



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS**

Síntesis de copolímeros de injerto con respuesta a la temperatura y posibles propiedades antitrombogénicas que contienen 2-hidroxietil metacrilato y oligoetilenglicolmetiléter metacrilatos.

TESIS

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS**

PRESENTA:

M. en C. ALEJANDRO RAMÍREZ JIMÉNEZ

TUTOR PRINCIPAL:

**Dr. EMILIO BUCIO CARRILLO
INSTITUTO DE CIENCIAS NUCLEARES**

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:

**Dr. JUAN MANUEL NAVARRETE TEJERO
FACULTAD DE QUÍMICA**

**Dr. TAKESHI OGAWA MURATA
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN MATERIALES**

MÉXICO, DF. OCTUBRE DE 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACyT**) por la beca otorgada para la realización de mis estudios en el Programa de Doctorado en Ciencias Químicas UNAM. Número de apoyo 303153, becario 211350. También por la beca mixta otorgada para la estancia de investigación de tres meses en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Santiago de Compostela, España.

A la **Coordinación de Estudios de Posgrado, UNAM**, por la beca complementaria para la compra del boleto de avión, para llevar a cabo la estancia de investigación en la Universidad de Santiago de Compostela, España.

A la **Universidad Nacional Autónoma de México**, porque es un gran orgullo pertenecer a la Máxima Casa de Estudios.

Al Instituto de Ciencias Nucleares, UNAM

A mi tutor principal, **Dr. Emilio Bucio Carrillo**, por su asesoría, consejos, apoyo y paciencia para poder culminar este proyecto.

A la Dra. **Carmen Álvarez Lorenzo** y al **Dr. Ángel Concheiro Nine**, por su confianza y ayuda.

A los investigadores: **Dr. Juan Manuel Navarrete Tejero** (Comité Tutor y Jurado), **Dr. Takeshi Ogawa Murata** (Comité Tutor), **Dra. Larissa Alexandrova** (Jurado), **Dra. Liudmila Fomina** (Jurado), **Dra. Susana Hernández López** (Jurado y Comité Tutor Ampliado), **Dra. Flora Adriana Ganem Rondero** (Jurado) y **Dra. Alicia Negrón Mendoza** (Comité Tutor Ampliado).

A la **Dra. Guillermina Burillo Amezcua**, por su apoyo incondicional en el Departamento de Química de Radiaciones y Radioquímica, ICN UNAM.

Al **Fis. Francisco García** y al **M. en C. Benjamín Leal** (ICN, UNAM), por su ayuda en la irradiación de las muestras.

A mis **compañeros del Laboratorio de Macromoléculas** (ICN, UNAM)

La presente tesis forma parte de los proyectos: **DGAPA-UNAM IN202311**, **CONACyT-CNPq 174378**, y “Red iberoamericana de nuevos materiales para el diseño de sistemas avanzados de liberación de fármacos en enfermedades de alto impacto socioeconómico” (**RIMADEL**), CYTED 211RT0423.

DEDICATORIA

Para el más grande tesoro de mi vida, para ti hija

Sara Ramírez Amador

LA PRESENTE TESIS DOCTORAL SE LLEVÓ A CABO EN EL LABORATORIO DE MACROMOLÉCULAS DEL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA DE RADIACIONES Y RADIOQUÍMICA DEL INSTITUTO DE CIENCIAS NUCLEARES, UNAM.

LAS PRUEBAS DE BIOCOMPATIBILIDAD SE LLEVARON A CABO EN EL DEPARTAMENTO DE FARMACIA Y TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA DE LA FACULTAD DE FARMACIA, UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA, ESPAÑA.

Parte de este trabajo se presentó en los siguientes congresos:

- Alejandro Ramírez Jiménez y Emilio Bucio Carrillo. **Síntesis de copolímeros de injerto con respuesta a la temperatura y posibles propiedades antitrombogénicas que contienen 2-hidroxietil metacrilato y oligoetilenglicolmetiléter metacrilatos**. Primer Congreso de Alumnos de Posgrado, UNAM. Mayo de 2011, Ciudad Universitaria, México DF, México.
- Alejandro Ramírez Jiménez, Carmen Álvarez-Lorenzo, Ángel Concheiro, and E. Bucio. **Radiation-grafting of HEMA and OEGMA onto PP films by peroxidative preirradiation method**. International Conference on Polymers and Advanced Materials Polymat-2011. Octubre de 2011, Huatulco Oaxaca, México.
- Alejandro Ramírez Jiménez, Carmen Álvarez-Lorenzo, Ángel Concheiro, and E. Bucio. **PP-g-(HEMA/OEGMA), síntesis mediante radiación gamma**. 1er Congreso Técnico Científico, Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, "Usos Pacíficos de la Energía Nuclear". Diciembre de 2011, Toluca Estado de México, México.
- Alejandro Ramírez Jiménez, Carmen Álvarez-Lorenzo, Ángel Concheiro, and E. Bucio. **Synthesis of PP-graft-(HEMA/OEGMA) by gamma radiation**. American Chemical Society, National Meeting Spring 2012. Marzo de 2012, San Diego California. EUA.
- Alejandro Ramírez Jiménez, Carmen Álvarez-Lorenzo, Ángel Concheiro, and E. Bucio. **Grafting of thermo-responsive copolymers DEGMA/OEGMA onto PP films by gamma radiation**. 10th meeting of the Ionizing Radiation and Polymers Symposium (IRaP'2012). Octubre 2012, Cracovia, Polonia.

Se publicó el siguiente artículo:

- Alejandro Ramírez Jiménez, Carmen Álvarez-Lorenzo, Ángel Concheiro, and Emilio Bucio. **Radiation-grafting of 2-hydroxyethylmethacrylate and oligo (ethylene glycol) methyl ether methacrylate onto polypropylene films by one step method**. *Radiat. Phys. Chem.* 81, **2012**, 27-32.

ÍNDICE

1 RESUMEN	1
2 INTRODUCCIÓN	3
3 GENERALIDADES	5
3.1 Copolímeros de injerto	5
3.1.1 Metodologías para su obtención	5
3.1.2 Injerto mediante radiación gamma	6
3.1.2.1 Método directo	8
3.1.1.2 Método de preirradiación	9
3.1.2.3 Método de preirradiación oxidativa	9
3.2 Radiación ionizante	10
3.2.1 Núcleos radiactivos	11
3.2.1.1 Tipos de decaimiento más comunes	11
3.2.1.2 Energías de radiación emitida	13
3.2.1.3 Ley de decaimiento radioactivo	14
3.2.1.4 Esquemas de decaimiento	15
3.2.2 Fuentes	17
3.2.3 Magnitudes y unidades	18
3.2.3.1 Actividad	18
3.2.3.2 Exposición	18
3.2.3.3 Dosis absorbida	19
3.2.3.4 Dosis equivalente	19
3.2.3.5 Transferencia lineal de energía	20
3.2.3.6 Razón de dosis	21
3.2.3.7 Rendimiento radioquímico (G)	21
3.2.4 Interacción de la radiación con la materia	21
3.2.4.1 Partículas pesadas con carga positiva (alfa, protones, iones positivos energéticos)	22
3.2.4.2 Partículas ligeras cargadas (electrones, betas y positrones)	22
3.2.4.3 Neutrones	23

3.2.4.4 Radiación electromagnética (gamma, rayos X)	24
3.2.5 Dosimetría	26
3.2.5.1 Dosímetro de Fricke	27
3.2.5.2 Dosímetro de Fricke modificado	30
3.2.6 Efectos de la radiación sobre polímeros	32
3.3 PP y PE	34
3.3.1 Injerto sobre PP y PE	37
3.4 HEMA	38
3.5 OEGMA	40
3.5.1 OEGMA's estímulo-respuesta	41
3.6 Polímeros Inteligentes	45
3.6.1 LCST	47
3.7 Biomateriales	49
4 JUSTIFICACIÓN	52
5 HIPÓTESIS	53
6 OBJETIVOS	
6.1 OBJETIVO GENERAL	53
6.2 OBJETIVOS PARTICULARES	53
7 RESULTADOS y DISCUSIÓN	55
7.1 Copolímeros PP-g-(HEMA/OEGMA1100) y LDPE-g-(HEMA/OEGMA1100)	56
7.1.1 Caracterización	61
7.1.2 Hidrofilia	67
7.2 Injerto de OEGMA300 y HEMA sobre PP	71
7.2.1 Caracterización	72
7.2.2 Hidrofilia	75
7.3 Injerto de DEGMA y HEMA sobre PP	78
7.3.1 Caracterización	78
7.3.2 Hidrofilia	79
7.4 Injerto de DEGMA/OEGMA	84
7.4.1 Respuesta a la temperatura	87
7.4.1.1 Hinchamiento en agua	87
7.4.1.2 DSC	89

7.5 Injerto de DEGMA/OEGMA sin inhibidores	89
7.5.1 Caracterización	93
7.5.2 Hidrofilia	98
7.5.3 Respuesta a la temperatura	100
7.5.3.1 Hinchamiento en agua	100
7.5.3.2 Ángulo de contacto	101
7.5.3.3 DSC	102
7.6 Pruebas de biocompatibilidad	105
7.6.1 Formación de trombos	105
7.6.2 Hemólisis	107
7.6.3 Absorción de proteínas plasmáticas	110
7.6.4 Adhesión de bacterias	112
7.6.5 Citocompatibilidad	114
7.6.5.1 Viabilidad de fibroblastos mediante el ensayo del MTT	115
7.6.5.2 Viabilidad de macrófagos	117
7.6.5.2.1 Ensayo de LDH	117
7.6.5.2.2 Cuantificación de citocinas TNF- α e IL-1 β	120
8 CONCLUSIONES	123
9 PARTE EXPERIMENTAL	125
9.1 Materiales usados para llevar a cabo los injertos	125
9.2 Materiales usados para las pruebas biológicas	125
9.3 Injerto mediante radiación gamma	126
9.4 Caracterización	127
9.5 Interacción con agua	128
9.6 Biocompatibilidad	129
9.6.1 Hemólisis	129
9.6.2 Formación de trombos	129
9.6.3 Adsorción de proteínas	130
9.6.4 Adhesión de bacterias	131
9.6.5 Citocompatibilidad	132
10 REFERENCIAS	135
11 ARTÍCULO	141

1 RESUMEN

Películas de polipropileno isotáctico y polietileno de baja densidad fueron modificadas mediante el injerto binario en un solo paso de: metacrilato de 2-hidroxiethyl (HEMA) y metacrilato de metil oligoetilenglicol éter, con PM = 1100, 300 o metacrilato de 2-(2-metoxietoxi)etil éter, (OEGMA1100, OEGMA 300 y DEGMA respectivamente), o el injerto binario de DEGMA y OEGMA con PM = 475 o 300. Para llevar a cabo la modificación se usó el método de preirradiación oxidativa, en el cual los polímeros fueron expuestos a una fuente de ^{60}Co (Gammabeam 651 PT, MDS Nordion) en presencia de aire. Las muestras se caracterizaron mediante FTIR-ATR, DSC, TGA, ángulo de contacto, pruebas de hinchamiento en agua, SEM y EDS. Por último se evaluó su biocompatibilidad mediante pruebas de hemólisis, formación de trombos, adsorción de proteínas, citotoxicidad y adhesión de bacterias. Los resultados confirmaron el injerto sobre los polímeros y que los materiales presentan una buena biocompatibilidad. Además los copolímeros de injerto binario (DEGMA/OEGMA) presentaron una respuesta no lineal con respecto a la temperatura, el hinchamiento alcanzó un valor mínimo alrededor de 40 °C y mediante DSC se observó que presentan una temperatura crítica mínima de disolución (LCST).

ABSTRACT

Isotactic polypropylene and low density polyethylene were modified by binary grafting in one pot of either 2-hydroxyethylmethacrylate (HEMA) and oligoethyleneglycol methylether methacrylate with MW = 1100, 300 or 2-(2-methoxyethoxy)ethylether methacrylate, (OEGMA1100, OEGMA300 y DEGMA respectively) or binary grafting of DEGMA and OEGMA475 or OEGMA300. Preirradiation method, in which polymers were exposed to ^{60}Co (Gammabeam 651 PT, MDS Nordion), was used in order to create active sites on the polymeric films. Samples were characterized by FTIR-ATR, DSC, TGA, contact angle, swelling in water, SEM and EDS. Biocompatibility was evaluated by hemolysis, thrombus formation, protein adsorption, cytotoxicity, and bacteria adhesion tests. The results confirm the grafting onto the polymers and that these materials shown an adequate biocompatibility. Also grafting copolymers (DEGMA/OEGMA) had a nonlinear response with respect to temperature, the swelling reached a minimum value around 40 °C and a Lower Critical Solution Temperature (LCST) was observed by DSC.

2. INTRODUCCIÓN

El uso de polímeros en dispositivos biomédicos y sobre todo de aquellos que están en contacto con el cuerpo humano, ha sido limitado por su biocompatibilidad [1]. Por lo tanto con el fin de aprovechar las propiedades mecánicas y de resistencia de estos materiales se ha hecho necesario modificarlos sin cambiar significativamente tales propiedades, una de las formas de mantenerlas y mejorar su biocompatibilidad es modificando su superficie ya sea por recubrimiento o mediante enlaces con diferentes moléculas, la manera por la cual se unen covalentemente estos compuestos al material es conocida como injerto, para el caso de los polímeros existen diferentes metodologías[2]; de estas el injerto mediante radiación gamma presenta algunas ventajas como son, evitar el uso de aditivos, iniciadores o catalizadores químicos, además se generan radicales libres de manera homogénea sobre la superficie [3].

La variedad de moléculas que se pueden injertar es tan basta como uno pueda imaginar, no obstante para su uso en dispositivos biomédicos, la gente ha emulado la propia naturaleza por lo cual se han utilizado compuestos que tengan cierta similitud con los tejidos del cuerpo humano [4,5], de este modo la clase de compuestos a injertar dependerán del uso para el cual sean creados.

En la aplicación, de las principales complicaciones al momento de introducir un objeto en el cuerpo son: las infecciones y la respuesta inmunológica que se manifiesta en inflamación,

cambio en la temperatura y pH del área afectada, así como la formación de pequeños coágulos conocidos como trombos, tal respuesta se debe principalmente a la adsorción de material orgánico presentes en el torrente sanguíneo y a la desnaturalización de las proteínas; esto se puede disminuir si se aumenta la hidrofilia en la superficie del dispositivo, por lo tanto moléculas con esta característica han sido injertadas en matrices poliméricas hidrofóbicas. Dicha hidrofilia se puede lograr con grupos funcionales que sean capaces de formar puentes de hidrógeno con moléculas de agua o mediante interacciones electrostáticas.

