



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

INJERTO BINARIO DE POLI(ÁCIDO METACRÍLICO) Y POLI(N-ISOPROPILACRILAMIDA) EN GASAS DE ALGODÓN POR MEDIO DE INICIADOR QUÍMICO Y RADIACIÓN GAMMA

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

QUÍMICO DAVID ALEXANDER ROMERO FIERRO

DR. EMILIO BUCIO CARRILLO
INSTITUTO DE CIENCIAS NUCLEARES

CIUDAD DE MÉXICO, JUNIO 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**INJERTO BINARIO DE POLI(ÁCIDO METACRÍLICO) Y POLI(N-
ISOPROPILACRILAMIDA) EN GASAS DE ALGODÓN POR MEDIO DE INICIADOR
QUÍMICO Y RADIACIÓN GAMMA**

**T E S I S
PARA OPTAR POR EL GRADO DE**

MAESTRO EN CIENCIAS

P R E S E N T A

QUÍMICO DAVID ALEXANDER ROMERO FIERRO



Ciudad de México, junio 2023

JURADO ASIGNADO

Presidente	Dra. Alicia Negrón Mendoza	ICN-UNAM
Vocal	Dra. Lioudmila Fomina	IIM-UNAM
Vocal	Dr. Ernesto Rivera García	IIM-UNAM
Vocal	Dra. Selena Gutiérrez Flores	FQ-UNAM
Secretario	Dr. Gerardo Leyva Gómez	FQ-UNAM

SEDE

Este trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Macromoléculas del Instituto de Ciencias Nucleares (ICN) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Circuito Exterior s/n, Ciudad Universitaria, Col. Universidad Nacional Autónoma de México. Apartado postal 70-543, Alcaldía Coyoacán, C.P. 04510, CDMX.

CONGRESOS

Parte de este trabajo se presentó en modalidad oral en:

XXXV Congreso Nacional de la Sociedad Polimérica A.C. 2022

“Injerto binario de N-isopropilacrilamida y ácido metacrílico en gasas de algodón mediante método químico y radiación gamma”

David Romero-Fierro y Emilio Bucio

17 al 21 de octubre del 2022. CIMAV Sub Sede Monterrey.
Monterrey, Nuevo León, México

Agradecimientos

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)** por el apoyo económico a través de la beca nacional otorgada durante mis estudios de maestría. **CVU: 1175725.**

Al **Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas de la UNAM** por esta grandiosa oportunidad académica.

Al **proyecto DGAPA-UNAM** por el financiamiento bajo el proyecto **No. IN204223.**

Al **Dr. Emilio Bucio Carrillo** por su continuo apoyo académico y moral, los cuales han sido indispensables para el desarrollo de esta tesis y de mi crecimiento en el mundo científico.

A la **Dra. Guillermina Burillo** por sus enseñanzas e inspiración académica.

Al **Dr. Benjamín Leal** y a los miembros de la Unidad de Irradiación del ICN por el apoyo en la irradiación de muestras.

Al **Dr. Juan Carlos Ruiz** de la UAM-Cuajimalpa por el apoyo con las micrografías de SEM.

Al **QFB. Alejandro Camacho** de la Facultad de Química UNAM por el apoyo con las pruebas antimicrobianas.

Al **Sr. Martín Cruz** de la Secretaría Técnica de Cómputo, Redes y Telecomunicaciones del ICN-UNAM por el apoyo técnico en el área de cómputo.

A los sinodales **Dra. Alicia Negrón, Dra. Lioudmila Fomina, Dr. Ernesto Rivera, Dra. Selena Gutiérrez y Dr. Gerardo Leyva** por sus valiosos comentarios con el objetivo de mejorar la calidad del documento final.

A mis compañeras del Laboratorio de Química de Radiaciones en Macromoléculas del ICN, **Belén Santillán, Lorena Duarte, Belén Gómez y Erandy Magaña**, por los momentos y anécdotas compartidas en el laboratorio y fuera de él. Llegarán lejos muchachas. Gracias a Belencita por su apoyo en los momentos duros y las palabras de aliento.

A **Aylin Esquivel**, por ser una de las mejores amigas que he conocido en la vida, por compartir la maestría, ser mi confidente y brindarme apoyo en los momentos que más he necesitado desde que la conocí, sobre todo cuando el mundo se me venía encima. Todos deberían tener una Aylin en su vida.

A **Francisco Bravo, Solange Criollo y Gissela Santafé**, mis amigos de vida, porque a pesar de estar a unos kilómetros o a cientos de kilómetros de distancia me han brindado su amistad incondicional a lo largo de los años.

A mis roomies: **Paula Cárdenas, Steven Jiménez, Santiago Luna, Robinson López, Leidy Torres y Diego Varila**, por la convivencia, los momentos compartidos y las palabras de apoyo siempre necesarias.

A cada persona que contribuyo de una u otra manera en la realización de esta tesis.

Dedicatoria

A mis padres **Janeth y Luis**, por ser mi soporte, ejemplo y razón de lucha, por confiar siempre en mis capacidades y permitirme soñar en grande.

A mi abuelita **Fabiola**, por ser la fuente de amor inagotable e inspiración que se necesitan para enfrentar los retos de la vida.

A mi abuelito **Luis** y mi abuelita **Lucila**, los ángeles que cuidan de mí desde donde se encuentren.

A mi **familia y mis amigos**, su apoyo se sintió en cada momento de esta etapa.

Mamá, papá, abuelitos, familia, amigos... ¡SE LOGRÓ!

Contenido

RESUMEN	VIII
ABSTRACT	IX
LISTA DE ABREVIATURAS	1
1. INTRODUCCIÓN	3
2. MARCO TEÓRICO	5
2.1. Polímeros	5
2.1.1. Polimerización	5
2.1.1.1. Tipos de polimerización	5
2.1.2. Clasificación de polímeros	7
2.1.3. Polímeros sensibles a estímulos	9
2.1.3.1. Polímeros termo-sensibles	10
2.1.3.2. Polímeros pH-sensibles	12
2.2. Materiales poliméricos en la industria biomédica	13
2.2.1. Celulosa de algodón	14
2.3. Modificación de materiales poliméricos con fines médicos	15
2.3.1. Copolimerización de injerto	16
2.3.1.1. Copolimerización de injerto por Método Químico	17
2.3.1.2. Copolimerización de injerto por Método Físico	19
2.4. Radiación ionizante	22
2.4.1. Radiación gamma	23
2.4.1.1. Cobalto 60	23
2.4.2. Interacción de la radiación ionizante con la materia	24
2.4.2.1. Efecto fotoeléctrico	24
2.4.2.2. Producción por pares	25
2.4.2.3. Dispersión de Compton	25
2.5. Sistemas de liberación de fármacos	26
2.6. Técnicas de caracterización	28
2.6.1. Grado de injerto en peso	28
2.6.2. Titulaciones potenciométricas	28
2.6.3. Espectroscopía de Infrarrojo de Transformada de Fourier con Reflectancia Total Atenuada (FTIR-ATR)	29
2.6.4. Análisis Termogravimétrico (TGA)	31
2.6.5. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)	33
2.7. Ensayo de actividad antimicrobiana por turbidimetría	34
3. OBJETIVOS	34
3.1. Objetivo General	34
3.2. Objetivos Particulares	34
4. HIPÓTESIS	35
5. DESARROLLO EXPERIMENTAL	35
5.1. Materiales y reactivos	35
5.2. Purificación de monómeros	36
5.2.1. Purificación de ácido metacrílico	36
5.2.2. Purificación de la <i>N</i> -Isopropilacrilamida	37
5.3. Purificación del iniciador AIBN	37

5.4.	Preparación de las gasas de algodón a tratar.....	37
5.5.	Síntesis de CG-g-(NIPAAm/MAAc) por preirradiación oxidativa	37
5.6.	Síntesis de CG-g-(NIPAAm/MAAc) por el método químico.....	38
5.7.	Caracterización de los materiales obtenidos.....	39
5.7.1.	Espectroscopía de Infrarrojo de Transformada de Fourier con Reflectancia Total Atenuada (FTIR-ATR).....	39
5.7.2.	Análisis termogravimétrico (TGA).....	39
5.7.3.	Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).....	40
5.7.4.	Determinación del pH crítico por titulaciones potenciométricas.....	40
5.7.5.	Retención de agua y LCST.....	41
5.8.	Carga de norfloxacino en gasas de algodón injertadas.....	41
5.9.	Liberación de norfloxacino a partir de las gasas injertadas.....	42
5.10.	Ensayos de turbidez antimicrobiana	43
5.10.1.	Preparación del medio de cultivo	43
5.10.2.	Preparación de las cepas.....	43
5.10.3.	Concentración de bacterias utilizada.....	43
5.10.4.	Ensayo	44
6.	ANÁLISIS DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	44
6.1.	Síntesis de CG-g-(NIPAAm/MAAc) por preirradiación oxidativa	44
6.2.	Síntesis de CG-g-(NIPAAm/MAAc) por el método químico.....	46
6.3.	Evaluación de parámetros para la síntesis de CG-g-(NIPAAm/MAAc) por los métodos físicos y químicos	48
6.3.1.	Efecto del disolvente.....	48
6.3.2.	Efecto de la concentración de monómeros.....	50
6.3.3.	Efecto de la dosis de radiación y de la cantidad de iniciador AIBN ...	51
6.3.4.	Efecto de la temperatura de reacción	53
6.3.5.	Efecto del tiempo de reacción	54
6.4.	FTIR-ATR.....	56
6.5.	TGA.....	59
6.6.	SEM	62
6.7.	Determinación del pH crítico por titulaciones potenciométricas	63
6.8.	Retención de agua y LCST	66
6.9.	Carga y Liberación de fármacos	69
6.9.1.	Carga de Norfloxacino	69
6.9.2.	Liberación de Norfloxacino	72
6.10.	Actividad antimicrobiana	77
7.	CONCLUSIONES	79
8.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	81
	ANEXOS	86

Tabla de Figuras

<i>Figura 1. Representación esquemática de un proceso de polimerización.</i>	<i>5</i>
<i>Figura 2. Obtención de Nylon 6,6 como ejemplo de una reacción de polimerización por condensación.</i>	<i>6</i>
<i>Figura 3. Clasificación de polímeros por su estructura y por su composición química.</i>	<i>8</i>
<i>Figura 4. Ejemplos de polímeros sintéticos y polímeros naturales.</i>	<i>9</i>
<i>Figura 5. Comportamiento de los polímeros termo-sensibles cuando alcanzan la LCST y UCST.</i>	<i>11</i>
<i>Figura 6. Estructuras químicas del monómero NIPAAm y su polímero PNIPAAm.</i>	<i>12</i>
<i>Figura 7. Estructuras químicas del monómero MAAc y su polímero PMAAc.</i>	<i>13</i>
<i>Figura 8. Estructura química de la celulosa.</i>	<i>14</i>
<i>Figura 9. Representación de los métodos “grafting to” y “grafting from”.</i>	<i>17</i>
<i>Figura 10. Mecanismo de descomposición del azobisisobutironitrilo (AIBN).</i>	<i>18</i>
<i>Figura 11. Reacciones paralelas que ocurren durante el injerto inducido por radiación por método directo.</i>	<i>20</i>
<i>Figura 12. Reacciones de la preirradiación en presencia de oxígeno.</i>	<i>22</i>
<i>Figura 13. Esquema de decaimiento del isótopo de ⁶⁰Co al isótopo de ⁶⁰Ni pasando por dos estados excitados de ⁶⁰Ni.</i>	<i>24</i>
<i>Figura 14. Representación de los efectos de la interacción entre la radiación con la materia. Adaptado de (Spinks & Woods, 1990).</i>	<i>26</i>
<i>Figura 15. Esquema de la clasificación de los DDS en función de su ruta anatómica.</i>	<i>27</i>
<i>Figura 16. Curvas de TGA para a) descomposición unietapa y b) descomposición multietapa.</i>	<i>33</i>
<i>Figura 17. Montaje experimental para la destilación a presión reducida del ácido metacrílico.</i>	<i>36</i>
<i>Figura 18. Procedimiento experimental para la síntesis de CG-g-(NIPAAm/MAAc) por método físico.</i>	<i>38</i>
<i>Figura 19. Procedimiento experimental para la síntesis de CG-g-(NIPAAm/MAAc) por método químico.</i>	<i>39</i>
<i>Figura 20. Mecanismo de degradación de la celulosa por efectos de la radiación ionizante. Adaptado de (Tissot et al., 2013).</i>	<i>45</i>
<i>Figura 21. Mecanismo propuesto para el injerto de los monómeros NIPAAm y MAAc en gasas de algodón por preirradiación oxidativa.</i>	<i>46</i>
<i>Figura 22. Mecanismo propuesto para el injerto de NIPAAm y MAAc en gasas de algodón por método químico.</i>	<i>47</i>
<i>Figura 23. Efecto de la concentración de NIPAAm en el porcentaje de injerto de NIPAAm y MAAc en gasas de algodón por los métodos químico y físico.</i>	<i>51</i>
<i>Figura 24. Efecto de la dosis de irradiación en el porcentaje de injerto de NIPAAm y MAAc en gasas de algodón por preirradiación oxidativa.</i>	<i>52</i>
<i>Figura 25. Efecto de la cantidad de iniciador en el porcentaje de injerto binario de NIPAAm y MAAc en gasas de algodón por método químico.</i>	<i>53</i>
<i>Figura 26. Efecto de la temperatura de reacción en el porcentaje de injerto binario de NIPAAm y MAAc en gasas de algodón por preirradiación oxidativa.</i>	<i>54</i>

<i>Figura 27. Efecto del tiempo de reacción en el porcentaje de injerto binario de NIPAAm y MAAc en gasas de algodón por preirradiación oxidativa y por método químico.....</i>	<i>55</i>
<i>Figura 28. Espectros de Infrarrojo para (a) gasa testigo, (b) PMAAc-co-PNIPAAm, (c) CG-g-(NIPAAm/MAAc) (AIBN), y (d) CG-g-(MAAc/NIPAAm) (γ).</i>	<i>56</i>
<i>Figura 29. Termogramas obtenidos por TGA para gasa testigo, copolímero PNIPAAm-co-PMAAc, CG-g-(NIPAAm/MAAc) (γ) y CG-g-(NIPAAm/MAAc) (AIBN).</i>	<i>60</i>
<i>Figura 30. Termograma diferencial (DTA) para gasa testigo, copolímero PNIPAAm-co-PMAAc, CG-g-(NIPAAm/MAAc) (γ) y CG-g-(NIPAAm/MAAc) (AIBN).</i>	<i>60</i>
<i>Figura 31. Micrografías de SEM para la gasa testigo, CG-g-(NIPAAm/MAAc) (AIBN), CG-g-(NIPAAm/MAAc) (γ).</i>	<i>63</i>
<i>Figura 32. Curvas de titulación de las gasas modificadas con los distintos polímeros: CG-g-NIPAAm, CG-g-MAAc, CG-g-(NIPAA/MAAc) (γ) y CG-g-(NIPAAm/MAAc) (AIBN).</i>	<i>65</i>
<i>Figura 33. Perfiles de hinchamiento límite para la gasa testigo y las gasas injertadas por los métodos físico y químico.....</i>	<i>67</i>
<i>Figura 34. Perfiles de retención de agua en función de la temperatura para la determinación de la LCST de las gasas injertadas con los monómeros MAAc y NIPAAm por los métodos físico y químico.....</i>	<i>69</i>
<i>Figura 35. Estructura química del fármaco antimicrobiano norfloxacin.</i>	<i>70</i>
<i>Figura 36. Efecto de la temperatura en la carga de norfloxacin en las gasas injertadas con los monómeros MAAc y NIPAAm por AIBN y radiación gamma.</i>	<i>71</i>
<i>Figura 37. Perfiles de carga de norfloxacin de la gasa testigo y gasas injertadas con los monómeros MAAc y NIPAAm por AIBN y radiación gamma. Dis. acuosa: 10 $\mu\text{g/mL}$, 25 $^{\circ}\text{C}$.</i>	<i>72</i>
<i>Figura 38. Perfiles de liberación de norfloxacin de la gasa testigo y de las gasas injertadas con los monómeros NIPAAm y MAAc por AIBN y radiación gamma. 37 $^{\circ}\text{C}$, PBS con pH: 7.4, agitación constante a 130 rpm, 48 h.</i>	<i>73</i>
<i>Figura 39. Resultados para las pruebas de turbidez realizadas en un caldo Hilton-Müller que contenían cepas bacterianas de E.coli y S.aureus a distintos valores de pH (5,7 y 9) para las muestras a) gasa testigo; b) CG-g-(NIPAAm/MAAc) (γ); c) CG-g-(NIPAAm/MAAc) (AIBN); d) CG-g-(NIPAAm/MAAc) (γ) cargado con norfloxacin y e) CG-g-(NIPAAm/MAAc) (AIBN) cargado con norfloxacin</i>	<i>78</i>

RESUMEN

Las gasas de algodón son materiales poliméricos con propiedades relevantes tales como su biocompatibilidad y gran capacidad de absorción de fluidos, que se utilizan principalmente como apósitos de heridas en el área biomédica. Al estar en contacto directo con la herida y aislarla de agentes patógenos, una gasa de algodón es un candidato idóneo para actuar como un sistema de carga y cesión de fármacos que evite la generación de infecciones y que permita una rápida curación de la misma. Es por estas razones, que en el presente trabajo se modificó el material de algodón con dos monómeros termo y pH sensibles de tal forma que este sirva como una interfaz para la carga y liberación de fármacos en función de los cambios en las variables que se presenten en la herida. Para efectos comparativos, la modificación se realizó por copolimerización de injerto iniciada por dos formas, una mediante el uso del iniciador químico AIBN y la otra mediante la radiación gamma, demostrando las condiciones ideales de síntesis, virtudes y desventajas alcanzadas con cada método. El injerto obtenido se caracterizó por técnicas como FTIR-ATR, TGA, SEM y pruebas de retención de agua. Las propiedades de termo y pH sensibilidad se verificaron por medio de retención de agua en función de la temperatura, y de titulaciones potenciométricas, respectivamente. Es así como se obtuvieron valores de temperatura crítica en el intervalo de 31-34 °C y un pH crítico de alrededor de 4.7. Finalmente, se cargó norfloxacino en las gasas injertadas y se liberó en una disolución amortiguadora de fosfato salino, observándose que el perfil de liberación se ajusta un modelo cinético de Korsmeyer-Peppas.

Palabras clave: *polímeros estímulo sensibles, copolimerización, injerto, pH, temperatura, AIBN, radiación gamma, norfloxacino.*

ABSTRACT

Cotton gauzes are polymeric materials with relevant properties such as biocompatibility and their improved fluids uptake, which are mainly used as wound dressings in the biomedical area. Being in contact with wound and isolate it from pathogen agents, a cotton gauze is a suitable candidate to act as a drug delivery system that avoid the generation of infections, allowing a fast healing. For these reasons, the present work, cotton material was modified with a thermo- and pH-responsive graft copolymer that serves as an interface for loading and release of drugs as function of changes in the environmental variables of the wound. To comparative effects, this modification was performed by graft copolymerization induced by two ways: by using a chemical initiator, such as AIBN, and, by using gamma radiation, demonstrating the synthetic ideal conditions, advantages, and disadvantages achieved by each method. The obtained graft copolymer was characterized through analytical techniques including FTIR-ATR, TGA, SEM, and water uptake tests. Thermo- and pH-sensitivity properties were verified by means of water uptake tests as function of temperature and by potentiometric titrations, respectively. That is how it was obtained critical temperature values in the range of 31-34 °C and a critical pH of, approximately, 4.7. Finally, norfloxacin was loaded in the grafted cotton gauzes and it was released in a PBS dissolution, observing that release profile is adjusted to the Korsmeyer-Peppas kinetic model.

Keywords: *stimuli-sensitive polymers, copolymerization, graft, pH, temperature, AIBN, gamma radiation, norfloxacin.*

LISTA DE ABREVIATURAS

°C	Grados centígrados o grados Celsius (unidad)
µg	Microgramos (unidad)
AAc	Ácido acrílico
AIBN	Asobisisobutironitrilo
AIC	Criterio de información de Akaike
ATR	Reflectancia Total Atenuada
ATRP	Polimerización Radicalaria por Transferencia de Átomo
CG	Gasa de algodón
CG-g-(NIPAAm/MAAc)	Copolímero de injerto de gasa, ácido metacrílico y <i>N</i> -isopropilacrilamida
cm ⁻¹	Número de onda
DDS	Sistemas de Liberación de Fármacos
DTA	Termograma diferencial
FTIR	Espectroscopía de Infrarrojo de Transformada de Fourier
g	Gramos
h	Horas (unidad)
HCl	Ácido clorhídrico
K	Kelvin
kGy	Kilograys
KOH	Hidróxido de potasio
LCST	Lower Critical Solution Temperature
m	Metros (Unidad)
M	Concentración Molar (Unidad)
MAAc	Ácido metacrílico
MeV	Megaelectronvoltios
min	Minutos (unidad)
mg	Miligramos (unidad)
mL	Mililitros (unidad)
MSC	Criterio de Selección de Modelo
nm	Nanómetros (unidad)
NIPAAm	<i>N</i> -isopropilacrilamida

PAAc	Poli(ácido acrílico)
PBS	Solución amortiguadora salina de fosfato
pH	Potencial Hidrógeno
PM	Peso Molecular
PMAAc	Poli(ácido metacrílico)
PNIPAAm	Poli(<i>N</i> -isopropilacrilamida)
PNIPAAm-co-PMAAc	Copolímero de NIPAAm y MAAc
R ²	Coefficiente de correlación de Pearson
rpm	Revoluciones por minuto
SEM	Microscopía Electrónica de Barrido
t _{1/2}	Tiempo de vida media
TBq	Terabequerelio
TGA	Análisis Termogravimétrico
UCST	Upper Critical Solution Temperature
UV	Ultravioleta

1. INTRODUCCIÓN

Las gasas de algodón son materiales de uso prioritario en el área biomédica. Estos materiales están compuestos principalmente por α -celulosa que es un biopolímero altamente hidrofílico debido a la presencia de varios grupos hidroxilo en su estructura. Esta virtud le confiere una gran capacidad de retención de líquidos, siendo un material altamente absorbente. Asimismo, al ser un biopolímero, presenta una elevada biocompatibilidad y sensibilidad al tacto, sin causar alergia o irritación en la piel. Estas características hacen de la gasa de algodón un material extremadamente versátil que va desde un material usado para la asepsia de heridas, así como para apósitos que eviten la exposición de las heridas a agentes externos que dificulten la curación del daño dérmico (Shahriari Khalaji & Lugolobi, 2020). Es precisamente su uso como apósito lo que lo hace un candidato idóneo para actuar como un sistema de liberación de fármacos.

La liberación de fármacos es un procedimiento por el cual se administra un medicamento o agente terapéutico en un sitio de interés. En ese sentido, un sistema de liberación de fármacos está definido como una formulación o dispositivo que contiene un agente terapéutico para selectivamente alcanzar el sitio de acción sin alcanzar células, tejidos u órganos no deseados (Paolino et al., 2006; Rojo et al., 2017). Una gasa de algodón, al estar en contacto directo con la herida, podría servir como un sistema de liberación de agentes terapéuticos que faciliten el tiempo y calidad de curación de la misma. Si bien, con el objetivo de crear un sistema de liberación basado en gasas de algodón, se han realizado diversas aproximaciones con resultados prometedores, una de las que más ha destacado es la modificación con polímeros estímulo sensibles o polímeros inteligentes por copolimerización de injerto (Camacho-Cruz et al., 2021; Hiriart-Ramírez et al., 2012; Luna-Straffon et al., 2014).

Los polímeros estímulo-sensibles son una clase de macromoléculas cuya estructura presenta grupos funcionales idóneos para interactuar con fármacos, retenerlos y liberarlos en función de los cambios que se presenten en su entorno, cambios que se dan por variables como pH, temperatura, fuerza iónica, magnetismo, radiación, entre otras. Debido a esta particularidad, el sistema

basado en estos polímeros es capaz de depositar la cantidad terapéutica necesaria, evitando así un problema mayor como lo es la resistencia microbiana.

Por otro lado, una copolimerización de injerto involucra la inclusión de un polímero con características innatas en una matriz polimérica previamente formada, con el fin de aprovechar las propiedades de ambas macromoléculas (Velazco-Medel et al., 2020). Generalmente, el injerto se da por un mecanismo de polimerización por radicales libres, la cual puede ser iniciada por medio del uso de agentes químicos, tales como iniciadores del tipo azo, o agentes físicos como radiación o electrones acelerados. Cada método presenta sus ventajas y desventajas, e incluso podrían alcanzarse diferentes propiedades, dependiendo del método utilizado. Por ejemplo, el método químico destaca por su rapidez y disponibilidad, mientras que el método físico desarrolla injertos altamente puros y esterilizados (Pino-Ramos et al., 2017).

Por estas razones, este proyecto de investigación tiene como objetivo principal el injerto de dos monómeros termo- y pH-sensibles en gasas de algodón mediante el uso de un iniciador químico común, como lo es asobisisobutironitrilo (AIBN), y de la radiación gamma, pretendiendo realizar un estudio comparativo de ambos métodos de copolimerización. El injerto en gasas de algodón está compuesto por dos polímeros como lo son el poli(ácido metacrílico) y la poli(*N*-isopropilacrilamida), los cuales juntos confieren a la gasa convencional la capacidad de retener y liberar fármacos en respuesta a cambios de su entorno en pH o temperatura.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Polímeros

El término *polímero* viene de las palabras griegas *poly* y *meros* que significa “varias partes” y se define como una macromolécula que consiste de una secuencia continua y regular de elementos iguales en cadena o unidades estructurales que se mantienen unidos por enlaces covalentes. Por otro lado, el término *monómero* se refiere a la molécula más pequeña a partir de la cual se obtiene un polímero por medio de un proceso llamado *polimerización*.

2.1.1. Polimerización

Polimerización es el proceso por el cual pequeñas moléculas, llamadas monómeros o “bloques de construcción”, se combinan químicamente para crear moléculas más grandes o una macromolécula. Una representación general de un proceso de polimerización se presenta en la Figura 1. Se utilizan diferentes técnicas de polimerización para obtener polímeros con propiedades únicas e idóneas para varias aplicaciones. Estas propiedades y aplicaciones dependerán de la forma en que los monómeros se combinen y esto, a su vez, se verá influenciado por factores como la temperatura, presión, o del catalizador para crear un polímero.

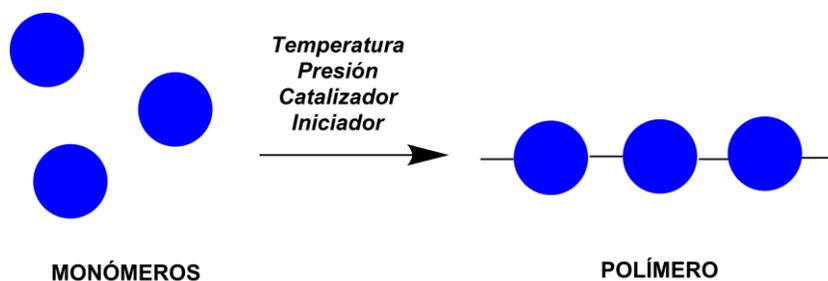


Figura 1. Representación esquemática de un proceso de polimerización.

2.1.1.1. Tipos de polimerización

En general, las reacciones de polimerización se distinguen en dos grandes grupos como son la polimerización en cadena o por adición y la polimerización por condensación. Dependiendo del tipo de reacción que se utilice para obtener el polímero variarán las propiedades fisicoquímicas y las aplicaciones del mismo.

2.1.1.1.1. Polimerización por condensación

En este tipo de polimerización, el polímero se produce por reacción entre grupos funcionales presentes en los monómeros precursores. Al producirse reacciones químicas entre ellos, se forma un nuevo enlace covalente y se eliminan pequeñas moléculas tales como agua. En la reacción pueden estar involucrados uno o más tipos de monómeros y cada monómero debe tener, al menos, un sitio de reacción disponible. Generalmente, este tipo de polimerización requiere altas temperaturas para ocurrir, y producen polímeros de bajo peso molecular. Una de las aplicaciones industriales de esta reacción se ve reflejado en la obtención de Nylon 6,6 a partir de la condensación entre el ácido hexanodioico y la 1,6-hexanodiamina (Figura 2).

