

El potencial de la Espectroscopía Raman en la caracterización de fibras electrohiladas compuestas



*Omar Eduardo Uribe Juárez
Juan Morales Corona
Flor Ivon Vivar Velázquez
Roberto Olayo González*

*Departamento de Física,
Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa
José Rafael Godínez Fernández
Departamento de Ingeniería Eléctrica,
Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa*


10 μm

Resumen

En este trabajo se muestra la espectroscopía Raman como técnica para la caracterización de fibras electrohiladas hechas de ácido poliláctico (PLA) y ácido poliláctico/hidroxiapatita (HA), relacionando los modos vibracionales de la PLA y la HA con los principales picos registrados en sus espectros Raman, utilizando sus picos característicos para determinar la distribución del PLA y la HA en las fibras de PLA/HA, por último, se presenta una herramienta (WebMo) para la simulación de espectros Raman de moléculas pequeñas, como el ácido láctico y el fosfato.

Palabras Clave: Electrohilado, Espectroscopia, Raman, Caracterización, Ácido poliláctico (PLA). Hidroxiapatita (HA)

Abstract

In this work, Raman spectroscopy is shown as a technique for the characterization of electrospun fibers made of polylactic acid (PLA) and polylactic acid/hydroxyapatite (HA), relating the PLA and HA vibrational modes with the main peaks recorded in their Raman spectra, using their characteristic peaks to determine the distribution of PLA and HA in PLA/HA fibers, finally, a tool (WebMo) for the simulation of Raman spectra of small molecules, such as lactic acid and phosphate, is presented.

Keywords: Electrospinning, Spectroscopy, Raman, Characterization, Polylactic acid (PLA). Hydroxyapatite (HA).

Introducción

Los materiales electrohilados son utilizados ampliamente en la ingeniería de tejidos, liberación controlada de fármacos y funcionalización de materiales para filtros (Rashid et al., 2021). El electrohilado es un método sen-

cillo y asequible para producir nanofibras, que ofrece una gran superficie específica y estructuras muy porosas con diámetros que van desde nanómetros a micrómetros, con características sinérgicas para nuevas aplicaciones mediante la combinación de múltiples polímeros, fármacos y biomoléculas con funcionalidades individuales en la fase de solución (Ahmadi Bonakdar & Rodrigue, 2024; Mao et al., 2023; Reddy et al., 2021).

Dado que una de las principales ventajas de los materiales electrohilados es la capacidad de combinar múltiples polímeros, fármacos y biomoléculas, resulta de interés, una técnica que permita estudiar o caracterizar la distribución de los diferentes materiales que componen las fibras, cambios en la estructura química de los compuestos durante el proceso de electrohilado, así como, la liberación, degradación o absorción de algunas moléculas de interés.

La espectroscopía Raman, y más recientemente, las imágenes Raman (también llamadas imágenes espectrales ó químicas), son técnicas de dispersión de luz no destructivas que permiten estudiar las “huellas químicas” de diversos tipos de materiales, además, la espectroscopía Raman requiere una manipulación mínima de la muestra (Adya & Canetta, 2020).

En la espectroscopía Raman, la muestra se ilumina con una fuente de luz monocromática, el campo electromagnético oscilatorio de la luz perturba la distribución de cargas de las moléculas en la muestra, en esta interacción, los fotones incidentes son dispersados de forma elástica (dispersión Rayleigh) o inelástica (dispersión Raman). La mayor parte de la luz incidente se dispersará elásticamente, es decir, sin intercambio de energía entre el fotón y la

muestra, por lo que, no se produce ningún cambio de longitud de onda en el fotón incidente. Aproximadamente, solo 1 fotón entre 108 fotones se dispersará inelásticamente, intercambiando energía y dejando las moléculas de la muestra en un estado modificado relacionado con la excitación de modos vibracionales, iones paramagnéticos, fonones, plasmones superficiales y ondas de espín (Adya & Canetta, 2020; Bumrah & Sharma, 2016; Jones et al., 2019).

