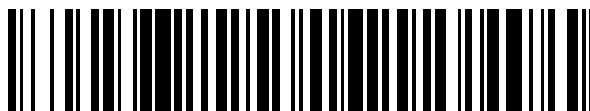


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 758 176**

51 Int. Cl.:

D01D 5/06 (2006.01)

D01F 4/02 (2006.01)

D01D 4/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.12.2016 PCT/EP2016/081267**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.06.2017 WO17102989**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.12.2016 E 16809446 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.09.2019 EP 3390702**

54 Título: **Método para producir estructuras alargadas tales como fibras a partir de soluciones poliméricas mediante hilado por flujo deformante**

30 Prioridad:

18.12.2015 EP 15382646

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

04.05.2020

73 Titular/es:

**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID (50.0%)
Ramiro de Maeztu nº 7
28040 Madrid, ES y
UNIVERSIDAD DE SEVILLA (50.0%)**

72 Inventor/es:

**PÉREZ RIGUEIRO, JOSÉ;
GUINEA TORTUERO, GUSTAVO VÍCTOR;
ELICES CALAFAT, MANUEL;
PLAZA BAONZA, GUSTAVO RAMÓN;
MADURGA LACALLE, RODRIGO y
GAÑÁN CALVO, ALFONSO M.**

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 758 176 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método para producir estructuras alargadas tales como fibras a partir de soluciones poliméricas mediante hilado por flujo deformante

5 **Campo técnico**

La invención se refiere al campo de la dinámica de fluidos y, de manera más particular, al uso de dos fluidos que interactúan forzados a pasar a través de un orificio para crear una fibra o hilo de un material polimérico tal que el polímero está disuelto en una solución.

La fibra o hilo puede ser útil para Biomateriales, más específicamente para Ingeniería de Tejidos, entre otras muchas aplicaciones.

15 **Antecedentes de la invención**

La naturaleza es una fuente de inspiración continua para la creación de nuevos productos y procesos. En este sentido, una de las áreas más asentadas en el nuevo campo del Biomimetismo trata de la producción de fibras inspiradas en sus equivalentes naturales y, en particular, en las fibras de seda. Las sedas se definen como fibras hiladas por artrópodos a partir de una solución de proteínas almacenada en glándulas especializadas y, aunque hay un gran número de linajes que pueden hilar fibras de seda, la producción de seda está esencialmente asociada a arañas y algunas larvas de representantes de los Lepidópteros (mariposas).

La importancia crítica de las funciones biológicas desempeñadas por las seda han generado materiales con una combinación única de propiedades. En efecto, la seda de araña muestra una combinación de resistencia a la tracción y deformación a rotura que alcanzan el mayor trabajo hasta fractura de cualquier material natural o artificial, llegan a valores que superan los 500 MJ/m³ para la seda de la araña *Argiope aurantia*, que se compara favorablemente con los 50 MJ/m³ del Kevlar, que es una fibra de altas prestaciones. Sin embargo, el requisito de una gran cantidad de trabajo necesario para romper el hilo de seda no es la única característica deseable de las fibras de seda que se puede transferir a los materiales artificiales. Se ha encontrado también que es posible adaptar las propiedades mecánicas de la seda de araña de manera predecible y reproducible mediante un método sencillo que consiste en sumergir la fibra en agua, permitiendo que se supercontraiga y estirla en agua hasta una longitud dada. A su vez, esta propiedad deseable depende de la existencia de un estado fundamental a la que fibra puede revertir mediante un proceso de supercontracción en agua, independientemente de su historia previa de cargas.

Un factor de importancia añadida por lo que respecta a estas fibras es la extremada biocompatibilidad de las proteínas y fibras de seda. En general, las fibras de seda no generan ninguna respuesta inmune. Así, es prácticamente imposible generar anticuerpos frente a ellas. Sin embargo, pueden ser modificadas mediante procedimientos genéticos o químicos para modificar la respuesta inmune que generan.

Las extraordinarias propiedades de las sedas son el resultado de una interacción sutil entre la composición química, la microestructura física y el procesado.

Las proteínas de la seda -las fibroínas- se caracterizan por unas secuencias que se han conservado durante más de 100 millones de años y que incluyen cuatro motivos básicos de aminoácidos: -An- (en donde n varía de n=2 hasta n=20), -GA-, -GGX- (en donde X es cualquier aminoácido que no sea glicina) y -GPG- en la glándula ampulácea mayor de las arañas tejedoras de telas orbiculares. Algunos de estos cuatro motivos básicos aparecen en otras sedas hiladas por las arañas tejedoras de telas orbiculares y en las sedas de otros linajes de arañas, y el motivo -GA- aparece incluso en la seda de los gusanos de seda (*Bombyx mori*). Los motivos -An- y -GA- conducen a la formación de nanocristales mediante apilamiento de hojas con plegamiento β. Los □-nanocristales mantienen la integridad estructural del material, previniendo el deslizamiento de las cadenas de proteínas y haciendo que las fibras de seda sean insolubles, pese a ser hiladas a partir de una solución acuosa de proteína. Además de la fase nanocristalina, las sedas presentan también una fase amorfa. Se sabe poco de esta segunda fase, pese a que controla la mayor parte de las propiedades de estas fibras.

Además de la composición y la microestructura, el procesado juega un papel crítico en las propiedades de las seda. A diferencia de la mayor parte de las fibras artificiales que requieren o bien altas temperaturas y/o el uso de disolventes agresivos en el proceso de hilado, las sedas se hilan a partir de soluciones suaves a temperatura ambiente. Incluso más sorprendente es la habilidad de producir fibras insolubles en agua a partir de soluciones acuosas en un proceso que se completa en fracciones de segundo. Nuevamente, aunque los detalles del hilado de la seda no se conocen hasta sus últimos detalles, hay un consenso general en sus características esencial. En este sentido, el evento básico en la transición de una solución de proteína a un material sólido, es la formación de los nanocristalitos β, que depende de manera crítica de la presencia de motivos con capacidad de formar cristalitos en la secuencia de las proteínas y que se cree que sucede en dos etapas consecutivas, tal como se describe a continuación.

La primera etapa implica la organización de las proteínas en la luz de la glándula. Hay dos modelos, que no son

necesariamente incompatibles, que describen dicha organización: el modelo de cristal líquido y el modelo micelar. En ambos modelos, las moléculas de proteína adquieren un determinado orden en la solución (alternativamente, un orden de cristal líquido o mediante la formación de estructuras micelares) que disminuye la viscosidad del fluido, lo confiere un carácter no-Newtoniano y prepara a las proteínas para los siguientes cambios conformaciones que conducirán a la solidificación.

Un aumento del pH de la solución en esta etapa podría jugar un papel esencial en este cambio conformacional. La influencia del pH en el proceso de hilado fue sugerida inicialmente por la identificación de bombas de protones en la región distal de la glándula. Este descubrimiento recibió apoyo posterior de la observación de que una disminución del pH en la solución conducía a la formación de estructuras secundarias en forma de plegamiento β en las proteínas de seda. Finalmente, la identificación de un motivo en las proteínas de seda que actúa como un interruptor, que modifica la conformación de la proteína con el pH proporcionó apoyo adicional a este modelo.

Los cambios conformacionales que sufren las proteínas en la primera etapa las hacen susceptibles de solidificar en una segunda etapa, que consiste en imponer tensiones de cizalla en la solución de fluido que inducen desplazamiento relativos entre las proteínas. La importancia de este mecanismo en el proceso de hilado fue reconocida en algunos de los primeros trabajos en el área, puesto que se asume que la transición a las hojas con plegamiento β de las proteínas se completa solamente después de someter a las proteínas a una tensión mecánica suficiente que induzca la reorganización y el ensamblaje de las proteínas de seda. También se encontró que la gran variabilidad que presentan las fibras de seda naturales estaba controlada por las tensiones que se ejercen sobre la fibra durante la etapa final del proceso de hilado, y que este proceso preserva el volumen total de la fibra. El requisito de una reorganización extensiva de las proteínas inducida por tensión para completar el proceso de hilado de las fibras de seda aparece como una característica singular de estas fibras que distingue su procesado de otras rutas de hilado. Las estimaciones iniciales de las tensiones que inducen la formación de la fibra arrojaron valores de 40 MPa, según se calcula a partir de datos reológicos. Mediciones alternativas de las tensiones de hilado a la que están sometidas las fibras que no están sujetas a un estiramiento adicional arrojaron posteriormente un nuevo límite superior de 20 MPa, aunque el valor real podría ser significativamente menor que esta cifra, puesto que las tensiones de hilado podrían estar afectadas por otros procesos diferentes de la formación de la fibra, tales como la fricción de la fibra con las paredes de la glándula.

Las propiedades singulares de las fibras de seda condujo de manera natural a un elevado interés en la producción de fibras artificiales que pudiesen compartir las principales características de los materiales naturales. Los intentos iniciales se restringieron a sistemas en los que se disolvían las proteínas naturales para ser hiladas posteriormente, dando lugar a las llamadas fibras regeneradas. El advenimiento de las técnicas de Ingeniería Genética y la posibilidad de sintetizar proteínas recombinantes inspiradas en las fibroínas naturales, extendió esta metodología inicial de manera que se incluyese a las llamadas fibras bioinspiradas, obtenidas mediante el hilado de soluciones de proteínas obtenidas mediante Ingeniería Genética. En la actualidad, la producción de fibras regeneradas y/o bio inspiradas se realiza utilizando tanto métodos de hilado en húmedo convencionales como de electrohilado. Sin embargo, ambos enfoques están basados esencialmente en la química de las soluciones empleadas y/o en la secuencia de las proteínas de la seda o inspiradas en la seda, no considerando de manera explícita la reorganización inducida por tensión en la solución de hilado de proteína.

Los primeros intentos de hilar fibras de seda estaban basados en el proceso de hilado en húmedo (Yazawa, S. (1960). Spinning of concentrated aqueous silk fibroin solution. *J. Chem. Soc. Japan* **63**, 1428-1430). El mecanismo esencial del hilado en húmedo que permite la producción de fibras consiste en la eliminación del disolvente, en el que están disueltas las moléculas con capacidad de formar fibras, de manera que se permite interactuar a las moléculas entre sí y formar la fibra sólida.

En consecuencia, los elementos básicos del hilado en húmedo son:

- Solución de hilado: solución de las moléculas con capacidad de formar fibras en un disolvente adecuado;
- Hilandería: orificio a través del cual se fuerza a pasar la solución de hilado, creando un chorro;
- Baño de coagulación, en el que se elimina el disolvente de la solución de hilado, y
- Mandril de recogida, en el que se bobina la fibra.

En particular, Yazawa preparó las primeras fibras regeneradas a partir de una solución acuosa de fibroína de seda como solución de hilado y una solución de sulfato de amonio como baño de coagulación.

Desde los intentos iniciales de hilar fibras regeneradas a partir de la fibroína natural de la seda de los gusanos de seda, la mayor parte de los procedimientos propuestos han consistido en disolver las fibras de seda desgomada en un disolvente polar para crear la solución de hilado, y usar un fluido miscible con el disolvente como baño de coagulación. Con anterioridad a la preparación de la solución de hilado, se realiza una etapa de desgomado para eliminar el recubrimiento de la proteína sericina que recubre las fibras de fibroína. El desgomado se realiza de manera habitual en agua hirviendo utilizando Na_2CO_3 como aditivo. Un enfoque alternativo y más reciente consiste en desgomar empleando un autoclave sin necesidad de añadir aditivos. El proceso de desgomado podría jugar un papel importante en la hilabilidad del sistema y en las propiedades de las fibras, puesto que puede degradar las proteínas de fibroína naturales, provocando una disminución del peso molecular de las fibroínas. Intentos posteriores

(presentados brevemente como pares solución de hilado/baño de coagulación) incluyeron: ácido ortofosfórico/solución de sulfato amónico, disolvente de Matsumoto-Uejima (bromuro de litio-etanol-agua)/metanol, hexafluoruro-2-propanol/metanol, ácido fórmico/metanol, nitrato cálcico-agua/metanol, agua/aire y agua/sulfato amónico, entre otros. Es conveniente mencionar el uso del sistema óxido de N-metil morfolina (NMMO) como disolvente de la solución de hilado y metanol como baño de coagulación, puesto que fibras hiladas con este proceso alcanzaron valores del trabajo hasta fractura comparables con las fibras de seda natural, cuando las fibras regeneradas se sometían a un proceso de estiramiento post-hilado en agua.

