



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS**

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE UNA RED INTERPENETRADA DE
N-ACRILOXISUCCINIMIDA Y N-ISOPROPILACRILAMIDA INJERTADA
EN POLIPROPILENO, MEDIANTE RADIACIÓN IONIZANTE, PARA LA
INMOVILIZACIÓN DE VESÍCULAS**

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA

M. en C. LORENA GARCÍA URIOSTEGUI



TUTOR: Dra. S. GUILLERMINA BURILLO AMEZCUA

2012



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Este trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Macromoléculas perteneciente al Departamento de Química de Radiaciones y Radioquímica del Instituto de Ciencias Nucleares de la Universidad Nacional Autónoma de México.

AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas por todo el apoyo otorgado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico otorgado durante mis estudios de doctorado en el Programa de Ciencias Químicas

A DGAPA UNAM proyecto IN202311 por el soporte económico otorgado

A la Dra. Burillo por su apoyo y ayuda durante la realización de mis estudios

A la Dra. Susana Castillo y Sr. Saúl Trujillo por su valiosa ayuda técnica y en el laboratorio

Al Fís. F. García, Fís. B. Leal y al Dr. E. Cruz por su colaboración en la irradiación de muestras

A la Dra. Carmen Álvarez de la Universidad de Santiago de Compostela, España, por haberme recibido en su laboratorio y por su apoyo académico proporcionado.

A la UNAM y al Instituto de Ciencias Nucleares (ICN) por haberme dado la oportunidad de realizar mis estudios de doctorado.

Los resultados de esta tesis se publicaron en:

García-Uriostegui, L., Burillo, G., Bucio, E. (2012). Synthesis and characterization of thermosensitive interpenetrating polymer networks based on N-isopropylacrylamide/N-acryloxysuccinimide, crosslinked with polylysine, grafted onto polypropylene. **Radiation Physics and Chemistry**, **81(3)**, 295-300.

Este trabajo se presentó en los siguientes congresos:

(2009) “**238 th American Chemical Society National Meeting and Exposition**”
(Washington, D.C., USA)

(2010) “**XXIII Congreso Nacional de la Sociedad Polimérica de México**” (Tijuana, México)

(2011) “**TUPAC 9th International Conference on Advanced Polymers via Macromolecular Engineering**” (Cappadocia, Turkey)

(2011) “**Actividad académica “QuimiUNAM 2011”** (UNAM, México D.F.)

ÍNDICE

Índice de figuras y esquemas	II
Resumen	III
Introducción	IV
Objetivos e hipótesis	V
Capítulo 1. GENERALIDADES	1
1.1 Polímeros	1
1.2 Mezcla de polímeros	3
1.2.1 Redes Poliméricas Interpenetradas (IPNs)	4
1.3 Polímeros inteligentes	6
1.3.1 Polímeros termosensibles	8
1.3.2 Poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAAm)	9
1.4 Inmovilización de biomoléculas	11
1.4.1 Método de inmovilización por retención física	11
1.4.2 Métodos de inmovilización por unión química	12
1.4.3 N-Acrlaxisuccinimida (NAS)	17
1.5 Liposomas	18
1.5.1 Componentes y estructura de los liposomas	19
1.5.2 Clasificación de los liposomas y métodos de obtención	22

1.6	Modificación de polímeros	26
1.6.1	Injerto	26
1.6.2	Métodos de Injerto	26
1.6.2.1	Injerto por métodos Químicos	27
1.6.2.2	Injerto enzimático	27
1.6.2.3	Injertos mediante técnicas de radiación	27
1.6.3	Factores que influyen en el injerto	32
1.6.3.1	Monómero	32
1.6.3.2	Intensidad y dosis de radiación	32
1.6.3.3	Temperatura	33
1.7	Radiación	33
1.7.1	Fuentes de radiación gamma	35
1.7.2	Interacción de la radiación con la materia	37
1.7.3	Efectos de la radiación en polímeros: reticulación y degradación	40
1.8	Técnicas de Caracterización	41
1.8.1	Espectroscopia de Infrarrojo (FTIR-ATR)	41
1.8.2	Espectroscopia Ultravioleta – Visible	43
1.8.3	Microscopia electrónica de barrido (SEM)	45

1.8.4	Microscopía de transmisión electrónica (TEM)	46
1.8.5	Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)	47
1.8.6	Análisis Termogravimétrico (TGA)	49
Capítulo 2. DESARROLLO EXPERIMENTAL		51
2.1	Materiales y Reactivos	52
2.2	Síntesis de la primera red <i>net</i>-(PP-g-NIPAAm)	52
2.2.1	Injerto de la NIPAAm sobre películas de PP (PP-g-NIPAAm)	52
2.2.2	Entrecruzamiento de la PNIPAAm injertada en PP [<i>net</i> (PP – g – NIPAAm)]	56
2.3	Formación de la red polimérica interpenetrada (IPN)	58
2.4	Inmovilización de los liposomas en la PP – g – IPN	61
2.5	Caracterización de las películas	64
2.5.1	Hinchamiento, Temperatura crítica de solución y Reversibilidad	64
2.6	Caracterización de los liposomas	66

CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	67
3.1 Síntesis de la primera red <i>net</i>(PP – g – NIPAAm)	68
3.2 Síntesis de la segunda red: Formación de la PP-g-IPN	77
3.3 Pruebas de hinchamiento y sensibilidad	80
3.3.1 Hinchamiento Límite	81
3.3.2 Temperatura crítica de solución (LCST)	83
3.3.3 Reversibilidad	85
3.4 Caracterización de la PP-g-IPN	86
3.5 Inmovilización de las vesículas de lípido en el sistema PP-g-IPN	95
3.6 Caracterización de las vesículas de lípido	97
CONCLUSIONES	101
BIBLIOGRAFÍA	105

ÍNDICE DE FIGURAS Y ESQUEMAS

Capítulo 1. GENERALIDADES

Figura 1.1. Representación esquemática de copolímeros.	2
Figura 1.2. Estructura de polímeros	3
Figura 1.3. Redes poliméricas interpenetradas (IPNs).	5
Figura 1.4. Estructura física de los polímeros inteligentes.	7
Figura 1.5. Estructura química de la poli(N-isopropilacrilamida) (NIPAAm).	9
Figura 1.6. Ilustración de la transición de fases de la PNIPAAm.	10
Figura 1.7. Representación esquemática de la inmovilización física.	12
Figura 1.8. Adsorción de moléculas	13
Figura 1.9. Unión covalente de biomoléculas a soportes.	14
Figura 1.10. Método de inmovilización por entrecruzamiento	14
Figura 1.11. Estructura química de la N-acriloxisuccinimida.	17
Figura 1.12. Estructura general de un liposoma	18
Figura 1.13 Estructura de un fosfolípido.	20
Figura 1.14. Molécula de fosfolípido.	20
Figura 1.15. Estructura del 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfo-(1-rac-glicerol) (POPG).	21

Figura. 1.16 Clasificación de los liposomas en función de su forma y tamaño.	23
Figura 1.17. Fases de transición de las vesículas de lípidos o liposomas.	24
Esquema 1.1. Irradiación de moléculas.	29
Esquema 1. 2. Esquema del método de preirradiación oxidativa	30
Esquema 1.3. Esquema del método de irradiación directa.	31
Figura 1.18. Espectro Electromagnético	34
Figura 1.19 Esquema de decaimiento del Cobalto-60.	36
Figura 1.20. Efecto Fotoeléctrico.	38
Figura 1.21. Efecto Compton.	39
Figura 1.22. Efecto de producción de pares.	39
Figura 1.23. Espectrofotómetro de infrarrojo.	43
Figura 1.24. Diagrama del espectrofotómetro ultravioleta-visible (UV-VIS).	44
Figura 1.25. Diagrama de funcionamiento del microscopio electrónico de barrido (SEM).	45
Figura 1.26. Diagrama esquemático del microscopio electrónico de transmisión (TEM).	46
Figura 1.27. Esquema de una celda del calorímetro diferencial de barrido (DSC).	48
Figura 1.28. Diagrama de una termobalanza de análisis termogravimétrico (TGA).	49

Capítulo 2. DESARROLLO EXPERIMENTAL

Esquema 2.1.	Esquema general de la parte experimental.	51
Figura 2.1.	Irradiador Gammabeam 651-PT.	54
Figura 2.2.	Diagrama de bloques del desarrollo experimental.	55
Esquema 2.2.	Estructura propuesta de PP después de la irradiación.	57
Figura 2.3.	Curva de calibración del N-hidrosuccinimida (NHS).	60
Figura 2.4.	Curva de calibración de fosfato (PO_4^{3-})	63

CAPÍTULO 3. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Esquema 3.1.	Pasos para obtener la PP – g – IPN.	67
Esquema 3.2.	Mecanismo propuesto del injerto de NIPAAm sobre películas de PP.	69
Figura 3.1.	Injerto de NIPAAm sobre PP a diferentes tiempos de reacción.	72
Esquema 3.3.	Estructura planteada del PP después de la irradiación en presencia de oxígeno.	72
Esquema 3.4.	Mecanismo de entrecruzamiento de PP-g-NIPAAm	76
Figura 3.2.	Entrecruzamiento de la polilisina en función del tiempo de reacción.	80
Figura 3.3.	Hinchamiento límite en películas con 103% de injerto de PNIPAAm.	82
Figura 3.4.	Hinchamiento límite en películas con 170% de injerto de PNIPAAm.	82

Figura 3.5. Hinchamiento límite de los diferentes sistemas, con 220% de injerto de PNIPAAm.	83
Figura 3.6. LCST de los diferentes sistemas.	84
Figura 3.7. Reversibilidad de PP-g-IPN (170% NIPAAm).	85
Figura 3.8. Espectro de FTIR.	86
Figura 3.9. Termograma de DSC.	88
Figura 3.10. TGA de los diferentes sistemas.	91
Figura 3.11. Micrografías SEM de la sección transversal de los sistemas hinchados.	92
Figura 3.12. Resistencia a la tensión del PP en función de la dosis de radiación, y de los diferentes sistemas.	94
Figura 3.13. Liposomas inmovilizados en la PP – g – IPN en función del porcentaje de injerto del NIPAAm.	97
Figura 3.14. Morfología TEM de los liposomas SUV y MLV.	98
Figura 3.15. Morfología SEM de superficie.	99

RESUMEN

Vesículas de lípido o liposomas fueron inmovilizadas en redes poliméricas interpenetradas (IPNs) basadas en poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAAm) y poli(N-acriloxisuccinimida) (PNAS), injertadas sobre polipropileno (PP). El sistema IPN fue sintetizado en tres pasos consecutivos, usando radiación ionizante en el primer y segundo paso y reacción química en el tercer paso. En el primer paso, se obtuvo un copolímero de injerto termosensible de NIPAAm en películas de PP mediante radiación gamma de Cobalto-60. La segunda red fue obtenida mediante reacción química, *in situ*, entre el PNAS y la polilisina (pLys). La PP – g – IPN presentó una temperatura crítica de solución (LCST) de alrededor de 32°C. La temperatura de transición (LCST) y las propiedades de la IPN fueron medidas por hinchamiento. Se caracterizó adicionalmente por calorimetría diferencial de barrido (DSC), análisis termogravimétrico (TGA) y espectroscopia infrarroja (FTIR-ATR). Los estudios iniciales sobre la inmovilización de liposomas fueron determinados, por espectroscopia UV-visible, los liposomas fueron caracterizados por potencial zeta, microscopía electrónica de transmisión (TEM) y microscopía electrónica de barrido (SEM).

ABSTRACT

Lipid vesicles or liposomes were immobilized onto Interpenetrating polymer networks (IPNs) based on poly (N-isopropylacrylamide), (PNIPAAm), and poly (N-acryloxysuccinimide) (PNAS), grafted onto polypropylene (PP). The system IPN was synthesized in three consecutive steps, using ionizing radiation in the first and second steps and a chemical reaction in third one. In the first step a thermo-sensitive grafted copolymer of NIPAAm onto PP film was obtained by means of gamma radiation with a ^{60}Co source. The grafted side chains of PNIPAAm were then cross-linked with gamma radiation to give *net*(PP-g-NIPAA). The secondary network was obtained *in situ* by chemical cross-linking between PNAS and polylysine (pLys). The PP-g-IPN exhibited a lower critical solution temperature (LCST) around 32 °C. The phase transition temperature (LCST) and network properties of the IPN were measured by swelling behavior. Additional characterization by differential scanning calorimetry (DSC), thermogravimetric analysis (TGA) and infrared (FTIR-ATR) determinations are shown. Initial studies on immobilized liposomes were determined by UV-visible spectroscopy and reported, these were characterized by potential zeta, transmission electron microscopy (TEM) and scanning electron microscopy (SEM).

INTRODUCCIÓN

Las vesículas de lípidos o liposomas son estructuras esféricas autoensambladas compuestas por una o varias bicapas paralelas de lípidos, principalmente fosfolípidos, y en cuyo interior se encuentra una parte de la solución en la que están disueltos^(Lasic, 1993). Esta particular morfología de los liposomas es de gran interés en muchas aplicaciones como liberación controlada de fármacos, formulaciones cosméticas, industria alimenticia, diagnóstico, etc. Sin embargo, los liposomas tienen baja estabilidad en términos de polidispersidad, lamellaridad, cambios en su tamaño, posible agregación y separación de fase y como consecuencia limitan su aplicación. Para mejorar esta desventaja, alargar su tiempo de vida en almacenamiento y mejorar la eficiencia en la liberación de biomoléculas, los liposomas se han estado inmovilizando en soportes poliméricos^(Feng, 2004). En los últimos años se ha hecho énfasis en los polímeros estímulo sensibles, los cuales cambian en forma y volumen en respuesta a un pequeño estímulo en condiciones ambientales como pH, temperatura, fuerza iónica, etc., como una opción para ser usado como soportes.

Debido a su propiedad de ser estímulo-sensible, presentan respuesta a la temperatura en solución acuosa. La poli(N-isopropilacrilamida) (NIPAAm) es una molécula de las más estudiadas, que posee una solubilidad inversa, es decir, se vuelve insoluble al aumentar la temperatura, una propiedad contraria a la mayoría de los polímeros en sus

diferentes disolventes, su transición de una estructura hidrofílica a una estructura hidrofóbica ocurre abruptamente entre 30 y 35 °C y se le conoce como temperatura crítica de solución (LCST). Por lo tanto, este polímero es un buen candidato para ser usado en sistemas de liberación controlada de fármacos, separación y concentración de proteínas y en la inmovilización de biocompuestos como los lípidos^(Candan, 2004). Sin embargo, en cuanto a propiedades mecánicas estos sistemas presentan desventajas ya que se hinchan demasiado perdiendo estabilidad mecánica, impidiendo su adecuado manejo y por lo tanto limitando su aplicación^(Xian-Zheng, 2004). Las redes poliméricas interpenetradas se han estado usando para mejorar las propiedades de mezclas de polímeros y composites^(Sperling, 1996). Sin embargo los hidrogeles de PNIPAAm tienen otra limitación importante, la rápida difusión del biocompuesto ^(Gutowska, 1997, Alvarez-Lorenzo, 2002 y Zhang, 2002).

Hidrogeles basados en N-isopropilacrilamida (NIPAAm) y N-acriloxisuccinimida (NAS) entrecruzados con polilisina fueron estudiados por Percot y col., (2000) y Pollak y col., (1980). La NAS tiene un grupo éster que es altamente reactivo con grupos nucleófilos por lo que puede fácilmente reaccionar con los grupos amina de la polilisina (pLys); esos grupos aminos actúan como anclajes de la vesículas y también actúan como agente entrecruzante con el NAS.

Ortega y col., (2008) obtuvieron una red interpenetrante (IPNs) basada en hidrogeles de poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAAm) obtenida por radiación gamma y poli(N-

acriloxisuccinimida) (PNAS) entrecruzada con polilisina, con un hinchamiento límite de 100 minutos, más bajo que el de hidrogel de NIPAAm el cual requiere 200 minutos, pero este sistema también presenta pobres propiedades mecánicas en estado hinchado, ya que puede destruirse al aplicarse una pequeña presión manual.

García-Uriostegui y col., (2010) obtuvieron un copolímero de injerto, mediante radiación gamma en un solo paso, de NIPAAm y NAS en PP y entrecruzado con polilisina. Con este método, se obtienen porcentajes de injerto de NIPAAm/NAS bajos, el injerto máximo es de aproximadamente 100% sin embargo, se necesitan altas dosis de radiación (80-100 kGy) para obtenerlos, y las películas se rompen fácilmente debido a la degradación de la cadena principal del polipropileno.

En este trabajo se propone la síntesis de un nuevo sistema, para inmovilizar liposomas y mejorar sus limitantes, el cual consiste en la formación de redes interpenetrantes de N-acriloxisuccinimida (NAS) y N-isopropilacrilamida (NIPAAm) injertados en polipropileno, mediante radiación ionizante utilizando dosis de radiación menores de 100 kGys, y a las ya usadas, con la finalidad de evitar la degradación de la matriz polimérica, a dosis de alrededor de 100 kGys y en presencia de aire el PP sufre degradación. En el que se injerta el NIPAAm en PP y posteriormente se retícula mediante radiación gamma y así se obtiene la primera red; ésta se interpenetra con la red de PNAS reticulado con polilisina *in situ*, con el objeto de mantener la

termosensibilidad de absorción y desorción de agua, que conserve su LCST y que además se controle la cantidad de cada uno de ellas. Es importante trabajar con estos monómeros para que se tenga un sistema con respuesta a la temperatura (NIPAAm) que facilite la inmovilización y liberación de las vesículas, tener un grupo activo que fácilmente reaccione con grupos amino (NAS), grupos fácilmente ionizables (polilisina) para una mayor inmovilización de vesículas y una matriz polimérica como el PP, con buenas propiedades mecánicas, inerte y de bajo costo. Se eligió el injerto mediante radiación ionizante, debido a que el proceso es más sencillo, reproducible y no requiere iniciadores u otros aditivos.

OBJETIVOS

Objetivo General:

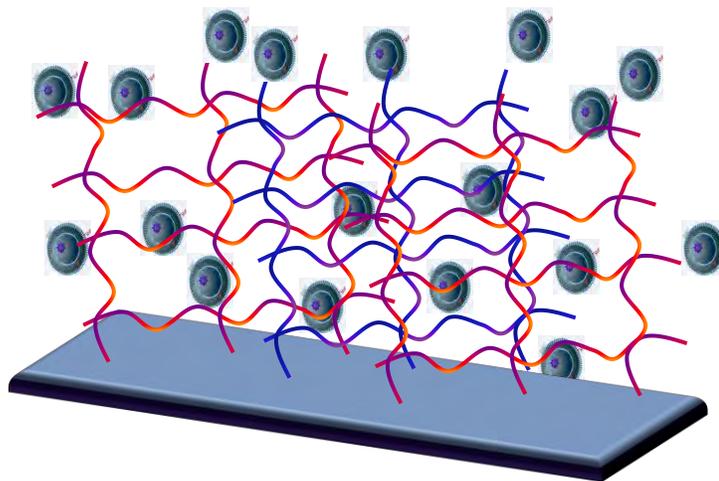
Obtener un injerto binario en tres pasos consecutivos, mediante radiación gamma, de N-isopropilacrilamida (NIPAAm) y N-acriloxisuccinimida (NAS) en películas de polipropileno (PP), para ser aplicado en la inmovilización de vesículas de lípidos con mejores ventajas que los utilizados anteriormente.

Objetivos Particulares:

1. Injertar la N-isopropilacrilamida sobre las películas de polipropileno (PP-g-NIPAAm) mediante radiación gamma usando dosis menores de 100 kGys, para obtener sistemas manejables y que conserven su LCST.
2. Entrecruzamiento del polímero de injerto mediante radiación gamma para obtener la primera red polimérica de PNIPAAm.
3. Polimerizar la N-acriloxisuccinimida utilizando radiación gamma.
4. Formación de la red interpenetrante de PNIPAAm y PNAS.
5. Caracterizar los sistemas, injertado, reticulación e IPN por técnicas calorimétricas (TGA y DSC), espectroscopia infrarroja (FTIR-ATR), determinar el hinchamiento límite, reversibilidad y la temperatura crítica de solución por hinchamiento.
6. Realizar algunos ensayos de inmovilización de las vesículas de lípidos.

HIPOTESIS

Se obtendrá un nuevo sistema de injerto binario de N-acriloxisuccinimida y N-isopropilacrilamida, el cual conservará la propiedad de respuesta térmica y este nuevo sistema al ser reticulado con polilisina tendrá la capacidad de inmovilizar biocompuestos entre ellos lípidos, su velocidad de respuesta será mayor, tendrá mejores propiedades en cuanto a su facilidad de manejo y será un sistema reversible.



CAPÍTULO I. GENERALIDADES

1. POLÍMEROS (O'dian, 2004 y Gnanou, 2008)

Los polímeros, ya sean naturales o sintéticos, son macromoléculas que se forman a partir de moléculas pequeñas (unidad repetitiva), llamadas monómeros, que reaccionan entre sí.

El proceso químico por el cual ciertas moléculas de tamaño pequeño (monómeros) pueden reaccionar entre sí para dar una molécula de gran tamaño (macromolécula) con una constitución más o menos repetitiva (polímero), se conoce con el nombre de polimerización. La molécula de polímero se genera por reacción entre dos grupos funcionales que son reactivamente complementarios. Estas dos funciones pueden encontrarse en una misma molécula o en dos moléculas distintas. Un caso singular lo constituyen los enlaces múltiples (dobles y triples) que actúan por sí mismos como funciones complementarias.



Las reacciones de polimerización se pueden llevar a cabo mediante dos mecanismos: A) Polimerización por crecimiento de cadena o poliadición, se da cuando existe una reacción sucesiva del monómero; y B) polimerización por crecimiento en etapas o policondensación, ocurre entre dos monómeros bifuncionales.

De acuerdo al número de monómeros los polímeros se clasifican en homopolímeros, cuando están formados por el mismo monómero y copolímeros, cuando se forman de 2 o más monómeros, figura 1.1.

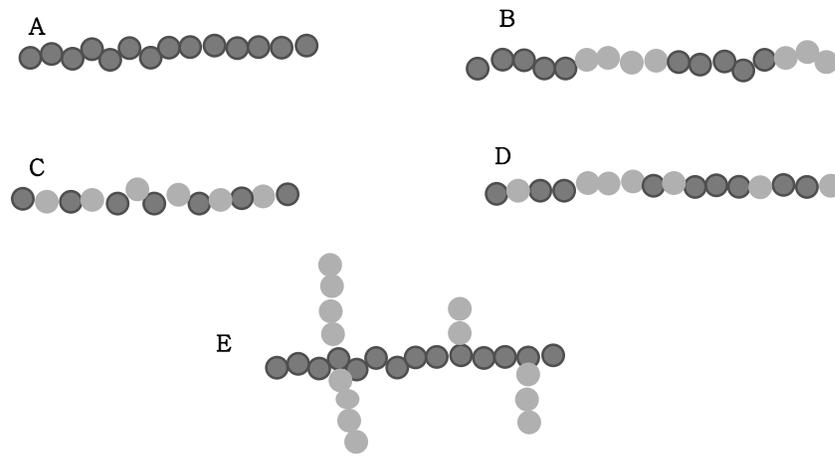


Figura 1.1. Representación esquemática de copolímeros. A) Homopolímero, B) Copolímero en bloques, C) Copolímero alternado, D) Copolímero al azar, E) Copolímero de injerto.

Los polímeros según la forma de las cadenas se pueden clasificar como: lineales, ramificados y entrecruzados; cuando las unidades monoméricas se encuentran unidas una al lado de la otra a lo largo de una sola dirección son denominadas polímeros lineales ^(Stevens, 1999). Ahora bien, bajo ciertas condiciones o con ciertos tipos de monómeros, se pueden obtener polímeros con otro tipo de arquitectura que se caracterizan por tener ramificaciones que se generan a partir de la cadena principal, figura 1. 2.

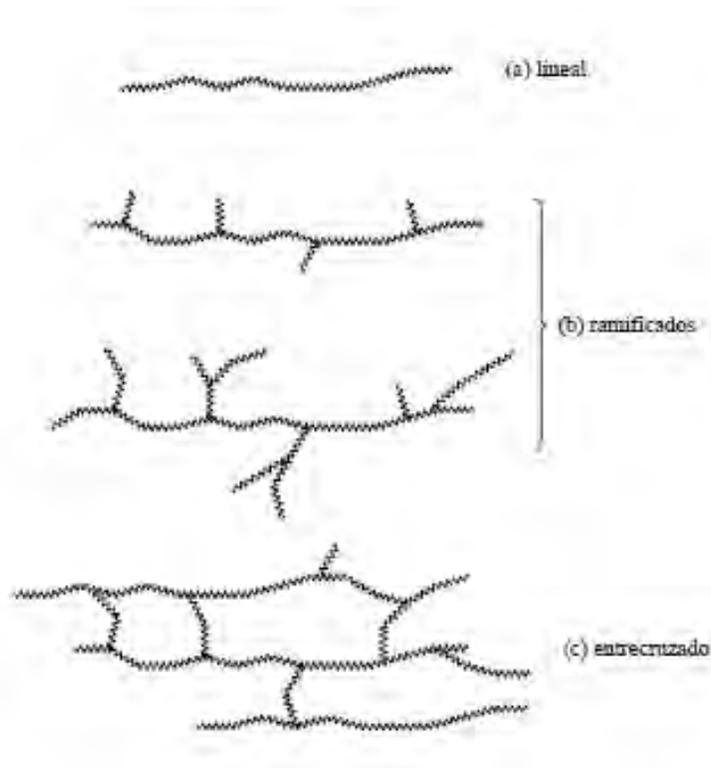


Figura 1.2. Estructura de polímeros a) lineal, b) ramificado y c) entrecruzado.

1.2 MEZCLA DE POLÍMEROS (Bajpai, 2008)

Las mezclas poliméricas pueden ser de homopolímeros diferentes estructuralmente, copolímeros, terpolímeros, etc., pudiendo ser aleatorios, alternados, de bloque, entrecruzados, tan largo como el material constituyente exista a nivel polimérico. Las mezclas de polímeros pueden ser miscibles o no, se caracterizan por la conservación de las propiedades individuales de los polímeros que las forman.

La variable importante a considerar para que se mezclen los polímeros es la temperatura y la composición. La temperatura de proceso debe estar por encima de la

temperatura de transición vítrea (T_g), de cada uno de los constituyentes para las mezclas de polímeros amorfas y/o la temperatura de fusión (T_m) para mezclas que contengan polímeros semicristalinos. Por otro lado, muchos pares de polímeros son miscibles únicamente cuando hay mayor cantidad de uno con respecto al otro y habrá un rango de composiciones en las que los polímeros no se mezclan.

Una mezcla química se puede obtener por polimerización *in situ* y el resultado es una red polimérica de entrecruzamiento interpenetrada de polímeros estructuralmente diferentes.

1.2.1 REDES POLIMÉRICAS INTERPENETRADAS (IPNs) (Bajpai, 2008 y Sperling, 1996)

Son una clase de mezclas de polímeros en forma de red en la que al menos uno de los componentes se polimeriza y retícula en presencia de otra red, unidos por entrecruzamientos permanentes, en un nivel molecular segmentaria, es decir, no hay enlaces covalentes entre las cadenas. Las IPNs en su mayoría poseen mejores propiedades físicas, en comparación a las otras mezclas de polímeros, por lo que se han usado para mejorar las propiedades de las mezclas de polímeros y materiales compuestos.

Las IPNs pueden ser pueden clasificar de la siguiente forma:

1. *IPN secuencial en dos pasos*: en este tipo de IPN es una red formada inicialmente por polimerización de un monómero, en presencia agente de reticulación, y el iniciador (o catalizador) para formar una red que luego es hinchada en presencia de una solución de otro monómero, un agente de reticulante y un activador, para que se polimerice *in situ* la segunda red.

2. *IPN simultánea*: la IPN es formada por la polimerización de dos monómeros diferentes junto con los activadores y los agentes reticulantes en un solo paso. La clave para el éxito de este proceso es que los dos componentes deben polimerizarse por reacciones que no interfieran entre sí. Figura 1.3(A) es una representación esquemática de una red interpenetrada.
3. *IPN completo*: este tipo de IPN se compone de dos redes que están perfectamente yuxtapuestas, que genera muchos enredos e interacciones entre las redes.
4. *Homo-IPN*: Es un tipo especial de las IPNs, que se caracteriza por estar formada por redes poliméricas del mismo monómero
5. *Semi o pseudo-IPN*: cuando está formada por un polímero lineal y un polímero entrecruzado, la estructura de esta se muestra en la figura 1.3 (B).
6. *IPN Látex*: estas IPNs se forman por polimerización en emulsión. La morfología del IPN depende de cómo se polimerizan los componentes.
7. *IPN termoplásticos*: éstos son IPN moldeables, se pueden reciclar. Al menos un componente suele ser un copolímero de bloque.