El cambio en la energía en las moléculas de la muestra esta dado por la siguiente expresión:

$$\Delta E = \hbar (\omega_i - \omega_d)$$

En donde w representa la frecuencia angular ($w = 2\pi\nu$) del fotón incidente (ω_i) y el fotón dispersado (ω_d), \hbar la constante de Planck reducida, y ΔE el cambio en la energía en las moléculas de la muestra. Cuando la energía del fotón dispersado es menor a la del fotón incidente ($\Delta E > 0$) el proceso se conoce como dispersión Stokes Raman, por el contrario, cuando el fotón dispersado es de mayor energía que el fo-

tón incidente ($\Delta E < 0$), el proceso se le conoce como dispersión Anti-Stokes Raman. La dispersión Stokes y Anti-Stokes dan lugar a las líneas o bandas que aparecen en el espectro Raman (Bumrah & Sharma, 2016; Jones et al., 2019).

En este trabajo caracterizamos fibras electrohiladas de PLA y PLA/HA mediante espectroscopía Raman, con el objetivo de mostrar las ventajas de utilizar esta técnica para la caracterización de fibras electrohiladas compuestas.

2.-Electrohilado de las fibras.

Para la elaboración de las fibras se utilizó ácido poliláctico (PLA), hidroxiapatita (HA), Cloroformo y Etanol, todos los reactivos fueron comprados en Sigma-Aldrich.

El PLA fue disuelto en una solución de cloroformo y etanol (en una proporción de 9:1, v/v) mediante agitación durante 3 horas a temperatura ambiente, colocando 3.6 gramos de PLA por cada 20 ml de la solución de cloroformo y etanol. Para las fibras de PLA/HA, después de las 3 horas de agitación a temperatura ambiente,

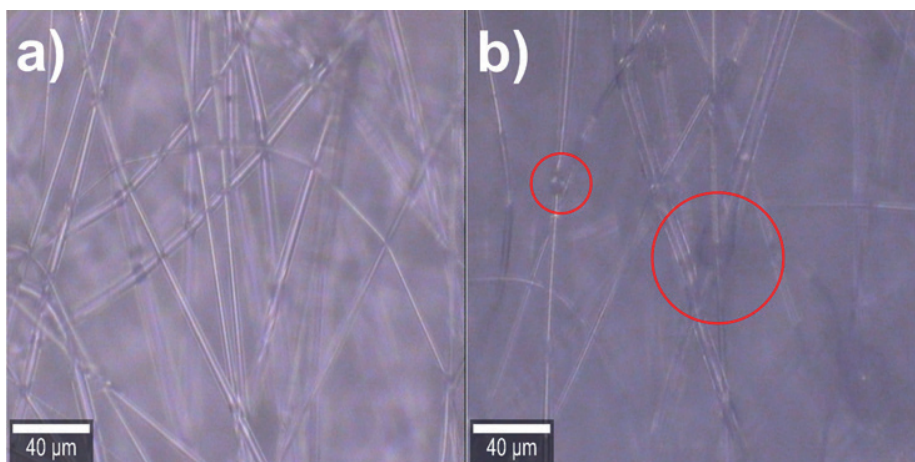


Figura 1.- Fibras del electrohilado de (a) PLA y (b) PLA/HA. Los círculos rojos muestran las perlas formadas al utilizar la HA.

se agregó la HA y se continuó agitando la solución durante otras 2 horas más. La solución obtenida fue colocada en una jeringa de 20 ml y electro hilada empleando una diferencia de voltaje de 25 kV, 15 cm de distancia entre la aguja y el colector, y una velocidad de 5 ml/h. Después de 4 horas, las fibras obtenidas se dejaron en el colector durante una hora más, antes de ser retiradas para evitar deformaciones. Las fibras obtenidas fueron examinadas en un microscopio óptico, y se observó que al emplear HA ser forman perlas sobre las fibras (Figura 1).