Por otro lado, los polímeros inteligentes son aquellos que se caracterizan por tener una respuesta no lineal frente a un cambio en el medio ambiente, esta respuesta se manifiesta como un cambio abrupto y reversible en alguna de sus propiedades en un intervalo pequeño del estímulo, este puede ser la temperatura, el pH, la fuerza iónica, luz, un campo magnético o eléctrico entre otros.

Con el objetivo de crear materiales con nuevas características, las opciones que se tienen son empezar a investigar nuevos compuestos, mezclar los ya existentes o modificar las superficies cuando la aplicación así lo requiera; para el último caso, las superficies se pueden recubrir mediante adsorción o interacciones iónicas pero también se le pueden unir nuevos compuestos a través de enlaces covalentes [6].

3. GENERALIDADES

3.1 Copolímeros de injerto

Dentro de la clasificación de los copolímeros, una categoría son los copolímeros de injerto, estos se caracterizan por tener cadenas de polímero de cierta naturaleza química unidas covalentemente a lo largo de otra cadena polimérica principal de naturaleza química diferente o similar pero no igual. En la **Figura 3.1** se muestra de manera simplificada un copolímero de injerto. Aunque la recomendación en cuanto a la nomenclatura es colocar en primer lugar el nombre del polímero que contiene la cadena principal, seguido de la palabra “*graft*” en cursivas y enseguida el nombre del polímero que se ha unido a la cadena principal, p. ej. Si se tiene polietileno sobre el cual se injertó ácido acrílico, su nomenclatura es: polietileno-*graft*-ácido poliacrílico, el modo abreviado polietileno-*g*-poliácido acrílico también es aceptado e incluso con los acrónimos usados para compuestos comunes PE-*g*-P(AAc). Nótese que la cadena principal puede ser ya un copolímero o que las cadenas a injertar pueden ser también copolímeros; obviamente la nomenclatura correcta se debe colocar en cada caso [7].

3.1.1 Metodologías para su obtención

Su síntesis se puede llevar a cabo principalmente por dos metodologías nombradas “*grafting from*” o “*grafting to*” [8]. En la primera las cadenas a injertar se forman al hacer

reaccionar los monómeros con sitios activos en la cadena principal (**Figura 3.2a**) y en la segunda las cadenas ya formadas reaccionan con sitios activos sobre la cadena principal (**Figura 3.2b**)

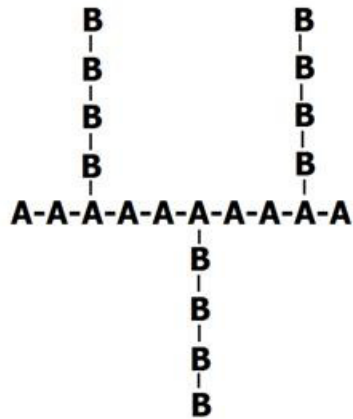


Figura 3.1. Representación simplificada de un copolímero de injerto poliA-graft-poliB

3.1.2 Injerto mediante radiación gamma

La síntesis de copolímeros de injerto mediante radiación gamma es una técnica versátil que permite combinar las características de la matriz como son su resistencia térmica, química o sus propiedades mecánicas; así como de los nuevos compuestos injertados los cuales pueden estar funcionalizados obteniendo así superficies con características nuevas [9-13], esto sin el uso de iniciadores, aditivos o catalizadores químicos [14], además la superficie es cubierta homogéneamente y al mismo tiempo es esterilizada por la radiación [15].

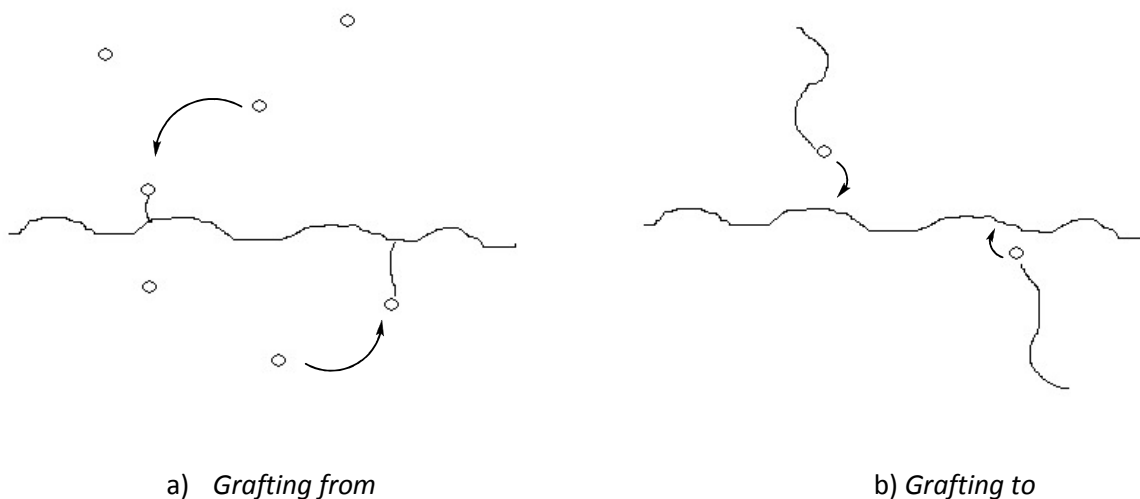


Figura 3.2. Rutas generales para la síntesis de copolímeros de injerto.

Para la síntesis de copolímeros de injerto se requiere la formación de centros reactivos en presencia de compuestos polimerizables o cadenas poliméricas que puedan reaccionar con dichos centros, estos pueden ser radicales libres los cuales actuarán como iniciadores reaccionando así con unidades de monómeros empezando de este modo la propagación.

El injerto mediante radiación ionizante es una técnica que permite introducir diferentes monómeros sobre una gran variedad de polímeros; a diferencia de métodos químicos no se requiere de iniciadores, aditivos o catalizadores. Para la síntesis de copolímeros de injerto utilizando radiación gamma, existen tres metodologías principales: i) el método directo, ii) el método de preirradiación y iii) el método de preirradiación oxidativa [16-19].

3.1.2.1 Método directo

En este caso tanto el polímero como el monómero son irradiados en el mismo reactor, el principal criterio para usar este método es que el rendimiento radioquímico de formación de radicales ($G_{R\bullet}$) del polímero sea mayor al del monómero (ver sección 2.2.5.7) de este modo los radicales formados en la matriz actuarán como iniciadores de la polimerización (**Figura 3.3**). En caso de que $G_{R\bullet}$ del monómero sea mayor, éste formará radicales y reaccionará principalmente con otro monómero para producir mayoritariamente homopolímero, esto es una de las principales desventajas de este método. Para disminuir esta formación se pueden adicionar inhibidores de la polimerización como la sal de Mohr, ácidos como ácido sulfúrico o sales inorgánicas como LiClO_4 o LiNO_3 . En este método la dosis, así como la razón de dosis, son dos parámetros muy importantes debido a que se puede tener cierto control en el número y longitud de las cadenas ya que la razón de dosis o intensidad afecta la rapidez de polimerización (R_p) de acuerdo con la ecuación siguiente:

$$R_p = k_p I^{1/2} [M]/kt^{1/2}$$

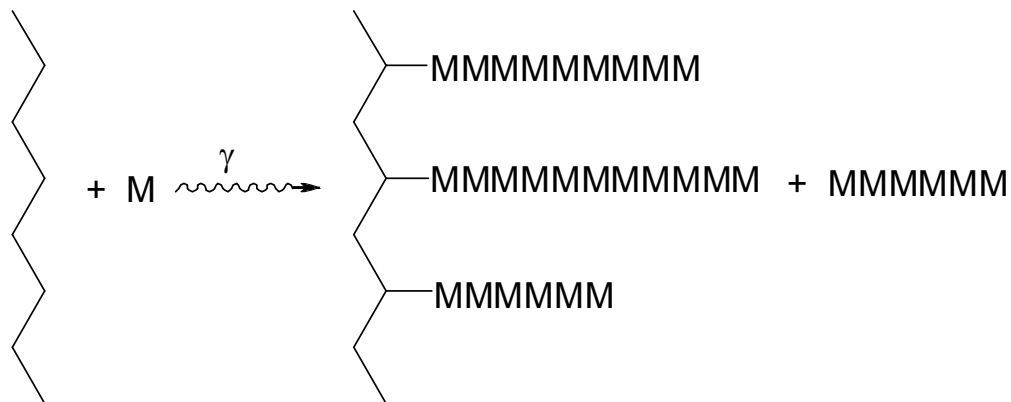


Figura 3.3. Representación simplificada para el injerto mediante radiación gamma, utilizando el método directo, del monómero M sobre una cadena polimérica.

3.1.1.2 Método de preirradiación

En este método el polímero es irradiado al vacío o en presencia de un gas inerte, los radicales formados son atrapados en la matriz polimérica e inician la copolimerización al adicionar el monómero (**Figura 3.4**).

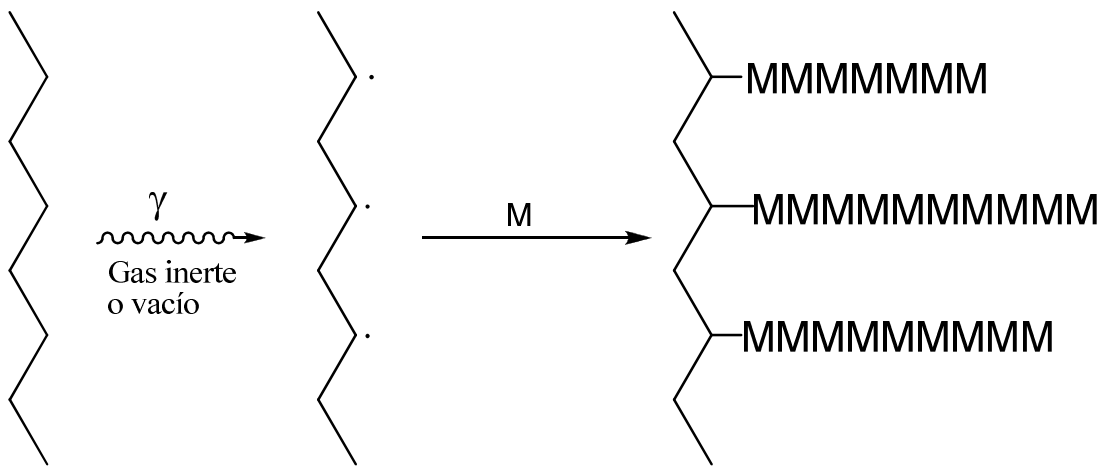


Figura 3.4. Representación simple del injerto del monómero M sobre una cadena polimérica mediante radiación gamma utilizando el método de preirradiación.

3.1.2.3 Método de preirradiación oxidativa

Cuando la matriz es irradiada en presencia de aire o solo oxígeno, se da la formación de peróxidos e hidroperóxidos, estos son estables a temperaturas bajas por lo que se pueden almacenar hasta el momento de iniciar la reacción, para ello es necesario adicionar el monómero,

eliminar el oxígeno y calentar la muestra para romper los peróxidos e iniciar así la copolimerización (**Figura 3.5**).

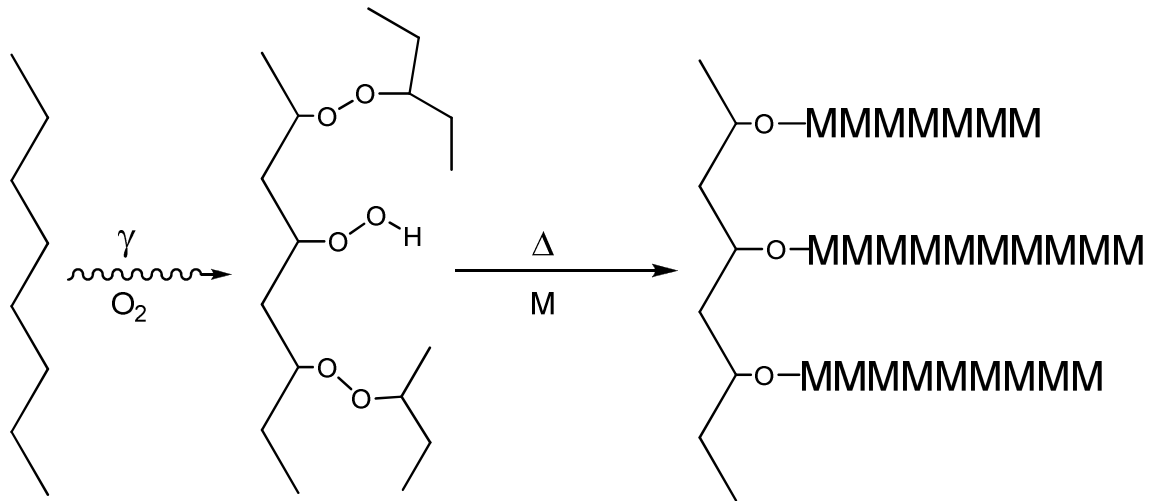


Figura 3.5. Representación simple del injerto del monómero M sobre una cadena polimérica mediante radiación gamma utilizando el método de preirradiación oxidativa.

3.2 Radiación ionizante

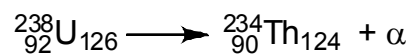
La radiación puede definirse como la propagación de la energía a través del espacio, puede estar en forma de partículas u ondas electromagnéticas, estas últimas comprenden todo el espectro electromagnético desde los rayos cósmicos hasta los rayos gamma. La radiación ionizante es aquella que tiene la propiedad de ionizar a los átomos que conforman la materia creando iones altamente reactivos, muchas veces, erróneamente, solo a esta se le dice radiación. La radiación ionizante es cualquiera de los diferentes tipos de partículas y rayos emitidos por material radiactivo, equipos de alto voltaje, reacciones nucleares o estrellas. Las partículas cargadas ionizan directamente y las no cargadas o fotones ionizan de manera indirecta [20].

3.2.1 Núcleos radiactivos

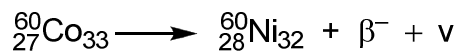
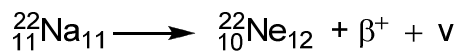
Los núcleos pueden transformarse unos en otros, o pasar de un estado energético a otro, mediante la emisión de radiaciones. Se dice entonces que los núcleos son radiactivos; el proceso que sufren se denomina decaimiento radiactivo o desintegración radiactiva. Esta transformación o decaimiento sucede de manera espontánea en cada núcleo. Nótese, además, que cada decaimiento va acompañado por la emisión de al menos una radiación. La energía que se lleva cada radiación es perdida por el núcleo, siendo la fuerza nuclear el origen de esta energía. Los decaimientos radiactivos se caracterizan por el tipo de emisión, su energía y la rapidez de decaimiento.