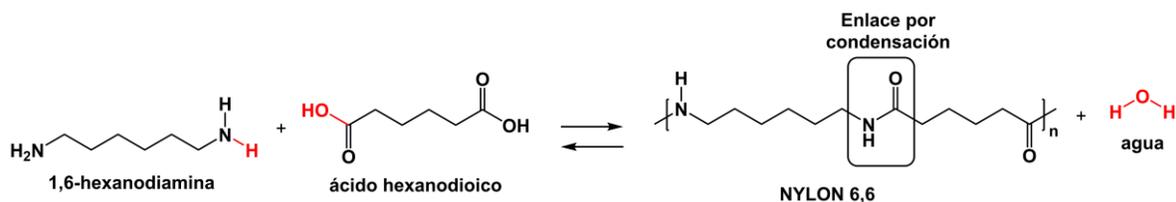


Figura 2. Obtención de Nylon 6,6 como ejemplo de una reacción de polimerización por condensación.

2.1.1.1.2. Polimerización por adición o en cadena

En las reacciones de polimerización por adición es necesario que los monómeros precursores tengan al menos un doble enlace. La estabilidad relativa de estos enlaces permite, mediante una activación, la formación de nuevos enlaces σ que permitan crear un polímero, sin afectar la estructura de los monómeros agregados a la cadena. Este proceso se divide en tres etapas: iniciación, propagación y terminación. En el primer paso de iniciación es necesaria la presencia de un catalizador, luz UV, calor, presión o de radiación, los cuales permiten generar entidades radicalarias o iónicas que dan paso a una agregación paulatina del monómero. En la propagación se da un proceso repetitivo de agregación de las unidades monoméricas, produciendo la cadena polimérica. Finalmente, en la terminación se produce por neutralización del centro reactivo.

La polimerización por adición se puede clasificar en polimerización radicalaria y no radicalaria (iónica: aniónica o catiónica). En la polimerización radicalaria, un

radical libre (una molécula con un electrón desapareado) es capaz de unirse con un electrón de otra molécula, en varios pasos repetitivos. Por otro lado, la polimerización aniónica se da por reacciones de adición por conjugación, mejor conocidas como reacciones de tipo Michael. Asimismo, la polimerización catiónica se da por reacciones sucesivas de alquilación.

2.1.2. Clasificación de polímeros

Los polímeros pueden clasificarse de acuerdo con varios criterios debido a sus estructuras extremadamente complejas, diversidad de comportamientos y variedad de aplicaciones. Tomando en cuenta esto, típicamente los polímeros pueden clasificarse por su estructura, composición y origen. Por su estructura, los polímeros se dividen en lineales, ramificados y entrecruzados. Un polímero lineal se forma cuando el monómero que lo origina tiene dos puntos de unión por lo que la polimerización ocurre en una sola dirección, originando una cadena larga y recta. Por otro lado, en los polímeros ramificados, el monómero precursor tiene tres o más puntos de unión, por lo que la polimerización ocurre en forma tridimensional. Finalmente, los polímeros entrecruzados se forman por monómeros bifuncionales o trifuncionales con un fuerte enlace covalente entre varias cadenas de polímero, por lo que las unidades repetitivas forman una red tridimensional.

El segundo aspecto por considerar para la clasificación de polímeros es su composición química. En este caso, se toma en cuenta la composición química de los monómeros precursores, los cuales van a generar unidades repetitivas con distintas funcionalidades y en distintas posiciones a lo largo del polímero. En general los polímeros por su composición química se pueden clasificar como homopolímeros y copolímeros. Un homopolímero se genera por el mismo monómero sin importar la funcionalidad de la molécula. Por otro lado, un copolímero se forma por la combinación de, al menos, dos monómeros diferentes generando unidades repetitivas distintas a lo largo de la cadena, obteniendo un material con características diferentes de sus respectivos homopolímeros. Dependiendo del proceso de polimerización y las fracciones relativas de las unidades repetitivas, se pueden generar varios arreglos secuenciales a lo largo de la cadena polimérica, entre los cuales destacan:

- **Copolímero alternado**: la cadena polimérica tiene al menos dos unidades repetitivas regularmente alternadas, es decir, una unidad de un tipo covalentemente unida a la del otro tipo.
- **Copolímero aleatorio**: las unidades repetitivas distintas se disponen al azar a lo largo de la cadena polimérica.
- **Copolímero en bloque**: las unidades repetitivas del mismo tipo se unen entre sí generando largas secuencias de bloques que se unen a otro bloque de otra unidad repetitiva.
- **Copolímero de injerto**: una matriz polimérica preformada es unida covalentemente con otro polímero de distinta composición química que la matriz, confiriéndole nuevas propiedades a esta. Esta clasificación se abordará más adelante con mayor detalle.

Ambas clasificaciones de los polímeros, tanto por estructura como por composición, se muestran en la Figura 3.

POR SU ESTRUCTURA



POR SU COMPOSICIÓN

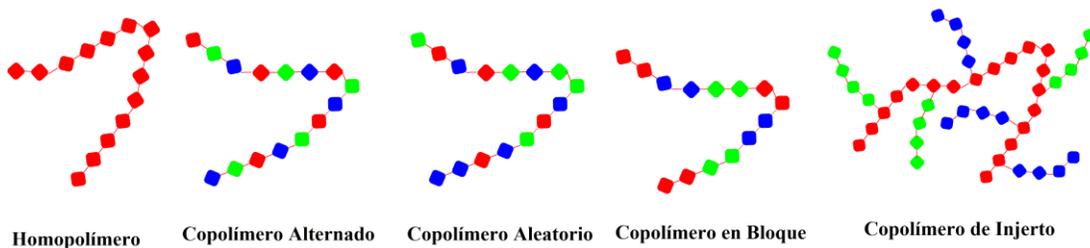


Figura 3. Clasificación de polímeros por su estructura y por su composición química.

Una de las formas más sencillas de clasificar a los polímeros es un por fuente u origen, teniendo así a los polímeros sintéticos y los naturales. Los polímeros sintéticos son aquellos que se puede obtener artificialmente mediante un proceso de polimerización en el laboratorio y que, generalmente, son producidos por las industrias para satisfacer necesidades humanas, como, por ejemplo, el polietileno o el nylon. Por otra parte, los polímeros naturales son aquellos que ocurren en la

naturaleza y que se pueden obtener de recursos como plantas y animales. Entre los ejemplos comunes están la celulosa, el quitosano, la quitina, el almidón y el caucho. También, es posible encontrar una tercera clasificación, los polímeros semi-sintéticos, los cuales son obtenidos por modificaciones artificiales en el laboratorio de los polímeros naturales. Estos polímeros formados por reacciones químicas en un ambiente controlado son de importancia comercial, como por ejemplo el acetato de celulosa, mejor conocido como rayón. Algunos ejemplos comunes de estas clases de polímeros se muestran en la Figura 4.

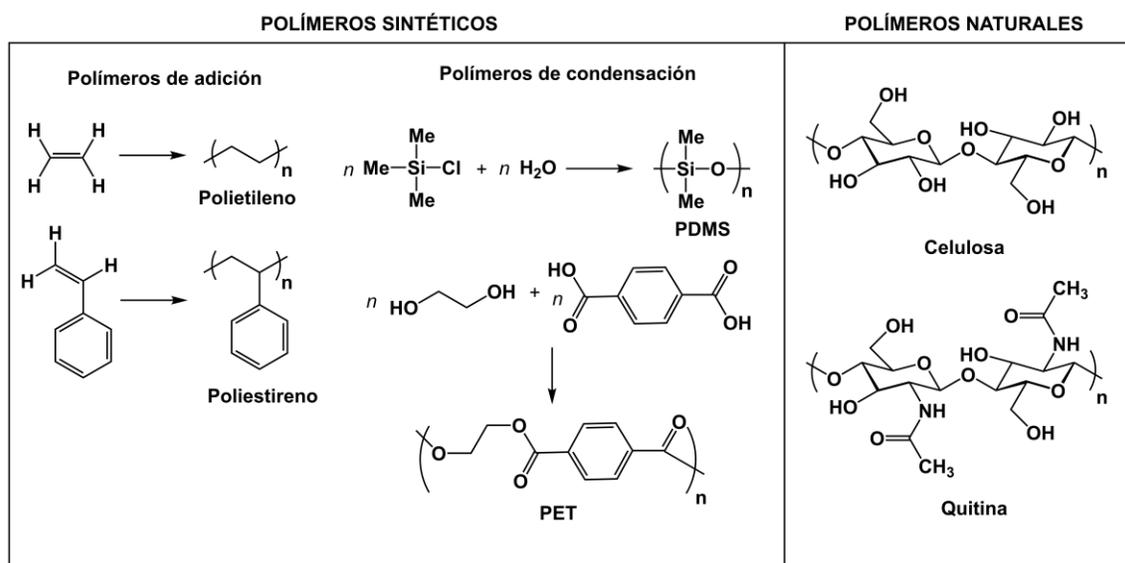


Figura 4. Ejemplos de polímeros sintéticos y polímeros naturales.

2.1.3. Polímeros sensibles a estímulos

Los polímeros sensibles a estímulos, o también llamados polímeros inteligentes son un nuevo tipo de macromolécula que se destaca por presentar cambios físicos o químicos notables en su comportamiento en respuesta a pequeños cambios de los estímulos del medio (Li et al., 2015; Wei et al., 2017). Este tipo de polímeros se obtienen de manera sintética con el fin de obtener materiales versátiles con respuesta a una variedad de estímulos tales como pH, temperatura, fuerza mecánica, fuerza iónica, la presencia de pequeñas moléculas y biomoléculas, e incluso a campos eléctricos o magnéticos (Wang et al., 2016). Debido a esta particularidad, se ha encontrado muchas aplicaciones en campos como la biología y medicina, para el diseño y desarrollo de sensores y biosensores, en sistemas

útiles para remediación ambiental, y en especial en sistemas de carga y liberación de fármacos (Chatterjee & Chi-leung Hui, 2019).

2.1.3.1. Polímeros termo-sensibles

Los polímeros termo-sensibles son un tipo de material inteligente cuyo cambio conformacional depende de la temperatura de su entorno. Este tipo de polímeros presenta ciertas características interesantes que los hacen poco comunes, por ejemplo, que son solubles en agua a baja temperatura e insolubles al aumentar la temperatura del medio. Dependiendo de la naturaleza del polímero, el cambio físico inducido por temperatura se dará tanto en un cierto punto conocido como *Lower Critical Solution Temperature* (LCST) como en otro conocido como *Upper Critical Solution Temperature* (UCST). Sus valores dependerán de la estructura química del polímero y su interacción con el agua.

Más a detalle, en el primer caso, por debajo de la LCST la presencia de interacciones por puente de hidrógeno entre el polímero y el agua, así como la formación de clatratos en la red intermolecular generan una baja entalpía de mezcla. Es así que las interacciones polímero-agua resultan ser más fuertes que las interacciones polímero-polímero y, por tanto, el polímero se hace insoluble en agua. Por otro lado, al incrementar la temperatura por encima de la LCST, los enlaces por puentes de hidrógeno se hacen más débiles, se rompen y se favorece la liberación de las moléculas de agua retenidas en las cadenas de polímero. En términos termodinámicos, la entalpía y entropía de mezcla se incrementan. De esta manera, las interacciones polímero-polímero resultan dominantes por encima de las interacciones polímero-agua, provocando una pérdida de la solubilidad (Pasparakis & Tsitsilianis, 2020) .

En el segundo caso, los polímeros son insolubles por debajo de una cierta temperatura crítica reconocida como UCST, pero por encima de este valor se incrementa la solubilidad. Al contrario que la LCST, al sobrepasar la UCST, se produce un rompimiento de las interacciones polímero-polímero y agua-agua, generando nuevas interacciones del tipo polímero-agua. En términos prácticos, los polímeros que presentan este comportamiento son poco comunes en aplicaciones biomédicas debido a que su UCST está cerca de los 50 °C o incluso a mayores

valores (Hoogenboom, 2014). Sin embargo, actualmente se ha tratado de realizar modificaciones estructurales a estos polímeros para tener un mayor intervalo de aplicación (Niskanen & Tenhu, 2017). Los comportamientos de LCST y UCST se ilustran en la Figura 5.

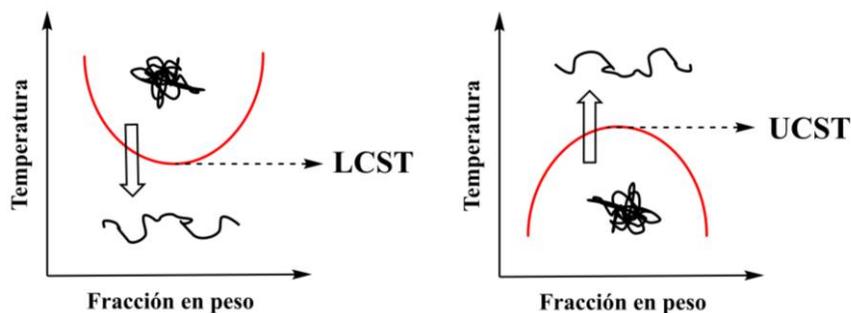


Figura 5. Comportamiento de los polímeros termo-sensibles cuando alcanzan la LCST y UCST.

2.1.3.1.1. Poli(*N*-isopropilacrilamida) (PNIPAAm)

Uno de los polímeros termosensibles más ampliamente investigado para aplicaciones biomédicas es el poli(*N*-isopropilacrilamida) (PNIPAAm) (Figura 6). El polímero PNIPAAm es generalmente reconocido como un polímero termo-sensible que es sintetizado por medio de una polimerización por radicales libres a partir de su monómero *N*-isopropilacrilamida (NIPAAm). PNIPAAm es un polímero destacado ya que presenta cambios reversibles en el límite entre sus formas hidratadas y deshidratadas durante una variación de temperatura correspondiente a su LCST. En el caso del PNIPAAm, la LCST es de alrededor de 32 °C en soluciones acuosas, lo cual entra dentro del intervalo fisiológico (20-35 °C) (Crespy & Rossi, 2007). Por debajo de su LCST, el polímero se encuentra en un estado hinchado, mientras que por encima de este valor de temperatura, el gel se deshidrata a un estado colapsado debido al rompimiento del balance hidrofílico/hidrofóbico en la estructura de la red polimérica (J. Zhang & Peppas, 2000).

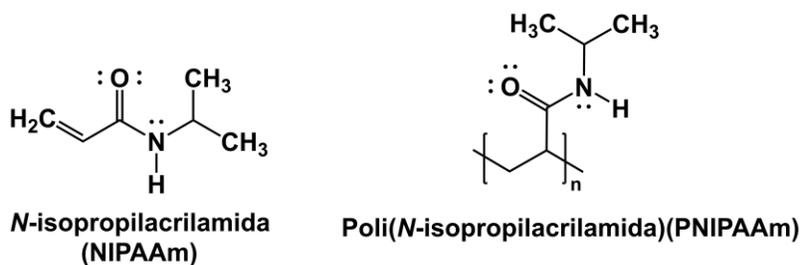


Figura 6. Estructuras químicas del monómero NIPAAm y su polímero PNIPAAm.

2.1.3.2. Polímeros pH-sensibles

Los polímeros pH-sensibles son un conjunto de polímeros sensibles a estímulos los cuales presentan una respuesta a una disolución de pH, enfrentando cambios estructurales y en sus propiedades tales como conformación de cadena, solubilidad y configuración. Estos polímeros se pueden definir como polielectrolitos ya que se caracterizan por tener grupos ácidos o básicos débiles ionizables en su estructura, cuya ionización va a depender del medio de pH en el que se encuentren (Reyes-Ortega, 2014). Es así que, un cambio de pH puede ocasionar protonación o desprotonación de los grupos funcionales presentes en las cadenas poliméricas. Esto se verá reflejado, a nivel macromolecular, en varios fenómenos que incluyen floculación, hinchamiento, deshinchamiento, colapso de la extensión o re-arreglo de las cadenas generando micelas, unímeros, geles, o vesículas (Kocak et al., 2017).

2.1.3.1.2. Poli(ácido metacrílico) (PMAAc)

El poli(ácido metacrílico) (PMAAc) (Figura 7) es un polímero perteneciente al grupo de los metacrilatos que posee una alta hidrofiliidad y una capacidad de ionización. En su estructura contiene grupos carboxílicos (-COOH), los cuales son responsables de la respuesta a pH que este polímero presenta, ya que a un pH cercano a su pK_a (aproximadamente 4.8), el polímero liberará el hidrógeno ácido al medio. Esta respuesta se verá reflejada en un cambio conformacional a nivel macromolecular, ya que esta pasará de una conformación comprimida a una extendida debido a la repulsión de las cargas negativas (-COO⁻) generadas por la desprotonación en el polímero (Zhang & Peppas, 2000). Este cambio

conformacional es precisamente una característica de los polímeros estímulo sensibles explicada anteriormente en la sección.

El PMAAc se forma por medio de una polimerización por radicales libres a partir de su monómero de ácido metacrílico (MAAc), el cual es un líquido viscoso e incoloro, con un olor penetrante y miscible en la mayoría de disolventes orgánicos, incluyendo agua (Swift, 2002). El MAAc tiene dos sitios reactivos, los dobles enlaces de grupo vinílico y del carbonilo, siendo el primero el más reactivo y el que permite los procesos de polimerización.

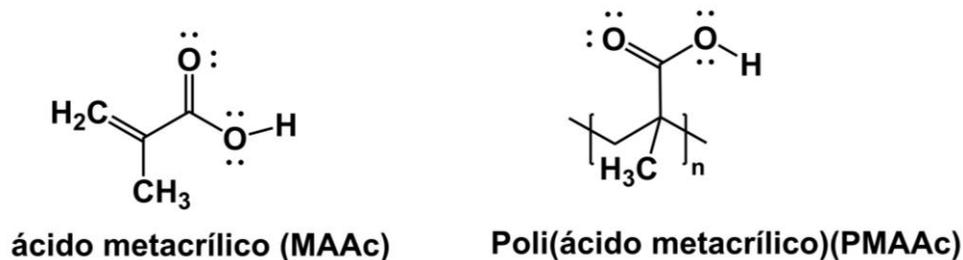


Figura 7. Estructuras químicas del monómero MAAc y su polímero PMAAc.

2.2. Materiales poliméricos en la industria biomédica

Como se ha mencionado anteriormente, los polímeros son macromoléculas que despliegan una gran versatilidad en su estructura, características físico-químicas y propiedades, lo que hace que tenga un vasto campo de aplicaciones, incluyendo el área biomédica. Algunos dispositivos médicos como catéteres, hilos de sutura, implantes, bolsas gástricas, válvulas y apósitos de heridas son producidos con polímeros, que deben demostrar biocompatibilidad para ser aplicado en tal área (Velazco-Medel et al., 2020). Los polímeros utilizados en biomédica pueden ser de origen sintético como poliésteres o poliuretanos y natural como aquellos derivados de proteínas o polisacáridos como el quitosano o la celulosa. Este último cumple los requerimientos del área biomédica debido a sus propiedades únicas que incluyen una gran área superficial, propiedades mecánicas favorables, permeabilidad de gases y gran capacidad de absorción de líquidos (Hsieh, 2006; Shahriari Khalaji & Lugolobi, 2020). Las propiedades de este material, características y reactividad se estudiarán en esta sección.

2.2.1. Celulosa de algodón

La celulosa es un polímero de origen natural que cumple funciones estructurales en plantas y es el principal constituyente del algodón, ya que representa aproximadamente 90% de su composición. El 10% restante corresponde a impurezas hidrofóbicas como ceras, pectina y algunas proteínas. La celulosa de algodón es la forma más pura de celulosa ya que tiene un mayor peso molecular y un mayor orden estructural reflejado en una celulosa altamente cristalina, orientada y fibrilar. Su estructura química consta de anillos de β -1,4-D (+)-glucopiranosos unidos por enlaces 1,4-glicosídicos, que generan una larga cadena de celulosa (Figura 8). Cada anillo consta de 3 grupos hidroxilo (-OH), uno primario en C₆ y dos secundarios en C₂ y C₃. Esta abundancia de grupos hidroxilo y la conformación de la cadena permiten una compleja red de interacciones por puente de hidrógeno entre y dentro de las cadenas de celulosa, así como con otras moléculas. Esta particularidad es la que confiere sus propiedades mecánicas que incluyen una alta resistencia, así como su elevada hidrofiliidad. Otras propiedades importantes derivadas de su estructura química incluyen una alta energía superficial, biodegradabilidad, biocompatibilidad, estabilidad térmica y reactividad química.

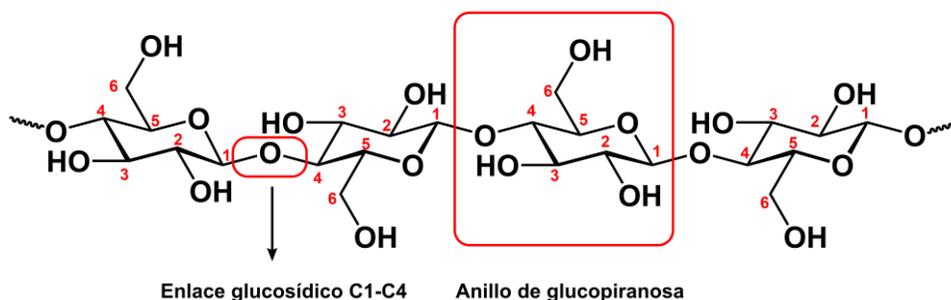


Figura 8. Estructura química de la celulosa.

La reactividad química de la celulosa de algodón está gobernada por su estructura supramolecular, así como de los grupos hidroxilo en las posiciones C₂, C₃ y C₆. El hidroxilo en la posición 6 (carbono primario) es 10 veces más reactivo que los que están en carbonos secundarios siguiendo esta secuencia C₆>>C₂≈C₃ (Bezerra et al., 2015). Otros factores que determinan el comportamiento reactivo y accesibilidad incluyen la morfología de la celulosa, el grado de polimerización, el grado de cristalinidad, pureza e, incluso, tamaño de partícula.

Debido a la elevada biocompatibilidad que presenta la celulosa, los materiales basados en este polímero tienden a ser incorporados en sistemas biológicos y a ser usados en la evaluación, tratamiento, aumento o reemplazo de algún tejido, órgano o función del cuerpo (Hasanin, 2022). Entre estos materiales de origen celulósico destaca la gasa de algodón, material de uso prioritario en el área biomédica por su aplicación como apósito para heridas derivadas de cortes cutáneos, quemaduras, úlceras o diabetes. Si bien la biocompatibilidad del material representa una ventaja, un problema debido a esta propiedad es precisamente la facilidad con la que los microorganismos patógenos se hospedan en su estructura ocasionando un daño en la herida y dificulte el proceso de curación y regeneración de tejido. Es así que, a lo largo de los años, se han realizado diversos estudios para modificar la estructura del polímero con grupos funcionales o agentes antimicrobianos que eviten la adhesión microbiana o que, a su vez, sirvan como un sistema de liberación del agente para combatir infecciones frecuentes en las heridas (Keshipour & Maleki, 2019).

2.3. Modificación de materiales poliméricos con fines médicos

Si bien los materiales poliméricos han demostrado una gran versatilidad en aplicaciones biomédicas, estos no están exentos de desplegar problemas o limitaciones en su uso. Dos problemas muy comunes están asociados con la contaminación bacteriana y la baja estabilidad que muchas veces presentan los materiales de origen polimérico. El primer problema es uno de los principales responsables de enfermedades nosocomiales derivadas de infecciones por presencia de patógenos. El segundo problema afecta el rendimiento mecánico del dispositivo en cuestión, haciéndolo impráctico para su uso. Sin embargo, en el progresivo avance las investigaciones en este campo se ha demostrado que la modificación de estos materiales permite superar estas adversidades e incluso convertirlos en materiales sofisticados con propiedades útiles (Velazco-Medel et al., 2020). Es así que una de las aproximaciones más prometedoras es la inclusión de polímeros con distintas características que el material de partida, mediante un procedimiento conocido como copolimerización de injerto. Esta aproximación tiene como objetivo primordial el aprovechamiento de las propiedades del material

original y de los grupos funcionales adicionados (Pino-Ramos et al., 2017; Velazco-Medel et al., 2020).

2.3.1. Copolimerización de injerto

Los copolímeros de injerto son una clase específica de copolímeros los cuales generalmente consisten en un esqueleto lineal de composición única covalentemente unido a cadenas laterales distribuidas de manera aleatoria. Estos polímeros se pueden obtener mediante un proceso conocido como injerto, denominado así por ser una técnica que combina al menos dos estructuras de diferente composición, una que constituye la matriz polimérica principal y otra que es el que proveerá una nueva funcionalidad a dicha matriz (Sherazi, 2014).

Los copolímeros de injerto se pueden obtener por medio de dos procesos conocidos como "*grafting to*" y "*grafting from*", que están basados el criterio de la forma en que crece la cadena. Por un lado, para el método de "*grafting to*" se dispone de una cadena de polímero previamente conformada la cual se injertará en la matriz. La polimerización se realiza por varios pasos de "*click chemistry*" (Arslan & Tasdelen, 2019; Zou et al., 2018). A pesar de ser un método útil, presenta una gran desventaja que es su baja densidad de injerto debido al gran volumen de las cadenas enrolladas que genera impedimento estérico entre ellas (Pino-Ramos et al., 2017). Por otro lado, el método de "*grafting from*" involucra la participación de una matriz polimérica previamente activada por métodos físicos o químicos y un monómero reactivo, iniciando una polimerización en la matriz con moléculas de monómero a su alrededor. Este método produce copolímeros con mayor densidad de injerto debido a que el monómero, por su pequeño tamaño, podrá acceder a más sitios reactivos de la matriz. Ambos métodos se ilustran en la Figura 9.

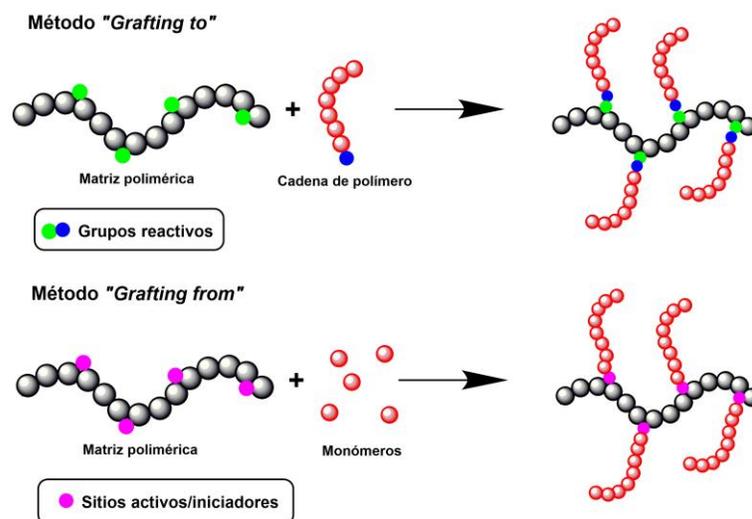


Figura 9. Representación de los métodos "grafting to" y "grafting from".

Como se puede notar, el principio básico detrás de la copolimerización por injerto es la creación de sitios activos en el esqueleto de la matriz polimérica, ya sean estos en forma de radicales o de grupos funcionales que permitan una unión covalente. La reacción de un monómero o de un polímero con una matriz polimérica activada o con grupos funcionales, permitirá la formación de un copolímero de injerto. La creación de estos sitios activos se puede generar por métodos químicos o físicos, esto es usando iniciadores químicos o una fuente de radiación, como se detallará en las dos secciones siguientes.

2.3.1.1. Copolimerización de injerto por Método Químico

En la copolimerización de injerto por método químico es necesario el uso de compuestos químicos que actúan como iniciadores para generar los sitios activos en la matriz polimérica. Es así que el injerto de varios monómeros vinílicos en matrices poliméricas se ha dado gracias al uso de un amplio espectro de iniciadores de radicales libres y sistemas redox como peróxido de dibenzoilo, azobisisobutironitrilo (AIBN), nitrato de amonio cérico, persulfato de sodio, permanganato de potasio y el reactivo de Fenton (Kulkarni et al., 2019). La generación de radicales libres que provocarán la iniciación por método químico se puede dar por métodos directos o indirectos. En los métodos directos, los radicales se forman en el iniciador químico, por descomposición de su estructura, generalmente inducida por efectos térmicos. En el método indirecto, los radicales

se forman por una reacción redox, en la matriz a injertar, que dará inicio a la polimerización (Pal & Das, 2013).

Un método moderno y ampliamente utilizado para la generación de sitios activos en la matriz polimérica es la Polimerización Radicalaria por Transferencia de Átomo (ATRP). Para este método, se agregan átomos de halógeno a sitios inactivos de la matriz para transferirlos reversiblemente a complejos metálicos en estados menores. La formación del radical ocurre por acción del catalizador metálico de transición el cual activa al iniciador orgánico por medio de una obstrucción del haluro al final de la cadena (García-Fernández et al., 2019). Mediante ATRP se pueden conseguir polímeros con masas molares controladas y con una polidispersidad baja (Mespouille et al., 2008).