Modos vibracionales asociados con el espectro Raman

El espectro Raman obtenido de las fibras electrohiladas de PLA (Figura 2 a) concuerda con el espectro de fibras de PLA reportado en otros estudios (Bolskis et al., 2022; Pandlele et al., 2020). Según la información encontrada en la literatura, los picos en 3003 y 2947 cm^{-1} corresponden a la tensión simétrica y asimétrica de los enlaces C-H del metilo, el pico en 2657 cm^{-1} corresponde a la tensión del enlace C-H, el pico en 1772 cm^{-1} corresponde a la tensión del enlace C=O, el pico en 1457 cm^{-1} corresponde a flexiones de tijera (en el plano) de los enlaces C-H del metilo, el pico en 1302 cm^{-1} corresponde a flexiones de balanceo (en el plano) de los enlaces C-H del metilo, el pico en 1132 cm^{-1} corresponde con flexiones de aleteo (fuera del plano) de los enlaces C-H del metilo, el pico en 1046 cm^{-1} corresponde a la tensión del enlace C-CH₃, el pico en 876 cm^{-1} corresponde a la tensión del enlace C-COO, el pico en 403 cm^{-1} corresponde a vibraciones del enlace C-CO, el pico en 307 cm^{-1} corresponde a vibraciones en los enlaces C-O-C y C-CH₃ (Bolskis et al., 2022; Cassanas et al., 1991).

El espectro Raman obtenido de la HA en polvo (Figura 2 b) concuerda con el espectro de la HA reportado en otros estudios (Gupta et al., 2017; Timchenko et al., 2018). Según la información encontrada en la literatura, el pico en 1043 cm^{-1} corresponde a la tensión asimétrica de los enlaces P-O del fosfato, el pico en 957 cm^{-1} corresponde a la tensión simétrica de los enlaces P-O del fosfato, el pico en 585 cm^{-1} corresponde a la flexión de los enlaces P-O del fosfato, el pico en 431 cm^{-1} algunos autores reportan que corresponde a la flexión de los enlaces P-O del fosfato (Gupta et al., 2017), mientras que otros autores reportan que corresponde a la tensión de los enlaces P-O del fosfato (Timchenko et al., 2018).

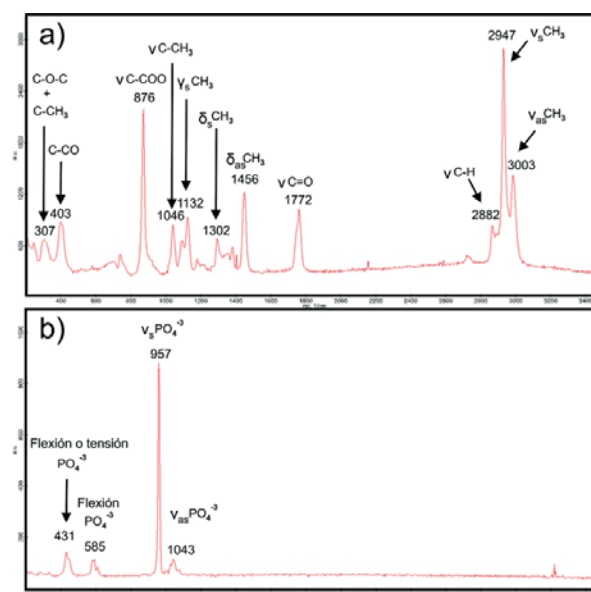


Figura 2.-Espectros Raman (a) del PLA y (b) la hidroxiapatita, obtenidos con un microscopio Raman confocal WiTec Alpha 300.

3.- Distribución del PLA y la HA en las fibras

Dado que la HA no contiene carbono en su estructura química (Yashima et al., 2011), podríamos utilizar los picos correspondientes a las vibraciones de los enlaces: C-H,

C-C, C-O ó C=O como marcador de PLA en nuestras fibras, en particular, el pico en 2497 cm^{-1} es el pico más intenso en el espectro del PLA y no se encuentra en el espectro de la HA, por lo tanto, elegimos este pico como marcador del PLA en nuestras fibras.

Ahora bien, dado que el PLA no contiene fósforo en su estructura química (Ranakoti et al., 2022), podríamos utilizar algunos de los picos correspondientes a las vibraciones de los enlaces P-O como marcador de HA en nuestras fibras, puesto que, el pico en 957 cm^{-1} es el pico más intenso del espectro de la HA y no se encuentra presente en el espectro del PLA, elegimos este pico como marcador de la HA en nuestras fibras.