Es interesante destacar que el hilado de las fibras bioinspiradas a partir de soluciones de proteína recombinante ha seguido un enfoque muy similar desde los primeros intentos de la empresa DuPont (**Lock, R. L.** (1993). Process for making silk fibroin fibers. US5252285) y ha conducido a un enorme número de patentes. Una de las mayores preocupaciones con respecto a la producción de fibras bio inspiradas es la diferencia en la secuencia entre las proteínas naturales y recombinantes. Ya que la lógica detrás del enorme peso molecular de las proteínas naturales sigue sin estar claro, muchos autores se han concentrado en evaluar que las fibras se producían a partir de proteínas artificiales. En consecuencia, algunos de los primeros intentos (**Karatzas, C.N. et al.** Methods and apparatus for spinning spider silk protein, WO03060099A2 (2003); **Lazaris, A., Arcidiacono, S., Huang, Y., Zhou, J. F., Duguay, F., Chretien, N., Welsh, E. A., Soares, J. W. y Karatzas, C. N.** (2002). Spider silk fibers spun from soluble recombinant silk produced in mammalian cells. *Science* **295**, 472-476) usaban procesos de hilado en húmedo convencionales en los que los mecanismos principales que conducían a la solidificación de la fibra estaban relacionados con la difusión de las diferentes especies química. No se realizaron análisis específicos sobre la interacción entre los diferentes fluidos (excepto para los procesos de difusión mencionados anteriormente) o sobre las tensiones mecánicas a las que estaba sometida la solución de hilado. A pesar de aplicar hilado convencional, era posible identificar las condiciones de hilado que conducían a la producción de fibras recombinantes de alto rendimiento (**Elices, M., Guinea, G. V., Plaza, G. R., Karatzas, C., Riekkel, C., Agullo-Rueda, F., Daza, R. y Perez-Rigueiro, J.** (2011). Bioinspired Fibers Follow the Track of Natural Spider Silk. *Macromolecules* **44**, 1166-1176).

Un conocimiento más profundo sobre el mecanismo de hilado natural condujo al desarrollo de nuevos procesos que intentaron controlar la evolución química de la solución de hilado durante los procesos. En este sentido, se propuso (**Knight, D.P.** Apparatus and method for the selective assembly of protein, WO2005017237A2, (2005)) un sistema en el cual la solución de hilado pasa a través de un tubo semipermeable que está en contacto con una o varias especies químicas diferentes, de modo que la composición de la solución de hilado varía a lo largo del tubo. Las propuestas posteriores han sustituido a la pared sólida semipermeable de la técnica anterior por la interacción entre la solución de proteína y un segundo fluido. De esta manera, se describe un sistema microfluidico para la producción de diferentes productos de seda tales como esferas, nanofibrillas e hilos (**Scheibel, T. et al.**, Microfluidic device for controlled aggregation of spider silk, WO2007141131A1, (2007)), en el que se permite que la solución de hilado interactúe con un segundo fluido en un microdispositivo que comprende al menos tres microcanales desde tres entradas diferentes. La interacción entre ambos fluidos controla la evolución química de la solución de hilado y permite crear las diferentes estructuras mencionadas en la patente. Se ha propuesto también una estrategia similar en la que el flujo de un fluido dado está controlado por la presencia de un segundo flujo complementario para la formación de hidrogeles basados en gelatina sembrados con células (**Hu, M. et al.**, Cell immobilization in gelatin-hydroxyphenylpropionic acid hydrogel fibers, *Biomaterials*, **30**, (2009), 3523-3531) y esferas de seda de tamaño micrométrico y submicrométrico (**Omenetto, F. et al.**, Synthesis of silk fibroin micro- and submicron spheres using a co-flow method, WO2015048433A1, (2015)). Sin embargo, no se encuentra una mención explícita en ninguno de estos trabajos a las tensiones implicadas en el proceso, excepto por los comentarios generales sobre su importancia con respecto a la formación de las fibras.

Con respecto a las fuerzas a las que se ven expuestas las proteínas durante el proceso de hilado, el electrohilado difiere del hilado en húmedo convencional en la presencia de tensiones muy altas (aunque difíciles de controlar). En un escenario de electrohilado típico, se bombea una solución polimérica a través de una aguja que funciona como electrodo. Se establece un campo eléctrico intenso generado por una fuente de alta tensión entre la aguja y un dispositivo colector. Cuando el potencial aplicado es lo suficientemente alto como para superar la tensión superficial, un chorro de solución polimérica irrumpe desde la gota, dando como resultado la formación de un cono de Taylor. La fibra se forma durante el vuelo del chorro desde la aguja hasta el colector, como resultado de la evaporación del disolvente. El proceso de electrohilado está controlado por un gran número de parámetros relacionados con la composición de la solución de hilado, las condiciones del flujo y el entorno circundante. Estos, cabe mencionar el efecto ejercido sobre la microestructura y el tamaño de las fibras hiladas por el potencial eléctrico, la viscosidad y la conductividad eléctrica de la solución de hilado y su tensión superficial que, a su vez, controla las tensiones a las que están sometidas las proteínas.

Se han propuesto varios sistemas para el electrohilado de fibras de fibroína regeneradas o bioinspiradas. Los intentos iniciales siguieron con la experiencia previa del hilado en húmedo de fibras regeneradas y usaron hexafluoro-2-propanol como disolvente en la solución de hilado. Una diferencia significativa entre el hilado en húmedo y el electrohilado es la ausencia de un baño de coagulación en este último, de manera que la eliminación del disolvente depende de su volatilidad. Alternativamente, también se utilizó ácido fórmico como disolvente para la fibroína, y hay trabajos que indican la posibilidad de electrohilar fibras de fibroína a partir de soluciones de hilado acuosas, aunque el uso de agua como disolvente requiere habitualmente la adición de otras macromoléculas, por ejemplo colágeno, para que se pueda conseguir una solución de hilado a partir de la cual se puedan producir fibras. En comparación con

el hilado en húmedo, el electrohilado permite la obtención de fibras de fibroína con tamaños que varían de nanómetros a micrómetros, en varios formatos incluyendo haces, fieltros y tubos. Sin embargo, las propiedades mecánicas de las fibras individuales producidas mediante electrohilado tienden a ser significativamente menores que las de las fibras producidas por hilado en húmedo. Las grandes tensiones que pueden surgir durante este proceso fueron ejemplificadas por **Gong et al.** (Macromolecules 2015, 48, 6197-6205), puesto que encontraron una estructura de cristal de forma β metaestable inducida por deformación, con cadenas extendidas que adoptaban una conformación plana en zigzag, en las nanofibras electrohiladas macroscópicamente de poli[(R)-3-hidroxi-butirato-co-(R)-3-hidroxi-hexanoato] (PHBHx) recogidas tras el vuelo del chorro en aire en el borde afilado de un disco que rota a gran velocidad.

Los dispositivos y métodos para producir fibras de gel reticuladas usando flujos laminares coaxiales se conocen en el estado de la técnica como el dispositivo divulgado en HU M ET AL, "Cell immobilization in gelatin-hydroxyphenylpropionic acid hydrogel fibers", BIOMATERIALS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS BV., BARKING, GB, vol. 30, n.º 21, doi:10.1016/J.BIOMATERIALS.2009.03.004, ISSN 0142-9612, (20090701), páginas 3523 - 3531, (20090327), XP026128017 [A], o en HU M ET AL, "Hydrodynamic spinning of hydrogel fibers", BIOMATERIALS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS BV., BARKING, GB, vol. 31, n.º 5, ISSN 0142-9612, (20100201), páginas 863 - 869, (20091029), XP026790414 [A].

La discusión previa muestra que uno de los principales inconvenientes que se encuentra para el hilado de fibras de fibroína regeneradas o bioinspiradas usando técnicas de hilado en húmedo convencional o de electrohilado es el control de las tensiones ejercidas sobre la fibra de hilado. La comparación del sistema de hilado natural que se encuentra tanto en gusanos de seda como en arañas con las técnicas artificiales sugiere la conveniencia de (1) ejercer la tensión después de un tiempo de interacción dado entre la solución de hilado y el flujo complementario que permite que ocurran los cambios requeridos en la conformación de las proteínas, y (2) usar un procedimiento que garantice (y posiblemente) controle los valores de las tensiones sobre las proteínas.

Por tanto, sigue habiendo una necesidad de nuevos procesos y técnicas para la producción de fibras poliméricas que cumpla con ambos requisitos.

30 Sumario de la invención

La presente invención se basa en nuevos descubrimientos en los campos del hilado en sistemas naturales y bio inspirados (seda de gusano de seda y seda de araña) y en mecánica de fluidos. Los inventores han encontrado que la técnica del enfoque de flujo supone un punto de partida conveniente que, tras las modificaciones adecuadas, permite desarrollar el nuevo proceso de hilado mediante flujo deformante (SFS) que se propone en el presente documento y que cumple con los dos requisitos mencionados anteriormente. En su concepción original la técnica del enfoque de flujo tenía como objetivo la generación de un chorro continuo y estable de un fluido dado mediante su enfocado a través de un fluido de flujo conjunto (o fluido de enfoque), que inicialmente era un gas. Las características hidrodinámicas del fluido enfocado permitían la formación de un menisco con una forma de cono a partir del cual se formaba el chorro. La fuente de energía era la caída de presión del gas de enfoque, cuando se forzaba a través de un orificio. Este esquema básico estaba basado en el uso de compuestos inmiscibles como fluidos enfocado y de enfoque, de manera que la tensión superficial del fluido enfocado adquiere un papel fundamental. Además, el procedimiento estaba diseñado para minimizar las tensiones de cizalla ejercidas por los fluidos de enfoque y enfocado. La capacidad de este procedimiento para producir fibras en estas condiciones (inmiscibilidad de los fluidos y valores bajos de las tensiones de cizalla) se comprobó en la fabricación de fibra de vidrio a partir de cristal fundido tal como se describe en la patente US 6116516A. En este sentido, el hilado mediante flujo deformante tal como se propone en la presente invención se basa en la creación de un marco estable para la interacción entre los chorros de la solución de hilado y del de enfoque que controla la interacción química entre ellos y también permite controlar la magnitud y tiempo de aplicación de las tensiones ejercidas sobre las moléculas poliméricas como resultado de atravesar un orificio.

Se divulga un método de auto-ensamblaje molecular a partir de soluciones poliméricas y, en particular, de auto-ensamblaje molecular para la producción de estructuras alargadas, tales como fibras, preferiblemente compuestas de péptidos/proteínas. El método comprende la extrusión de una corriente de una solución de hilado de las moléculas poliméricas fuera de una fuente de alimentación capilar a un entorno circundante, entorno que está compuesto por un fluido de enfoque miscible con la solución de hilado. El chorro de la solución de hilado se estabiliza por la presencia del fluido de enfoque, y la interacción de la solución de hilado con el fluido de enfoque da como resultado la extracción selectiva del disolvente de la solución de hilado, disolvente que se extrae al entorno circundante del fluido de enfoque. La concentración de polímero en la solución de hilado en la región estirada de la corriente alcanza un nivel tal que el contacto entre las moléculas poliméricas dentro de la corriente estirada experimentan auto-ensamblado molecular, y dicho auto-ensamblado molecular puede formar una estructura como un hilo o fibra en la forma de una estructura sólida alargada (normalmente, con una geometría cilíndrica) como resultado de las tensiones ejercidas sobre las proteínas como una consecuencia de que atraviesan un orificio localizado en una tobera aguas abajo del punto de contacto entre la solución de hilado y el fluido de enfoque. La formación de la estructura puede completarse, preferiblemente en un espacio de coagulación. Finalmente, la estructura alargada de las moléculas poliméricas auto-ensambladas se extrae continuamente, por ejemplo recogiendo en un dispositivo de recogida.

El sistema capilar-tobera presenta los siguientes parámetros:

- distancia entre el extremo del capilar y la salida de la tobera entre 400 y 15.000 μm ,
- diámetro de salida de la tobera entre 250 y 800 μm , y
- 5 - ángulo de conicidad del capilar de la solución de hilado de 10° a 90°.

10 El método de la invención hace posible la creación de fibras poliméricas, en particular fibras de seda, en un amplio intervalo de condiciones. Esto se consigue por diferentes medios variando: la composición de la solución de hilado, las condiciones hidrodinámicas del proceso de hilado, la geometría del sistema capilar-tobera, la composición del fluido de enfoque, la composición del fluido de coagulación y la velocidad relativa entre las corrientes y el dispositivo de recogida. La invención permite el hilado en condiciones suaves en términos de la composición de las soluciones empleadas.

15 Una realización de la invención es el método en donde la longitud de la región convergente de la tobera está entre 2000 y 4000 μm .

Otra realización de la invención es el método en donde la salida de la tobera es circular.

20 Otra realización de la invención es el método en donde la salida de la tobera es una ranura en una placa. En tal realización, cualquier referencia al diámetro de la salida de la tobera en el presente documento debe entenderse como relativa a la dimensión transversal mínima.

25 Otra realización de la invención es el método en donde la solución de hilado y los fluidos de enfoque pasan a través de una tobera convergente y entran en un baño de coagulación. Las Figuras 3 y 4 se refieren a un ejemplo del sistema como un baño de coagulación.