2.3.1.1.1. Asobisisobutironitrilo (AIBN)

El azobisisobutironitrilo (AIBN) o 2,2'-azobis(2-metilpropionitrilo) es un compuesto orgánico utilizado comúnmente como iniciador de reacciones de polimerización por radicales libres. Se trata de un polvo blanco cristalino, con un punto de fusión de 100-103 °C, una energía de activación de 132.4 kJ.mol⁻¹.K⁻¹, muy soluble en disolventes con base de alcohol, monómeros vinílicos y disolventes orgánicos, pero muy poco soluble en agua (Androvič et al., 2016; Li et al., 2018).

Su mecanismo de acción se basa en la descomposición de su estructura por efectos de la temperatura o la radiación, generando dos radicales 2-cianopro-2-il y eliminando una molécula de nitrógeno en el proceso (Figura 10) (Androvič et al., 2016). Los radicales 2-cianopro-2-il serán los encargados de transferir su electrón desapareado a la parte reactiva del monómero, como, por ejemplo, el doble enlace vinílico C=C y así generar un enlace.

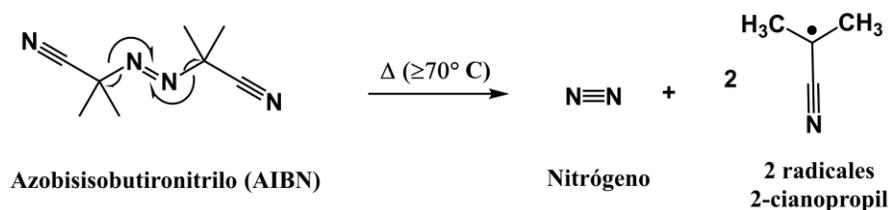


Figura 10. Mecanismo de descomposición del azobisisobutironitrilo (AIBN).

2.3.1.2. Copolimerización de injerto por Método Físico

La copolimerización de injerto por el método físico involucra el uso de radiación de alta o baja energía para formar un sistema iniciador en el esqueleto de la matriz polimérica. Una selección correcta y minuciosa de la dosis y tasa de dosis de irradiación permitirá tener un control del grado de injerto en la matriz. Este método resulta ser conveniente debido a que permite una rápida formación de los radicales libres y a que mantiene una pureza del producto final. Además, dependiendo del poder penetrante de la radiación utilizada, se podrán realizar reacciones a diferentes niveles de profundidad en el esqueleto (Susheel Kalia et al., 2013).

Al irradiar un esqueleto con radiación de baja energía como luz ultravioleta o visible se produce una fisión homolítica para generar radicales libres en dicho esqueleto. Dependiendo del tipo de esqueleto y de la intensidad de la radiación, el injerto puede darse con o sin fotoiniciadores como la benzofenona. En el caso de injertos en celulosa de algodón, se ha demostrado que este método ayuda a mejorar la resistencia del material (Jang et al., 2001).

Por otro lado, la radiación de alta energía como lo son los rayos X, rayos gamma o los electrones acelerados con energías que varían en el intervalo de 6.5 y 3.0 MeV, es un recurso útil para la copolimerización de injerto de varias matrices poliméricas. La radiación gamma es la más ampliamente utilizada y la fuente más común de esta radiación es el isótopo de Cobalto 60 (^{60}Co) con una vida media de 5.3 años (Spinks & Woods, 1990). Se han publicado varios estudios donde se ha utilizado esta radiación para injertar varios monómeros en celulosa de algodón (Camacho-Cruz et al., 2021; Hiriart-Ramírez et al., 2012; Luna-Straffon et al., 2014). Adicionalmente, existen dos métodos por los cuales se puede dar el injerto por método físico, esto es por los denominados método directo o simultáneo y de preirradiación.

2.3.1.2.1. Método Directo o Simultáneo

El método de injerto por radiación directo o simultáneo consiste en la irradiación del substrato o matriz junto con el monómero o disolución monomérica a ser injertada. Mediante este método se producen dos reacciones de forma

paralela. Por un lado, se tiene la reacción de copolimerización entre la matriz activada y las cadenas de injerto que van creciendo en el sustrato. Por otro lado, se produce la reacción de homopolimerización entre las moléculas de monómero que también han sido activadas por efecto de la radiación (Figura 11) (Pino-Ramos et al., 2017).

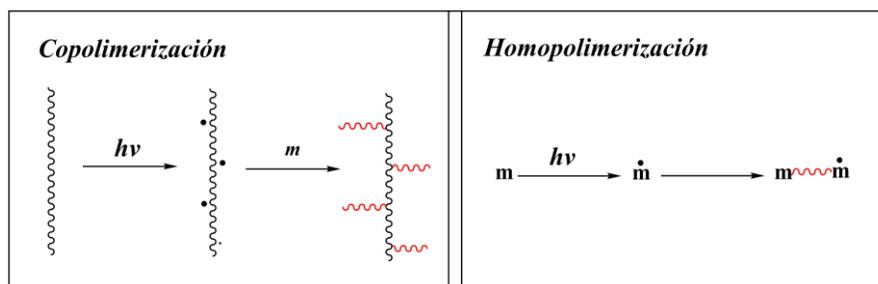


Figura 11. Reacciones paralelas que ocurren durante el injerto inducido por radiación por método directo.

La homopolimerización es una de las desventajas que presenta este método, el cual se ve reflejado en bajos rendimientos de injerto. Sin embargo, se han desarrollado distintas metodologías para inhibir la homopolimerización y superar esta desventaja (Gürdag & Sarmad, 2013). Estas metodologías incluyen:

- Adicionar inhibidores de homopolimerización, tales como Cu^{2+} y Fe^{2+} .
- Diluir la disolución de monómero, ya que la dosis absorbida de radiación está relacionada con la densidad de la sustancia irradiada.
- Seleccionar adecuadamente el disolvente o mezcla de disolventes a utilizar, ya que estos no solo inhibirán la homopolimerización sino también controlarán la profundidad del injerto.

Otra desventaja del método directo está relacionada con el proceso ya que es muy difícil controlar el grado de la copolimerización de injerto. Por otro lado, sus ventajas están relacionadas con procesos de operación fáciles, reacciones rápidas y una menor tasa de dosis. Además, las moléculas de monómero pueden proteger a la matriz de la degradación durante la irradiación.

2.3.1.2.2. Método de Preirradiación

En el método de preirradiación, la matriz es irradiada, generando radicales libres sobre el esqueleto polimérico. Posteriormente, se agrega el monómero o disolución monomérica a una cierta temperatura y tiempo de reacción adecuados. Como en este método el monómero no es irradiado, la posibilidad de formarse homopolímero se reduce de manera significativa. Este enfoque se puede desarrollar ya sea en ausencia de oxígeno o presencia del mismo.

- Preirradiación en ausencia de oxígeno

En este método, la matriz es irradiada en presencia de nitrógeno o en vacío creando una atmósfera inerte ya que se agrega el monómero libre de oxígeno. De esta manera se generan radicales en el substrato los cuales serán retenidos e iniciarán la reacción de injerto. Este método requiere tasas de dosis de radiación relativamente elevadas por lo que puede presentarse degradación del material. Otro factor a tomar en cuenta es que se requiere que los radicales generados permanezcan durante un periodo de tiempo prolongado hasta que empiece el injerto, por lo que esto dependerá del tipo de matriz irradiada y su capacidad de retener los radicales (Ghobashy, 2018). Por otro lado, se ha determinado que los radicales generados en la matriz se mantienen por más tiempo a bajas temperaturas. De la misma manera, la irradiación a baja temperatura mejora los rendimientos de injerto.

- Preirradiación en presencia de oxígeno

El método de preirradiación en presencia de oxígeno o de preirradiación oxidativa consiste en la irradiación del material de partida en presencia de aire y sin presencia de monómeros. Esto resulta en una matriz oxidada antes de entrar en contacto con los monómeros a injertar. De esta forma se generan peróxidos e hidroperóxidos en la matriz, los cuales son usualmente estables a temperatura ambiente. Estas especies serán descompuestas por degradación térmica, generando radicales libres que darán inicio tanto a la copolimerización como a la homopolimerización. La homopolimerización iniciará por los radicales hidroxilos generados en el paso anterior. La formación de homopolímero se puede controlar de la misma manera del método directo.

La preirradiación oxidativa resulta ser un método un poco más complejo de controlar puesto que se tienen que considerar algunas variables tales como dosis de radiación, concentración de monómeros, disolventes, presencia de aditivos, temperatura de reacción y tiempo de reacción. Las reacciones involucradas en este método se describen en la Figura 12.

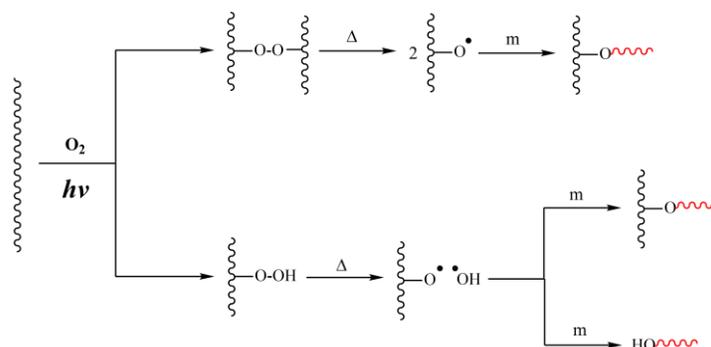


Figura 12. Reacciones de la preirradiación en presencia de oxígeno.

2.4. Radiación ionizante

La radiación ionizante es un tipo de radiación que consiste en partículas y fotones tales como partículas alfa, beta, rayos gamma, rayos X, neutrones, electrones y protones acelerados, y otras partículas con la capacidad de producir iones en los átomos de la materia a la que es expuesta. A diferencia de la radiación no ionizante que incluye ondas de radio, microondas, luz visible, infrarroja y ultravioleta, la radiación ionizante es considerablemente mucho más energética. Cuando la radiación ionizante interacciona con la materia, deposita su energía para generar iones por medio de un rompimiento de los enlaces moleculares y desplazamiento o remoción de electrones presentes en los átomos. A través de estos procesos, se generan cambios químicos e incluso estructurales en la materia expuesta a tal radiación. La deposición energética se da a través de una serie de procesos que terminan con una etapa fisicoquímica en la que se generan especies excitadas de vida corta y entidades químicas, destacándose la formación de radicales libres como una de las entidades de mayor tiempo de vida media. Tales especies reactivas actúan como centros activos radicalarios para iniciar reacciones de polimerización en cadena.

2.4.1. Radiación gamma

Los rayos gamma con un tipo de radiación electromagnética que tienen longitudes de onda en el intervalo comprendido entre 3×10^{-11} a 3×10^{-13} m, demostrando las menores longitudes de onda y la mayor energía que cualquier onda del espectro electromagnético (Spinks & Woods, 1990). Son emitidos por la transición de los niveles energéticos del núcleo de varios radionúclidos que sufren decaimiento, siendo rayos monoenergéticos o un número pequeño de energías discretas. Las fuentes isotópicas más comunes de radiación gamma son el Cobalto 60 (^{60}Co) y el Cesio 137 (^{137}Cs). El primero produce radiación de mayor energía y mayor poder penetrante, mientras que el segundo tiene un mayor tiempo de vida media y, por lo tanto, menor frecuencia en su reemplazo. La radiación gamma, a diferencia de las partículas α y β , tienden a perder gran parte de su energía en una sola interacción.

La radiación gamma ha llamado la atención de la comunidad científica debido a las múltiples aplicaciones que van desde esterilización de materiales y alimentos hasta la síntesis de nanocompuestos y materiales poliméricos (Pino-Ramos et al., 2017). Es así como el uso de radiación gamma en la ciencia de polímeros se ha convertido en una técnica común que se utiliza para la modificación estructural, polimerización, copolimerización de injerto y entrecruzamiento de varios polímeros. Adicionalmente, los productos generados por rayos gamma han demostrado ser materiales competentes para aplicaciones de alto rendimiento.

2.4.1.1. Cobalto 60

El Cobalto 60 (^{60}Co) es un radioisótopo sintético inestable con un tiempo de vida media de 5.24 años y una actividad radioactiva de 44 TBq por gramo. Debido a estas características, además de su disponibilidad, es una de las fuentes de radiación gamma más utilizada en aplicaciones industriales (Spinks & Woods, 1990). El ^{60}Co se forma por bombardeo de neutrones al isótopo estable Cobalto 59 (^{59}Co) en un reactor nuclear. El mecanismo de producción de radiación se da por el decaimiento continuo del isótopo en uno más estable como lo es Níquel 60 (^{60}Ni) generando, en el proceso, dos rayos gamma con energías de 1.173 y 1.332 MeV (Figura 13). Las energías de los rayos gamma generados son insuficientes

para generar radioactividad en los productos irradiados (Parsons, 2012), pero suficientes ionizar la materia y producir radicales libres necesarios para un proceso de injerto.

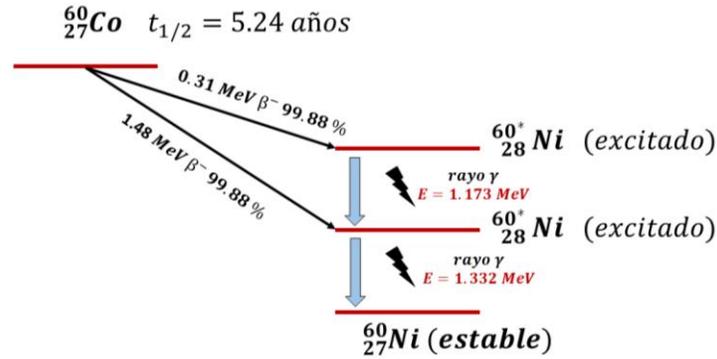


Figura 13. Esquema de decaimiento del isótopo de ^{60}Co al isótopo de ^{60}Ni pasando por dos estados excitados de ^{60}Ni .

2.4.2. Interacción de la radiación ionizante con la materia

La interacción de la materia con la radiación ionizante, esto es, radiación electromagnética de alta energía (rayos X o rayos gamma) o partículas alfa o beta, pueden promover cambios químicos que, generalmente, involucran la formación de radicales libres. Se forman radicales libres reactivos por efecto de la radiación ionizante. La radiación rompe enlaces entre átomos en las moléculas. Este deterioro de los enlaces puede ocurrir en dos formas. Si los enlaces se rompen homolíticamente, se forman radicales libres; en caso de romperse heterolíticamente, se formarán fragmentos iónicos.

2.4.2.1. Efecto fotoeléctrico

El efecto fotoeléctrico es un fenómeno en el cual los electrones son emitidos a partir de la materia luego de la absorción de energía proveniente de radiación electromagnética como rayos X o luz visible. En este tipo de interacción, la energía proveniente del fotón se transfiere a un solo electrón atómico que es expulsado con una energía igual a la diferencia entre la energía del fotón y la energía de enlace del electrón en el átomo. Por tanto, la energía y el momento se conservan durante el proceso. La energía de los electrones emitidos no depende de las intensidades de la radiación incidente, pero está relacionado con la longitud de onda de la

radiación. Las interacciones fotoeléctricas son más probables de ocurrir para materiales con números atómicos grandes y para energías de fotón bajas.

2.4.2.2. Producción por pares

En este fenómeno, el proceso involucra la completa absorción de la energía de un fotón proveniente de rayos X o gamma en las proximidades de un núcleo atómico, formando dos partículas, un electrón y un positrón. De esta manera, la energía del fotón menos el resto de las energías de las dos partículas, se comparte entre la energía cinética del electrón y del positrón. Así, el momento se comparte entre los núcleos reculados. La producción por pares no puede ocurrir en fotones de energía menores que 1.02 MeV.

2.4.2.3. Dispersión de Compton

La dispersión de Compton es un descenso en la energía proveniente de un fotón de radiación gamma o rayos X cuando estos interactúan con un electrón unido o libre, produciéndose un proceso de dispersión inelástico. La energía y el momento del fotón incidente se comparten entre el fotón dispersado y el fotón reculado. Este efecto es importante ya que demuestra que la luz no puede ser explicada puramente como una onda. El experimento de Compton demostró que la luz puede comportarse como una corriente de cuantos similares a partículas cuya energía es proporcional a la frecuencia. La dispersión de Compton predomina para fotones de energía entre 1 y 5 MeV en materiales de números de atómicos bajos como el Carbono y en un intervalo de energías mucho más amplio para materiales de bajo número atómico. En procesos de copolimerización de injerto por radiación gamma, es el efecto predominante.

Las representaciones de los efectos descritos en esta sección se muestran en la Figura 14.

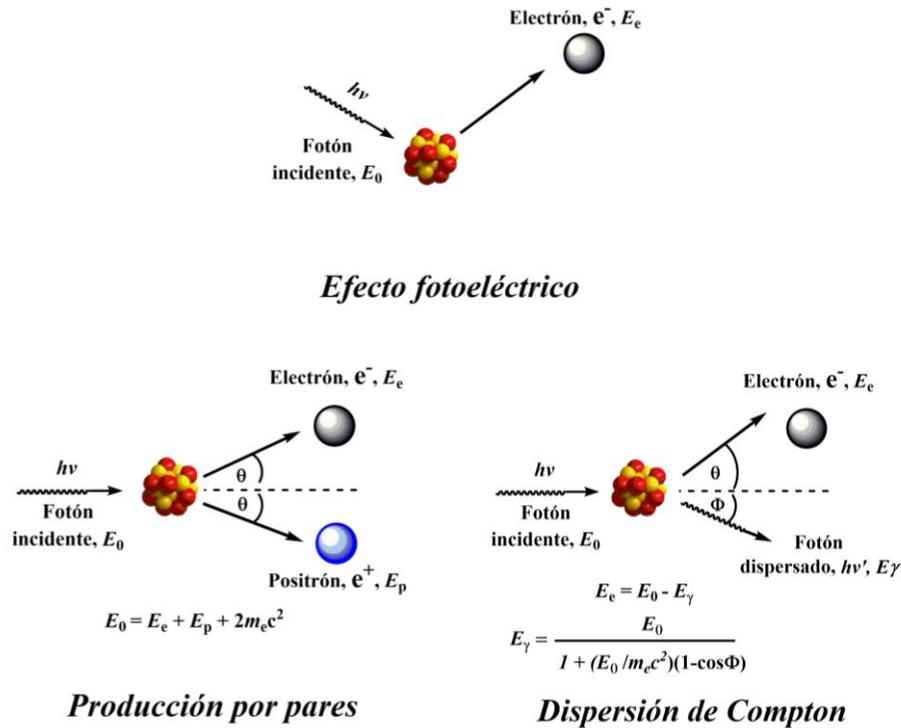


Figura 14. Representación de los efectos de la interacción entre la radiación con la materia.
Adaptado de (Spinks & Woods, 1990).

2.5. Sistemas de liberación de fármacos

Un sistema de liberación de fármacos (DDS: *Drug Delivery System*) se trata de una formulación o un dispositivo que permite la administración de una sustancia terapéutica en el cuerpo, mejorando el alcance del sitio de acción, así como la eficacia del fármaco por medio del control de la velocidad y tiempo de la liberación. El proceso involucra la administración del agente terapéutico, la liberación de los ingredientes activos por parte del sistema y su posterior transporte a lo largo de las membranas biológicas para alcanzar el sitio objetivo (Jain, 2020). Una de las virtudes de estos sistemas es que pueden alcanzar el sitio de acción sin generar daños colaterales en células, órganos o tejidos no objetivos, aunque esto muchas veces resulta un reto al momento de diseñar un DDS (Rojo et al., 2017). Existen varias formas de administrar un fármaco y dependerá de la ruta anatómica que se tome para tal efecto. La elección de estas rutas dependerá de la enfermedad, el efecto deseado y del producto disponible e incluso si se desea aplicar directamente en el órgano afectado o sistémicamente hasta alcanzar tal órgano. El siguiente

esquema (Figura 15) muestra una clasificación de los DDS basadas en las rutas anatómicas que toman para su acción.

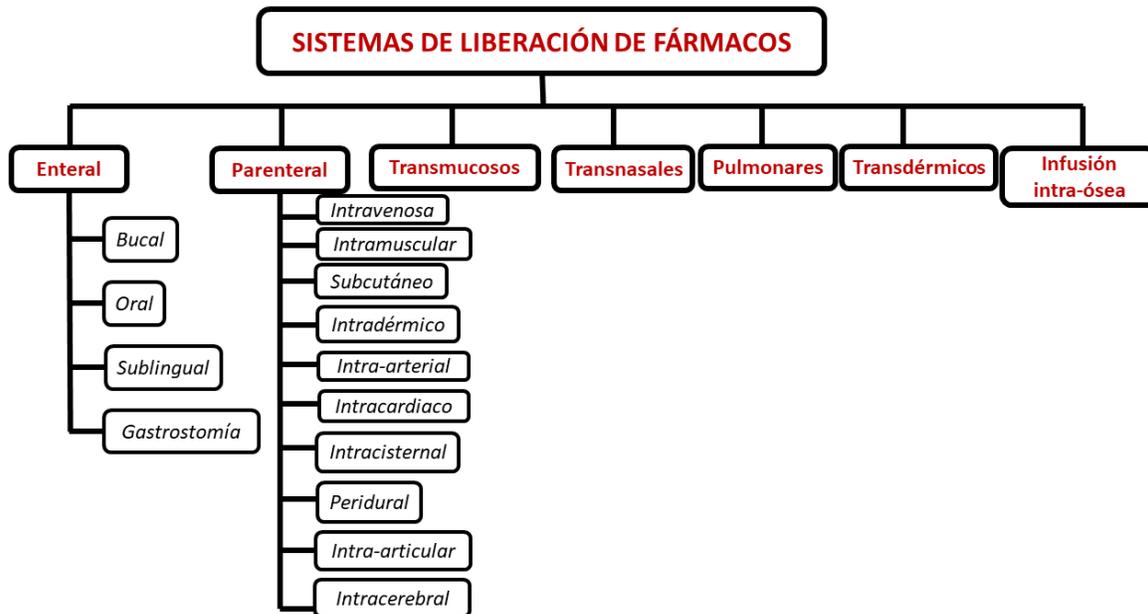


Figura 15. Esquema de la clasificación de los DDS en función de su ruta anatómica.

Siendo los polímeros materiales altamente versátiles, es evidente que en algún momento existiría una amalgamación entre este campo y las ciencias farmacéuticas para el diseño y desarrollo de sistemas de liberación de fármacos novedosos. Desde la primera aparición del primer DDS basado en un polímero sintético (poli(ácido glicólico)), se han juntado esfuerzos para obtener DDS poliméricos con alta biocompatibilidad y que permitan obtener control espacial o temporal de la liberación (Liechty et al., 2010). En estas aplicaciones, ciertas propiedades de algunos polímeros como la hidrofiliidad, lubricidad, suavidad, durabilidad, permeabilidad y degradabilidad resultan de interés y determinan la biocompatibilidad con tejidos y la sangre. Estas propiedades se pueden encontrar de manera innata en algunos polímeros, pero en ciertas ocasiones es necesario adquirirlas o mejorarlas mediante la incorporación de otros polímeros, mediante un proceso de injerto.

2.6. Técnicas de caracterización

La determinación de las propiedades fisicoquímicas de los copolímeros de injerto se puede realizar por medio del uso tanto de técnicas analíticas clásicas como instrumentales. La colección de datos obtenidos a partir de cada una de estas técnicas permitirá obtener una visión más amplia y complementaria de las propiedades o fenómenos que han ocurrido en el proceso de injerto, así como de las potenciales aplicaciones que tendrán tomando en cuenta las propiedades del material. En esta sección se detallan los fundamentos y aplicaciones de las técnicas de caracterización empleadas durante el desarrollo de esta tesis.

2.6.1. Grado de injerto en peso

El grado de injerto o porcentaje de injerto es un indicador del peso de una muestra sometida a un proceso de injerto con uno o varios monómeros y se calcula generalmente por gravimetría, aplicando la Ecuación 1:

$$\text{Injerto (\%)} = \frac{\text{Peso del polímero injertado}}{\text{Peso inicial de la gasa sin injertar}} \times 100 = \left(\frac{W_g - W_o}{W_o} \right) \times 100 \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde W_g es el peso de la muestra luego del proceso de injerto y W_o es el peso de la muestra original sin injertar. El grado de injerto se expresa en porcentajes y al ser un cálculo en peso, se pueden obtener grados de injerto por encima del 100%, al agregarse una gran cantidad de injerto a la matriz. Además, para una determinación de injerto lo más cercana a la realidad, se deben realizar varios lavados a las muestras tratadas con el fin de retirar los residuos de monómeros y de homopolímero no injertados en el material.

2.6.2. Titulaciones potenciométricas

Una titulación potenciométrica es un método de análisis químico en el cual el punto final de la titulación es monitoreado con un electrodo indicador que registra el cambio del potencial como función de la cantidad de titulante agregado, con concentración exactamente conocida. El curso de una curva de titulación potenciométrica provee información de los fenómenos que ocurren en numerosas

reacciones tales como protonación y complejación, información que incluso puede definirse a partir de la posición y forma de la curva. Otra ventaja es que, generalmente, la instrumentación necesaria para realizarlas no es costosa, es confiable y que está disponible en los laboratorios (Hulanicki et al., 2013).

La instrumentación experimental para titulaciones potenciométricas consiste de un potenciómetro electrónico de alta impedancia, un vaso de precipitados y un agitador magnético, electrodos de referencia e indicador, y una bureta para la deposición del titulante, los cuales son necesarios para las titulaciones manuales y para la determinación de la gráfica punto por punto. En particular, para las titulaciones ácido-base, un electrodo indicador de vidrio es el más utilizado, pero ocasionalmente se utilizan electrodos de membrana polimérica sensible al pH o electrodos de óxido metálico.

Las curvas de titulación potenciométricas se obtienen por medio de la gráfica del potencial del electrodo indicador contra el volumen del titulante. En titulaciones ácido-base, el valor del pH se utiliza en lugar del potencial. A partir de esta gráfica se puede estimar el punto final de la titulación. Este punto es un valor experimental estimado que indica que la cantidad de reactivo necesario para completar la reacción ha sido añadida a la disolución. En particular, para el análisis de polímeros estímulo sensibles, este valor permite definir el pH crítico del polímero, es decir, el valor de pH al cual se producirá la protonación o desprotonación del polímero y se producirá el cambio conformacional característico de este tipo de materiales.

2.6.3. Espectroscopía de Infrarrojo de Transformada de Fourier con Reflectancia Total Atenuada (FTIR-ATR)

La Espectroscopía de Infrarrojo (IR) es una técnica instrumental ampliamente reconocida para la caracterización estructural de polímeros. Su principio se basa en la absorción de la radiación electromagnética en el intervalo de la frecuencia infrarroja debido a las vibraciones moleculares de los grupos funcionales contenidos en las cadenas de polímeros. Este fenómeno de absorción promueve transiciones entre los niveles de energía rotacionales y vibracionales del estado basal. Esta es la diferencia clave con la absorción de radiación visible y

energéticamente más poderosa, así como la radiación ultravioleta, la cual induce transiciones entre los niveles energéticos vibracionales y rotacionales de diferentes niveles electrónicos (Koenig, 1984).

Para describir las oscilaciones vibracionales de las moléculas, se adopta una aproximación al modelo del oscilador armónico, aplicando la Ley de Hooke dada por la Ecuación 2:

$$F = -kx \quad (\text{Ec. 2})$$

Donde F es la fuerza restauradora en el enlace, k es la constante de fuerza del enlace y x es el desplazamiento. Bajo esta aproximación, la frecuencia vibracional ν viene dada por la Ecuación 3:

$$\nu = \left(\frac{1}{2\pi}\right) \left(\frac{k}{\mu}\right)^{\frac{1}{2}} \quad (\text{Ec. 3})$$

Donde μ es la masa reducida del sistema. La unidad de la frecuencia vibracional ν es el recíproco de los segundos (s^{-1}). Sin embargo, por convención las posiciones de las bandas en el espectro de infrarrojo vienen dadas en números de onda ($\bar{\nu} = 1/\lambda$; $\nu = c/\lambda$) cuya unidad es el recíproco de los centímetros. Estas aproximaciones pueden aplicarse para moléculas diatómicas simples del tipo A-B. No obstante, para moléculas poliatómicas, como lo son los grupos funcionales, las frecuencias de las vibraciones se ven desplazadas por varios fenómenos tales como efectos eléctricos y estéricos, la naturaleza, tamaño y electronegatividad de los átomos vecinos, cambios de fase y enlaces por puentes de hidrógeno. De acuerdo a esta concepción, varios grupos funcionales pueden exhibir frecuencias de absorción características que confirmarían su presencia en un compuesto por medio de la observación de su espectro de IR, por lo cual estas frecuencias se encuentran tabuladas en los intervalos de números de onda donde suelen producirse tales vibraciones.