3.2.1.1 Tipos de decaimiento más comunes

- a) *Partículas alfa* (α). Un grupo de elementos pesados casi todos con número atómico igual o superior al ^{82}Pb , pueden decaer emitiendo partículas alfa, que consisten de dos protones y dos neutrones. Estas partículas alfa son idénticas a núcleos de helio (^4He), de hecho, cuando estas han perdido casi la totalidad de su energía cinética, capturan dos electrones transformándose así en átomos de helio. Cuando un núcleo emite una partícula alfa, pierde 2 unidades de carga y 4 de masa, transformándose en otro núcleo, por ejemplo:



b) *Partículas beta* (β). Hay dos tipos de decaimiento beta, el de una partícula negativa y el de una positiva. Como los núcleos no contienen electrones, la explicación de dicha emisión es que un neutrón del núcleo se convierte en un protón y un electrón; el protón permanece dentro del núcleo y el electrón escapa como partícula beta negativa. El número de masa del núcleo resultante es el mismo que el del núcleo original, pero su número atómico aumenta una unidad. Es importante mencionar que en todo decaimiento beta se emite también un neutrino (ν). Algunos núcleos emiten partículas beta positivas (positrones), que tienen la misma masa que los electrones y carga positiva. Se crean en el núcleo cuando un protón se convierte en un neutrón. El neutrón permanece en el núcleo y el positrón (junto con otro neutrino) es emitido. Como resultado el núcleo pierde una carga positiva. Ejemplos de este tipo de decaimiento se muestran a continuación.



c) *Radiación gamma* (γ). Los rayos gamma son radiación electromagnética emitida por un núcleo cuando experimenta una transición de un estado de energía mayor a uno menor, en este caso el número de neutrones y protones permanece invariante.

d) *Captura electrónica*. En ciertos núclidos es posible que se dé la captura electrónica. En este caso el núcleo atrapa un electrón orbital. En consecuencia uno de sus protones se transforma en un neutrón, disminuyendo así su número atómico. El electrón atrapado por el núcleo generalmente proviene de la capa K, dejando una vacancia. Para llenar esta

vacancia, cae un electrón de una capa exterior emitiendo de manera simultánea un fotón de rayos X.

Hay otros procesos de menor importancia que también implican decaimiento radiactivo, transmutación de elementos y emisión de alguna radiación característica. Por otro lado, si se cuenta con un acelerador de partículas o un reactor nuclear, se puede inducir un gran número de reacciones nucleares acompañadas por sus correspondientes emisiones. De hecho, en la gran mayoría de las fuentes radiactivas que se usan en la actualidad, la radiactividad ha sido inducida por bombardeo con neutrones provenientes de un reactor nuclear.

Existen fuentes radiactivas que emiten neutrones, pero éstos provienen de reacciones nucleares secundarias, porque ningún núcleo emite neutrones espontáneamente, salvo en el caso poco común de la fisión nuclear, la cual va acompañada por la emisión de varios neutrones.

3.2.1.2 Energías de radiación emitida

La segunda propiedad que caracteriza al decaimiento radiactivo de cada núclido es la energía de la radiación emitida. Como los núcleos sólo pueden existir en niveles de energía fijos se deduce que la energía de decaimiento entre dos estados dados es siempre la misma.

Las radiaciones nucleares tienen normalmente energías del orden de los MeV.

3.2.1.3 Ley de decaimiento radioactivo

La tercera propiedad característica de la desintegración radiactiva es su rapidez. Si el proceso es rápido, el núclido original dura poco, si el proceso es lento, puede durar mucho tiempo, incluso miles de millones de años.

Supóngase que se tiene una muestra con un número dado N de núcleos radiactivos. La actividad A , o sea la emisión de radiación por unidad de tiempo, es proporcional al número N presente en cada instante:

$$A = \lambda N$$

La cantidad λ se llama constante de decaimiento, y es característica de cada elemento y cada tipo de decaimiento.

Ya que la actividad es una función del tiempo, se obtiene fácilmente la ley de decaimiento radiactivo

$$A = A_0 e^{-\lambda t}$$

en donde el valor de la constante de decaimiento determina qué tan rápidamente cae la curva.

Para representar la duración de las fuentes radiactivas se ha definido el concepto de vida media, y se representa como $t_{1/2}$. La vida media de un isótopo es el tiempo que tarda en reducirse su actividad a la mitad.

Cada núclido tiene su vida media propia, y ésta es otra cantidad que no puede ser alterada por ningún factor externo.

Tabla 1. Vida media de algunos radioisótopos

^3H	12.26	Años
^{14}C	5.730	Años
^{22}Na	2.6	Años
^{32}P	14.3	Días
^{40}K	1.3×10^9	Años
^{60}Co	5.24	Años
^{124}Sb	60.4	Días
^{129}I	1.6×10^7	Años
^{137}Cs	30	Años
^{210}Po	138	Días
^{226}Ra	1620	Años
^{235}U	7.13×10^8	Años
^{238}U	4.51×10^9	Años
^{239}Pu	24 360	Años
^{241}Am	458	Años
^{252}Cf	2.7	Años

3.2.1.4 Esquemas de decaimiento

Las características sobre la desintegración radiactiva de cada núclido se pueden representar de forma gráfica en un llamado esquema de decaimiento. En estos esquemas, las líneas horizontales representan los estados energéticos en que pueden estar los núcleos, y distintos núcleos se encuentran desplazados horizontalmente, creciendo Z hacia la derecha. Las flechas indican transiciones por emisión radiactiva. La escala vertical es una escala de energías; la energía disponible para cada decaimiento está indicada por la separación entre los estados

correspondientes. De esta manera un decaimiento por partícula cargada implica una flecha diagonal, y una emisión de rayo gamma una flecha vertical.

Al observar detalladamente estos esquemas, se ve que un núclido puede decaer de varios modos distintos, que tienen indicado el porcentaje en que se presenta cada uno. Además, puede haber decaimientos secuenciales en varios pasos hasta llegar al estado de menor energía (estado base). La emisión de rayos gamma siempre es resultado de la creación previa de un estado excitado del núcleo final. Éste decae (posiblemente en varios pasos) hasta el estado base mediante transiciones llamadas *isoméricas*. En el caso del ^{60}Co , se emiten betas con neutrino y dos rayos gamma secuenciales de 1.17 y 1.33 MeV (**Figura 3.6**).

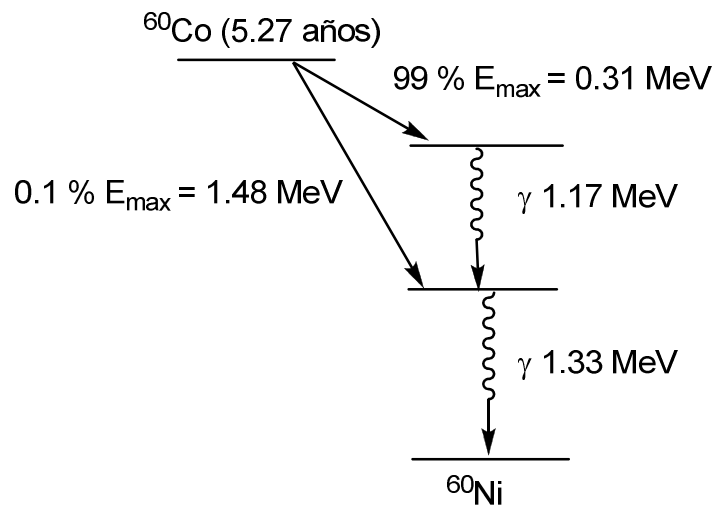


Figura 3.6. Esquema de decaimiento de ^{60}Co .

3.2.2 Fuentes

Las fuentes de radiación ionizante pueden ser sustancias radioactivas las cuales pueden presentarse en distintas formas, esto debido a que los radioisótopos presentan las mismas propiedades químicas que los isotopos no radioactivos. La producción de radioisótopos consiste en colocar la substancia en un reactor nuclear y someterla a un bombardeo intenso con neutrones. Se puede tener, además, el material radiactivo en diferentes compuestos químicos

Las fuentes de rayos X más utilizadas son aparatos los cuales a diferencia de los radioisótopos pueden encenderse o apagarse. Los generadores de rayos X funcionan con base en el hecho de que, cuando un haz de electrones es frenado en un material, emite radiación electromagnética (fotones) principalmente de longitudes de onda correspondientes a los llamados rayos X.

No existen sustancias radioactivas que emitan neutrones, salvo el caso de algunos isótopos de elementos pesados que sufren fisión espontánea. Las fuentes más comunes de neutrones se basan en inducir una reacción nuclear en donde uno de sus productos sea un neutrón.

3.2.3 Magnitudes y unidades

La Comisión Internacional de Unidades de Radiación (CIUR) se ha abocado a la tarea de definir un sistema de unidades aceptado internacionalmente. Estas unidades en el sistema internacional (S.I.) incluyen el Becquerel, el Gray y el Sievert, y su definición se basa en el sistema MKS y sustituyen a las usadas tradicionalmente las cuales son el Curie, el rad y el rem.

3.2.3.1 Actividad

La actividad A se mide en desintegraciones/ unidad de tiempo. La unidad de actividad aceptada internacionalmente es el Becquerel (Bq), que equivale a 1 desintegración/s.

También se ha usado la unidad Curie (Ci), igual a 3.7×10^{10} desintegraciones/s (ésta es la actividad de un gramo de radio).

3.2.3.2 Exposición

El Roentgen (R) corresponde a la unidad de la exposición o que tanta ionización es causada por un cierto tipo de radiación. Se define como la exposición a la radiación X o radiación gamma de un Kg de aire a presión y temperatura estándar.

$$1 \text{ R} = 1.61 \times 10^{15} \text{ pares de iones/Kg de aire}$$

Para producir un par de iones en aire se requieren unos 34 eV que es igual a 5.4×10^{-18} J por lo que la energía para producir un R es:

$$1 \text{ R} = 8.69 \times 10^{-3} \text{ J/Kg de aire}$$

3.2.3.3 Dosis absorbida

En el Roentgen la energía depositada es diferente dependiendo el material por lo que se definió un nuevo concepto de la energía absorbida (D) su unidad en el S. I. es el Grey y se define como la cantidad de energía depositada por unidad de masa.

$$1 \text{ Gy} = 1 \text{ J/Kg}$$

esta unidad sustituyó al rad

$$1 \text{ rad} = 0.01 \text{ J/Kg}$$

3.2.3.4 Dosis equivalente

Aunque todas las radiaciones ionizantes son capaces de producir efectos biológicos similares, una cierta dosis absorbida puede producir efectos de magnitudes distintas, según el tipo de radiación de que se trate. Esta diferencia de comportamiento ha llevado a definir una cantidad llamada factor de calidad (Q) para cada tipo de radiación. Arbitrariamente Q se definió como 1 para la radiación gamma y los rayos X. El factor de calidad es una medida de los efectos biológicos producidos por las distintas radiaciones, comparados con los producidos por los rayos X y gamma, para una dosis absorbida dada. La dosis equivalente es un nuevo concepto que se definió tomando

en cuenta el factor de calidad. Es igual a la dosis absorbida multiplicada por el factor de calidad. La unidad de dosis equivalente en el S.I. es el Sievert (Sv), definido como:

$$1 \text{ Sv} = 1 \text{ Gy} \cdot Q$$

esta unidad sustituyó al rem.

$$1 \text{ rem} = 1 \text{ rad} \cdot Q$$

Tabla 2 Factores de calidad

Tipo de radiación	Q
Rayos X y gamma	1
Electrones	1
Neutrones térmicos	2.3
Neutrones rápidos	10
Protones	10
Partículas alfa	20

3.2.3.5 Transferencia lineal de energía

Es la cantidad de energía que la radiación ionizante imparte a la materia por unidad de longitud a medida que la atraviesa.

3.2.3.6 Razón de dosis

Otro concepto importante es la razón de dosis o la velocidad con la que una cierta dosis es absorbida. Para obtenerla simplemente se divide la dosis absorbida entre el intervalo de tiempo.

3.2.3.7 Rendimiento radioquímico (G)

Es el rendimiento químico provocado por la radiación, es una característica cuantitativa de las reacciones químicas que ocurren bajo el efecto de la radiación ionizante. Se define como el número de moléculas, iones, átomos, radicales o cualquier otra especie producida por cada 100 eV de energía absorbida. Por lo tanto el valor G es independiente de la dosis, la razón de dosis o la naturaleza de la radiación.

$$G_x = \text{\#especie X}/100 \text{ eV}$$

3.2.4 Interacción de la radiación con la materia

Cuando la radiación penetra un material, produce una serie de efectos los cuales están en función del tipo de radiación, de su energía y del medio. La interacción puede ser con los núcleos o electrones siendo más probable con los segundos, por lo que, los efectos más comunes son la ionización y la excitación atómica. La energía promedio para causar ionización depende del número atómico de los átomos del material, en los elementos ligeros es del orden de decenas de

eV. Para una mejor comprensión conviene separar los tipos de radiación de acuerdo a su interacción con la materia.

3.2.4.1 Partículas pesadas con carga positiva (alfa, protones, iones positivos energéticos)

Al penetrar la materia atraen a su paso eléctricamente a los electrones cercanos, produciendo ionización de estos átomos. Pierden una pequeña fracción de su energía en cada ionización producida, frenándose gradualmente hasta llegar al reposo.

Como son fuertemente ionizantes, pierden su energía cinética pronto, y el alcance de las partículas alfa en cualquier material es mucho menor que el de las otras radiaciones. Además, el alcance es mayor mientras mayor es la energía de la partícula.

3.2.4.2 Partículas ligeras cargadas (electrones, betas y positrones)

Así como las partículas alfa, van avanzando y perdiendo energía al ionizar y excitar los átomos del material hasta frenarse totalmente, pero con la diferencia de que sus trayectorias no son líneas rectas y por lo tanto, su alcance no está tan bien definido como en el caso de las alfas.

El alcance de electrones de MeV de energía en sólidos es típicamente de unos milímetros, en aire es de unas decenas de centímetros. Como las betas provenientes de una fuente radiactiva no son monoenergéticas (por la energía que se lleva el neutrino) su alcance es variado.

