez Reinoso, Carlos	UNCA
Santapaola, Julia Eleonora	UNJU
Slavutsky, Aníbal	UNSA
Spavento, Eleana	UNLP
Tarifa, Enrique Eduardo	UNJU
Tarifa, Héctor Ramón	UNJU
Tereschuk, María Laura	UNT
Torres Auad, Lía Fabiana	UNT
Valdeón, Daniel	UNT
Vera, Francisco Javier	UNSE
Vilallonga, Gabriel Domingo	UNCA
Vituro, Carmen Inés	UNJU
Zacur Martínez, José Luis	UNJU
Zalazar, Martín	UNER
Zeman, Claudia	UNSE
Zossi, Marta María	UNT

## Prólogo

La Revista “Investigaciones en Facultades de Ingeniería del NOA” es editada a partir del año 2005 con los trabajos completos presentados en las Jornadas de Ciencia y Tecnología de Facultades de Ingeniería del NOA. Estas Jornadas se generan por iniciativa del Consorcio de Decanos de Ingeniería del Noroeste Argentino (CODINOA) formado por las Facultades de Ingeniería de las Universidades Nacionales de Jujuy y Salta, las Facultades de Ciencias Exactas y Tecnologías, de Ciencias Forestales y de Agronomía y Agroindustria de la Universidad Nacional de Santiago del Estero, la Facultad de Ciencias Exactas y Tecnología de la Universidad Nacional de Tucumán y la Facultad de Tecnología y Ciencias Aplicadas de la Universidad Nacional de Catamarca. Son de carácter multidisciplinario permitiendo la convergencia de áreas del conocimiento relacionadas con ingeniería, ciencias exactas y tecnología, en un mismo foro académico regional de profesionales, docentes, investigadores, estudiantes de grado y postgrado.

En el año 2020, debido a la pandemia por COVID-19, no se pudieron realizar las XV Jornadas de Ciencia y Tecnología de Facultades de Ingeniería del NOA que estaban planificadas para realizarse en la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Salta. De todas maneras, el Consorcio CODINOA acordó impulsar la realización de un número especial de la Revista “Investigaciones en Facultades de Ingeniería del NOA” a fin de dar continuidad a nuestra actividad y mostrar a la sociedad parte de los esfuerzos que realizamos en cada unidad académica para superar estos tiempos extraordinarios, y así es como surge el Número 6 (2020) de la misma.

Para esta especial ocasión se hizo una convocatoria, a través de los Secretarios y Secretarías de Ciencia y Técnica de las Facultades partícipes, a la presentación de trabajos originales según las áreas temáticas que existen en las Jornadas de Ciencia y Tecnología de Facultades de Ingeniería del NOA: Gestión de la Educación en Ingeniería, Ciencias Básicas de la Ingeniería, Tecnologías Básicas y Aplicadas, Computación e Informática, Forestal, Agronomía y Alimentos, Ciencias de la Tierra y Ambiente.

Los trabajos tuvieron un proceso de evaluación de doble referato. Para la Revista Número 6 fueron aprobados 78 trabajos completos y participaron 114 evaluadores de distintas especialidades.

Los integrantes de las Secretarías de Ciencia y Técnica y las Autoridades de las Facultades que forman el Consorcio CODINOA agradecemos a los autores de los trabajos de la presente revista, a los profesionales que participaron como Miembros del Comité Evaluador por su ardua y desinteresada tarea y a todos aquellos que colaboraron directa e indirectamente en esta realización.

Dra. Ing. Julia E. Santapaola  
**Secretaría de Ciencia y Técnica**  
**Facultad de Ingeniería**  
**Universidad Nacional de Jujuy**

## Índice

### Ambiente

Degradación de plásticos expuestos a agentes físicos naturales en San Salvador de Jujuy.....	15
Mejoras en la captura de CO <sub>2</sub> en sólido mesoporoso.....	23
Valoración de los servicios ecosistémicos del paisaje urbano-periurbano (sur) de la ciudad de La Banda.....	31
Análisis socio-ambiental de un proyecto de una planta fotovoltaica de 200Mw en Amaicha del Valle, Tucumán.....	39
Síntesis de TiO <sub>2</sub> . Efecto de las variables de síntesis en la actividad fotocatalítica.....	47
Respuesta de ensambles de macroinvertebrados bentónicos a la presencia de un dique derivador: análisis preliminar.....	53
Biomarcadores de estrés oxidativo en el líquen <i>Parmotrema austrosinense</i> expuesto a tránsito vehicular .....	61
Desarrollo sostenible de la actividad minera en Jujuy.....	71
La evolución del concepto huella hídrica como herramienta de gestión sustentable del agua.....	79
Análisis del contenido de carbono de la madera muerta en bosques del Departamento Copo, Santiago del Estero, Argentina.....	87
Evaluación técnica de la lixiviación de pilas alcalinas agotadas con solución de ácido sulfúrico de baterías usadas.....	95
Los “boldos” y “buscapinas” empleados en medicina doméstica en Santiago del Estero (Argentina) .....	105
Relevamiento de precios y corrientes de residuos sólidos urbanos demandados por el mercado del reciclaje en Santiago del Estero.....	115
Conocimiento popular de epífitas y parásitas forrajeras en Santiago del Estero, Argentina.....	121
Glicerina como co-sustrato en compostaje y biometanización de residuos biodegradables.....	129
Colector solar tubular heat pipe para el calentamiento de aire.....	139
Efecto del pH sobre la lixiviación de los iones mayoritarios de una muestra de residuo de construcción (revoque).....	145