Un espectrofotómetro de Infrarrojo clásico esencialmente consiste de una fuente de radiación infrarroja continua, un medio para la resolución de radiación infrarroja en sus longitudes de onda componentes y un detector. Dos tipos de espectrofotómetros son utilizados en los laboratorios: instrumentos dispersivos e instrumentos basados en la Transformada de Fourier (FT), siendo este último el

que, actualmente, es el más utilizado. FTIR se basa en la interferencia de varias frecuencias de luz para recopilar un espectro. Las ventajas del uso de FTIR se ven reflejadas en una gran calidad espectral, velocidad en la colección de datos, reproducibilidad de los datos y facilidad de mantenimiento y uso. Otro factor importante a tomar en cuenta es la técnica de muestreo, siendo la Reflectancia Total Atenuada (ATR) la que más versatilidad ha demostrado. Esta técnica está basada en el efecto del ángulo de incidencia de un haz de luz en su reflexión en una superficie. El mayor beneficio de la ATR es la habilidad de medir una gran variedad de muestras sólidas y líquidas sin realizar preparaciones complejas.

En la caracterización estructural de polímeros, los tres factores aspectos en esta sección (bandas vibracionales, FTIR y ATR) permiten definir los grupos funcionales presentes en la unidad repetitiva del polímero sin mucha preparación previa, con precisión, alta calidad, y rapidez. En concreto, en los copolímeros de injerto, la técnica de IR sirve como un método de verificación de la inclusión de nuevos grupos funcionales al esqueleto de una matriz preformada. Esto se hace mediante la comparación de los espectros de IR de ambas estructuras, observándose nuevas bandas vibracionales en el espectro del injerto y manteniendo aquellas de la matriz (Susheel Kalia et al., 2013).

2.6.4. Análisis Termogravimétrico (TGA)

El Análisis Termogravimétrico (TGA) es una técnica de caracterización térmica que mide los cambios en peso o, más rigurosamente, en la masa de una muestra como función de la temperatura (o del tiempo) bajo una atmósfera controlada. Dependiendo de la información que se requiera obtener, la muestra se puede calentar a una tasa de calentamiento constante (medición dinámica), se puede mantener a una temperatura constante (medición isotérmica) o incluso se puede someter a programas de calentamiento no lineal (Bottom, 2008).

Los resultados obtenidos a partir de las mediciones de la técnica se muestran como una curva de TGA en la que el porcentaje de masa se grafica en función de la temperatura o el tiempo. Una presentación alternativa y/o complementaria es la representación de la primera derivada de la curva de TGA con respecto a la temperatura o el tiempo, la cual se conoce como termogravimetría diferencial

(curva DTA), y la cual muestra la tasa a la cual ocurren los cambios en la masa de la muestra (Ng et al., 2018).

Los cambios en la masa ocurren cuando la muestra pierde material en una o varias formas ya sea por descomposición o por reacciones con la atmósfera del medio, cuando no se tiene una atmósfera controlada. Estos cambios producen caídas en la curva TGA o picos en la curva DTA. Existen muchos efectos que inducen una pérdida en masa, en el caso de los polímeros, los más comunes son:

- Evaporación de constituyentes volátiles remanentes provenientes de un escaso secado de la muestra.
- Descomposición térmica de los grupos funcionales presentes en la muestra en una atmósfera inerte induciendo la generación de productos gaseosos a causa de la pirolisis o carbonización.

Estos fenómenos de descomposición pueden presentarse de manera aislada o en conjunto, generando curvas de TGA con una caída o varias caídas (etapas). En términos analíticos, cuando sucede esto, se dice que la muestra presenta una descomposición térmica unietapa o multietapa, respectivamente (Figura 16) (Wilkie, 1999). Cada etapa estará asociada a la pérdida o descomposición de algún grupo funcional, por lo cual la técnica tiene un uso de identificación de materiales desconocidos, de su mecanismo de degradación e incluso para fines cuantitativos ya que se puede determinar la cantidad de grupos funcionales presentes teniendo en cuenta la intensidad de la caída en cada etapa. Esto último resulta de mucha utilidad en copolímeros de injerto, ya que se puede determinar que tantos grupos funcionales del injerto están presentes en la matriz. Por otro lado, otro valor que se toma en cuenta en copolímeros de injerto es la pérdida en peso de la muestra al 10% (o a un determinado porcentaje de interés), ya que permitirá evaluar la estabilidad del material y que tanto se ha afectado por la presencia del injerto.

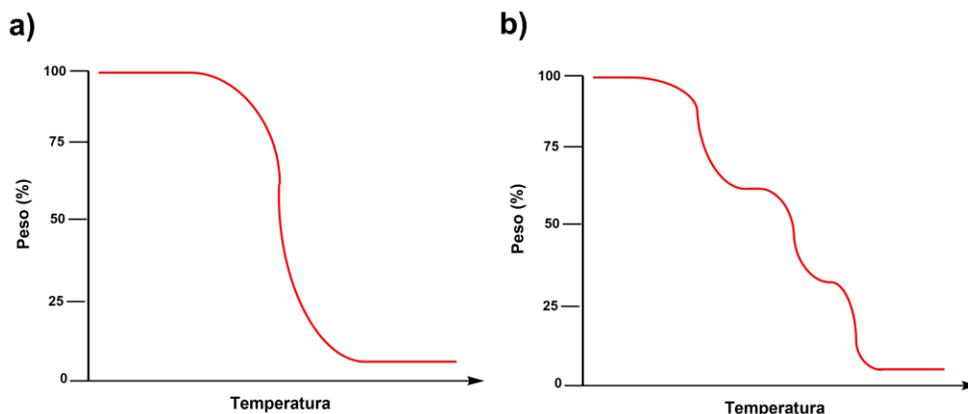


Figura 16. Curvas de TGA para a) descomposición unietapa y b) descomposición multietapa.

2.6.5. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

La Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) es una técnica de microscopía electrónica que permite alcanzar imágenes detalladas de una muestra con una alta calidad y una resolución espacial de hasta 1 nm. Su principio se basa en la exposición de la muestra a un haz de electrones de alta energía, estos alcanzarán al material y los electrones secundarios que se emiten o rebotan son los que generan una imagen del espécimen. Este principio se basa en la pérdida de la energía cinética de los electrones impactados sobre el material, generando varias señales a partir de las interacciones elásticas e inelásticas entre ambas (Zhou et al., 2006). La imagen generada por SEM nos brinda información de la topografía, morfología y composición de la muestra expuesta. La topografía se refiere a aspectos superficiales como su textura, suavidad o rugosidad mientras que la morfología nos indicará la forma y tamaño del analito (Akhtar et al., 2018). Teniendo como referencia estos dos puntos se puede deducir que la principal ventaja de SEM es que permite observar los fenómenos superficiales de los materiales. Por otro lado, una de sus desventajas es que, al ser netamente una técnica superficial, no provee información de la conformación interna de la muestra. A pesar de esto, SEM es considerado un instrumento fundamental para la caracterización de materiales y para la determinación de cambios morfológicos de estos cuando se realiza algún tipo de modificación superficial con otras moléculas.

2.7. Ensayo de actividad antimicrobiana por turbidimetría

Uno de los métodos para evaluar la actividad antimicrobiana de materiales con tales propiedades es mediante el ensayo turbidimétrico. Este método se caracteriza por una serie de tubos que contienen el material cargado con el antibiótico en un medio de cultivo líquido inoculado con el microorganismo de prueba. Es un requisito para un adecuado ensayo turbidimétrico que el antibiótico interactúe con el microorganismo de prueba para alterar el crecimiento cinético y permitir la respuesta (concentración de antibiótico relativo a la turbidez) a ser determinada. En el caso de materiales funcionalizados con agentes antimicrobianos, se puede determinar si el agente cumple su rol evitando o eliminando los microorganismos presentes en el medio, ya sea por mediciones por espectrofotometría UV-Visible o por simple inspección de la traslucidez del medio de cultivo (Balouiri et al., 2016; Lourenço & Pinto, 2011).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo General

Obtener un biomaterial de algodón como sistema de liberación de fármacos con respuesta al pH y la temperatura mediante el injerto de dos monómeros, ácido metacrílico (MAAc) y la *N*-isopropilacrilamida (NIPAAm), por irradiación gamma o por AIBN como iniciadores.

3.2. Objetivos Particulares

- Determinar las condiciones óptimas para el injerto binario de MAAc y NIPAAm en un solo paso por el método de preirradiación oxidativa o por el método químico.
- Caracterizar las propiedades del material obtenido por medio de varias técnicas como FTIR, TGA y SEM.
- Evaluar el pH crítico y la LCST del material de algodón obtenido.
- Comparar los métodos empleados en la síntesis del material de algodón, con base a los resultados observados.

- Evaluar la capacidad de carga y liberación de un fármaco a partir de las gasas injertadas con los monómeros NIPAAm y MAAc.
- Determinar la actividad antimicrobiana de los materiales injertados y cargados con fármacos por medio de ensayos de turbidez.

4. HIPÓTESIS

El injerto de los monómeros NIPAAm y MAAc en gasas de algodón iniciado por AIBN o la radiación gamma permitirá obtener un material funcional con respuesta a la temperatura y el pH que sirva como un sistema de carga y liberación de fármacos.

5. DESARROLLO EXPERIMENTAL

5.1. Materiales y reactivos

- Gasas de algodón esterilizadas de la marca Miyako en su presentación de 8 capas de 10x10 cm (gasa desdoblada: 20x20 cm) producidas por Galia Textil, S.A de C.V. Tlaxcala, México.
- Monómeros: Ácido metacrílico (MAAc) (99%) y N-isopropilacrilamida (NIPAAm) (97%) obtenidos de Sigma-Aldrich® (St. Louis, Estados Unidos).
- Azobisisobutironitrilo (AIBN) obtenido de Sigma-Aldrich (St. Louis, Estados Unidos)
- Disolventes: agua bidestilada. Metanol (99.94%), tolueno (99.5%) y n-hexano (95%) grado analítico adquiridos de J. T. Baker. Etanol anhidro e isopropanol anhidro fueron adquiridos de REPROQUIFIN Reactivos y Productos Químicos Finos, S.A. de C.V.
- Tubos de ensayo Pyrex de 16 mm de diámetro y 170 mm de altura, y tubos de vidrios de 4 mm de diámetro y 12 cm de altura. Estos se usaron para realizar las ampollitas de vidrio.
- Norfloxacino ($\geq 98\%$ TLC), estándar analítico, PM: 319.33 g/mol, obtenido de Sigma-Aldrich® (St. Louis, Estados Unidos).

- Pinzas de disección, perlas de vidrio estériles, micropipeta automática (Thermo Scientific™), vortex, incubadora de 35 ± 2 °C, campana de flujo laminar, autoclave.
- Medios de cultivo: Tubos con caldo cerebro corazón (marca BD Bioxon™); tubos con caldo luria (marca BD Bioxon™); tubos con 5 mL de caldo Müeller Hinton (marca BD Bioxon™) ajustados a distintos valores de pH (5,7 y 9); tubos con 9 mL de solución salina isotónica (0.9% de NaCl).
- Cepas: *Escherichia coli* ATCC™ 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC™ 25923.

5.2. Purificación de monómeros

El primer paso del desarrollo experimental es la purificación de los monómeros a inyectar: ácido metacrílico y *N*-isopropilacrilamida, por medio de destilación a presión reducida y recristalización, respectivamente.

5.2.1. Purificación de ácido metacrílico

El ácido metacrílico obtenido de Sigma Aldrich, se purifica por destilación a presión reducida, para eliminar impurezas y residuos poliméricos. El montaje experimental de este procedimiento se muestra la Figura 17. Se toman 100 mL de monómero con agitación constante y con calentamiento, hasta alcanzar una temperatura de ebullición de 30 °C. El monómero destilado se deposita en un frasco ámbar y se conserva en refrigeración hasta el momento de su uso.



Figura 17. Montaje experimental para la destilación a presión reducida del ácido metacrílico.

5.2.2. Purificación de la *N*-Isopropilacrilamida

La *N*-isopropilacrilamida (NIPAAm) obtenida de Sigma Aldrich se purifica por medio de recristalización usando tolueno y hexano como disolventes en una relación 2/3. 55 g de NIPAAm se disuelven en 180 mL de tolueno a 30 °C con agitación constante. Una vez disuelto el monómero, se agrega 270 mL de hexano previamente enfriado a 4 °C y se monta un baño frío para promover la recristalización. El sólido obtenido luego de la cristalización, se filtra y se seca en una estufa de vacío a 30 °C, durante 12 h. Finalmente, se calcula el rendimiento del proceso.

5.3. Purificación del iniciador AIBN

El iniciador químico AIBN se purifica por recristalización usando etanol como disolvente. 10 g de AIBN se disuelven en 200 mL de etanol a 50 °C. Una vez disuelto el iniciador se procede a montar el baño frío y se induce la recristalización. El sólido recristalizado se filtra y se seca a vacío, para finalmente calcular el rendimiento del proceso.

5.4. Preparación de las gasas de algodón a tratar

Las gasas de algodón de la marca Miyako, se cortan en pedazos de 10x10 cm y se lavan con etanol absoluto bajo agitación constante. Posteriormente, las gasas lavadas se secan a vacío a 50 °C, durante 12 h. Luego, se registra el peso inicial de las gasas y se depositan en ampollitas de vidrio para su posterior tratamiento.

5.5. Síntesis de CG-*g*-(NIPAAm/MAAc) por preirradiación oxidativa

Para la obtención del injerto binario de MAAc y NIPAAm en gasas de algodón en un solo paso por medio del método físico se evalúan las condiciones óptimas de reacción. De esta manera, se toman en cuenta las siguientes variables: disolvente, concentración de monómeros, dosis de radiación gamma, temperatura y tiempo de reacción. Primero, se preparan una disolución acuosa de monómeros en una relación molar (1:1) y con concentraciones de 0.5 M. Como el proceso de la

preirradiación oxidativa consiste en la irradiación del material sin monómeros ni disolventes, se procede a irradiar la gasa de algodón depositada en una ampolleta de vidrio antes de ser tratado. Una vez irradiado el material, se depositan aproximadamente 4 mL de la disolución preparada previamente. Se procede a burbujear con Argón la ampolleta con la disolución y la gasa durante 15 min, para eliminar el oxígeno del medio. Terminado el burbujeo, se sella la muestra, se generan condiciones inertes y se coloca en el baño maría a 70 °C durante 3 h de reacción. Luego, se abre la ampolleta y se procede a lavar con una mezcla de etanol y agua, con agitación constante y se seca en una estufa de vacío a 50 °C durante 8 h. Finalmente, se reporta el peso final del material tratado y se calcula el porcentaje de injerto por diferencia de peso, de acuerdo a la ecuación 1 reportada en la sección 2.6.1.

El procedimiento experimental para el injerto por método físico se representa en la Figura 18.

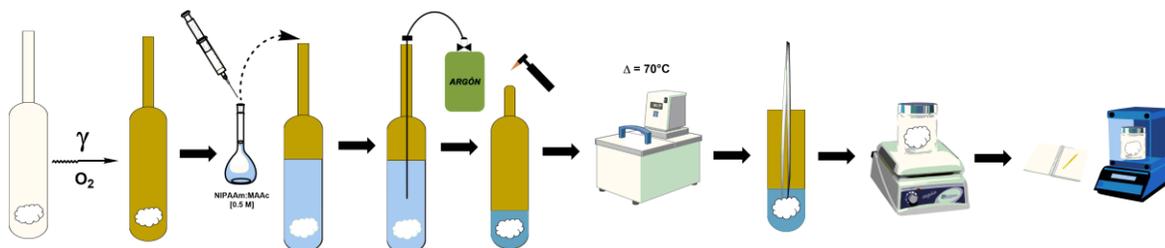


Figura 18. Procedimiento experimental para la síntesis de CG-g-(NIPAAm/MAAc) por método físico.

5.6. Síntesis de CG-g-(NIPAAm/MAAc) por el método químico

Para la obtención del injerto binario de MAAc y NIPAAm en gasas de algodón por medio del método químico se toman en cuenta variables como disolvente, concentración de monómeros, cantidad de iniciador, temperatura y tiempo de reacción. Se prepara una disolución acuosa de los monómeros a injertar en una relación molar (1:1) y con concentraciones de 1 M. Se agrega 10 mg de iniciador AIBN en la disolución de MAAc. Se añaden aproximadamente 10 mL de la disolución en las ampolletas con las gasas. La ampolleta se burbujea con Argón durante 15 min, para eliminar el oxígeno del medio y crear condiciones inertes. La ampolleta se sella y se deposita en un baño maría a 70 °C y durante 2 h. Posteriormente, se abre la ampolleta y la gasa de algodón es lavada con etanol

bajo agitación constante. Finalmente, la muestra se seca en una estufa de vacío a 50 °C durante 8 h, se reporta el peso final y se calcula el porcentaje de injerto obtenido por diferencia de peso, de acuerdo a la ecuación 1, planteada en la sección 2.6.1.

El procedimiento experimental para el injerto por método químico se representa en la Figura 19.

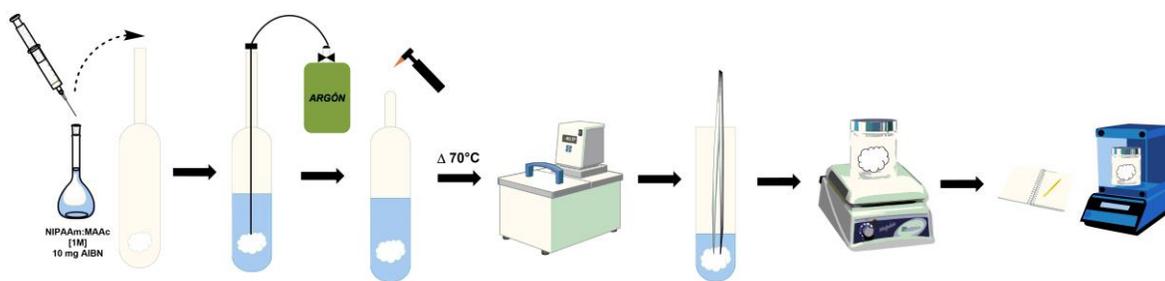


Figura 19. Procedimiento experimental para la síntesis de CG-g-(NIPAAm/MAAc) por método químico.

5.7. Caracterización de los materiales obtenidos

5.7.1. Espectroscopía de Infrarrojo de Transformada de Fourier con Reflectancia Total Atenuada (FTIR-ATR)

Para realizar el análisis por FTIR-ATR, se toman muestras de la gasa de algodón sin modificar, del copolímero PNIPAAm-co-PMAAc, y de las gasas injertadas con los monómeros MAAC y NIPAAm por los métodos físico y químico, con porcentajes de injerto ideales (aproximadamente 40%). Estas muestras se secan a 60 °C durante 12 h ya que deben estar completamente secas antes de realizar el experimento. Las muestras secas se analizan en un espectrofotómetro Perkin-Elmer Spectrum 100 de Perkin Elmer Cetus Instruments, Norwalk, CT, realizando 16 escaneos en cada muestra en el módulo de ATR.

5.7.2. Análisis termogravimétrico (TGA)

Se secan muestras de la gasa de algodón sin modificar, del copolímero PNIPAAm-co-PMAAc, y de las gasas injertadas con los monómeros NIPAAm y MAAC por los métodos físico y químico, a 60 °C durante 12 h. Se pesan muestras de 5 a 20 mg y se colocan en una charola de platino del equipo de TGA. Las condiciones del experimento involucran una rampa de calentamiento de 10 °C/min

de 20 a 700 °C con una atmósfera inerte de nitrógeno. El equipo destinado para estos experimentos es el TGA Q50 de TA Instruments, USA.

5.7.3. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

Se toman muestras de una gasa de algodón sin modificar, y de las gasas injertadas con los monómeros NIPAAm y MAAC por los métodos físico y químico, con porcentajes de injerto ideales (aproximadamente 40%). Estas se secan completamente a 60 °C durante 12 h. Se cortan pedazos de cada muestra con una dimensión de 1 cm². Estos pedazos se colocan en un portamuestras para el microscopio electrónico de barrido SEM modelo TM3030Plus Tabletop Microscope de Hitachi, Ltd., Japón, ubicado en el Departamento de Procesos y Tecnología, División de Ciencias Naturales e Ingeniería de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Cuajimalpa. Se toman varias micrografías a distintos aumentos con tal de obtener imágenes que permitan observar cambios en la morfología del material.

5.7.4. Determinación del pH crítico por titulaciones potenciométricas

Para realizar las titulaciones potenciométricas, el titulante es hidróxido de potasio (KOH) que se prepara a una concentración aproximada de 0.15 M. Esta disolución se estandariza para conocer su concentración real. Para esto, se prepara una disolución de hidrogenoftalato de potasio 0.04 M, se agrega dos gotas de indicador de fenolftaleína y se titula con la disolución de KOH previamente preparada. La disolución alcanza una coloración ligeramente rosa y se determina la concentración real del titulante, $[KOH] = 0.12 \text{ M}$; la estandarización se realiza por triplicado

Se procedió a realizar titulaciones potenciométricas de las gasas injertadas con los monómeros NIPAAm y MAAC por los métodos físico y químico, y de gasas injertadas con MAAC y con NIPAAm por separado. Estos últimos sirven como referencias para determinar el pH crítico de las gasas injertadas con el copolímero. Los porcentajes de injerto son los obtenidos por condiciones ideales (aproximadamente 40%). Se coloca aproximadamente 20 mg de cada muestra en un vaso de precipitados con agua destilada bajo agitación constante. Se ajusta el

pH del medio a 2, pues se estima que el pH crítico estará en el intervalo de 4 a 5 y para tener un punto de partida equivalente para todas las titulaciones. Posteriormente, se agrega de manera controlada la disolución de KOH 0.12 M, monitoreando el pH después de cada adición, con un potenciómetro y un electrodo combinado de vidrio. El potenciómetro es el modelo Orion Star A215 de Thermo Scientific, USA y el electrodo es el modelo Orion 8157BNUMD ROSS Ultra pH/ATC Triode de Thermo Scientific, USA, el cual fue calibrado con amortiguadores de pH estándar marca Orion (pH: 4.0, 7.0 y 10.0).

5.7.5. Retención de agua y LCST

Las pruebas de retención de agua se realizan con pedazos de aproximadamente 80 mg de una gasa testigo y de las gasas injertadas con los monómeros NIPAAm y MAAC, con porcentajes de injerto ideales (aproximadamente 40%). Se reporta el peso inicial de la gasa. Posteriormente, se depositan en frascos separados con una cantidad de 10 mL de agua destilada y se colocan en un baño a 25 °C. A varios intervalos de tiempo (15 min, 30 min, 1 h, 2 h, 3 h, 5 h, 8 h y 24 h) se saca la muestra del frasco, se retira el excedente de agua y se realiza controles de peso; este proceso se realiza por cuadruplicado.

Para la evaluación de la termosensibilidad, se aplica una metodología similar a la empleada para la retención de agua. Se emplean aproximadamente 80 mg de una gasa testigo y de las gasas injertadas por ambos métodos con los monómeros NIPAAm y MAAC, con porcentajes de injerto ideales (aproximadamente 40%). Se reporta el peso inicial de la muestra. Luego se depositan en frascos con 10 mL de agua destilada y se colocan en un baño durante 6 h (retención de agua límite) a temperaturas en el intervalo de 24 a 50 °C, con un intervalo de 2 °C entre cada medición. Al igual que la retención de agua, los experimentos para la determinación de LCST se realizan por cuadruplicado.

5.8. Carga de norfloxacin en gasas de algodón injertadas

La carga del fármaco antimicrobiano norfloxacin en gasas de algodón se realiza tomando aproximadamente 50 mg de una gasa de algodón testigo y de las gasas injertadas con los monómeros NIPAAm y MAAC por ambos métodos, con

porcentajes de injerto ideales (aproximadamente 40%). Las gasas previamente pesadas se colocan en viales de vidrio con una capacidad de 7 mL y se agregan 5 mL de una disolución acuosa de norfloxacino con concentración de 10 µg/mL (absorbancia cercana a 1). Los viales con las gasas y la solución se colocan en un baño de agua a 25 °C. Con el fin de evaluar la carga progresiva del fármaco en el material, se realizan controles de absorbancia de la disolución de fármaco a varios intervalos de tiempo (1, 3, 5, 7, 24, 30 y 48 h), tomando 2 mL de la disolución remanente como alícuota. Con el objetivo de determinar la variación de la concentración de la disolución de fármaco remanente, se realizan mediciones de la absorbancia usando cubetas de cuarzo con capacidad de 3.5 mL a 268 nm en un espectrofotómetro UV-Vis SPECORD® 200 Plus de Analytik Jena AG, Germany.

Curva de calibración: A partir de la disolución madre de norfloxacino (10 µg/mL) se realizan varias disoluciones en medio acuoso (2, 4, 5, 6, 8 µg/mL) y se toman medidas de absorbancia a 268 nm. Se obtiene una curva de calibración que relaciona la absorbancia con la concentración de norfloxacino (Anexo 1). Las disoluciones se realizaron por cuadruplicado con el fin de reducir el margen de error y obtener un valor de R² lo más cercano a 1.

5.9. Liberación de norfloxacino a partir de las gasas injertadas

Las gasas cargadas con norfloxacino, de acuerdo a la metodología anterior, se depositan en viales de vidrio con capacidad de 7 mL y se agregan 5 mL de una disolución amortiguadora de fosfato salino (PBS) con un pH de 7.4. Los viales se colocan en un baño a una temperatura de 37 °C. Con el fin de evaluar la liberación progresiva de norfloxacino del material, se realizan controles de absorbancia a varios intervalos de tiempo (0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 24, 30 y 48 h) tomando 2 mL de la disolución remanente de fármaco como alícuota. Las mediciones de la absorbancia se realizan tomando como referencia la disolución amortiguadora PBS y usando cubetas de cuarzo con capacidad de 3.5 mL a 268 nm en un espectrofotómetro UV-Vis SPECORD® 200 Plus de Analytik Jena AG, Germany.

Curva de calibración: A partir de la disolución madre de norfloxacino (2.5 µg/mL) en PBS se realizan varias disoluciones (2, 1.5, 1, 0.5, 0.25, 0.1 µg/mL) y se toman medidas de absorbancia a 268 nm. Se obtiene una curva de calibración que

relaciona la absorbancia y la concentración de norfloxacinó en la disolución amortiguadora PBS (Anexo 2). Las disoluciones se realizaron por cuadruplicado con el fin de reducir el margen de error y obtener un valor de R^2 lo más cercano a 1.

5.10. Ensayos de turbidez antimicrobiana

5.10.1. Preparación del medio de cultivo

Se pesó la cantidad necesaria de caldo Hilton Müller marca BD Bioxon® para preparar 150 mL de caldo, de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El pH del medio (5,7 o 9) se determinó y se ajustó con HCl 1 M o con NaOH 1M según el caso. El medio se colocó en tubos de ensayo en alícuotas de 5 mL en cada tubo, se esterilizó en autoclave a 121 °C, 15 lb durante 15 min. Finalmente, todos los tubos fueron sometidos a prueba de esterilización en incubadora de 35 °C durante 48 h antes de ser utilizados.

5.10.2. Preparación de las cepas

Las cepas *S. aureus* ATCC 25923 y *E. coli* ATCC 25922 que se encontraban conservadas en ultracongelación (-70 °C) se activaron con caldo cerebro corazón y caldo Luria, respectivamente, durante 24 h. Posteriormente se tomaron 100 µL de cada microorganismo y se colocaron en los medios correspondientes durante 6 h, transcurrido el tiempo se tomó una alícuota con pipeta Pasteur y se adicionó gota a gota en su respectivo medio de cultivo fresco hasta que los cultivos se ajustaron al estándar 0.5 de Mac Farland.

5.10.3. Concentración de bacterias utilizada

Para conocer la cantidad de bacterias que había en cada suspensión se determinó su concentración por la técnica de extensión superficial. A partir de la suspensión bacteriana ajustada al estándar de Mac Farland se realizaron 6 diluciones decimales seriadas en tubos de solución salina isotónica y de las 3 últimas diluciones (10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6}) se tomaron 100 µL y se colocaron por duplicado en la superficie de agar Hinton Müller contenido en cajas Petri, el

inóculo se extendió con ayuda de perlas de vidrio estériles y se dejó absorber. Las cajas se incubaron a 35 °C por 24 h. Finalizado el periodo de incubación se determinó la cantidad de colonias y realizaron los cálculos para conocer la concentración de bacterias, la cual fue de 6.5×10^7 para *E. coli* y 2.0×10^7 para *S. aureus*.