30 Otra realización de la invención es el método en donde la solución de hilado y los fluidos de enfoque pasan a través de una tobera convergente y entran en un tubo de coagulación (o capilar de coagulación). Las Figuras 5 y 6 se refieren a un ejemplo del sistema con un tubo de coagulación (o capilar de coagulación). En una realización particular, el tubo de coagulación tiene una sección circular. En otra realización particular, el tubo de coagulación tiene una sección rectangular, más particularmente, el tubo de coagulación puede ser un espacio creado por dos placas paralelas.

35 Otra realización de la invención es el método en donde la solución de hilado y el fluido de enfoque pasan a través de la salida de la tobera convergente y entran en un espacio de coagulación, en donde la salida de la tobera es una ranura en una placa y en donde el espacio de coagulación es un espacio creado por dos placas paralelas.

40 Otra realización de la invención es el método en donde el fluido de enfoque comprende un alcohol (tal como metanol, etanol, etc.), acetona, una solución acuosa salina o mezclas de los mismos. En una realización particular, el fluido de enfoque es o comprende agua y etanol.

Otra realización de la invención es el método en donde el baño de coagulación comprende un alcohol (tal como metanol, etanol, etc.), acetona, una solución acuosa salina o mezclas de los mismos. En una realización particular, el fluido de enfoque es o comprende etanol.

45 Otra realización de la invención es el método en donde el pH del fluido de enfoque y/o el pH del baño de coagulación difiere del pH de la solución de hilado en más de 0,1. El pH de la solución de hilado normalmente varía aproximadamente 3 a aproximadamente 9. Para el fluido de enfoque y el baño de coagulación, el pH generalmente varía de aproximadamente 3 a aproximadamente 7. Una realización de la invención es el método en donde el polímero de la solución de hilado está compuesto por aminoácidos que forman péptidos, polipéptidos y/o proteínas. En una
50 realización preferente, el polímero comprende al menos un motivo de aminoácido seleccionado del grupo que consiste en: -GA-, -An-, -GPG- y -GGX-, en donde n varía entre n=2 y n=20 y donde X es un aminoácido diferente de glicina. En otra realización preferente, la solución polimérica es una solución de péptidos/proteínas compuesta por desde al menos 5 residuos (aminoácidos) hasta proteínas sin restricciones en su longitud, de manera que puedan alcanzar valores del peso molecular del orden de 250 kDa, comparable con las proteínas de seda naturales o incluso mayor.

55 Otra realización de la invención es el método en donde la razón del caudal de la solución de hilado Q_d al caudal del fluido de enfoque Q_f es menor de 0,7 %.

60 Otra realización de la invención es el método en donde la razón del caudal de la solución de hilado Q_d y al caudal del fluido de enfoque Q_f es menor de 0,2 %.

65 Otra realización de la invención es el método en donde el hilo o fibra hilados se recupera en un dispositivo de recogida tal como un mandril rotatorio o un instrumento de succión. Otra realización de la invención es el método en donde la razón entre la velocidad de la fibra o hilo en el dispositivo de recogida y la velocidad del fluido de enfoque varía entre un 20 % y un 500 %.

Otra realización de la invención es el método en donde la razón entre la velocidad de la fibra o hilo en el dispositivo de recogida y la velocidad del fluido de enfoque se encuentra entre un 50 % y un 200 %.

5 Otra realización de la invención es el método en donde la distancia entre el capilar y el orificio de salida de la tobera es de al menos aproximadamente un 10 % del diámetro de la salida de la tobera.

Otra realización de la invención es el método en donde el caudal de la solución de hilado y el caudal del fluido de enfoque es al menos 10^{-20} m³/s.

10 Otro aspecto es un dispositivo adecuado para llevar a cabo el método de auto-ensamblaje molecular de la presente invención, que comprende:

- medios para inyectar una solución de hilado de moléculas poliméricas en un capilar;
- medios para inyectar un fluido de enfoque en una tobera convergente que rodea el capilar y está provisto de una salida por donde se fuerza a atravesar a la solución de hilado y el fluido de enfoque, dando como resultado de esta manera el auto-ensamblaje molecular de las moléculas poliméricas; y
- un dispositivo de recogida adecuado para extraer una estructura alargada de polímero auto-ensamblado;

20 en donde el sistema capilar-tobera presenta los siguientes parámetros:

- distancia entre el extremo del capilar y la salida de la tobera entre 400 y 15.000 μ m,
- diámetro de la salida de la tobera entre 250 y 800 μ m, y
- ángulo de conicidad del capilar de la solución de hilado de 10° a 90°.

25 Otro aspecto de la invención es una estructura alargada, tal como un hilo o fibra, que se puede obtener mediante el procedimiento descrito en el presente documento.

30 Otro aspecto de la invención es el uso de las estructuras alargadas que se pueden obtener mediante el método de la invención para producir biomateriales así como los biomateriales resultantes. Otra realización de la invención es el uso de estructuras alargadas, hilos y fibras producidas por el método para producir biomateriales, proporcionar integridad estructural a los componentes en Ingeniería de Tejidos y disminuir la respuesta inmune generada por tales componentes.

35 Otra realización de la invención es la creación de estructuras usando los hilos y fibras producidas por el método de la invención para producir estructuras básicas elementales que tengan propiedades mecánicas e integridad estructural suficientes en términos de resistencia a la tracción, sin que generen una respuesta inmune y de esta manera sean útiles en la construcción de varios tipos de biomateriales, incluyendo implantes y tejidos artificiales.

40 Otra realización de la invención es el uso de las estructuras alargadas producidas por el método de la invención para producir ligamentos y tendones artificiales, así como componentes de otras partes del cuerpo incluyendo vasos sanguíneos.

45 Otra realización de la invención es el uso de las fibras e hilos producidos por el método de la invención en la regeneración de nervios, de manera que provean un andamiaje básico o actúen como elemento de sustento en el guiado de los axones.

Otra realización de la invención es el uso de fibras producidas por el método de la invención para simular la seda natural de las arañas y gusanos de seda, y el uso de estas fibras para el hilado de tejidos en diferentes campos de la Ingeniería, incluyendo Ingeniería textil y varios tipos de prendas protectoras.

50 Se puede usar la presente invención en el campo de los Biomateriales, más específicamente en el campo de la Ingeniería de Tejidos. La Ingeniería de Tejidos requiere la fabricación de estructuras básicas de materiales biocompatibles. Aunque se han propuesto diferentes materiales en diferentes formatos (geles, membranas, esponjas y fibras), hay una necesidad de estructuras básicas con suficientes propiedades mecánicas en términos de resistencia a la tracción, deformación a rotura y trabajo hasta fractura. La invención se puede usar en tratamientos terapéuticos de tendones y ligamentos. Las fibras de altas prestaciones se hilan con este procedimiento como estructuras básicas para este tipo de terapias regenerativas, puesto que poseen suficiente resistencia mecánica, y pueden ser empleadas en las etapas iniciales del proceso de curación. Las fibras producidas por la invención son útiles para la regeneración de nervios y, en particular, para el guiado de axones. La producción de fibras artificiales con propiedades comparables a las de la seda de araña natural son útiles como fibras de altas prestaciones en diferentes campos de la Ingeniería, incluyendo Ingeniería textil e industrial.

60 Estos y otros objetos, ventajas y características de la invención serán evidentes para aquellas personas expertas en la materia al leer los detalles del método y el producto resultante, tal y como se describe de manera más completa en lo que sigue.

Breve descripción de los dibujos

La invención se entiende mejor a partir de la siguiente descripción detallada cuando se lee conjuntamente con los dibujos que la acompañan. Siguiendo la práctica común hay que enfatizar que los diferentes elementos de los dibujos no están a escala. Al contrario, las dimensiones de los diversos elementos se han expandido o reducido de manera arbitraria por claridad. Entre los dibujos están las siguientes figuras:

La **Figura 1** es una vista esquemática en sección transversal de los componentes empleados en una realización del método de la invención que muestra la región final del sistema capilar-tobera. La figura está indicada esquemática con respecto a las diferentes velocidades, caudales y parámetros geométricos importantes que son útiles para entender diversos aspectos de la invención. U_d , Q_d , U_f y Q_f corresponden a velocidad de la solución de hilado, caudal de la solución de hilado, velocidad del fluido de enfoque y caudal del fluido de enfoque, respectivamente. Los parámetros geométricos corresponden al diámetro de la salida de la tobera, d_6 , y al diámetro de la corriente de solución de hilado, d_d .

La **Figura 2** es una vista esquemática en sección transversal de los componentes empleados en una realización del método de la invención que muestra diferentes parámetros geométricos con diferentes velocidades y caudales a gran distancia de la salida del sistema capilar-tobera.

La **Figura 3** es una vista esquemática en sección transversal de un sistema adecuado para llevar a cabo el método de la invención que muestra un proceso de hilado empleando el sistema capilar-tobera y un baño de coagulación. Los símbolos de referencia son los siguientes: jeringa conecta a una bomba (1), fluido de enfoque (1'), jeringa conectada a una bomba (2), solución de hilado (2'), capilar (3), tobera (4), baño de coagulación (5) y dispositivo de recogida tal como un mandril (6).

La **Figura 4** es una vista esquemática en sección transversal de los componentes de la invención en la que se muestran los detalles de la geometría del sistema capilar-tobera de una realización con el baño de coagulación (por ejemplo, Figura 3) incluyéndose la información relevante relativa a las dimensiones. Los símbolos de referencia son los siguientes: diámetro interior del capilar (d_1), diámetro exterior del capilar (d_2), diámetro interior de la tobera (d_3), diámetro exterior de la tobera (d_4), distancia entre el final del capilar y la salida de la tobera (d_5), diámetro de la salida de la tobera (d_6), longitud de la región convergente de la tobera (d_7) y estrechamiento del extremo del capilar (α).

La **Figura 5** es una vista esquemática en sección transversal de un dispositivo de extrusión empleado en un proceso de hilado empleando el sistema capilar-tobera con un tubo de coagulación o capilar. Los símbolos de referencia son los siguientes: jeringa conectada a una bomba (1), fluido de enfoque (1'), jeringa conecta a una bomba (2), solución de hilado (2'), capilar de la solución de hilado (3), tobera (4), tubo de coagulación (capilar) (5), dispositivo de recogida tal como un mandril (6).

La **Figura 6** muestra aspectos específicos de los componentes empleados en conexión con el método de la invención que muestra detalles y las dimensiones relevantes del sistema capilar-tobera acoplado a un tubo de coagulación (o capilar). Los símbolos de referencia son los siguientes: diámetro interior del capilar (d_1), diámetro exterior del capilar (d_2), diámetro interior de la tobera (d_3), diámetro exterior de la tobera (d_4), diámetro de la salida de la tobera (d_6), y diámetro de la salida del capilar de coagulación (d_8), distancia entre el capilar de la solución de hilado y la salida de la tobera (d_5), longitud del capilar de coagulación (L) y estrechamiento en el extremo del capilar de solución de hilado (α).

La **Figura 7** consiste en un gráfico que muestra los datos relacionados con las condiciones de hilado en términos de la velocidad del fluido de enfoque (U_f) y la velocidad inicial de la solución de hilado (U_d) para los parámetros geométricos: $d_6 = 400 \mu\text{m}$, $\alpha = 90^\circ$ y $d_5 = 1000 \mu\text{m}$, en la composición de la solución de hilado: Proteína de bajo peso molecular (LMW, proteína obtenida después de un proceso de desgomado en Na_2CO_3), 20 % de concentración de fibroína en un tampón de acetato 0,5 M con un pH=5,5; fluido de enfoque y fluido de coagulación: etanol absoluto; descrito en relación con la presente invención.

Círculos rellenos: hilado en continuo, círculos abiertos: sin hilado. Cuadrados: se recuperan fibras insolubles del hilado, líneas discontinuas: límites de las regiones de hilabilidad para la velocidad correspondiente del mandril de recogida (V_m).

La **Figura 8** proporciona un gráfico que muestra datos que proporcionan una comparación del valor experimental de la razón D/d_6 , donde D es el diámetro de la fibra y d_6 es el diámetro de la salida de la tobera y los valores teóricos d_d/d_6 , donde d_d es el valor calculado del diámetro de la solución de hilado usando la ecuación (4) (cuadrados) o la ecuación (9) (círculos).

La **Figura 9** consiste en dos gráficos que muestran una comparación de los valores medidos del diámetro de la fibra y su valor teórico en función de (gráfico superior) la razón entre U_f (velocidad del fluido de enfoque) y V_m (velocidad del dispositivo de recogida) y (gráfico inferior) la razón entre U_d (velocidad de la solución de hilado) y V_m .

La **Figura 10** consiste en dos gráficos que muestran datos que demuestran la calidad de las fibras medida como la desviación típica del diámetro medio de las fibras a lo largo de su longitud con respecto al diámetro de las fibras en función de la razón U_f/V_m (gráfico superior) y U_d/V_m (gráfico inferior).