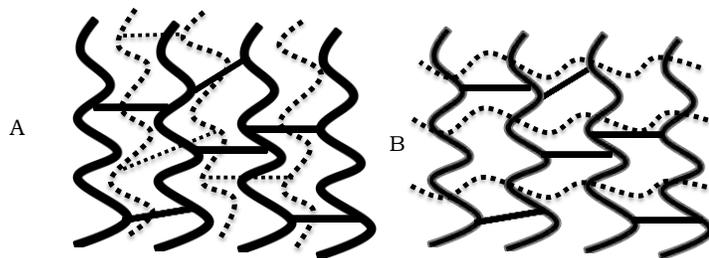


Figura 1.3. IPNs. A) Red interpenetrada, B) Red semi o pseudo interpenetrada.

Las IPNs tienen mejores propiedades mecánicas, debido a las interacciones físicas entre las dos redes, en comparación con las redes entrecruzadas.

1.3 POLIMEROS INTELIGENTES (Kumar, 2007, Furth, 2007 y Gil, 2004)

Los polímeros inteligentes se han convertido en una clase importante de polímeros y sus aplicaciones se han incrementado significativamente. En las últimas dos o tres décadas ha tenido un crecimiento significativo este tema. Los polímeros inteligentes, que también se conocen como estímulo-sensibles, o polímeros ambientalmente sensibles, pueden estar en varias formas como en estado sólido o en solución, polímeros solubles o insolubles en el medio ambiente, lo que le ha dado una gran aplicación en el área de la biotecnología, la medicina y la ingeniería.

El nombre de polímeros inteligentes, se refiere a la capacidad que tienen de experimentar un cambio físico o químico muy drástico en respuesta a ligeros cambios en el medio ambiente circundante (estímulos físicos o químicos). Los estímulos químicos, tales como el pH, los factores iónicos y agentes químicos, van a cambiar las interacciones entre las cadenas de polímero o entre cadenas de polímeros y solventes a nivel molecular. Mientras que los estímulos físicos, como la temperatura, campos eléctricos o magnéticos, y el estrés mecánico, afectará el nivel de las diversas fuentes de energía y alterar las interacciones moleculares entre polímero disolvente en un punto crítico, es decir, hay un cambio reversible en la microestructura de un estado hidrofílico a un estado hidrofóbico. Estos cambios son evidentes en el nivel macroscópico como la formación de precipitado de una solución o cambios de orden de magnitud en el caso de los polímeros, figura 1.4. Una proporción adecuada de hidrofobicidad y hidrofiliidad en la estructura molecular del polímero se cree que es necesaria para que se produzca la transición de fase.

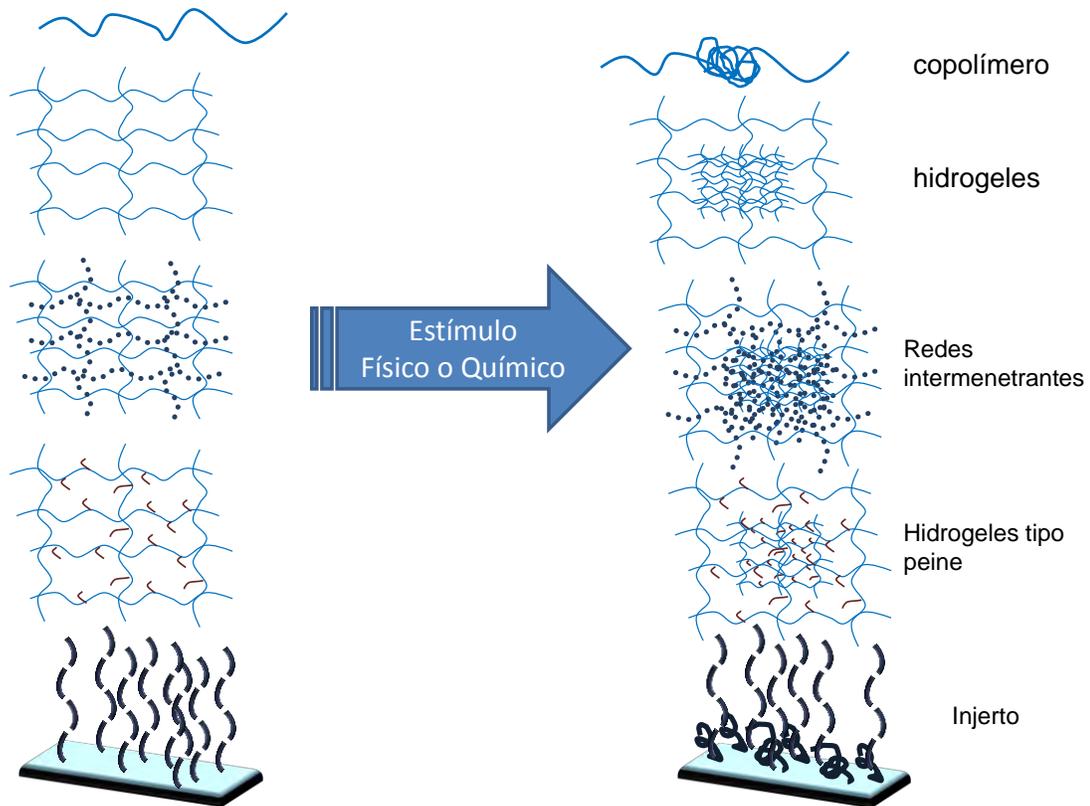


Figura 1.4. Estructura física de los polímeros inteligentes.

Debido al interés por la inmovilización y liberación de biocompuestos, especial énfasis en la liberación controlada de fármacos, los polímeros estímulo-sensibles más estudiados son aquellos que responden a cambios de pH (Lowman, 1999 y Morishita, 2002) y temperatura, ambas condiciones se consideran muy importantes debido a que son variables inherentes a los sistemas fisiológicos.

1.3.1 POLÍMEROS TERMOSENSIBLES (Furth, 2007, Gil, 2004 y Shakya, 2010)

Los polímeros que son sensibles a la temperatura se les conoce como, polímeros termosensibles. Una de las propiedades de los polímeros sensibles a la temperatura es la presencia de una temperatura crítica de solución, que corresponde a una LCST (Lower Critical Solution Temperature). La explicación más simple de este fenómeno, es que la entalpia (ΔH) de la disolución debida a la formación de los puentes de hidrogeno entre el disolvente y el monómero favorecen la disolución, mientras que la organización entrópica (ΔS) del disolvente necesaria para lograr estos puentes de hidrogeno es desfavorable, de acuerdo a la termodinámica la energía libre de disolución (ΔG) es igual a $\Delta H - T\Delta S$, esto puede cambiar de positivo (favorable) a negativo (desfavorable) con un aumento en la temperatura (Dimitrov, 2007). Si el polímero en solución (en nuestro caso agua) tiene una fase homogénea por debajo de una temperatura específica, la cual depende de la concentración del monómero, y por arriba de esta temperatura el polímero es separado en fases, entonces la temperatura a la cual ocurre este cambio se le llama LCST (Lower Critical Solution Temperature), y si el proceso ocurre de manera contraria entonces a esta temperatura se le conoce como UCST (Upper Critical Solution Temperature).

1.3.2 Poli(N-ISOPROPILACRILAMIDA) (NIPAAm) (Percot, 2000, Yang, 1990, Pollak, 1980 y Schild, 1992)

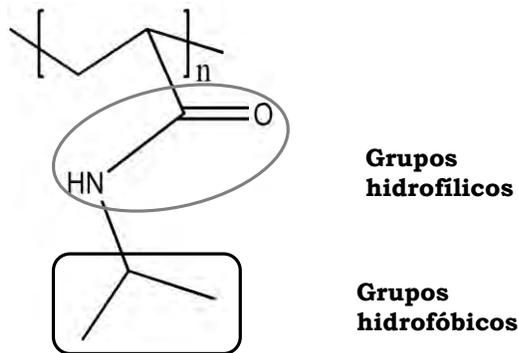


Figura 1.5. Estructura química de la PNIPAAm.

La PNIPAAm es uno de los polímeros más estudiados, los primeros artículos son publicados a partir del año 1956 (Schild, 1992), debido a que es un polímero sensible a la temperatura, esto como resultado de la transición reversible de la fase soluble a la insoluble, esta transición ocurre a una temperatura entre 30 – 35 °C; conocida como LCST (Lower critical solution temperature). Lo interesante radica en que el LCST puede ser modelado para la aplicación deseada mediante la variación de parámetros tales como: la adición de sales en diferentes concentraciones, de éste con otros monómeros, la relación porcentual de la misma sal, así como los monómeros involucrados, y pH del medio entre otros (Brandrup, 2005).

El grupo amida es hidrofílico, mientras que el grupo isopropil es hidrofóbico (figura 1.5). En general la incorporación de comonómeros hidrofóbicos tiende a bajar el valor de LCST, mientras que la incorporación de hidrofílicos o comonómeros ionizables lo incrementa (Schild, 1992). La explicación al cambio de soluble a insoluble se da en función

del reacomodo de los grupos hidrofílicos y las fuerzas debidas a los puentes de hidrógeno (figura 1.6). Este cambio da también un comportamiento de hinchamiento para el que la capacidad de captación de agua es mayor debajo del LCST y es menor arriba de ésta.

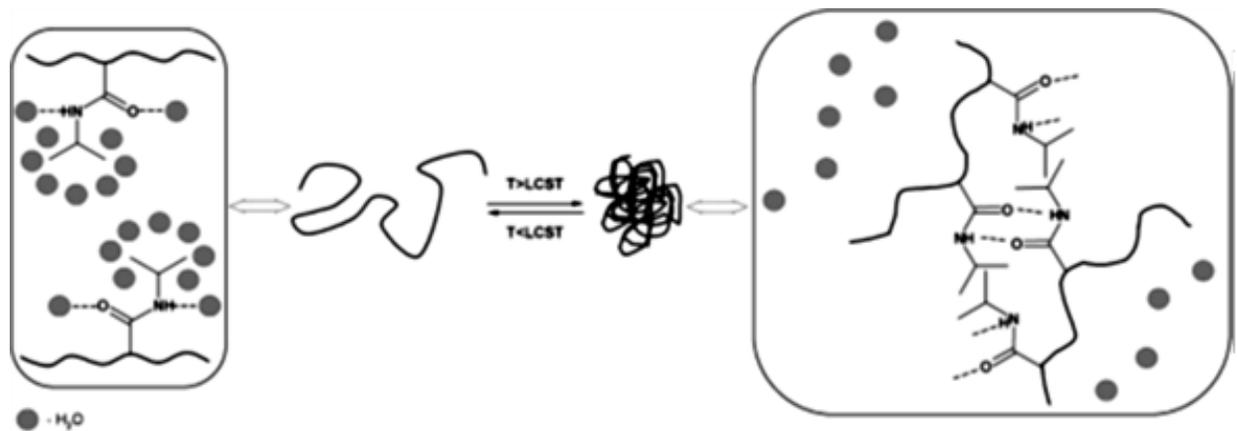


Figura 1.6. Ilustración de la transición de fases de la PNIPAAm. (Dimitrov, 2007)

El PNIPAAm tiene una estructura amorfa y su temperatura de transición vítrea T_g está reportada entre 85 y 130 °C, el punto de fusión del monómero se encuentra entre 60-63 °C; su LCST en agua oscila entre 30-35 °C.

Debido a estas propiedades tenemos que nuestro polímero (PNIPAAm) es soluble en agua fría (debajo de la LCST), pero no en agua caliente (arriba de la LCST), así como también es soluble en otros disolventes orgánicos como alcohol metílico, tetrahidrofurano (THF) y dimetil sulfóxido (DMSO). Basado en este comportamiento termosensible, la PNIPAAm se ha empleado en inmunoensayos y como hidrogeles entrecruzados, para la liberación de fármacos, procesos de separación e inmovilización de biomoléculas como las enzimas, proteínas, lípidos, etc.

1.4 INMOVILIZACIÓN DE BIOMOLÉCULAS ^(Ahuja, 2007)

En los últimos años, la biotecnología ha experimentado grandes avances y paralelamente sus aplicaciones industriales en la obtención de productos químicos, en la industria alimentaria y farmacéutica. La inmovilización es un proceso en el que se confina o localiza al biocompuesto en una región definida del espacio, para dar lugar a formas insolubles que retienen su actividad catalítica y que pueden ser reutilizadas repetidamente.

La inmovilización de biocompuestos permite una mejora significativa de su estabilidad, lo que hace posible su empleo en la producción industrial de productos químicos, farmacéuticos, alimentos; en el tratamiento de residuos; en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades y otras muchas aplicaciones.

En general, los métodos de inmovilización se suelen clasificar en dos categorías ^(Ahuja, 2007, Arroyo, 1998 y Magdy, 2010) retención física y unión química.

1.4.1 MÉTODO DE INMOVILIZACIÓN POR RETENCIÓN FÍSICA

Este tipo de inmovilización se puede llevar a cabo mediante dos vías; *atrapamiento* que consiste en la retención física de la enzima en las cavidades interiores de una matriz sólida porosa constituida generalmente por prepolímeros fotoentrecruzables o polímeros del tipo poliacrilamida. El proceso de inmovilización se lleva a cabo mediante la suspensión de la enzima en una solución del monómero, con una subsecuente polimerización por un cambio de temperatura o mediante la adición de un reactivo químico; el atrapamiento puede ser en geles o en fibras, que suelen ser más resistentes que los geles. *Inclusión en membranas*, que se lleva a cabo mediante: 1) Microencapsulación; en esta técnica, las enzimas están rodeadas de membranas semipermeables que permiten el paso de moléculas de sustrato y producto, pero no del

biocompuesto. Se pueden encapsular simultáneamente una gran variedad de biomoléculas, permitiendo que se lleven a cabo determinadas reacciones que suceden en múltiples pasos. Figura (1.7).

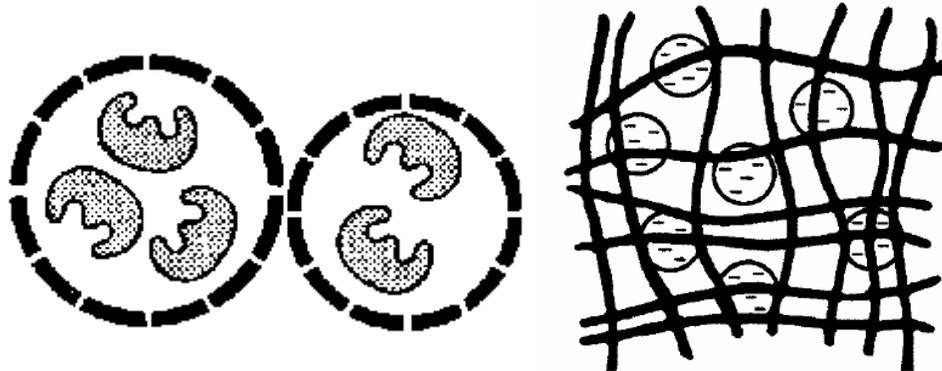


Figura 1.7. Representación esquemática de la inmovilización física.

1.4.2 MÉTODOS DE INMOVILIZACIÓN POR UNIÓN QUÍMICA

La unión a soportes, es el método de inmovilización más utilizado. La elección del soporte y del tipo de enlace resultan determinantes en el comportamiento y propiedades deseadas. Los soportes pueden ser de origen 1) Inorgánico, que pueden ser naturales (arcillas como la bentonita, piedra pómez, sílice, etc.) o materiales manufacturados (óxidos de metales y vidrio de tamaño de poro controlado, vidrio no poroso; y 2) Orgánicos como los polímeros naturales (celulosa, almidón, dextranos, agar-agar, agarosa, alginatos, quitina, colágeno, queratina, etc.) o los polímeros sintéticos (poliolefinas, poliacrilatos, poliacrilamidas, polimetacrilatos, alcohol polivinílico, poliamidas, etc.).

Adsorción

Es un método sencillo de preparar y de bajo costo que consiste en unir a la biomolécula a un soporte mediante interacciones iónicas, fuerzas de Van der Waals y por puentes de hidrógeno. Los principales factores que se deben de considerar son el pH del medio, la fuerza iónica, el diámetro de poro, la presencia de iones (figura 1.8), que actúen como cofactores de la biomolécula.

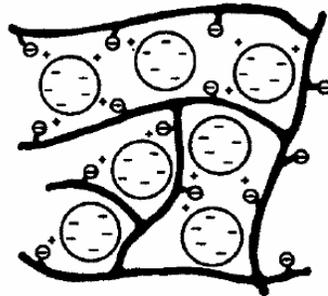


Figura 1.8. Adsorción de moléculas.

Unión covalente

La unión covalente de una enzima a un soporte (figura 1.9) es quizá el método de inmovilización más interesante desde el punto de vista industrial. La metodología de la unión covalente se basa en la activación de grupos químicos del soporte para que reaccionen con determinados grupos en los residuos aminoacídicos de la biomolécula. Las reacciones químicas que se pueden utilizar incluyen la acilación, la alquilación, la diazotación, la disulfuración y la activación a través de sales de metales de transición.

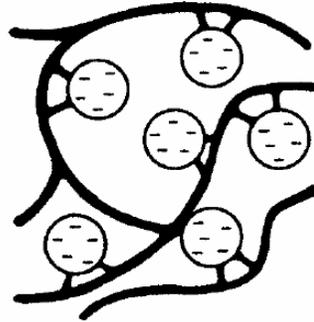


Figura 1.9. Unión covalente de biomoléculas a soportes.

Reticulado

También denominado entrecruzamiento o reticulación, es una técnica que ha sido ampliamente utilizada en la estabilización de muchas biomoléculas, principalmente enzimas. Este método consiste en uso de reactivos bifuncionales (dialdehídos, diiminoésteres, diisocianatos, sales de bisdiazonio e, incluso, diaminas si están activadas con carbodiimida que originan uniones intermoleculares entre las biomoléculas, dando como resultado enlaces intermoleculares (figura 1.10) irreversibles capaces de resistir condiciones extremas de pH y temperatura.

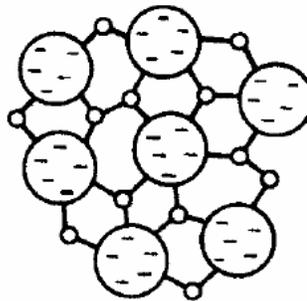


Figura 1.10. Método de inmovilización por entrecruzamiento

Las principales características de los métodos de inmovilización, que son importantes de tomar en cuenta en el momento de seleccionarlo, para llevar a cabo la bioconjugación, se resumen en la tabla 1.1.

Tabla 1.1. Características generales de los métodos de inmovilización.

Características	Adsorción	Enlace covalente	Inclusión en matrices	Retención por Membranas
Preparación	Simples	difícil	difícil	Simples
Costo	bajo	elevado	moderado	Elevado
Fuerza de ligando	variable	fuerte	débil	Fuerte
Liberación	si	no	si	No
Aplicabilidad	amplia	selectiva	amplia	Muy amplia
Problemas en la utilización	elevados	bajos	elevados	elevados
Efectos de la matriz	si	si	si	No
Restricciones disfuncionales	no	no	si	si
Protección microbiana	no	no	si	si

Las técnicas de modificación y conjugación dependen del comportamiento químico de los grupos funcionales ^(Hoffman, 2000) presentes tanto en el agente entrecruzante, que es un reactivo formador de puentes entre moléculas, y los de la molécula a ser modificada. Sin la presencia de dichos grupos así como de su compatibilidad química el proceso de modificación será imposible. Los grupos funcionales en los agentes entrecruzantes permiten la unión específica a ciertos tipos de ligando, péptidos, proteínas, carbohidratos, lípidos, polímeros sintéticos, ácidos nucleicos y oligonucleótidos. Entre estos grupos se encuentran:

Isocianatos: estos pueden ser formados de la reacción de una amina aromática con fosgeno. Estos pueden reaccionar con moléculas que contienen grupos amino para formar enlaces de isourea estable.

Acil azidas: estas son activadas con grupos carboxilato que pueden reaccionar con aminas primarias para formar enlaces amida. La azida es un buen grupo saliente al igual que el grupo succinimida de los compuestos éster.

Ésteres de N-hidrosuccinimida (NHS): este grupo es quizás el más comúnmente utilizado para crear agentes reactivos. Reaccionan con nucleófilos para obtener un grupo saliente (NHS), la reacción con aminas primarias y secundarias crean enlaces amida e imida respectivamente, los cuales son estables. De este modo, los reactivos de entrecruzamiento de este tipo de ésteres se acoplan principalmente con α -aminas en los N-terminales y con ϵ -aminas de la lisina.

Un interés considerable se ha enfocado en los últimos 20 años a polímeros multifuncionales que puedan ser empleados en el campo biomédico. Una manera de obtener macromoléculas con funciones especializadas es preparar polímeros y copolímeros de N-acrilamidas sustituidas o metacrilamidas, las cuales contengan los

grupos de anclaje deseados (Ferruti, 1972). Uno de los más utilizados para este tipo de bioconjugaciones es el PNAS, ya que el grupo succinimida reacciona fácilmente con grupos nucleófilos permitiendo la activación de la cadena polimérica o la inmovilización de biomoléculas de interés biotecnológico.

1.4.3 N-acriloxisuccinimida (NAS) (Percot, 2000, D'Agosto, 2001, Yang, 1990 y Schnaar, 1975)

La N-acriloxisuccinimida (NAS), figura 1.11, es un compuesto químico altamente utilizado en bioquímica, por ser un éster activo. Este promueve reacciones en un solo paso con electrófilos, ya que reacciona directamente con aminas primarias y secundarias contenidas en biomoléculas como enzimas, antígenos, anticuerpos y drogas. Este grupo succinimida es químicamente estable pero muestra alta reactividad y selectividad hacia nucleófilos amino. La NAS previamente se ha usado como un éster activo para unir proteínas por formación de enlaces amida con polilisina.

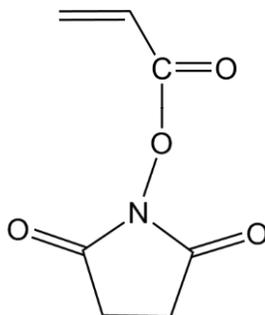


Figura 1.11. Estructura química de la N-acriloxisuccinimida.

1.5 LIPOSOMAS (Rongen, 1997, Lasic, 1998 y Lanio, 2009)

Los liposomas son vesículas microscópicas que poseen una cavidad central acuosa rodeada por una membrana lipídica formada por bicapas concéntricas (lámelas) y tienen capacidad de incorporar sustancias hidrofílicas (en el interior acuoso) o hidrofóbicas (en la membrana lipídica), tienen una estructura de membrana similar a las biológicas y por eso se utilizan ampliamente en Biotecnología como modelos de membranas (figura 1.12).

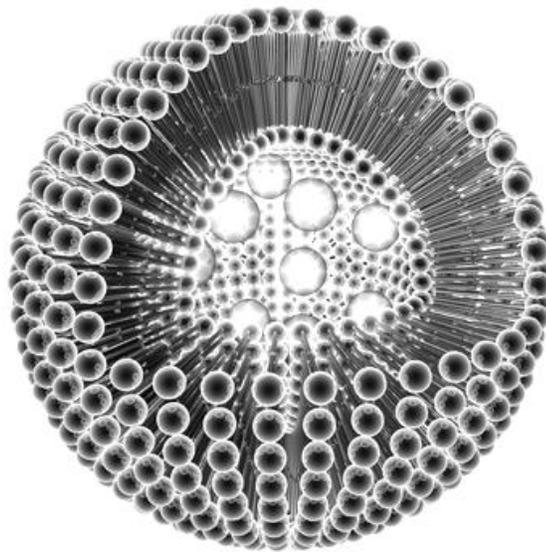


Figura 1.12. Estructura general de un liposoma

Esta particular característica, los hace de gran interés en distintos campos como la biología, química y física, debido a que se les ha encontrado diferentes aplicaciones como por ejemplo en el diagnóstico de algunas enfermedades, como dosificadores de fármacos, formulaciones cosméticas, industria alimenticia, reconstrucción de moléculas biológicas y de liberación de fármacos, siendo ésta última la más ampliamente estudiada, ya que son biodegradables, biocompatibles y no tóxicas.

1.5.1 COMPONENTES Y ESTRUCTURA DE LOS LIPOSOMAS (Lasic, 1993 y New, 1990)

FOSFOLIPIDOS

Los fosfolípidos (figura 1.13) son los componentes principales de los liposomas. Son moléculas anfifílicas, tienen una parte hidrófoba y una parte hidrofílica, cuya parte hidrófoba está constituida por dos o más colas hidrocarbonadas. Son miembros de una gran familia de ácidos grasos. Su principal característica es que juegan un papel estructural y metabólico muy importante en las células de los seres vivos.

Normalmente, están compuestos por un grupo fosfato, dos alcoholes y dos o más ácidos grasos. En un extremo de la molécula se encuentra el grupo fosfato y un alcohol. Esta zona es la cabeza polar, es decir, tiene carga eléctrica y es atraída por el agua (parte hidrófila). El otro extremo está formado por los ácidos grasos, es neutro, hidrófobo e insoluble en agua, pero soluble en grasas.

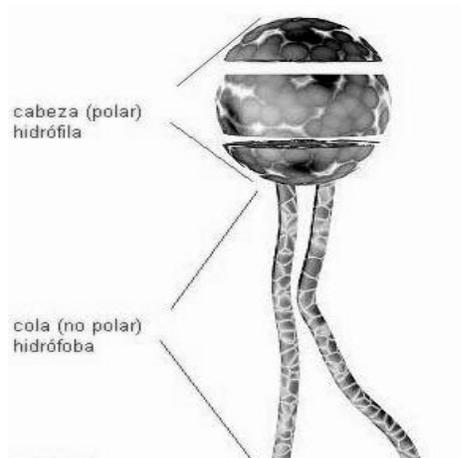


Figura 1.13 Estructura de un fosfolípido.

Las moléculas de fosfolípido se estructuran, en función de su lipofilidad, en forma de una bicapa continua de aproximadamente 5 nm de ancho. En general puede ser representado como se muestra la figura 1.14, siendo R3 la cabeza polar que confiere la carga a los fosfolípidos. En la tabla 1.2 se muestran las moléculas más frecuentes de las cabezas polares. R1 y R2 representan las dos colas hidrofóbicas que normalmente tienen entre 12 y 18 carbonos y que pueden ser hidrocarburos saturados o insaturados.

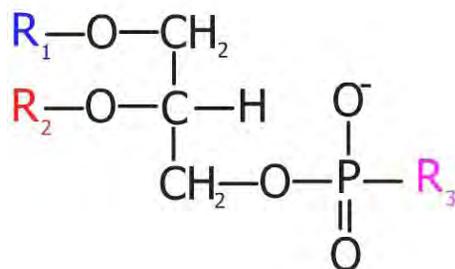


Figura 1.14. Molécula de fosfolípido.

Tabla 1.2. Regiones polares, típicas, de los fosfolípidos.

Región polar	Nombre	Abrev.	Carga
-OH	ácido fosfatídico	PA	Negativa
$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$	Fosfatidilcolina	PC	Zwiteriónico
$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_3^+$	Fosfatidiletanolamina	PE	Zwiteriónico
$-\text{CH}_2\text{CHNH}_3^+\text{COO}^-$	Fosfatidilserina	PS	Negativa
$-\text{CH}_2\text{CHOHCH}_2\text{OH}$	Fosfatidilglicerol	PG	Negativa
$-\text{HC}_6\text{H}_3(\text{OH})_3$	Fosfatidilinositol	PI	Negativa

La elección de los fosfolípidos a la hora de la preparación de liposomas debe de estar de acuerdo con el objetivo que se persigue, que en último término, es hacer viable una aplicación particular. El POPG es un fosfolípido con carga neta negativa que presenta una cadena derivada del ácido palmítico (16:0) y una cadena derivada del ácido oleico (18:1) (figura 1.15).

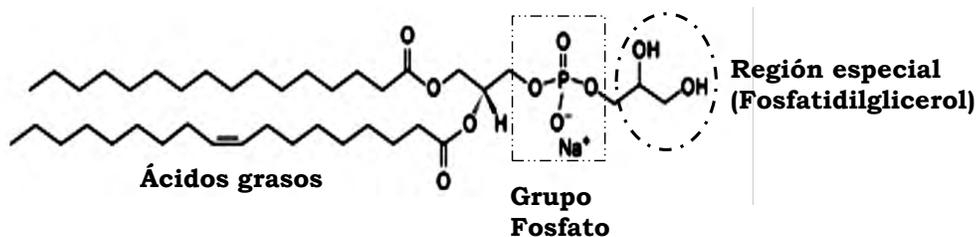


Figura 1.15. Estructura del 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfo-(1-rac-glicerol) (POPG).

1.5.2 CLASIFICACIÓN DE LOS LIPOSOMAS Y MÉTODOS DE OBTENCIÓN^(Dumitriu, 2002)

Los liposomas pueden ser caracterizados por su forma y tamaño (figura 1.16). El diámetro de los liposomas puede variar desde 25 nm hasta 10000 nm. En cuanto a su forma, pueden estar constituidos por una simple bicapa o por múltiples bicapas concéntricas.

Liposomas o vesículas multilamelares grandes (MLV): Los tamaños de estos liposomas suelen ser mayores a 1000 nm. Cada liposoma consiste en cinco o más láminas concéntricas de fosfolípidos en las que el compartimiento acuoso está muy reducido.

Liposomas o vesículas unilamelares pequeñas (SUV): Estos liposomas tienen diámetros del orden de 25-100 nm. Estos límites varían ligeramente según la fuerza iónica del medio y la composición de lípidos de la membrana. Contienen una simple bicapa y normalmente se obtienen sometiendo las vesículas multilaminares a sonicación.