Cuando un electrón energético se acerca a un núcleo, este es desviado bruscamente por la gran carga eléctrica del núcleo; este desvío provoca la emisión de un fotón de rayos X, cuya emisión se denomina radiación de frenamiento o *bremstrahlung* y es un mecanismo considerable de pérdida de energía de los electrones. El desvío es más importante entre mayor sea el número atómico Z

Los positrones, siendo antimateria, no pueden existir por mucho tiempo en un mundo de materia. El proceso normal que sufren una vez que se ha frenado casi totalmente es el siguiente. En virtud de que tienen carga positiva, se asocian temporalmente a un electrón del material, formando un "átomo" llamado positronio, en el que el electrón y el positrón giran uno alrededor del otro. El positronio tiene una vida media del orden de 10^{-10} segundos. Luego se aniquilan las dos partículas, emitiendo radiación electromagnética (rayos gamma). Las masas del electrón y del positrón son de 0.51 MeV cada uno, así que hay 1.02 MeV disponibles al aniquilarse. Normalmente se emiten dos rayos gamma, cada uno de 0.51 MeV; ésta se llama radiación de aniquilación.

3.2.4.3 Neutrones

Los neutrones a pesar de no tener carga, se ven afectados por la fuerza del núcleo. Al no interactuar con los electrones no ionizan directamente. El efecto que tienen es chocar directamente con el núcleo aunque la probabilidad de estas colisiones es baja. Dependiendo de su energía pueden sufrir dispersiones elásticas, reacción nuclear, el primer caso puede ejemplificarse como choques de bolas de billar, donde el neutrón va "rebotando" transfiriendo su energía

cinética. En el segundo caso se pueden dar tres procesos (la dispersión inelástica, la captura radiactiva o la fisión nuclear) en la dispersión inelástica el núcleo queda en estado excitado y el neutrón pierde gran parte de su energía; en la captura radiactiva, el neutrón desaparece y se emite un rayo gamma; en elementos pesados el núcleo puede sufrir fisión nuclear. En otras reacciones nucleares pueden emitirse otros tipos de radiación.

3.2.4.4 Radiación electromagnética (gamma, rayos X)

Al no tener carga no son frenados mediante ionización. Para transferir gran parte de su energía sufren alguno de los tres efectos mencionados a continuación

Efecto fotoeléctrico

En el efecto fotoeléctrico, toda la energía del fotón incidente es absorbida por uno de los átomos que interacciona y transferida a un electrón, generalmente de la capa *K* o *L*, el cual es expulsado de su órbita con una energía igual a la diferencia entre la energía del fotón incidente y la energía de enlace de ese electrón. Con energías por debajo de 0.1 MeV y absorbentes de número atómico alto, este efecto es el predominante.

$$E_{ke} = h\nu - E_{\text{enlace}}$$

Efecto Compton

En este caso a diferencia del efecto fotoeléctrico, el átomo solo absorbe parte de la energía incidente, la cual es transferida a un electrón de las capas externas, entonces este sale despedido y el fotón se dispersa con una energía menor. Este efecto disminuye al aumentar la energía del fotón, predomina a energías medias (0.5 – 10 MeV) y para absorbentes de número atómico alto.

Producción de pares

Cuando la energía es mayor a 1.02 MeV, el efecto predominante es la producción de pares, en este caso la energía es transformada en masa produciendo dos partículas, un neutrón y un positrón, estos comparten la energía cinética disponible. Ambas partículas a su vez causan ionización, el positrón existe hasta que es aniquilado por un electrón libre, formando ahora dos rayos gamma con energía de 0.51 MeV cada uno, conocida como energía de aniquilación.

Cada efecto predomina a diferentes energías, a bajas energías predomina el efecto fotoeléctrico; a energías de alrededor de 1 MeV, predomina el efecto Compton y a energías mayores a 1.02 MeV, la producción de pares.

3.2.5 Dosimetría

La dosimetría de las radiaciones ionizantes es un campo multidisciplinario que se ocupa de medir la dosis absorbida por un material o tejido como consecuencia de su exposición a la radiación ionizante. Se refiere a la determinación por medio de cálculos de la dosis, razón de dosis u otra cantidad radiológica relevante como la exposición a la radiación, kerma, fluencia, etc.

La dosis absorbida se define como la energía absorbida por unidad de masa, depende de la naturaleza y características del campo de radiación y del material o tejido [21].

En principio cualquier efecto cuantificable y reproducible provocado por la radiación, puede ser usado para la dosimetría. Si existe una variación en el efecto causada por la dosis, se establece una relación dosis-efecto. Los efectos más utilizados son:

- Ionización en gases
- Cambios en la conductividad eléctrica de algunos sólidos
- Emisión de luz
- Cambios de color
- Efectos químicos (oxidación, reducción)

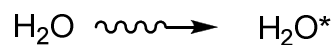
Para los fines del presente trabajo se explicara brevemente el dosímetro de Fricke el cual fue utilizado para calcular la razón de dosis.

3.2.5.1 Dosímetro de Fricke

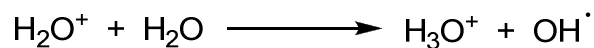
Este es un tipo de dosímetro químico acuoso en donde la dosis es calculada en base a un cambio químico del sustrato provocado por la radiación. En este caso se debe conocer el valor de G para de la reacción o el producto.

El principio de estos dosímetros es que la sustancia disuelta puede reaccionar con los productos radiolíticos primarios de agua, entonces el cambio de concentración de los productos finales o del sustrato da información para obtener los valores de dosis. Antes de describir el dosímetro de Fricke es necesario mostrar la radiólisis del agua.

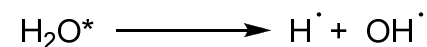
Al inicio se da la ionización y excitación



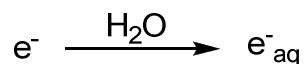
Después el ión reacciona con la molécula de agua



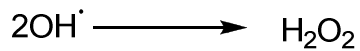
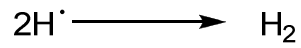
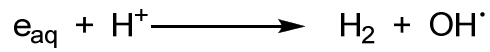
La molécula de agua excitada se descompone rápidamente para producir



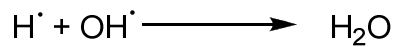
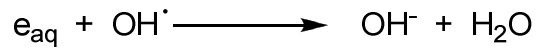
El electrón libre es solvatado para dar



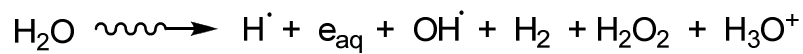
Estos productos se pueden recombinarse como sigue



Además otros procesos de recombinación también pueden darse



En base en lo anterior la radiólisis completa puede expresarse como sigue

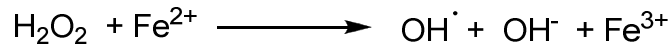
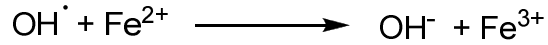


De las reacciones anteriores se observa que para producir una molécula de hidrógeno se requieren dos moléculas de agua, por cada radical hidrógeno se consume una molécula de agua, lo mismo para el radical oxidrilo y para producir una molécula de agua oxigenada se consumen dos moléculas de agua. Por lo tanto la representación final es la siguiente:

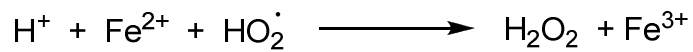
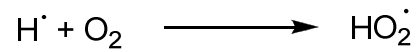
$$G_{-\text{H}_2\text{O}} = G_{\text{H}} + 2G_{\text{H}_2} = G_{\text{OH}} + 2G_{\text{H}_2\text{O}_2}$$

Para una fuente de ^{60}Co $G_{-\text{H}_2\text{O}} = 4.6$

En 1927 Fricke y colaboradores desarrollaron un dosímetro a base de sulfato ferroso. En este los iones ferrosos son oxidados a férricos debido al efecto de la radiación.



Si existe oxígeno disuelto se forman radicales hidroperoxi debido a que el oxígeno reacciona con átomos de hidrógeno.



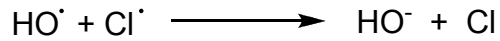
Es esencial que haya oxígeno suficiente en el dosímetro de modo que

$$G_{\text{Fe}^{3+}} = 3G_{\text{H}^\cdot} + G_{\text{OH}^\cdot} + G_{\text{H}_2\text{O}_2}$$

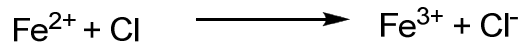
El Valor de G para los iones férricos es 15.5 ± 0.3 iones férricos/100 eV.

Es importante evitar la presencia de compuestos orgánicos en las disoluciones ya que estos afectan el valor G.

La presencia de compuestos orgánicos se puede controlar al adicionar cloruro de sodio a la disolución en una concentración de 10^{-3} .



El cloro oxida a los iones ferrosos de manera similar al radical oxidrilo de manera que el valor de G no cambia.



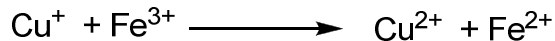
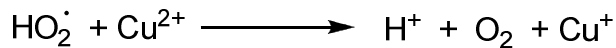
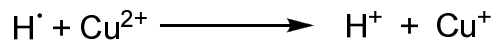
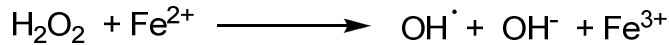
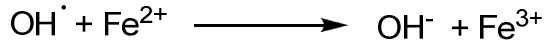
En resumen

- $G_{\text{Fe}^{3+}} = 15.5 \pm 0.3$ iones férricos/100 eV.
- Intervalo de dosis 10 -300 Gy (relación lineal).
- La temperatura entre 0 y 50 °C no influye en la determinación.
- El método es independiente de la energía de la radiación 0.1 – 2.0 MeV.
- La composición química es: FeSO_4 0.001 M, NaCl 0.001 M y H_2SO_4 0.4 M. Esta disolución puede almacenarse por meses si se encuentra protegida de la luz solar
- La determinación se hace mediante UV-Vis.

3.2.5.2 Dosímetro de Fricke modificado.

Si se adiciona una sal de cobre (II) estos son reducidos a cobre (I) al reaccionar con átomos de hidrógeno y iones hidropoxi, sin embargo no reacciona con el peróxido de hidrógeno ni con el

radical oxidrilo, de este modo las reacciones que se llevan a cabo preferentemente son las siguientes:



Así que el rendimiento final G es:

$$G_{\text{Fe}^{3+}} = G_{\text{OH}^\cdot} + 2G_{\text{H}_2\text{O}_2} - G_{\text{H}^\cdot} - G_{\text{HO}_2^\cdot}$$

- El Valor de G para los iones férricos es 0.66 ± 0.02 iones férricos/100 eV.
- Debido a este bajo valor el intervalo de uso es de 10^3 a 10^5 Gy
- La temperatura entre 0 y 50 °C no influye en la determinación.
- El método es independiente de la energía de la radiación 0.1 – 2.0 MeV.
- La composición química es: FeSO_4 0.001 M, CuSO_4 0.01 M y H_2SO_4 0.01 N. Esta disolución debe prepararse al instante de usarse mezclando la disolución de FeSO_4 en ácido y la disolución de CuSO_4
- La determinación se hace mediante UV-Vis.

Para la obtención de resultados satisfactorios y confiables una característica importante es la pureza de las disoluciones utilizadas así como la limpieza del material.

3.2.8 Efectos de la radiación sobre polímeros

El efecto primario de la radiación es la excitación de los electrones de valencia, el tiempo de vida de estas excitaciones es mayor que las vibraciones térmicas entonces la ruptura de la cadena principal o de alguna cadena lateral puede ocurrir, esta degradación no se puede explicar en estado ya sea basal o excitado pero el estado ionizado (carga 1 y espín 2) puede ser el primer proceso en donde los átomos se re-arreglan, cuando se captura un electrón, el enlace se disocia debido a que no hay tiempo para re-arreglarse nuevamente. El mecanismo implica un proceso en dos pasos, primero la molécula se ioniza, los átomos se reorganizan para alcanzar un mínimo (un nuevo estado cuántico) y después la captura electrónica para neutralizar la carga y formar radicales libres mediante una rápida disociación. En el trabajo de Auler se encontró que los tiempos de vida de los procesos de captura y disociación eran menores a 10^{-10} s [22].

Polímeros difieren de otros materiales porque presentan mayor susceptibilidad al daño por radiación ionizante, esto provoca que al ser utilizados llegue un punto en el cual ya no cumplen con los requerimientos necesarios para su utilización. El efecto es diferente en aire que en agua. A dosis bajas con polímeros delgados el aire escapa mientras que en lo opuesto se forman burbujas lo cual causa hinchamiento y ruptura.

Si las cadenas se unen, el material resulta prácticamente sin ser afectado, sin embargo los más largos no se recombinan pero si con otros dando nuevas estructuras. Estos enlaces rotos ya sea radicales o iones son especies muy reactivas.

Por radicales puede ocurrir entrecruzamiento o la ruptura de la cadena [19] que puede convertir una estructura rígida en una tipo cera o eventualmente a un líquido viscoso, en muchos polímeros ambos eventos ocurren pero uno predomina. Otro evento importante es la evolución de gases donde un grupo R puede desprenderse como por ejemplo H_2 en el PE. Otro evento es la reacción con gases del medio ambiente los cuales pueden difundir dentro del polímero; de estos el oxígeno es el más común, este puede formar peróxido o hidroperóxidos; si este es terciario puede dar origen al rompimiento de la cadena. Entonces la presencia de oxígeno puede dar origen a degradación lo cual quizá no ocurriría u, ocurriría en menor proporción en su ausencia.

Los datos de los efectos de la radiación se deben tomar con precaución ya que los polímeros comerciales presentan diferente formulación, además la temperatura es otro factor muy importante. Usualmente un incremento en la temperatura causa un aumento en el deterioro en cuanto a fuerza y elongación a falla sobre la irradiación. Otro factor a considerar es la razón de dosis, esto es principalmente por el ambiente, no hay evidencia que la razón de dosis afecte en ausencia de medios ambientes reactivos. Para oxígeno por ejemplo, cuando un material es irradiado a alta razón de dosis, el oxígeno presente en la disolución es consumido rápidamente. Posteriores reacciones pueden lograrse solo con oxígeno de los alrededores, para PE a baja razón de dosis parece que la oxidación ocurre homogéneamente en todo el material, mientras que a razón de dosis altas parece que solo se da en la superficie, sin embargo este mecanismo no ha sido comprendido del todo [23].

Para moléculas que se entrecruzan hay una mayor disminución de la energía de disociación homolítica (EDH) en los enlaces C-H que en los C-C esto explica el entrecruzamiento de los polímeros que presentan muchos enlaces C-H.

En el caso de los aromáticos el LUMO se encuentra más localizado sobre el anillo lo cual hace que la energía se disipe y solo afecte muy poco la cadena principal.

Para los polímeros que se degradan la EDH de los enlaces C-C disminuye, para PTFE es todavía menor; para siliconas Si-C tiene un valor hasta 30 % más bajo que Si-H o Si-O.