La **Figura 11** muestra una comparación de los espectros de FTIR de fibras regeneradas hiladas en diferentes condiciones y fibras de seda de gusano de seda. La región de la amida I corresponde a la vibración del enlace C=O del esqueleto de la proteína y se muestra porque contiene información sobre la estructura secundaria de las proteínas. Línea continua oscura: seda de gusano de seda desgomada; línea discontinua: fibra regenerada a partir de una solución de hilado de alto peso molecular; línea de puntos: fibra regenerada de una solución de hilado de

bajo peso molecular. Línea continua clara: fibroína sin plegamientos β . Las líneas verticales indican la posición del pico.

La **Figura 12** consiste en dos gráficos que muestran una comparación de las curvas tensión-deformación de fibras de seda regenerada hiladas en diferentes condiciones de hilado (gráfico superior) y una ampliación del comportamiento elástico inicial para facilitar su comparación (gráfico inferior). Todas las fibras se hilaron empleando una tobera con un orificio de orificio $d_6 = 400 \mu\text{m}$, una distancia entre el final del capilar y la salida de la tobera $d_5 > 2000 \mu\text{m}$, un caudal de la solución de hilado $Q_d = 5 \mu\text{l}/\text{min}$ y una velocidad del mandril $V_R = 3 \text{ m}/\text{min}$, el caudal del fluido de enfoque se adaptó en cada caso para obtener hilado en continuo. Línea negra: fibra regenerada hilada a partir de una solución de hilado con una concentración del 30 % de fibroína de bajo peso molecular y coagulada con etanol al 80 % y ácido acético 0,2 M; Línea discontinua: Fibra regenerada hilada a partir de una solución de hilado con una concentración de fibroína de alto peso molecular del 16 % conteniendo CaCl_2 1 M y coagulada con etanol al 80 % y ácido acético 0,2 M (La fibra se sometió a un estiramiento post-hilado en agua, esto es, a un proceso de estiramiento en húmedo); Línea de puntos: fibra regenerada a partir de una solución de hilado de fibroína de alto peso molecular con una concentración del 8 % y CaCl_2 1 M y coagulada con PEG al 30 %.

Descripción detallada de la invención

Se divulga un método para la producción de estructura alargadas tales como fibras o hilos a partir de soluciones poliméricas, en particular soluciones de proteínas de seda. El método emplea al menos dos fluidos inmiscibles que se ponen en contacto al inyectar una solución de hilado que contiene las moléculas poliméricas en un flujo circundante de fluido de enfoque y, después de un tiempo de interacción, se fuerzan a través de un orificio. Ambos fluidos sufren procesos de intercambio molecular debidos ya sea a la difusión o a la aparición de reacciones entre ellos mientras están en contacto o a ambos mecanismos. El flujo deformante entre la solución de hilado situada en el interior y el fluido de enfoque, situado en el exterior, se cree que resulta de una reducción en la sección transversal de la corriente de la solución de hilado en la salida de la tobera. Después de atravesar la salida de la tobera las fibras entran en un espacio de coagulación que, por ejemplo, puede ser un baño de coagulación o un tubo de coagulación (o capilar de coagulación). Las fibras o hilos hilados se pueden recuperar en un dispositivo de recogida, tal como un mandril rotatorio.

Sin estar ligados a teoría alguna, los solicitantes consideran que el proceso que resulta en la generación de estructuras alargadas, incluyendo fibras e hilos producidos por el efecto combinado de (a) moléculas poliméricas capaces de organizarse a escala micrométrica por procedimientos físicos basados en la adecuada complementariedad de regiones determinadas a lo largo de su secuencia, tales como las contenidas en las sedas y proteínas relacionadas, (b) la difusión de las especie químicas entre la solución de hilado, el fluido de enfoque y, posiblemente, un baño de coagulación externo, (c) el desplazamiento relativo inducido en las proteínas de la solución de hilado por la interacción de la propia solución de hilado y la corriente de fluido de enfoque como resultado de atravesar un orificio, y (d) en algunas realizaciones, la velocidad relativa entre las corrientes de fluidos y el mandril rotatorio o similar que se emplea como dispositivo de recogida. Así, el método hace posible llevar a cabo el hilado de fibras dentro de un amplio intervalo de microestructuras y propiedades.

La invención incluye, en esencia, tres componentes principales y cuatro secundarios, cada uno de los cuales se describe a continuación con mayor detalle. Los elementos principales que se indica a continuación son el capilar de alimentación de solución de hilado, la solución de hilado, el fluido de enfoque y la tobera. Estos componentes pueden ser indicados, en ocasiones, por términos ligeramente diferentes pero que deberían quedar claros por el contexto. Por ejemplo, el capilar de alimentación de la solución de hilado también puede indicarse como fuente de alimentación, la "solución de hilado" también puede indicarse como solución de hilado o solución polimérica. El "fluido de enfoque" también se puede indicar como entorno circundante que comprende un fluido que se utiliza para enfocar y estirar la solución de hilado. La "tobera" se denomina también salida de la tobera o simplemente salida. Como se entenderá a partir de la descripción que sigue y de los ejemplos que se presentan más abajo, la invención se puede llevar a cabo con los componentes principales básicos. Sin embargo, la inclusión de ciertos componentes secundarios hace posible extender los resultados obtenidos y proporcionar fibras de mayor interés comercial.

Descripción de los elementos y del procedimiento

Capilar de alimentación de la solución de hilado. El capilar crea una corriente de solución polimérica (solución de hilado) tal como una solución de proteína. El material del capilar de alimentación de la solución de hilado no está restringido en principio, salvo por su necesaria compatibilidad con las composiciones de la solución de hilado y del fluido de enfoque. Una elección posible para el capilar es sílice. El capilar está ahusado en su extremo para obtener un flujo suave del fluido de enfoque, en particular el ángulo de conicidad (α) del capilar de solución de hilado varía de 10° a 90° .

Solución de hilado. Los principales parámetros que definen la composición de la solución de hilado son (a) la naturaleza química de los polímeros (es decir, fibroína de seda natural(regenerada), proteínas recombinantes de seda, etc.), (b) la concentración de los polímeros, (c) el pH de la solución, y (d) la adición de otras especies químicas (por ejemplo, sales).

De acuerdo con una realización, las soluciones de hilado usadas para el hilado son soluciones acuosas de fibroína de seda con una concentración que varía de 3 a aproximadamente 40 % (p/v). En una realización más particular, la concentración de fibroína en la solución de hilado es de aproximadamente 3 a aproximadamente 20 % (p/v) para las
5 fibroínas de alto peso molecular, y un intervalo preferido es de 15 % a 20 % (p/v). Mientras que cuando la solución de hilado es una solución de fibroína de bajo peso molecular, el intervalo de concentración varía normalmente de aproximadamente 15 % a aproximadamente 40 % (p/v), siendo un intervalo preferido de aproximadamente 30 a aproximadamente 40 % (p/v).

10 Adicionalmente se puede ajustar el pH de la solución mediante el uso de diferentes tampones tales como ácido acético 0,5 M para pH ácido o carbonato sódico 0,5 M para pH alcalino. Por otro lado, se pueden añadir a la solución de hilado sales tales como CaCl_2 , MgCl_2 o NaCl para estabilizar las cadenas de proteína en solución. La concentración de sal se puede fijar preferiblemente en el intervalo de 0 M a 1 M.

15 Un polímero preferido que se emplea en la solución de hilado es fibroína de seda de alto peso molecular, obtenida preferiblemente del desgomado de capullos de gusano de seda en agua (con una razón en peso de 1/50) a 121 °C en un autoclave durante 1 hora.

20 *Fluido de enfoque.* El fluido de enfoque rodea la solución de hilado y crea una corriente de solución de hilado estable en las condiciones impuestas por la geometría del sistema y por los caudales de la solución de hilado y del propio fluido de enfoque. Como se describe más abajo, se cree que el fluido de enfoque inicia el proceso de coagulación mediante (a) la variación de la composición de la solución de hilado o (b) la inducción de una reorganización del polímero de la solución de hilado inducida por tensión, o por ambos mecanismo (a) y(b).

25 *Tobera.* La combinación capilar de alimentación-tobera determina la geometría del sistema y permite establecer tres parámetros críticos del proceso, la distancia entre el extremo del capilar y la salida de la tobera (d_5), entre 400 y 15.000 μm , el diámetro de la salida en la tobera (d_6), entre 250 y 800 μm y la distancia y la forma de la región convergente de la tobera. La formación de una corriente deformante estable exige que la geometría de la región no conduzca a inestabilidades, lo que requeriría una geometría convergente. En una realización particular, la longitud de
30 la región convergente de la tobera (d_7) es entre 2000 y 4000 μm . El material de la tobera no está restringido en principio, salvo por su compatibilidad con las composiciones de la solución de hilado y del fluido de enfoque. Una elección posible es vidrio para la tobera.

Los componentes secundarios de la invención son:

35 *Baño de coagulación.* El baño de coagulación completa el proceso de solidificación de la estructura alargada (fibra, hilo, etc.) induciendo cambios químicos, y consiste en un depósito, que puede tener un lado abierto a la atmósfera, que permite el mantenimiento de las corrientes de solución de hilado y de fluido de enfoque durante una distancia suficiente después de atravesar la salida de la tobera.

40 *Región de coagulación confinada.* La región de coagulación confinada consiste en un espacio limitado en el que las corrientes de solución de hilado y de fluido de enfoque permanecen estables durante una distancia suficiente como para permitir la coagulación después de atravesar la salida de la tobera. Se puede realizar, por ejemplo, con un tubo o capilar de coagulación cuya sección transversal se reduce aguas abajo.

45 *Fluido de coagulación.* El uso de un baño de coagulación permite emplear un fluido de coagulación que puede ser el mismo o diferente del fluido de enfoque.

Los fluidos de coagulación se pueden agrupar de acuerdo con la naturaleza de sus componentes principales. En una realización de la presente invención, el coagulante empleado se selecciona entre un coagulante alcohólico, un coagulante de polietilenglicol, glicol, glicerol y un coagulante de base salina.

50 Los coagulantes alcohólicos son mezclas de alcohol (por ejemplo, etanol o isopropanol). La relación alcohol:agua típicamente varía en el intervalo 100:0 a 60:40. Adicionalmente, se puede añadir ácido acético al fluido de coagulación hasta alcanzar una concentración final que puede variar entre 0 y 0,5 M.

55 Los coagulantes de polietilenglicol son soluciones acuosas de PEG, típicamente en un intervalo de aproximadamente 10 % y aproximadamente 50 % (p/v). El peso molecular del PEG puede variar habitualmente entre aproximadamente 2 y 8 kDa. Adicionalmente se puede añadir ácido acético al fluido de coagulación hasta alcanzar una concentración final que puede variar entre 0 y 0,5 M.

60 También se pueden utilizar glicol y glicerol como coagulantes.

Son ejemplos de coagulantes de base salina, por ejemplo, soluciones de sulfato amónico o de fosfato de potasio.

65 *Dispositivo de recogida.* El hilo o la fibra hilados se recogen en un dispositivo de recogida desde donde se pueden recuperar. Dispositivos de recogida son, por ejemplo, un mandril rotatorio o un instrumento de succión. Se puede añadir una etapa de estiramiento post-hilado ya sea en aire o en un entorno diferente. La recuperación de la fibra se

caracteriza por la razón de estirado de recogida, DR1, definida como la razón entre la velocidad de la solución de hilado en la salida de la tobera y la velocidad lineal del mandril de recogida. La etapa de estiramiento post-hilado se caracteriza por la razón de estiramiento post-hilado, DR2, definida como la razón entre la velocidad lineal del mandril de recogida y la velocidad lineal del mandril de estiramiento post-hilado.

5 Sin estar ligado a teoría alguna, se cree que la producción de las fibras con el procedimiento de hilado por flujo deformante implica los siguientes procesos fundamentales: Formación de nanocristales de los polímeros de la solución de hilado, interacción de las corrientes de solución de hilado y de fluido de enfoque, tensiones de cizalla ejercidas sobre las fibras que conducen al desplazamiento relativo en la corriente de solución de hilado cuando atraviesa la salida de la tobera, y creación de una corriente de enfoque estable en el espacio de coagulación.

Formación de nanocristales por los polímeros de la solución de hilado.

15 El hilado por flujo deformante requiere que las moléculas poliméricas de la solución de hilado formen regiones cristalinas en el momento de la solidificación. Ejemplos representativos de este tipo de moléculas son las fibroínas de la seda. Las fibroínas de seda natural tanto de gusanos de seda como de araña y las proteínas bioinspiradas en las seda naturales están caracterizadas por un pequeño número de motivos de secuencia que permiten la formación de estructuras sólidas alargadas, por ejemplo fibras. Estos motivos son básicamente -GAGAGS- (gusano de seda) y -An- (seda de araña, con n variando entre 5 y 10). La solidificación es el resultado del ensamblaje de estos motivos en estructuras denominadas nanocristales- β . El estudio de los sistemas de hilado de seda naturales ha revelado que el proceso de formación de los nanocristales a partir de una solución de hilado de proteína soluble se realiza en dos etapas. Inicialmente, la variación en el valor del pH y la eliminación de moléculas de agua de la solución de hilado induce cambios conformacionales en las proteínas que conducen a su reorganización. A continuación, el desplazamiento relativo de las proteínas en contacto conduce a cambios conformacionales adicionales y a la creación de los nanocristales.