## Ciencia de la Tierra

Hidrogeomorfología de la localidad de La Puerta- Banda Sur, Departamento Ambato, Catamarca .....	157
Evaluación del modelo geopotencial XGM2019e basado en datos de observación GOCE para la región de Santiago del Estero.....	165
Experiencia aerofotogramétrica con la tecnología VANT en Villa La Punta, Santiago del Estero.....	173
Análisis morfométrico de la cuenca del río El Tala, Catamarca, Argentina.....	181
Análisis de Lluvias Intensas en la Provincia de Santiago del Estero.....	189
Aplicación de SRTM 90 m, ALOS World 3D – 30 m y TanDEM-X 90 m en la provincia de Santiago del Estero.....	199
Aplicación del Modelo Hidrológico SWAT a la Planificación Hídrica de Cuencas del NOA. Caso práctico: Cuenca Salí-Dulce.....	207
Utilización de instrumental tecnológico para el monitoreo de las variaciones piezométricas en el acuífero aluvial de la quebrada del río Pomán – Catamarca - Argentina.....	215

## Ciencias Básicas de la Ingeniería

Experiencia Innovadora en enseñanza y evaluación en Ingreso en Física.....	223
Experiencias de laboratorio de Física Nuclear en aislamiento.....	231
Aplicación de descriptores locales de reactividad al estudio de la transferencia de grupos acilos catalizada por H-ZSM-5.....	239
Mejoras en el tratamiento del Diseño bajo Incertidumbre en Ingeniería Química.....	249
Influencia de la relación Si/Al y la temperatura en una reacción de transesterificación catalizada por zeolita H-ZSM-5.....	257
Diseño de dispositivo para deposición metálica homogénea.....	265
Transformando nuestras prácticas docentes en la virtualidad, en el marco del Aprendizaje Centrado en el Estudiante.....	275

## Computación e Informática

Experiencia de aprendizaje activo usando el método de aula invertida.....	285
Experiencia de enseñanza virtual de la asignatura Redes de Área Extendida.....	293
Modelo clasificador de documentos científicos aplicando minería de texto .....	303

Análisis Exploratorio sobre COVID-19 a partir de publicaciones científicas en <i>Microsoft Academic</i> empleando Modelado Temático.....	309
Almacenamiento a perpetuidad de registros de auditoría de una infraestructura de red.....	317
Hacia una propuesta de diseño de Interfaz centrado en el usuario para promover creatividad desde el enfoque de las Neurociencias.....	325

### **Forestal, Agronomía y Alimento**

Sondeo del consumo familiar de frutas y verduras en barrios de San Salvador de Jujuy durante el aislamiento por Covid-19.....	337
Implementación de un método colorimétrico para cuantificación de hierro en alimentos de hojas verdes.....	345
Efecto de la incorporación de proteínas de lactosuero y fructanos sobre la textura de quesos procesados untables de leche de cabra.....	353
Evaluación de conocimientos en elaboradores de alimentos sobre riesgos de salud por consumo de sodio.....	361
Modelado por homología de la enzima beta-galactosidasa de bacterias lácticas de interés biotecnológico.....	369
Estimación de la vida útil de rúcula tratada con UV-C y ozono a través del ajuste a modelos matemáticos de parámetros críticos.....	375
Efecto de la fertilización nitrogenada en el rendimiento de <i>Mentha spicata</i> L., de diferentes edades cultivada en Santiago del Estero .....	385
Desarrollo de barras energéticas con materias primas con propiedades funcionales...	391
Evaluación de la aceptabilidad de un alimento horneado elaborado con materia prima regional.....	399
Empleo de acoplamiento molecular para análisis comparativo de enzimas $\beta$ -galactosidasa de bacterias lácticas.....	405
Alteraciones fisiológicas en <i>Prosopis nigra</i> por glifosato.....	413
Evaluación de la nodulación con cepas nativas en cultivos de alfalfa ( <i>Medicago sativa</i> L.) en Atamisqui, Santiago del Estero.....	419
Evaluación de cultivares de trigo ( <i>Triticum aestivum</i> L.) y sorgo granífero ( <i>Sorghum</i> spp) en el área de riego de Santiago del Estero.....	427
Determinación del coeficiente de difusión efectivo de fideos libres de gluten a partir de la cinética de secado convectivo.....	433
Evaluación de la concentración nutricional óptima de la solución de riego en plántulas de chía ( <i>Salvia hispanica</i> L.).....	439

## Gestión de la Educación en Ingeniería

Laboratorio en casa: experiencias de química con materiales caseros.....	449
Una experiencia con estudiantes de Ingeniería Química de Tucumán, enseñanza remota en tiempos del COVID-19.....	457
La formación por competencias en carreras de ingenierías de la Universidad Nacional de Santiago del Estero.....	465
Integración de las TIC en la modalidad presencial y virtual en la Facultad de Tecnología y Ciencias Aplicadas.....	473
Rediseño del Programa de Probabilidad y Estadística de carreras de Ingeniería para potenciar el aprendizaje por competencias.....	481
Repensando paradigmas educativos en tiempos de pandemia.....	491
Trabajo colaborativo virtual para simular la futura actividad profesional de los ingenieros.....	499
La competencia comunicativa en laboratorio en tiempos de pandemia.....	507
Dictado virtual de una materia del ciclo superior de Ingeniería Química.....	515
El desafío de la Educación remota de Emergencia: análisis de experiencias en la FACET.....	525
Diseño de propuestas pedagógicas virtuales en tiempos de pandemia.....	535

## Tecnologías Básicas y Aplicadas

La lecto-comprensión en inglés: una competencia genérica en carreras de Ingeniería.....	545
Caracterización de hidrogeles para uso en envases activos. Una alternativa para el agregado de valor al cultivo de papas andinas.....	551
Degradación fotocatalítica de compuestos orgánicos utilizando titanía modificada activa bajo luz visible .....	559
Análisis de la vida residual de un conjunto industrial ventilador-eje para extracción de gases, en contexto de riesgo y sustentabilidad.....	567
Análisis electromiográfico y funcional de la musculatura del tronco en ejercicios isométricos.....	573
Síntesis, Caracterización y Actividad fotocatalítica de $\text{TiO}_2$ depositada sobre $\text{SiO}_2 - \text{Fe}_3\text{O}_4$ .....	581
Impacto de la refrigeración en el rendimiento de una columna de carbonatación.....	589