Factores como el medio ambiente, oxígeno u otros reactivos químicos afectan los daños causados. Por ejemplo en PP a mayor grado de isotacticidad en PP, menor porcentaje de descomposición pero mayor entrecruzamiento, esto debido a que en el PP menos cristalino la difusión de oxígeno es mayor y esto provoca degradación [24].

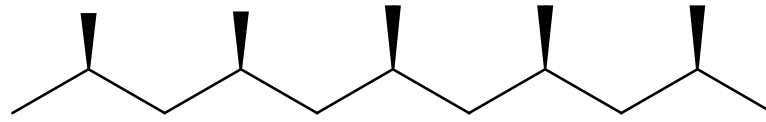
3.3 PP y PE

Polipropileno es un material que ha sido usado ampliamente como componente en dispositivos biomédicos como son catéteres, vasos sanguíneos artificiales, telas no tejidas, empaques de diferentes dispositivos o equipos para circulación extracorporal; mientras que el polietileno es también ampliamente usado en empaques en la industria farmacéutica. Entre las propiedades de estos polímeros sobresalen su resistencia a muchos disolventes y en cierta medida

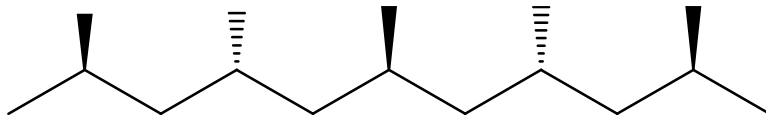
a la temperatura, resistencia a la tracción, dureza, flexibilidad; son relativamente fáciles de procesar y químicamente inertes [25].

Con la utilización comercial de la polimerización por coordinación de olefinas con metales de transición (desarrollada por el italiano Giulio Natta en 1954, fue posible la producción de PP con estereoregularidad, el cual es un termoplástico semicristalino, que se produce polimerizando propileno en presencia de un catalizador estereoespecífico. Si bien es posible la obtención de PP mediante radicales libres, el producto obtenido tiene muy baja cristalinidad así como bajo peso molecular, por lo que no es atractivo para la industria.

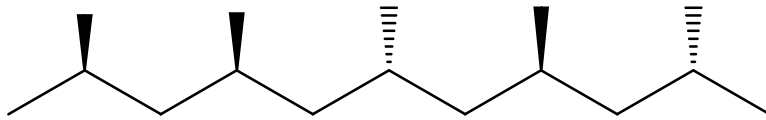
El polipropileno fabricado de manera industrial es un polímero lineal, cuya cadena principal consta de hidrocarburos saturados. Cada dos átomos de carbono de esta cadena, se encuentra un grupo metilo (CH_3). Esto permite distinguir tres formas isómeras del polipropileno:



Isotáctica



Sindiotáctica



Atáctica

Las formas isotácticas y sindiotácticas, dada su gran regularidad, tienden a adquirir en estado sólido una disposición espacial ordenada, semicristalina, que confiere al material unas propiedades mecánicas excepcionales como son la dureza, resistencia a la tracción y rigidez. La forma atáctica, en cambio, no tiene cristalinidad. Los procesos industriales más empleados están dirigidos hacia la fabricación de polipropileno isotáctico, que es el que ha despertado mayor interés comercial debido a su más fácil obtención, en comparación con PP sindiotáctico y a las propiedades mecánicas mencionadas anteriormente.

Por otro lado PE es un material termoplástico blanquecino, de transparente a translúcido.

Por la polimerización de etileno pueden obtenerse productos con propiedades físicas muy variadas. En general hay dos tipos de polietileno; de baja densidad LDPE y de alta densidad HDPE, el de baja densidad tiene una estructura de cadena ramificada, mientras que el polietileno de alta

densidad tiene esencialmente una estructura de cadena lineal. El polietileno de baja densidad fue producido comercialmente por primera vez en el Reino Unido en 1939 mediante reactores autoclave (o tubular) necesitando presiones de 14.500 psi (100 Mpa) y una temperatura de unos 300 °C. El polietileno de alta densidad fue producido comercialmente por primera vez en 1956-1959 mediante los procesos de Philips y Ziegler usando catalizadores. En estos procesos la presión y temperatura para la reacción de conversión del etileno en polietileno fueron considerablemente más bajas.

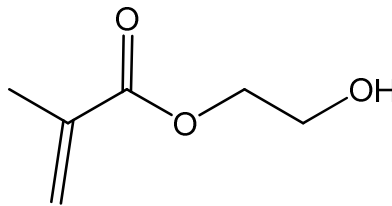
Variando las condiciones en que se realiza la polimerización, es posible variar el grado de ramificación entre límites amplios y producir gran número de tipos de polímeros. Un polietileno no ramificado es altamente cristalino y tiene un punto de fusión relativamente neto. El polietileno tiene una estructura parcialmente cristalina, parcialmente amorfa, y muestra un cambio gradual, a medida que aumenta la temperatura, hasta llegar a un estado completamente amorfo fundido. El gran número de tipos de polietileno es una consecuencia de la extensa variación en el peso molecular y en el grado de ramificación, por consiguiente en la cristalinidad y sus propiedades varían según las condiciones de polimerización.

3.3.1 Injerto sobre PP y PE

PE es un polímero utilizado ampliamente como matriz para formar copolímeros de injerto, debido a las diferentes clases de PE, la interpretación de resultados resulta difícil de explicar. Una

característica determinante en el rendimiento de injerto es la difusión del monómero en el polímero. Para PE altamente cristalino el hinchamiento es bajo con lo cual el acceso del monómero hacia los centros reactivos es limitado [26-30]. Para PP existen hay varios ejemplos de copolímeros de injerto mediante radiación ionizante [31,32] algunos trabajos se han enfocado en dotar de grupos funcionales con el objetivo de inmovilizar fármacos [33,34].

3.4 HEMA



Metacrilato de 2-hidroxietilo

Como la interacción de los hidrogeles con las proteínas es baja, el injerto de estos sobre superficies poliméricas reduce la adhesión de las plaquetas. Esta adhesión es un proceso muy complejo de una serie de eventos dinámicos en el organismo seguido de la formación de agregados y propagación de plaquetas con la subsecuente formación de trombos lo cual puede provocar daños por el uso de materiales artificiales [35].

Poli(HEMA) es conocido como un hidrogel con una alta hidrofiliidad, baja toxicidad, alta estabilidad química y a la hidrólisis, sus geles son similares al tejido del cuerpo en su alta cantidad de agua, esto los hace biocompatible y con buenas propiedades para su uso biomédico, reduce la

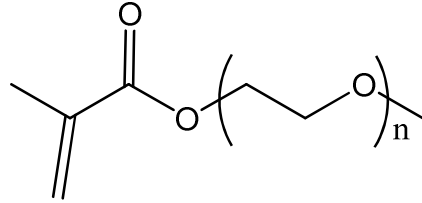
formación de trombos en muchas aplicaciones donde se desee una baja adhesión. Ha sido utilizado en lentes de contacto, liberación de fármacos e ingeniería de tejidos [36-38].

Debido a las propiedades antes mencionadas de HEMA, el injerto de este compuesto mediante radiación sobre diferentes polímeros se ha llevado a cabo por diferentes grupos de investigación. El injerto sobre hule de silicona, polietileno y Tuftano (poliester/poliuretano, B. F. Goodrich Co.) mediante el método directo produjo superficies hidrofílicas [39]. Al igual que el injerto sobre un copolímero tribloque estireno-butadieno-estireno. En este caso evaluaron también el estudio de coagulación de sangre dando como resultado un mayor tiempo de coagulación en los copolímeros de injerto [40]. HEMA injertado sobre quitosano redujo la formación de trombos y la hemólisis en comparación con el material original, esta reducción fue menor con más altos valores de injerto [41]. Por otro lado membranas de PP-g-HEMA para diálisis fueron sintetizadas también mediante el método directo con radiación gamma, en este caso la permeabilidad de urea y creatinina se mejoró con el injerto sobre todo cuando este se llevó a cabo a temperaturas altas (60 °C) esto debido a una mejor difusión del monómero [42].

Películas de celulosa fueron modificadas con HEMA mediante el método de preirradiación oxidativa, la formación de trombos se redujo hasta un 20 %, esta reducción la atribuyen a la menor adsorción de proteínas debido al injerto ya que los compuestos hidrofílicos reducen la energía libre interfacial entre el polímero y la sangre [43].

Partículas y películas de LDPE-g-HEMA fueron sintetizadas usando el método directo, los materiales obtenidos mostraron una alta hidrofiliidad [44].

3.9 OEGMA



Los poli(OEGMAs) son compuestos similares al polietilenglicol (PEG) el cual es un polímero hidrofílico, biocompatible, que evita o disminuye la adsorción de materia orgánica y que ha sido aprobado por la FDA para aplicaciones biomédicas, por ello probablemente es el polímero más utilizado en biotecnología y medicina en años recientes [45]. A diferencia del PEG que es lineal, los poli(OEGMAs) están constituidos de una cadena principal hidrofóbica la cual esta ramificada por oligómeros de etilenglicol con un grupo metilo al final. Estas ramificaciones les permiten formar puentes de hidrógeno con moléculas de agua lo cual los hace hidrofílicos. Ciertos OEGMAS de cadena corta, por debajo de 8 o 9 unidades de etilenglicol son hidrofílicos por debajo de cierta temperatura pero se vuelven hidrofóbicos al aumentar ésta.

Polímeros conformados de PEG como macromonómeros, pueden ser relevantes para aplicaciones en ciencia de materiales o bioaplicaciones [46-48]. Se espera que análogos de PEG no lineales exhiban una alta biocompatibilidad, estos están compuestos principalmente de segmentos de etilenglicol. El primer reporte de aplicación biomédica fue a mediados de los 40's por Schütz, desde entonces varios miles de artículos de investigación han confirmado a importancia de este

tipo de compuestos. Superficies modificadas con POEGMA exhiben propiedades biorepelentes es decir previenen la adsorción de proteínas y la adhesión celular.

3.5.1 OEGMA's estímulo-respuesta

La solubilidad de OEGMA es por la formación de puentes de hidrógeno entre el agua y los oxígenos de las cadenas laterales de PEG, la hidrofiliidad está en competencia con la hidrofobicidad de la cadena principal del polímero, esta característica hace que estos compuestos tengan la propiedad de tener respuesta a la temperatura. Aquellos polímeros que presentan LCST (ver sección 3.6.1) en agua son muy prometedores para aplicaciones biomédicas como son, reciclaje de enzimas, cromatografía de proteínas [49], control de la bioadhesión, liberación de principios activos o ingeniería de tejidos [50]. Se ha observado que a mayor longitud de la cadena de PEG mayor hidrofiliidad [51] y más alta la temperatura a la cual se presenta la LCST o "cloud point" (CP). Al parecer el punto clave es la cantidad de grupos éter [52].

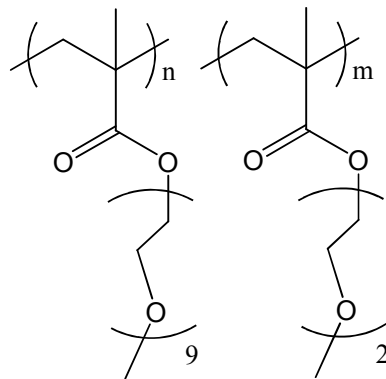
Homopolímeros de OEGMA tuvieron un CP de 54.5, 83.5 y 102 °C para los monómeros con 4, 8 y 22 unidades de etilenglicol. El efecto de diferentes sales fue que el CP disminuyó linealmente con la concentración, pero solo varió unos pocos grados [53].

El injerto de metacrilato de polietilenglicol (PEG-MA) con 2, 4-5 o 7-9 unidades de PEG sobre PE, lo llevaron a cabo mediante radiación gamma por el método de preirradiación oxidativa, el ángulo de contacto en todos los casos fue menor que en PE, aquel que mostró una superficie

más hidrofílica fue aquel que contenía 4-5 unidades de PEG. El rendimiento de injerto fue menor a mayor masa molar del monómero. En el ensayo de adsorción de proteínas del plasma encontraron que a mayor injerto menor adsorción siendo casi nula con solo 15 % de injerto de PEG-MA con 4-5 unidades de PEG. Las películas preirradiadas fueron almacenadas a -130, -20 y 20 °C, después de 20 días se observaron que la descomposición de peróxidos a -130 °C fue nula, mientras que a 20 °C fue casi total [54].

El injerto de OEGMA1000 sobre PTFE mediante plasma, aumentó la hidrofiliidad en la superficie de la película y mostró tener casi nula capacidad de adsorber albumina sérica bovina, dicha adsorción disminuyó a medida que el injerto fue mayor [55].

Por otro lado, los copolímeros de metacrilato de 2-(2-metoxietoxi)etilo (DEGMA) y metacrilato de metil oligo(etilen glicol) éter (OEGMA) PM = 475 sintetizados por ATRP, exhibieron una LCST entre 26 y 90°C, la cual puede ser ajustada variando la composición de los copolímeros [56], En buffer de fosfatos o con NaCl la LCST fue solo unos tres grados menor mientras que el grado de polimerización tuvo muy poca influencia.



poli(OEGMA475-co-DEGMA)

Para el mismo tipo de copolímeros, cada unidad porcentual de OEGMA475 en el copolímero aumentó aproximadamente un grado la LCST, el valor de la transición fue muy poco sensible a la concentración así como al peso molecular [57].

Las disoluciones son claras a temperatura ambiente pero la intensidad de la señal de dispersión de la luz indica la existencia de pequeñas partículas con un radio hidrodinámico de 3.7 nm y grandes agregados con radio de 150 nm, aunque estos últimos representan menos del 0.01 % del total de la distribución del volumen; por lo tanto, por debajo de la LCST los copolímeros adoptan una estructura enroscada.

Por arriba de la LCST, grandes agregados con radios de unos 300 nm fueron observados similares a otros polímeros termosensibles, quizá las interacciones que estabilizan a estos no son puentes de hidrógeno, sino más bien interacciones débiles de van der Waals [58].

Polímeros y copolímeros de OEGMA y ácido metacrílico fueron sintetizados evaluando su respuesta a la temperatura, nuevamente la LCST aumenta si la longitud de la cadena de PEG es mayor, la hidrofobicidad de los grupos terminales de esta cadena disminuyen el valor y no varía con el grado de polimerización, interesantemente el copolímero MAA-co-OEGMA1100 con 10 % de OEGMA presentó la LCST a 24 °C [59].

Las propiedades de estos polímeros en disolución acuosa están determinadas por el balance entre hidrofiliidad e hidrofobicidad. En el caso de PEGMA, los grupos éter estabilizan los puentes de hidrógeno, mientras que los enlaces C-C en la cadena dan un efecto hidrofóbico que compite con el primero.