5.10.4. Ensayo

Las muestras de gasa con diferentes tratamientos fueron colocadas con pinzas de disección en los tubos de caldo Hinton Müeller con diferente pH por triplicado. Enseguida se adicionaron 200 μ L de las suspensiones bacterianas ajustadas al estándar 0.5 de Mac Farland. Todos los tubos fueron incubados a 37 °C durante 24 h. Finalizado el periodo de incubación se determinó la variación en la turbidez del medio de cultivo.

6. ANÁLISIS DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Síntesis de CG-g-(NIPAAm/MAAc) por preirradiación oxidativa

La radiación gamma genera procesos degradativos en la materia expuesta a ella. En el caso de la celulosa, se producen varios rompimientos debido a la gran cantidad de enlaces carbono-oxígeno y carbono-hidrógeno presentes en la estructura. Debido a la amplia utilidad de este polímero, se han hecho grandes esfuerzos por entender su mecanismo de degradación. La radiación ionizante produce degradación de los polisacáridos acompañado por descomposición del anillo de piranosa y la formación de compuestos con grupos carboxil y carbonilo, así como la formación de hidrógeno, dióxido de carbono y monóxido de carbono. El mecanismo de degradación de la celulosa propuesto por Tissot et al., 2013 se detalla a continuación y se representa en la Figura 20:

- Ionización: $RH \rightarrow RH^+ + e^-$ y recombinación: $RH^+ + e^- \rightarrow RH^*$
- Formación de fragmentos y descomposición con rompimiento preferencial de los enlaces C₁-H y C₄-H del anillo de glucopiranososa: $RH^* \rightarrow R^\bullet + H$
- Abstracción de hidrógeno de otros átomos de carbono por átomos de hidrógeno: $RH + H \rightarrow R^\bullet + H_2$

- Descomposición de los radicales inestables (R^\bullet) con rompimiento del enlace glucosídico para dar radicales terminales con escisión del anillo de glucopiranososa.
- La escisión del anillo de glucopiranososa resulta en la formación de CO_2 y/o CO y de compuestos poliméricos con grupos terminales carbonilo o carboxilo.
- Finalmente se tienen productos los productos radicalarios finales.

De acuerdo a Tissot et al., 2013, el mecanismo propuesto es consistente con la relación rendimientos radioquímicos de los productos principales mencionados, es decir, $2G(H_2) = G_d \approx G(RCHO) \approx G(CO_2) + G(CO)$, siendo G_d el rendimiento de degradación (Tissot et al., 2013).

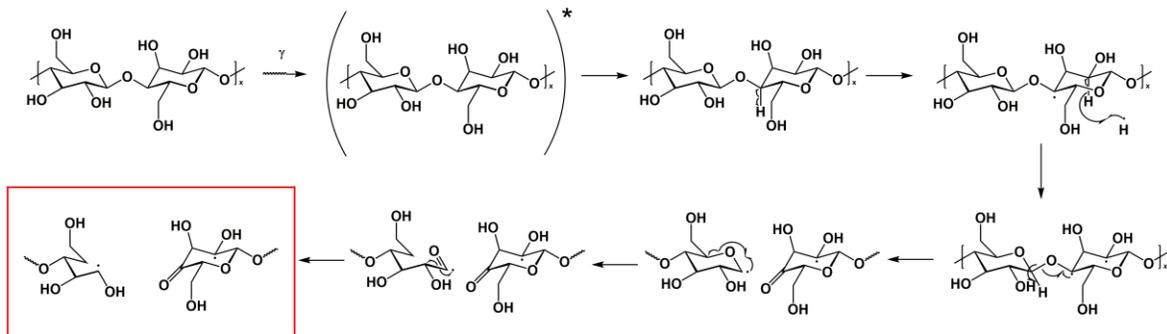


Figura 20. Mecanismo de degradación de la celulosa por efectos de la radiación ionizante.
Adaptado de (Tissot et al., 2013)

Tomando en cuenta la degradación de la celulosa, para el injerto de los monómeros NIPAAm y MAAC por el método físico se propone un mecanismo de polimerización por radicales libres. Todo proceso de polimerización por radicales libres consta de tres etapas: iniciación, propagación y terminación. En el paso de iniciación, se utiliza radiación gamma para generar radicales libres en la matriz a injertar. En el caso de la gasa de algodón, cuyo componente principal es celulosa, se produce el rompimiento de los enlaces C_2-C_3 del anillo de glucopiranososa como se detalló anteriormente. Al tratarse del método de preirradiación oxidativa, la irradiación se produce en presencia del oxígeno del aire. Las moléculas de oxígeno O_2 reaccionan con los radicales libres formados en la etapa de irradiación, generando peróxidos e hidropéroxidos. Estas especies son altamente reactivas y se descomponen térmicamente a una cierta temperatura, generando radicales

libres, los cuales reaccionan con la parte vinílica de los monómeros de MAAc o de NIPAAm. De esta manera, empieza la etapa de propagación. Al tratarse de un proceso aleatorio, el siguiente monómero puede encontrarse con otra unidad del mismo tipo o con otra del otro monómero. Dependiendo de la reactividad de cada monómero, se injertará mayor cantidad de uno o de otro. Así, el copolímero de injerto sobre la matriz de celulosa será del tipo aleatorio (Anexo 3). La etapa de terminación puede darse por el encuentro de dos cadenas crecientes o por desproporción de una de las cadenas, esto es por la toma de un hidrógeno de una cadena por parte del radical de la otra cadena. El mecanismo propuesto para esta copolimerización de injerto se plantea en la Figura 21.

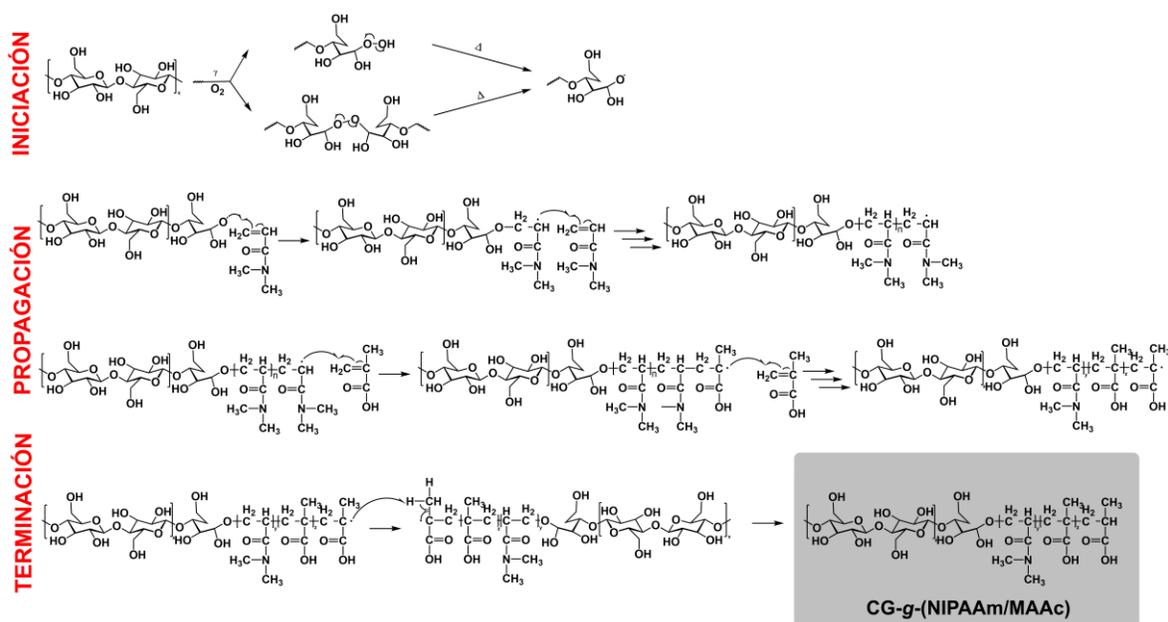


Figura 21. Mecanismo propuesto para el injerto de los monómeros NIPAAm y MAAc en gasas de algodón por preirradiación oxidativa.

6.2. Síntesis de CG-g-(NIPAAm/MAAc) por el método químico

De igual manera, para la copolimerización por método químico, se propone un mecanismo por radicales libre iniciado por AIBN. El AIBN es un iniciador de polymerizaciones radicalarias de origen sintético que actúa al descomponerse térmicamente y generar dos radicales 2-ciano-2-propilo. El intervalo de temperatura al cual se descompone este iniciador es de 60 a 80 °C (Clayden et al., 2012), por lo que es necesario aplicar una cierta temperatura para que inicie la copolimerización. Una vez generados los radicales, estos actuarán sobre la matriz polimérica

6.3. Evaluación de parámetros para la síntesis de CG-g-(NIPAAm/MAAc) por los métodos físicos y químicos

Las variables del medio de reacción, de la preparación de las muestras, y de la preparación de las soluciones monoméricas a injertar, afectan de manera significativa el porcentaje de injerto de los productos finales. El método de injerto usando iniciador químico y el método de injerto de preirradiación oxidativa usando a la radiación gamma como iniciador, constan de, básicamente, las mismas variables a considerar para la reacción de copolimerización y estas son: disolvente, concentración de monómeros, temperatura y tiempo de reacción. Ambos métodos se diferencian en una variable como lo es la cantidad de iniciador para el método químico y la dosis de irradiación gamma para el método físico. Esta similitud en las variables permite una comparación de los métodos de injerto empleados. A continuación, se muestran los resultados de la evaluación de los para el injerto de los monómeros NIPAAm y MAAc en gasas de algodón por los métodos físico y químico.

6.3.1. Efecto del disolvente

El primer parámetro evaluado en este método fue el disolvente. La elección de un disolvente adecuado es esencial en la copolimerización de injerto por el método físico ya que este tiene como función disolver adecuadamente los monómeros a injertar, y generar un acercamiento idóneo entre las moléculas de estos y la matriz polimérica a injertar. Esto se debe en gran medida a la habilidad que tiene el disolvente para hinchar la matriz polimérica, permitiendo así un mejor acceso del monómero a los sitios de injerto (Işikel Şanlı & Alkan Gürsel, 2011).

De acuerdo a Jun et al., 2001, una mezcla de alcohol (metanol, etanol, propanol o isopropanol) y agua en una relación 1:4 es idónea para el injerto de NIPAAm en celulosa de algodón (Jun et al., 2001). Por tal motivo, se hizo el experimento con una serie de mezclas de alcohol y agua en esa relación, además de agua pura. Los resultados de dicho experimento se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Resultados de la evaluación de disolventes para el injerto de los monómeros NIPAAm y MAAC en gasas de algodón por preirradiación oxidativa.

Disolventes	Injerto (%)	Error (%)
Agua (100%)	43.91	0.09
Metanol : Agua (1:4)	66.42	1.05
Etanol : Agua (1:4)	42.39	2.84
Propanol : Agua (1:4)	23.27	1.27
Isopropanol : Agua (1:4)	10.84	2.17

Los resultados muestran que se produce un mayor injerto cuando se utiliza una mezcla de metanol y agua, siendo decreciente el porcentaje de injerto mientras más grande o ramificada sea la molécula de disolvente. Sin embargo, al realizar el análisis por FTIR-ATR, en los espectros de infrarrojo de las gasas obtenidas, se observa que solo el NIPAAm ha sido injertado exitosamente en la gasa de algodón, como lo determinaron Jun et. al en sus experimentos. En el Anexo 4 se puede observar los espectros de infrarrojo que corrobora esta afirmación, observando la similitud entre la CG-g-NIPAAm y la CG-g-(NIPAA/MAAc) injertada usando la mezcla de disolventes. Por otro lado, el agua resulta ser un disolvente adecuado para el injerto de ambos monómeros en un solo paso en la gasa de algodón por el método de preirradiación oxidativa. Esto debido a que existe una buena interacción entre disolvente, monómeros y matriz de celulosa. Además, el tamaño de la molécula de agua le permite acceder con facilidad a los sitios activos generados por efectos de la radiación en la matriz polimérica.

En cuanto al efecto del disolvente para el injerto por método químico, la Tabla 2 muestra que el agua es el disolvente adecuado para producirse el injerto binario de los monómeros en gasas de algodón. Si bien es cierto que el AIBN es un iniciador con escasa solubilidad en agua, siendo preferentemente soluble en alcoholes, la poca cantidad de iniciador que se disuelve en el medio es suficiente para generar radicales e inducir el proceso de copolimerización de injerto. Además,

a partir de estos resultados se puede inferir que existe mejor acoplamiento del iniciador, matriz y monómeros en el medio acuoso, favoreciendo el injerto.

Tabla 2. Resultados de la evaluación de disolventes para el injerto de NIPAAm y MAAC en gasas de algodón por método químico.

Disolvente	Injerto (%)	Error (%)
Agua	58.57	1.51
Metanol	4.58	0.52
Etanol	11.50	0.34
Isopropanol	9.05	0.55

6.3.2. Efecto de la concentración de monómeros

La Figura 23 muestra una comparación de los efectos de la concentración de monómeros en el porcentaje de injerto NIPAAm y MAAC en gasas de algodón por los métodos físico y químico. Para este experimento se mantuvo constante la concentración de MAAC y se varió la concentración de NIPAAm, alterando de esta manera, las relaciones molares entre ambos monómeros. Las concentraciones del monómero base fueron determinadas por pruebas preliminares. Ambos métodos presentan relaciones crecientes al aumentar la concentración del monómero NIPAAm. De esta manera se pudo comprobar que se están injertando ambos monómeros bajo las condiciones planteadas.

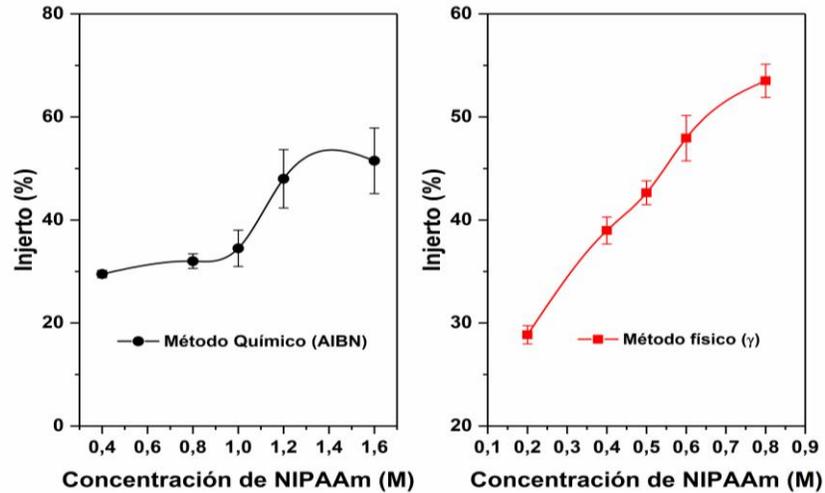


Figura 23. Efecto de la concentración de NIPAAm en el porcentaje de injerto de NIPAAm y MAAc en gasas de algodón por los métodos químico y físico.

6.3.3. Efecto de la dosis de radiación y de la cantidad de iniciador AIBN

La dosis de irradiación es un factor importante a tomar en cuenta en el proceso de injerto por preirradiación oxidativa. La radiación gamma actúa como iniciador del proceso de copolimerización creando sitios activos en la matriz polimérica, por los cuales los monómeros serán injertados. Por esta razón, al incrementar la dosis, incrementarán la cantidad de sitios activos y habrá mayor probabilidad de injerto, aumentando los rendimientos de la polimerización. Sin embargo, el aumentar la dosis de radiación conduce a una reducción del grado de polimerización de la matriz irradiada, es decir, existe degradación del material de celulosa irradiado (Ershov, 1998). Por tal motivo, se escoge un intervalo de dosis bajo pero suficiente para injertar los monómeros vinílicos.

Los resultados se muestran en la Figura 24, observándose que, en el intervalo de 5 a 30 kGy, a medida que se incrementa la dosis de radiación, incrementa también el porcentaje de injerto. También, se puede notar que a 5 kGy no se produce injerto, ya que esta dosis es muy baja para generar radicales libres en la matriz polimérica. En el otro extremo a 30 kGy, a pesar de tener un rendimiento alto, se pudo notar tanto degradación de la matriz como rigidez del material injertado, debido al porcentaje de injerto alto. Sin embargo, a dosis de 25 kGy se encuentran injertos de 40%, en los cuales no se muestra rigidez ni mayor

degradación del material en cuestión, conservándose las propiedades de la gasa sin injertar.

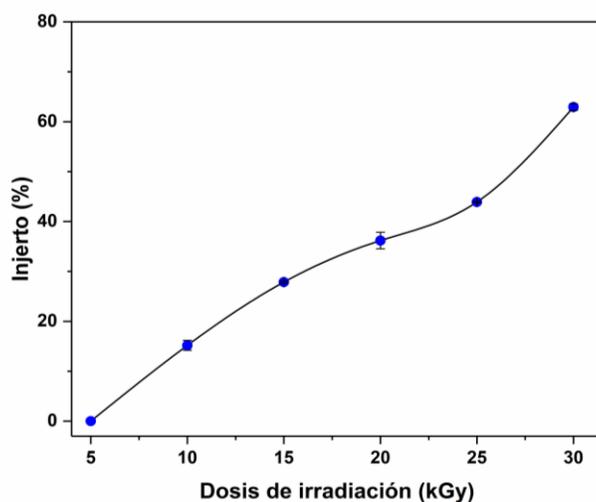


Figura 24. Efecto de la dosis de irradiación en el porcentaje de injerto de NIPAAm y MAAC en gasas de algodón por preirradiación oxidativa.

El AIBN es un iniciador de origen sintético que se descompone térmicamente para generar dos radicales que dan paso al proceso de polimerización por radicales libres. En el caso particular de este experimento, la Figura 25 muestra que no existe dependencia de la cantidad de iniciador que se agregue a la disolución acuosa para empezar una reacción de copolimerización. Esto se debe a que el iniciador AIBN es soluble en la mayoría de disolventes orgánicos y en alcoholes, presentando una muy ligera solubilidad en agua. Es decir, una pequeña cantidad de iniciador disuelta en el medio de reacción será suficiente para dar paso al proceso de injerto. Además, es necesario definir que la copolimerización puede darse en fase homogénea o heterogénea. Este caso podría deberse a una polimerización de injerto heterogénea, es decir, con los componentes de la reacción en distintos estados de agregación (sólido, acuoso o diluidos) (Gürdag & Sarmad, 2013). Por tanto, es posible que los radicales generados por el AIBN tanto en la matriz como en los monómeros se encuentren entre ellos para injertarse y obtener los grados de reproducibilidad reportados. Una cantidad mínima de AIBN será suficiente para injertar los monómeros.

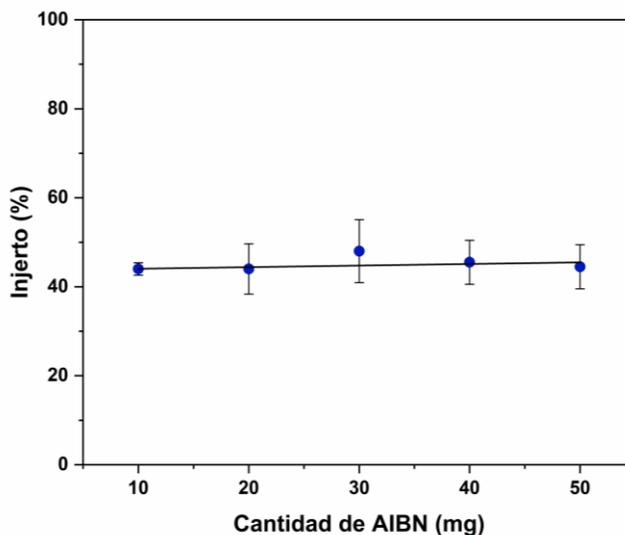


Figura 25. Efecto de la cantidad de iniciador en el porcentaje de injerto binario de NIPAAm y MAAC en gasas de algodón por método químico.

6.3.4. Efecto de la temperatura de reacción

La Figura 26 muestra los resultados del efecto de la temperatura en el injerto de NIPAAm y MAAC, en gasas de algodón, por preirradiación oxidativa y por método químico. La temperatura desempeña un rol importante en los procesos de polimerización pues a medida que esta se incrementa, se tendrá mayor movimiento cinético de las partículas en el medio de reacción. Al darse este movimiento continuo, existe mayor probabilidad de que, durante este proceso, un doble enlace se encuentre con un radical, se genere una colisión efectiva entre ambos y se produzca el injerto. De tal manera, para la preirradiación oxidativa (método físico) se tiene que a 40 °C el porcentaje de injerto es bajo y se incrementa a medida que aumenta la temperatura. Este incremento en el injerto también se explica por la mayor descomposición térmica de los peróxidos e hidroperóxidos formados en la matriz y que alcanzarán los dobles enlaces vinílicos de los monómeros para inducir el injerto. Se determina como una temperatura ideal la de 70 °C ya a que partir de este punto, no se ve un efecto significativo en el porcentaje de injerto, manteniéndose prácticamente constante.

Para el injerto por método químico, el intervalo de operación del AIBN es de 60-80 °C, temperaturas a las cuales este iniciador se descompone tal que se produce el rompimiento del enlace $-N=N-$, se elimina N_2 y se generan los radicales 2-ciano-

2-propilo. Sin embargo, por encima de este intervalo, la efectividad del AIBN se ve disminuida, por la reducción de la estabilidad de los radicales generados en el iniciador (Li et al., 2008). Este efecto es evidente en la cinética en función de la temperatura, observándose mayor porcentaje de injerto en ese intervalo de temperaturas (60-80 °C). Por tal motivo, a 90 °C el injerto cae drásticamente en comparación con la reacción a 80 °C. Se escoge como una temperatura ideal de reacción la de 70 °C la cual, además de permitir una ruptura efectiva del enlace azo, alcanza injertos adecuados de tal forma que no se afecten las propiedades innatas de la gasa de algodón.

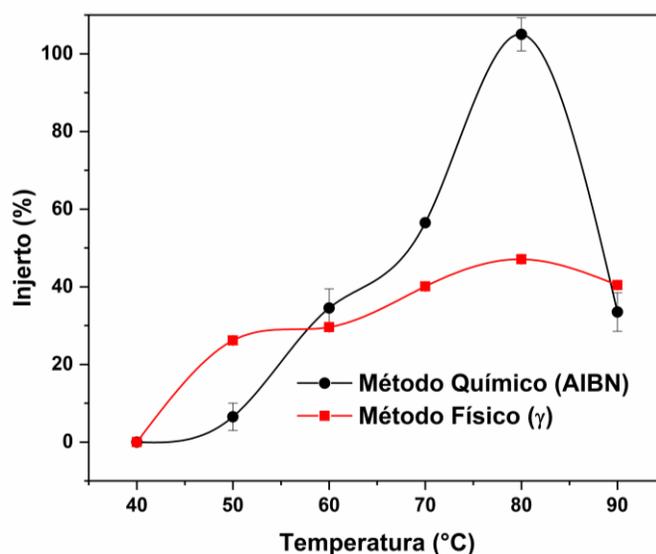


Figura 26. Efecto de la temperatura de reacción en el porcentaje de injerto binario de NIPAAm y MAAC en gasas de algodón por preirradiación oxidativa.

6.3.5. Efecto del tiempo de reacción

La Figura 27 muestra el efecto del tiempo de reacción, para el injerto de NIPAAm y MAAC en gasas de algodón por los métodos físico y químico. Debido a la elevada reactividad de los monómeros a injertar, se escogen tiempos reacción relativamente bajos, en el intervalo de 1 a 5 h. En cuanto al método físico, se puede observar una tendencia creciente a medida que se incrementa el tiempo de exposición del material, a la disolución equimolar de MAAC y de NIPAAm. A tiempos de reacción bajos, la reacción de copolimerización no se ve favorecida, viéndose esto reflejado en porcentajes de injerto bajos. Por otro lado, mientras se incrementa el tiempo de reacción existe mayor probabilidad de que el disolvente

transporte los monómeros hacia los sitios activos generados por la radiación y se injerten en la matriz de celulosa. Se determina que un tiempo de reacción adecuado para el injerto por método físico es de 3 h ya que se obtienen injertos que no afectan las propiedades de la gasa de algodón.

En el caso del injerto de NIPAAm y MAAC en gasas de algodón por método químico, se muestra un comportamiento con efecto campana. De esta manera se puede observar que tiempos de reacción altos favorecen la formación del copolímero PNIPAAm-co-PMAAC sin que este llegue a injertarse sobre la gasa. Por tal motivo se toma como tiempo de reacción ideal aquel de 2 h, que permite alcanzar injertos que no afecten la rigidez del material y su potencial aplicación como biomaterial.

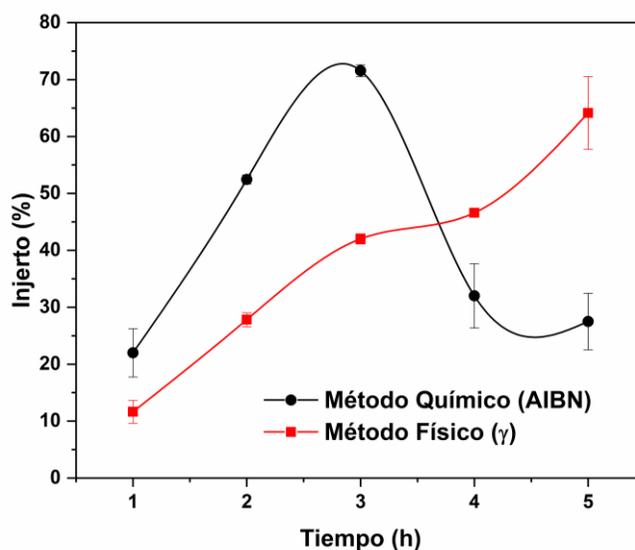


Figura 27. Efecto del tiempo de reacción en el porcentaje de injerto binario de NIPAAm y MAAC en gasas de algodón por preirradiación oxidativa y por método químico.

Para concluir la sección de síntesis de CG-*g*-(NIPAAm/MAAc) por los métodos físico y químico, se describen las condiciones ideales para la obtención del injerto en la Tabla 3.

Tabla 3. Condiciones ideales para la síntesis de CG-g-(NIPAAm/MAAc) por los métodos físico y químico.

Variable	CG-g-(NIPAAm/PMAAc) (γ)	CG-g-(NIPAAm/PMAAc) (AIBN)
Disolvente	Agua	Agua
Concentración (NIPAAm:MAAc)	0.5 M:0.5 M	1M:1M
Dosis/Cantidad de AIBN	25 kGy	10 mg
Temperatura de reacción	70 °C	70 °C
Tiempo de reacción	3 h	2 h

6.4. FTIR-ATR

La Espectroscopía de Infrarrojo permitió verificar el injerto binario de MAAc y NIPAAm en gases de algodón, por medio del análisis de los espectros vibracionales que esta técnica proporciona. Dichos espectros se encuentran representados en la Figura 28.

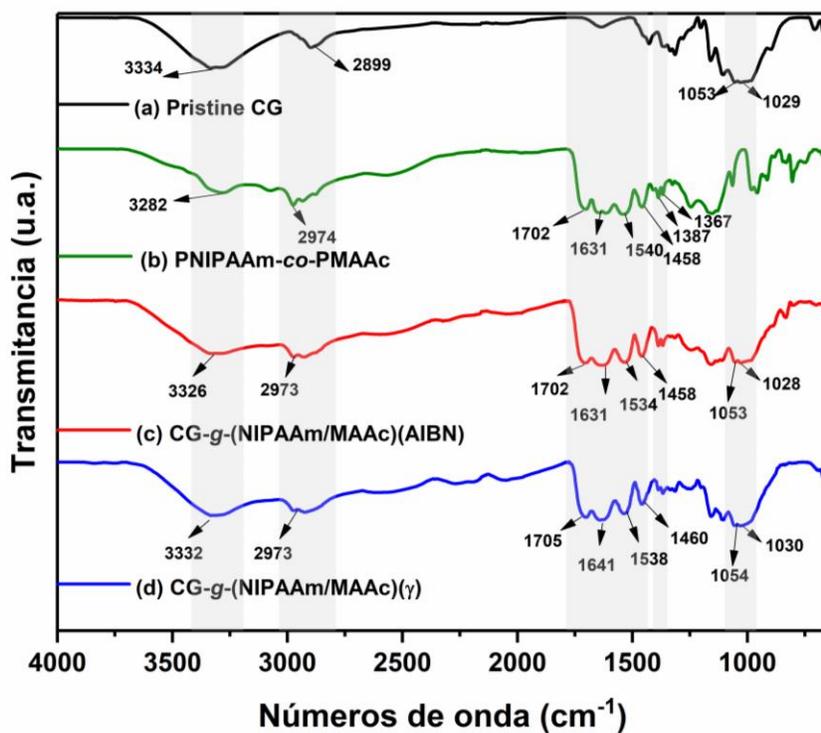


Figura 28. Espectros de Infrarrojo para (a) gasa testigo, (b) PMAAc-co-PNIPAAm, (c) CG-g-(NIPAAm/MAAc) (AIBN), y (d) CG-g-(MAAc/NIPAAm) (γ).