Liposomas o vesículas unilamelares grandes (LUV): Surgieron debido a las limitaciones que presentaban tanto las MLV como las SUV para modelos de ciertos sistemas. Son vesículas con una simple bicapa y de diámetros entre 100-1000 nm.

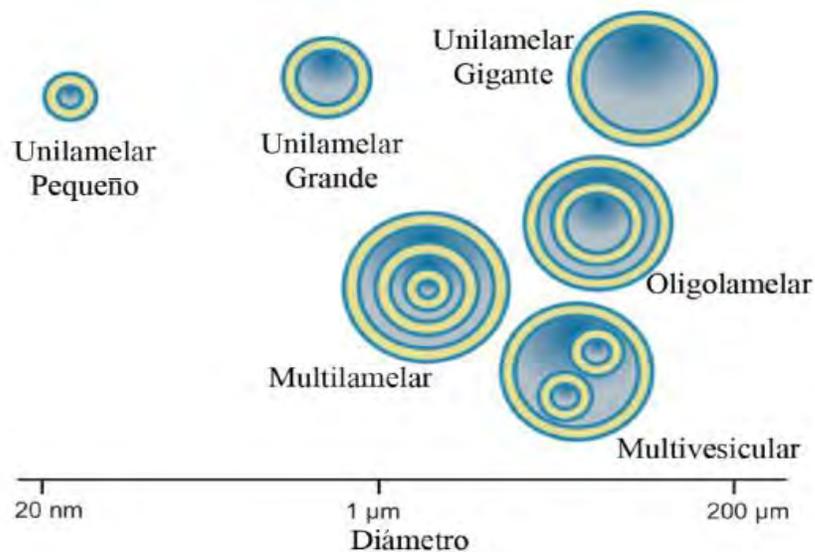


Figura. 1.16 Clasificación de los liposomas en función de su forma y tamaño.

A la hora de seleccionar los componentes y el método más adecuado para el diseño y formulación de los liposomas, con el objeto de obtenerlos con determinadas características, es esencial considerar diferentes parámetros, como:

- Cuanto más elevada es la concentración de los lípidos una mayor proporción de la fase acuosa puede ser encapsulada.
- La vida media del liposoma se incrementa cuando aumenta la dosis del lípido.
- El índice de encapsulación es más elevado cuando aumenta la dosis de lípido.
- La adición de fosfolípidos cargados incrementa la distancia entre las membranas lipídicas.

Otra variación de estudio al momento de preparar los liposomas, es la temperatura de transición de fase o temperatura de fusión (T_m), de la bicapa lipídica, figura 1.17. Abajo de la temperatura de fase los lípidos se encuentran en un estado gel cristalino, en este estado la estructura de la bicapa tiene empaquetamiento ordenado que impide la movilidad de las cadenas; al aumentar la temperatura se produce una pre-transición de fase que tiene que ver con el aumento en la movilidad rotacional de las cabezas lipídicas y la aparición de ondulaciones en la superficie de los liposomas, cuando se incrementa la temperatura por encima de la temperatura de transición de fase (T_m), los lípidos adquieren un estado de líquido cristalino o fluido, fase donde se produce movilidad y desorden de las cadenas de los ácidos, sin embargo los lípidos aún conservan un ligero orden en la bicapa. La formación de liposomas se produce a una temperatura superior a la T_m de los lípidos que los constituyen y de ahí la importancia de conocer esta temperatura. Esta temperatura es función de las propiedades fisicoquímicas de la bicapa y de la naturaleza del medio.

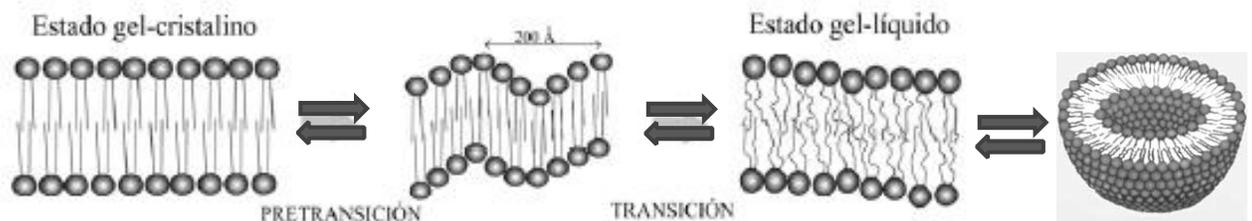


Figura 1.17. Fases de transición de las vesículas de lípidos o liposomas.

A sí pues el procedimiento de fabricación debería elegirse en cada caso concreto teniendo en cuenta sobre todo la composición, el tipo de vesícula y la naturaleza del principio activo que se pretende incluir en el sistema, en la tabla 3 se resumen los métodos comunes para preparar vesículas.

Tabla 1.3. Métodos de obtención de liposomas, ventajas y desventajas.

Técnica	Tipo de vesícula	Volumen atrapado (L/mol liposoma)	Ventajas	Desventajas
Hidratación directa (agitación mecánica)	MLV	0.5	rápida	Poco y baja eficiencia, de volumen atrapado, distribución desigual.
Hidratación directa (congelación-descongelación)	MLV	5 – 10	Rápida, alta eficiencia y alto, volumen atrapado.	Depende del soluto.
Extrusión de MLV	LUV	1 – 2	Rápida, alta eficiencia de volumen atrapado, tamaño uniforme.	Poco volumen atrapado
Sonicación	SUV	0.2 – 0.5	Rápida, tamaño pequeño	Bajo volumen atrapado, menor uniformidad de tamaño que el extruido.
Inyección de etanol	LUV/SUV	5 – 10	Conveniente	Baja solubilidad del lípido en etanol, eficiencia de atrapamiento de volumen y concentración del lípido. Se necesita remover el etanol.
Inyección de éter	MLV/LUV	5 – 10	Alta concentración de lípido, y eficiencia de atrapamiento.	Escala pequeña y tamaño heterogéneo.
Fase reversa por sonicación/evaporación rotatoria	LUV/MLV	10	Alta eficiencia de atrapamiento.	Pequeña escala, tamaño heterogéneo
Fase reversa por sonicación/evap. N ₂	MLV (SPLV)	10 – 20	Distribución uniforme del soluto.	Baja eficiencia de atrapamiento, tamaño heterogéneo.
Diálisis de detergente	SUV/LUV	0.5 – 5	Reconstitución de proteínas, alta volumen atrapado	Proceso lento, poco control del tamaño, difícil remoción, bajo volumen atrapado.

1.6 MODIFICACIÓN DE POLÍMEROS.

Cuando se injertan polímeros sobre matrices poliméricas (poliolefinas, por ejemplo) se pueden obtener sistemas con buenas propiedades mecánicas, que facilitan su manejo, por lo que una buena opción es la obtención de polímeros modificados, como mezcla de polímeros, curado e injerto^(Bhattacharya, 2004). En este estudio nos enfocaremos en métodos de injerto, ya que el interés de este trabajo es inmovilizar liposomas por las grandes ventajas que presentan; diferentes trabajos en otros sistemas^(Feng 2004, Madrigal Carballo, 2010 y Puskás, 2007) han demostrado que cuando son inmovilizados en este tipo de sistemas poliméricos, conservan su estabilidad por un periodo de tiempo más largo.

1.6.1 INJERTO ^(Bhattacharya, 2004)

El injerto es un método donde los monómeros están unidos covalentemente sobre cadenas poliméricas conocidas como sustrato soporte.

Los dos tipos de injertos más importantes son: 1) injerto con un solo monómero, esto ocurre usualmente en una sola etapa; e 2) injerto con una mezcla de dos monómeros o más, ocurre cuando se usan simultáneamente o secuencialmente los dos monómeros.

1.6.2 MÉTODOS DE INJERTO ^(Chapiro, 1960, Woods, 1994, Wilson, 1974 y Bhattacharya, 2004)

Existen varios trabajos sobre las técnicas de injerto utilizadas para la copolimerización de monómeros sobre superficies poliméricas.

1.6.2.1 Injerto por métodos Químicos

1.6.2.1 INJERTO POR MÉTODOS QUÍMICOS

La iniciación del injerto por métodos químicos significa que el injerto puede realizarse por dos vías: radicales libres y vía iónica. El rol del iniciador en estos métodos es muy importante, ya que determina la manera en que se va a llevar a cabo el injerto.

Injerto vía radicales libres: En este proceso son producidos por un iniciador y transferido al substrato para reaccionar con el monómero y así formar el copolímero injertado.

Injerto iónico: En este proceso los iniciadores comunes son suspensiones de metales alcalinos en una base de Lewis y compuestos organometálicos, los cuales propician el centro activo para injertar.

1.6.2.2 INJERTO ENZIMÁTICO

Este método es nuevo, el principio involucrado es que una enzima inicia la reacción de injerto química/electroquímica. El injerto enzimático de N-hidroxisuccinimida sobre películas de poli (dicarbazol), fue el primero que se reportó por Cosnier ^(Cosnier, 2000).

1.6.2.3 INJERTOS MEDIANTE TECNICAS DE RADIACIÓN ^(Bhattacharya, 2004)

La irradiación de macromoléculas pueden causar fisión homolítica y por lo tanto formar radicales libres en el polímero. En este caso la presencia de un iniciador no es esencial. En este caso es importante el medio en el cual se está llevando a cabo la radiación, por ejemplo, si la irradiación se lleva a cabo en aire, se forman peróxidos en

el polímero; el tiempo de vida de los radicales libres depende de la naturaleza química de la cadena principal del polímero.

INJERTO FOTOQUÍMICO

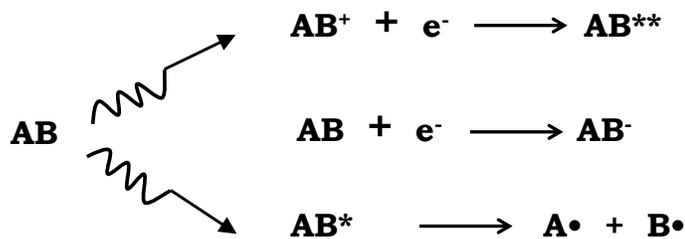
Cuando un cromóforo o una macromolécula absorben luz, cambian a un estado excitado, el cual se puede disociar en radicales libres reactivos, en donde se inicia el proceso de injerto. Si la absorción de la luz no conduce a la formación de radicales libres a través de la ruptura del enlace, este proceso puede llevarse a cabo por la adición de fotosensibilizadores. El mecanismo de injerto por la vía fotoquímica puede hacerse con y sin fotosensibilizadores, dependiendo de la estructura química del monómero. El injerto vía fotoquímica se produce en una capa muy pequeña de la superficie.

INJERTO POR PLASMA

Las condiciones de plasma, logradas con descargas suaves ofrecen casi las mismas posibilidades que la radiación ionizante. Los principales procesos en plasma son excitación electrónica inducida, ionización y disociación. Los electrones acelerados tienen suficiente energía para inducir el rompimiento de los enlaces químicos en la estructura polimérica, para formar los radicales macromoleculares, y posteriormente iniciar la copolimerización de injerto. En este caso el injerto se produce en una capa muy pequeña de la superficie.

INJERTO POR RADIACIÓN IONIZANTE

En las últimas cuatro décadas, el uso de la radiación ionizante como fuente de energía en los procesos de polimerización ha ido en crecimiento. Este método puede efectuarse por mecanismo iónico o de radicales libres (esquema 1.1).



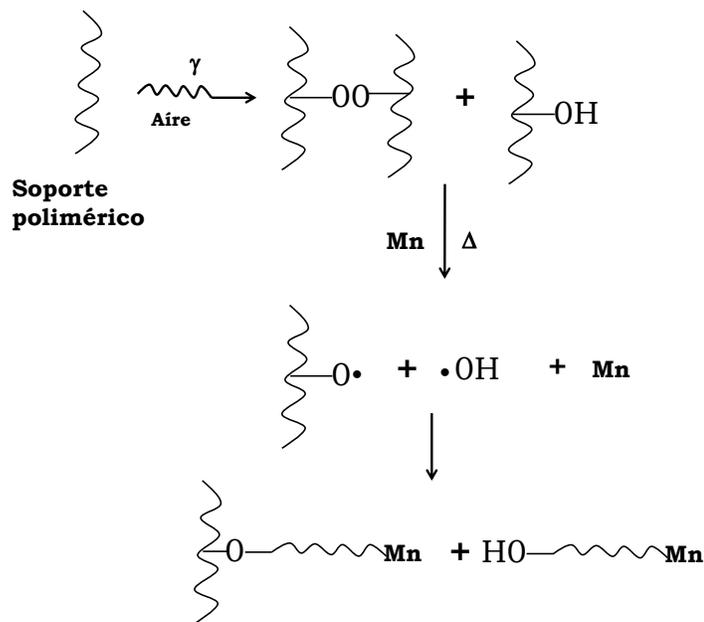
Esquema 1.1. Irradiación de moléculas. Dónde AB es la molécula; AB⁺ y AB⁻ son los iones; AB^{**} y AB^{*} son las moléculas excitadas; (·) = radical libre.

La radiación causa el fenómeno de excitación y ésta se libera mediante su fisión homolítica y así se forman radicales libres en los polímeros. En la técnica de irradiación, la presencia de un iniciador no es esencial, lo más importante es el medio en que se va llevar a cabo la reacción; los métodos principales por los que se puede injertar son tres:

- a) *Método de preirradiación:* primero se irradia el polímero (P) en vacío o en presencia de un gas inerte para formar los radicales libres, y después es tratado con un monómero (M), en estado líquido o vapor o en solución con un solvente apropiado.

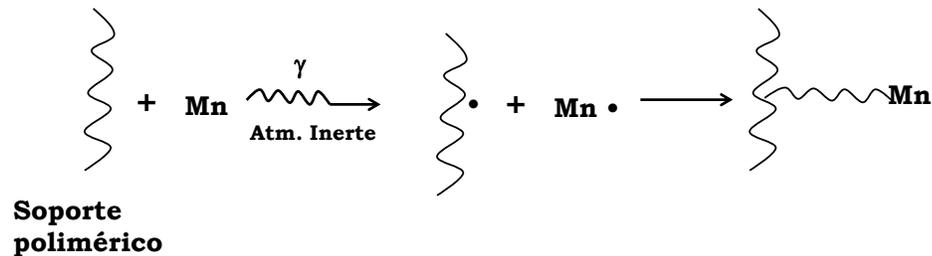


b) *Método de preirradiación oxidativa*: el polímero es sometido a altas energías de radiación en presencia de aire u oxígeno para formar hidroperóxidos o diperoxidos, esquema 1.2. Los peróxidos formados son calentados en presencia de los monómeros (pero en ausencia de aire), hidroperóxidos o diperoxidos se descomponen para formar los radicales, los cuales inician el injerto. Una de sus ventajas es que pueden ser almacenados a bajas temperaturas por periodos largos antes de iniciar el injerto. La desventaja es que los radicales hidroxilos inducen a la formación de homopolímero.



Esquema 1. 2. Esquema del método de preirradiación oxidativa. Donde el POOH es el hidroperóxido y el POOP es el peróxido.

c) *Método directo*: el polímero y el monómero son irradiados simultáneamente, para formar radicales libres, esquema 1.3.



Esquema 1.3. Esquema del método de irradiación directa.

Injerto iónico: Este injerto puede proceder también por vía iónica, con la formación de iones a través de la irradiación de altas energías. El injerto iónico por radiación puede ser catiónico o aniónico. Este método consiste en irradiar al polímero para formar un polímero iónico y después reaccionar con el monómero para formar el copolímero de injerto. La ventaja de este método es que su velocidad de reacción es alta y dosis pequeñas de radiación son suficientes para llevar a cabo el injerto y su desventaja es que se debe de realizarse a bajas temperaturas, con secado muy riguroso y a intensidades de radiación muy altas.

1.6.3 FACTORES QUE INFLUYEN EN EL INJERTO (Bhattacharya, 2004 y Nasef, 2004)

1.6.3.1 Monómero

La reactividad del monómero es importante en el injerto y depende de varios factores como su naturaleza polar y estérica, hinchamiento de la cadena polimérica en presencia de los monómeros y concentración de monómeros.

La copolimerización de injerto con una mezcla de monómeros es un proceso complejo a diferencia del injerto de un monómero debido a efectos sinérgicos resultantes por las diferencias en las reactividades de ellos.

De la ecuación cinética general ($V = K[I][M]$; $K = \text{cte}$ $I = \text{iniciador}$, $M = \text{monómero}$) conocemos que para todos los casos la velocidad de injerto se incrementa al aumentar la concentración, sin embargo, ésta no necesariamente es lineal, sino que puede ser mayor o menor de acuerdo al sistema. En general, la eficiencia del injerto dependerá de la concentración del monómero.

1.6.3.2 Intensidad y Dosis de radiación.

A altas intensidades (dosis de radiación por unidad de tiempo) la polimerización vía radicales decrece debido a la recombinación de los radicales producidos. A altas dosis de radiación la velocidad de polimerización se incrementa debido a un proceso de autoaceleración, lo cual depende de la naturaleza del monómero y de la intensidad de la radiación. La autoaceleración es causada por incremento de viscosidad en el sistema y puede ocasionar un posible incremento de la velocidad de terminación del proceso de polimerización pero no afecta la velocidad de propagación de la cadena. La

autoaceleración también se debe a la formación de nuevos radicales no sólo en el monómero sino además en el polímero en formación.

1.6.3.3 Temperatura

La temperatura es uno de los factores más importantes que controlan la cinética de la copolimerización de injerto. En general, la velocidad de injerto aumenta cuando aumenta la temperatura, hasta llegar a cierto límite. Esto debido a que el proceso de difusión del monómero en la cadena base es más rápido al aumentar la temperatura, facilitando así el injerto. Los peróxidos se descomponen más rápidamente al aumentar la temperatura.

1.7 RADIACIÓN (Woods, 1994, Wilson, 1974, Navarrete, 1993 y Chapiro, 1962)

La radiactividad fue descubierta en 1896 por Henri Becquerel, como consecuencia directa del descubrimiento de los rayos X por Röntgen, algunos meses antes. Es un proceso natural causado por cambios en los núcleos inestables.

La química de radiaciones es definida como el estudio de los efectos químicos producidos por el paso de la radiación ionizante a través de la materia.

El espectro electromagnético se divide según su frecuencia y energía en radiación ionizante y no ionizante. En la figura 1.18 se presenta el espectro electromagnético donde se observa los tipos de radiaciones.

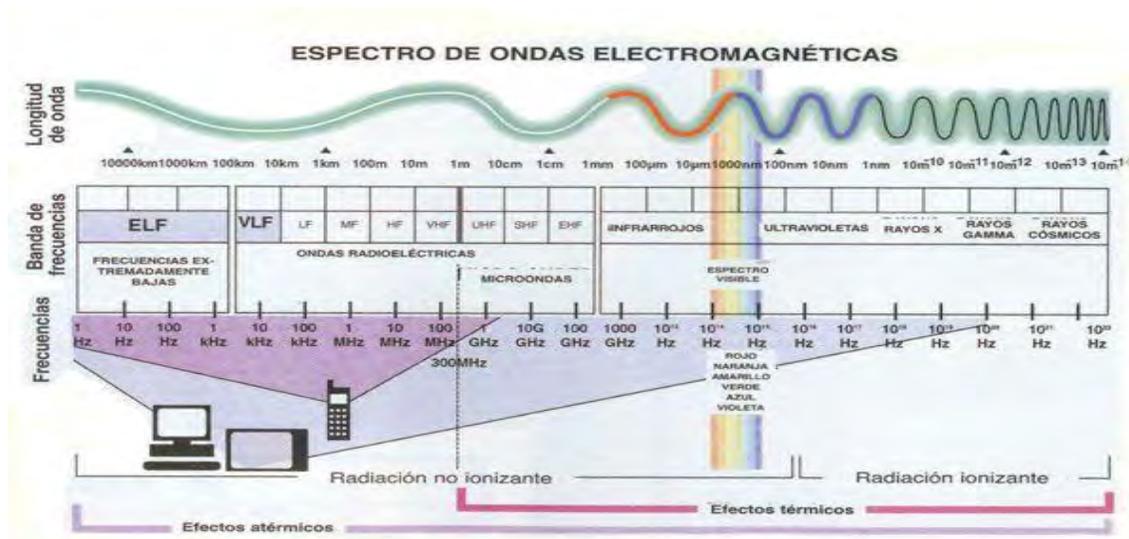


Figura 1.18. Espectro Electromagnético

Radiación no ionizante: incluye todo espectro de radio, infrarrojo y luz visible. Se extiende desde 1 Hz hasta 3×10^{16} Hz. Se caracterizan por ser de baja energía y valores grandes de longitud de onda. Las radiaciones no ionizantes, aun cuando sean de alta intensidad no pueden causar ionización

Radiación ionizante: La radiación correspondiente a esta zona va desde la radiación ultravioleta de origen solar, pasando por los rayos X usados en medicina hasta los rayos gamma producto de procesos radiactivos. Esta se extiende desde los 3×10^{16} Hz hasta por encima de 1×10^{24} Hz. Tiene altas energías, longitud de ondas pequeñas y tiene la capacidad de ionizar medios

Ernest Rutherford, estudió la naturaleza de la radioactividad y encontró tres tipos de radiación ionizante:

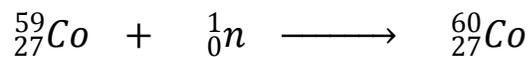
- Partículas alfa (α): Consisten de partículas cargadas positivamente, emitida por radionuclidos pesados. Son núcleos de Helio, tiene una masa de 4 uma. Posee dos protones y dos neutrones.
- Partículas beta (β): Son partículas cargadas negativamente, (electrones); son más livianas que las partículas alfa, prácticamente no tienen masa.
- Rayos Gamma (γ): Radiación electromagnética, haz de fotones de alta energía. No tienen carga eléctrica y su masa es de aproximadamente cero, es la radiación de mayor energía.

1.7.1 FUENTES DE RADIACIÓN GAMMA (Woods, 1994, Wilson, 1974 y Charlesby, 1960)

La radiación gamma (γ), como ya se mencionó, es un tipo de radiación electromagnética producida generalmente por elementos radiactivos y procesos subatómicos como la aniquilación de un par positrón-electrón. Este tipo de radiación tan energética también es producida en fenómenos astrofísicos en el espacio interestelar. En esta tesis se le pone particular énfasis debido a que fue la que se utilizó para llevar a cabo la reacción de injerto.

Los rayos gamma carecen de carga eléctrica, por lo tanto, no sufren grandes desviaciones en su trayectoria. Debido a esto, son capaces de penetrar en la materia más profundamente que la radiación alfa o beta. Dada su alta energía pueden causar grave daño al núcleo de las células, por lo que son usados para esterilizar equipos médicos y alimentos.

Los radioisótopos artificiales cobalto-60, y menos frecuentemente el Cesio-137 son usados como fuentes de radiación gamma. El cobalto-60 es el más usado como fuente de radiación gamma en la actualidad, esto debido a su disponibilidad, alta energía de los rayos gamma y una vida media de 5.27 años. Este es producido por la exposición del cobalto natural (cobalto-59) a un flujo de neutrones, como se observa en la siguiente reacción:



La representación gráfica de la desintegración radiactiva de cada núclido se presenta en un esquema de decaimiento (figura 1.19).

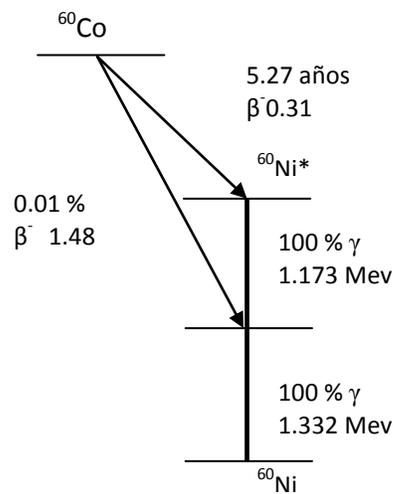


Figura 1.19 Esquema de decaimiento del Cobalto-60 ^(Navarrete, 1993)

El cesio-137 es separado de la mezcla de productos obtenidos en un reactor nuclear por fisión. El radioisótopo está disponible en la forma de cloruro con actividades del orden de 25 Ci g⁻¹.

El cesio- 137 a diferencia del cobalto-60 tiene una vida media de 30.17 años, lo cual le da la ventaja de reemplazar la fuente con menos frecuencia. Sin embargo, el cobalto-60 se prefiere para aplicaciones industriales debido a que tiene una energía de emisión más alta, 1.25 Mev, comparada con 0.66 Mev del cesio- 137, lo cual disminuye costos y tiempo.

1.7.2 INTERACCIÓN DE LA RADIACIÓN CON LA MATERIA ^(Woods, 1994, Wilson, 1974 y Navarrete, 1993)

La energía ionizante transferida o depositada en la materia, produce un efecto sobre los átomos que la constituyen y cambia sus propiedades, según el tipo de radiación y cantidad de energía disipada. La radiación choca con las moléculas, causando ionización (formación de iones) y excitación, las moléculas excitadas pierden su energía mediante la formación de radicales libres (moléculas con electrones sin aparear, no tienen carga).

Los principales mecanismos de interacción de la radiación ionizante con la materia son:

Efecto fotoeléctrico: Es la interacción de un fotón que incide sobre los electrones de un átomo, el fotón desaparece totalmente y se desprende el electrón de un átomo, llamado fotoelectrón, este efecto se realiza en las capas electrónicas interiores, o sea K, L, M y

N. Si la energía suministrada es superior a la energía de ligadura del electrón al átomo, aquel es expulsado. Si el lugar vacante es ocupado por un electrón externo, se puede liberar la energía sobrante en forma de rayos X (fenómeno de fluorescencia), figura 1.20.

Este mecanismo es dominante cuando la energía de los rayos γ es baja, (inferior a los 50 keV para el aluminio y a los 500 keV para el plomo; < 0.1 MeV) y sustancias absorbentes de alto número atómico.

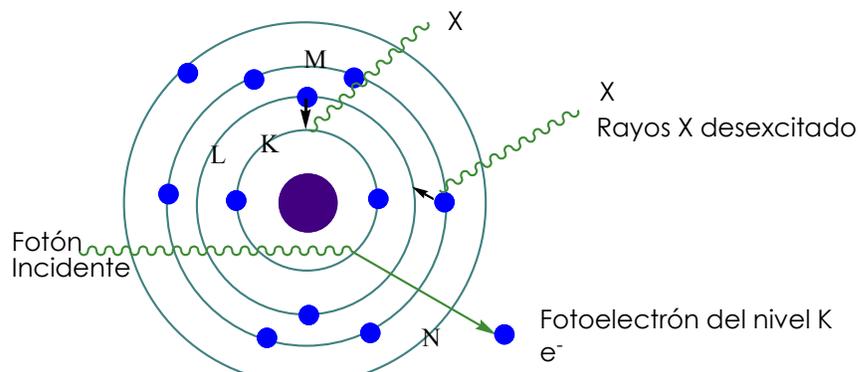


Figura 1.20. Efecto Fotoeléctrico.

Efecto Compton: Ocurre cuando el fotón incidente, cede parte de su energía a un electrón periférico. El resultado es un fotón de menor energía y un electrón desviado de su órbita (figura 1.21). Constituye el mecanismo de absorción más importante para radiación γ con energías entre 0,5 y 5 MeV, así como con materiales con número atómico bajo.

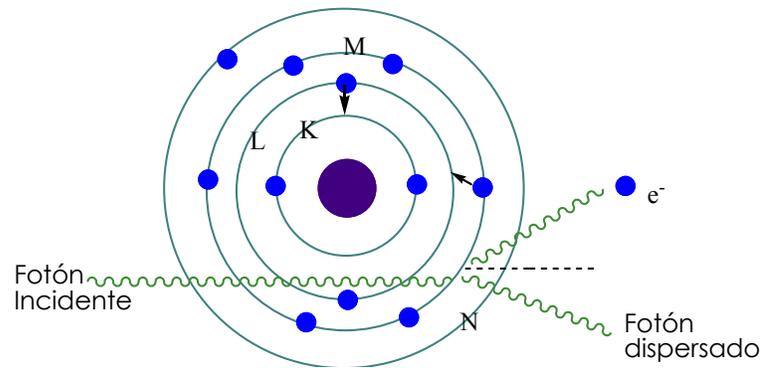


Figura 1.21. Efecto Compton.

Producción de pares: En las cercanías de un núcleo, el rayo gamma se materializa en un par electrón – positrón. La energía mínima para producir este efecto es 1.02 MeV, equivalente a dos veces la masa del electrón. Consiste en la transformación de un rayo gamma en un par electrón-positrón, por la interacción del fotón con el campo magnético del núcleo. Para que se produzca debe haber un núcleo o electrón cerca, para que se cumplan los principios de conservación de la energía y el impulso (figura 1.22). El proceso tiene importancia a energías elevadas y con elementos pesados.