Para un dado tipo de polímero el punto de nube (CP) depende del peso molecular, los grupos terminales, la tacticidad, la concentración así como la fuerza iónica, aunque se ha observado que en una pequeña proporción.

Por lo anterior la mezcla en diferentes proporciones de monómeros de PEGMA de diferente longitud de cadena pero con similar naturaleza química permiten ajustar los valores de LCST.

Es importante hacer notar que la transición de fase puede observarse solo en copolímeros preparados por “living” o “pseudoliving”, ya que la fracción molar de cada monómero es esencial, por lo tanto es de suma importancia el control de la composición, por lo tanto, una polimerización convencional por radicales libres no sería la mejor opción.

Los efectos en la composición son más marcados en copolímeros de cadena corta que en aquellos de cadena larga.

Para un copolímero Poli(DEGMA-co-OEGMA₄₇₅) La LCST se incrementa de manera lineal con la cantidad de unidades de OEGMA, obedeciendo la siguiente ecuación [50].

$$y = 27.99 + 1.04x$$

Copolímeros hiperramificados de oligo(etilenglicol). Metacrilato de dietilenglicol (DEGMA), oligo(etilenglicol) metacrilato (OEGMA) Mn 475, con dimetacrilato de etilenglicol como agente entrecruzante fueron sintetizados. La polimerización se llevo a cabo vía transferencia de la fragmentación de cadena por adición reversible (RAFT). La LCST pudo ajustarse entre 25 y 90°C en función de la relación molar de los monómeros confirmando lo observado por Lutz.

Se encontró que el comportamiento de la LCST disminuyó entre 5 y 10 grados en comparación con sus homólogos lineales [60].

Más recientemente, OEGMA fue injertado sobre PP mediante preirradiación con un haz electrones con el objetivo de formar superficies termosensibles [61].

Injerto binario de HEMA y OEGMA sobre hule de silicona se llevó a cabo mediante radiación gamma, a través del método directo. El copolímero obtenido fue un hidrogel injertado sobre el hule de silicona, la hidrofiliidad de este fue alta y aumentó a medida que el injerto fue mayor [62].

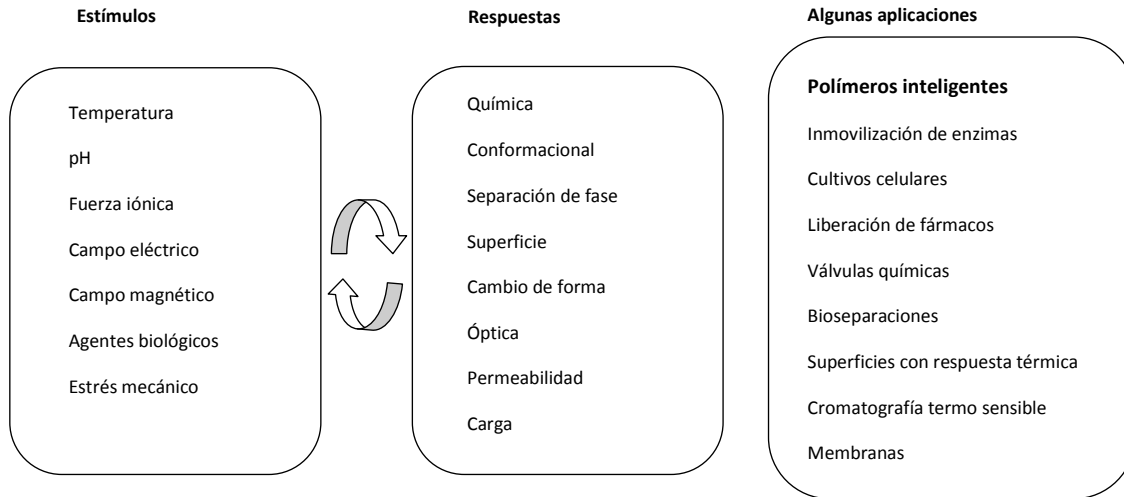
3.6 Polímeros Inteligentes

Los polímeros sintéticos pueden agruparse en diferentes categorías de acuerdo a sus propiedades químicas, más allá de esto algunas clases han emergida debido a sus muy particulares propiedades que les han permitido utilizarse en diferentes áreas. Basándose en sus propiedades fisicoquímicas, estos polímeros son conocidos con diferentes nombres como polímeros

inteligentes (smart o intelligent), polímeros con respuesta a estímulos o polímeros con respuesta al ambiente. La principal característica que tienen estos materiales es su capacidad de responder a cambios muy ligeros en su ambiente y estos cambios son reversibles, esta respuesta se manifiestan como cambios que pueden ser de forma, características de superficie, solubilidad, formación de un en montaje molecular intrincado, transición sol gel, u otros. Aquello que puede provocar dichos cambios es la temperatura, pH, fuerza iónica, presencia de ciertos compuestos químicos, iones, luz, radiación, campos magnéticos o eléctricos.

La característica más sobresaliente es su no linealidad, la respuesta a un pequeños cambios en un estímulo externo ocurre en respuesta hacia en un parámetro variable hasta alcanzar un punto crítico, entonces un gran cambio ocurre sobre un estrecho intervalo del parámetro variable; una vez que la transición se ha completado no hay una respuesta grande en el sistema.

La respuesta se da como resultado de débiles interacciones que sumadas dan la fuerza motriz necesaria para que el proceso ocurra a escala macro [6].



3.6.1 LCST

Sistemas con respuesta a la temperatura exhiben “lower critical solution temperatura” (LCST) o menos frecuente (UCST). Polímeros del primer tipo son solubles por debajo de este umbral e insolubles por encima.

La LCST es la temperatura que corresponde a la región en el diagrama de fases en la cual la contribución entálpica del agua enlazada al polímero a través de puentes de hidrógeno llega a ser menor que la ganancia entrópica del sistema en su conjunto, entonces es dependiente en gran medida de la capacidad de formar puentes de hidrógeno de las unidades monoméricas.

La LCST puede ser ajustada por variaciones en los monómeros, por lo que este fenómeno puede generalizarse para polímeros que contengan sitios para formar puentes de hidrógeno. Dentro de los monómeros más utilizados podemos mencionar: N,N-dietilacrilamida (DEAAm) con

una LCST en un intervalo de 25-32°C, poli(N-vinilcaprolactama) (PVCL) entre 25 y 35°C, PEG, PEO, PPO y quizá el más estudiado es NIPAm por tener una LCST aproximadamente a 32°C, sin embargo, tiene algunas desventajas como son la transición irreversible de fase y la influencia de los grupos terminales en el comportamiento térmico para polímeros de cadena corta. Además la presencia de grupos amida, puede dar lugar a la formación de puentes de hidrógeno con otras moléculas como las proteínas, por lo que, tales características dificultan su uso en bioaplicaciones. Una gran variedad de copolímeros de bloque de PEO y PPO conocidos como Pluronic, Poloxámeros y Tetronics son comercialmente disponibles y exhiben transiciones de fase entre 20 y 85°C [4]. En principio LCST puede ser ajustada por variaciones en la proporción de unidades hidrofílicas e hidrofóbicas.

Estos polímeros se pueden clasificar en tres tipos que son: i) cadenas lineales libres en disolución, en donde la cadena colapsa con algún estímulo; ii) geles entrecruzados covalentemente y geles reversibles físicamente en donde se forman redes micro o macroscópicas, el hinchamiento es iniciado por algún estímulo y iii) superficies injertadas donde el polímero se hincha o colapsa reversiblemente en la superficie pudiendo pasar de modo reversible de hidrofílica o hidrofóbica (**Figura 3.7**) [5].

La LCST específica que presentan los hace compuestos de gran interés para su uso en aplicaciones de bioingeniería y biotecnología. Estos materiales se pueden usar en sistemas para liberación de principios activos, cultivo celular, bioseparación y cromatografía.

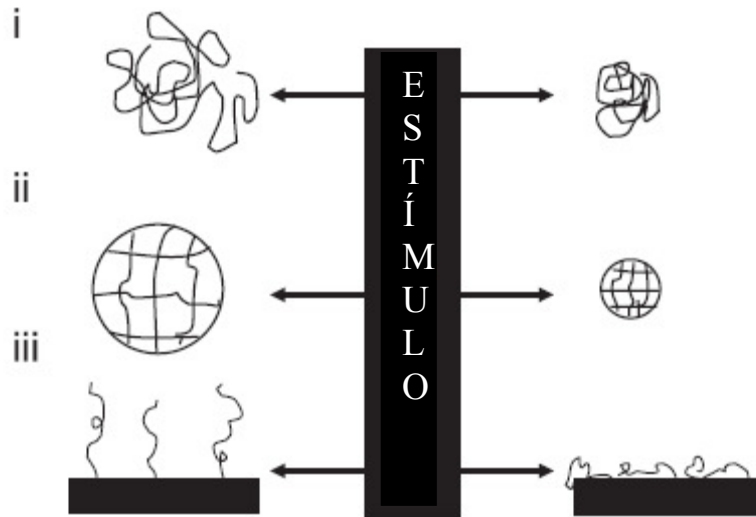


Figura 3.7 i) cadenas lineales libres en disolución, ii) geles entrecruzados covalentemente y geles reversibles físicamente y iii) superficies injertadas donde el polímero.

3.7 Biomateriales

Para la selección de un material para bioaplicaciones se requiere considerar sus propiedades mecánicas, físicas, químicas y biológicas, raramente se encuentra en un material que cumpla con estos requisitos, por lo que, el desarrollo de nuevos materiales por manipulación de su estructura molecular ha sido un desafío en épocas recientes.

Para adecuar un material para bioaplicaciones la estructura molecular del precursor se modifica para mejorar ya sea su resistencia mecánica, hemocompatibilidad, hidrofiliicidad y su capacidad de biointeractuar (Adhesión y/o proliferación celular). La incógnita es si el implante en

contacto con el cuerpo resulta tóxico, que tan limpio y seguro es y si la superficie es adecuada [63].

Desde el punto de vista clínico, un material idealmente biocompatible requiere:

- No ser trombogénico, alérgico, tóxico o provocar reacciones inflamatorias.
- No destruir los elementos formados.
- No provocar cambios en las proteínas o enzimas que se encuentran en el plasma.
- No presentar reacciones inmunológicas.
- No presentar efectos carcinogénicos.
- No deteriorar los tejidos adyacentes.

Una buena aproximación en busca del material ideal para uso biomédico es la modificación de la superficie, siendo muy poco afectadas las propiedades de estos materiales. Aunque las mezclas de materiales han sido probadas, éstas no han demostrado ser eficientes debido a que los aditivos pueden filtrarse provocando citotoxicidad.

Los dispositivos percutáneos siempre presentan algún riesgo de infección debido a que al pasar a través de la piel y entrar al cuerpo puede llevar un agente patógeno del exterior [64].

PHEMA y PEG tienen interacciones únicas en medios ambientes acuosos; PEG forma puentes de hidrógeno con el agua, dando una conformación local helicoidal trans-trans-gauche.

Por otro lado, se ha sugerido que PHEMA debe tener una cantidad significativa de agua en su estructura, por tal motivo, ambos son materiales de importancia en aplicaciones de ingeniería biomédica. Es probable que tal interacción tan fuerte y única con el agua, sea la mayor contribución que hace de estos polímeros ser “bioinertes” [65, 66].

Hidrogeles obtenidos de la polimerización de HEMA son conocidos en el campo de la biotecnología debido a su similitud a ciertos tejidos [67] hidrofiliidad y facilidad a ser copolimerizado con monómeros funcionalizados [68], además, se piensa que HEMA es parecido a un disolvente orgánico el cual puede homogeneizar una fase orgánica y acuosa [69].

4 JUSTIFICACIÓN

El uso de la radiación gamma evita la utilización de iniciadores, catalizadores o aditivos químicos que pueden originar contaminación en el producto final, lo cual a su vez puede provocar algunas reacciones adversas que disminuyan su biocompatibilidad, no requiere de posteriores pasos de purificación y a su vez la radiación esteriliza el material, también es sabido que este método produce la formación de radicales libres de manera homogénea lo cual permite obtener un material con propiedades muy similares en toda la superficie.

En nuestro conocimiento, se ha hecho bastante investigación en el diseño de polímeros o copolímeros utilizando OEGMAs de bajo peso molecular para obtener materiales con respuesta a la temperatura y baja adhesión de proteínas. Estos se han sintetizado por diferentes métodos como son ATRP [70], NMP, RAFT o polimerización radicalaria no controlada. Gran parte de los estudios para evaluar su respuesta se han hecho con el polímero en disolución. Solo en algunos casos se han injertado o recubierto superficies como oro [71, 72], vidrio, polímeros orgánicos [55, 61], silicona [73, 74] o silica [75] mediante diferentes métodos; sin embargo, el injerto binario de estos dos tipos de monómeros sobre PP o PE no ha sido reportado.

Por otra parte HEMA y OEGMA1100, son dos compuestos que han sido usados en materiales donde se desee una baja adsorción de materia orgánica. El injerto binario de HEMA y OEGMA300 se ha llevado a cabo sobre Tecotano mediante tratamiento con plasma y ATRP en dos pasos [45].

5 HIPÓTESIS

El injerto binario de compuestos hidrofílicos OEGMA y/o HEMA sobre PP y LDPE, les dará a estos materiales una mayor biocompatibilidad reduciendo la adsorción de materia orgánica. A su vez, el injerto de OEGMAs le proporcionará al sistema la capacidad de cambiar de una fase hidrofílica a una hidrofóbica en su superficie a una determinada temperatura.

6 OBJETIVOS

❖ 6.1 OBJETIVO GENERAL

Llevar a cabo el injerto binario de HEMA y/o OEGMAs mediante radiación gamma sobre polietileno de baja densidad y polipropileno para mejorar su biocompatibilidad.