3.3.- Fibras de PLA.

Se adquirió una imagen Raman de

100×100 pixeles de una superficie aproximada de $75\text{ }\mu\text{m}^2$ de las fibras de PLA, al seleccionar como marcador del PLA el pico en 2947 cm^{-1} , podemos observar que los pixeles de la imagen con mayor intensidad (Figura 3 a) corresponden a espectros Raman del PLA (Figura 3 b). Al emplear como marcador el pico de 957 cm^{-1} en la imagen Raman (Figura 3 c), los pixeles de la imagen en donde este pico es más intenso corresponden con ruido sin información del PLA (Figura 3 d).

Este resultado nos permite marcar la presencia de PLA en color verde, y la presencia de HA en color rojo, mostrando así que en los andamios de PLA no hay presencia de HA (Figura 4). Lo cual, es un resultado esperado (dado que no se había utilizado HA para la elaboración de estas fibras).

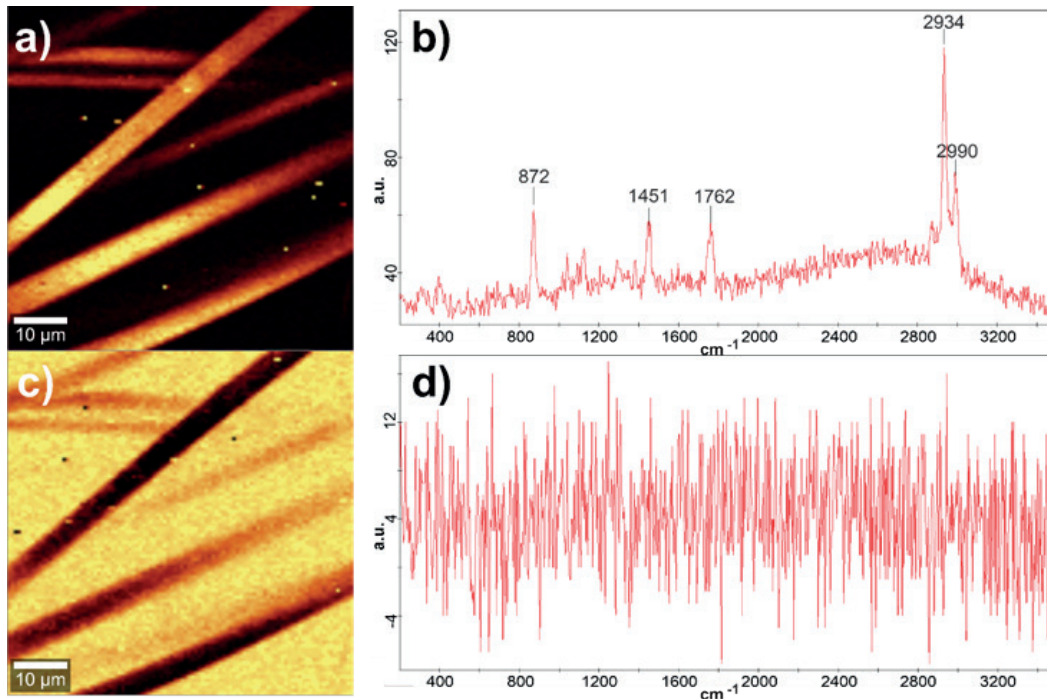


Figura 3.-Imagen Raman de las fibras de PLA utilizando como marcadores los picos de (a) 2947 cm^{-1} y (c) 957 cm^{-1} . Espectros Raman correspondientes a los pixeles de la imagen con mayor intensidad (color amarillo) al emplear como marcadores los picos de (b) 2947 cm^{-1} y (d) 957 cm^{-1} .