Separación de CO <sub>2</sub> /N <sub>2</sub> : evaluación experimental de materiales adsorbentes y diseño conceptual del ciclo de adsorción.....	597
Nueva alternativa para soportar nanopartículas de TiO <sub>2</sub> -N <sub>2</sub> - Evaluación en fotocatalisis heterogénea promovida bajo luz visible.....	605
Desarrollo de scaffolds dermatológicos de Policaprolactona y sobrenadante de <i>Lactobacillus plantarum</i> mediante electrospinning.....	611
Desarrollo de sistema de medición de energía eléctrica.....	619
Estudio de remoción de azul de metileno a partir hidrogeles a base de pectina, goma brea y montmorillonita.....	629
Electrodeposición de Polianilina sobre mantas de acero inoxidable recubiertas con Policaprolactona y nanotubos de carbono para la fabricación de sustratos conductores.....	639
Diseño de un equipo esterilizador eficiente de aire.....	647

## Desarrollo de scaffolds dermatológicos de Policaprolactona y sobrenadante de *Lactobacillus plantarum* mediante electrospinning

Rodriguez, Gabriela<sup>1</sup>; Socci, Cecilia<sup>1</sup>; Perez Ibarreche Mariana<sup>1</sup> S; Ponce, Natalia<sup>1</sup>; Aguilar, Javier<sup>2</sup>; Rodriguez, Andrea P<sup>1</sup>; Valdez Juan C.<sup>3</sup>

(1) *Laboratorio de Medios e Interfases, Departamento de Bioingeniería, Universidad Nacional de Tucumán, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Tucumán, Argentina; gabrielarodriguez.86.gr@gmail.com*

(2) *Instituto de Virología "Dr. J.M. Vanella", Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina*

(3) *Cátedra de Inmunología, Facultad de Bioquímica, Química, Farmacia y Biotecnología, Instituto de Microbiología, Universidad Nacional de Tucumán, Tucumán, Argentina*

### RESUMEN

Las úlceras de pie diabético son un tipo de heridas crónicas susceptibles a infecciones bacterianas productoras de biofilm, refractarias a los antibióticos y antisépticos. Por otro lado, el sobrenadante de *Lactobacillus plantarum* (SNLP) en úlceras venosas reduce el tiempo de cicatrización, disminuyendo significativamente la carga bacteriana. Por ello, podría ser una buena alternativa terapéutica para heridas crónicas. La Policaprolactona (PCL) es un polímero biocompatible, biodegradable y con excelentes propiedades mecánicas, cuya eficacia en aplicaciones dermatológicas ha sido ampliamente demostrada. La técnica de electrospinning, permite fabricar nanomembranas poliméricas con diferentes grados de porosidad según la aplicación biomédica. Nuestro objetivo es fabricar un scaffold de PCL mediante electrospinning con la incorporación de SNLP por emulsión (PCL+SNLP), analizar su morfología macroscópica, estudiar su efecto antimicrobiano y viabilidad celular con fibroblastos InViv1, usando las técnicas sugeridas por la norma ISO-10993-5. Nuestros resultados indicaron la incorporación del SNLP por el aspecto amarillento de las nanofibras del scaffold. También hubo efecto antimicrobiano, sin encontrarse diferencia significativa, salvo para PCL+SNLP 8% y PCL+SNLPTween 2%. En cuanto a la respuesta de viabilidad celular, fue por encima del 80% para todos los grupos. Concluimos que este biomaterial es adecuado para los primeros estadios de las curaciones de heridas crónicas.

Palabras claves: electrospinning - ulcera de pie diabético – policaprolactona – *Lactobacillus plantarum*

### ABSTRACT

Diabetic foot ulcers are a chronic wound type susceptible to biofilm-producing bacterial infections, refractory to antibiotics and antiseptics. On the other hand, *Lactobacillus plantarum* supernatant (SNLP) in venous ulcers reduces the healing time, significantly reducing the bacterial load. Therefore, it could be a good therapeutic alternative for chronic wounds. Polycaprolactone (PCL) is a biocompatible, biodegradable polymer with excellent mechanical properties, whose effectiveness in dermatological applications has been widely demonstrated. The electrospinning technique makes it possible to manufacture polymeric nanomembranes with different porosity degrees depending on the biomedical application. Our aim is to manufacture a PCL scaffold by electrospinning with the incorporation of SNLP by emulsion (PCL+SNLP), to analyze its macroscopic morphology, to study its antimicrobial effect and cell viability with InViv1 fibroblasts, using the techniques suggested by ISO-10993-5 standard. Our results indicated the incorporation of SNLP due to the yellowish appearance of the scaffold nanofibers. There was also an antimicrobial effect, without finding a significant difference, except for PCL+SNLP 8% and PCL+SNLPTween 2%. Regarding the cell viability response, it was above 80% for all groups. We conclude that this biomaterial is suitable for the early stages of chronic wound healing.