Interacción de las corrientes de solución de hilado y de enfoque.

30 El proceso de solidificación al menos se inicia, y podría incluso completarse hasta un cierto nivel, a través de las interacciones entre las corrientes de solución de hilado y de enfoque. En paralelo con el sistema natural, el primer efecto de esta interacción es la modificación de la composición química de la solución de hilado. Esta modificación, a su vez, depende de la difusión de las diferentes especies desde o hacia las corrientes de solución de hilado y de enfoque. En principio, las moléculas del disolvente de la solución de hilado deberían difundir hacia la corriente de enfoque, aumentando de esta manera la concentración efectiva de proteína en la corriente de la solución de hilado. Adicionalmente, algunas especies químicas, tales como protones, podrían difundir desde la corriente de enfoque hasta la de solución de hilado. En el caso particular de los protones, este tipo de difusión induciría un cambio en el pH de la solución de hilado, que es relevante para el proceso de solidificación en el sistema natural.

40 Para conseguir un proceso de difusión eficiente, es preferible que la corriente de enfoque satisfaga una serie de condiciones: (1) la solución de hilado y el fluido de enfoque deberían ser miscibles, (2) la longitud de la corriente de enfoque debería ser suficientemente larga como para permitir la difusión del disolvente de la solución de hilado, (3) los caudales de las corrientes de solución de hilado y de enfoque deberían ser tales que durante el proceso la corriente de solución de hilado esté siempre en contacto con fluido de enfoque no saturado, de manera que el intercambio de especies químicas entre la solución de hilado y el fluido de enfoque sea efectivo. Estas condiciones representan desviaciones significativas de la tecnología de enfoque con fluido, tal como se describe específicamente en la patente US 6.116.516 "Stabilized capilar microjet and devices and methods for producing same". La patente '516 indica que los fluidos empleados en los procesos de enfoque con fluido deberían ser inmiscibles y dedican una discusión detallada a la influencia de la tensión superficial entre los fluidos participantes en el proceso. La patente '516 también indica que la máxima longitud obtenida para el microchorro es de 50 mm, valor que está por debajo de los valores necesarios para la producción de fibras con el presente procedimiento, que típicamente exceden una longitud de 100 mm.

55 De acuerdo con una realización de la presente invención, el caudal de la solución de hilado se fija entre aproximadamente 1 y aproximadamente 50 $\mu\text{l}/\text{min}$. En particular, se obtuvieron unos resultados excelentes para caudales bajos, en el intervalo entre aproximadamente 3 y aproximadamente 9 $\mu\text{l}/\text{min}$. El hilado se puede realizar en un amplio intervalo de caudales del fluido de enfoque, por ejemplo desde aproximadamente 0,1 hasta aproximadamente 20 ml/min.

Tensiones de cizalla en la corriente de solución de hilado y desplazamiento relativo de las proteínas.

60 La formación de las fibras supuestamente requiere el desplazamiento relativo de las moléculas poliméricas en contacto, de modo que las regiones susceptibles de formar una fase cristalina estén alineadas. Simultáneamente, la reorganización de las moléculas favorece las interacciones que eventualmente conducen a la formación de la fibra. En este sentido, es crítico alcanzar una concentración final de polímero en la solución de hilado que permite el contacto entre las proteínas (u otros polímeros) en un entorno que favorece los desplazamientos relativos. La tecnología propuesta permite el desplazamiento relativo de las proteínas en la solución de hilado en dos etapas diferentes. Inicialmente, la diferencia entre los caudales de las corrientes de la solución de hilado y de enfoque induce un primer

efecto mecánico sobre la solución de hilado que es simultáneo en el tiempo con la interacción química entre ambos fluidos. Es una característica singular del SFS que le permite ejercer una tensión mecánica adicional sobre la solución de hilado cuando la solución de hilado y el fluido de enfoque se mueven a lo largo de la geometría convergente de la tobera y, eventualmente, atraviesan la salida de la tobera. En este sentido, la interacción entre la solución de hilado y el fluido de enfoque se extiende a lo largo de la longitud d_5 dentro de la tobera, y las moléculas en la solución de hilado están sometidas a tensiones mecánicas cuando atraviesan la salida de la tobera. De este modo, los efectos de la interacción química y las fuerzas mecánicas sobre las moléculas de la solución de hilado se ven desacopladas en gran medida.

La longitud axial característica de la región de enfoque se resume como d_7 , que refleja la razón en la cual el fluido de enfoque acelera desde su paso alrededor del capilar de alimentación de diámetro d_2 hacia el orificio de descarga de diámetro d_6 . Específicamente, para una forma dada de la tobera de enfoque dada por una función $g(z; d_3, d_6, d_7)$, donde z es la coordenada axial desde la salida del capilar de alimentación la aceleración experimentada por el fluido de enfoque en cualquier punto a lo largo del eje puede expresarse de forma muy aproximada como:

$$a = \frac{-2Q_f^2}{g^5} \frac{dg}{dz},$$

Por ejemplo, para una forma de la tobera de enfoque dada por la función:

$$g(z; d_3, d_6, d_7) = (d_3 + d_6 + (d_3 - d_6) \operatorname{Tanh}(2(1 - 2z/d_7))) / 2,$$

la aceleración toma aproximadamente la forma:

$$a = \frac{2^7 (d_3 - d_6) \operatorname{Sech}(2(1 - 2z/d_7)) Q_f^2}{(d_3 + d_6 + (d_3 - d_6) \operatorname{Tanh}(2(1 - 2z/d_7)))^5 d_7},$$

siempre y cuando d_7 sea suficientemente mayor que d_3 . Esta aceleración impone la tasa local de estirado axial experimentada por la corriente de enfoque en cualquier punto a lo largo de la longitud axial. Cualquier experto en la materia puede observar que esta aceleración es máxima muy cerca de la salida de la tobera, y que la mayor parte de la región inicial después de la salida del capilar de alimentación está dominada por un movimiento lento en comparación con el de la región de alta tasa de deformación alrededor de la salida de la tobera de enfoque. Esto separa claramente la región de enfoque en dos partes: (i) una primera región donde la solución de hilado está dominada por procesos de difusión molecular que, por ejemplo, pueden conducir a un cambio en el pH, y (ii) una segunda región (aguas debajo de la primera) dominada por una alta tasa de deformación y tensión.

La posibilidad de ejercer tensiones mecánicas sobre las proteínas de la solución de hilado después de un tiempo de interacción dado entre la solución de hilado y el fluido de enfoque es característica de esta tecnología, y representa una diferencia fundamental con respecto a otras tecnologías tales como aquellas presentadas en los documentos WO03060099A2, WO2005017237A2, WO2007141131A1 y WO2015048433A1.

Creación de una corriente estable de enfoque en el baño de coagulación o región de coagulación confinada

La solidificación final de la fibra puede verse favorecida por la ampliación de la interacción entre la solución de hilado y el fluido de enfoque dentro del baño de coagulación o la región de coagulación confinada, que implica la creación de una corriente estable. La creación de una corriente estable fundamentalmente depende de (1) la geometría combinada del capilar de alimentación de la solución de hilado y de la tobera, (2) de la viscosidad del fluido de enfoque y, (3) si es diferente de este último, de la viscosidad del fluido de coagulación. En menor medida también podría estar influida también por (4) la viscosidad de la solución de hilado. En algunas realizaciones, la formación de una corriente estable puede requerir que el perfil de la geometría interior de la tobera corresponda a una geometría convergente (esto es, un diámetro interior más pequeño cuanto más cerca se encuentre de la salida de la tobera). La geometría de la tobera representa una diferencia esencial cuando se compara con las patentes 6.116.516 y WO 01/69289 A2 "Methods for producing optical fiber by focusing high viscosity liquid", puesto que ambos documentos de patente requieren o bien una geometría divergente (US 6.116.516) o convergente-divergente (WO 01/69289 A2). La formación de una corriente estable del fluido de enfoque es un hecho que no se indica en ninguna de las patentes anteriores, puesto que el efecto de enfoque de flujo se genera como consecuencia de la variación de presión desde la cámara de presión al medio exterior. En este sentido, el microchorro estable que se obtiene a partir de una solución o del material fundido en estos documentos de patente se forma debido a la diferencia de presión en el fluido de enfoque que origina una emisión suave de material desde un cono estable del capilar.

MODELO SIMPLIFICADO DE ALGUNOS PARÁMETROS BÁSICOS DEL PROCESO DE HILADO POR FLUJO DEFORMANTE

Se puede formular un modelo básico del sistema de flujo deformante como sigue:

La relación entre el caudal y la velocidad de la solución de hilado se puede establecer a partir de la ecuación de continuidad como:

5

$$U_d \sim \frac{Q_d}{d_d^2} \quad (1)$$

y la del fluido de enfoque como:

10

$$U_f \sim \frac{Q_f}{d_6^2 - d_d^2} \sim \frac{Q_f}{d_6^2} \quad (2)$$

15

donde U_d , Q_d , U_f y Q_f corresponden a la velocidad de la solución de hilado, caudal de la solución de hilado, velocidad del fluido de enfoque y caudal del fluido de enfoque, respectivamente. Los parámetros geométricos corresponden al diámetro de la salida de la tobera, d_6 , y al diámetro de la corriente de solución de hilado, d_d . Este último varía al aumentar la distancia desde la salida del capilar. Los parámetros se indican en la Figura 1.

20

El diámetro de la corriente de solución de hilado, d_d , se puede calcular a partir de la teoría de la capa límite, que asume que las tensiones de cizalla en la capa límite de las corrientes de solución de hilado y de enfoque son iguales. La aplicación de esta teoría permite obtener la ecuación:

$$\mu_f \rho_f U_f^3 \sim \mu_d \rho_d U_d^3 \quad (3)$$

25

Donde μ_f (μ_d) y ρ_f (ρ_d) corresponden a la viscosidad del fluido de enfoque (solución de hilado) y a la densidad del fluido de enfoque (solución de hilado), respectivamente.

La combinación de las ecuaciones (1)-(3) lleva a la ecuación:

$$d_d \sim d_6 \left(\frac{\mu_d \rho_d Q_d^3}{\mu_f \rho_f Q_f^3} \right)^{1/6} \quad (4)$$

30

Que establece una relación entre d_d y los parámetros geométrico e hidrodinámicos del sistema. La ecuación (4) se puede expresar en términos del número de Reynolds de la solución de hilado y del fluido de enfoque como:

$$\text{Re}_d = \frac{\rho_d Q_d}{\mu_d d_d} \quad ; \quad \text{Re}_f = \frac{\rho_f Q_f}{\mu_f d_f}$$

$$d_d \sim d_6 \left(\frac{\text{Re}_d}{\text{Re}_f} \right) \left(\frac{\rho_f}{\rho_d} \right)^{2/3} \left(\frac{\mu_d}{\mu_f} \right)^{4/3} \quad (5)$$

35

Para distancias suficientemente largas de la salida de la tobera, es posible simplificar el análisis previo mediante el uso de la ecuación de continuidad, asumiendo la igualdad de las velocidades de la solución de hilado y del fluido enfoque en el límite.

40

$$U_d^\infty \approx U_f^\infty \quad (6)$$

Asumiendo que el tamaño lateral de la corriente de solución de hilado es mucho menor que la del fluido de enfoque:

$$d_f^\infty \gg d_d^\infty$$

Es posible establecer la siguiente relación:

$$Q_f \approx \frac{\pi}{4} (d_f^\infty)^2 U_f^\infty \quad (7)$$

5

Puesto que por la ecuación de continuidad:

$$Q_d \approx \frac{\pi}{4} (d_d^\infty)^2 U_d^\infty \quad (8)$$

10

Y aplicando la ecuación (6), se encuentra finalmente que:

$$\frac{Q_d}{Q_f} = \left(\frac{d_d^\infty}{d_f^\infty} \right)^2 \Rightarrow d_d^\infty = d_f^\infty \left(\frac{Q_d}{Q_f} \right)^{1/2} \quad (9)$$

15 La hipótesis del modelo simplificado a distancias largas respecto a la salida de la tobera son estrictamente ciertas para la realización con el capilar de coagulación y se puede considerar que proporciona un valor aproximado para la realización con el baño de coagulación. La hipótesis de conservación de la masa se validó experimentalmente, como se indica más abajo.