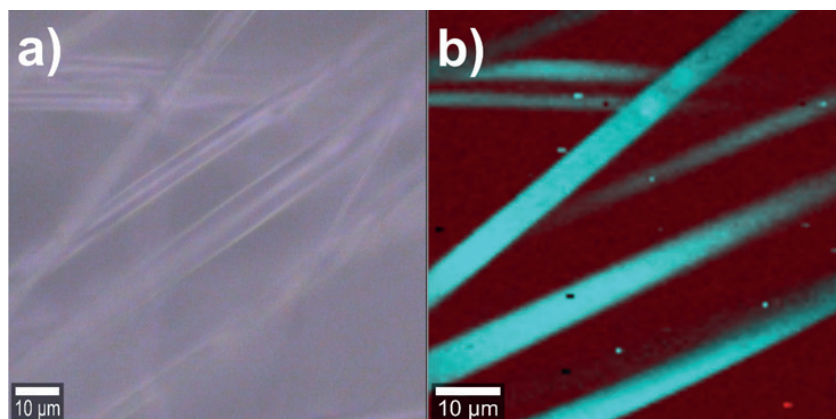


Figura 4.- (a) Imagen obtenida con un microscopio óptico ($\times 50$) de las fibras de PLA. (b) Imagen Raman ($\times 50$) de las fibras de PLA, PLA marcado en color verde, HA marcado en color rojo.

3.2.- Fibras de PLA/HA.

Ahora bien, al emplear el mismo método en las fibras de PLA/HA, al seleccionar como marcador de PLA el pico en 2947 cm^{-1} , podemos observar que los pixeles de la imagen con mayor intensidad (color amarillo, Figura 5 a) también corresponden a espectros Raman del PLA (Figura 5 b). Y ahora, al emplear como marcador el pico de 957 cm^{-1} en la imagen Raman (Figura 5 c), los pixeles de

la imagen en donde este pico es más intenso corresponden con el espectro Raman de la HA, que se encuentra como micropartículas dentro de las fibras de PLA (Figura 5 d).

Estos resultados nos permiten marcar la presencia de PLA en color verde, y la presencia de HA en color rojo, mostrando así que, la HA se encuentra localizada en las perlas de las fibras de PLA/HA (Figura 3.7).

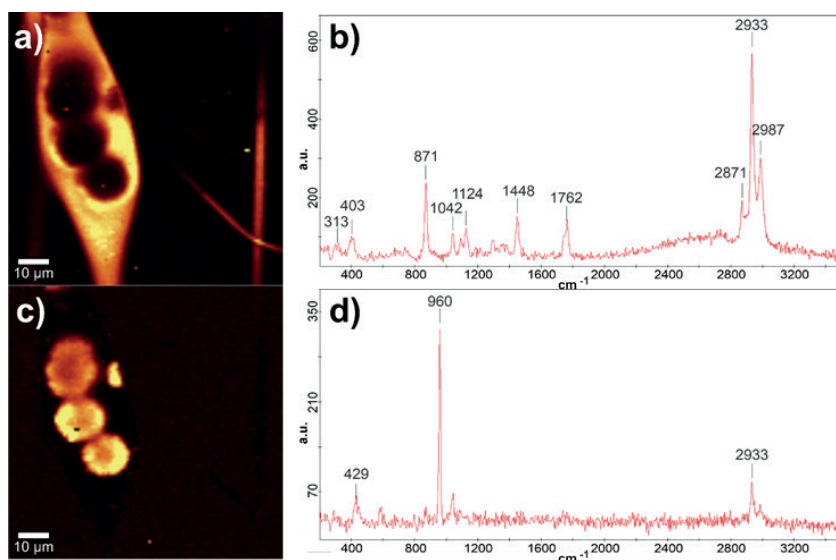


Figura 5.-Imagen Raman de las fibras de PLA/HA utilizando como marcadores los picos de (a) 2947 cm^{-1} y (c) 957 cm^{-1} . Espectros Raman correspondientes a los pixeles de las imágenes con mayor intensidad (color amarillo) al emplear como marcadores los picos de (b) 2947 cm^{-1} y (d) 957 cm^{-1} .