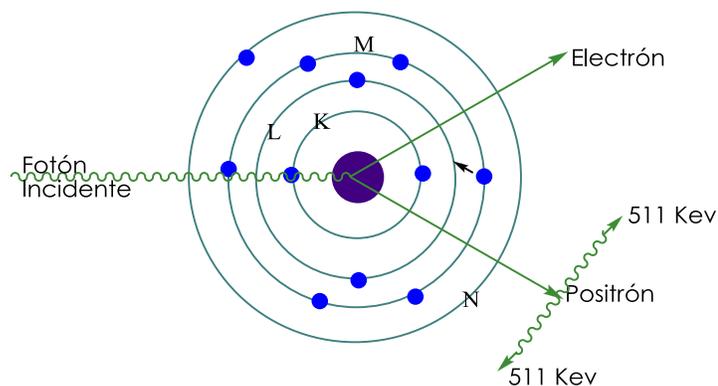


Figura 1.22. Efecto de producción de pares.

1.7.3 EFECTOS DE RADIACIÓN EN POLÍMEROS: RETICULACIÓN Y DEGRADACIÓN (Wilson, 1974, Chapiro, 1962 y Ivanov, 1992)

La formación de enlaces intermoleculares y la degradación de moléculas poliméricas es un proceso por lo general irreversible, dando lugar a cambios en la estructura y en las propiedades. Los cambios químicos más importantes que produce la radiación ionizante en los polímeros son el entrecruzamiento y la degradación. Charlesby y Lawton observaron que los polímeros se pueden entrecruzar o degradar dependiendo de su naturaleza química. (Ivanov, 1992)

Entrecruzamiento o Reticulación: es la formación moléculas tridimensionales, con incremento en su peso molecular e insolubles en solventes usuales del polímero. En la cual hay un decremento en el movimiento rotacional, y también el material se vuelve casi infusible, si la temperatura no se aumenta considerablemente por arriba de su punto de fusión normal.

Degradación: Los principales métodos de degradación de polímeros son: 1) la degradación química; 2) la degradación térmica; 3) degradación por radiación y 4) biodegradación.

La degradación por radiación sucede cuando las cadenas del polímero sufren rompimientos al azar con el aumento de la dosis de radiación y se caracteriza por el constante decremento del peso molecular. La degradación por radiación en muchos de los polímeros y materiales poliméricos es observada principalmente en:

- Macromoléculas que contienen átomos de carbono cuaternarios.
- En polímeros que sufren fácilmente despolimerización en termólisis con la formación de un monómero puro.

- En cadenas de hidrocarburos ramificados.
- En polímeros con grupos -O-C-O- repetidos (acetales) en la cadena o que el -O- esté presente como puente en la cadena principal.

1.8 TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN

1.8.1 ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO (FTIR-ATR) (Requena, 2004 y Schrader, 1995)

La espectroscopia infrarroja es un tipo de espectroscopia vibracional donde se analizan las vibraciones moleculares; por lo cual la absorción de radiación en el infrarrojo se limita en gran parte, a especies moleculares para las cuales existen pequeñas diferencias de energía entre los distintos estados vibracionales y rotacionales. Es importante que haya un cambio neto en el momento dipolar como consecuencia de su movimiento de vibración o de rotación, para que la molécula absorba radiación en el infrarrojo.

Una parte del espectro electromagnético que se extiende desde 0.8 a 1000 μm (que corresponde al número de onda de 13000 a 10 cm^{-1}), se considera como la región del infrarrojo la cual está dividida en tres regiones:

- a) Infrarrojo cercano (13000 a 4000 cm^{-1})
- b) Infrarrojo fundamental o medio (4000 a 400 cm^{-1})
- c) Infrarrojo lejano (400 a 10 cm^{-1})

Pero en la práctica se utiliza el infrarrojo fundamental o intermedio, ya que casi todos los grupos funcionales absorben en esta región. Para fines prácticos, solamente se consideran los procesos de absorción de energía radiante por parte de la materia que

afectan a las vibraciones fundamentales de las moléculas, sus armónicos o sobretonos y combinaciones, vibraciones de enlace de hidrógeno, movimientos reticulares de los cristales, rotaciones internas de las moléculas, rotaciones de moléculas ligeras, etc.

La espectrometría de infrarrojo, estudia la interacción entre la radiación infrarroja y la materia, por lo que es sumamente útil para determinar estructuras moleculares a partir de sus grupos funcionales tanto de compuestos orgánicos como inorgánicos. Así, la interacción de radiación con la materia se va a medir con el espectrofotómetro de infrarrojo (figura 1.23).

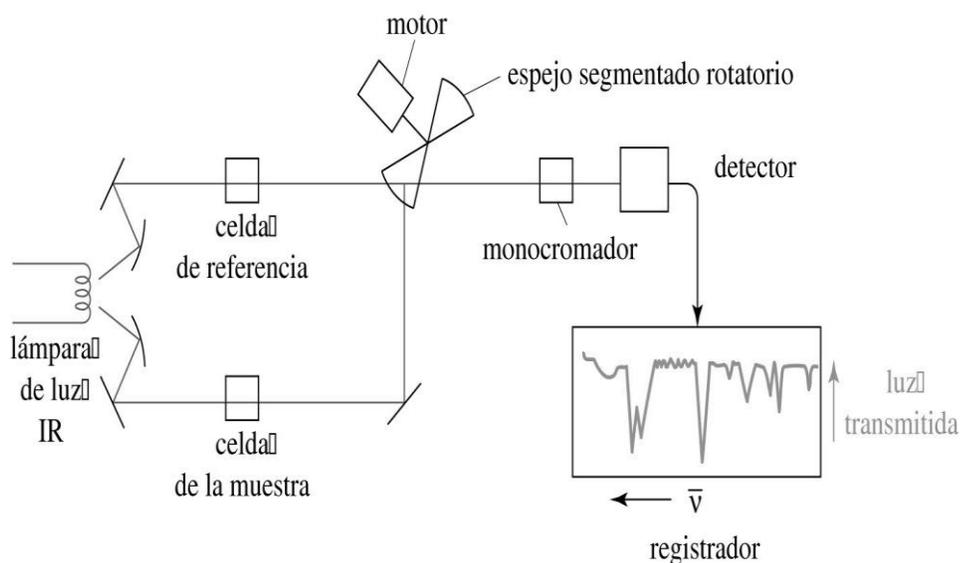


Figura 1.23. Espectrofotómetro de infrarrojo.

Para la técnica de ATR (Reflectancia Total Atenuada) se utiliza un dispositivo en el que la radiación infrarroja incide sobre 4 espejos, lo que propicia que el haz incida sobre el cristal. El cambio de índice de reflexión en la superficie del cristal causa que el haz sea reflejado varias veces a lo largo del cristal y finalmente se dirija hacia el

detector. Como la muestra está en contacto con la superficie del cristal, el rayo interacciona con ésta en algunos puntos y sólo penetra unas cuantas micras del material. Por lo tanto el análisis es representativo únicamente de la capa superficial. El cristal que se utiliza como soporte de las muestras es de selenuro de zinc (ZnSe) ya que no absorbe radiación por arriba de 700 cm^{-1} o de diamante que no absorbe.

1.8.2 ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA – VISIBLE (Gunzler, 2001 y Requena, 2004)

Muchas moléculas orgánicas y grupos funcionales son transparentes en la región del espectro electromagnético en la región llamada ultravioleta (UV) – Visible (VIS). El principio de la espectroscopia ultravioleta-visible involucra la absorción de radiación ultravioleta – visible por una molécula, causando la promoción de un electrón de un estado basal a un estado excitado, liberándose el exceso de energía en forma de calor. La longitud de onda (λ) comprende entre 190 y 800 nm.

Cuando un haz de radiación UV-Vis atraviesa una disolución conteniendo un analito absorbente, la intensidad incidente del haz (I_0) es atenuada hasta I . Esta fracción de radiación que no ha logrado traspasar la muestra es denominada transmitancia (T) ($T=I/I_0$). Por aspectos prácticos, se utilizará la absorbancia (A) en lugar de la transmitancia ($A=-\log T$), por estar relacionada linealmente con la concentración de la especie absorbente según la Ley de Beer-Lambert:

$$A=\epsilon lc$$

Donde ϵ es el coeficiente de absortividad molar, l distancia que atraviesa la luz (1 cm) y c es la concentración de la especie absorbente.

Un espectrofotómetro de UV- VIS está compuesto (figura 1.24) por una lámpara, un monocromador y un detector. Las lámparas que usualmente se usan son, de deuterio que emite radiación electromagnética en la región ultravioleta del espectro y otra lámpara de tungsteno que se usa para la región visible del espectro; la función del monocromador es descomponer el haz de luz en sus longitudes de onda componentes. El espectrofotómetro mide la absorbancia de una muestra en los espectros de luz ultravioleta y visible (200 a 850 nm). Su proceso consiste en descomponer el haz de luz emitido por la lámpara con el monocromador, luego la luz pasa por una hendidura, que ya tiene una longitud de onda dada para que posteriormente este haz atraviese la muestra y llega al detector donde es medida ya sea la luz absorbida o transmitida.

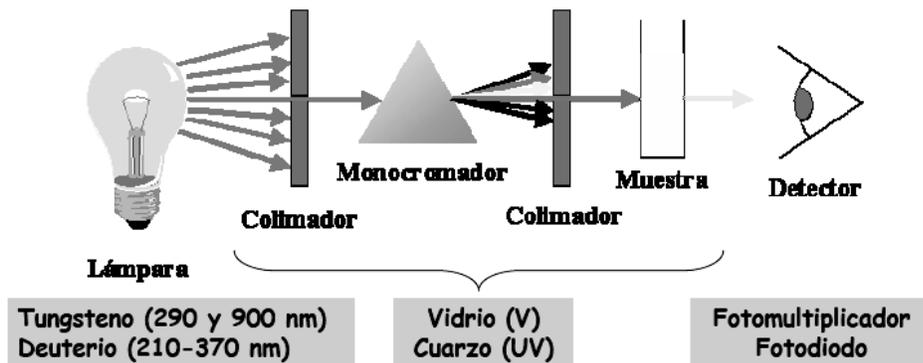


Figura 1.24. Diagrama del espectrofotómetro UV-VIS.

1.8.3 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) (Keyse, 1998 y Craver, 1990)

Es una técnica en la que se forma la imagen de región microscópica de la superficie de una muestra. Esto se logra cuando un haz de electrones entre 5 y 10 nm choca con el material. La interacción de los electrones con la muestra produce varios fenómenos: los electrones retrodispersados de alta energía, electrones secundarios de baja energía y absorción de electrones, los cuales pueden producirse en su conjunto como una corriente en la muestra, rayos X y luz visible. Una fracción de los electrones emitidos pueden ser colectados por detectores apropiados y ser usados para modular el brillo o claridad de un cátodo (CRT) cuyas entradas son manejadas en sincronismo con los voltajes del haz de electrones (figura 1.25). Uno de los detectores más comunes es el de electrones secundarios. Los mismos emitidos desde la muestra como consecuencia de las ionizaciones surgidas de las interacciones inelásticas. Por esta razón, poseen baja energía (50 eV) y brindan una imagen de la morfología superficial de la muestra.

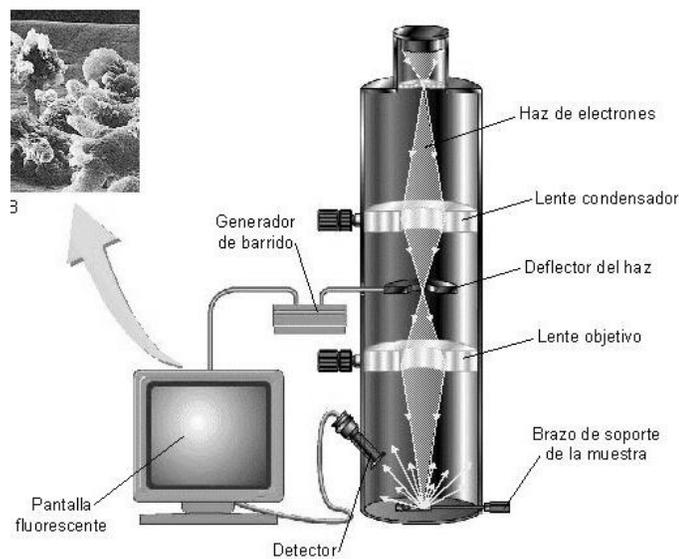


Figura 1.25. Diagrama de funcionamiento del SEM.

1.8.4 MICROSCOPIA DE TRANSMISIÓN ELECTRÓNICA (TEM)^(Keyse, 1998 y Craver, 1990)

La microscopía de transmisión electrónica (figura 1.26) se basa en un haz de electrones que manejado a través de lentes electromagnéticas se proyecta sobre una muestra muy delgada situada en una columna de alto vacío. Debido a que los electrones tienen una longitud de onda mucho menor que la de la luz pueden mostrar estructuras mucho más pequeñas. El TEM utiliza como fuente de iluminación un haz electrónico que es dirigido y focalizado mediante lentes electromagnéticas. Este proceso se realiza en el interior de una columna en condiciones de alto vacío, de forma que los electrones acelerados siguen trayectorias rectas salvo que interaccionen con los átomos presentes en la muestra. El choque de los electrones con los átomos de la muestra provoca que éstos pierdan velocidad y varíen su trayectoria. Los electrones que no chocan con la muestra se proyectan sobre una pantalla fluorescente, placa fotográfica o CCD de una cámara formando imágenes reales. Al formarse la imagen, las zonas que más desvían los electrones aparecerán más oscuras que las que desvían menos.

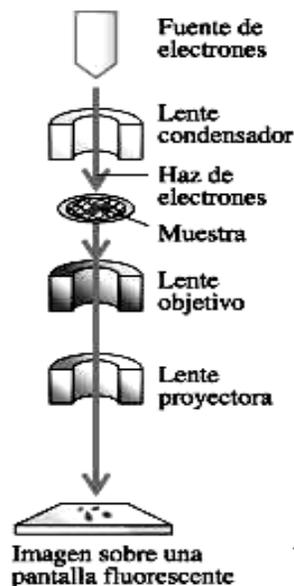


Figura 1.26. Diagrama esquemático del equipo TEM.

1.8.5 CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC) (McNaughton, 1975 y Hatakeyama, 1994)

Esta técnica mide los efectos térmicos relacionados con cambios físicos o químicos de una sustancia cuya temperatura se aumenta o disminuye a velocidad constante. El registro consiste en la representación, en función del tiempo, de la diferencia de energía que es necesario suministrar a la muestra problema y a la referencia para mantenerlas a la misma temperatura. Esta diferencia de energía que es necesario suministrar a la muestra problema y a la referencia para mantenerlas a la misma temperatura, es equivalente a la energía térmica absorbida o disipada en el curso de la transición por el material.

El equipo se compone de dos platillos de calentamiento, en uno se coloca la muestra y en el otro la referencia, el cual permanece vacío. Lo que mide el equipo es el calor adicional que debe suministrarse a la muestra para que ésta tenga la misma temperatura que la de referencia (figura 1.27).

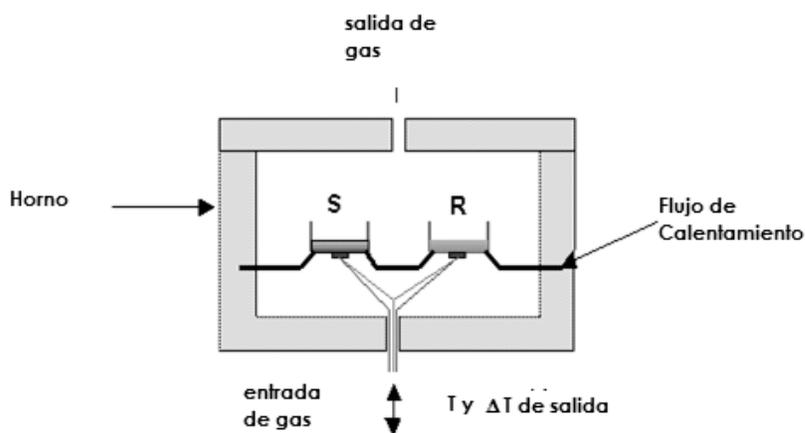


Figura 1.27. Esquema de una celda de DSC.

Con esta técnica se pueden analizar muestras sólidas o líquidas. La magnitud de la muestra debe de ser del orden de 1 a 10 mg; tiene como ventaja corridas a alta velocidad. Tiene una alta resolución dando muy buenos resultados cuantitativos, produce formar regulares en la respuesta y permite un buen contacto con la muestra con atmósfera controlada y una mejor remoción de productos de descomposición.

Entre los datos que se pueden obtener con esta técnica están; temperatura de fusión, temperatura de transición vítrea, temperatura de cristalización y temperaturas de descomposición, calores específicos así como energía de activación y entropías de transición.

1.8.6 ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO (TGA) (McNaughton, 1975, Hatakeyama, 1994 y Brown, 1998)

El análisis termogravimétrico es una técnica que se ha usado ampliamente en el estudio de sistemas poliméricos, y consiste en el monitoreo de la pérdida de peso de la muestra como función de la temperatura o como función del tiempo. El TGA es usado para caracterizar la descomposición y la estabilidad térmica de materiales bajo varias condiciones, y para estudiar la cinética de los procesos físico-químicos que ocurren en la muestra.

Los elementos principales del TGA son una microbalanza, un horno, un programador de temperatura y un instrumento que registre simultáneamente los datos de esos dispositivos, figura 1.28.

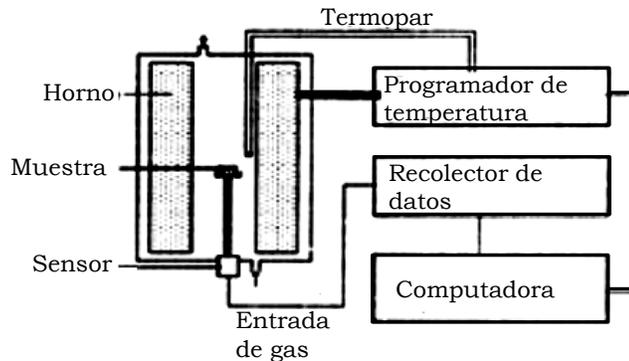
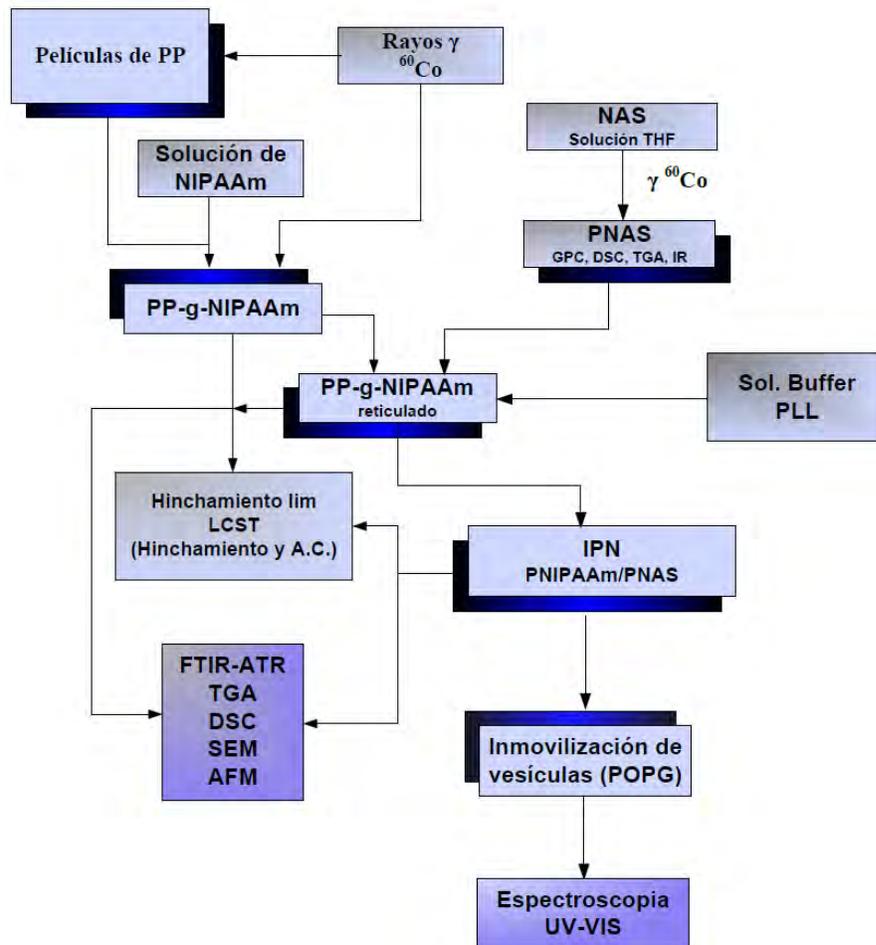


Figura 1.28. Diagrama de una termobalanza de TGA.

La muestra (desde 1 mg hasta 100 mg) es colocada en una charola, que puede ser de platino, aluminio, cuarzo o cerámica, la cual es montada en el brazo de pesada de la balanza. Estos son colocados en un horno que a su vez es controlado por un programador de temperatura o tiempo y lo que se va registrando es la pérdida de peso en función de la temperatura o el tiempo.

CAPÍTULO II. DESARROLLO EXPERIMENTAL

La síntesis de la red interpenetrada (IPN) de NAS/NIPAAm sobre PP y reticulada con polilisina se obtuvo por el método secuencial, mediante radiación gamma de Co-60. La parte experimental del proyecto de investigación se llevó a cabo bajo el siguiente plan de trabajo, esquema 2.1.



Esquema 2.1. Esquema general de la parte experimental.

2.1 Materiales y Reactivos.

Los reactivos y disolventes utilizados fueron los siguientes: N-Acrlaxisuccinimida (NAS), N-Isopropilacrilamida (NIPAAm), N-hidroxisuccinimida, ácido 2-morfolinoetanosulfónico (MES), bromhidrato de polilisina (Mw 500-2000 g/mol), 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfo-(1-rac-glicerol) (POPG), colesterol (CH), tetrahidrofurano (THF), dimetilformamida (DMF), de la marca Sigma-Aldrich. El hexano y tolueno de la marca J. T. Baker. El polipropileno isotáctico (PP) con el que se trabajó fue obtenido de PEMEX con 71% de cristalinidad y con 60 μm de espesor, cuyo punto de fusión es de 173°C ^(Brandrup 2005), peso molecular número promedio, $\overline{M}_n = 39000$ g/mol.

2.2 Síntesis de la primera red *net*-(PP-g-NIPAAm)

Para obtener la primera red, se lleva a cabo el injerto de la N-isopropilacrilamida sobre las películas de PP, por el método de preirradiación oxidativa y posteriormente se entrecruza la PNIPAAm injertada por método directo con rayos gamma de Co60.

2.2.1 Injerto de la NIPAAm sobre películas de PP (PP-g-NIPAAm).

Antes de llevar a cabo la síntesis de injerto es necesario que las películas de PP y el NIPAAm sean tratados: Las películas de polipropileno de espesor de 60 μm , fueron cortadas en piezas de 1.2 cm x 4 cm (4.8 cm²). Una vez cortadas se sometieron a un proceso de extracción con metanol, durante 30 minutos con agitación constante. Posteriormente, se secaron a vacío y se guardaron en una bolsa de polietileno hasta su

uso. Para la purificación del NIPAAm se realiza una recristalización con una mezcla de hexano/tolueno (50/50 %V), mediante la siguiente secuencia:

- ◆ Se calienta la mezcla de disolventes hasta 40 °C, posteriormente se agrega la NIPAAm con agitación constante hasta que se disuelva por completo.
- ◆ La NIPAAm disuelta se cristaliza disminuyendo la temperatura hasta los 0°C.
- ◆ Cuando se tiene cristalizado el producto, se filtra al vacío y se repite el paso anterior.
- ◆ Los pasos 2 y 3 se repiten hasta que la NIPAAm no se vea con color amarillento, y se seca a vacío para retirar todo el posible disolvente que pueda contener.
- ◆ Se almacena en un lugar seco y oscuro para evitar la homopolimerización.

Una vez que se tiene el monómero y las películas preparados se procede a formar el injerto de la siguiente manera (figura 2.2):

- ◆ Se irradiaron las películas de polipropileno (PP) (en el irradiador Gammabeam 651-PT, figura 2.1) en presencia de aire.
- ◆ Se pesaron las películas de PP preirradiadas y después se pasaron a las ampollitas de vidrio.
- ◆ Se preparó una disolución con una concentración de 1 M de NIPAAm, utilizando como disolvente agua destilada. Se agrega a cada ampollita 5 mL de esta disolución.
- ◆ Se burbujan la ampollitas con argón durante 20 minutos para eliminar el aire presente en la ampollita, e inmediatamente después de sella la misma.

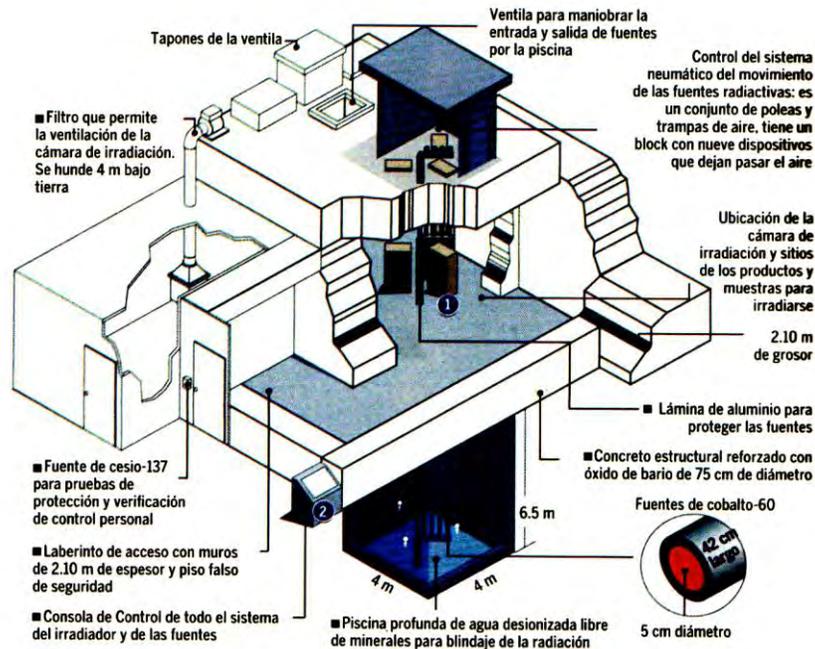


Figura 2.1. Irradiador Gammabeam 651-PT.

- ◆ Una vez desoxigenada, la solución de la ampollita y sellada, se procede a injertar el NIPAAm en la película de PP; colocando las ampollitas en un baño maría a 70°C a diferentes tiempos de reacción.
- ◆ Después del calentamiento se abren las ampollitas y las películas injertadas se ponen en agitación con agua destilada, hasta extraer todo homopolímero y monómero que no reaccionó.
- ◆ Las películas limpias se secan a vacío hasta peso constante. Por diferencia de pesos se establece el porcentaje de injerto.

$$\% \text{ Injerto} = \frac{W - W_0}{W_0} \times 100 \quad 2.1$$

Dónde: W = Peso película injertada, W₀ = Peso película sin injertar

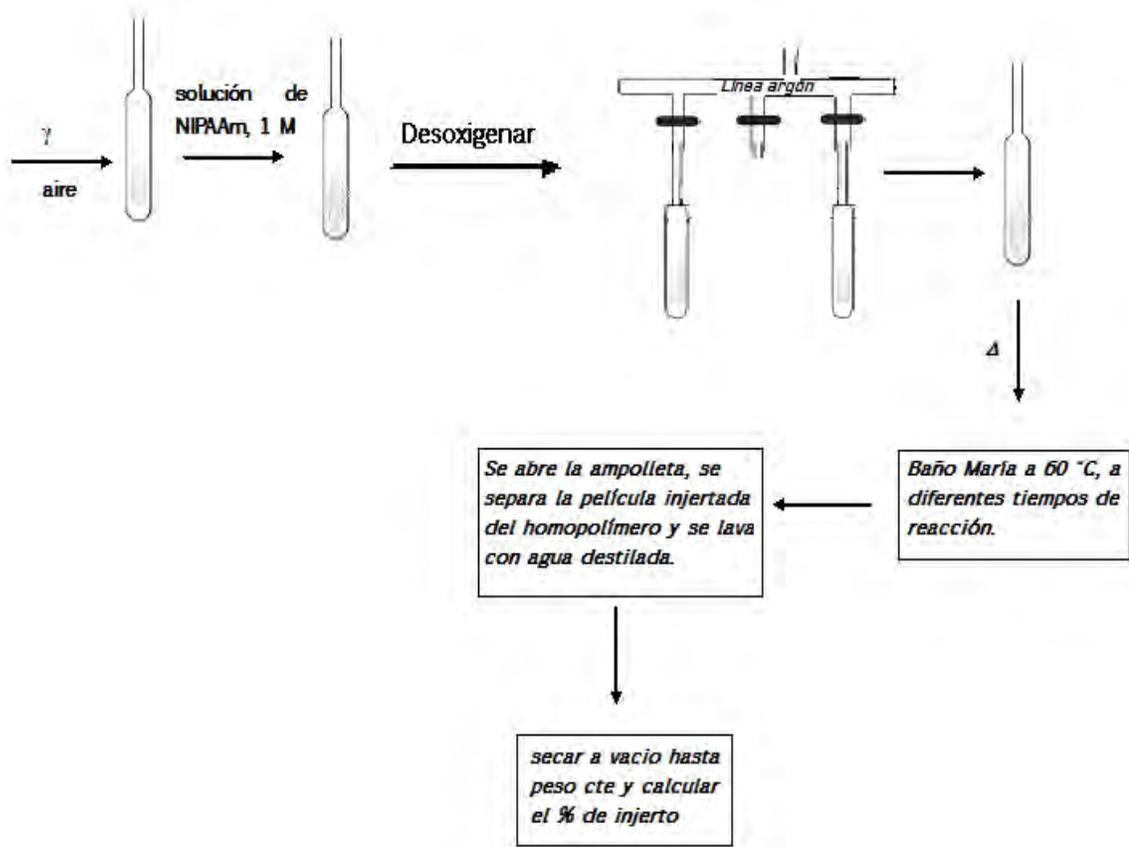


Figura 2.2. Diagrama de bloques del desarrollo experimental.