20 En este punto, la descripción del proceso se ha realizado aprovechando el papel crítico del desplazamiento relativo de las moléculas para la formación de la fibra. En este contexto, las tensiones requeridas para inducir estos desplazamientos relativos se ha asumido que desempeñan un papel secundario, puesto que se ha considerado implícitamente que unos mismos desplazamientos laterales de las moléculas en contacto en diferentes soluciones de hilado conducirían a microestructuras comparables en las fibras. Siguiendo esta línea de razonamiento, soluciones de hilado con diferentes viscosidades y, en consecuencia, sometidas a diferentes tensiones mecánicas podrían dar lugar a la misma microestructura siempre que el desplazamiento lateral de las moléculas sea comparable. Sin embargo, merece la pena proporcionar al menos una estimación de las tensiones mecánicas implicadas en el proceso. Dicha estimación se puede realizar aplicando la ecuación de Bernoulli al flujo próximo a la tobera con objeto de calcular la caída de presión, asumiéndose que todas las tensiones mecánicas serán del mismo orden de magnitud. La caída de presión es:

30

$$\Delta p \approx \frac{1}{2} \rho_f \frac{4^2 Q_f^2}{\pi^2 d_6^4} \quad (10)$$

Usando valores típicos del proceso de flujo deformante: $\rho_f \sim 1000 \text{ kg/m}^3$, $Q_f \sim 8 \cdot 10^{-8} \text{ m}^3/\text{s}$ (4,8 ml/min) y $d_6 = 400 \text{ }\mu\text{m}$, se obtiene un valor de $\Delta p \sim 0,2 \text{ kPa}$. La ecuación (10) también muestra que las tensiones mecánicas se incrementan al aumentar el caudal del fluido de enfoque lo que, asumiendo un valor constante del caudal de la solución de hilado, implica menores valores de la razón Q_d/Q_f . Como se muestra más adelante, la mejora de las propiedades de las fibras para valores más pequeño de la razón Q_d/Q_f se pudo validar experimentalmente, en consonancia con la teoría empleada para describir el proceso de flujo deformante.

35

40 Cabe señalar que las ecuaciones básicas de este modelo simplificado que incluyen las ecuaciones (2), (4) y (10) dependen de manera crítica de la salida de la tobera (d_6), que es un parámetro característico de la tecnología SFS. Suponiendo que el valor del tamaño lateral del fluido de enfoque a una distancia larga desde la salida de la tobera, d_f^∞ , sea comparable con el valor de la salida de la tobera, d_6 , ecuación (9) sigue siendo válida. La ecuación (9) predice una dependencia del tamaño lateral de la corriente de solución de hilado a mayores distancias de la salida de la tobera (y, en consecuencia, de la fibra) estando el diámetro de la salida de la tobera y la razón entre los caudales de la solución de hilado y el fluido de enfoque.

45

Ejemplos

50 Los siguientes ejemplos se incluyen para proporcionar a los expertos en la materia una divulgación más completa y una descripción de cómo hacer uso de la presente invención, y no debe entenderse que limiten el alcance de lo que los inventores consideran como su invención ni tampoco que los experimentos descritos a continuación corresponden a los únicos experimentos que se han realizado. Se ha prestado especial atención en la precisión de los ejemplos con respecto a los números empleados (por ejemplo, cantidades, temperatura, etc.) pero es necesario considerar la existencia de errores experimentales y desviaciones respecto a estos valores. Excepto que se indique lo contrario, las

55

partes son partes en peso, el peso molecular es el peso molecular medio, la temperatura se expresa en grados centígrados, y la presión es la presión atmosférica o próxima a ella.

5 La siguiente Tabla muestra el intervalo de parámetros de hilado explorado con los que se han obtenido fibras empleando un baño de coagulación. No implica que el hilado no sea posible para valores distintos de los indicados en la Tabla.

Parámetro	Valor mínimo	Valor máximo
Diámetro de salida de la tobera ($\square m$), d_6	250	800
Diámetro interno del tubo de la tobera ($\square m$), d_3		1100
Diámetro externo del capilar ($\square m$), d_1		150
Diámetro interno del capilar ($\square m$), d_2		360
Distancia entre el capilar de solución de hilado y la salida de la tobera ($\square m$), d_5	400	15000
Ángulo del capilar de la solución de hilado, α	10°	90°
Longitud de la región convergente de la tobera, d_7 ($\square m$)	2000	4000
Caudal del fluido de enfoque (ml/min), Q_f	0,3	16,5
Caudal de la solución de hilado ($\mu l/min$), Q_d	1	50
Velocidad del mandril de recogida (m/min), V_m	1,3	12
Composición de la solución de hilado	Fibroína de seda de gusano de seda (dos distribuciones de pesos moleculares diferentes) Tampón acetato 500 mM, pH=5,5 Agua destilada CaCl ₂ 1 M	
Composición del fluido de enfoque	Etanol/Agua: (100/0) - (60/40) Isopropanol/Agua: (100/0) - (60/40) Sulfato amónico PEG (10-30 %)	
Composición del baño de coagulación	Etanol/Agua: (100/0) - (60/40) Isopropanol/Agua: (100/0) - (60/40) Sulfato amónico PEG (10-30 %)	

10 En particular, la siguiente realización ha conducido a la producción de fibras. Las condiciones en las que se consiguió el hilado se muestran en la Figura 7 en función de la velocidad del mandril de recogida (líneas discontinuas), de la velocidad del fluido de enfoque (U_f) y de la velocidad de la solución de hilado (U_d).

15 Parámetros geométricos de la realización: ángulo de conicidad del capilar, α , 23°, diámetro de la salida de la tobera, d_6 , 400 μm , distancia entre el extremo del capilar y la tobera, d_5 , 1000 μm , y la longitud de la región convergente de la tobera, d_7 , 3500 μm .

Composición de la solución de hilado: solución de fibroína de seda de *Bombyx mori* con una concentración de 20 % (p/v) en una solución acuosa tamponada con acetato 500 mM y pH=5,5. La fibroína se obtuvo a partir de capullos de gusano de seda tras una etapa de desgomado en agua hirviendo con Na₂CO₃ al 0,5 %. Este tratamiento de desgomado conduce a una disminución significativa del peso molecular de las proteínas de la seda.

20 Composición del fluido de enfoque: Etanol absoluto.

Composición del baño de coagulación: Etanol absoluto.

ALGUNAS PROPIEDADES DE LAS FIBRAS HILADAS

25 Los elementos esenciales establecidos a partir del análisis teórico del proceso de flujo deformante que se han descrito anteriormente fueron validados a partir de datos experimentales. Así, si se asume que el diámetro de la fibra, D , es igual o al menos proporcional al diámetro de la corriente de solución de hilado, d_d , las ecuación (4) y (9) establecen una relación lineal entre la razón D/d_6 y la razón de los caudales, Q_d y Q_f . La relación exacta entre ambos parámetros depende de si la condición de distancia infinita de la corriente desde la tobera es válida (ecuación 9) o no (ecuación 4). La Figura 8 representa los valores experimentales de las función definidas en las ecuaciones (4) y (9) frente al cociente D/d_6 , y muestra la existencia de una relación lineal entre las variables en ambos casos.

35 La hipótesis de la conservación de masa que implica el uso de la ecuación de continuidad y de la mejora de la calidad de las fibras al disminuir los valores de la razón Q_d/Q_f se muestran en las Figuras 9 y 10. Los gráficos (a) superior y (b) inferior de la Figura 9 comparan el diámetro de las fibras hiladas con el diámetro teórico obtenido al aplicar la ecuación de la conservación de masa como función de [gráfico (a) de la Figura 9] la razón entre la velocidad del fluido de enfoque, $U_f=4Q_f/\pi d_6^2$) y la velocidad del mandril de recogida (V_m) y [gráfico (b) de la Figura 9] de la razón entre la velocidad inicial de la solución de hilado, $U_d(=4Q_d/\pi d_i)$, y la velocidad del mandril de recogida. Se encuentra un excelente acuerdo entre ambos valores independientemente de la razón entre U_f , U_d y V_m .

40 Los gráficos (a) y (b) de la Figura 10 comparan la calidad de las fibras en términos de las variaciones observadas en su diámetro a lo largo de la fibra, medida como la desviación típica respecto al diámetro medio en función de la razón entre U_f y V_m , y U_d y V_m , respectivamente. Se observa que los valores más pequeños de cualquiera de estas razones (esto es, valores de V_m mayores comparados con cualquiera de las velocidades) conduce a una significativa mejora de la calidad de las fibras, de acuerdo con el aumento en la velocidad de deformación y en la reorganización inducida

en las proteínas que está asociada a valores más pequeños de la razón U_d/V_m .

5 La posibilidad de modificar la microestructura de las fibras mediante la variación de las condiciones de hilado se ilustra en la Figura 11, donde se comparan los espectros de espectroscopia infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) de diferentes muestras. Las regiones estudiadas corresponden al intervalo de longitudes de onda situado entre 1590 cm^{-1} y 1680 cm^{-1} , puesto que estos picos contienen información sobre el enlace amida I de las cadenas peptídicas. La amida I se produce por la vibración del grupo C=O del esqueleto polipeptídico, y su posición exacta ofrece información sobre la estructura secundaria de la proteína. También se muestra el espectro de la seda natural de gusano de seda, ya que este pico que aparece a aproximadamente 1620 cm^{-1} corresponde a la presencia de nanocristales- β . Como se ha indicado anteriormente, la presencia de nanocristales- β es esencial para el comportamiento mecánico de las fibras de seda naturales.

15 Las propiedades de tracción de las fibras hiladas en diferentes condiciones se muestran en la Figura 12 como curvas tensión-deformación. Una de las fibras (línea de puntos), hilada en condiciones geométricas: $d_6=400\text{ }\mu\text{m}$, $\alpha=90^\circ$, $d_5=3500\text{ }\mu\text{m}$ y $d_7=4000\text{ }\mu\text{m}$; con unas condiciones hidrodinámicas; $Q_d=5\text{ }\mu\text{l/min}$, $Q_f=0,5\text{ ml/min}$ y $V_m=3\text{ m/min}$; a partir de una solución de hilado de proteína de alto peso molecular HMW con una concentración de fibroína del 8 %, una concentración de CaCl_2 1 M, empleando PEG al 30 % como fluido de coagulación, muestra una deformación a rotura de 2,5 y una resistencia a la tracción de 28 MPa, lo que da un trabajo hasta fractura de aproximadamente 50 MJ/m^3 . Este valor es comparable al trabajo hasta fractura de fibras poliméricas convencionales y, según la información de la que disponen los autores, es el mayor trabajo hasta fractura de una fibra de seda de gusano regenerada sin una etapa de estiramiento post-hilado. Con un tratamiento post-hilado que consiste en estirar la fibra en agua, se alcanzan mayores valores de resistencia a la tracción (110 MPa) y de trabajo hasta fractura (75 MJ/m^3), si bien se obtienen menores valores de deformación a rotura (0,8) (Figura 12, línea discontinua). Estos resultados se obtuvieron usando los mismos parámetros geométricos indicados anteriormente, con condiciones hidrodinámicas; $Q_d=5\text{ }\mu\text{l/min}$, $Q_f=2,5\text{ ml/min}$ y $V_m=3\text{ m/min}$; a partir de una solución de hilado de proteína de alto peso molecular HMW con una concentración de fibroína del 16 % y CaCl_2 1 M y empleando etanol al 80 % con ácido acético 0,2 M como fluido de coagulación.

30 Lo anterior sirve simplemente para ilustrar los principios de la invención. Resulta claro que los expertos en la materia podrán desarrollar diversas modificaciones que, aunque no se describen ni muestran explícitamente en el presente documento, incluyen los principios de la invención como se definen en las reivindicaciones adjuntas. De manera adicional, todos los ejemplos y lenguaje condicional utilizado en el presente documento tienen como función principal el servir de ayuda al lector para la comprensión de los principios de la invención y de los conceptos con los que los inventores contribuyen a progresar en el área, y se debe entender que esto no está limitado por los ejemplos y condiciones mostrados específicamente. Además, todas las cuestiones declaradas aquí referidas a los principios, aspectos y realizaciones de la invención así como los ejemplos específicos de la misma, deben entenderse que incluyen tanto los equivalentes estructurales como funcionales de los mismos. Además, se pretende que dichos equivalentes incluyan tanto aquellos conocidos en la actualidad, como aquellos desarrollados en el futuro, esto es, cualquier elemento desarrollado que cumpla la misma función, independientemente de su estructura. El alcance de la presente invención, por tanto, no debe entenderse que está limitado a las realizaciones ejemplares mostradas y descritas en el presente documento; este queda definido por las reivindicaciones adjuntas.