Keywords: electrospinning – ulcer foot – polycaprolactone – *Lactobacillus plantarum*

## 1. INTRODUCCIÓN

La Diabetes Mellitus (DM) es una de las enfermedades crónicas más comunes en el mundo y actualmente que se encuentra en estado de emergencia. En la actualidad, 415 millones de personas son afectadas a nivel mundial, 193 millones no están diagnosticadas y 318 millones padecen intolerancia a la glucosa con riesgo de desarrollar DM en algún momento de su vida. Se espera que este número incremente para el 2040 (Federación Internacional de la Diabetes, 2015). La úlcera de pie diabético (UPD) es una de las afecciones como consecuencia de la DM. Se desarrolla a partir de la neuropatía motora y sensorial que presentan los pacientes, causando deformidad en el pie y pérdida sensorial. También se produce secado en la piel por la neuropatía autónoma por lo que por traumatismo se produce lesiones que luego erosionan dando lugar a las ulceraciones (Armstrong, 2017). Otra de las secuelas, es la aterosclerosis en los vasos sanguíneos de los miembros inferiores comprometiendo la circulación y favoreciendo las infecciones. Esta es la razón por la cual, la cicatrización es un proceso a largo plazo conduciendo a necrosis y gangrenas (Oliver, 2020). A consecuencia de ello, la UPD es una de las mayores causas de amputaciones no traumáticas y se estima que se produce una cada 30 segundos a nivel global (Gregg et al., 2018). Los tratamientos existentes como el desbridamiento quirúrgico, adyuvantes y otras terapias, resultan costosas y no lo suficientemente efectivas. Sin embargo, nuestro equipo ha observado que el tratamiento con *Lactobacillus plantarum* en heridas producidas por quemaduras y en úlceras venosas crónicas reduce el tiempo de cicatrización, por la disminución de la carga bacteriana (Peral et al., 2009; Valdéz et al., 2005) la generación de tejido de granulación y epitelización (Peral, et al., 2010; Valdez et al., 2014). Por otro lado, tecnologías como el electrospinning se ha considerado una técnica eficaz para producir fibras poliméricas a escala nanométrica. Sus principales ventajas incluyen: controlar la composición de nanofibras para lograr la propiedad deseada, disminuir los efectos adversos de los medicamentos sistémicos y crear una concentración efectiva de fármaco en el área

dañada. Además, debido a la alta relación superficie-volumen, la carga de enzimas y otros agentes biológicos se puede lograr fácilmente (Bayat et al., 2019). Así mismo, es una técnica simple, versátil y de bajo costo con la cual se puede utilizar polímeros naturales y sintéticos, como así también distintas combinaciones de estos (Pant et al., 2019). En nuestro laboratorio, hemos diseñado y validado un equipo de electrospinning (Nasrallah, 2013; Masino, 2012) para la fabricación de scaffolds poliméricos. La policaprolactona (PCL), es un biomaterial biocompatible con excelentes propiedades mecánicas, cuya eficacia en aplicaciones dermatológicas ha sido ampliamente demostrada (Rajzer et al., 2014). Otra ventaja que posee debido a su propiedad biodegradable, convierten al PCL en un polímero de uso común en varios dispositivos aprobados por la Administración de Drogas y Alimentos (FDA) de EE. UU (Felice et al., 2018). Por esta razón, el objetivo de este trabajo es fabricar un scaffold de PCL utilizando la técnica de electrospinning con sobrenadante de *Lactobacillus plantarum* (SNLP) incorporado por el método de emulsión (PCL+SNLP), y determinar la morfología de sus fibras. Además, se analizará la actividad antimicrobiana del scaffold fabricado y su viabilidad celular.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Incorporación del SNLP a las soluciones de PCL para la fabricación de scaffolds de PCL con SNLP

**Obtención del SNLP:** Se cultivó la cepa de *L. plantarum* ATCC 10241 en medio líquido MRS (Man Rogosa Sharpe) a 37°C sin agitación durante 8 horas, luego se centrifugó a 7000 rpm durante 15 minutos a 15°C. Se recuperó el SNLP y se filtró a través de un filtro millipore de 0,22 µm de poros para eliminar las bacterias restantes del sobrenadante. Finalmente, se liofilizó para luego preparar las soluciones a distintas concentraciones del mismo.

**Emulsión para las soluciones de PCL+SNLP:** Primeramente, se preparó solución PCL solo (Mn, 80000 Sigma-Aldrich USA) al 8% p/v en Dimetilformamida (Cicarelli, Argentina) y cloroformo (Cicarelli, Argentina) con una

relación 80:20. Luego, se prepararon las soluciones de PCL al 8% con el agregado de SNLP (PCL+SNLP) a distintas concentraciones para la fabricación de los scaffolds. En la tabla 1 se describe las distintas preparaciones. A su vez se prepararon soluciones de PCL+SNLP con las mismas concentraciones, pero adicionándoles a cada una Tween 80 al 0,4% (8,2 ul), para de esta forma, determinar una mejor emulsión entre el PCL y el SNLP de cada una de ellas. De esta forma, los grupos quedan conformados de la siguiente manera: PCL solo como grupo control, PCL+SNLP al 2, 4, 6, 8 y 10% como grupo experimentales.

Tabla 1. Preparación de soluciones de PCL con distintas concentraciones de SNLP

Gramos de SNLP liofilizado	µL de agua destilada	µL SNLP agregados a cada sol de PCL 8%	Concentración final de SNLP (%)
0,41	500	50	2
0,82	500	50	4
1,23	500	50	6
1,64	500	50	8
2,05	500	50	10

### 2.2 Fabricación de scaffolds de PCL+SNLP mediante electrospinning

Los scaffolds de nanofibras fueron fabricados utilizando la técnica de electrospinning (figura 1A). La mezcla de las distintas soluciones, fueron homogeneizadas durante 24 hs con agitador magnético. A continuación, cada una de ellas fueron cargadas en una jeringa de 5 mL. Se aplicó una diferencia de potencial de 8 kV, que genera un campo eléctrico entre la aguja metálica y la placa colectora, cuya distancia entre uno y otro fue de 15 cm. Las nanofibras del scaffold de PCL sin SNLP poseen un diámetro uniforme a lo largo de sus estructuras, con superficies lisas y obtenidas a partir de haces estables en el tiempo, sin haces secundarios observables (imágenes SEM tomadas con el equipo Zeiss Supra 55VP perteneciente al CIME (Centro Integral de Microscopia Electrónica) dependiente del CONICET, Tucumán (figura 1.B).