Se toman como referencias a la gasa de algodón sin injerto y el copolímero entre MAAC y de NIPAAm. En la Figura 28(a) se observa el espectro de infrarrojo para la gasa de algodón sin modificar o gasa testigo, cuyo componente principal es la celulosa. Se observan varias bandas como las que aparecen en 3334 cm^{-1} asociadas al estiramiento del enlace -OH de cada unidad de glucosa y en 2899 cm^{-1} se aprecian una serie de bandas asociadas a la vibración de estiramiento del enlace -CH del anillo de glucopiranososa. Por otro lado, en 1053 cm^{-1} aparece una banda relacionada con el estiramiento del enlace C-O dentro del anillo. Además, en 1029 cm^{-1} se aprecia una banda asociada al estiramiento del puente $\text{C}_1\text{-O-C}_4$ que une las unidades monoméricas de glucosa (Gürdag & Sarmad, 2013). En cuanto al copolímero PNIPAAm-co-PMAAc (Figura 28b) se observan varias bandas características relacionadas con ambos polímeros. En el caso del PNIPAAm, se observan dos bandas en 1631 y 1540 cm^{-1} asociadas a las vibraciones de estiramiento del enlace C=O de la amida I y al plegamiento del enlace -NH de la amida II. Además, se observan bandas en 2974 , 1387 y 1367 cm^{-1} , las cuales son características del grupo isopropilo ($\text{-CH(CH}_3)_2$) del PNIPAAm, debidas al estiramiento -CH y estiramientos simétrico y asimétrico del grupo isopropilo, respectivamente (Işıklan & Küçükbalcı, 2016). Para el PMAAc se observan bandas en 3282 cm^{-1} referida a la vibración de estiramiento del enlace -OH , en 1702 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del enlace C=O y en 1458 cm^{-1} referida al plegamiento del grupo metilo -CH_3 (Romero-Fierro et al., 2022).

En el caso de las gasas injertadas con los monómeros por medio de los métodos físico y químico, los espectros vibracionales (Fig. 28c y Fig. 28d) permiten comprobar que se conservan las bandas características de la celulosa y se agregan las correspondientes al injerto. Por otra parte, una elucidación minuciosa de las estructuras generadas por ambos métodos sería posible con un análisis detallado de la zona de huella dactilar (*fingerprint*), la cual se trata de una zona de difícil interpretación. Finalmente, en la Tabla 4 se detallan las bandas referidas a movimientos vibracionales de los enlaces que se encuentran en las estructuras.

Tabla 4. Bandas correspondientes a vibraciones de los enlaces presentes en las estructuras.

Material	Tipo de movimiento vibracional		Número de onda (cm ⁻¹)
Gasa testigo	Estiramiento –OH		3334
	Estiramiento –CH		2899
	Estiramiento C-O		1053
	Estiramiento asimétrico del puente C ₁ -O-C ₄		1029
PNIPAAm-co-PMAAc	PNIPAAm	Estiramiento C=O (Amida I)	1631
		Plegamiento –NH (Amida II)	1540
		Estiramiento –CH ((–CH(CH ₃) ₂))	2974
		Estiramiento asimétrico (–CH(CH ₃) ₂)	1387
	PMAAc	Estiramiento simétrico (–CH(CH ₃) ₂)	1367
		Estiramiento –OH	3282
		Estiramiento C=O	1702
		Plegamiento –CH ₃	1458
CG-g-(NIPAAm/MAAc) (AIBN)	Gasa	Estiramiento C-O	1053
		Estiramiento del puente C ₁ -O-C ₄	1029
	NIPAAm	Estiramiento C=O (Amida I)	1631
		Plegamiento –NH (Amida II)	1534
		Estiramiento –CH ((–CH(CH ₃) ₂))	2973
		Estiramiento asimétrico (–CH(CH ₃) ₂)	1387
		Estiramiento simétrico (–CH(CH ₃) ₂)	1368
	MAAc	Estiramiento –OH	3326
		Estiramiento C=O	1702
		Plegamiento –CH ₃	1458
CG-g-(NIPAAm/MAAc)	Gasa	Estiramiento C-O	1054
		Estiramiento del puente C ₁ -O-C ₄	1030

(Gamma)	NIPAAm	Estiramiento C=O (Amida I)	1641
		Plegamiento –NH (Amida II)	1538
		Estiramiento –CH ((–CH(CH ₃) ₂))	2973
		Estiramiento asimétrico (– CH(CH ₃) ₂)	1387
		Estiramiento simétrico (–CH(CH ₃) ₂)	1367
	MAAc	Estiramiento –OH	3332
		Estiramiento C=O	1705
		Plegamiento –CH ₃	1460

6.5. TGA

El análisis termogravimétrico de las muestras permite determinar la estabilidad térmica de los materiales injertados, así como comprueba que el injerto se ha dado de manera satisfactoria por medio de la comparación de los distintos perfiles. La Figura 29 muestra los perfiles de la pérdida en peso en función de la temperatura de la gasa de algodón testigo, el copolímero PNIPAAm-co-PMAAc y de las gasas injertadas con los monómeros por los métodos físico y químico. Además, la Figura 30 representa el termograma diferencial (DTA) el cual muestra las primeras derivadas del porcentaje en peso en función de la temperatura, que determinan las tasas de cambio de la pérdida en peso que presentan los perfiles de TGA de la Figura 29. Los picos de la Figura 30, determinan con exactitud las temperaturas de descomposición de los distintos materiales evaluados.

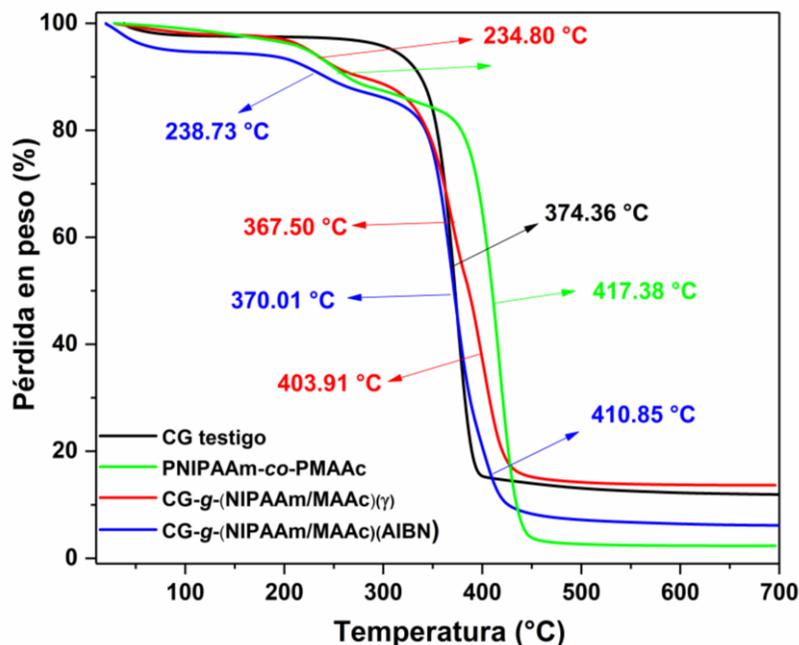


Figura 29. Termogramas obtenidos por TGA para gasa testigo, copolímero PNIPAAm-co-PMAAc, CG-g-(NIPAAm/MAAc) (γ) y CG-g-(NIPAAm/MAAc) (AIBN).

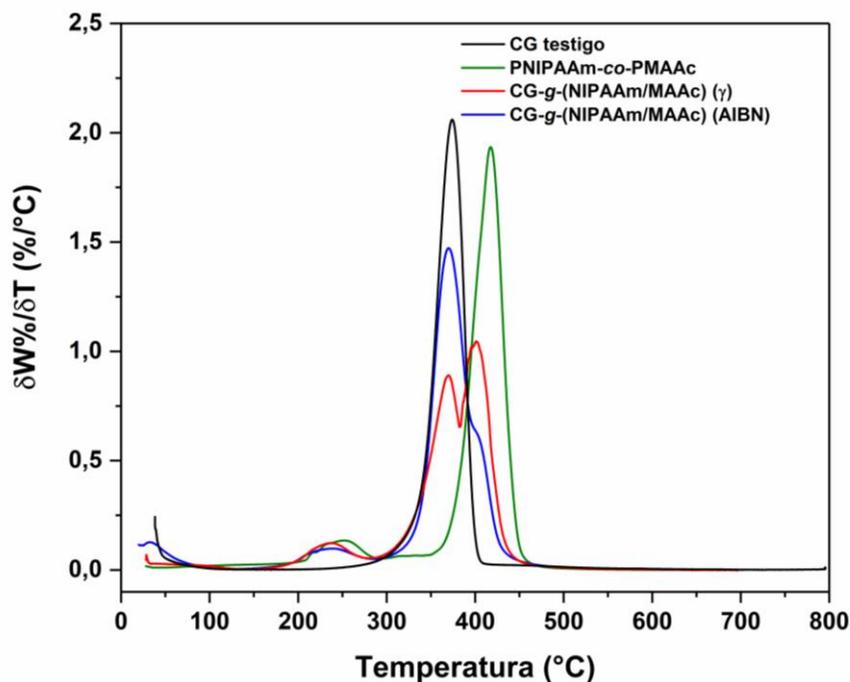


Figura 30. Termograma diferencial (DTA) para gasa testigo, copolímero PNIPAAm-co-PMAAc, CG-g-(NIPAAm/MAAc) (γ) y CG-g-(NIPAAm/MAAc) (AIBN).

La gasa de algodón, cuyo componente principal es celulosa, muestra una alta estabilidad térmica reflejada en una pérdida en peso del 10% a 337 °C y una sola etapa de descomposición a una temperatura de 374 °C. Este último valor está

relacionado con el rompimiento del anillo de glucopiranososa y la liberación de varios productos de degradación, procesos degradativos característicos de los polisacáridos, que se ve reflejado en una abrupta pérdida en peso (Shen & Gu, 2009).

El copolímero PNIPAAm-co-PMAAc tiene una pérdida en peso del 10% a 263 °C, es decir, tiene una estabilidad térmica menor que la de la gasa de algodón. Su perfil termogravimétrico muestra una descomposición térmica bietapa que ocurre a 251 y 417 °C. La primera etapa concierne a la conversión del poli(ácido metacrílico) en poli(anhídrido metacrílico), debido a la eliminación de CO₂ (Cervantes-Uc et al., 2006; Schild, 1993). Mientras que la segunda etapa está relacionada con la descomposición del grupo pendiente de isopropilacrilamida del PNIPAAm (Sousa et al., 1998).

Por otro lado, las gasas injertadas muestran perfiles de descomposición trietapa que incluye las correspondientes a la degradación de PMAAc, la descomposición de la celulosa y la descomposición del PNIPAAm descritas en los párrafos anteriores. Además, al comparar las temperaturas de pérdida en peso al 10% se puede notar que en ambos métodos el injerto reduce la estabilidad térmica de la celulosa de algodón, siendo más evidente la reducción en la gasa injertada con AIBN. Esto indicaría que la dosis ideal para el método físico (25 kGy) es adecuada, ya que no genera una degradación elevada en el material de algodón. En el caso del injerto con AIBN puede que el material no haya sido secado completamente y mantuvo humedad, por lo cual su temperatura de pérdida en peso al 10% es elevada. La Tabla 5 resume las temperaturas a las que ocurre el 10% en la pérdida en peso, las temperaturas de las etapas de descomposición y el porcentaje de residuo a 700 °C. Finalmente, los resultados proveídos por esta técnica permitieron complementar la información proporcionada por el FTIR-ATR, al verificar el injerto de MAAC y NIPAAm en un solo paso.

Tabla 5. Resultados del análisis térmico por TGA para gasa testigo, copolímero y gasas injertadas por método físico y por método químico.

Material	Pérdida en peso al 10% (°C)	Temperaturas de descomposición (°C)			Residuo a 700 °C (%)
Gasa testigo	337.55	374.36			11.74
PNIPAAm-co-PMAAc	263.51	251.18	417.38		2.13
CG-g-(NIPAAm/MAAc) (Y)	277.16	234.80	367.50	403.91	13.66
CG-g-(NIPAAm/MAAc) (AIBN)	241.50	238.73	370.01	386.63	6.43

6.6. SEM

Las micrografías SEM de la gasa testigo y las gasas injertadas con los monómeros NIPAAm y MAAC, con aumentos de 25x y 50x se muestran en la Figura 31. Ambos aumentos permiten ver el cambio morfológico que han presentado las gasas injertadas con relación a la gasa testigo. En la gasa testigo se observa una superficie lisa a lo largo de todo el material. Mientras que la gasa injertada mediante método químico muestra la aparición de cadenas que se han injertado sobre la superficie del material sin notar un cambio en el grosor del hilo de la gasa. Esto indica que el método químico genera un injerto netamente superficial. Por otro lado, la radiación tiene una capacidad de penetración mucho más grande y puede generar sitios activos aleatorios sobre el material, es decir, tanto en la superficie como en masa. En este caso, la micrografía de la gasa injertada por medio del método físico demuestra un engrosamiento del hilo de la gasa, demostrando que el injerto se ha producido en masa, es decir, dentro del hilo y no en su superficie.

Los resultados observados por SEM pueden complementar la información obtenida con otros métodos. Por ejemplo, al relacionar esta información con los resultados obtenidos por TGA (Tabla 4) se podría analizar la estabilidad térmica de los nuevos materiales en función del tipo de injerto que se ha generado. La gasa

inertada por método físico muestra una temperatura de 10 % de pérdida en peso más alta que la de la gasa inertada por método químico. Esto es debido a que las cadenas inertadas en superficie (método químico) están más disponibles y, por tanto, al exponerlas a una temperatura, se degradarán de manera más rápida. Mientras que en el injerto en masa (método físico), el injerto se encuentra recubierto por la matriz de celulosa, necesitando mayor energía térmica para degradarlo.

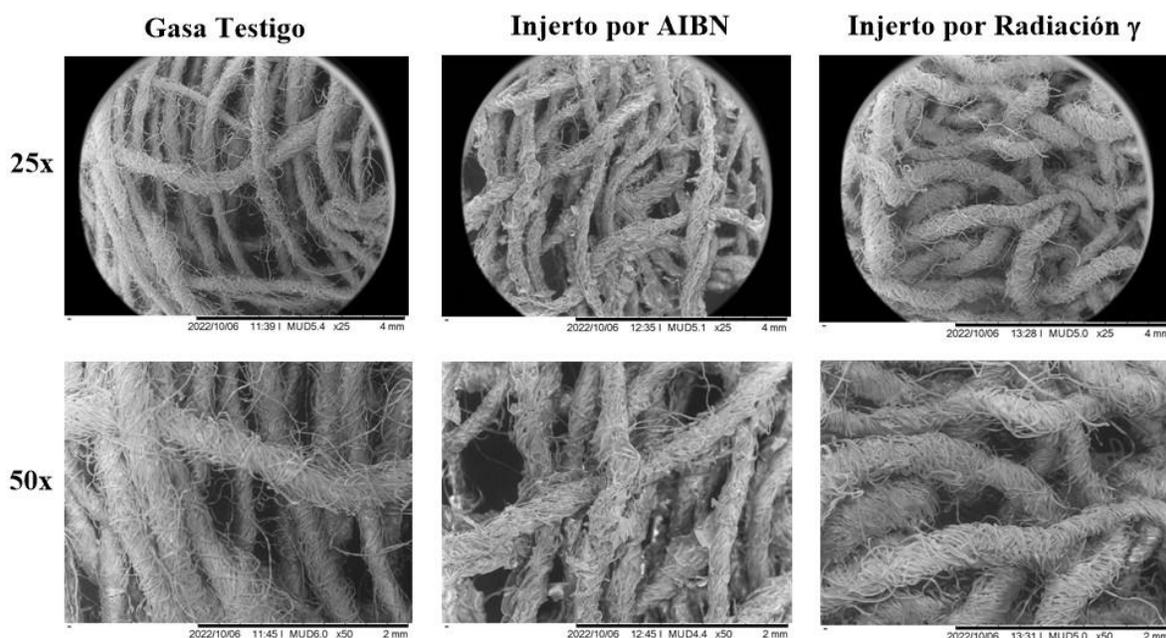


Figura 31. Micrografías de SEM para la gasa testigo, CG-g-(NIPAAm/MAAc) (AIBN), CG-g-(NIPAAm/MAAc) (γ).

6.7. Determinación del pH crítico por titulaciones potenciométricas

Una de las propiedades que presentan los polímeros estímulo sensibles es su respuesta a variables de su entorno. Esta respuesta se verá reflejada en un cambio conformacional de su macroestructura al pasar de un estado comprimido a uno expandido o viceversa, dependiendo del tipo de estímulo. En el caso de los poliácidos, como es el caso del poli(ácido metacrílico), la respuesta se induce a un pH ácido en el que el polímero liberará el protón de su grupo pendiente y se producirá una repulsión de cargas de los grupos pendientes desprotonados, observándose una expansión de sus cadenas (Swift et al., 2016).

Para determinar la respuesta al pH de las gasas inertadas con los monómeros MAAc y NIPAAm, se realizaron titulaciones potenciométricas usando hidróxido de

potasio como titulante y de esta manera encontrar el punto en el cual sucede el cambio conformacional. Como muestra la Figura 32, este comportamiento se produce al acercarse al valor teórico del pK_a del PMAAc (aproximadamente 4.7) tanto para la CG-g-MAAc como para las CG-g-(NIPAAm/MAAc) obtenidas por los métodos físico y químico. Durante la primera parte de las titulaciones de estos tres sistemas existe una repulsión electrostática ejercida sobre los segmentos de la cadena de la molécula la cual es contrarrestada por fuerzas de contracción provenientes por un lado de la entalpía libre conformacional de la cola del polímero y por otro lado de las fuerzas de atracción intramoleculares. Por lo tanto, las dimensiones de las moléculas van a cambiar lentamente y la densidad de carga en las regiones poliméricas aumenta abruptamente. Cuando las fuerzas de repulsión sobrepasan las de atracción, las cuales dejan de influir en las dimensiones de la cola del polímero. Como resultado, se producirá una notable expansión de la cadena polimérica durante la segunda parte de la titulación. Como en esta región, un aumento de la carga negativa es seguido de una expansión de la cola del polímero, no se observará un cambio apreciable en la densidad de carga y en el potencial electrostático, sino que este cambio será continuo (Katchalsky & Eisenberg, 1951; Leyte et al., 1964).

Al comparar la gasa injertada con MAAc con las gasas injertadas los monómeros MAAc y NIPAAm, se aprecia que las gasas con el injerto binario tienden a ocupar mayor cantidad de titulante para alcanzar el punto de equivalencia. Esto se explica precisamente con lo antes mencionado, ya que existen otros grupos funcionales que también van a contrarrestar la repulsión de las cargas electrostáticas negativas generadas por la desprotonación de la parte correspondiente al componente ácido del injerto. Por otro lado, tomando la gasa injertada solo con NIPAAm como referencia, se puede notar un solo punto de equivalencia producto de la titulación ácido-base entre el ácido clorhídrico $[HCl] = 1M$, que se agregó para acidificar el medio, y el titulante $[KOH] = 0.12 M$. Esto se debe a que el NIPAAm no presenta protones ácidos disponibles para su liberación, por lo tanto, no contribuye a la respuesta al pH en el injerto. Además, se puede notar un tercer punto de equivalencia a valores de pH básicos (valores cercanos a 9.5) en las gasas injertadas con los grupos ácidos. De acuerdo con literatura, la

presencia este punto se atribuye a la titulación de los protones libres que se encuentran en el medio, aunque también podría tratarse de los protones que se encontraban menos disponibles para ser titulados. Los valores de los puntos de equivalencia se encuentran en la Tabla 6, los cuales fueron determinados por medio del cálculo de la primera derivada con el software OriginPro 2017 (Anexo 5).

El valor del pH crítico obtenido por este método, que es de aproximadamente 4.7, es idóneo para aplicaciones biomédicas ya que, a partir de este pH hacia valores de pH más básicos, el material presentará una respuesta a tal estímulo, produciéndose la desprotonación de los grupos carboxílicos y, por consiguiente, el hinchamiento característico de los polímeros estímulo-sensibles. De tal manera, al cargar un fármaco en la estructura del copolímero, este será liberado en función del hinchamiento de las cadenas poliméricas.

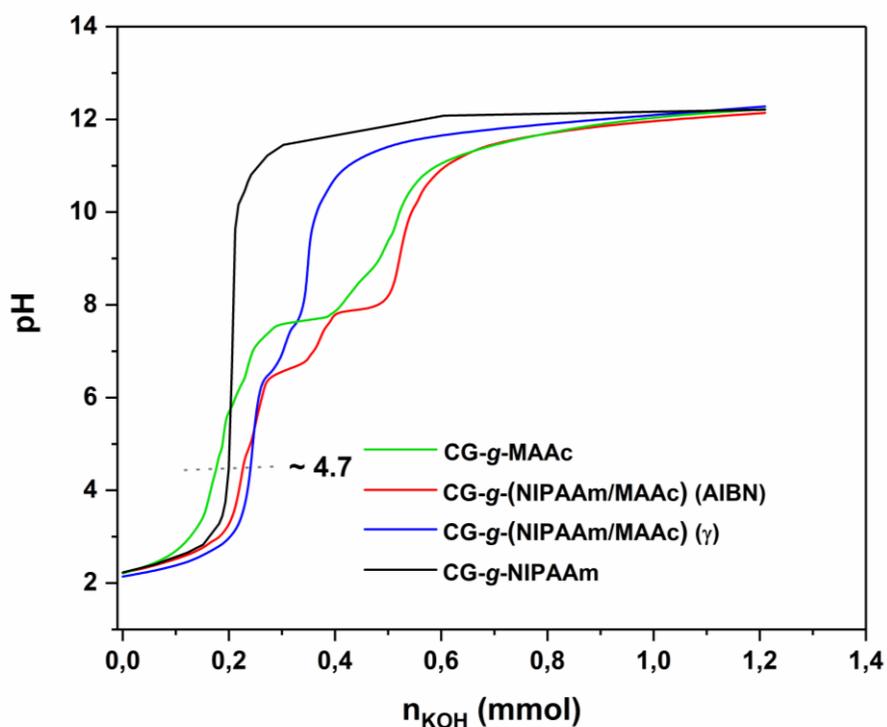


Figura 32. Curvas de titulación de las gasas modificadas con los distintos polímeros: CG-g-NIPAAm, CG-g-MAAc, CG-g-(NIPAA/MAAc) (γ) y CG-g-(NIPAAm/MAAc) (AIBN).

Tabla 6. Puntos de equivalencia de los materiales injertados determinados por primera derivada.

Material	Puntos de equivalencia		
CG-g-NIPAAm	6.95		
CG-g-(NIPAAm/MAAc) (AIBN)	4.73	7.10	9.37
CG-g-(NIPAAm/MAAc) (γ)	4.63	7.01	9.27
CG-g-MAAc	4.87	6.91	9.64

6.8. Retención de agua y LCST

Una de las formas para determinar qué tanto se han modificado las propiedades de la gasa de algodón es evaluar la capacidad de retención de agua de las gasas injertadas. Las gasas de algodón son materiales altamente hidrofílicos, debido a la gran cantidad de átomos de O y de H con la que cuenta su estructura. Estos átomos son capaces de interactuar con las partículas de agua por interacciones por puentes de hidrógeno y retenerlas. Además, la celulosa está compuesta por regiones cristalinas y amorfas, siendo mucho más predominante esta última y la que es responsable de la mayor absorción de agua (Djafari Petroudy, 2017). Es así que una gasa de algodón es capaz de absorber hasta 27 veces su peso en agua (Hosseini Ravandi & Valizadeh, 2011). Como se muestra en la Figura 33, esta propiedad se ve afectada por el injerto de los monómeros MAAc y NIPAAm, el cual a pesar de presentar una alta hidrofiliidad se injerta preferentemente en las zonas amorfas de la matriz de celulosa. El material sigue absorbiendo grandes cantidades de agua, pero la gasa de algodón es mucho más afín al agua que al injerto.

Por otra parte, al comparar los métodos usados para obtener estos materiales, se observa que la gasa injertada usando AIBN como iniciador retiene menor cantidad de agua que aquella injertada por medio de radiación. Esto se puede explicar debido al tipo de injerto que cada método produce, esto es injerto en masa e injerto en superficie. Como demostraron las micrografías de SEM, el injerto por AIBN genera un injerto en superficie, por lo que las partículas de agua quedan

adsorbidas en la superficie de injerto, el cual ha afectado las propiedades de la gasa e impide que estas lleguen a la matriz. Además, siguiendo la metodología expuesta en la sección 3.7.5, al remover el excedente de agua del material para su peso estas partículas de agua pudieron haberse retirado. En cambio, para la gasa injertada usando radiación gamma, el injerto se produjo en el interior del hilo. Por esta razón existe una combinación de la acción de la matriz y del injerto que retienen las partículas de agua, las cuales son más difíciles de remover pues se encuentran dentro del hilo, absorbidas en la matriz de celulosa.

En ambos casos, a pesar de que la gasa ha perdido una fracción de su capacidad de retención de agua, las gasas modificadas aún retienen grandes cantidades de agua. Es decir, el material no ha perdido su hidrofiliidad. Además, mediante estos experimentos se pudo comprobar que su retención máxima ocurre a partir de las 6 h, que es cuando la línea de tendencia ya no varía.

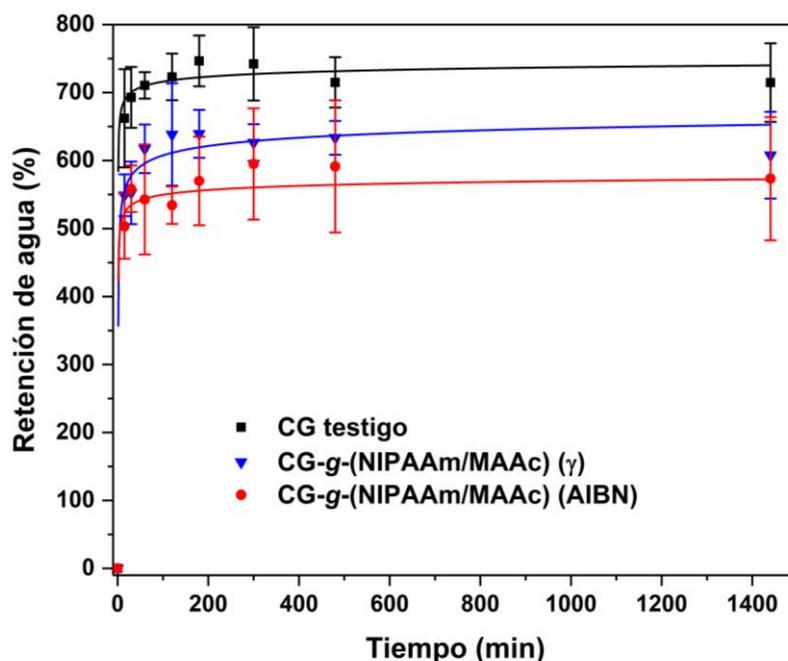


Figura 33. Perfiles de hinchamiento límite para la gasa testigo y las gasas injertadas por los métodos físico y químico.

Una de las propiedades de interés del poli(*N*-isopropilacrilamida) es su capacidad de producir un cambio conformacional en su estructura en respuesta a la temperatura. A una determinada temperatura, el PNIPAAm sufre una transición de fase en volumen única al pasar de un estado hidratado con estructura

expandida a un estado deshidratado con estructura comprimida. Esta termorrespuesta del polímero en soluciones acuosas se debe a la presencia de grupos hidrofílicos (grupos amida CONH-) e hidrofóbicos (grupos isopropilo (-CH(CH₃)₂) laterales) dentro de la estructura del polímero neutral. La temperatura a la cual ocurre este comportamiento se conoce como LCST produciéndose un estiramiento y compresión de los grupos hidrofílicos que ocasiona una repulsión de las moléculas de agua retenidas en dichos grupos por interacciones de puente de hidrógeno. De esta manera, las interacciones hidrofóbicas toman mayor relevancia generando la estructura globular comprimida por deshidratación de los grupos hidrofílicos. Generalmente, la LCST se publica con un valor en el intervalo de 28 a 33 °C. (Ansari et al., 2022; Lanzalaco & Armelin, 2017).