40 por las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Un método de auto-ensamblaje molecular, que comprende:

- 5 - extruir una corriente de una solución de hilado de moléculas poliméricas (2') a través de un capilar (3) en un entorno circundante de un fluido de enfoque (1') que fluye coaxialmente, miscible con la solución de hilado en un espacio limitado por una tobera convergente (4) con una salida que la solución de hilado y el fluido de enfoque se ven forzados a atravesar;
- 10 - estirar de forma hidrodinámica la corriente extruida de solución de hilado polimérica dentro de la tobera convergente debido a su interacción con el fluido de enfoque mientras que, simultáneamente y de manera selectiva, se extrae el disolvente de la solución de hilado hacia el fluido de enfoque por difusión molecular; en donde la concentración de polímero en la solución de hilado en una región estirada de la corriente alcanza un nivel tal que el contacto entre las moléculas poliméricas da como resultado el auto-ensamblaje molecular de las moléculas poliméricas; y se impone un estirado retrasado cuando la solución de hilado y el fluido de enfoque se fuerzan a través de la salida de la tobera; y,
- 15 - extraer continuamente una estructura alargada de moléculas poliméricas auto-ensambladas tal como una fibra o un hilo;

en donde el sistema capilar-tobera presenta los siguientes parámetros:

- 20 - distancia entre el extremo del capilar y la salida de la tobera (d_5) entre 400 y 15.000 μm ,
- diámetro de la salida de la tobera (d_6) entre 250 y 800 μm , y
- ángulo de conicidad del capilar de la solución de hilado (α) de 10° a 90°.
- 25 2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la longitud de la región convergente de la tobera (d_7) es entre 2000 y 4000 μm .
3. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en donde la salida de la tobera es circular.
- 30 4. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en donde la salida de la tobera es una ranura en una placa.
5. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la solución de hilado y el fluido de enfoque atraviesan la salida de la tobera convergente y entran en un espacio de coagulación.
- 35 6. El método de acuerdo con la reivindicación 5, en donde el espacio de coagulación es un tubo de coagulación.
7. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en donde la solución de hilado y el fluido de enfoque atraviesan la salida de la tobera convergente y entran en un espacio de coagulación, en donde la salida de la tobera es una ranura en una placa y en donde el espacio de coagulación es un espacio creado por dos placas paralelas.
- 40 8. El método de acuerdo con la reivindicación 5, en donde el espacio de coagulación es un baño de coagulación.
- 45 9. El método de acuerdo con la reivindicación 8, en donde el fluido de enfoque y/o el baño de coagulación comprenden un alcohol, acetona, una solución acuosa salina o mezclas de los mismos.
10. El método de acuerdo con la reivindicación 8, en donde el pH del fluido de enfoque y/o el pH del baño de coagulación difiere del pH de la solución de hilado en más de 0,1.
- 50 11. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el polímero comprende aminoácidos, preferiblemente en donde el polímero comprende aminoácidos que forman desde péptidos de al menos 5 aminoácidos hasta proteínas de tamaño no restringido y/o en donde el polímero comprende al menos un motivo de aminoácido seleccionado del grupo que consiste en: -GA-, -An-, -GPG- y -GGX-, en donde n varía de n=2 a n=20 y donde X es un aminoácido distinto de glicina.
- 55 12. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la razón del caudal de la solución de hilado Q_d al caudal del fluido de enfoque Q_f es menor del 0,7 %.
- 60 13. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la fibra o hilo hilados se recupera en un dispositivo de recogida tal como un mandril rotatorio o un instrumento de succión.
14. El método de acuerdo con la reivindicación 13, en donde la razón de la velocidad de la fibra o hilo en el dispositivo de recogida a la velocidad del fluido de enfoque varía entre 20 % y 500 %.
- 65 15. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la razón del flujo de la

solución de hilado al flujo de fluido de enfoque es de al menos 10-20 m³/s.

16. Un dispositivo adecuado para llevar a cabo el método como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, que comprende:

- 5
- medios para inyectar una solución de hilado de moléculas poliméricas (2') en un capilar (3);
 - medios para inyectar un fluido de enfoque (1') en una tobera convergente (4) que rodea al (3) y está provista de una salida que la solución de hilado y el fluido de enfoque se ven forzados a atravesar, dando como resultado, de esta manera, el auto-ensamblaje molecular de las moléculas poliméricas; y
 - 10 - un dispositivo de recogida (6) adecuado para extraer una estructura alargada de polímero auto-ensamblado;

en donde el sistema capilar-tobera presenta los siguientes parámetros:

- 15
- distancia entre el extremo del capilar y la salida de la tobera (d_5) entre 400 y 15.000 μm ,
 - diámetro de la salida de la tobera (d_6) entre 250 y 800 μm , y
 - ángulo de conicidad del capilar de la solución de hilado (α) de 10° a 90°.