### 2.3 Análisis macroscópico de los scaffolds de PCL+SNLP

Para determinar el aspecto macroscópico de los scaffolds de cada grupo, se realizaron fotografías a 20 cm de distancia de la muestra con iluminación natural.

### 2.4 Efecto antimicrobiano de los scaffolds de PCL+SNLP

Se realizó una curva control del efecto antimicrobiano sobre las distintas concentraciones de SNLP (2, 4, 6, 8 y 10%). Para ello, se colocó en una caja de Petri 10 mL de medio LB agar blando y 50 µL de una suspensión bacteriana de *S. aureus* que corresponde al tubo n° 0,5 de la escala McFarland ( $1,5 \times 10^8$  UFC/mL). Luego, se tomaron 10 µL de cada una de las soluciones madre del SNLP y se sembraron por duplicado en cajas de Petri. Por último, incubaron a 37°C durante 24 horas para observar los resultados.

Para determinar el efecto antimicrobiano de los scaffolds, se preparó un inóculo inicial de *Staphylococcus aureus* en medio LB incubado overnight a 37°C. Luego, se tomó una alícuota de 100 µL del inóculo de una suspensión bacteriana que corresponde al tubo n° 0,5 de la escala McFarland ( $1,5 \cdot 10^8$  UFC/mL) y se la colocó en 900 µL de medio LB en un tubo eppendorf estéril, se agitó y se tomaron de esta suspensión 100 µL que se colocaron en nuevos tubos eppendorf estériles que contenían 900 µL de medio LB a los cuales, luego de agitarlos, se les adicionó un fragmento de scaffolds de 18 x 18 mm que previamente se esterilizaron mediante UV durante

15 min de cada lado. Se incubaron durante 24 horas a 37°C. Pasadas las 24 horas, las muestras se vortexearon durante un minuto, se realizó el ensayo cuantitativo de diluciones sucesivas en una serie de eppendorf estériles con 900 µL de SF de -1 a -6 y se sembraron en medio LB gar las diluciones -4, -5, -6 y -7 por duplicado, para determinar la inhibición del crecimiento de las colonias, comparándolas con aquellas crecidas en placa control (inóculo inicial). Se incubó cada placa a 37°C durante 24 horas. Para determinar el inóculo inicial de bacterias, se inoculó en LB agar sólido las diluciones de -4 a -7, por duplicado, se incubaron a 37°C durante 24 horas (figura 2).

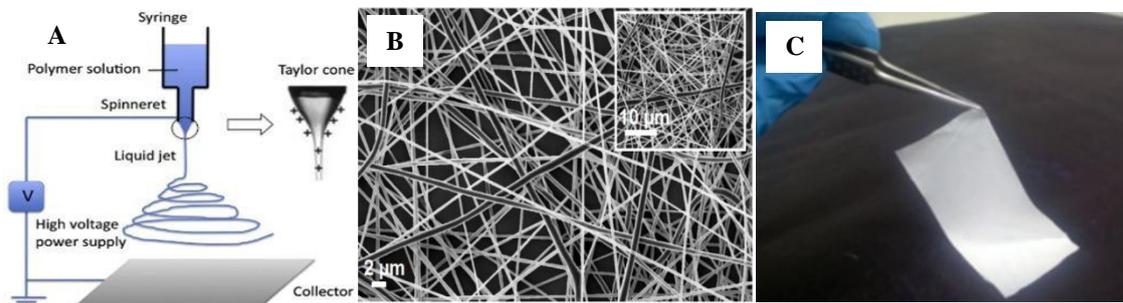


Figura 1. A: Esquema de la técnica de electrospinning. B: Microfotografía de SEM de nanofibras de PCL (resolución). C: Macrografía de scaffold de PCL.



Figura 2. Inóculo inicial de *S. aureus*. Diluciones de -4 a -7.

## 2.5 Efecto de viabilidad celular del scaffold de PCL+SNLP según la norma ISO 10993-5

### 2.5.1 Evaluación del extracto líquido obtenidos a partir del scaffold de PCL+SNLP mediante la técnica de Rojo Neutro

Para la extracción del extracto líquido, se tomó muestras de 17, 35, 68 y 136 mm<sup>2</sup> de superficie del scaffold de PCL+SNLP 2, 4, 6 y 8% y de PCL sin SNLP. Se utilizó Dimetilsulfóxido (DMSO) como control negativo al 4%, 3%, 2%, 1% y 0,5% de concentración de acuerdo a lo sugerido a la norma ISO 10993-5 (Biological evaluation of medical devices - Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity). Luego, los distintos grupos experimentales fueron colocados en placas de 12 pocillos. Por consiguiente, se agregó 0,5 ml de medio de cultivo DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) c/HEPES (solución tampón) con 100U/ml de penicilina y 0,3g/L de L-glu. A continuación, se dejó a 25°C durante 48 horas para finalmente obtener el extracto líquido a partir de los scaffolds. Para el análisis de rojo neutro, se incubaron 100 μl del extracto líquido obtenido en una placa de 96 pocillos con 10 μl de una suspensión celular (10\*6 cel/ml) de

fibroblastos de la línea celular InViv1, por 48 horas a 37°C en atmósfera húmeda y 5% CO<sub>2</sub>. Como paso final se llevó a 490 nm de absorbancia (Lector microplacas Biotek ELx800) (Borenfreund & Puerner, 1985).

### 2.5.2 Evaluación de la adhesión celular al scaffold de PCL+SNLP

Se tomó muestras de los scaffolds de 18x18 mm en placas Petri de 100 mm de diámetro con 5 ml de DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) c/HEPES con 100U/ml de penicilina y 0,3g/L de L-glu. Luego, se incubó 10\*6 cel/ml sobre las muestras de scaffolds de los distintos grupos durante 48 horas a 37°C en atmósfera húmeda y 5% de CO<sub>2</sub>. Cumplido el tiempo de incubación, se realizó el fijado y tinción celular con naranja de acridina para luego ser observado en el microscopio de fluorescencia.