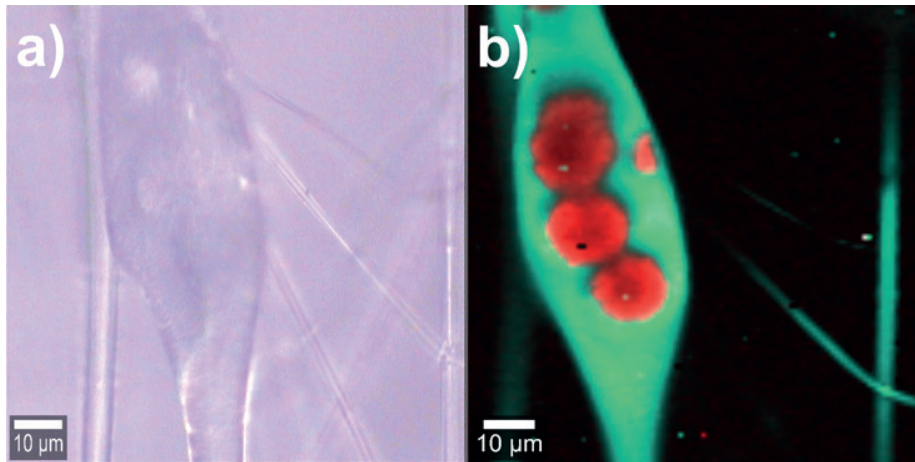


Figura 6.- (a) Imagen obtenida con un microscopio óptico ($\times 50$) de las fibras de PLA/HA. (b) Imagen Raman ($\times 50$) de las fibras de PLA/HA, PLA marcado en color verde, HA marcada en color rojo.

Dado que no se observaron cambios en los espectros Raman de las fibras de PLA, HA y PLA/HA, esta información sugiere que el proceso de electrohilado (empleado en este trabajo) no modifica la estructura química de estos dos materiales.

4.- Simulación de los espectros Raman del ácido láctico y el fosfato

WebMo es un software de química computacional con una versión libre que permite realizar simulaciones en la nube, siempre y cuando el tiempo de cómputo no exceda los 45 segundos. Utilizando esta herramienta podemos simular el espectro Raman (Polik & Schmidt, 2022) de algunas pequeñas moléculas como el ácido láctico (monómero del PLA (Ranakoti et al., 2022)) y el fosfato (molécula presente en los cristales de HA (Yashima et al., 2011)). Esta herramienta puede ser de gran ayuda para personas que no tengan mucha experiencia en espectroscopía Raman, o para personas que tengan interés en estudiar el posible espectro Raman y modos vibracionales de sus materiales antes de ser analizadas en un espectrómetro Raman.

Los espectros Raman obtenidos en WebMo son utilizados en este trabajo con fines didácticos, si el lector lo necesita, existen softwares de química computacional más robustos como Gaussian y GAMESS, por mencionar algunos ejemplos.

Los espectros Raman del ácido láctico y el fosfato obtenidos mediante la simulación en WebMo son mostrados en la figura 7. Los modos vibracionales de la simulación pueden determinarse observando las animaciones mostradas por el Software. Al analizar el espectro (simulado) del ácido láctico (Figura 7 a) y el espectro Raman del PLA, podemos observar que las principales diferencias se encuentran en las vibraciones de los enlaces O-H que no están presentes en el espectro del PLA, esto podría tener sentido, ya que, al polimerizarse el ácido láctico, los oxígenos quedan unidos a átomos de carbono y solo los oxígenos terminales presentan enlaces O-H. Ahora bien, al comparar el espectro (simulado) del fosfato (Figura 7 b) con el espectro Raman de la HA, podemos observar que los dos espectros presentan cua-