Tomando en cuenta estas consideraciones se realizaron experimentos de retención de agua en función de la temperatura para las gasas injertadas con los monómeros NIPAAm y MAAC por los métodos físico y químico. Las mediciones del peso se realizan en intervalos de, al menos 6 h, que fue el valor máximo de retención de agua. La Figura 34 muestra los perfiles que se obtuvieron al realizar tales experimentos. La gasa testigo muestra la retención límite sin sufrir cambio alguno en cada cambio de temperatura. Por otro lado, las gasas injertadas con los monómeros MAAC y NIPAAm muestran una pérdida en la capacidad de retención de moléculas de agua en función de la temperatura, observándose un cambio abrupto alrededor del intervalo teórico reportado de la LCST del PNIPAAm. En este punto las interacciones hidrofóbicas van a predominar por sobre las interacciones hidrofílicas, reflejándose el cambio conformacional característico de los polímeros termosensibles que se ha explicado anteriormente. Los valores obtenidos en estos experimentos demuestran, en primer lugar, que el componente termosensible se encuentra presente en el injerto en la gasa de algodón. En segundo lugar, la presencia de los grupos correspondientes al componente sensible al pH no produce un desplazamiento significativo en el valor de la LCST reportada.

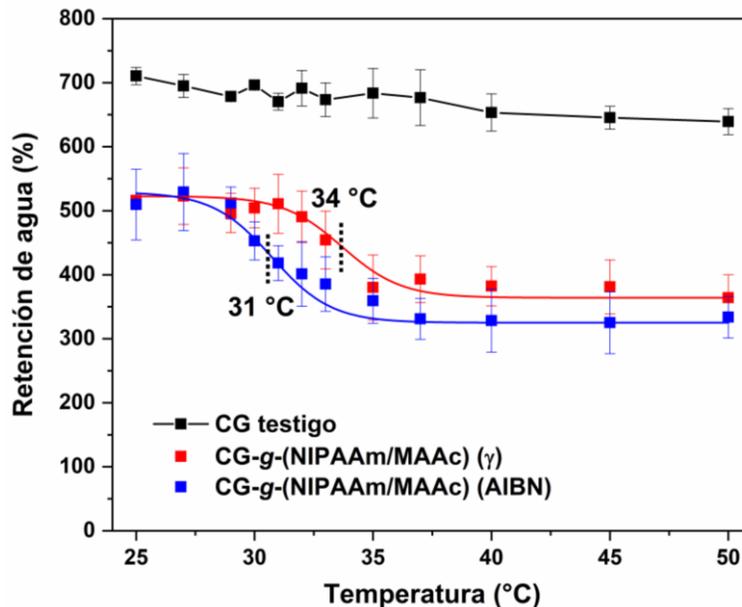


Figura 34. Perfiles de retención de agua en función de la temperatura para la determinación de la LCST de las gasas injertadas con los monómeros MAAc y NIPAAm por los métodos físico y químico.

6.9. Carga y Liberación de fármacos

Los monómeros injertados en la gasa de algodón (MAAc y NIPAAm) confieren nuevas propiedades al material, una de ellas es la capacidad de soportar fármacos en el esqueleto polimérico. En el caso concreto de este injerto binario que consta de dos unidades repetitivas diferentes, posee grupos ácidos del tipo carboxílico (-COOH) y grupos amida (CONH) capaces de interactuar con fármacos mediante interacciones débiles del tipo van der Waals o por puentes de hidrógeno.

Se probó la capacidad de carga de la gasa injertada con los monómeros MAAc y NIPAAm por ambos métodos, con una quinolona que ha demostrado eficacia antimicrobiana en el tratamiento de heridas por quemadura de la piel, como lo es norfloxacin. De igual manera, se evaluó el modelo de liberación de fármaco que cada material presenta, en función del método de copolimerización utilizado.

6.9.1. Carga de Norfloxacin

Norfloxacin es un fármaco antibiótico de la familia de las fluoroquinolonas que generalmente se utiliza para el tratamiento de infecciones urinarias, pero que

también ha encontrado aplicaciones en el tratamiento de heridas cutáneas por quemadura (Goldstein, 1987; Malipeddi et al., 2006; Mpharm et al., 2010). En su estructura química consta de heteroátomos como O y N, los cuales interactúan por puentes de hidrógeno con dicho átomo (Figura 35). Es precisamente esta estructura la que permite la carga del fármaco por medio de interacciones electrostáticas con heteroátomos presentes en la estructura de injerto de MAAc y NIPAAm.

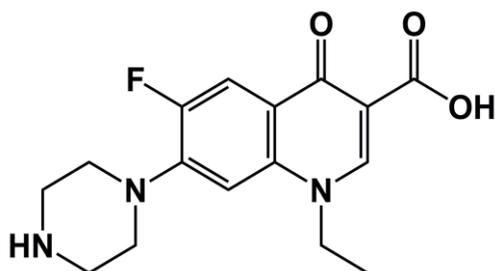


Figura 35. Estructura química del fármaco antimicrobiano norfloxacin.

Uno de los factores a tomar en cuenta para la carga de norfloxacin en la gasa de algodón injertada con los monómeros MAAc y NIPAAm es la temperatura a la cual se realiza este proceso. La Figura 36 muestra los resultados de la evaluación de la carga de norfloxacin a dos temperaturas, 5 y 25 °C. A partir de esta gráfica, es posible notar una mayor eficacia de carga del fármaco a 25 °C, lo cual puede atribuirse a una mejor difusión de las moléculas del fármaco en el sistema, permitiéndole alcanzar con mayor facilidad los grupos funcionales del injerto e interactuar efectivamente con estos. A una temperatura de 5 °C, las moléculas de fármaco se encuentran más restringidas en su movimiento cinético, dificultándose su difusión a lo largo del sistema. Por estas razones, se determina que la temperatura ideal de carga de norfloxacin en las gasas de algodón injertadas es de 25 °C, siendo un valor idóneo pues se trata de una temperatura ambiente.

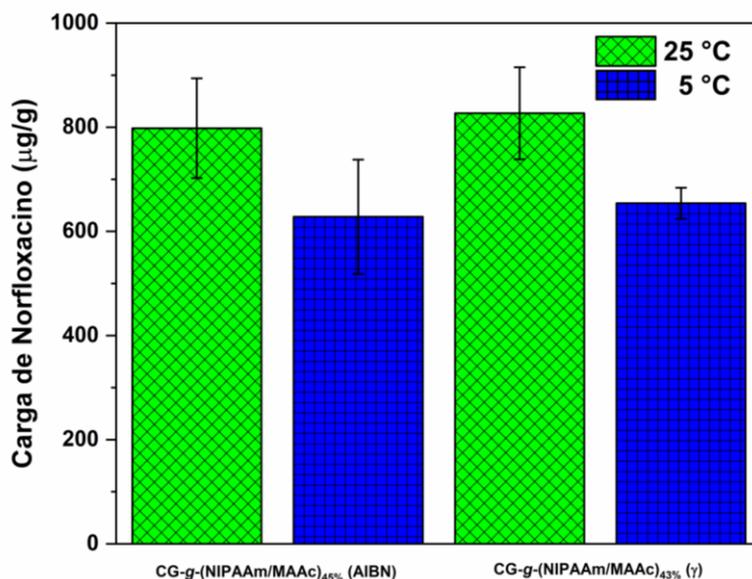


Figura 36. Efecto de la temperatura en la carga de norfloxacin en las gasas injertadas con los monómeros MAAc y NIPAAm por AIBN y radiación gamma.

La Figura 37 muestra el perfil de carga de norfloxacin en las gasas injertadas y en la gasa testigo. Como era de esperarse, la gasa testigo es capaz de cargar una muy pequeña cantidad de fármaco, debido a que pueden presentarse ligeras interacciones entre la matriz y el fármaco, los cuales no son significativos ni tampoco son fuertes. Sin embargo, para las gasas modificadas, se observa una tendencia de carga exponencial que empieza a ser constante a partir de las 24 h de exposición del material a la disolución de fármaco, alcanzando un máximo a las 48 h. Además, los materiales injertados con los monómeros NIPAAm y MAAc son capaces de retener hasta, aproximadamente, 800 µg por cada gramo de material, lo cual es un valor grande y se debe a la capacidad de difusión del norfloxacin que le permite recorrer varios sitios del material e interactuar con el copolímero de injerto. Otra observación importante, es que resulta indiferente el método de copolimerización utilizado para obtener los materiales, es decir, ya sea el injerto por AIBN o por radiación, el material cumple con la función de sostener norfloxacin en la estructura del copolímero de injerto. Utilizando la información del SEM, el uso de AIBN genera un injerto en superficie, por lo cual se puede inferir que las moléculas de norfloxacin quedarán retenidas en las cadenas injertadas en la superficie del material. Por otro lado, usando radiación gamma, se

presenta un injerto en masa y el fármaco quedará retenido dentro del hilo de la gasa de algodón.

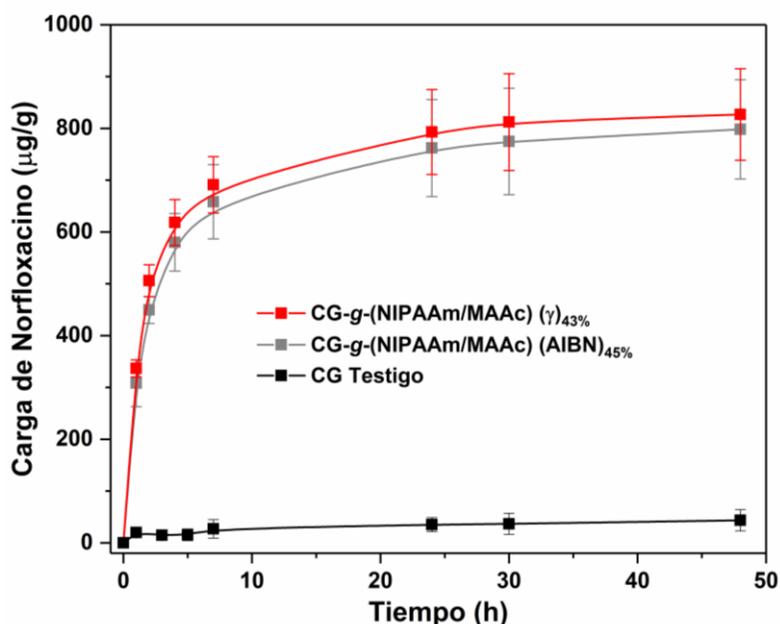


Figura 37. Perfiles de carga de norfloxacino de la gasa testigo y gasas injertadas con los monómeros MAAc y NIPAAm por AIBN y radiación gamma. Dis. acuosa: 10 µg/mL, 25 °C.

6.9.2. Liberación de Norfloxacino

La liberación de norfloxacino a partir de las gasas cargadas con este fármaco, se realizan durante 48 h a una temperatura de 37 °C y en una disolución amortiguadora de fosfato salino (PBS) con un pH de 7.4, tratando de emular las condiciones fisiológicas, además de contar con agitación constante a 130 rpm. La Tabla 7 muestra los valores de carga, liberación y el porcentaje liberado a partir de las gasas injertadas. Además, la Figura 38 muestra los perfiles de liberación del fármaco a partir de la gasa testigo y de las gasas los monómeros NIPAAm y MAAc por los métodos físico y químico, bajo las condiciones controladas previamente mencionadas. Los valores de liberación a cada intervalo de tiempo fueron obtenidos a partir de la curva de calibración que se muestra en el Anexo 2.

Tabla 7. Valores de carga, liberación y porcentaje liberado de norfloxacin para las gasas injertadas con los monómeros NIPAAm y MAAC.

Muestra	Carga ($\mu\text{g/mL}$)	Liberación ($\mu\text{g/mL}$)	Liberación (%)
Testigo	0.51 ± 0.18	0.46 ± 0.03	90.19 ± 7.11
CG-g-(NIPAAm/MAAc) (AIBN) _{45%}	7.81 ± 0.93	2.11 ± 0.05	27.02 ± 0.68
CG-g-(NIPAAm/MAAc) (γ) _{43%}	7.83 ± 0.84	1.98 ± 0.04	25.29 ± 0.53

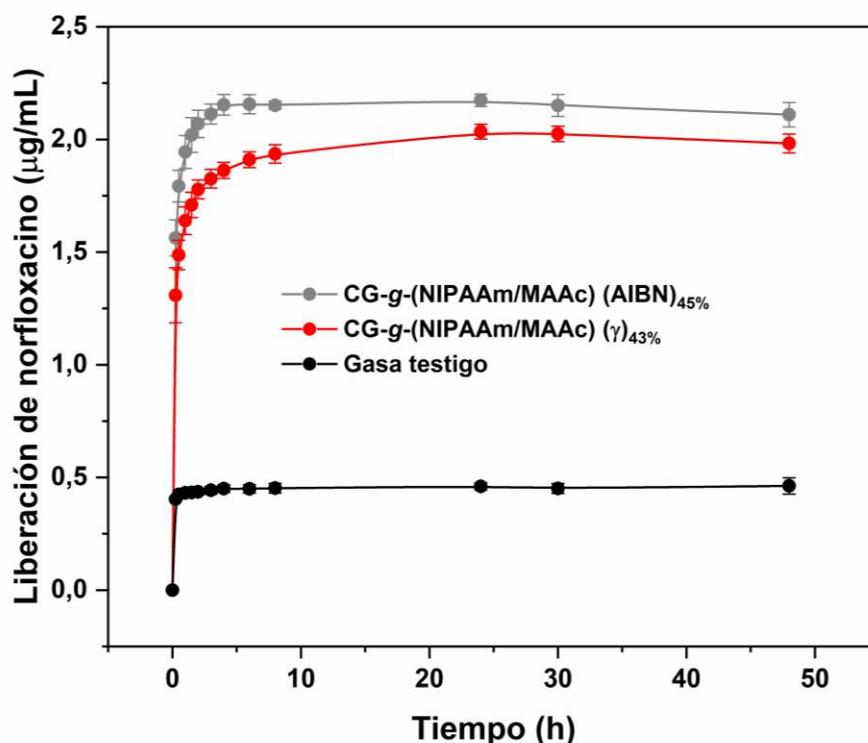


Figura 38. Perfiles de liberación de norfloxacin de la gasa testigo y de las gasas injertadas con los monómeros NIPAAm y MAAC por AIBN y radiación gamma. 37 °C, PBS con pH: 7.4, agitación constante a 130 rpm, 48 h.

A priori, a partir de la tendencia observada en la Figura 38 y de los datos de la Tabla 7, se puede hacer una comparación entre los métodos de obtención del copolímero de injerto. Por un lado, la gasa testigo, debido a su naturaleza hidrofílica, es capaz de cargar y liberar rápidamente y en casi su totalidad (90%) el poco fármaco que ha interactuado con su estructura. Ahora, las gasas injertadas

por medio del uso del iniciador químico AIBN liberan mayor cantidad de norfloxacin. Esto tiene sentido dado que al producirse un injerto en superficie y al estar el fármaco retenido en esta zona, se encuentra más disponible para ser liberado, tan solo deben romperse las interacciones fármaco-copolímero. Por otra parte, en el caso de las gasas injertadas por medio del uso de la radiación gamma, libera menor cantidad de norfloxacin. Esto se debe a que las moléculas de fármaco se encuentran dentro del hilo, en la matriz de celulosa, dificultándose su liberación al medio por la mayor cantidad de interacciones que tienen que ver con la matriz, el injerto y el fármaco.

Uno de los objetivos de los sistemas de liberación de fármacos es mantener la concentración del agente terapéutico en los tejidos de interés, a un valor deseado tanto como se pueda, ejerciendo un control en la tasa de liberación de fármaco, así como su duración. En muchos de los casos, se puede obtener una ecuación que describa la dependencia de la liberación en función del tiempo, que permita predecir el perfil cinético que han tenido tales sistemas de liberación e incluso evaluar los parámetros que la afecten (Bruschi, 2015). De acuerdo con la literatura, la liberación de un fármaco al medio a partir de un sistema basado en un polímero puede verse gobernada por varios factores como difusión, disolución, fraccionamiento, osmosis, hinchamiento o compresión de la matriz y erosión. Otro factor para considerar es la naturaleza hidrofílica o hidrofóbica de la matriz polimérica. Un sistema gobernado por la difusión del agente activo generalmente se presenta en materiales hidrofílicos que han incorporado fármacos de la misma naturaleza. Por otro lado, cuando un fármaco hidrofóbico se incorpora en una matriz, el modelo de liberación viene gobernado por hinchamiento y/o erosión de la matriz polimérica (Bruschi, 2015; C. Yin & Li, 2011). Tomando en cuenta estas consideraciones, para estos experimentos, se utilizó el complemento de Excel *DDSolver* para evaluar los distintos modelos matemáticos al cual se ajusta el perfil cinético de liberación de cada muestra (Zhang et al., 2010). Se determinó el mejor ajuste por medio de la comparación de los valores del coeficiente de correlación (R^2), el criterio de información de Akaike (AIC) y el criterio de selección de modelo (MSC). Estos parámetros determinarán el mejor ajuste de los datos experimentales a una función matemática. El valor de R^2 debe ser cercano a 1,

AIC debe ser el valor más negativo y el MSC debe tener un valor más positivo. Los resultados de estos análisis se encuentran en la Tabla 8.

Tabla 8. Comparación de los modelos de liberación de norfloxacinó a partir de las gasas injertadas con los monómeros NIPAAm y MAAC por los métodos físico (γ) y químico (AIBN).

CG-g-(NIPAAm/MAAc) (AIBN)_{45%}			
Modelo de liberación	R²	AIC	MSC
<i>Primer orden con F_{max} y T_{lag}</i>	0.115	54.630	-0.375
<i>Korsmeyer-Peppas</i>	0.960	-19.149	1.109
<i>Peppas-Sahlin</i>	0.571	13.725	-1.419
CG-g-(NIPAAm/MAAc) (γ)_{43%}			
Modelo de liberación	R²	AIC	MSC
<i>Primer orden con F_{max} and T_{lag}</i>	0.444	52.719	0.089
<i>Korsmeyer-Peppas</i>	0.975	-28.466	1.935
<i>Peppas-Sahlin</i>	0.680	7.411	-0.824

A partir de los resultados obtenidos por el tratamiento de datos con el software DDSolver y expuestos en la Tabla 8, se puede determinar que el modelo de que mejor se ajusta a los datos experimentales de liberación de norfloxacinó es el de Korsmeyer-Peppas. Este modelo muestra los valores de ajuste adecuados de acuerdo con el criterio planteado en el párrafo anterior. Este modelo fue desarrollado por Korsmeyer, en un principio, como una forma para relacionar exponencialmente la liberación del fármaco con el tiempo transcurrido, expresándolo en la siguiente ecuación (Ecuación 4):

$$f_i = \frac{M_t}{M_\infty} = \alpha t^n$$

Ec. 4

Donde f_i es la fracción de fármaco liberado a cada intervalo de tiempo, M_t la cantidad de fármaco liberado a tiempo t , M_∞ , la cantidad de fármaco máxima liberada en el equilibrio, α , generalmente conocida como velocidad de liberación, es una constante que incorpora características estructurales y geométricas de la forma farmacéutica y n es el exponente de liberación que indica el mecanismo de liberación del fármaco (Bruschi, 2015; Costa & Sousa Lobo, 2001).

Posteriormente, Peppas utilizó el valor del exponente n para caracterizar los diferentes mecanismos de liberación, encontrando que el modelo es válido para valores del exponente menores a 1. Los valores de n para los sistemas estudiados con sus respectivos errores se encuentran en la Tabla 9. De acuerdo con Korsmeyer y Peppas, el perfil de liberación del fármaco a partir de las gasas injertadas se atribuye a un mecanismo Fickiano. En este caso, la liberación del fármaco se da principalmente por difusión antes que por el mecanismo de relajación de las cadenas poliméricas que soportan el fármaco (Costa & Sousa Lobo, 2001). Una difusión Fickiana se caracteriza por una alta velocidad de la difusión del disolvente en el interior de la matriz. Esto tiene sentido debido a que las gasas de algodón son capaces de retener grandes cantidades de líquidos en su estructura, a pesar de que el injerto modificó ligeramente este comportamiento. El medio penetrará de manera significativa en la matriz polimérica y las moléculas de norfloxacino se verán difundidas en el disolvente del medio.

Por otro lado, para evaluar la velocidad con la que el fármaco se difunde en el medio, se examinan los valores de la constante α obtenidos. Se observa que la gasa de algodón injertada con los monómeros MAAC y NIPAAm por método químico, al ser en superficie, presenta una velocidad de liberación mayor que su similar injertada por método físico. Nuevamente, el tipo de injerto es determinante a la hora la liberación del fármaco, pues en el injerto en superficie las moléculas de fármaco, al estar más disponibles serán capaces de difundirse con mayor rapidez que las que se encuentran más impedidas.

Tabla 9. Valores de n para el ajuste al modelo de liberación de Korsmeyer-Peppas para las gasas injertadas con los monómeros NIPAAm y MAAC y cargadas con norfloxacino.

Muestra	α	n
Gasa testigo	No aplica	No aplica
CG-g-(NIPAAm/MAAc) (AIBN) 45%	1.899 ± 0.042	0.048 ± 0.001
CG-g-(NIPAAm/MAAc) (γ) 43%	1.609 ± 0.071	0.076 ± 0.010

6.10. Actividad antimicrobiana

Los ensayos de actividad antimicrobiana por turbidimetría son pruebas *in vitro* permiten observar la inhibición del crecimiento de patógenos en un medio de cultivo por acción de agentes antimicrobianos. En este caso se verificó la capacidad de inhibición de las gasas injertadas y cargadas con norfloxacino en un medio altamente contaminado y a distintos valores de pH. Estos materiales fueron probados contra los microorganismos patógenos *S. aureus* y *E. coli*, los cuales están predominantemente presentes en infecciones de herida por quemadura y en la formación de biopelículas sobre gasas de algodón (Lim et al., 2017; Xiang et al., 2021; S. Yin et al., 2017). Los ensayos se realizaron a distintos valores de pH para demostrar el amplio rango de aplicación del material debido al injerto del componente pH-sensible. Los resultados de estos ensayos de turbidez se muestran en la Figura 39. Como se puede notar, el tubo de ensayo etiquetado como (a), correspondiente a la gasa de algodón testigo, muestra crecimiento de ambos microorganismos en tales medios de cultivo. Esto indica que el material es un potencial candidato para desarrollar biopelículas bacterianas sobre su superficie. Los tubos etiquetados como (b) y (c), los cuales contienen CG-g-(NIPAAm/MAAc) (γ) y CG-g-(NIPAAm/MAAc) (AIBN), respectivamente, también exhiben crecimiento de los patógenos a diferentes valores de pH. Esto tiene sentido ya que ambos monómeros injertados son altamente hidrofílicos y biocompatibles, siendo capaces de hospedar microorganismos en sus estructuras. Esto también nos demuestra que la sola inclusión del injerto no es suficiente para asegurar una barrera contra patógenos. Sin embargo, en el caso de los tubos

marcados como (d) y (e), los cuales contienen CG-g-(NIPAAm/MAAc) (γ) y CG-g-(NIPAAm/MAAc) (AIBN), ambos cargados con norfloxacino son capaces de inhibir el crecimiento y erradicar la presencia de *E. coli* y *S. aureus* presentes en el medio, lo cual indica que las cantidades de norfloxacino liberados al medio (2.11 $\mu\text{g/mL}$ para CG-g-(NIPAAm/MAAc) (AIBN) y 1.98 $\mu\text{g/mL}$ para CG-g-(NIPAAm/MAAc) (γ)) son suficientes para evitar la formación de biopelículas en gasas de algodón injertadas. Comparando los resultados a los distintos valores de pH, todos ellos muestran la inhibición exitosa de *E. coli* y de *S. aureus*. A partir de estos resultados, es posible determinar que las gasas injertadas y cargadas son un intermediario adecuado para la liberación de la cantidad necesaria de fármaco antimicrobiano para prevenir de forma exitosa el crecimiento de ambos patógenos en un medio altamente contaminado.

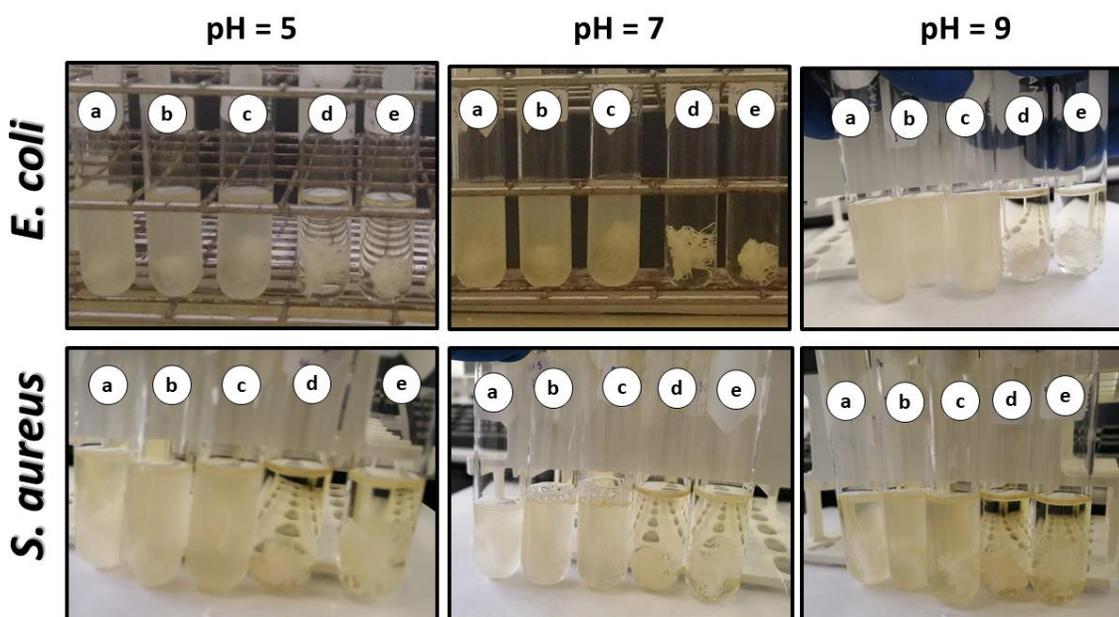


Figura 39. Resultados para las pruebas de turbidez realizadas en un caldo Hilton-Müller que contenían cepas bacterianas de *E.coli* y *S.aureus* a distintos valores de pH (5,7 y 9) para las muestras a) gasa testigo; b) CG-g-(NIPAAm/MAAc) (γ); c) CG-g-(NIPAAm/MAAc) (AIBN); d) CG-g-(NIPAAm/MAAc) (γ) cargado con norfloxacino y e) CG-g-(NIPAAm/MAAc) (AIBN) cargado con norfloxacino

7. CONCLUSIONES

- El injerto binario de ácido metacrílico y de *N*-isopropilacrilamida en gasas de algodón es posible mediante el uso de AIBN y de la radiación gamma como iniciadores de polimerización, creando el copolímero de injerto CG-*g*- (NIPAAm/MAAc). Los experimentos de síntesis son reproducibles, obteniendo injertos de aproximadamente 40% en peso. El proceso de injerto se da por medio de un mecanismo de polimerización por radicales libres, siendo el AIBN y la radiación gamma los responsables de generar los sitios activos por los cuales se injertan los monómeros MAAc y NIPAAm.

- Por medio de las distintas técnicas de caracterización se pudo comprobar que se injertaron ambos monómeros en la matriz polimérica, siendo estos tanto en superficie como en masa. Además, se pudo determinar el comportamiento térmico de los materiales injertados por ambos métodos, observándose una disminución de la estabilidad térmica en comparación con la gasa testigo, la cual no es relevante para su almacenamiento o aplicación biomédica.

- Las titulaciones potenciométricas ácido-base permitieron determinar la respuesta a pH de los materiales injertados, obteniendo un pH crítico de aproximadamente 4.7. Por otro lado, por medio de pruebas de retención de agua en función de la temperatura, se pudo demostrar que las gasas de algodón injertadas muestran una respuesta a la temperatura, plasmada en una LCST cercana al valor teórico del PNIPAAm (32 °C)

- Si bien ambos métodos son eficaces para injertar MAAc y NIPAAm en gasas de algodón, cada uno brindará propiedades y características distintas, así como ventajas y limitaciones de acuerdo a las aplicaciones a las cuales se las planea destinar.

- Las gasas injertadas son capaces de cargar hasta 800 µg/g de material en su estructura tras 48 horas de exposición a una disolución acuosa de este fármaco. Los experimentos de liberación permitieron verificar el tipo de injerto dado con cada método de copolimerización. Es así como, las gasas injertadas con los monómeros MAAc y NIPAAm por método químico liberan mayor cantidad de fármaco que las que fueron injertadas mediante el uso de radiación gamma,

debido a que, en el primer caso las moléculas se encuentran más disponibles en la superficie que en el segundo caso que el injerto fue en masa. El norfloxacino es liberado al medio a través de un mecanismo regido mayoritariamente por difusión, ajustándose a un modelo cinético de Korsmeyer-Peppas.