## 2.6 Análisis estadísticos

Se utilizó test de student (Test t) para analizar el efecto antibacteriano de los scaffolds de PCL+SNLP.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 Análisis de la macroscópico de las nanofibras de los scaffolds de PCL+SNLP

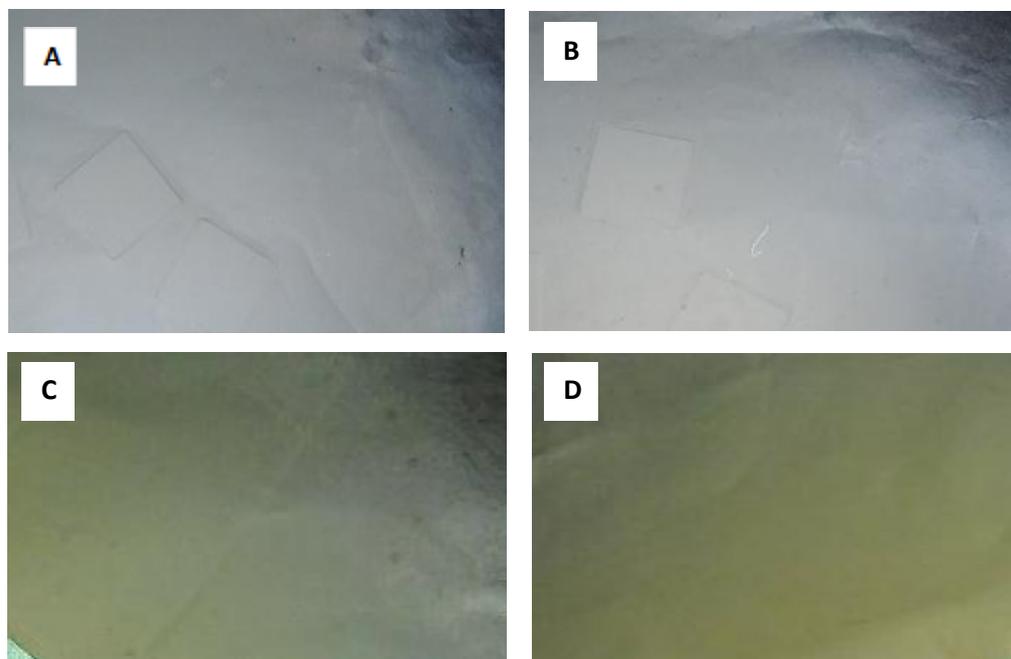


Figura 3. Fotomacrografía de los distintos scaffolds. A: PCL. B: PCL+SNLP 2%. C: PCL+SNLP 4%. D: PCL+SNLP 6%

Los scaffolds de PCL+SNLP presentaron una diferencia en la coloración de las nanofibras. El grupo control de PCL sólo presentó una coloración blanca mientras que los grupos experimentales, esa coloración se tornaba más amarillento a medida que las concentraciones de SNLP aumentaban (figura 3). Esto es debido a la coloración amarillada que presenta el SNLP puro. El cambio de coloración sería un indicativo de que esta sustancia bioactiva se mezcló con el polímero del PCL en la preparación de la solución. En cuanto a la maleabilidad del biomaterial, al presentar un grosor delgado, es difícil su manejo. Las concentraciones del SNLP al scaffold no modifican esta propiedad. Sin embargo, en el grupo de PCL+SNLP 10% las nanofibras resultaron inestables por lo que el depósito de las mismas al colector no fueron los adecuados. Nejaddehbashi et al., (2019) desarrollaron un scaffold de tres capas, cuya capa inferior de PCL al 15% con sulfadizina argéntica incorporado por emulsión como agente antimicrobiano, sin embargo, este antibiótico

no afectó el aspecto macroscópico del mismo. En cambio, en el trabajo de Alhusein et al (2013), fabricaron un scaffold de PCL al 5-10% en emulsión con la zeína (proteína del maíz) para la liberación controlada de la tetraciclina. En este caso, las nanofibras de PCL/zeína toman un aspecto amarillento.

### 3.2 Efecto antimicrobiano de los scaffolds de PCL+SNLP

Se observa que, en la curva control, las concentraciones que presentan halos de inhibición en ambas placas son las de PCL+SNLP 6%, 8% y 10% (Fig. 4). El test t demostró que no hay diferencia significativa entre las comparaciones realizadas con el PCL y el PCL+SNLP distintas concentraciones, salvo para el scaffold PCL+SNLP 8% ( $p=0.057$ ) y PCL+SNLP Tween 2% ( $p=0.068$ ) que sí presenta diferencia significativa (Fig 5). Sin embargo, los resultados tampoco estuvieron tan alejados del resto de los grupos. También se observó que los scaffolds con tween 80, no tuvieron un efecto significativo en la emulsión del PCL y el SNLP en el momento de preparación de las distintas soluciones.

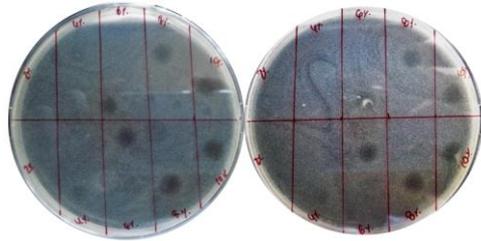


Figura 4. Análisis de la curva control del efecto antimicrobiano del SNLP a distintas concentraciones.