2.2.2. Entrecruzamiento de la PNIPAAm injertada en PP *net*-(PP – g – NIPAAm)

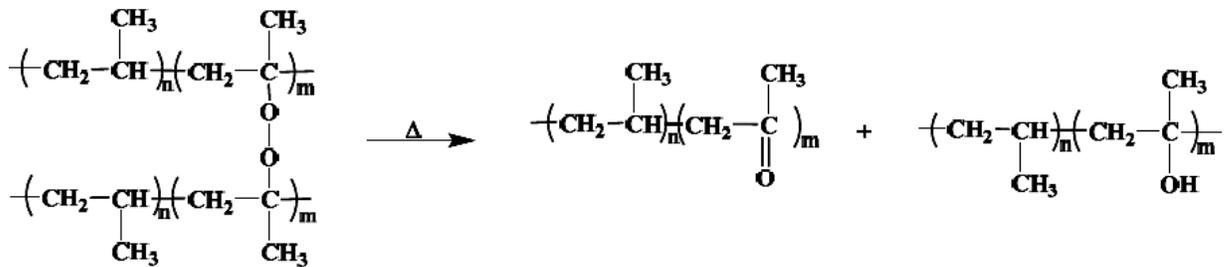
Para la reticulación del sistema de PNIPAAm injertado en PP, se usó el método de irradiación directo en atmósfera inerte.

- ◆ Se colocó la película de PP-g-NIPAAm en una ampollita de vidrio y se agregó agua destilada hasta cubrir la película.
- ◆ Posteriormente la ampollita se burbujeó con argón para eliminar el oxígeno del aire, durante 20 minutos.
- ◆ Inmediatamente después se sella.
- ◆ Se irradia con rayos gamma de C-60, a dosis de 20 y 40 kGys y a una razón de dosis de 5 kGy/h
- ◆ Se abre la ampollita, se saca la película y se lava con agua destilada durante varias horas.
- ◆ Se seca a vacío hasta peso constante.

Para conocer el número de cadenas de PNIPAAm injertadas; las películas de PP fueron irradiadas a las mismas condiciones de irradiación para obtener el polipropileno injertado, se calentó a 70°C durante 1 h. La cantidad de oxígeno debida a la reacción de peroxidación fue determinada por análisis elemental (Columbia Analytics USA).

De la literatura^(Wilson 1974), el PP irradiado da un número de productos oxidados incluyendo compuestos carbonilo, H₂O, CO₂, peróxidos, posiblemente alcoholes y compuesto carboxílicos; los compuestos carbonilo incluyen aldehídos y cetonas, mientras los alcoholes aparecen como productos intermediarios de la oxidación. Asumimos en este trabajo que el PP después de la irradiación tiene una estructura de

aldehído, esquema 2.2, entonces un oxígeno correspondiente al macroradical PO• va iniciar la reacción de injerto.



Esquema 2.2. Estructura propuesta de PP después de la irradiación.

Con los resultados obtenidos del análisis elemental se puede obtener la relación molar entre las unidades repetitivas del PP (n) las unidades repetitivas oxidadas del PP (m), n/m. Si el peso molecular del PP es conocido entonces podemos calcular el índice de polidispersidad con la ecuación 2.2:

$$DP = \overline{Mn} / M_i \qquad 2.2$$

Donde, \overline{Mn} es el peso molecular número promedio y el M_i es el peso molecular de la unidad repetitiva. Con el valor de DP obtenido y la relación n/m podemos calcular el número de unidades monoméricas promedio en una cadena de PP, y como consecuencia se puede saber el número de cadenas de PNIPAAm injertadas en una cadena de PP.

2.3 Formación de la red polimérica interpenetrada (IPN)

Las redes interpenetradas se definen como la mezcla de dos o más redes poliméricas^(Sperling,1996). La segunda red, la cual es interpenetrada con la red de PNIPAAm, es obtenida reticulando la Poly(N-Acrlaxisuccinimida) (PNAS) con la polilisina. El NAS fue sintetizado de acuerdo al método descrito por Pollak (1980), se pesaron 5.75 g de N-hidroxisuccinimida (NHS) y 7.6 mL de trietilamina, se disuelven con 75 mL de cloroformo a 0°C, a esta reacción en agitación se le agregó gota a gota 4.5 mL de ácido acrílico durante 20 minutos y después se deja agitando durante 20 minutos más a 0°C; la solución se lavó con 8 mL de agua destilada (con sal) fría a 0°C, luego se seca con sulfato de magnesio y se filtra, se agregó hidroquinona 3 mg (inhibidor de polimerización) a la solución de cloroformo, la cual se concentra a un volumen de aproximadamente 30 mL en vacío, usando un rotavapor y luego se filtra, se agregaron lentamente 30 mL de acetato de etilo y 200 mL de n-hexano a la solución de cloroformo con agitación. La solución se deja en reposo a 0°C por varias horas, el precipitado (cristales incoloros) fue separado por filtración y se lavó con 15 mL de una mezcla de n-hexano y acetato de etilo (4:1), con otra porción de 15 mL de n-hexano y acetato de etilo (9:1) y finalmente con 2 porciones de 15 mL de n-hexano, todas las porciones frías, los cristales fueron secados a vacío y a temperatura ambiente hasta peso constante. Posteriormente se polimerizó mediante radiación gamma, solución de N-acrlaxisuccinimida 0.4 M, THF como disolvente, se colocó en ampolletas de vidrio se les aplica vacío para eliminar el oxígeno del aire mediante ciclos de congelamiento-descongelamiento, se sellaron a vacío, y se irradiaron a una razón de dosis de 4 kGy/h y una dosis de irradiación de 40 kGy^(Ortega, 2007), se extrae el monómero que no reaccionó con THF durante 24 h y se caracteriza por DSC, GPC, RMN y análisis elemental.

La síntesis de la segunda red interpenetrada en el sistema, se realizó bajo la siguiente secuencia experimental:

- ◆ Se preparó una solución amortiguadora o buffer con el ácido 2-N-morfolinoetanosulfónico (MES, 0.05M, pH 7.4) al que se le agregaron 50 mg de polilisina (con peso molecular de 500-2000) g/mol
- ◆ Se agregaron 5 mL de esta solución amortiguadora a la película injertada y se incubó a 10 °C con agitación mecánica (75 RPM), hasta llegar al tiempo óptimo de reticulación.
- ◆ Se lavó la película con agua para extraer lo que no reaccionó.
- ◆ Se secó a peso constante.
- ◆ La disolución residual se utilizó para determinar la cantidad de polilisina reticulada en forma indirecta, mediante espectrofotometría de UV-Visible midiendo el NHS saliente de la reacción de reticulación.

Para llevar a cabo la determinación espectrofotométrica en un UV-visible (Cary 100 scan, Varian, a temperatura ambiente), primero se realiza una curva de calibración con el NHS, de la siguiente manera:

- ◆ Se prepararon disoluciones del NHS de concentraciones conocidas, donde el disolvente utilizado es la solución buffer (MES, 0.05M, pH 7.4, polilisina) usado en la reticulación.
- ◆ La solución amortiguadora se toma como blanco durante el experimento para que no interfiera en el momento de determinar la absorbancia del NHS.
- ◆ Se realiza un barrido en un intervalo de longitud de onda de 500-200 nm y se registra el valor de la absorbancia, la longitud de onda a la que se hacen las

determinaciones de absorbancia es de 260 nm (longitud de onda a la que absorbe el NHS). Esto se realiza para cada una de las disoluciones preparadas.

- ◆ Con los valores obtenidos de absorbancia, se hace una grafica de concentración VS absorbancia, para obtener una ecuación que relacione la concentración de la muestra con la absorbancia medida (figura 2.3).

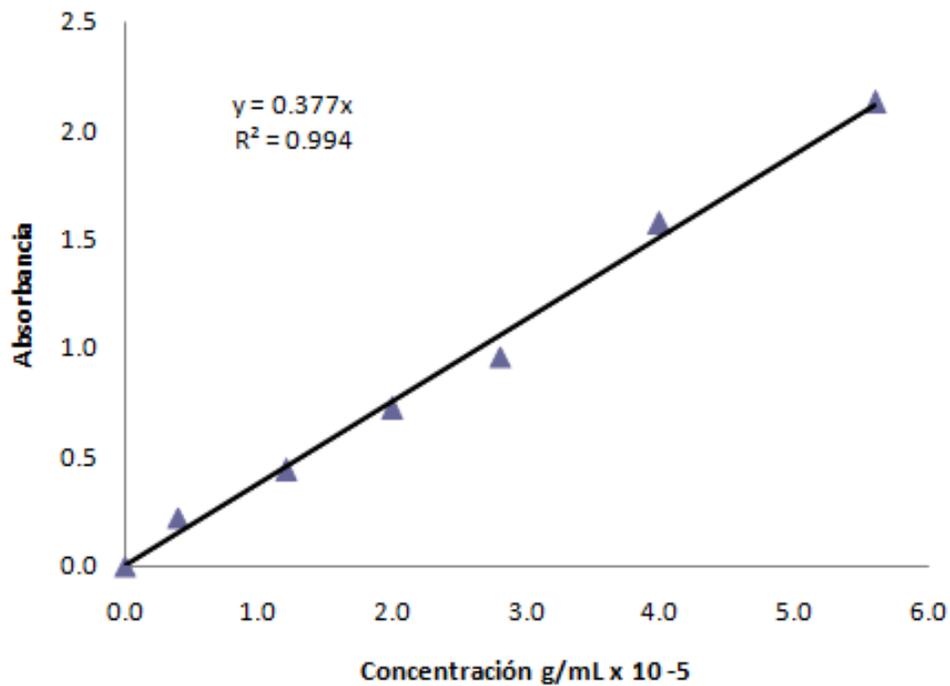


Figura 2.3. Curva de calibración del N-hidrosuccinimida (NHS).

2.4 INMOVILIZACIÓN DE LOS LIPOSOMAS EN LA PP – g – IPN

Se obtuvieron vesículas de lípido, unilamelares (SUV) y multilamelares (MLV) a partir POPG: CH, mediante el siguiente método:

Se prepararon disoluciones de POPG: CH de 1.5 mM, las relación molar de POPG: CH 50:50. El lípido de POPG y/o POPG: CH se disolvió con cloroformo (aproximadamente 30 mL) en un matraz bola y se evaporó en un rotavapor a presión reducida, a 35 °C hasta eliminar el disolvente (se forma una capa delgada de lípido en las paredes del matraz), posteriormente se secan a vacío varias horas para eliminar el disolvente completamente.

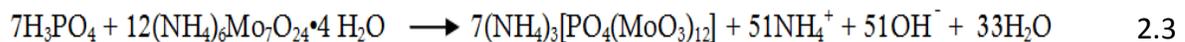
La película delgada que se forma en las paredes del matraz se hidrata con una solución buffer (MES, 0.05 M, pH 7.4) a una temperatura aproximadamente de 40 °C (debe de estar por arriba de la T_m del lípido), se agita en un agitador vortex hasta que el lípido pegado en las paredes se haya disuelto, para obtener las vesículas MLV, por el método de hidratación directa. Para obtener las SUV una porción de la solución de MLV se sónica en un baño sonicador (sonicador Branson 3510, frecuencia 40 kHz and 130 W) a 40 °C durante 30 minutos.

Las vesículas de lípido obtenidas se inmovilizan en la red interpenetradas de NAS/NIPAAm reticulada con polilsina e injertada en PP (PP-g-IPN), como se menciona a continuación:

- ◆ Se coloca una película del sistema PP-g-IPN en 4 mL de solución buffer de MES con los liposomas de POPG y/o POPG:CH, durante 12 h.
- ◆ Posteriormente se extraen de la solución, se seca el exceso de solución con papel filtro y se almacenan a 5°C.

- ◆ La cantidad de liposomas inmovilizados en las películas de PP-g-IPN se determina por el método de cuantificación de fosfato total ^(Chen, 1956 y Fiske, 1925).

El método de cuantificación de fosfato total se basa en la formación de un complejo coloreado, cuya intensidad de color es medida por espectrofotometría a 825 nm, fosfomolibdato de amonio ($7(\text{NH}_4)_3[\text{PO}_4(\text{MoO}_3)_{12}]$) a partir de la reacción entre el fosfato (que forma parte de los liposomas) y el molibdato de amonio en presencia de ácido ascórbico como agente reductor, como se muestra en la ecuación química 2.3 y de acuerdo a la siguiente metodología experimental.



- ◆ Los liposomas se ponen a reaccionar con ácido sulfúrico 9 N en baños de arena o bloques de aluminio a 220°C; es importante que la temperatura este por encima de los 200°C, durante 25 minutos, la solución se colorea de café.

- ◆ Se deja enfriar a temperatura ambiente y una vez frío se le agregan 150 µL de agua oxigenada (al 3%) y se vuelven a calentar en los baños de arena durante 30 minutos o hasta que desaparezca el color café.

- ◆ Se dejan enfriar a temperatura ambiente.

- ◆ Agregar 3.9 mL de agua ultrapura (milli Q), posteriormente se les coloca 0.5 mL de molibdato de amonio (al 2.5%) y se agita en un vortex vigorosamente, aproximadamente 2 minutos; por último se agrega 0.5 mL de ácido ascórbico (al 10%) y se agita nuevamente.

◆ Las muestras se colocan en un baño de aceite a 100°C durante 7 minutos y se dejan enfriar a temperatura ambiente, la solución resultante es de color azul y se lee a una longitud de onda de 825 nm, con un espectrofotómetro.

◆ Para calcular la cantidad de fósforo en las muestras se obtuvo una curva de calibración usando como estándar solución de KH_2PO_4 0.65mM, de esta solución se tomaron diferente volúmenes y se realizó a cada una de las muestras el procedimiento anterior.

◆ Con los valores obtenidos de absorbancia se hace una gráfica mg de fosfato VS absorbancia, para obtener una ecuación que relacione la cantidad de fosfato en la muestra con la absorbancia medida (figura 2.4).

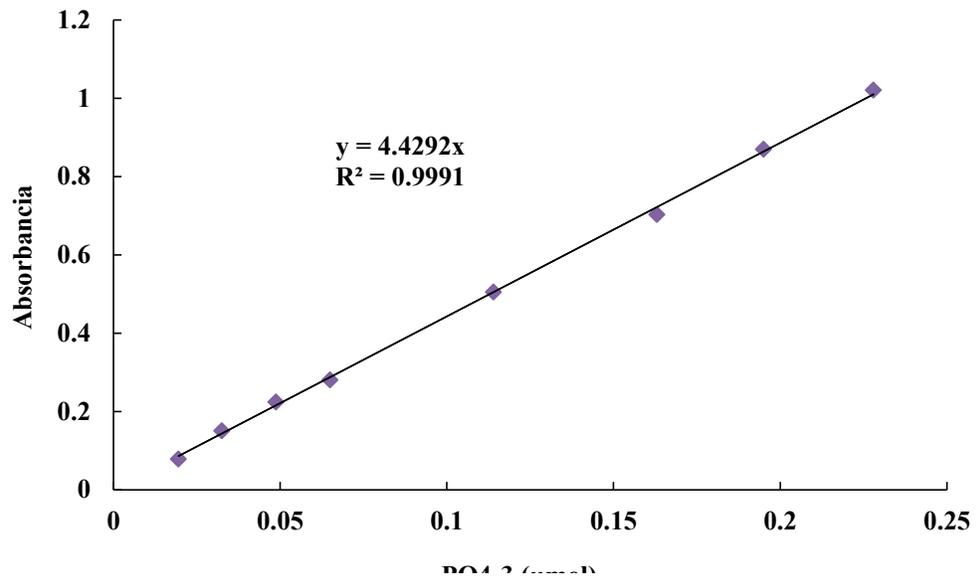


Figura 2.4. Curva de calibración de fosfato (PO_4^{3-}).

2.5 CARACTERIZACIÓN DE LAS PELÍCULAS

Las películas obtenidas, PP-g-NIPAAm, *net*(PP-NIPAAm) y PP-g-IPN, se les determinó hinchamiento límite, temperatura crítica de solución (LCST) y reversibilidad. Su composición química fue determinada por infrarrojo, en un espectrofotómetro FTIR-ATR (Perkin Elmer, Paragon 500, punta de diamante, λ 700 – 4000 cm^{-1}). Los cambios físicos y químicos se determinaron por análisis térmico observando sus transiciones térmicas por calorimetría diferencial de barrido (DSC) (TA Instruments, New Castle, DE, 2010, en atmósfera de Nitrógeno con una rampa de calentamiento de 10°C/minuto), se determinaron las temperaturas de descomposición las muestras por análisis termogravimétrico (TGA; TA instruments, New Castle, DE., Q50, en atmósfera de Nitrógeno con un calentamiento de 10 °C/minuto y la morfología de superficie fue determinada mediante la técnica de microscopía electrónica de barrido (SEM; Joel JSM-5600 LV con electrones secundarios). El estudio de propiedades mecánicas, se realizaron en un equipo Instrong, a una velocidad de cruceta de 10mm/min, las medidas de las probetas fueron de 1.2 x 4 cm, esta prueba también se realizó a películas de PP sin irradiar e irradiadas tratadas a las mismas condiciones que las películas injertadas (9 kGy/h, 10 – 40 kGy, 70°C).

2.5.1 HINCHAMIENTO, TEMPERATURA CRITICA DE SOLUCIÓN (LCST) Y REVERSIBILIDAD.

La determinación del hinchamiento se llevó a cabo de la siguiente manera:

- ◆ La película injertada es sumergida en agua destilada a temperatura ambiente.
- ◆ Después se realizan pesadas a diferentes tiempos hasta que el peso es casi constante.

- ◆ Se calcula el porcentaje de hinchamiento con la ecuación 2.4 y posteriormente se hace la gráfica para obtener el tiempo del hinchamiento límite.

$$\% \text{ Hinchamiento} = \frac{W - W_0}{W_0} * 100 \quad 2.4$$

Donde:

W = Peso película hinchada, W_0 = Peso película sin hinchar.

Una vez que se tiene el tiempo en el que se alcanza el hinchamiento máximo, la película se seca y se sumerge nuevamente en agua destilada a diferentes temperaturas para obtener la LCST. La termosensibilidad se calcula con la ecuación 2.5:

$$T_s = H_s / H_\infty \quad 2.5$$

Donde:

H_s : hinchamiento en el equilibrio por debajo de la LCST.

H_∞ : hinchamiento en el equilibrio por arriba de la LCST.

- ◆ Se calcula el porcentaje de hinchamiento como en el punto 3 y posteriormente se hace la gráfica.

- ◆ Para la reversibilidad la película se sumerge en agua destilada y se realizan pesadas a una temperatura por debajo de la LCST y a una temperatura por arriba de la LCST.
- ◆ El proceso se realiza varias veces para ver su reversibilidad.

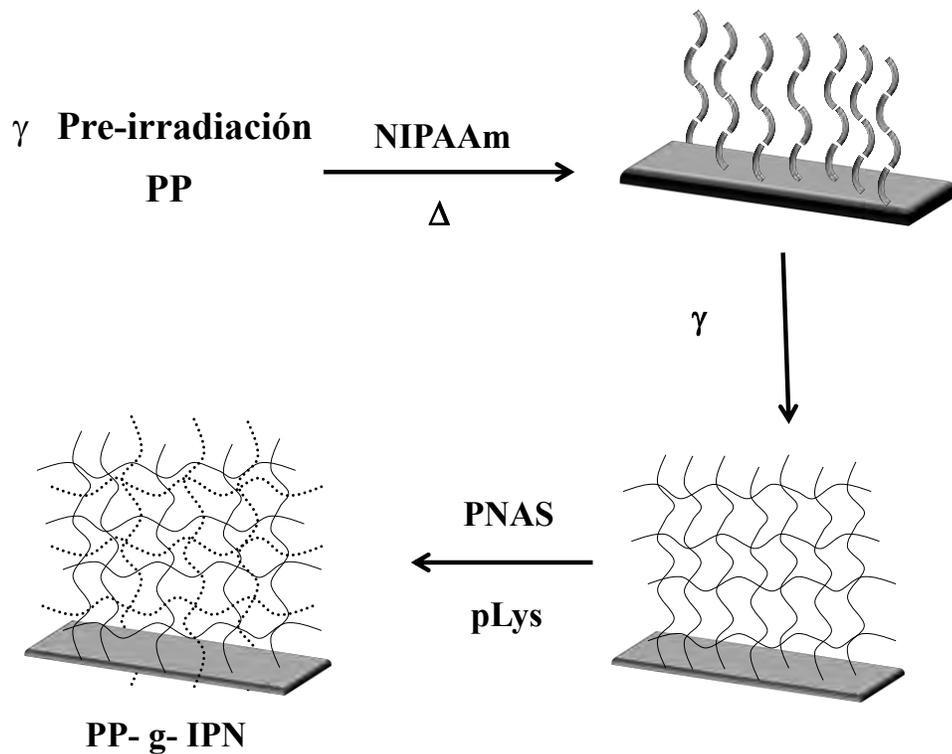
2.6 CARACTERIZACIÓN DE LOS LIPOSOMAS

Tanto las MLVs y las SUVs se les determina su tamaño y polidispersidad por dispersión de luz con un BI-200SM Brookhaven laser light scattering, se mide su potencial zeta con un Zetasizer nano ZS (Facultad de Física-USC). La lamelaridad se observó con microscopia electrónica de transmisión (TEM).

CAPITULO III. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Síntesis de la red polimérica interpenetrada termosensible, de poli(N-isopropilacrilamida y poli(N-acrilkoxisuccinimida) reticulada con polilisina, injertada en PP.

Este trabajo consiste en obtener una red interpenetrante (IPN) de NAS/NIPAAm injertada en PP (esquema 3.1), mediante un método secuencial. Para obtener dicho sistema, como primer paso se injerta la NIPAAm en polipropileno y posteriormente se retícula mediante radiación gamma, para así obtener la primer red. Como segundo paso se polimeriza la NAS usando radiación gamma y posteriormente se retícula con polilisina en solución buffer.

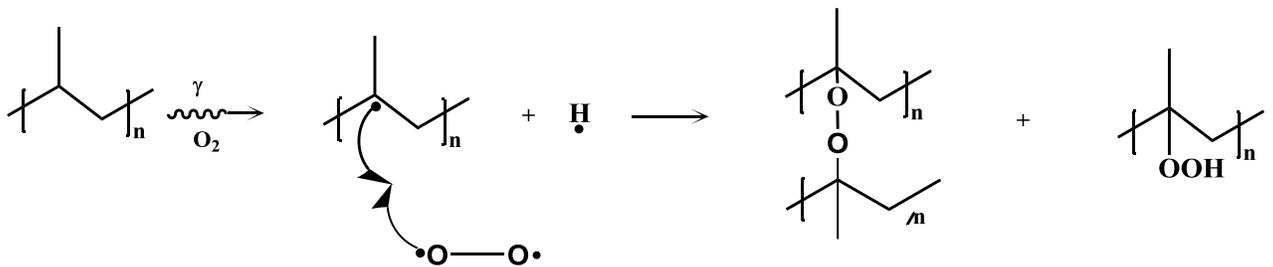


Esquema 3.1. Pasos para obtener la PP – g – IPN.

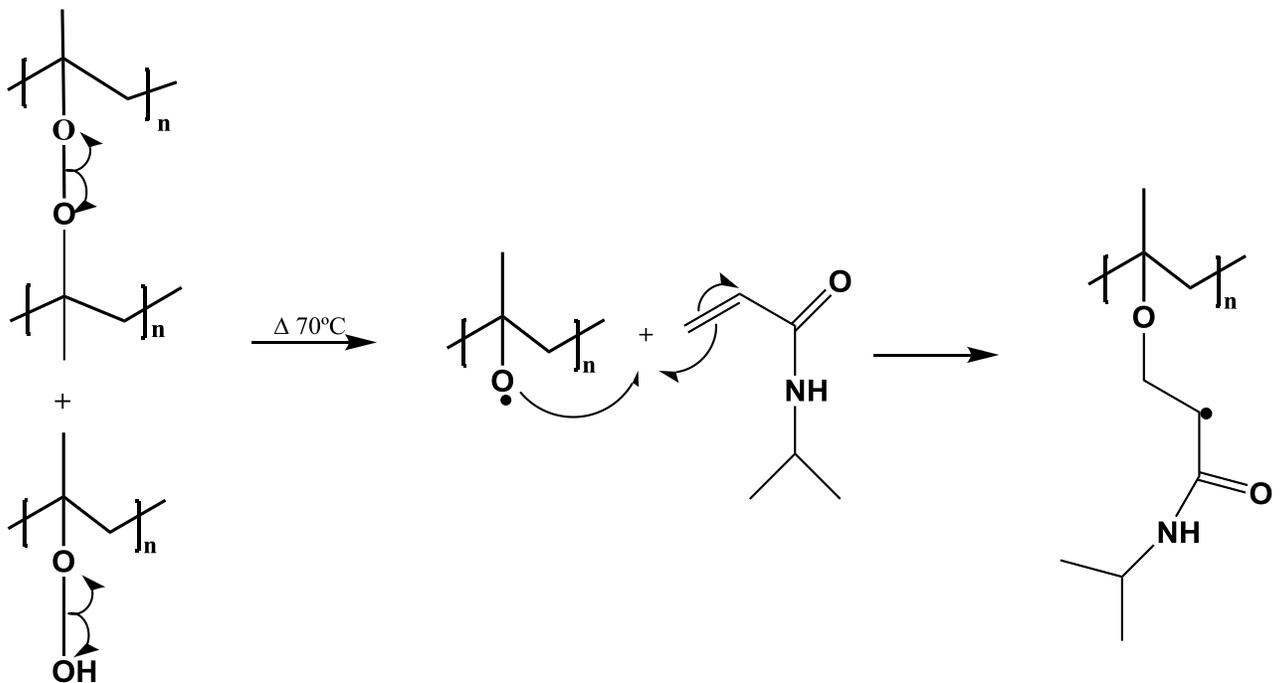
3.1 Síntesis de la primera red *net*(PP – g – NIPAAm)

El injerto de NIPAAm sobre las películas de PP se llevó a cabo mediante el método de preirradiación oxidativa con radiación gamma, como se muestra a continuación, en el siguiente mecanismo:

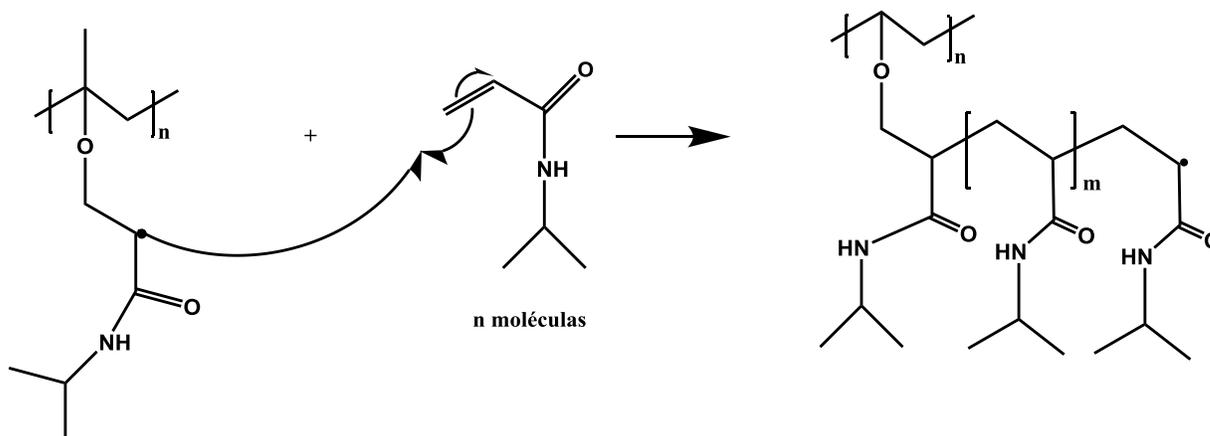
1. Formación de Peróxidos



2. Iniciación



3. Propagación



4. *Terminación*: puede ser por desproporción o acoplamiento.

Esquema 3.2. Mecanismo propuesto del injerto de NIPAAm sobre películas de PP.

El polipropileno es irradiado con radiación gamma para formar los radicales alquilo y el radical hidrógeno, como estos radicales están en atmósfera de aire, el oxígeno interacciona ellos para formar hidroperóxidos y peróxidos. Posteriormente, la película se somete a calentamiento para formar los radicales libres, peróxido e hidroperóxido, los cuales van a reaccionar con los monómeros vinílicos de NIPAAm formando un nuevo macroradical. Los macroradicales formados en la etapa de iniciación reaccionan con los otros monómeros vinílicos propagándose hasta llegar a la etapa de terminación, que sucede de dos maneras.