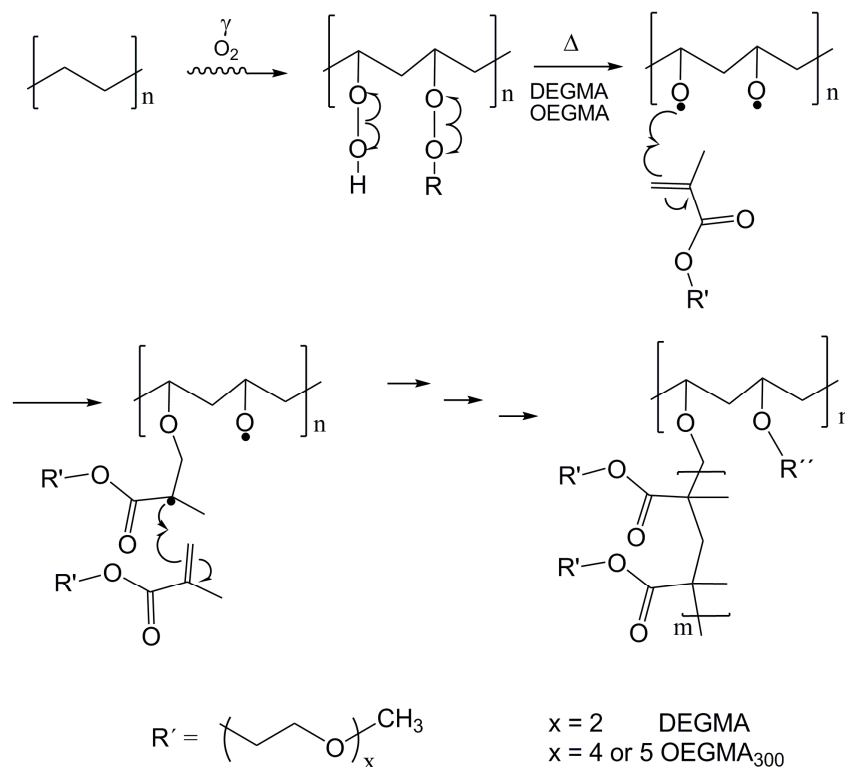
❖ 6.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Optimizar las condiciones para llevar a cabo el injerto binario.

- Caracterizar los polímeros modificados mediante FTIR-ATR, DSC, TGA, SEM, ángulo de contacto e hinchamiento en agua.
- Encontrar los porcentajes de injerto y la relación molar de los monómeros injertados que presenten temperatura crítica de solubilidad (LCST) preferentemente cercana a 37 °C que es la temperatura fisiológica promedio del cuerpo humano.
- Hacer pruebas de biocompatibilidad in vitro mediante pruebas de hemocompatibilidad , citotoxicidad y adsorción de proteínas.

7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El injerto binario (HEMA/OEGMA) sobre PP y LDPE se llevó a cabo aplicando el método de preirradiación oxidativa. En el **Esquema 1** se muestran de manera simplificada los pasos involucrados en este método. La dosis de preirradiación, la temperatura, el tiempo de reacción, la concentración de los monómeros así como el disolvente utilizado, son las variables que más afectan en el porcentaje de monómeros que se logren injertar. Por tal motivo en este trabajo se llevaron a cabo pruebas para evaluar como estas variables influyen en la modificación de estos polímeros.



Esquema 1. Síntesis de copolímeros de injerto binario en un solo paso aplicando el método de preirradiación oxidativa utilizando una fuente de radiación gamma.

7.1 Copolímeros PP-g-(HEMA/OEGMA1100) y LDPE-g-(HEMA/OEGMA1100)

En la primera etapa del proyecto se llevó a cabo el injerto binario en un paso de HEMA y OEGMA1100, en un primer ensayo, películas de PP se irradiaron hasta una dosis de 40 kGy, posteriormente se adicionaron disoluciones de la mezcla de monómeros en proporción 1:1 (V/V) utilizando agua, metanol o tolueno como disolventes. Los resultados mostraron que con 20 horas de reacción a 50 °C, los porcentajes de injerto fueron de 12 % en tolueno, 2% en agua y 3% en metanol; esto se atribuyó a que el tolueno es un disolvente que penetra en el PP y de esta manera permite una mayor difusión de los monómeros para alcanzar los sitios activos en la matriz polimérica preirradiada.

Con base en el resultado anterior, se usó tolueno como disolvente, se llevó a cabo el injerto de estos monómeros sobre PP en función de la dosis de preirradiación a temperaturas de reacción de 50, 60 y 70 °C (**Figura 7.1**). Se observa que a 50 °C, el injerto es relativamente bajo no alcanzando más allá del 30 %, incluso a 100 kGy; a 60 °C el porcentaje se incrementó debido a que hay una mayor descomposición de los peróxidos e hidroperóxidos formados en el PP, mientras que el mayor porcentaje de injerto se alcanzó a 70 °C debido a una mayor velocidad de descomposición de los peróxidos pero además a una mayor afinidad del PP por el disolvente. En los tres casos a mayor dosis, mayor porcentaje de injerto; esto debido a la formación de un mayor número de peróxidos e hidroperóxidos y por lo tanto más sitios activos disponibles. Los ensayos se llevaron a cabo por duplicado

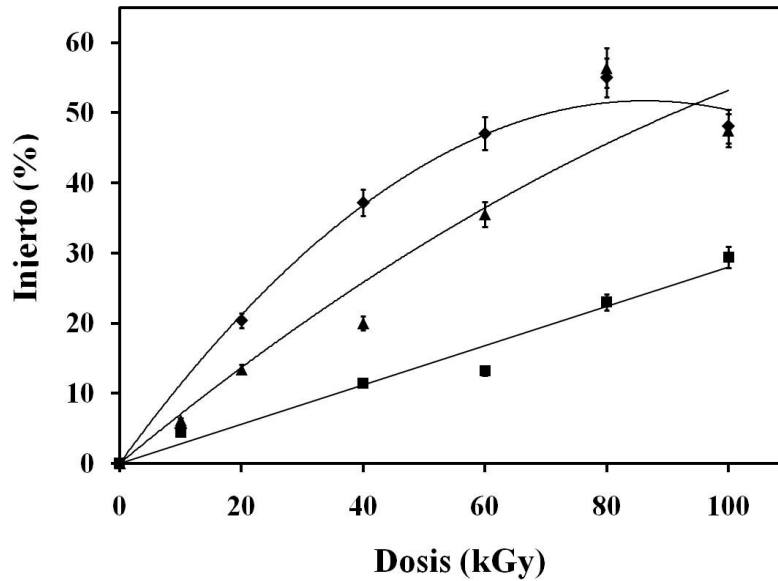


Figura 7.1. Porcentaje de injerto sobre PP en función de la dosis de preirradiación, ■ 50°C, ▲ 60 °C y ◆ 70°C. 20 h, ψ (HEMA, OEGMA1100, tolueno) = 1: 1: 2.

El estudio del porcentaje de injerto en función del tiempo se llevó a cabo a una temperatura de reacción de 60 °C, con una dosis de 60 kGy y proporción de monómeros ψ (HEMA, OEGMA1100, tolueno) = 1: 1: 2 (**Figura 7.2**). Se observó la tendencia es de acuerdo a la ecuación de rapidez de injerto descrita por Sundardi [76], esto tomando en cuenta que cuando se irradia PP a dosis bajas los hidroperóxidos son los principales productos [77]. Por lo tanto se puede asumir que la iniciación se da por ruptura térmica de estos

$$g = 2 \frac{k_p}{(k_d K_t)^{1/2}} [POOH]_{t_0}^{1/2} [M] \left(1 - e^{-\frac{k_d t}{2}} \right)$$

Se observó también que no se alcanzó un máximo en el intervalo estudiado, sin embargo, se apreció un incremento rápido en las primeras 30 horas obteniéndose alrededor de 50 % de injerto, después en las siguientes 20 horas el injerto aumentó solo 10 % obteniéndose 61 %. Este comportamiento se debe a que las disoluciones de estos monómeros a esa concentración son

viscosas lo cual hace que los monómeros tarden en alcanzar los sitios activos de las cadenas en crecimiento, no obstante la velocidad de terminación también se ve afectada, después de 30 horas la disponibilidad de monómero es menor y por ello el porcentaje de injerto no aumenta considerablemente. Debido a estos resultados se tomaron 40 horas como el tiempo más adecuado para la reacción de injerto.

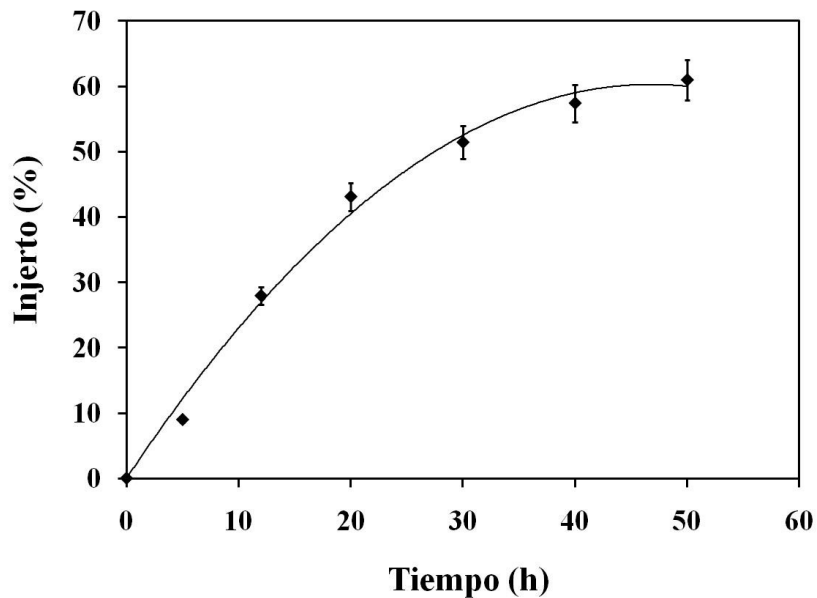


Figura 7.2. Porcentaje de injerto sobre PP en función del tiempo de reacción, 60 kGy, 60 °C, $\psi(\text{HEMA, OEGMA1100, tolueno}) = 1: 1: 2$.

El porcentaje de injerto en función de la concentración total de monómeros en tolueno fue evaluado llevando a cabo la reacción a 60 °C, con una dosis de preirradiación de 60 kGy y un tiempo de reacción de 40 h (**Figura 7.3**). En este caso se observa que se alcanzó un máximo cuando se colocaron disoluciones que contenían una proporción $\psi(\text{HEMA, OEGMA1100, tolueno}) = 1:1:6$ y $1:1:3.3$. Este comportamiento se debe a que a mayor cantidad de monómeros hay mayor disponibilidad para reaccionar con las cadenas en crecimiento; sin embargo, cuando los monómeros se encuentran en exceso, es decir por arriba de dicha proporción, se favorece la

formación de homopolímero. Recordemos que en la reacción se forman radicales hidroxilo que pueden iniciar la reacción de polimerización con monómeros libres y así formar cadenas no injertadas.

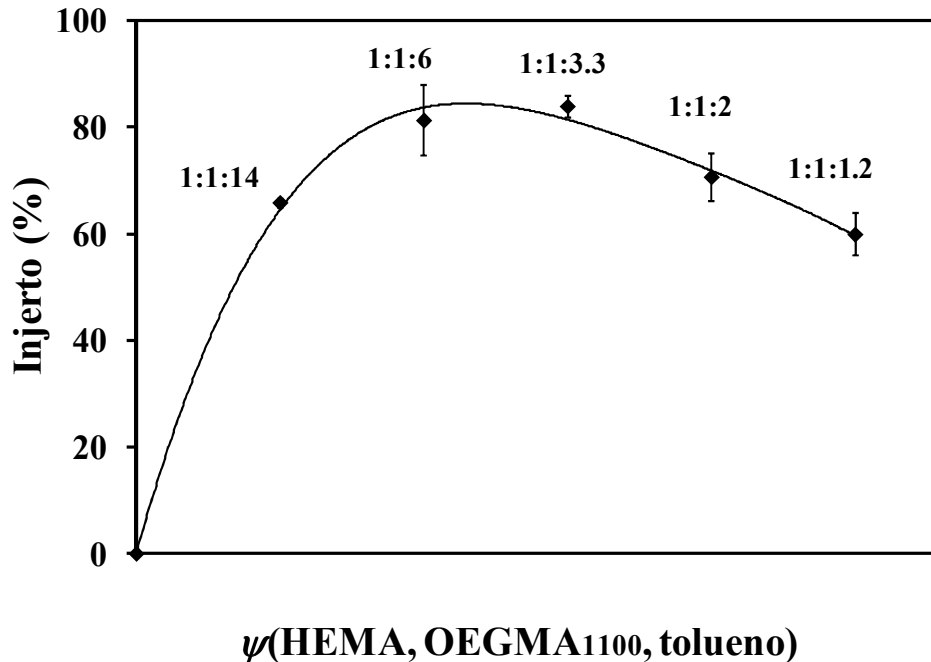


Figura 7.3. Porcentaje de injerto sobre PP en función de la proporción $\psi(\text{HEMA, OEGMA}_{1100}, \text{tolueno})$, 40 h, 60 kGy, 60 °C.

Otro estudio que se llevó a cabo fue el evaluar el porcentaje de injerto en función de la fracción mol de monómeros en la disolución, manteniendo la proporción total de monómeros: tolueno $\psi(\text{HEMA/OEGMA}_{1100}, \text{tolueno}) = 3.5: 4.5$ (Figura 7.4). En este caso se observó que cuando la fracción de HEMA es cercana a la unidad, la cantidad injertada es de alrededor de 100 % y disminuye rápidamente al aumentar la fracción mol de OEGMA1100. Este comportamiento se explica porque el sitio activo de OEGMA está muy impedido estéricamente y por lo tanto, su reactividad es baja [78], tanto que al tener solo OEGMA en la reacción no se detectó injerto.

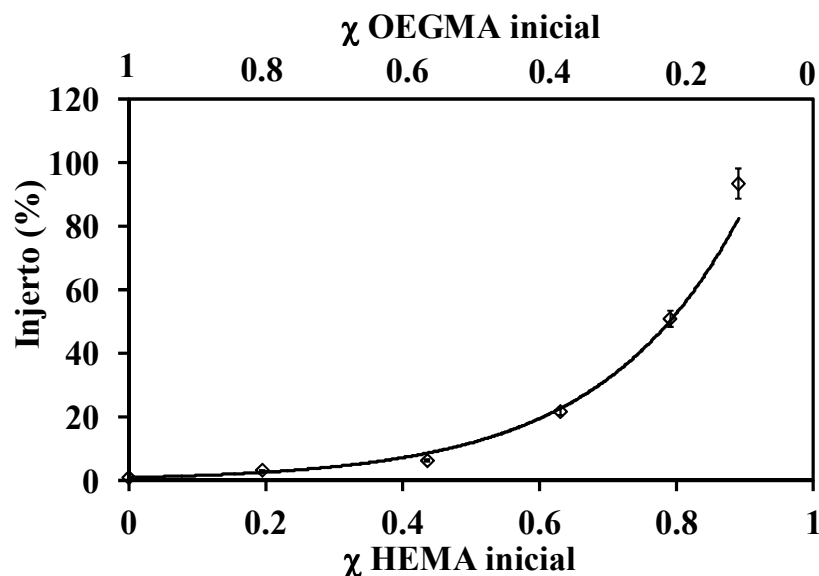


Figura 7.4. Porcentaje de injerto sobre PP en función de la fracción mol de monómeros en la disolución inicial, $\psi(\text{HEMA/OEGMA1100, tolueno}) = 3.5: 4.5$, 40 h, 60 kGy, 60 °C,

El injerto de HEMA/OEGMA1100 sobre LDPE se llevó a cabo como función de la dosis de preirradiación (**Figura 7.5**). En este caso la tendencia es similar que para el PP. El porcentaje de injerto se incrementó a medida que la dosis fue mayor, esto debido a la formación de más sitios activos. Los porcentajes de injerto sobre LDPE bajo estas condiciones resultaron más altos que sobre PP, debido a que en este caso, el tiempo de reacción fue de 40 h, además, proporción de monómeros fue $\psi(\text{HEMA, OEGMA1100, tolueno}) = 1:1:6$, lo cual favoreció el injerto, sobre PP la proporción de monómeros fue $\psi(\text{HEMA, OEGMA1100, tolueno}) = 1:1:2$; como se discutió anteriormente la mayor proporción de monómeros con respecto al disolvente, favorece la formación de homopolímero. Bajo las mismas condiciones se esperaría un mayor injerto sobre PP debido a un mayor rendimiento radioquímico de radicales [79].