- Por medio de pruebas *in vitro* de turbidez antimicrobiana se pudo comprobar que las gasas de algodón injertadas con los monómeros y cargadas con el fármaco antimicrobiano norfloxacino son capaces de inhibir el crecimiento de patógenos como *E. coli* y *S. aureus* en un medio de cultivo. Esto demuestra que la combinación de injerto y de antibiótico son una combinación ideal para evitar la formación de biopelículas microbianas en las gasas de algodón.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akhtar, K., Khan, S. A., Khan, S. B., & Asiri, A. M. (2018). Scanning Electron Microscopy: Principle and Applications in Nanomaterials Characterization. In S. Sharma (Ed.), *Handbook of Materials Characterization* (pp. 113–145). Springer International Publishing.
- Androvič, L., Bartáček, J., & Sedlák, M. (2016). Recent advances in the synthesis and applications of azo initiators. *Research on Chemical Intermediates*, 42(6), 5133–5145.
- Ansari, M. J., Rajendran, R. R., Mohanto, S., Agarwal, U., Panda, K., Dhotre, K., Manne, R., Deepak, A., Zafar, A., Yasir, M., & Pramanik, S. (2022). Poly(N-isopropylacrylamide)-Based Hydrogels for Biomedical Applications: A Review of the State-of-the-Art. *Gels*, 8(7), 454.
- Arslan, M., & Tasdelen, M. A. (2019). Click Chemistry in Macromolecular Design: Complex Architectures from Functional Polymers. *Chemistry Africa*, 2(2), 195–214.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79.
- Bezerra, R. D. S., Teixeira, P. R. S., Teixeira, A. S. N. M., Eiras, C., Osajima, J. A., & Filho, E. C. S. (2015). Chemical Functionalization of Cellulosic Materials — Main Reactions and Applications in the Contaminants Removal of Aqueous Medium. In M. Poletto & H. Ornaghi (Eds.), *Cellulose - Fundamental Aspects and Current Trends*. InTech.
- Bottom, R. (2008). Thermogravimetric Analysis. In P. Gabbott (Ed.), *Principles and Applications of Thermal Analysis* (pp. 87–118). Blackwell Publishing Ltd.
- Bruschi, M. L. (2015). Mathematical models of drug release. In M. L. Bruschi (Ed.), *Strategies to Modify the Drug Release from Pharmaceutical Systems* (pp. 63–86). Elsevier.
- Camacho-Cruz, L. A., Velazco-Medel, M. A., Parra-Delgado, H., & Bucio, E. (2021). Functionalization of cotton gauzes with poly(N-vinylimidazole) and quaternized poly(N-vinylimidazole) with gamma radiation to produce medical devices with pH-buffering and antimicrobial properties. *Cellulose*, 28(5), 3279–3294.
- Cervantes-Uc, J. M., Cauich-Rodríguez, J. V., Vázquez-Torres, H., & Licea-Claverie, A. (2006). TGA/FTIR study on thermal degradation of polymethacrylates containing carboxylic groups. *Polymer Degradation and Stability*, 91(12), 3312–3321.
- Chatterjee, S., & Chi-leung Hui, P. (2019). Review of Stimuli-Responsive Polymers in Drug Delivery and Textile Application. *Molecules*, 24(14), 2547.
- Clayden, J., Greeves, N., & Warren, S. (2012). *Organic chemistry* (J. Clayden, N. Greeves, & S. Warren (eds.); Second Edi). Oxford University press.
- Costa, P., & Sousa Lobo, J. M. (2001). Modeling and comparison of dissolution profiles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13(2), 123–133.
- Crespy, D., & Rossi, R. M. (2007). Temperature-responsive polymers with LCST in the physiological range and their applications in textiles. *Polymer International*, 56(12), 1461–1468.
- Djafari Petroudy, S. R. (2017). Physical and mechanical properties of natural fibers. In M. Fan & F. Fu (Eds.), *Advanced High Strength Natural Fibre Composites in Construction* (pp. 59–83). Elsevier.
- Ershov, B. G. (1998). Radiation-chemical degradation of cellulose and other polysaccharides. *Russian Chemical Reviews*, 67(4), 315–334.
- García-Fernández, L., Mora-Boza, A., & Reyes-Ortega, F. (2019). pH-Responsive Polymers: Properties, Synthesis, and Applications. In M. R. Aguilar & J. S. Román (Eds.), *Smart Polymers and their Applications* (pp. 45–86).
- Ghobashy, M. M. (2018). Ionizing Radiation-Induced Polymerization. In B. Djezzar (Ed.),

- Ionizing Radiation Effects and Applications*. InTech.
- Goldstein, E. J. C. (1987). Norfloxacin, a fluoroquinolone antibacterial agent. *The American Journal of Medicine*, 82(6), 3–17.
- Gürdag, G., & Sarmad, S. (2013). Cellulose Graft Copolymers: Synthesis , Properties , and Applications. In S Kalia & M. Sabaa (Eds.), *Polysaccharide Based Graft Copolymers* (pp. 15–57).
- Hasanin, M. S. (2022). Cellulose-Based Biomaterials: Chemistry and Biomedical Applications. *Starch - Stärke*, 74(7–8), 2200060.
- Hiriart-Ramírez, E., Contreras-García, A., Garcia-Fernandez, M. J., Concheiro, A., Álvarez-Lorenzo, C., & Bucio, E. (2012). Radiation grafting of glycidyl methacrylate onto cotton gauzes for functionalization with cyclodextrins and elution of antimicrobial agents. *Cellulose*, 19(6), 2165–2177.
- Hoogenboom, R. (2014). Temperature-responsive polymers: properties, synthesis and applications. In M. R. Aguilar & J. S. Román (Eds.), *Smart Polymers and their Applications* (pp. 15–44). Elsevier.
- Hosseini Ravandi, S. A., & Valizadeh, M. (2011). Properties of fibers and fabrics that contribute to human comfort. In G. Song (Ed.), *Improving Comfort in Clothing* (pp. 61–78). Elsevier.
- Hsieh, Y. L. (2006). Chemical structure and properties of cotton. *Cotton: Science and Technology*, 3–34.
- Hulanicki, A., Maj-Żurawska, M., & Glab, S. (2013). TITRIMETRY | Potentiometry. In *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering* (Third Edit). Elsevier.
- Işikel Şanlı, L., & Alkan Gürsel, S. (2011). Synthesis and characterization of novel graft copolymers by radiation-induced grafting. *Journal of Applied Polymer Science*, 120(4), 2313–2323.
- Işıklan, N., & Küçükbalcı, G. (2016). Synthesis and characterization of pH- and temperature-sensitive materials based on alginate and poly(N-isopropylacrylamide/acrylic acid) for drug delivery. *Polymer Bulletin*, 73(5), 1321–1342.
- Jain, K. K. (2020). An Overview of Drug Delivery Systems. In K. Jain (Ed.), *Drug Delivery Systems* (Third Edit, pp. 1–54).
- Jang, J., Yoon, K.-C., & Ko, S.-W. (2001). Durable press finish of cotton via dual curing using UV light and heat. *Fibers and Polymers*, 2(4), 184–189.
- Jun, L., Jun, L., Min, Y., & Hongfei, H. (2001). Solvent effect on grafting polymerization of NIPAAm onto cotton cellulose via γ -preirradiation method. *Radiation Physics and Chemistry*, 60(6), 625–628.
- Kalia, Susheel, Sabaa, M. W., & Kango, S. (2013). Polymer Grafting: A Versatile Means to Modify the Polysaccharides. In Susheel Kalia & M. W. Sabaa (Eds.), *Polysaccharide Based Graft Copolymers* (pp. 1–14). Springer Berlin Heidelberg.
- Katchalsky, A., & Eisenberg, H. (1951). Molecular weight of polyacrylic and polymethacrylic acid. *Journal of Polymer Science*, 6(2), 145–154.
- Keshipour, S., & Maleki, A. (2019). Modification of Cellulose. In M. Mondal (Ed.), *Cellulose-Based Superabsorbent Hydrogels* (pp. 435–486). Springer, Cham.
- Kocak, G., Tuncer, C., & Bütün, V. (2017). pH-Responsive polymers. *Polymer Chemistry*, 8(1), 144–176.
- Koenig, J. L. (1984). Fourier transform infrared spectroscopy of polymers. In *Advances in Polymer Science* (pp. 87–154).
- Kulkarni, R. V., Inamdar, S. Z., Das, K. K., & Biradar, M. S. (2019). Polysaccharide-based stimuli-sensitive graft copolymers for drug delivery. In S. Maiti & S. Jana (Eds.), *Polysaccharide Carriers for Drug Delivery* (pp. 155–177). Elsevier.
- Lanzalaco, S., & Armelin, E. (2017). Poly(N-isopropylacrylamide) and Copolymers: A Review on Recent Progresses in Biomedical Applications. *Gels*, 3(4), 36.

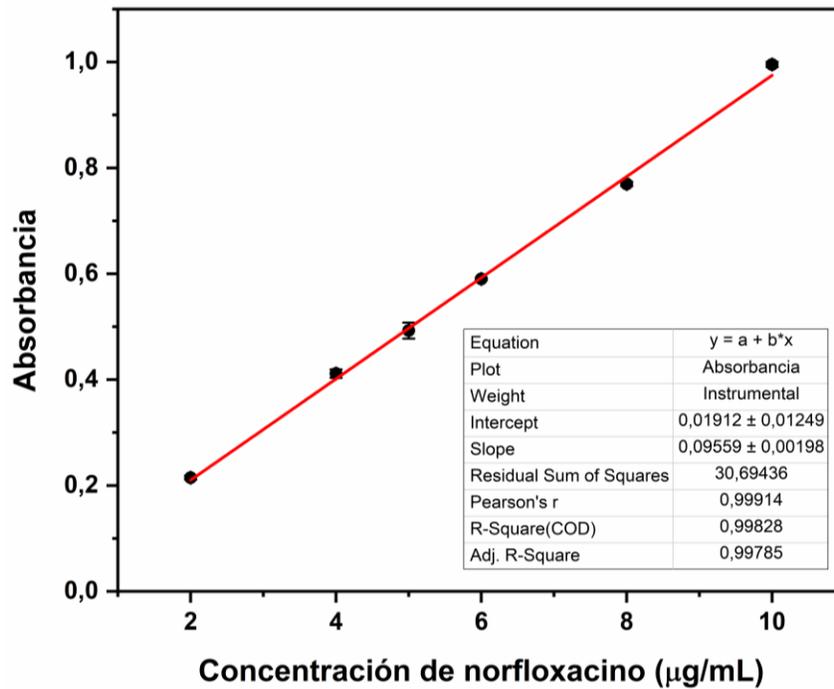
- Leyte, J. C., Mandel, M., & Chemie, F. (1964). Potentiometric behavior of polymethacrylic acid. *Journal of Polymer Science Part A: General Papers*, 2(4), 1879–1891.
- Li, J., Stachowski, M., & Zhang, Z. (2015). Application of responsive polymers in implantable medical devices and biosensors. In Woodhead Publishing Series (Ed.), *Switchable and Responsive Surfaces and Materials for Biomedical Applications* (pp. 259–298). Elsevier.
- Li, X.-R., Wang, X.-L., & Koseki, H. (2008). Study on thermal decomposition characteristics of AIBN. *Journal of Hazardous Materials*, 159(1), 13–18.
- Li, Y. J., Wu, K., Li, Y., Zhang, Y., Liu, J. J., & Wang, X. Z. (2018). Solubility in Different Solvents, Crystal Polymorph and Morphology, and Optimization of Crystallization Process of AIBN. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 63(1), 27–38.
- Liechty, W. B., Kryscio, D. R., Slaughter, B. V., & Peppas, N. A. (2010). Polymers for Drug Delivery Systems. *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering*, 1(1), 149–173.
- Lim, K., Yoon, C., & Lee, J. (2017). Antimicrobial Effect of Skin for Allograft and Management in Burn Wound. *Open Journal of Organ Transplant Surgery*, 07(01), 1–11.
- Lourenço, F. R., & Pinto, T. de J. A. (2011). Antibiotic microbial assay using kinetic-reading microplate system. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 47(3), 573–584.
- Luna-Straffon, M. A., Contreras-García, A., Brackman, G., Coenye, T., Concheiro, A., Alvarez-Lorenzo, C., & Bucio, E. (2014). Wound debridement and antibiofilm properties of gamma-ray DMAEMA-grafted onto cotton gauzes. *Cellulose*, 21(5), 3767–3779.
- Malipeddi, V. R., Dua, K., Sara, U. V. S., Malipeddi, H., & Agrawal, A. (2006). Comparative evaluation of transdermal formulations of norfloxacin with silver sulfadiazine cream, USP, for burn wound healing property. *Journal of Burns and Wounds*, 5, e4.
- Mespouille, L., Coulembier, O., Paneva, D., Degée, P., Rashkov, I., & Dubois, P. (2008). Novel Biodegradable Adaptive Hydrogels: Controlled Synthesis and Full Characterization of the Amphiphilic Co-Networks. *Chemistry - A European Journal*, 14(21), 6369–6378.
- Mpharm, K. D., Ramana, M. V., Sara, U. V. S., Agrawal, D. K., Mpharm, K. P., & Chakravarthi, S. (2010). Preparation and evaluation of transdermal plasters containing norfloxacin: a novel treatment for burn wound healing. *Eplasty*, 10, e44.
- Nekrasova, T. N., Anufriyeva, Y. V., Yel'yashevich, A. M., & Ptitsyn, O. B. (1965). Potentiometric titration of polyacrylic acid, polymethacrylic acid and poly-L-glutamic acid. *Polymer Science U.S.S.R.*, 7(5), 1008–1018.
- Ng, H. M., Saidi, N. M., Omar, F. S., Ramesh, K., Ramesh, S., & Bashir, S. (2018). Thermogravimetric Analysis of Polymers. In *Encyclopedia of Polymer Science and Technology* (pp. 1–29). John Wiley & Sons, Inc.
- Niskanen, J., & Tenhu, H. (2017). How to manipulate the upper critical solution temperature (UCST)? *Polymer Chemistry*, 8(1), 220–232.
- Pal, S., & Das, R. (2013). Polysaccharide-Based Graft Copolymers for Biomedical Applications. In Susheel Kalia & M. W. Sabaa (Eds.), *Polysaccharide Based Graft Copolymers* (pp. 325–345). Springer Berlin Heidelberg.
- Paolino, D., Sinha, P., Fresta, M., & Ferrari, M. (2006). Drug Delivery Systems. In *Encyclopedia of Medical Devices and Instrumentation*. John Wiley & Sons, Inc.
- Parsons, B. J. (2012). Sterilisation of healthcare products by ionising radiation: principles and standards. In S. Lerouge & A. Simmons (Eds.), *Sterilisation of Biomaterials and Medical Devices* (pp. 56–70). Elsevier.
- Pasparakis, G., & Tsitsilianis, C. (2020). LCST polymers: Thermoresponsive nanostructured assemblies towards bioapplications. *Polymer*, 211, 123146.
- Pino-Ramos, V. H., Ramos-Ballesteros, A., López-Saucedo, F., López-Barriguete, J. E.,

- Varca, G. H. C., & Bucio, E. (2017). Radiation Grafting for the Functionalization and Development of Smart Polymeric Materials. In M. Venturi & M. D'Angelantonio (Eds.), *Applications of Radiation Chemistry in the Fields of Industry, Biotechnology and Environment* (pp. 67–94). Springer International Publishing.
- Reyes-Ortega, F. (2014). pH-responsive polymers: properties, synthesis and applications. In *Smart Polymers and their Applications* (pp. 45–92). Elsevier.
- Rojo, J., Sousa-Herves, A., & Mascaraque, A. (2017). Perspectives of Carbohydrates in Drug Discovery. In *Comprehensive Medicinal Chemistry III* (pp. 577–610). Elsevier.
- Romero-Fierro, D. A., Camacho-Cruz, L. A., Bustamante-Torres, M. R., Hidalgo-Bonilla, S. P., & Bucio, E. (2022). Modification of cotton gauzes with poly(acrylic acid) and poly(methacrylic acid) using gamma radiation for drug loading studies. *Radiation Physics and Chemistry*, *190*, 109787.
- Schild, H. G. (1993). Thermal degradation of poly(methacrylic acid): Further studies applying TGA/FTIR. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, *31*(9), 2403–2405.
- Shahriari Khalaji, M., & Lugoloobi, I. (2020). Biomedical Application of Cotton and Its Derivatives. In H. Wang & H. Memon (Eds.), *Cotton Science and Processing Technology. Textile Science and Clothing Technology* (pp. 393–416). Springer.
- Shen, D. K., & Gu, S. (2009). The mechanism for thermal decomposition of cellulose and its main products. *Bioresource Technology*, *100*(24), 6496–6504.
- Sherazi, T. A. (2014). Graft Polymerization. In *Encyclopedia of Membranes* (pp. 1–2). Springer Berlin Heidelberg.
- Sousa, R. G., Magalhães, W. F., & Freitas, R. F. S. (1998). Glass transition and thermal stability of poly(N-isopropylacrylamide) gels and some of their copolymers with acrylamide. *Polymer Degradation and Stability*, *61*(2), 275–281.
- Spinks, J., & Woods, R. (1990). *An Introduction to Radiation Chemistry*. John Wiley & Sons, Ltd.
- Swift, G. (2002). Acrylic (and Methacrylic) Acid Polymers. In *Encyclopedia of Polymer Science and Technology* (pp. 79–86). John Wiley & Sons, Inc.
- Swift, T., Swanson, L., Geoghegan, M., & Rimmer, S. (2016). The pH-responsive behaviour of poly(acrylic acid) in aqueous solution is dependent on molar mass. *Soft Matter*, *12*(9), 2542–2549.
- Tissot, C., Grdanovska, S., Barkatt, A., Silverman, J., & Al-Sheikhly, M. (2013). On the mechanisms of the radiation-induced degradation of cellulosic substances. *Radiation Physics and Chemistry*, *84*, 185–190.
- Velazco-Medel, M. A., Camacho-Cruz, L. A., & Bucio, E. (2020). Modification of relevant polymeric materials for medical applications and devices. *Medical Devices & Sensors*, *3*(6).
- Wang, D., Green, M. D., Chen, K., Daengngam, C., & Kotsuchibashi, Y. (2016). Stimuli-Responsive Polymers: Design, Synthesis, Characterization, and Applications. *International Journal of Polymer Science*, *2016*, 1–2.
- Wei, M., Gao, Y., Li, X., & Serpe, M. J. (2017). Stimuli-responsive polymers and their applications. *Polymer Chemistry*, *8*(1), 127–143.
- Wilkie, C. A. (1999). TGA/FTIR: an extremely useful technique for studying polymer degradation. *Polymer Degradation and Stability*, *66*(3), 301–306.
- Xiang, J., Zhu, R., Lang, S., Yan, H., Liu, G., & Peng, B. (2021). Mussel-inspired immobilization of zwitterionic silver nanoparticles toward antibacterial cotton gauze for promoting wound healing. *Chemical Engineering Journal*, *409*, 128291.
- Yin, C., & Li, X. (2011). Anomalous diffusion of drug release from a slab matrix: Fractional diffusion models. *International Journal of Pharmaceutics*, *418*(1), 78–87.
- Yin, S., Jiang, B., Huang, G., Gong, Y., You, B., Yang, Z., Chen, Y., Chen, J., Yuan, Z., Li, M., Hu, F., Zhao, Y., & Peng, Y. (2017). Burn Serum Increases Staphylococcus aureus Biofilm Formation via Oxidative Stress. *Frontiers in Microbiology*, *8*.

- Zhang, J., & Peppas, N. A. (2000). Synthesis and Characterization of pH- and Temperature-Sensitive Poly(methacrylic acid)/Poly(N-isopropylacrylamide) Interpenetrating Polymeric Networks. *Macromolecules*, 33(1), 102–107.
- Zhang, Y., Huo, M., Zhou, J., Zou, A., Li, W., Yao, C., & Xie, S. (2010). DDSolver: An Add-In Program for Modeling and Comparison of Drug Dissolution Profiles. *The AAPS Journal*, 12(3), 263–271.
- Zhou, W., Apkarian, R., Wang, Z. L., & Joy, D. (2006). Fundamentals of scanning electron microscopy (SEM). In *Scanning Microscopy for Nanotechnology: Techniques and Applications* (pp. 1–40).
- Zou, Y., Zhang, L., Yang, L., Zhu, F., Ding, M., Lin, F., Wang, Z., & Li, Y. (2018). “Click” chemistry in polymeric scaffolds: Bioactive materials for tissue engineering. *Journal of Controlled Release*, 273, 160–179.

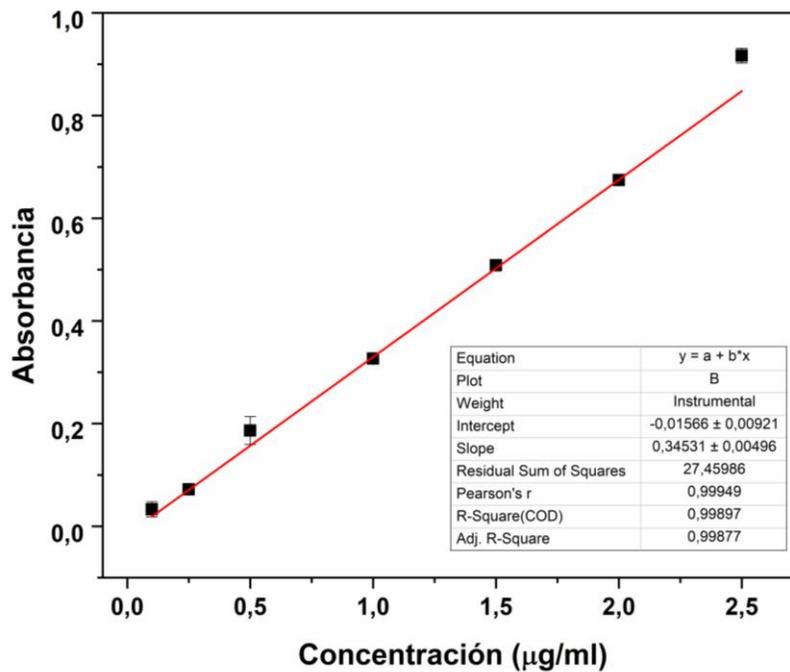
ANEXOS

Anexo 1



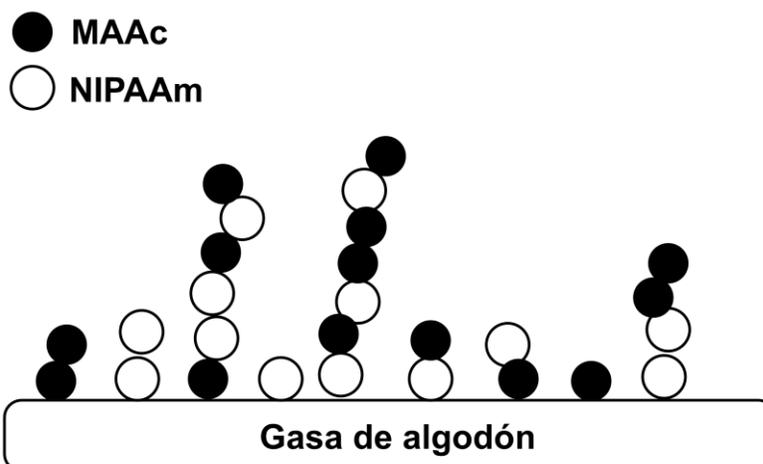
Anexo 1. Curva de calibración para la carga de norfloxacin

Anexo 2



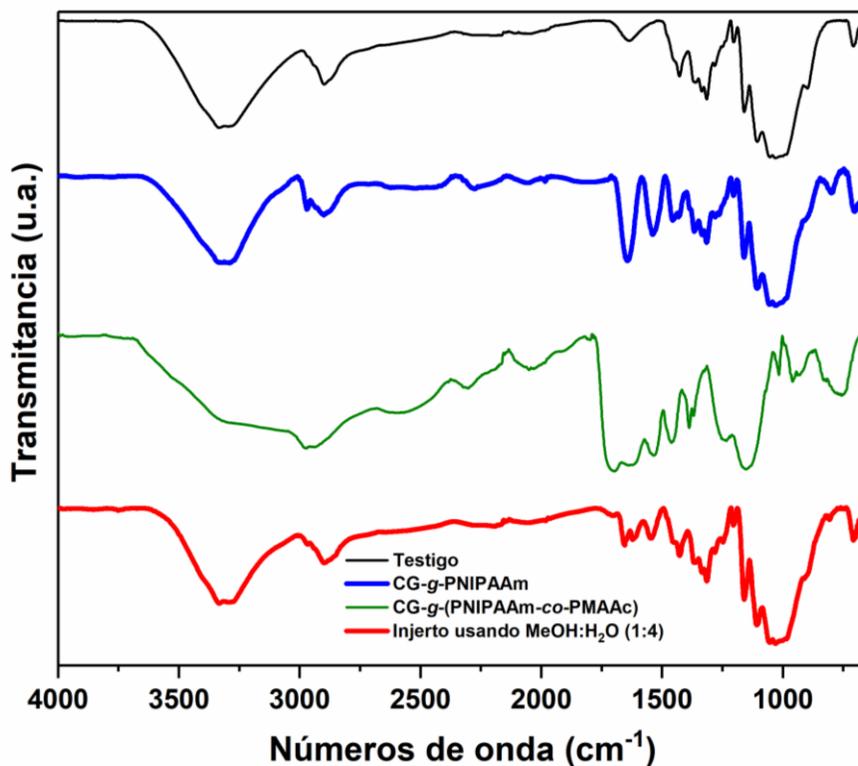
Anexo 2. Curva de calibración para la liberación de norfloxacin en PBS.

Anexo 3



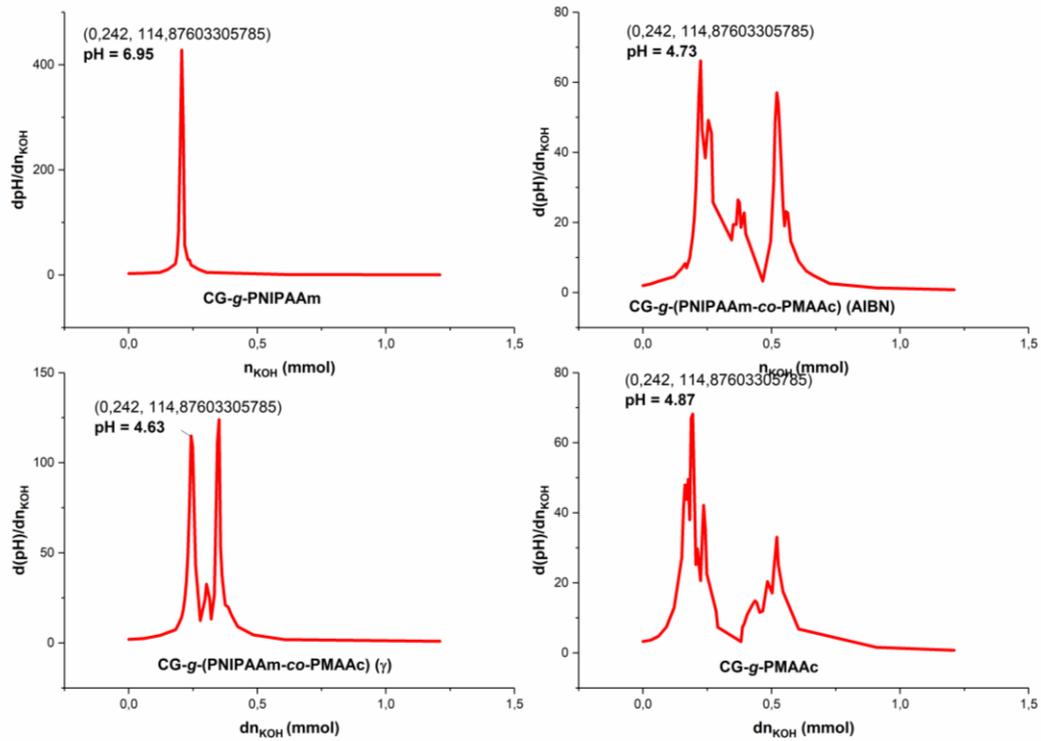
Anexo 3. Estructuras posibles del injerto aleatorio de MAAc y NIPAAm en gasas de algodón

Anexo 4



Anexo 4. Espectros de infrarrojo para gasa testigo, CG-g-NIPAAm, CG-g-(NIPAAm/MAAc) y CG-g-(NIPAAm/MAAc) usando MeOH:H₂O (1:4).

Anexo 5



Anexo 5. Primeras derivadas de las curvas de titulación de los materiales modificados para determinación de puntos de equivalencia y respuesta a pH.