Acoplamiento o recombinación: esto sucede cuando dos macroradicales desapareados se unen y forman un nuevo enlace.

Desproporción: es otra forma de terminación esto sucede cuando dos cadenas poliméricas en crecimiento se acercan, y el electrón desapareado toma uno de los electrones de este enlace y un átomo de hidrógeno.

Ruiz Bucio, y col., (2008), injertaron NIPAAm sobre películas de PP mediante el método de preirradiación oxidativa con rayos γ , obtuvieron injertos del aproximadamente 730% usando una dosis de radiación (D) de 30 kGy y una razón de dosis (I) de 2.6 kGyh⁻¹ en un tiempo de 5 h con una concentración molar de NIPAAm de 1 M y una temperatura de 70°C, publicaron una LCST para este sistema de 32°C para un % de injerto de NIPAAm del 500%.

Muñoz-Muñoz y col., (2009), obtuvieron injertos de NIPAAm sobre PP usando preirradiación oxidativa, con rayos γ de Co-60. En este trabajo encontraron injertos máximos de PP-g-NIPAAm del 1000% aproximadamente y del 360% para soluciones acuosas de NIPAAm de 1 y 0.5 M respectivamente, para obtener dichos injertos irradiaron el PP con D= 30 kGy y I= 10.9 kGy/h; temperatura de reacción de 70°C y tiempo de reacción 5 h (para obtener el porcentaje máximo de injerto), encontraron una LCST de 32°C aproximadamente para injertos del 100 al 300 % (se determinó en función del aumento del peso inicial).

Tomando en cuenta los datos usados y resultados obtenidos en estos trabajos; y de acuerdo a Chapiro (1969), quien menciona que la difusión del oxígeno hacia el interior de polímeros sólidos se favorece cuando se irradian con razones de dosis (I) bajas, por el método de preirradiación oxidativa, obteniendo injertos en masa (bulk), además se presenta degradación oxidativa de la matriz polimérica sólida provocando propiedades mecánicas pobres; se tomaron ciertas condiciones experimentales para obtener el

injerto de PP-g-NIPAAm, mediante el método de preirradiación oxidativa usando una $D= 20 \text{ kGy}$, $I = 9 \text{ kGyh}^{-1}$, una temperatura de reacción de 70°C , una concentración de NIPAAm 0.5 M , a diferentes tiempos de reacción.

En la figura 3.1 se observa el comportamiento esperado, el porcentaje de injerto de NIPAAm se incrementa a medida que avanza el tiempo de reacción, porque aumenta la polimerización de las cadenas de PNIPAAm iniciadas por los grupos peróxidos e hidroperóxidos; hasta llegar a un máximo injerto y a su vez a un equilibrio en el injerto en aproximadamente 200% alrededor de 200 minutos, esto se atribuye a que disminuye el monómero en solución y a que todos los macroradicales peróxidos reaccionaron. Al parecer el injerto se lleva a cabo en mayor parte, en la superficie, ya que sólo hubo cambio en el espesor de la película, de 0.06 mm para el PP hasta 0.22 mm para el injerto con un 200% y no se observó cambio en el área de la película, lo que hubiera indicado injerto en el interior de la película. Las películas con ese porcentaje de injerto son rígidas y quebradizas.

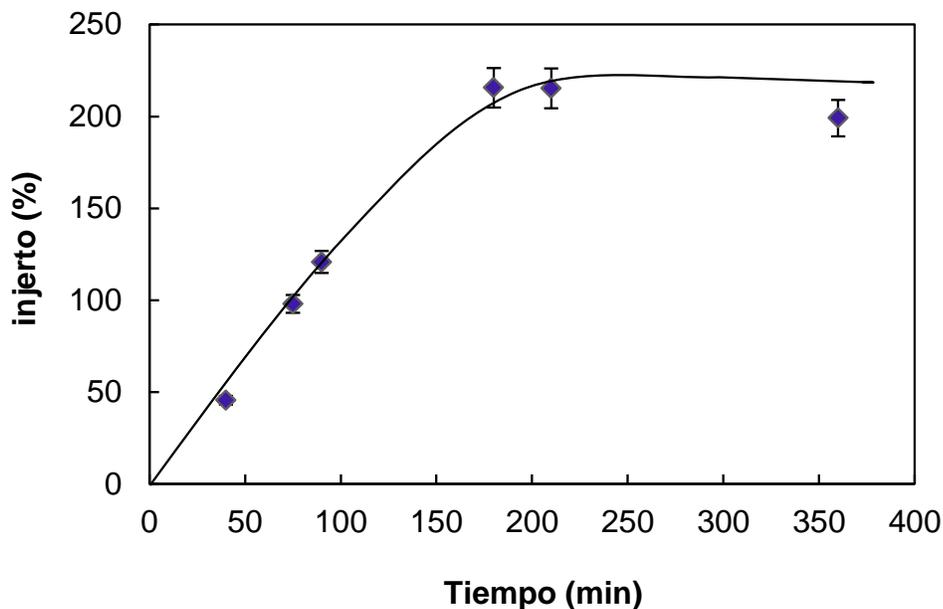
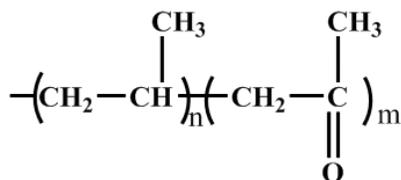


Figura 3.1. Injerto de NIPAAm sobre PP a diferentes tiempos de reacción. Dosis de preirradiación de 20 kGy, razón de dosis 9 kGyh⁻¹, temperatura de reacción a 70 °C; y concentración de 0.5 M.

Para conocer el número de unidades monoméricas de PP que formaron peróxidos e iniciar el injerto de NIPAAm, se realizó un análisis elemental de películas de PP preirradiadas por el método de preirradiación oxidativa, esquema 3.3.



Esquema 3.3. Estructura planteada del PP después de la irradiación en presencia de oxígeno.

El análisis elemental del PP irradiado dio los siguientes resultados: % C = 85.38%, %H = 13.13 y %O = 1.49.

Con los resultados del análisis elemental se obtuvo una relación molar (n/m) entre unidades monoméricas de PP (n) y unidades monoméricas oxidadas del PP (m) mediante la ecuación 3.1^(Woods 1994):

$$W_C = \frac{n(\text{No. C} \cdot \text{PMC}) + m(\text{No. C} \cdot \text{PMC})}{n(\text{PM}_n) + m(\text{PM}_m)} \quad 3.1$$

Donde, W_C es el % peso del carbono total en la muestra, PM_C es el peso molecular del carbono, PM_n y PM_m son los pesos moleculares de las unidades repetitivas n y m (de acuerdo al esquema 3.3), m y n representan el número de moléculas oxidadas y de PP.

Aplicando la ecuación se obtuvo que $n/m = 91/1$, es decir 91 moles de PP por 1 mol de moléculas oxidadas, en términos de porcentaje en moles el 1% correspondería a las unidades oxidadas.

Como se conoce el \overline{M}_n del PP, podemos calcular el grado de polimerización (DP) aplicando la ecuación 3.2, Woods 1994.

$$DP = \overline{M}_n / M_i \quad 3.2$$

El grado de polimerización de del PP es de 928 unidades monoméricas. Si sabemos que el 1% corresponde a las unidades oxidadas (m), como consecuencia hay 9 unidades m en una cadena de PP. De acuerdo al esquema 3.3 propuesto, el NIPAAm se injerta solo por medio de enlaces covalentes entre uno de los carbonos de su

molécula vinílica y el oxígeno, por lo tanto suponemos que hay 9 cadenas de PNIPAAm injertadas en una cadena de PP. Después de injertada la NIPAAm sobre el PP, se procede a reticularla por método directo con radiación gamma.

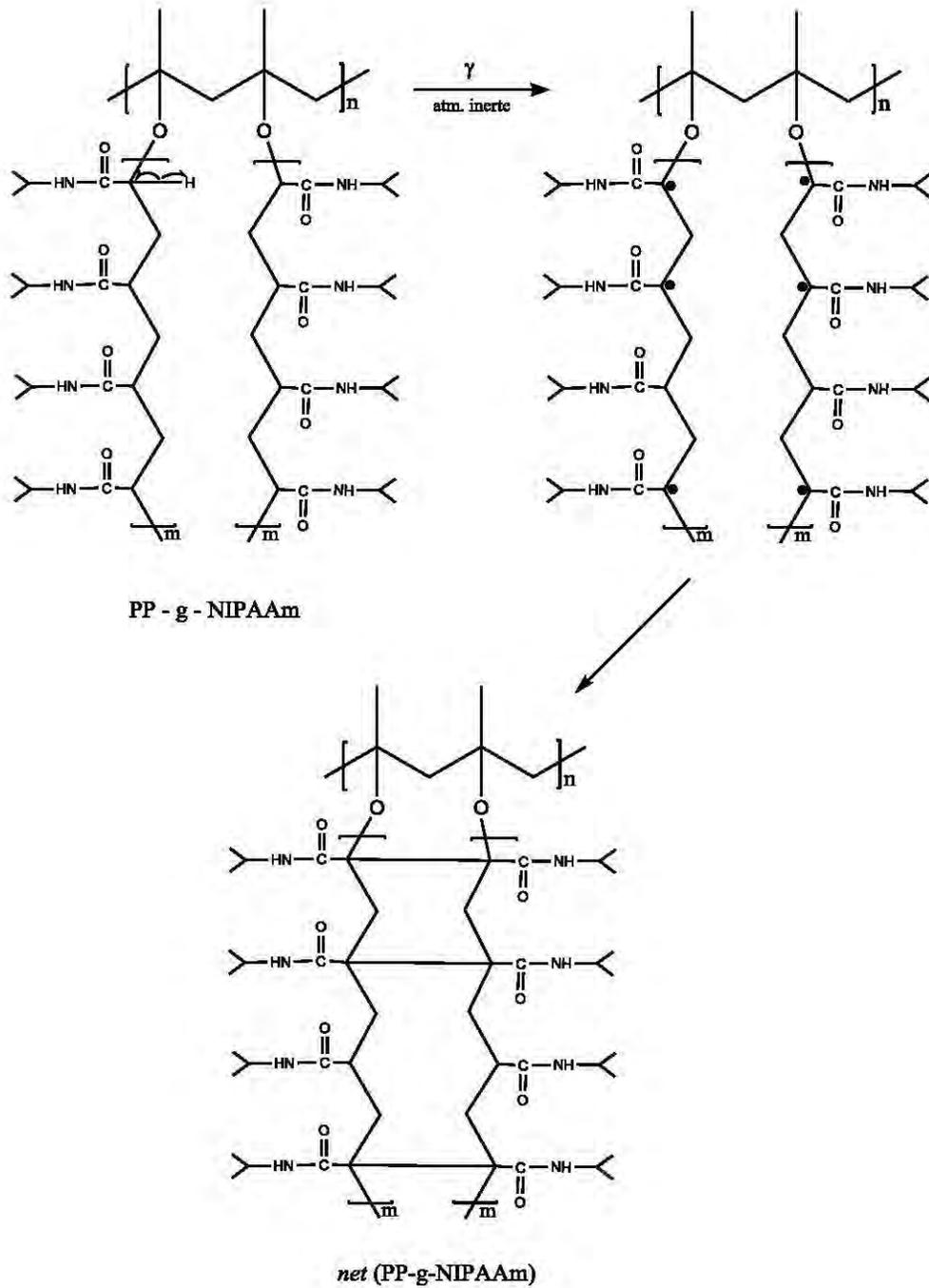
Como regla general el entrecruzamiento y la degradación ocurre simultáneamente dependiendo de la estructura del polímero, estado físico y condiciones de radiación. En el caso de los polímeros, se reticulan si al menos hay un átomo de hidrógeno en su cadena principal, para el NIPAAm esto se cumple cabalmente.

Es bien sabido que la reticulación por radiación ionizante se puede realizar en estado sólido o en solución en el caso de tener como disolvente agua, la formación del radical OH por la radiolisis del agua favorece la reacción de entrecruzamiento del polímero^(Charlesby, 1960). Ortega y col. (2007), obtuvo geles de NIPAAm mediante radiación, a una dosis de radiación entre 5 y 200 kGys, razón de dosis (I) de 3 kGyh^{-1} y método directo usando como disolvente agua, con y sin agente reticulante, demostraron que para ambos casos el porcentaje gel del hidrogel de NIPAAm es similar, encontrando el máximo % gel a una dosis de 20 kGy.

Considerando lo anterior, para reticular el NIPAAm injertado en PP de este nuevo sistema y considerando que ya se había sometido el PP a irradiación, se optó por usar una $D= 20 \text{ kGy}$ y $I = 5 \text{ kGyh}^{-1}$, esto con la finalidad de que no se pierdan las propiedades mecánicas del PP por la irradiación.

En el esquema 3.4, se muestra la reticulación hipotética del PP-g-NIPAAm, considerando la siguiente regla “para que un polímero se entrecruce debe de tener en su cadena principal al menos un átomo de hidrógeno”^(Ivanov 1992). El rompimiento homolítico del enlace C–H en los carbonos terciarios de las cadenas de PNIPAAm es el más probable debido a la estabilidad de los radicales libres generados. Para explicar

este fenómeno se toma en cuenta que la energía de formación (o rompimiento) del enlace C–C es de 350 kJ/mol y del enlace C–H es de 415 kJ/mol, comparando ambas energías la probabilidad del rompimiento del enlace C – C de la cadena principal es más alta que la abstracción de un átomo de hidrogeno. Sin embargo, cuando los polímeros son sometidos a irradiación el rompimiento C–C y C–H se da simultáneamente, en el caso de los polímeros que se entrecruzan un número considerable de enlaces C–C se recombina y como consecuencia predomina el rompimiento del enlace C–H.



Esquema 3.4. Mecanismo probable de entrecruzamiento de PP-g-NIPAAm

3.2 Síntesis de la segunda red: Formación de la PP-g-IPN

Una vez que se obtuvo la primera red [*net*(PP – g – NIPAAm)], se procede a obtener la segunda red, reticulando PNAS con pLys, *in situ*, por vía química.

Previamente se sintetizó el NAS de acuerdo a Pollak (1980) y se caracterizó por calorimetría diferencial de barrido (DSC) y análisis elemental (A.E.), las cuales arrojaron los valores esperados: punto de fusión de 71°C y una composición química: 49.64%C, 37.54%O, 3.9%H y 8.92%N.

Posteriormente, se polimerizó este monómero mediante radiación gamma a una dosis de 40 kGy intensidad de radiación de 4 kGy/h, debido a que a estas condiciones se encontró que el polímero de NAS tiene el peso molecular número promedio más alto, 5023 g/mol y una polidispersidad de 1.26.

Para formar la segunda red, se consideraron diferentes parámetros experimentales como dosis de reticulación de la primera red, proporción molar de los dos monómeros, NAS y NIPAAm, y concentración de polilisina que es el agente entrecruzante usado para obtener la segunda red y además sirve como inmovilizador de biomoléculas. Además, se determinó a que tiempo se obtiene la máxima cantidad de polilisina que reacciona con el PNAS, con la finalidad de obtener la máxima cantidad de polilisina reticulada, debido a que la inmovilización de los liposomas se va a obtener mediante la interacción iónica entre el catión del grupo amino (—NH_3^+) de la cadena lateral de la polilisina y el anión del fosfato del grupo fosfoglicerol del lípido.

La tabla 3.1 muestra los μmoles de polilisina entrecruzada y la relación molar entre la polilisina entrecruzada y el PNIPAAm injertado en función de los parámetros ya mencionados. Los valores obtenidos con respecto a los μmoles de polilisina entrecruzada es similar en todas las muestras y a su vez es independiente de las condiciones experimentales; este hecho se atribuye al impedimento estérico de las

cadena polimérica que forma al sistema, que inhiben la difusión de más macromoléculas de polilisina y dando como resultado un proceso de entrecruzamiento superficial. En cuanto a la relación molar entre la polilisina entrecruzada y el PNIPAAm injertado esta decrece a medida que aumenta el porcentaje de injerto, porque se tiene una estructura más compacta con cadenas injertadas largas, las otras condiciones experimentales no afectan.

Tabla 3.1. Resultados del entrecruzamiento entre el PNAS y la polilisina (pLys), a diferentes condiciones experimentales.

PP-g-NIPAAm (%)	Dosis de reticulación (kGy)	Relación molar PNAS:NIPAAm	Concentración pLys (mg/ml)	pLys Reticulada (μmol)	Relación molar pLys ret/PNIPAAm injertado
56	20	1:1	5	2.10	10.7
75				2.70	7.2
100				2.59	6.8
160				2.60	4.5
160		2:1	5	2.67	4.6
162	20	1:1	8	2.75	4.5
174			2	2.99	4.7
180	20	1:1	5	3.16	4.7
220				3.24	4.3
225				3.20	4.0
215	40	1:1	5	3.20	4.4

Para confirmar los resultados de polilisina reticulada, se determinó la eficiencia de la reacción de reticulación entre PNAS y polilisina. Considerando que la densidad de la solución de PNAS es de 0.96 g ml^{-1} y de acuerdo a la ecuación 3.3:

$$\text{Eficiencia (\%)} = (\text{pLys ret/PNAS ads.}) \times 100 \quad 3.3$$

Se obtuvieron los siguientes resultados, para los porcentos de injerto de 100, 170 y 225% con una relación molar NAS:NIPAAm 1:1 del 50, 31 y 25 % respectivamente, para un 160% de injerto de NIPAAm y una relación molar NAS:NIPAAm de 2:1 se obtuvo un 18% de eficiencia. Esto confirma lo anterior la polilisina reticulada está en función del porciento de injerto.

Se determinó el tiempo óptimo en el que se obtiene la máxima cantidad de polilisina reticulada, como se puede observar la figura 3.2 se muestra un crecimiento ascendente de la cantidad de polilisina entrecruzada hasta llegar a un máximo de $3 \mu\text{moles}$ en un tiempo de 45 horas y una eficiencia del 31%.

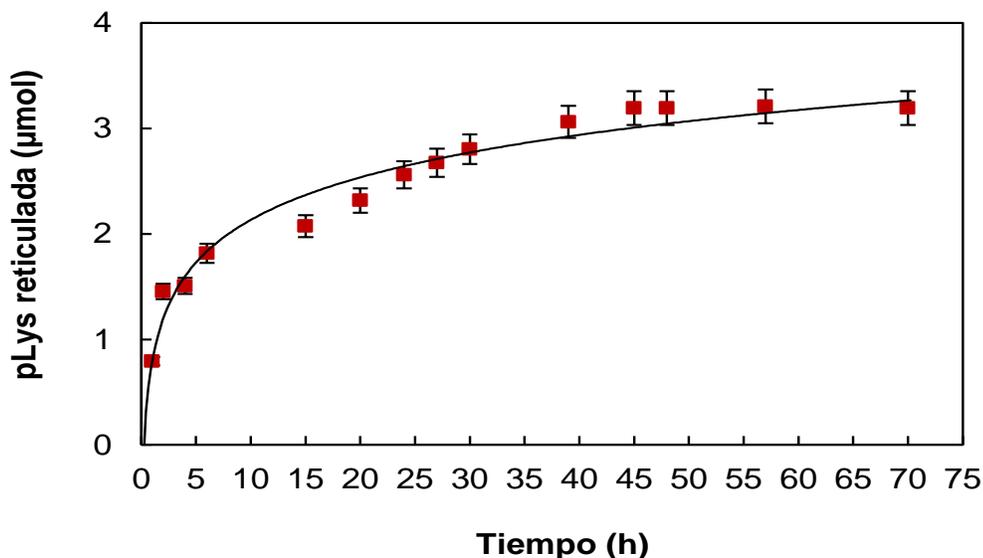


Figura 3.2. Entrecruzamiento de la polilisina en función del tiempo de reacción. PP-g-NIPAAm (170% de injerto, $D= 20$ kGy, $I = 9$ kGyh⁻¹, 0.5M) dosis de entrecruzamiento = 20 kGy relación molar PNAS/PNIPAAm 1:1, concentración de pLys= 5 mg/ml.

3.3 Pruebas de hinchamiento y sensibilidad

Una de las propiedades de gran importancia en este trabajo es la temperatura crítica de solución (LCST), la cual se obtuvo mediante la técnica de hinchamiento, para aplicar la técnica primero hay que saber el tiempo en el que se obtiene el máximo hinchamiento o hinchamiento límite.

3.3.1 Hinchamiento Límite

El hinchamiento límite fue determinado usando agua, las figuras 3.3 — 3.5 muestran el tiempo en que se alcanza el hinchamiento máximo o hinchamiento límite para los diferentes sistemas PP-g-NIPAAm, *net*(PP-g-NIPAAm) y PP-g-IPN en función del porcentaje de injerto. Se observa que el hinchamiento en todos los sistemas aumenta al incrementar el porcentaje de injerto de NIPAAm. Se alcanza el hinchamiento máximo en un tiempo de aproximadamente 40 minutos cuando se tiene 170 y 225% de injerto para los sistemas PP-g-NIPAAm y *net*(PP-g-NIPAAm), este tiempo disminuye cuando se tiene un 100 % de injerto de NIPAAm y cuando se tienen el sistema de red interpenetrada. El porcentaje de hinchamiento para el *net*(PP-g-NIPAAm, a diferentes porcentajes de injerto de NIPAAm, es menor comparado con el PP-g-NIPAAm debido a la formación de redes y por tanto a una estructura más compacta y de difícil difusión y que incrementa las interacciones por puente de hidrógeno del NIPAAm en este sistema reticulado y que la adsorción de agua aumente en la red interpenetrada se atribuye a que aumentan los grupos hidrófilos de la polilisina cuando se forma la segunda red. La PP-g-IPN tiene un hinchamiento del 40% mientras que la *net*(PP-g-NIPAAm) presenta un 30%.

Este cambio importante en el % de hinchamiento cuando el sistema pasa de un estado injertado PP-g-NIPAAm a uno reticulado *net*(PP-g-NIPAAm) confirma el proceso de reticulación de la película injertada al ser irradiada en agua. El tiempo necesario para alcanzar el hinchamiento límite es de alrededor de 20 minutos para el sistema injertado PP-g-NIPAAm y se incrementa a 30 minutos al reticularse y disminuye nuevamente al formarse la red interpenetrada.

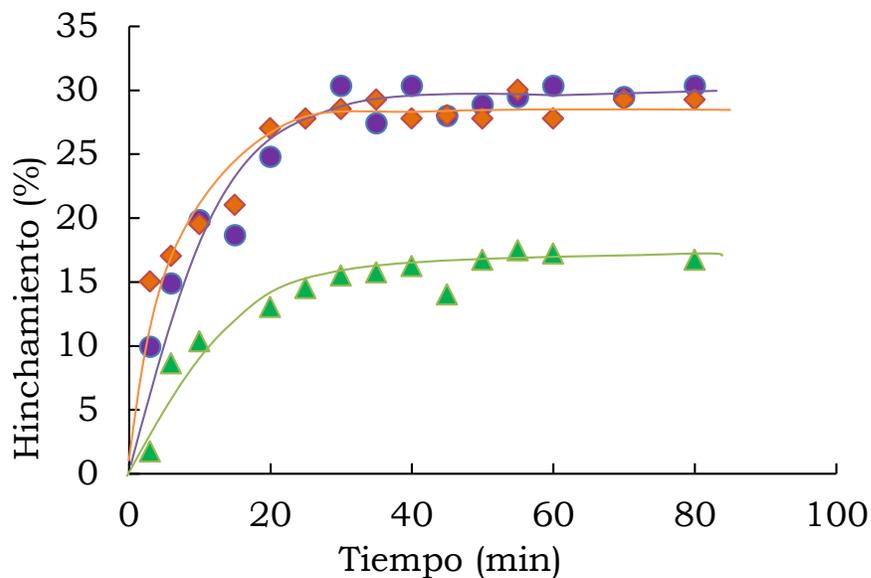


Figura 3.3. Hinchamiento límite PP-g-NIPAAm muestras con 103% de PNIPAAm:
 ◆ PP-g-NIPAAm; ▲ *net*(PP-g-NIPAAm); ● PP-g-IPN.

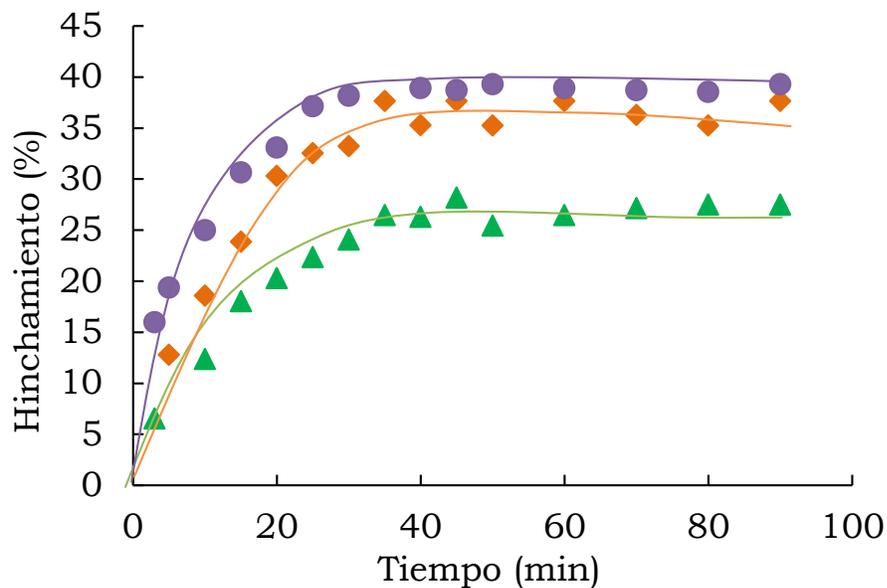


Figura 3.4. Hinchamiento límite en películas con 170% de injerto de PNIPAAm:
 ◆ PP-g-NIPAAm; ▲ *net*(PP-g-NIPAAm); ● PP-g-IPN.

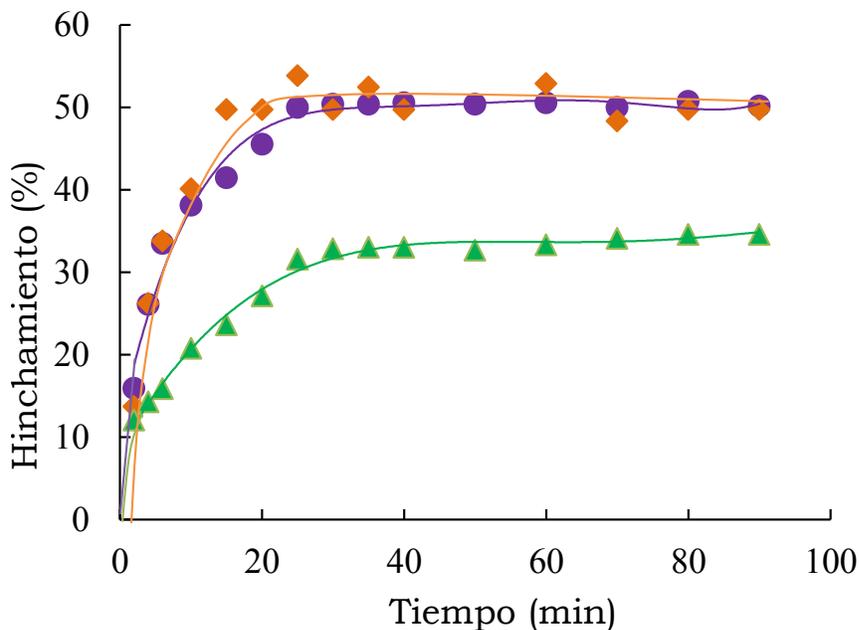


Figura 3.5. Hinchamiento límite de los diferentes sistemas, con 220% de injerto de PNIPAAm: \blacklozenge PP-g-NIPAAm; \blacktriangle *net*(PP-g-NIPAAm); \bullet PP-g-IPN.

3.3.2 Temperatura crítica de solución (LCST)

Se determinó la temperatura crítica de solución (LCST) para PP-g-NIPAAm, *net*(PP-g-NIPAAm) y PP-g-IPN con aproximadamente 170% de injerto de PNIPAAm como se muestra en la figura 3.6. La red interpenetrada (PP-g-IPN) y el sistema injertado (PP-g-NIPAAm) presenta una LCST alrededor de 32°C y en el sistema reticulado [*net*(PP-g-NIPAAm)] se observó esta transición en 30°C; por la misma razón del comportamiento arriba mencionado. Sin embargo, la termosensibilidad, es decir la sensibilidad al estímulo en este caso a la temperatura, del NIPAAm se conserva.

La termosensibilidad del PP-g-NIPAAm es de alrededor de 4 (relación entre el porcentaje de hinchamiento en estado extendido o hinchado y el porcentaje de

hinchamiento en estado colapsado), al reticularse y haber una estructura más compacta y rígida la termosensibilidad decrece a 2.6 aproximadamente, mientras que al formarse la red interpenetrada disminuyen las interacciones intermoleculares y aumentan los grupos hidrofílicos por la incorporación de la polilisina provocando que la termosensibilidad vuelva a incrementar.