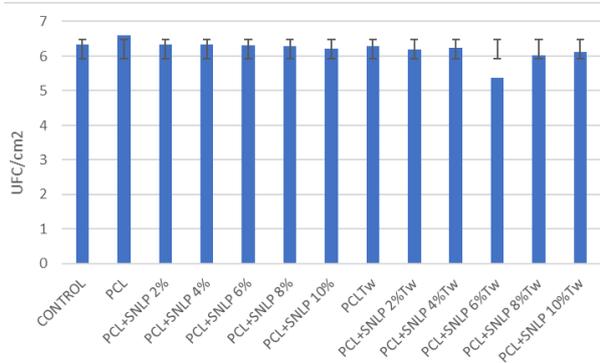


Figura 5. Análisis del efecto antimicrobiano de los scaffolds de PCL+SNLP a distintas concentraciones.

En otros biomateriales desarrollados con PCL en combinación con otras sustancias farmacéuticas, también se ha encontrado actividad antimicrobiana. Por ejemplo, los scaffolds desarrollados por el grupo de Alhusein (2016) de PCL/Zeína con tetraciclina incorporado por inmersión, mostró una excelente actividad antibiótica en destruir biofilms de *S. aureus* MRSA252 en modelos que se asemejan a la situación encontrada en las heridas. Otros materiales como el ácido hialurónico y la fibroína de seda con un extracto vegetal como el Thymol, presentaron actividad bacteriana frente *S. aureus* *P. aeruginosa*, aunque las propiedades para su aplicación en heridas crónicas no fueron suficientes (Miguel et al., 2019). Un scaffold desarrollado mediante electrospinning coaxial con fibras tipo share-core de PCL-ácido hialurónico con impregnaciones de nano partículas de plata, demostraron actividad antimicrobiana para *Staphylococcus aureus* (Gram-positivo, BCRC 10451) y *Escherichia coli* (Gram-negativo, BCRC 11634, esto debido a la presencia de las nanopartículas de plata (Chen et al., 2015).

### 3.3 Efecto de viabilidad celular del scaffold de PCL+SNLP según la norma ISO 10993-5

Mediante los resultados obtenidos de viabilidad celular mediante la técnica del extracto líquido obtenidos a partir de los scaffolds de PCL+SNLP a distintas concentraciones, se observaron una viabilidad celular por encima del 80% (figura 6), lo que indicaría que se trata de un biomaterial biocompatible. Los scaffolds presentaron adhesión celular como puede observarse en la figura 7, con una adherencia mayor a medida que aumentaba la concentración del SNLP. Las muestras de los scaffolds de PCL+SNLP 10% no se pudieron realizar el análisis de viabilidad celular debido a que presentaba dificultades al momento de incorporar el DMEM, razón por la cual, los datos no están representados.

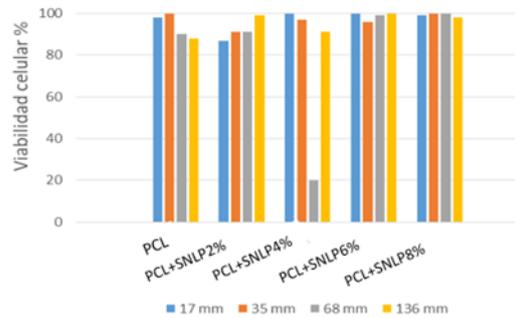


Figura 6. Evaluación de citotoxicidad mediante la técnica de extracto líquido de Rojo Neutro de scaffolds de PCL+SNLP a distintas concentraciones

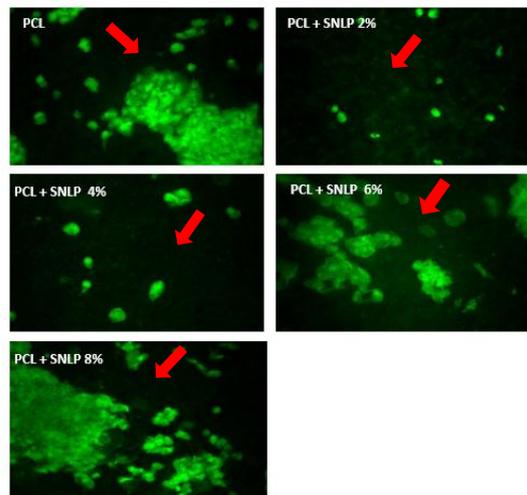


Figura 7. Evaluación de adhesión celular de los scaffolds de PCL+SNLP. Los fibroblastos Inv1 se adhirieron a las nanofibras de los distintos scaffolds (flecha roja). Se observa una mayor adherencia celular en el scaffold PCL + SNLP 8% en relación al PCL solo.

En un modelo de quemaduras en ratón tratadas con SNLP, se observó mejora en la reparación de tejidos, una mayor actividad en los fagocitos sobre *P. aeruginosa* tejidos y una disminución de la apoptosis. Esto podría significar que *L. plantarum* y/o sus subproductos son agentes terapéuticos potenciales para el tratamiento local de heridas de la piel (Valdez et al., 2014). Por otro lado, el PCL/Zeina, en combinación con la tetraciclina, tuvo buena respuesta celular con los fibroblastos de la línea FEK4 (Alhusein et al., 2016).

#### 4. CONCLUSIÓN

Podemos concluir que los scaffolds de PCL+SNLP, presentan efecto antibacteriano sobre *P. aeruginosa* y *S. aureus*, ambas comúnmente encontradas en infecciones de heridas crónicas, sin encontrarse diferencias significativas en los distintos grupos, a excepción de PCL+SNLP 8% y PCL+SNLP Tween 2%. Además, fueron evaluados bajo las normas ISO 10993-5 (evaluación de citotoxicidad para dispositivos médicos) demostrando una viabilidad celular por encima del 80%, lo que indicaría que se trata de un biomaterial biocompatible. A causa de estos resultados, podrían ser candidatos cruciales para el desarrollo de parches dermatológicos con aplicaciones de fines terapéuticos para tratar heridas crónicas de índole patológicas como las UPD. Aun así, este biomaterial, debe continuar siendo estudiado para los siguientes ensayos preclínicos y clínicos.