Fig. 1

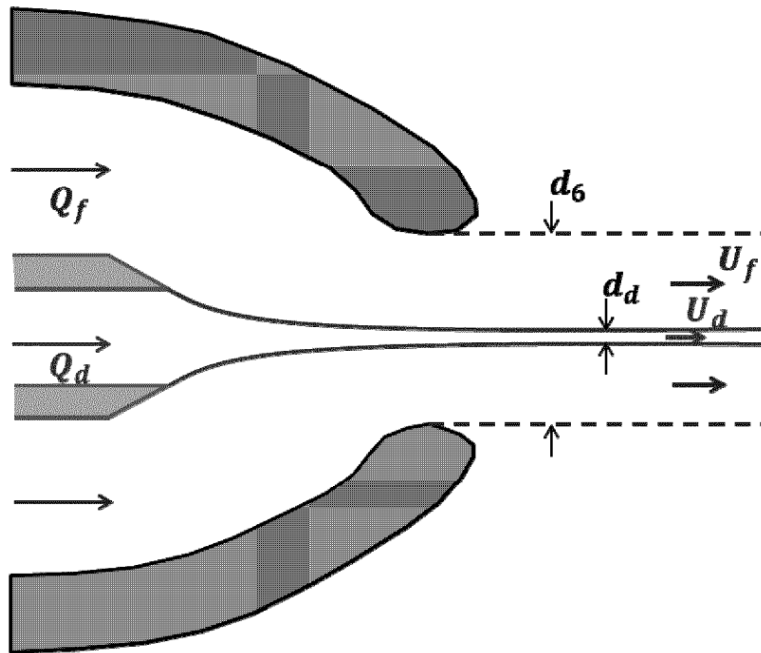


Fig. 2

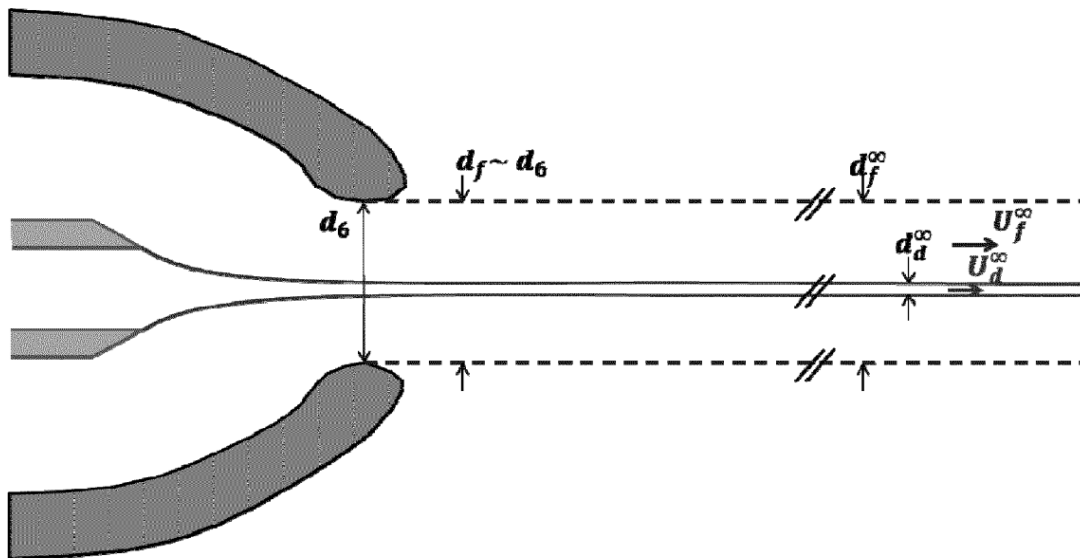


Fig. 3

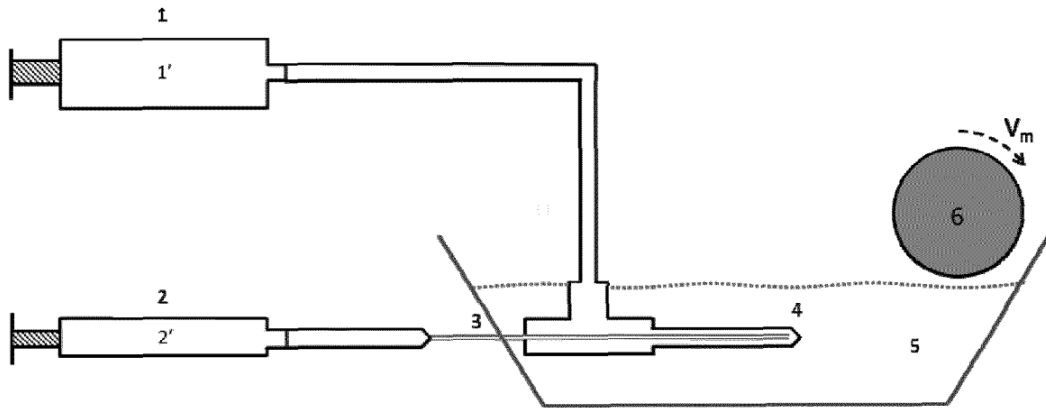


Fig. 4

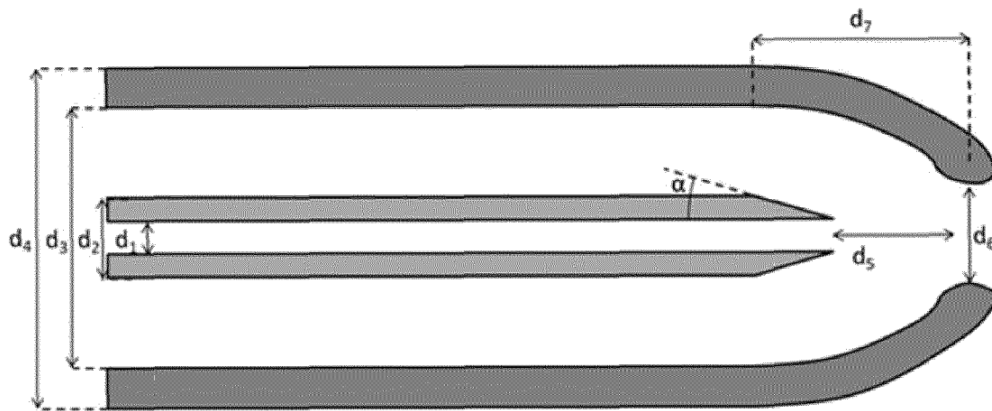


Fig. 5

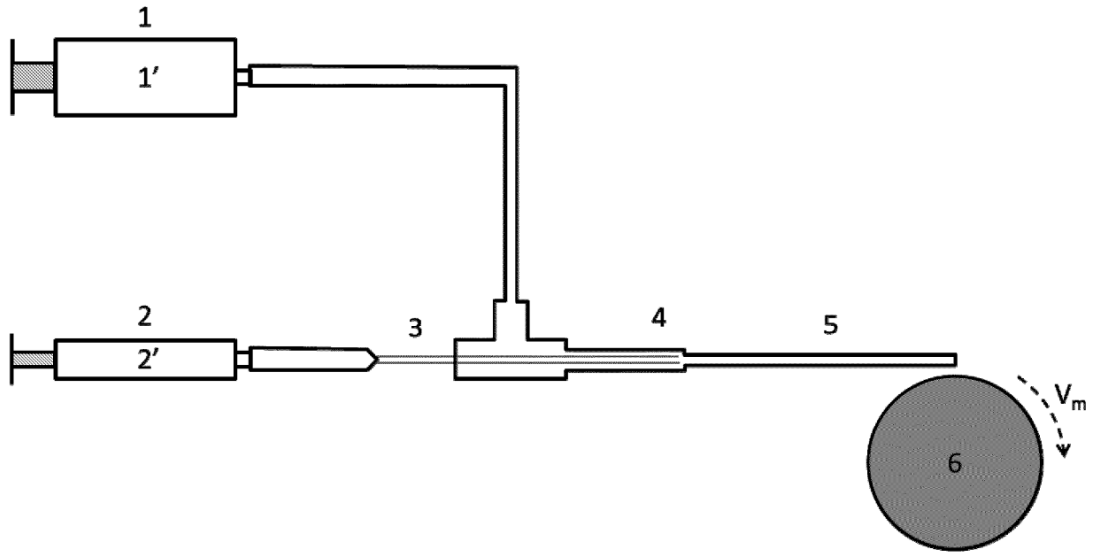


Fig. 6

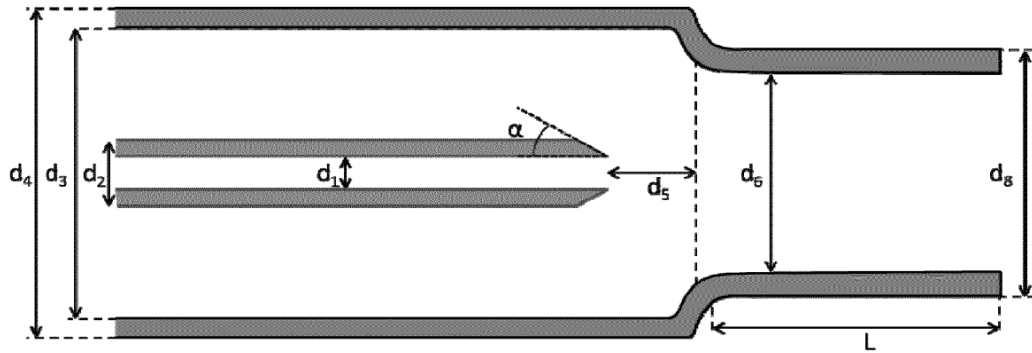


Fig. 7

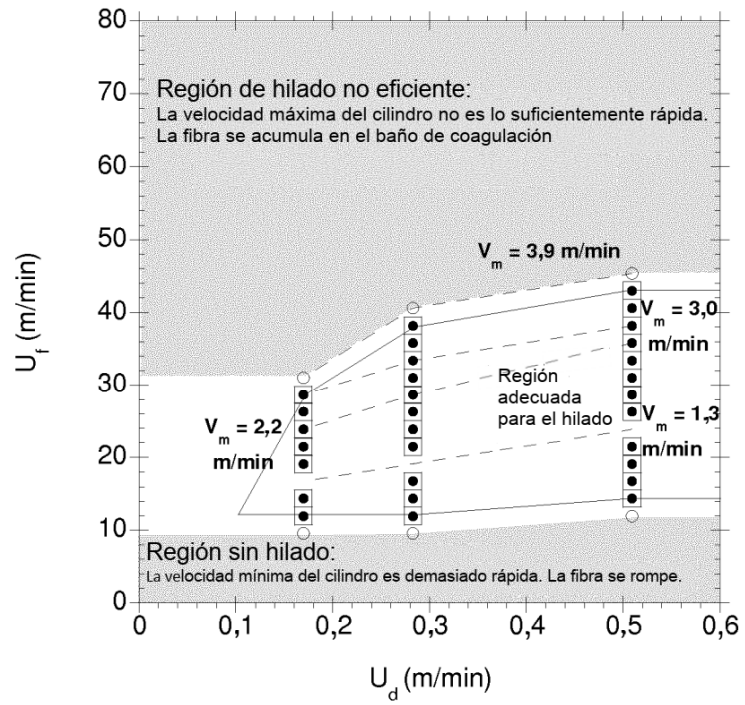


Fig. 8

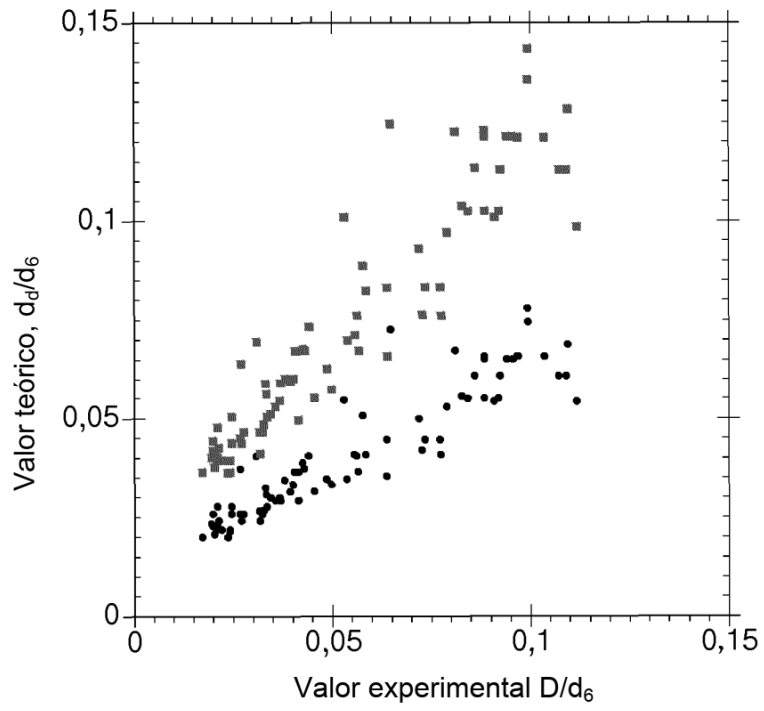


Fig. 9

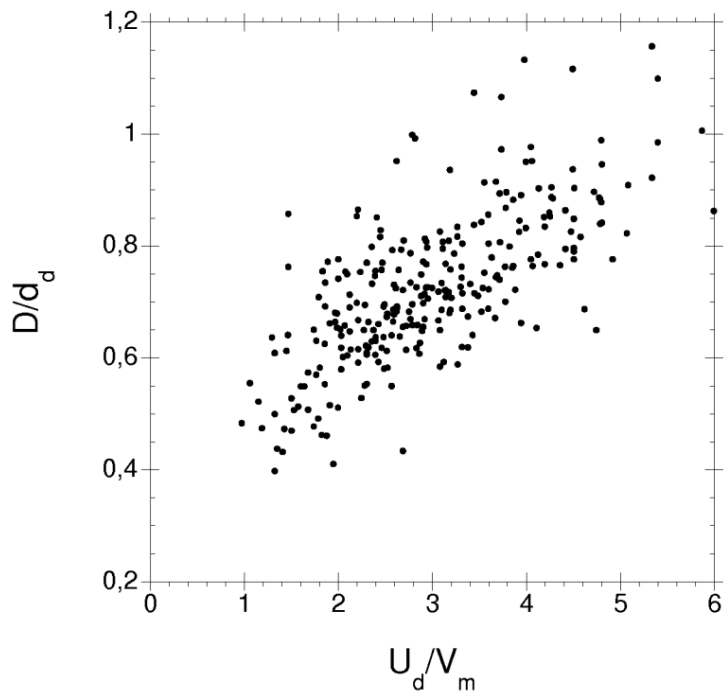
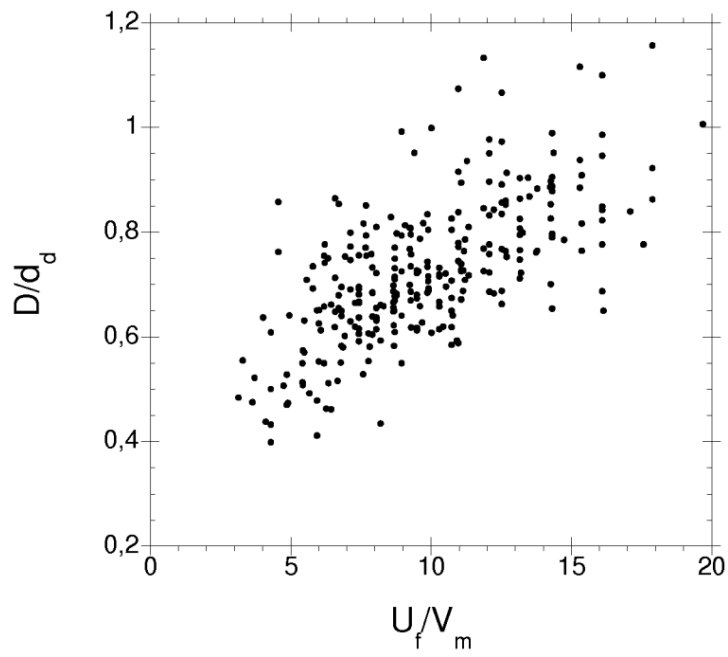


Fig. 10

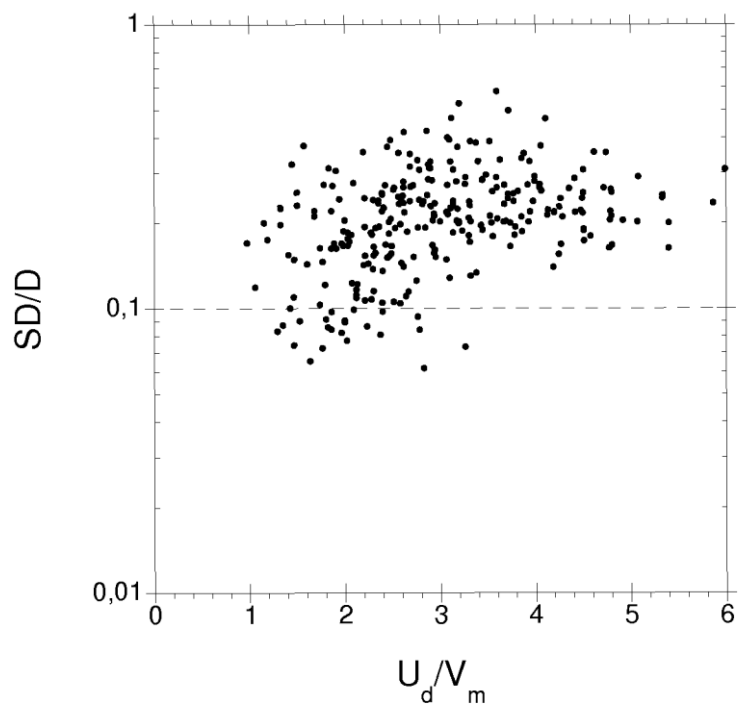
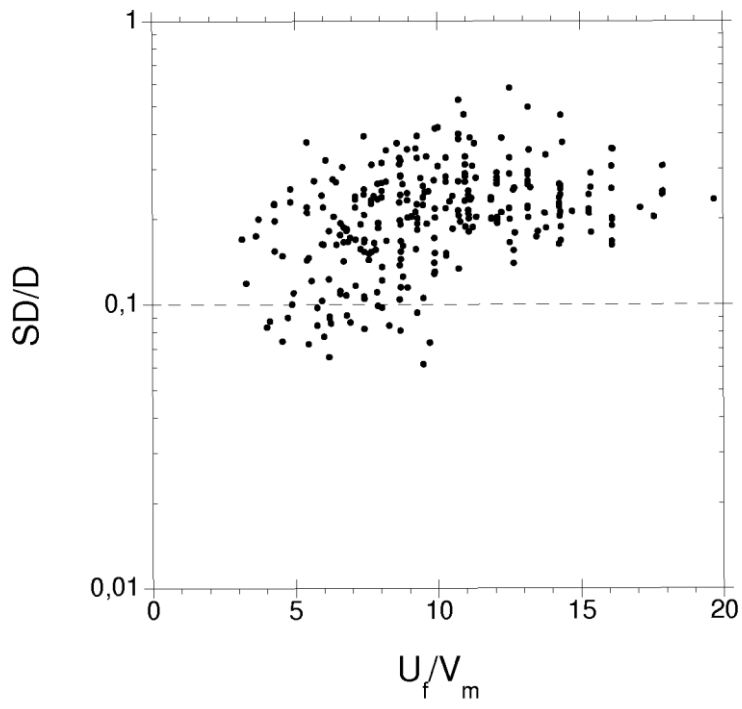


Fig. 11

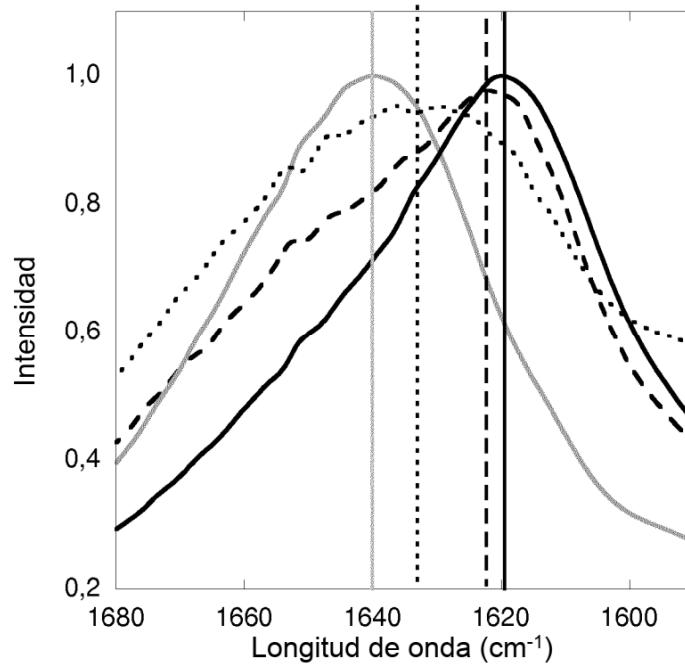


Fig. 12