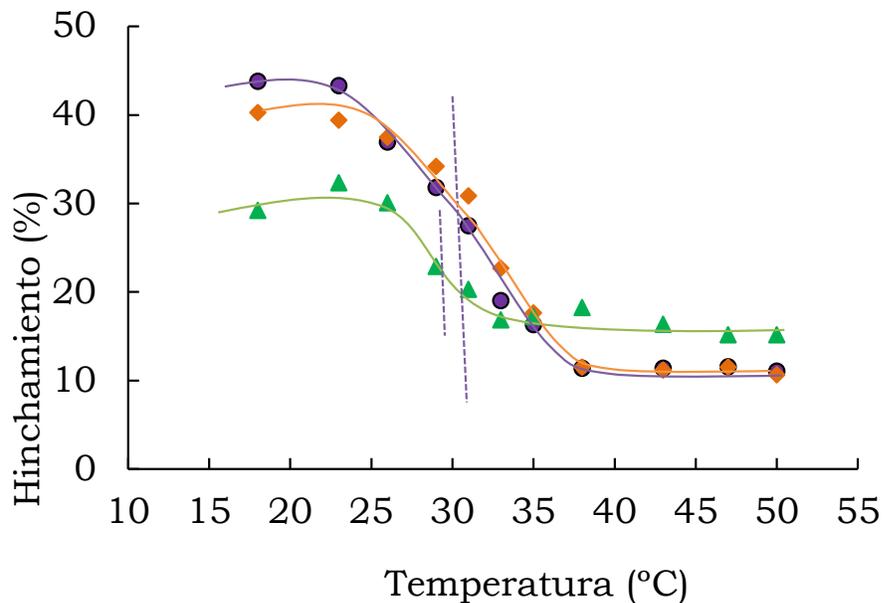


Figura 3.6. LCST de los diferentes sistemas. (♦)PP-g-NIPAAm (177%); (Δ) *net*(PP-g-NIPAAm) (169% de NIPAAm injertado); (●)PP-g-IPN (178% de PNIPAAm injertado).

3.3.3 Reversibilidad

Uno de los objetivos que se planteó en este trabajo fue el de obtener un sistema reversible, para saber si el nuevo sistema de PP – g – IPN tiene la capacidad de pasar de un estado colapsado a un estado hinchado o expandido y en forma reversible, se coloca en agua a temperaturas por debajo (sistema hinchado) y por arriba de la LCST (sistema colapsado). Como se observa en la figura 3.7 esta propiedad se conserva ya que el sistema es capaz de pasar de un estado colapsado a un estado hinchado durante varios ciclos y además con buena estabilidad.

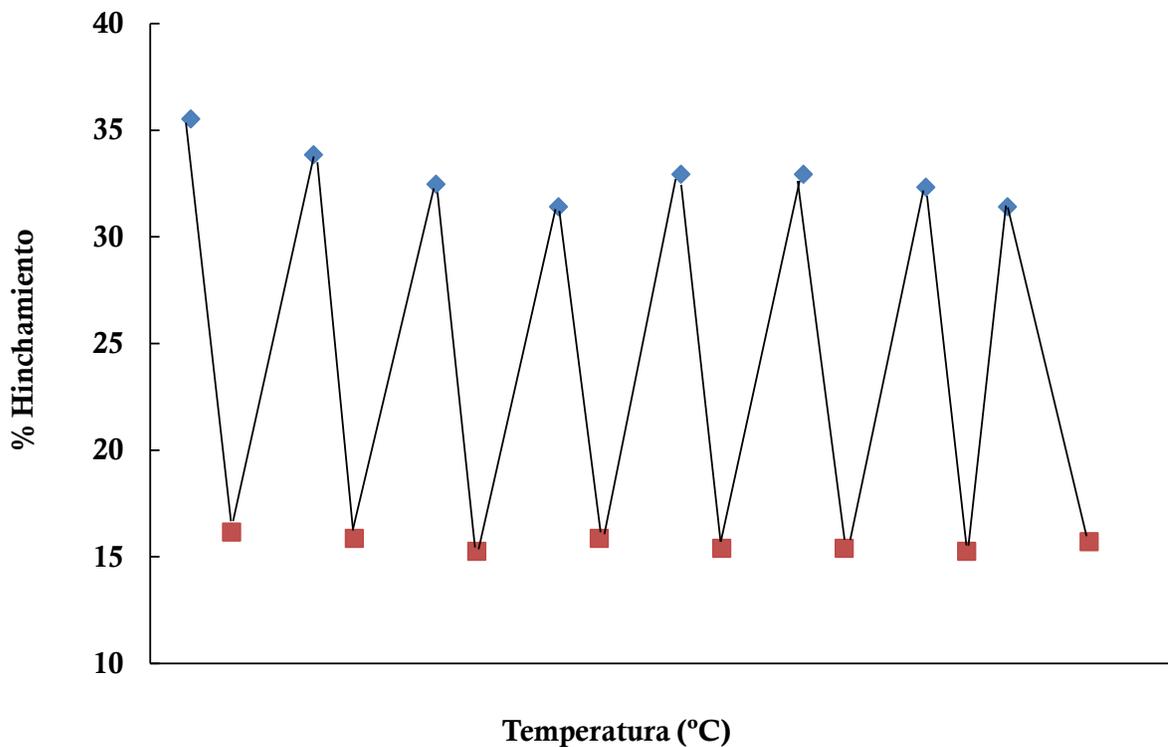


Figura 3.7. Reversibilidad de PP-g-IPN (170% NIPAAm) a T= 25 °C y T = 45 °C

3.4 Caracterización de la PP-g-IPN

Para corroborar la formación de un nuevo sistema en este caso la red interpenetrada, es importante caracterizar los sistemas por diversas técnicas. El espectro de FTIR-ATR de la IPN (figura 3.8) muestra las bandas características del NIPAAm (figura 3.8 (a)) alrededor de 1650 y 1541 cm^{-1} debido al estiramiento del C = O y N – H del grupo amida, respectivamente y la banda a 3292 cm^{-1} debido a la vibración de estiramiento del N-H del grupo amida. En la figura 3.8 (b), las tres bandas correspondientes al grupo succinimida del NAS a 1730, 1776 y 1800 cm^{-1} no aparecen en la figura 3.8 (b), únicamente se logra apreciar una banda con intensidad débil a 1776 cm^{-1} . Esto confirma la reacción de entrecruzamiento entre el PNAS y la polilisina, las bandas asignadas al grupo NH_3^+ a 3335 y 1510 cm^{-1} no aparecen, porque se empalman con las bandas del N-H, del grupo amida del NIPAAm, en 3292 y 1541 cm^{-1} .

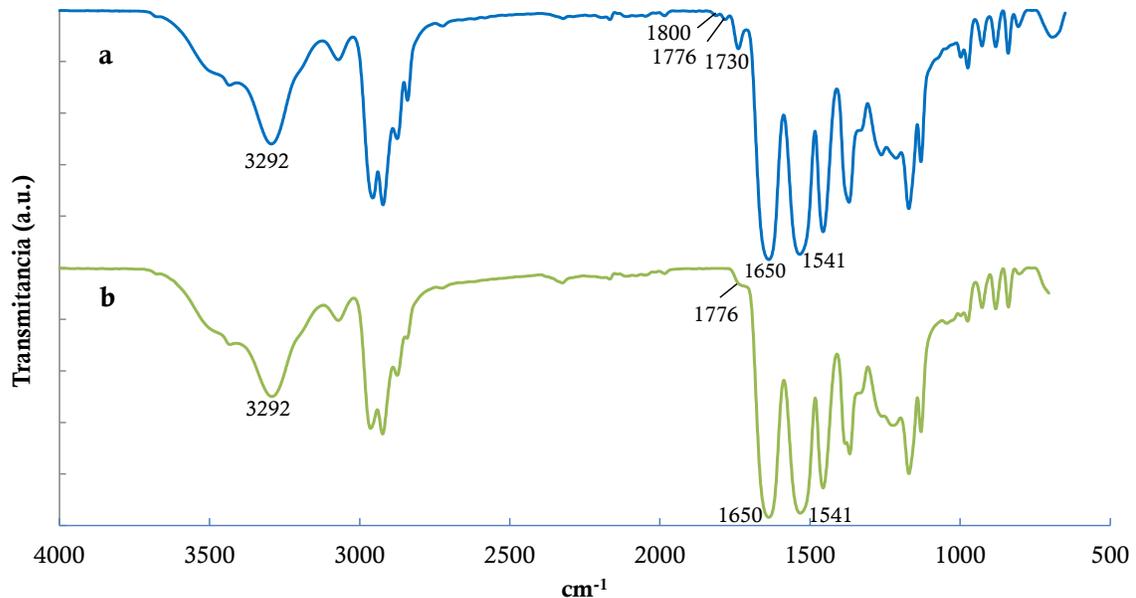
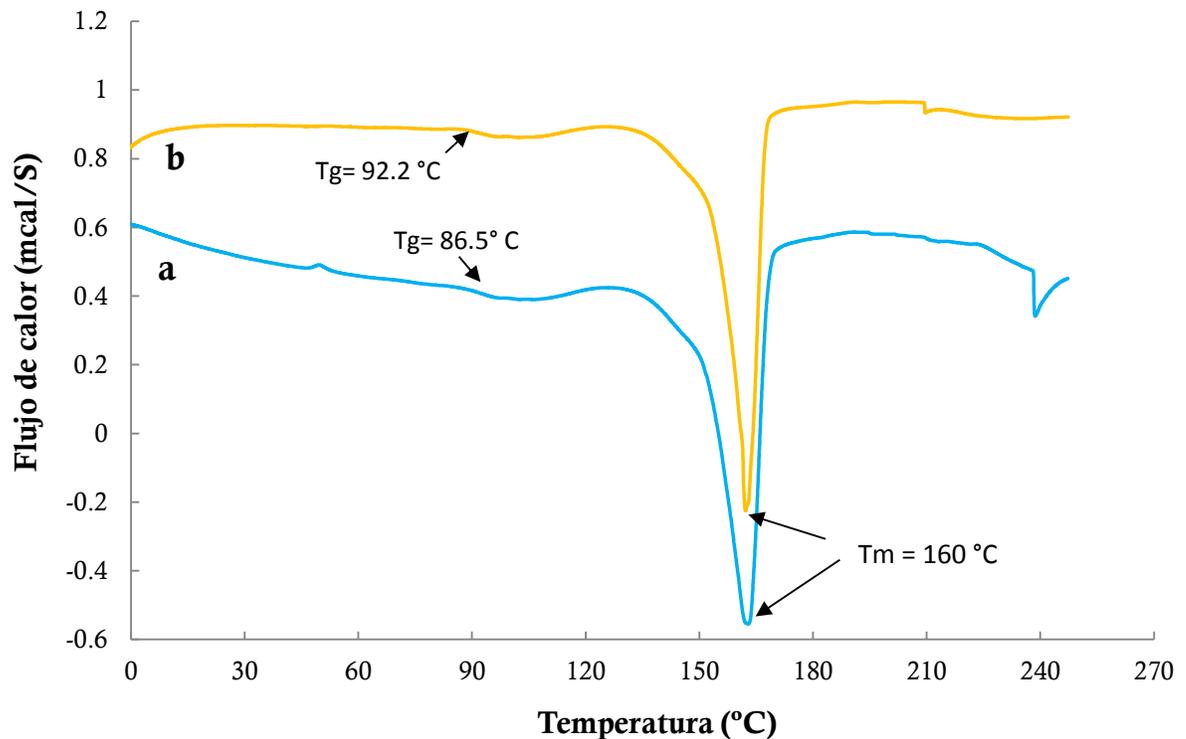


Figura 3.8. Espectro de FTIR-ATR de : a) (PP – g – NIPAAm)/NAS ; b) PP -g-IPN(170% PP-g-NIPAAm).

En la tabla 3.2 se resumen los valores de las transiciones térmicas correspondientes a los diferentes sistemas. La temperatura de transición vítrea de PP-g-NIPAAm (170%) tiene un valor de 86.5°C este valor incrementa a 92°C para *net*(PP-g-NIPAAm) y 95°C en la PP-g-IPN formada. El incremento de la Tg en el sistema *net*(PP-g-NIPAAm) se debe a la reticulación que sufre, lo que provoca que las cadenas tengan menos movilidad, en el caso de la PP-g-IPN. El incremento de Tg se debe al cambio que hay entre las interacciones polímero-polímero al estar presente la segunda red dentro del PNIPAAm injertado en el PP, lo cual puede provocar entrecruzamiento físico por puentes de hidrógeno y como consecuencia forman una estructura más rígida, que va a necesitar mayor energía para la movilidad de sus cadenas.



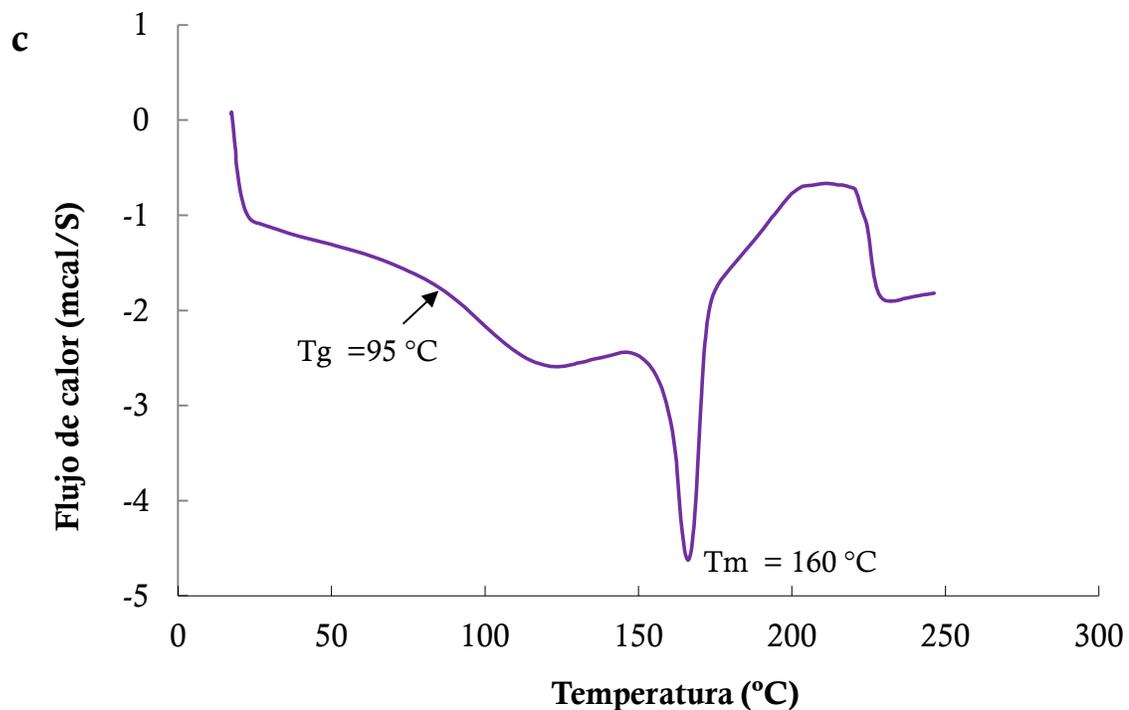


Figura 3.9. Termograma DSC: A) PP-g-NIPAAm; B) *net*(PP-g-NIPAAm); C) PP-g-IPN, con 170 % de injerto de NIPAAm. A 10°C/min en atmosfera de nitrógeno.

El punto de fusión (T_m) (figura 3.9) del PP se observa en todos los sistemas; por lo que se asume que el injerto ocurre principalmente en la parte amorfa del PP, además de que no hay un cambio significativo de éste.

La cristalinidad de las diferentes muestras fue determinada mediante la medición de la entalpía con la ecuación 3.4 (Mukherjee, 1985)

$$\% \chi_c = (\Delta H^*_{\text{corr}} / \Delta H_o) \times 100 \quad 3.4$$

χ_c es la cristalinidad, ΔH^*_{corr} y ΔH_0 son las entalpías corregida y del PP al 100% de cristalinidad (50 cal g⁻¹) respectivamente .

Para obtener la entalpía y la cristalinidad real de la muestra injertada, es necesario corregir la entalpía que nos da el área bajo la curva del termograma de la figura 3.9, considerando la cantidad de PP en la muestra.

La entalpía experimental fue corregida con la ecuación 3.5:

$$\Delta H^*_{\text{corr}} = (\Delta H_{\text{exp}}) / W_i \quad 3.5$$

W_i es la fracción peso del PP de las muestra PP-g-NIPAAm, net-(PP-g-NIPAAm) y la IPNs.

Tabla 3.2. Propiedades Térmicas de los diferentes sistemas.

	Tg (°C)	Tm (°C)	ΔH_{exp} (cal/g)	ΔH^*_{corr} (cal/g)	χ_c (%)
PP		*170	22		44
PNIPAAm	*85-136				
PNAS	*65				
PP-g-NIPAAm (170%)	86.5	169	7.0	17.6	35
net(PP-g-NIPAAm) (170%)	92	169	9.0	18.4	37
PP-g-IPN	95	169	11.0	20	40

*Propiedades térmicas obtenidas de la literatura Brandrup, 2005

La cristalinidad (χ_c), como se ve en la tabla 3.2, del sistema PP-g-IPN es mayor que la del PP-g-NIPAAm y *net*(PP-g-NIPAAm), puede deberse a que las interacciones por puente de hidrógeno entre las dos redes se incrementa.

Los resultados del análisis termogravimétrico (TGA) para todos los sistemas son mostrados en la tabla 3.3 y figura 3.10. Los datos de estabilidad térmica (10 % en pérdida de peso) para el PP modificado es como se esperaba; el PP sin injertar pierde el 10% de su peso a 420°C, los otros sistemas presentan esta descomposición a la misma temperatura de 377°C, esta disminución en la temperatura se debe a que el PP se modifica al introducir el NIPAAm, NAS y polilisina los cuales tienen una temperatura de descomposición menor. El termograma de la película de PP-g-IPN presenta dos temperaturas de descomposición que se deben al PNAS presente, que también muestra dos temperaturas de descomposición, pero la buena estabilidad térmica del PP se conserva.

Tabla 3.3. Termoestabilidad obtenida del análisis termogravimétrico para los diferentes sistemas.

Polímero	T ₁₀ (°C)
PP	420
PNIPAAm	375
PNAS	283
PP-g-NIPAAm (170%)	377
<i>net</i> (PP-g-NIPAAm) (170%)	377
PP-g-IPN	377

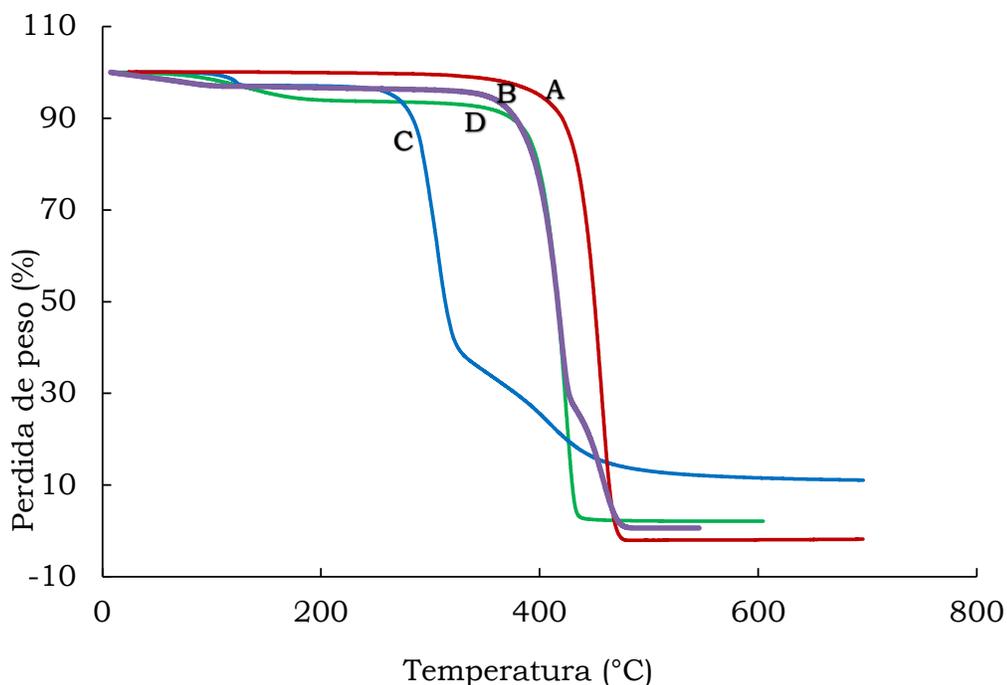


Figura 3.10. TGA de los diferentes sistemas: A) PP; B) PNIPAAm; C) PNAS; D) PP-g-IPN (170% de injerto de NIPAAm).

La morfología de los sistemas estudiados se presenta en la figura 3.11. La imagen correspondiente al PP-g-IPN (figura 3.11B) es una ampliación donde se puede ver toda la parte transversal del sistema. Suponemos que el PP está en medio del injerto, ya que esta parte es muy similar a la micrografía que corresponde al PP sin injertar (figura 3.11A) y que el injerto es en superficie, ya que la parte que corresponde al PP no parece ser alterada, ésto confirma que el injerto se lleva a cabo en superficie.

La morfología con respecto a la parte injertada de PP-g-NIPAAm, *net*(PP-g-NIPAAm) y IPN puede verse que, las tres figuras presentan diferente morfología. Se ve claramente que el PP-g-NIPAAm (Figura 3.11B) y *net*(PP-g-NIPAAm) (Figura 3.11C) tienen una superficie más homogénea que PP-g-IPN (figura 3.11D) que es más porosa.

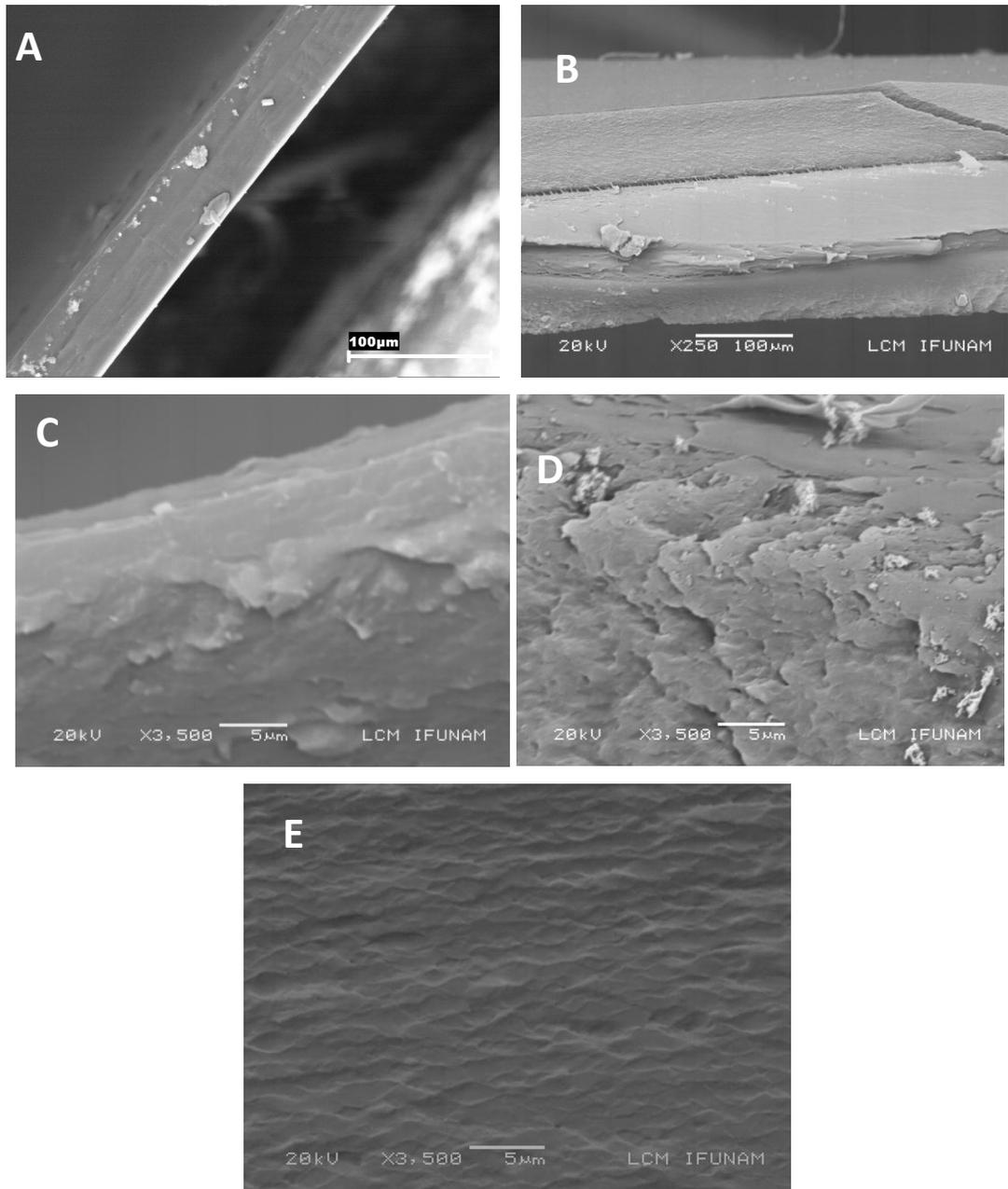


Figura 3.11. Micrografías SEM de la sección transversal de los sistemas hinchados: A) PP sin injertar; B) PP-g-IPN (micrografía del sistema completo); C) PP-g-NIPAAm; D) *net*(PP-g-NIPAAm); E) PP-g-IPN (micrografías de la parte injertada).

Una de las características más importantes de los materiales en general, son aquellas relacionadas con su uso final. En este sentido el estudio de las propiedades mecánicas nos proporciona información para obtener una caracterización completa de este nuevo sistema; el estudio de las propiedades mecánicas se refiere a la respuesta de un cuerpo cuando se le somete a una fuerza externa.

La finalidad de injertar una IPN hidrogel sobre un soporte polimérico (en este caso PP) es la de aprovechar las propiedades mecánicas de este y así un obtener un sistema manejable y como consecuencia reutilizable. Las propiedades que analizaremos es la resistencia a la tensión, módulo de Young y la elongación de los sistemas injertado, reticulado y PP-g-IPN.

En la figura 3.12 se muestra la resistencia a la tensión del PP en función de la dosis de radiación y de los sistemas, 170 % de injerto de NIPAAm, PP-g-NIPAAm, *net*(PP-g-NIPAAm) y PP-g-IPN. La tensión se define como la fuerza que se necesita para que un material se deforme y depende de la estructura del material, en este caso se observa que la tensión del PP disminuye al incrementar la dosis de radiación, el PP sin irradiar tiene una tensión de 255 MPa y para el PP irradiado a 40 kGy esta decrece hasta 151 MPa. Este descenso puede deberse a la degradación que sufre el PP por la irradiación, a pesar que las dosis de radiación no son muy grandes.

El PP-g-NIPAAm presenta una tensión de 59 MPa, esto se debe a que además de estar sometido a irradiación se incorpora un nuevo material que por sí sólo tiene pobres propiedades mecánicas, la tensión de *net*(PP-g-NIPAAm) es de 33 MPa, esto se atribuye a que se somete nuevamente a irradiación y al observar el comportamiento del PP al incrementar la dosis de radiación la tensión disminuye para el caso de la PP-g-

IPN se presenta un incremento de la tensión, 79 MPa. Este incremento se debe al incremento de las interacciones intermoleculares al incorporar la segunda red la cual da un sistema más rígido, lo que se corrobora con el dato de módulo de Young que comparado con los otros dos sistemas este es mucho más alto (tabla 3.4).

Si comparamos la propiedades mecánicas de nuestro nuevo sistema, PP-g-IPN, con las del PP irradiado y sin irradiar (Tabla 3.4); el incremento en el módulo de Young, disminución de la tensión y de la elongación podemos decir que se obtiene un sistema más rígido y que en comparación con el PP decrecen sus propiedades; sin embargo si comparamos con hidrogeles e IPN hidrogeles del PNIPAAm este nuevo sistema tiene mejores propiedades mecánicas, módulo de Young de 1.97 y 35 kPa^(Xian-Zheng, 2004) respectivamente.