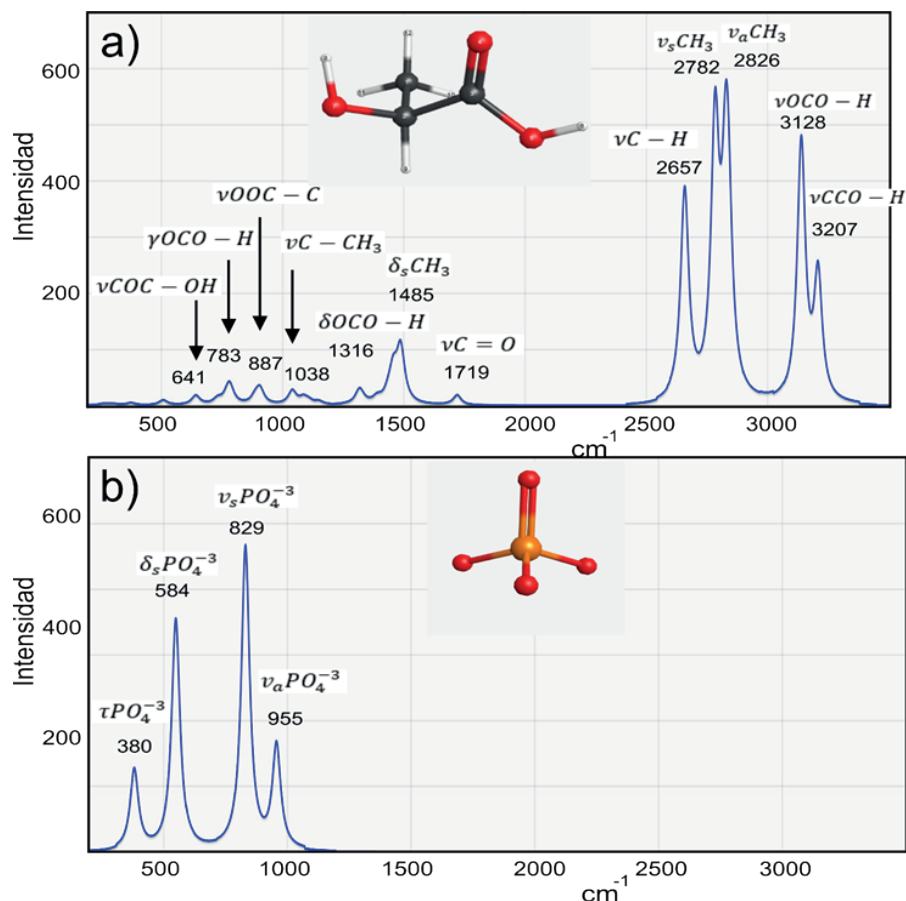


Figura 7.-Espectros Raman simulados en WebMo (a) del ácido láctico y (b) el fosfato.

tro picos característicos, no obstante, en el espectro simulado los picos se encuentran desfazados y con diferentes amplitudes, esto podría explicarse debido a los enlaces iónicos del fosfato con el calcio de la HA, las vibraciones moleculares son sensibles a la interacción con su entorno y sus espectros pueden verse modificados debido a este motivo (Chiang et al., 2017).

5.- Conclusiones

Los espectros Raman de la HA y las fibras de PLA nos permitieron estudiar los modos vibracionales que se excitan en las moléculas de estos dos materiales al incidirlos con un haz de luz monocromático (532 nm), además, la información obtenida de los modos vibracionales nos permitió determi-

nar la distribución del PLA y la HA en las imágenes Raman de las fibras de PLA/HA, por último, al no observar cambios en los espectros Raman del PLA y la HA después de electrohilarlos juntos, esta información sugiere que el proceso de electrohilado, empleado en este trabajo, no modifica la estructura química del PLA y la HA, lo cual, podría ser de gran interés, ya que preserva la capacidad de estos dos materiales para interactuar con sistemas biológicos.

La espectroscopía Raman es una técnica que puede ser utilizada para estudiar la distribución de los distintos materiales en una fibra electrohilada compuesta, cambios en la estructura química de sus compuestos, y por lo tanto, también podría ser

utilizada para estudiar la liberación, degradación o absorción de algunas moléculas de interés.

6.- Referencias.