#### 5. AGRADECIMIENTOS

Este proyecto está subsidiado por el PDTs (proyecto de desarrollo tecnológico y social) N°574 otorgado por el Consejo Interuniversitario Nacional (CIN) y por el Proyecto orientado Abel Peirano 2019, ambos dirigidos por la Dra. Rodríguez. También por el subsidio PICT 370 otorgado por el MINCyT, bajo la dirección del Dr. Juan Carlos Valdez. Agradecemos al instituto de virología Dr. Vanella, Facultad de Ciencias

Médicas de la Universidad Nacional de Córdoba (UNC) y a la cátedra de Inmunología de la facultad de Bioquímica, Química y Farmacia y de Biotecnología de la Universidad Nacional de Tucumán (UNT). A Félix Colomo, personal de apoyo del LAMEIN.

#### 6. REFERENCIAS

- Alhusein, N., Blagbrough, I. S., & de Bank, P. A., Zein / polycaprolactone electrospun matrices for localised controlled delivery of tetracycline. *Drug Delivery and Translational Research*, 3(6)542–550, 2013.
- Alhusein, N., Blagbrough, I. S., Beeton, M. L., Bolhuis, A., & de Bank, P. A. Electrospun Zein / PCL Fibrous Matrices Release Tetracycline in a Controlled Manner, Killing *Staphylococcus aureus* Both in Biofilms and Ex Vivo on Pig Skin, and are Compatible with Human Skin Cells, *Pharmaceutical Research*, 237–246, 2016
- Bayat, S., Amiri, N., Pishavar, E., Kalalinia, F., Movaffagh, J., & Hahsemi, M. Bromelain-loaded chitosan nanofibers prepared by electrospinning method for burn wound healing in animal models. *Life Sciences*. 229 57–66, 2019
- Borenfreund, E., & Puerner, J. A. Toxicity determined in vitro by morphological alterations and neutral red absorption, *Toxicology Letters*, 24(2–3), 119–124, 1985
- Chen, C. H., Chen, S. H., Shalumon, K. T., & Chen, J. P., Dual functional core-sheath electrospun hyaluronic acid/polycaprolactone nanofibrous membranes embedded with silver nanoparticles for prevention of peritendinous adhesion. *Acta Biomaterialia*, 26, 225–235, 2015.
- Armstrong D., Boulton A., M.D., & Bus S., Diabetic Foot Ulcers and Their Recurrence. *New England Journal of Medicine*, 376(24), 2367–2375, 2017.
- Federación Internacional de la Diabetes. *Atlas de la diabetes*, 2015.
- Felice, B., Sánchez, M. A., Socci, M. C., Sappia, L. D., Gómez, M. I., Cruz, M. K., Felice, C., Rodríguez, A. P. Controlled degradability of PCL-ZnO nanofibrous scaffolds for bone tissue engineering and their antibacterial activity. *Materials Science and Engineering C*, 93(August), 724–738, 2018

- Gregg, E. W., Cheng, Y. J., Srinivasan, M., Lin, J., Geiss, L. S., Albright, A. L., & Imperatore, G. Trends in cause-specific mortality among adults with and without diagnosed diabetes in the USA : an epidemiological analysis of linked national survey and vital statistics data. *The Lancet*, 391(10138), 2430–244, 2018
- Nasrallah, L., *Sistema para electrospinning*. Universidad Nacional de Tucumán, 2013
- Masino, LM, *Equipo de electrospinning*. Universidad Nacional de Tucumán, 2012
- Miguel, S. P., Simões, D., Moreira, A. F., Sequeira, R. S., & Correia, I. J, Production and characterization of electrospun silk fibroin based asymmetric membranes for wound dressing applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 121 524-535, 2019
- Nejaddehbashi F, Hashemitabar M, Bayati V, Abbaspour M, Moghimipour E, O. M., Application of polycaprolactone, chitosan, and collagen composite as a nanofibrous mat loaded with silver sulfadiazine and growth factors for wound dressing, *Artificial Organs*, 43(4), 413–423, 2019.
- Oliver TI, M. M. (2020). Diabetic Foot Ulcer. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537328/>
- Pant, B., Park, M., & Park, S.-J. (2019). Drug Delivery Applications of Core-Sheath Nanofibers Prepared by Coaxial Electrospinning: A Review. *Pharmaceutics*, 11(7), 305, 2019.
- Peral, M. C., Rachid, M. M., Gobbato, N. M., Huaman Martinez, M. A., & Valdez, J. C., Interleukin-8 production by polymorphonuclear leukocytes from patients with chronic infected leg ulcers treated with *Lactobacillus plantarum*. *Clinical Microbiology and Infection*, 16(3), 281–286, 2010
- Peral, Maria C., Huaman Martinez, M. A., & Valdez, J. C., Bacteriotherapy with *Lactobacillus plantarum* in burns. *International Wound Journal*, 6(1), 73–81, 2009
- Rajzer, I., Menaszek, E., Kwiatkowski, R., Planell, J. A., & Castano, O., Electrospun gelatin/poly( $\epsilon$ -caprolactone) fibrous scaffold modified with calcium phosphate for bone tissue engineering. *Materials Science and Engineering C*, 44, 183–190, 2014
- Valdéz, J. C., Peral, M. C., Rachid, M., Santana, M., & Perdigón, G., Interference of *Lactobacillus plantarum* with *Pseudomonas aeruginosa* in vitro and in infected burns: The potential use of probiotics in wound treatment. *Clinical Microbiology and Infection*, 11(6), 472–479, 2005
- Valdez, J. C., Ramos, A. N., Fernández, D., Rachid, M., Eugenia, M., Cabral, S., Valdecanto, P., Olea, L., Mayor, M. O., *Probiotics and their Potential use in Wound Treatment*, CR Press 2014