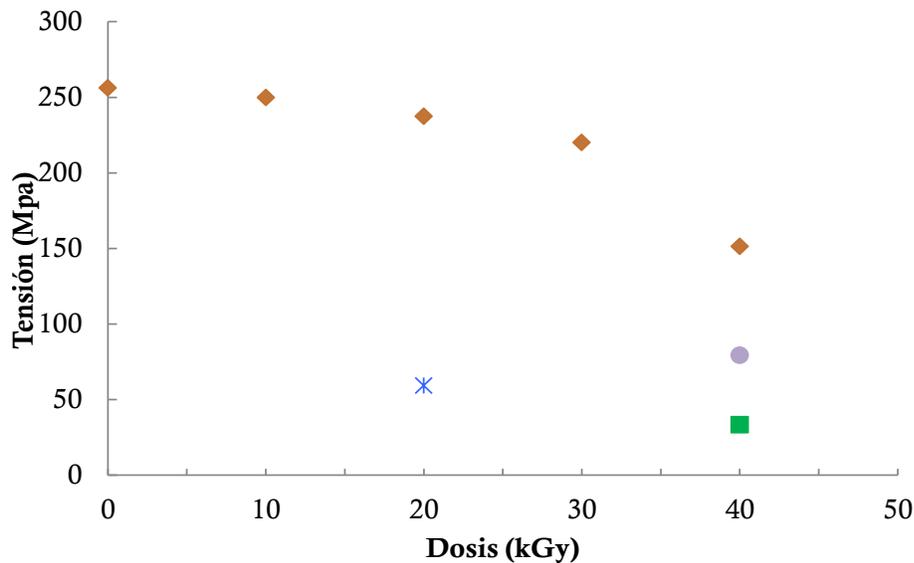


Figura 3.12. Resistencia a la tensión del PP en función de la dosis de radiación, y de los diferentes sistemas. ♦ PP sin irradiar e irradiado (10-40 kGy); * PP-g-NIPAAm; ■net(PP-g-NIPAAm) y • PP-g-IPN, los sistemas tienen 170% de injerto de NIPAAm.

Tabla 3.4. Propiedades mecánicas de PP irradiado y sin irradiar, y de los diferentes sistemas.

Muestra	Dosis radiación(kGy)	*Modulos de Young (MPa)	*Tensión (MPa)	*Elongación máx. (%)
PP	0	1817±237	255.94±78	30±12
	10	1787±215	250±7.5	28±2.40
	20	1785±50	237±36	28±2.35
	30	2071±115	220±30	19±1.00
	40	1981±139	151±8	18±2.40
PP – g – NIPAAm (170%)	20	1591±12	59±7	11.5±5
net(PP-g-NIPAAm) (170%)	40	1867±400	33±3	3±2
PP-g-IPN (170%)	40	2590±400	79±16	8±2

*Los datos fueron obtenidos del equipo instrong.

3.5 Inmovilización de las vesículas de lípido en el sistema PP-g-IPN

Las vesículas de lípido fueron preparadas a partir del lípido POPG y POPG/colesterol. Los liposomas de POPG fueron obtenidos por sonicación (vesículas unilamelares pequeñas-SUV-) y los liposomas de POPG/colesterol fueron obtenidos por hidratación directa (vesículas multilamelares-MLV-) y por sonicación (SUV).

Las vesículas de lípido de POPG y del tipo SUV no se logran inmovilizar en las PP-g-IPN, esto se atribuye a que estas sufren agregación o destrucción durante el proceso de sonicación ya que al medir el potencial zeta de las vesículas da un valor de cero, lo cual no concuerda con la literatura, el POPG es un lípido del tipo aniónico, carga negativa.

Una forma de obtener liposomas más estables es agregando colesterol, este se integra fácilmente en las bicapas de las vesículas de lípido, mejorando la rigidez de la membrana y como consecuencia aumenta las propiedades mecánicas de los liposomas, para fines de carga y liberación de fármaco es de suma importancia esta propiedad, para que se garantice su retención durante su aplicación.

La figura 3.13 muestra la relación entre las vesículas de lípido (μmol) de POPG: CH (50:50) y gramos de injerto de la PP-g-IPN en función del porcentaje de injerto de NIPAAm y del tipo de vesícula de lípido, MLV y SUV. Se observa que en ambos tipos de vesícula la relación disminuye al incrementar el porcentaje de injerto, obteniéndose la máxima cantidad de liposomas inmovilizados con 100 % de injerto; también se puede observar que las vesículas del tipo MLV se inmovilizan en mayor cantidad que las SUV, cuando se tiene el 100% de injerto se inmovilizan las MLV en 50% más que las SUV, esto se debe a que hay degradación o agregación de las SUV cuando se sonicen.

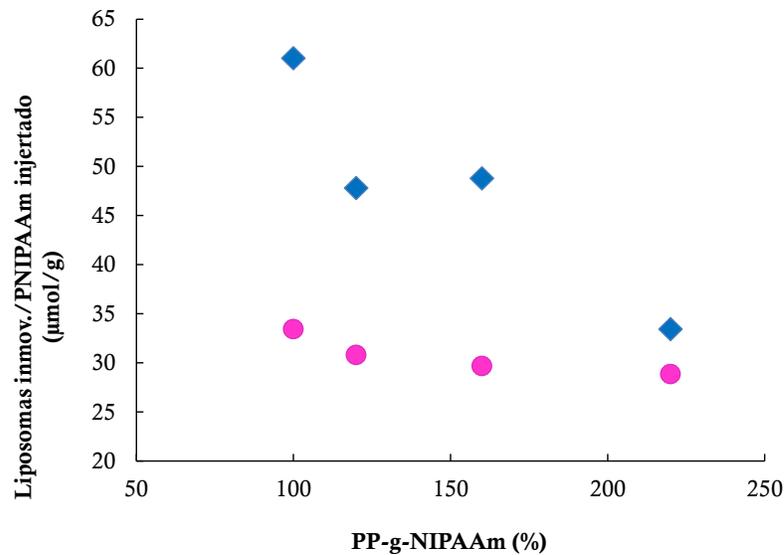


Figura 3.13. Liposomas inmovilizados en la PP-g-IPN en función del porcentaje de injerto del NIPAAm. (♦) liposomas MLV en PP-g-IPN; (•) liposomas SUV en PP-g-IPN.

3.6 Caracterización de las vesículas de lípido.

Para confirmar la formación de las vesículas de lípido y la diferencia entre los dos tipos de vesícula (MLV y SUV) se les determina su tamaño por dispersión de luz y se mide su potencial zeta. De acuerdo con los resultados de la tabla 3.5 concuerdan con los de la literatura (Lasic, 1993 y New, 1990) para estos sistemas, se encontró que las SUV tienen un tamaño entre 20-100 nm y las MLV son del orden de 1 micra.

Tabla 3.5. Tamaño de liposomas y potencial zeta de las MLV y SUV.

Composición	Tipo de liposoma	Tamaño (nm)	Potencial Zeta (mv)
POPG	SUV	80±5	0
POPG:CH (50:50)	MLV	931 ± 23	-89.9 ± 8.75
	SUV	57 ± 0.95	-85.3 ± 19.3

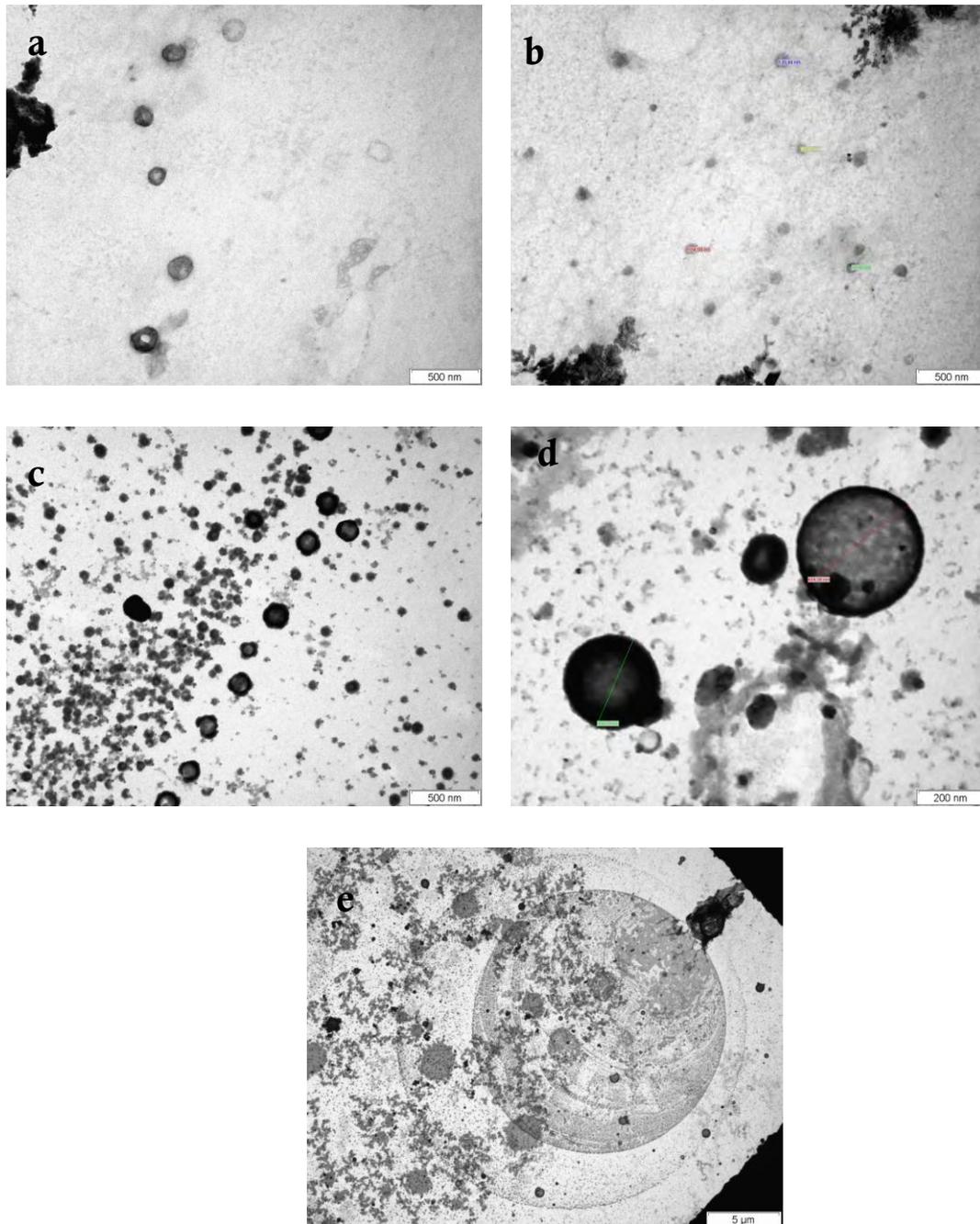


Figura 3.14. Morfología TEM de los liposomas SUV (a y b) y MLV (c-e).

La figura 3.14 muestra las imágenes obtenidas por microscopía electrónica de transmisión de las vesículas de POPG: CH unilamelares y multilamelares. Las figuras 3.14 a y b corresponden a las SUV y las figuras 3.14 c y d corresponden a las MLV, si comparamos estas imágenes se ve la diferencia, las MLV (figura 3.14 c y d) presentan una forma más esférica y más grande que las SUV, además en las MLV se pudo observar la formación de las estructuras laminares (lamelas) (figura 3.14 e).

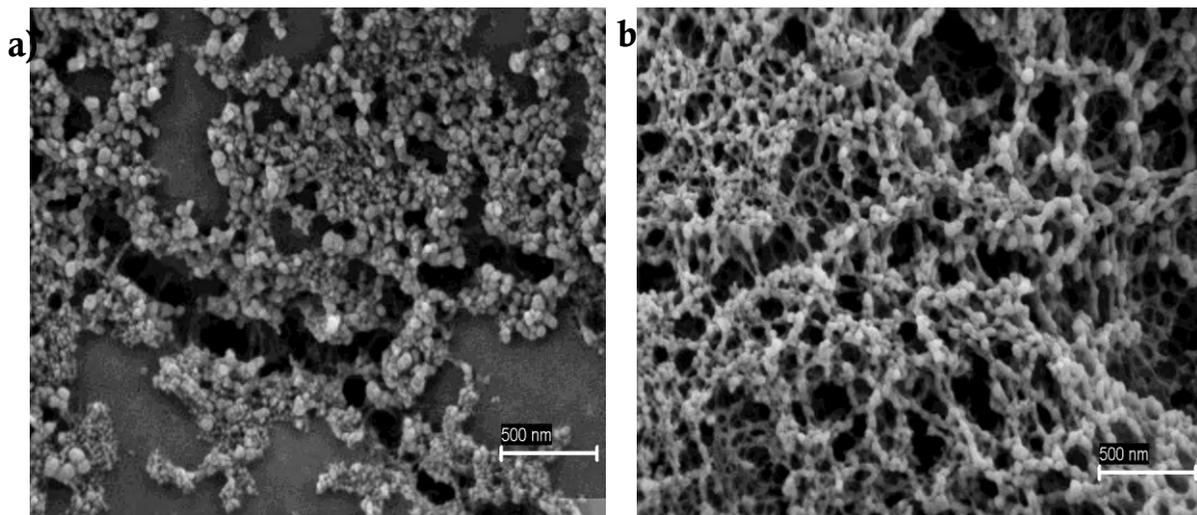


Figura 3.15. Morfología SEM de superficie: A) PP – g – IPN con liposomas SUV; B) PP – g – IPN con liposomas MLV.

Se analizó la morfología de superficie del PP-g-IPN (hinchadas) después de inmovilizar los liposomas, mediante microscopía electrónica de alta resolución. En las imágenes de la figura 3.15 se observan pequeñas esferas, las cuales consideramos que son los liposomas inmovilizados, además que en la figura 3.15 a estas se observan en formas de agregados mientras que en la figuras 3.15b se ven más distribuidas. Por lo que se concluye que las MLV se distribuyen más homogéneamente en el sistema y no forman conglomerados en la superficie.

CAPÍTULO IV. CONCLUSIONES

Se sintetizó satisfactoriamente el sistema polimérico basado en una red interpenetrada de PNIPAAm y PNAS entrecruzado con polilisina e injertado en PP, secuencialmente en tres etapas y mediante radiación ionizante empleando dosis menores de 100 kGys. La primera etapa fue el injerto de NIPAAm sobre el PP mediante preirradiación oxidativa, como paso subsecuente se retículo el PNIPAAm con radiación gamma y finalmente se entrecruzó el PNAS con la pLys mediante vía química *in situ* e interpenetró con la red de PNIPAAm.

- El PP-g-NIPAAm se logró obtener mediante el radiación gamma a dosis de 20 kGys y con injerto entre el 30 y el 200 % aproximadamente.
- La reticulación del sistema PP – g – NIPAAm realizada mediante radiación gamma a una dosis óptima de 20 kGys en presencia de agua se confirmó por el cambio en el % de hinchamiento, en el tiempo de respuesta máximo, principalmente, pero también en su desplazamiento en la LCST, menor termosensibilidad y al cambio en sus propiedades mecánicas, respecto al PP – g – NIPAAm.
- Los resultados de LCST nos confirman que el nuevo sistema, PP-g-IPN, conserva su sensibilidad a la temperatura, la PP-g-IPN tiene una LCST de

32°C, en cuanto a velocidad de respuesta al hinchamiento de este sistema se obtuvo en un tiempo de aproximadamente 20 minutos la cual es mejor que la de la IPN hidrogel de PNIPAAm/PNAS, tiempo de respuesta de 200 minutos, y mucho mejor que la del hidrogel de PNIPAAm que tiene un tiempo de respuesta de 48 h. Además, es un sistema reversible ya que durante varios ciclos este pasa de un estado hinchado a un estado colapsado con buena estabilidad.

- La composición de la PP-g-IPN fue confirmada por FTIR-ATR, se observó que las bandas que caracterizan al PNAS, 1730, 1776 y 1800 cm^{-1} correspondientes al grupo succinimida, desaparecen, lo cual confirma la reacción entre el PNAS y pLys.
- La cantidad de pLys inmovilizada es independiente de la dosis de reticulación, relación molar de NAS/NIPAAm y concentración de pLys. Se obtuvo que la máxima cantidad de polisina entrecruzada es de 3 μmol en un tiempo de 45 h.
- El análisis térmico muestra que el punto de fusión en todos los sistemas sintetizados es similar al del PP, lo cual indica que el injerto ocurre principalmente en la parte amorfa del PP. La estabilidad térmica de la PP-g-IPN es menor que la del PP pero mayor que la de los PNAS y PNIPAAm, por lo que la buena estabilidad térmica del PP se conserva.

- Las imágenes morfológicas de la sección transversal de nuestro sistema indican que el injerto está llevando a cabo en superficie, lo que confirma que sólo hubiera cambio en el espesor de las películas, para 200% de injerto el espesor fue de 3 veces más que el PP sin injertar.
- El nuevo sistema tiene buenas propiedades mecánicas, por lo que será fácilmente manejable. El módulo de Young de la PP-g-IPN es 2000 veces mayor que el del hidrogel e IPN de PNIPAAm.
- Esta nueva red polimérica interpenetrada e injertada, es termosensible y es buen candidato para inmovilizar liposomas. Se inmovilizaron 61 y 33 μmol de vesícula de lípido (POPG:CH) por gramo de injerto de PNIPAAm en la PP-g-IPN con 100% de injerto de PNIPAAm, de liposomas multilamelares (MLV) y unilamelares (SUV) respectivamente.
- Las imágenes TEM, los valores de potencial zeta y dispersión de luz confirman la formación de vesículas de lípidos del tipo MLV y SUV.
- Las imágenes morfológicas de superficie de las PP-g-IPN con los liposomas inmovilizados, obtenidas con SEM de alta resolución, muestran que los liposomas están inmovilizados.

A pesar de que se logró cumplir satisfactoriamente el objetivo de este trabajo, considero que se podría explorar otras perspectivas para obtener una aplicación específica del trabajo. Por tanto propongo lo siguiente:

- Realizar pruebas de liberación de los liposomas *in vitro* e *in vivo* y medir su estabilidad.
- Realizar pruebas de carga y liberación de fármacos *in vitro* e *in vivo* en el sistema y comparar los resultados con los sistemas ya existentes.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Ahuja, T., Mir, I.A., Kumar, D., Rajesh, 2007. Biomolecular immobilization on conducting polymers for biosensing applications. *Biomaterials* 28, 791–805.
- [2] Alvarez-Lorenzo, C., Concheiro, A., 2002. Reversible adsorption by a pH and temperature-sensitive acrylic hydrogel. *J. Control Release* 80, 247–257.
- [3] Arroyo, M., 1998. Immobilized Enzymes: Theory, Methods of study and Applications. *Ars Pharmaceutica* 39, 23-29.
- [4] Bajpai, A.K., Shukla, S.K., Bhanu, S. Kankane, S., 2008. Responsive polymers in controlled drug delivery. *Progress in Polymer Science* 33, 1088–1118.
- [5] Bhattacharya, A., Misra, B.N., 2004. Grafting: A versatile means to modify polymers. Techniques, factors and applications. *Progress in Polymer Science* 29, 767 – 814.
- [6] Braga, P. C., Ricci, D., 2004. Atomic force microscopy: biomedical methods and applications. Totowa, New Jersey.
- [7] Brandrup J., 2005. Immergut EH. *Polymer Handbook*. New York: John Wiley and Sons.
- [8] Brown M.E, 1998. *Handbook of Thermal Analysis and Calorimetry*. Elsevier Amsterdam.
- [9] Chapiro A., 1962. *Radiation Chemistry of Polimeric Systems*, John Wiley & Sons Inc., New York.
- [10] Charlesby, A., 1960. *Atomic Radiation and Polymers*. Pergamon Press Oxford.
- [11] Chen, P.S., Toribara, T.V., Warner, H., 1956: Microdetermination of Phosphorus. *Anal Chem* 28, 1756-1758.
- [12] Cosnier, S., Fologen, D., Szunerits, S., Marks, R.S., 2000. Poly(dicarbazole-N-hydroxysuccinimide) film: a new polymer for the reagentless grafting of enzymes and redox initiators. *Electrochem Commun* 2, 827–831.
- [13] Craver, C.D. Provder, T., 1990. *Polymer properties, spectroscopy and chromatographic methods*. American Chemical Society, Washington D.C.

- [14] D'Agosto, F., Charreyre, M.T., Veron, L., Llauro, M.-F., Pichot, C., 2001. Kinetic Study of Free-Radical Solution Copolymerization of N-Acryloylmorpholine with an Activated Ester-Type Monomer, N-Acryloxysuccinimide. *Macromolecular Chemistry and Physics* 202, 1689-1699.
- [15] Dimitrov, I., Trzebicka, B., Müller, A.H.E., Dworak, A., Tsvetanov, C.B., 2007. Thermosensitive water-soluble copolymers with doubly responsive reversibly interacting entities. *Progress in Polymer Science* 32, 1275–1343.
- [16] Dumitriu S., 2002. *Polymeric Biomaterials*. Second edition, New York: M. Dekker, 783-826.
- [17] Feng, S.-S., Ruan, G., Li, Q.-T., 2004. Fabrication and characterizations of a novel drug delivery device liposomes-in-microsphere (LIM). *Biomaterials* 25, 5181–5189.
- [18] Feng, S.-S., Ruan, G., Li, Q.-T., 2004. Fabrication and characterizations of a novel drug delivery device liposomes-in-microsphere (LIM). *Biomaterials* 25, 5181-5189.
- [19] Ferruti, P., Bettelli, A., Fere, A., 1972. High polymers of acrylic and methacrylic esters of N-hydroxysuccinimide as polyacrylamide and polymethacrylamide precursors. *Polymer* 13, 462-464.
- [20] Fiske, C. H., Subbarow, Y., 1925. Phosphorous assay. *Journal of Biological Chemistry* 66, 374-389.
- [21] Furth, M.E., Atala, A., Van Dyke, M.E, 2007. Smart biomaterials design for tissue engineering and regenerative medicine. *Biomaterials* 28, 5068–5073.
- [22] Gil, E.S., Hudson, S.M., 2004. Stimuli-reponsive polymers and their bioconjugates. *Prog. Polym. Sci.* 29, 1173–1222.
- [23] Gnanou Y., Fontanille, M., *Organic and physical chemistry of polymers*. John Wiley and Sons. USA. 2008.
- [24] Gunzler H., Williams A., 2001. *Handbook of Analytical Techniques*. Wiley – VCH, Vol. II.
- [25] Gutowska, A., Bark, J.S., Kwon, I.C., Bae, Y.H., Cha, Y., Kim, S.W., 1997. Squeezing hydrogels for controlled oral drug delivery. *Journal of Controlled Release* 48, 141–148.

- [26] Hatakeyama, T., Quinn, F.X., 1994. Thermal Analysis: Fundamentals and Applications to Polymer Science. John Wiley and Sons Inc., New York.
- [27] Hoffman, A. S., 2000. Bioconjugates of intelligent polymers and Recognition Proteins for Use and Affinity Separations. *Clinical Chemistry* 46, 1478-1486.
- [28] Ivanov V.S., 1992. Radiation Chemistry of Polymers. Utrecht, The Netherlands.
- [29] Keyse, R., Garratt-Reed, A. J., Goodhew, P.J., Lorimer, G., 1998. An Introduction to Scanning Transmission Electron Microscopy. New York: Springer Verlag.
- [30] Kumar, A., Srivastava, A., Galaev, I.Y., Mattiasson, B., 2007. Smart polymers: Physical forms and bioengineering applications. *Progress in Polymer Science* 32, 1205–1237
- [31] Lanio, M.E., Luzardo M.C., Laborde, R., Sánchez, O., Cruz-Leal, Y., Pazos, F., Tejuca, M., Valle, A., Alonso, M.E., Fernández, L.E., Álvarez, C., 2009. Las vesículas liposomales: obtención, propiedades y aplicaciones potenciales en la biomedicina. *Revista Cubana de Física* 26, 23-30.
- [32] Lasic D. D., 1993. Liposomes: from Physics to applications. Elsevier, Amsterdam.
- [33] Lasic D. D., 1998. Novel applications of liposomes. *Trends in Biotechnology* 16, 307-321.
- [34] Lowman, A.M., Morishita, M., Kajita, M., Nagai, T., Peppas, N.A., 1999. Oral delivery of insulin using pH-responsive complexation gels. *Journal of pharmaceutical science* 88, 933-937.
- [35] Madrigal Carballo, S., Lim, S., Rodriguez, G., Vila, A.O., Krueger, C.G., Gunasekaran, S., Reed, J.D., 2010. Biopolymer coating of soybean lecithin liposomes via layer-by-layer self-assembly as novel delivery system for ellagic acid. *Journal of Functional Foods* 2, 99 -106.
- [36] Magdy, M. M. Elnashar, 2010. Review Article: Immobilized Molecules Using Biomaterials and Nanobiotechnology. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology* 1, 61-77.

- [37] Mukherjee, A.K., Gupta, B.D., 1985. Radiation-induced graft copolymerization of methacrylic acid onto polypropylene fibers. IV. Thermal behavior. *J. Appl. Polym. Sci.* 30, 3479–3491
- [38] McNaughton, J.L., Mortimer, C.T., 1975. *Calorimetría Diferencial de Barrido. Physical Chemistry*, Vol. 10, 1-53.
- [39] Morishita, M., Lowman, A.M., Takayama, K., Nagai, T., Peppas, N.A., 2002. Elucidation of the mechanism of incorporation of insulin in controlled release systems based on complexation polymers. *Journal of controlled release* 81, 25-32.
- [40] Muñoz-Muñoz F., Ruiz J-C, Alvarez-Lorenzo C., Concheiro A., Bucio E., 2009. Novel interpenetrating smart polymer networks grafted onto polypropylene by gamma radiation for loading and delivery of vancomycin. *European Polymer Journal* 45, 1859–1867.
- [41] Nasef, M.M., Hegazy, E.-S.A., 2004. Preparation and applications of ion exchange membranes by radiation-induced graft copolymerization of polar monomers onto non-polar films. *Progress in Polymer Science* 29, 499 - 561.
- [42] Navarrete M., Cabrera L., 1993. *Introducción al estudio de los Radioisótopos*. 2a ed., UNAM, México.
- [43] New, R.R.C., 1990. *Liposome: A Practical Approach*. IRL Press, New York.
- [44] Odian, G., 2004. *Principles of polymerization*. 4 ed. John Wiley and Sons. USA.
- [45] Ortega, A., Bucio, E., Burillo, G., 2007. Radiation polymerization and crosslinking of (Nisopropylacrylamide) in solution and in solid state. *Polymer Bulletin* 58, 565-573.
- [46] Ortega, A., Bucio, E., Burillo, G., 2008. New interpenetrating polymer networks of Nisopropylacrylamide/N-acryloxysuccinimide: synthesis and characterization. *Polymer Bulletin* 60, 515–524.
- [47] Percot, A., Lafleur, M., Zhu, X.X., 2000. New hydrogels based on Nisopropylacrylamide copolymers crosslinked with polylysine: membrane immobilization systems. *Polymer* 41, 7231–7239.

- [48] Pollak, A., Blumenfeld, H., Wax, M., Baughn, R.L., Whitesides, G.M., 1980. Enzyme immobilization by condensation copolymerization into cross-linked polyacrylamide gels. *J. Am. Chem. Soc.* 102, 6324–6336.
- [49] Puskás, I., Csempeš, F., 2007. Influence of cyclodextrins on the physical stability of DPPC-liposomes. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 58, 218–224.
- [50] Requena, A., Zuñiga, J., 2004. *Espectroscopia*. Pearson, Education, S.A., 2004.
- [51] Rongen, H.A.H., Bult, A., Van Bennekom, W.P., 1997. Liposomes and immunoassays. *Journal of Immunological Methods* 204, 105–133.
- [52] Ruiz, J.C., Alvarez-Lorenzo, C, Taboada, P., Burillo, G., Bucio, E., De Prijck, K., 2008. Polypropylene grafted with smart polymers (PNIPAAm/PAAc) for loading and controlled release of vancomycin. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutic* 70, 467–77.
- [53] Schild, H.G., 1992 *Poly(N-Isopropylacrylamide): Experiment, Theory and Application*. *Progress in Polymer Science* 17, 163–249.
- [54] Schnaar, R.L., Lee, Y.C., 1975. Polyacrylamide Gels Copolymerized with Active Esters. A New Medium for Affinity Systems. *Biochemistry* 14, 1535–1541.
- [55] Schrader B., 1995. *Infrared and Raman Spectroscopy*. VCH Publisher, Inc., New York.
- [56] Shakya, A.K., Sami, H., Srivastava, A., Kumar, A., 2010. Stability of responsive polymer–protein bioconjugates. *Progress in Polymer Science* 35, 459–486.
- [57] Sperling, L.H., Mishra, V., 1996. The current status of interpenetrating polymer networks. *Polymers for Advanced Technologies* 7, 197–208.
- [58] Stevens, M. P., 1999, *Polymer Chemistry*. 3 ed. Oxford University.
- [59] Wilson, J.E., 1974. *Radiation Chemistry of Monomers, Polymers and Plastics*., Marcel Dekker, Inc., New York, USA.
- [60] Woods, R.J., Pikaev, A.K., 1994. *Applied Radiation Chemistry: Radiation Processing*. Wiley, New York.

- [61] Xian-Zheng, Z., Da-Qing W., Chih-Chang Chu, 2004. Synthesis, characterization and controlled drug release of thermosensitive IPN–PNIPAAm hydrogels. *Biomaterials* 25, 3793–3805.
- [62] Yang, H. J., Cole C.A., Monji N., Hoffman A., 1990. Preparation of a thermally Phase Separating Copolymer, Poly(N-Isopropylacrylamide-co-N-Acryloxysuccinimide), with a Controlled Number of Active Esters per Polymer Chain. *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry* 28, 219-226.
- [63] Zhang, X.Z., Zhuo, R.X., Cui, J.Z., Zhang, J.T., 2002. A novel thermoresponsive drug delivery system with positive controlled release. *International Journal of Pharmaceutics* 235, 43–50.