- Adya, A. K., & Canetta, E. (2020). Nanotechnology and its applications to animal biotechnology. In *Animal Biotechnology: Models in Discovery and Translation*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811710-1.00014-8>
- Ahmadi Bonakdar, M., & Rodrigue, D. (2024). Electrospinning: Processes, Structures, and Materials. In *Macromol* (Vol. 4, Issue 1). <https://doi.org/10.3390/macromol4010004>
- Bolskis, E., Adomavičiūtė, E., & Griškonis, E. (2022). Formation and Investigation of Mechanical, Thermal, Optical and Wetting Properties of Melt-Spun Multifilament Poly(lactic acid) Yarns with Added Rosins. *Polymers*, 14(3). <https://doi.org/10.3390/polym14030379>
- Bumrah, G. S., & Sharma, R. M. (2016). Raman spectroscopy – Basic principle, instrumentation and selected applications for the characterization of drugs of abuse. In *Egyptian Journal of Forensic Sciences* (Vol. 6, Issue 3). <https://doi.org/10.1016/j.ejfs.2015.06.001>
- Cassanas, G., Morssli, M., Fabrègue, E., & Bardet, L. (1991). Vibrational spectra of lactic acid and lactates. *Journal of Raman Spectroscopy*, 22(7). <https://doi.org/10.1002/jrs.1250220709>
- Chiang, N., Jiang, N., Madison, L. R., Pozzi, E. A., Wasielewski, M. R., Ratner, M. A., Hersam, M. C., Seideman, T., Schatz, G. C., & Van Duyne, R. P. (2017). Probing Intermolecular Vibrational Symmetry Breaking in Self-Assembled Monolayers with Ultrahigh Vacuum Tip-Enhanced Raman Spectroscopy. *Journal of the American Chemical Society*, 139(51). <https://doi.org/10.1021/jacs.7b10645>
- Gupta, A., Prasad, A., Mulchandani, N., Shah, M., Ravi Sankar, M., Kumar, S., & Katiyar, V. (2017). Multifunctional Nanohydroxyapatite-Promoted Toughened High-Molecular-Weight Stereocomplex Poly(lactic acid)-Based Bionanocomposite for Both 3D-Printed Orthopedic Implants and High-Temperature Engineering Applications. *ACS Omega*, 2(7). <https://doi.org/10.1021/acsomega.7b00915>
- Jones, R. R., Hooper, D. C., Zhang, L., Wolverson, D., & Valev, V. K. (2019). Raman Techniques: Fundamentals and Frontiers. In *Nanoscale Research Letters* (Vol. 14, Issue 1). <https://doi.org/10.1186/s11671-019-3039-2>
- Mao, Y., Shen, W., Wu, S., Ge, X., Ao, F., Ning, Y., Luo, Y., & Liu, Z. (2023). Electrospun polymers: Using devices to enhance their potential for biomedical applications. In *Reactive and Functional Polymers* (Vol. 186). <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2023.105568>
- Polik, W. F., & Schmidt, J. R. (2022). WebMO: Web-based computational chemistry calculations in education and research. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 12(1). <https://doi.org/10.1002/wcms.1554>
- Ranakoti, L., Gangil, B., Mishra, S. K., Singh, T., Sharma, S., Ilyas, R. A., & El-Khatib, S. (2022). Critical Review on Polylactic Acid: Properties, Structure, Processing, Biocomposites, and Nanocomposites. In

- Materials* (Vol. 15, Issue 12). <https://doi.org/10.3390/ma15124312>
- Rashid, T. U., Gorga, R. E., & Krause, W. E. (2021). Mechanical Properties of Electrospun Fibers—A Critical Review. In *Advanced Engineering Materials* (Vol. 23, Issue 9). <https://doi.org/10.1002/adem.202100153>
- Reddy, V. S., Tian, Y., Zhang, C., Ye, Z., Roy, K., Chinnappan, A., Ramakrishna, S., Liu, W., & Ghosh, R. (2021). A review on electrospun nanofibers based advanced applications: From health care to energy devices. In *Polymers* (Vol. 13, Issue 21). <https://doi.org/10.3390/polym13213746>
- Timchenko, P. E., Timchenko, E. V., Pisareva, E. V., Vlasov, M. Yu., Volova, L. T., Frolov, O. O., & Kalimullina, A. R. (2018). Experimental studies of hydroxyapatite by Raman spectroscopy. *Journal of Optical Technology*, 85(3). <https://doi.org/10.1364/jot.85.000130>
- Yashima, M., Yonehara, Y., & Fujimori, H. (2011). Experimental visualization of chemical bonding and structural disorder in hydroxyapatite through charge and nuclear-density analysis. *Journal of Physical Chemistry C*, 115(50). <https://doi.org/10.1021/jp208746y>