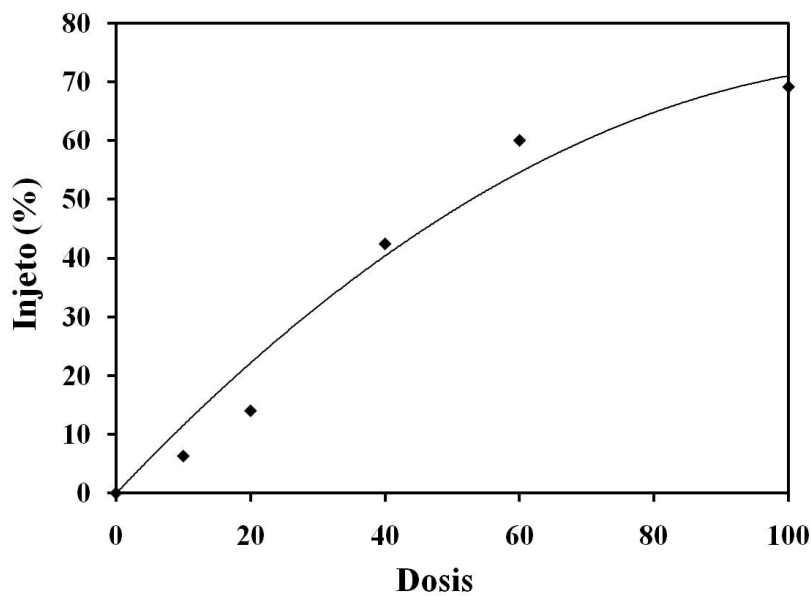


Figura 7.5. Porcentaje de injerto sobre LDPE en función de la dosis de preirradiación. 60 °C, 40 h, ψ (HEMA, OEGMA1100, tolueno) = 1:1:6.

7.1.1 Caracterización

En los espectros de FTIR-ATR (**Figura 7.6b**) se observan las bandas características de los monómeros, la banda correspondiente a la vibración asimétrica de los grupos carbonilo aparece en 1724 cm^{-1} , las correspondientes a la vibración C-O de HEMA se encuentran en 1080 y 1056 cm^{-1} mientras que la banda ancha debida a los grupos OH se encuentra centrada en unos 3400 cm^{-1} . La banda con una intensidad muy fuerte debida a la vibración de estiramiento C-O de los grupos éter de OEGMA1100 no se observó en PP-*g*-(HEMA/OEGMA1100) debido a que la fracción mol de OEGMA1100 inicial fue de solo de 0.1 (**Figura 7.6d**), sin embargo, ésta si se observó en el copolímero recuperado después de la reacción (**Figura 7.6c**). Estos resultados confirman la mayor reactividad de HEMA [62] por lo tanto la proporción HEMA/OEGMA1100 en el copolímero de injerto debe ser mayor que en la disolución inicial de monómeros.

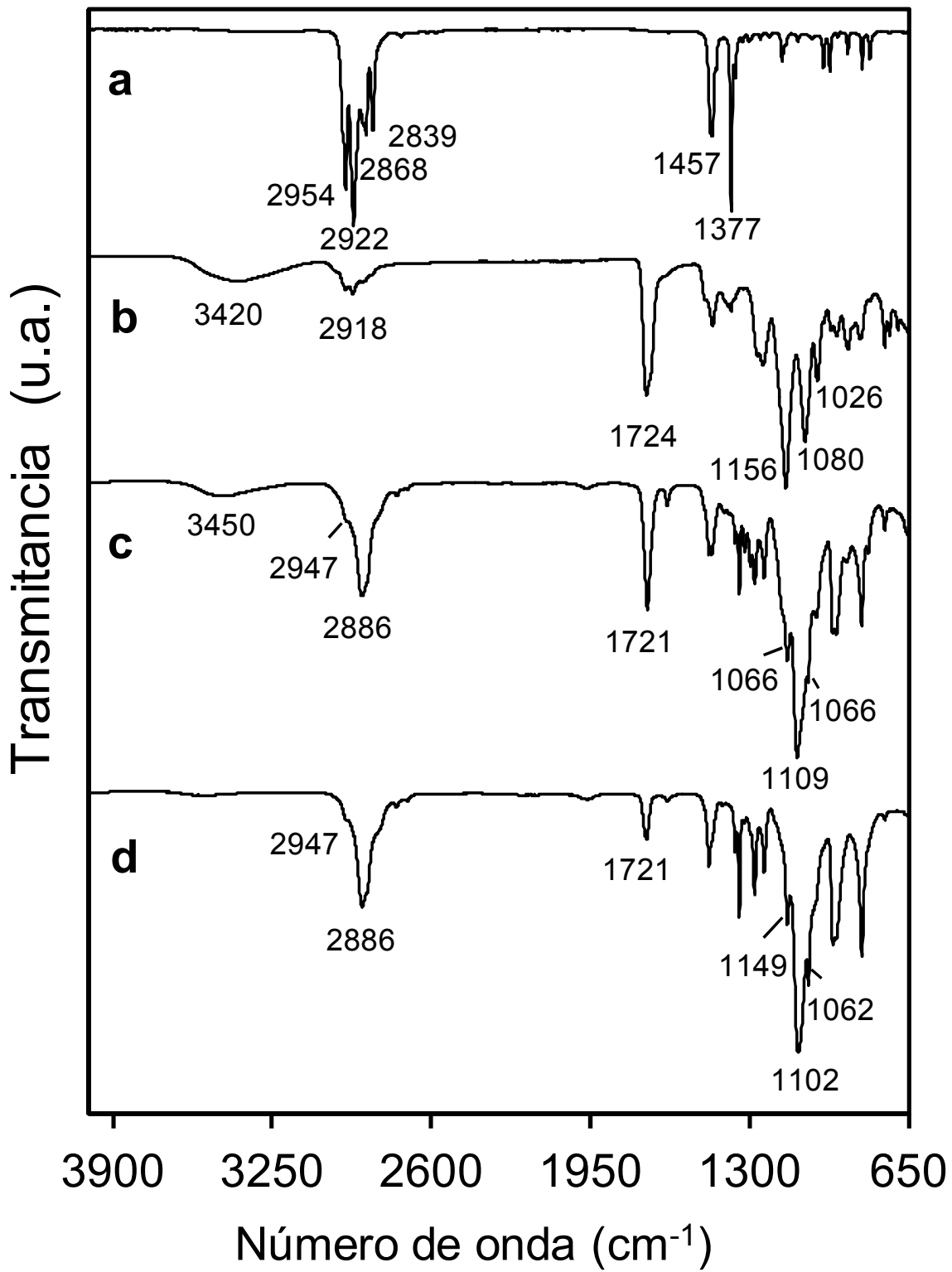


Figura 7.6. Espectros de FTIR-ATR a) PP, b) PP-*g*-(HEMA/OEGMA1100) 16 % de injerto, c) poli(HEMA-co-OEGMA1100) d) poli(OEGMA1100)

La estabilidad térmica de los copolímeros de injerto fue evaluada mediante análisis termogravimétrico (TGA por sus siglas en inglés). En la **Figura 7.7** el 10 % de pérdida en masa de los polímeros sin modificar se da a los 428 y 443 °C para PP y LDPE respectivamente, para el copolímero recuperado (HEMA/OEGMA1100) este valor se encontró a los 328 °C, lo cual demuestra una buena estabilidad térmica. Para los copolímeros de injerto el 10 % de descomposición es a temperaturas mayores a 300 °C. El porcentaje de injerto se calculó para PP-*g*-(HEMA/OEGMA1100) y LDPE-*g*-(HEMA/OEGMA1100); para esto se tomo el valor de masa a 410 °C que es la temperatura a la cual el residuo del homopolímero es menor al 5 % y el porcentaje de descomposición de PP y LDPE es menor al 4 %. Los porcentajes de injerto obtenidos mediante gravimetría fueron 39 y 69 % para PP y LDPE respectivamente, mientras que mediante TGA fueron 42 y 61 %, tomando en cuenta que hay un traslape entre la descomposición total del copolímero injertado con el inicio de descomposición de la matriz polimérica, se tiene una buena aproximación del porcentaje de injerto que se obtuvo.

Los cambios térmicos como puntos de fusión (T_m) fueron medidos mediante DSC, para el PP esta fue de 170.4 °C mientras que en los copolímeros de injerto disminuyó aproximadamente 10 °C, en el caso del copolímero con 39 % de injerto la T_m fue de 160.2 °C y con 101 % de injerto fue en 158.8 °C (**Figura 7.8**), estos resultados indican que el injerto afecta la región cristalina de los polímeros manifestándose además en una disminución en ΔH_f . Para PP, el valor medido fue de 22.4 cal/g, mientras que para los copolímeros con 4, 39 y 107 % de injerto los valores fueron de 20.6, 10.5 y 7.6 cal/g respectivamente. En el caso de LDPE se observó un comportamiento similar, LDPE sin modificar presentó dos T_m en 111.6 y 127.5 °C, y estas disminuyeron solo unos grados en el copolímero con 69 % de injerto siendo 111.0 y 123.2 °C.

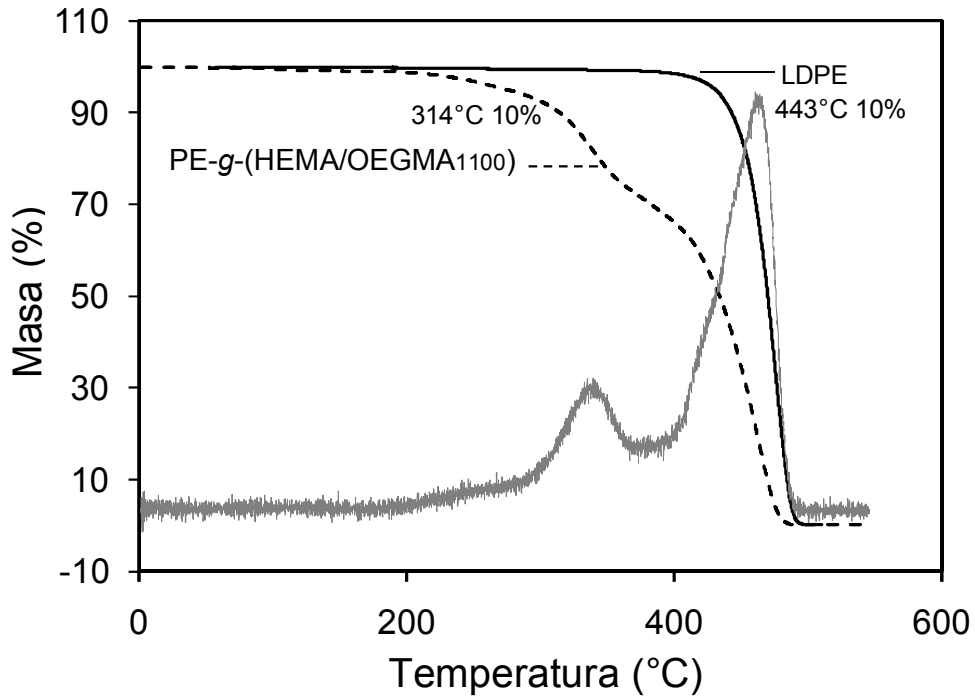
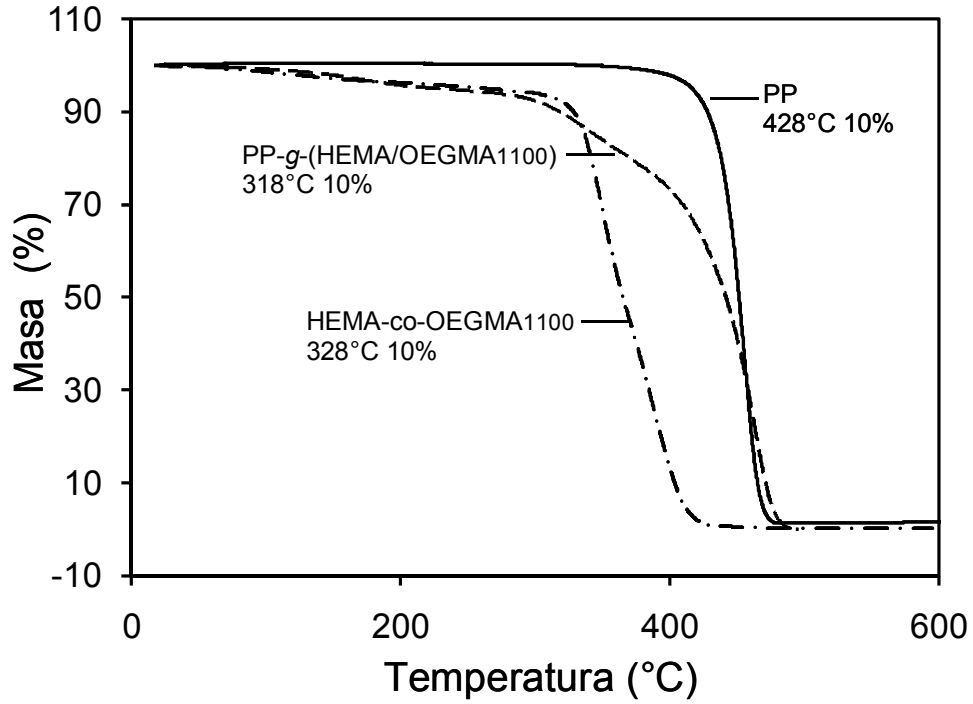


Figura 7.7. Análisis termogravimétrico.

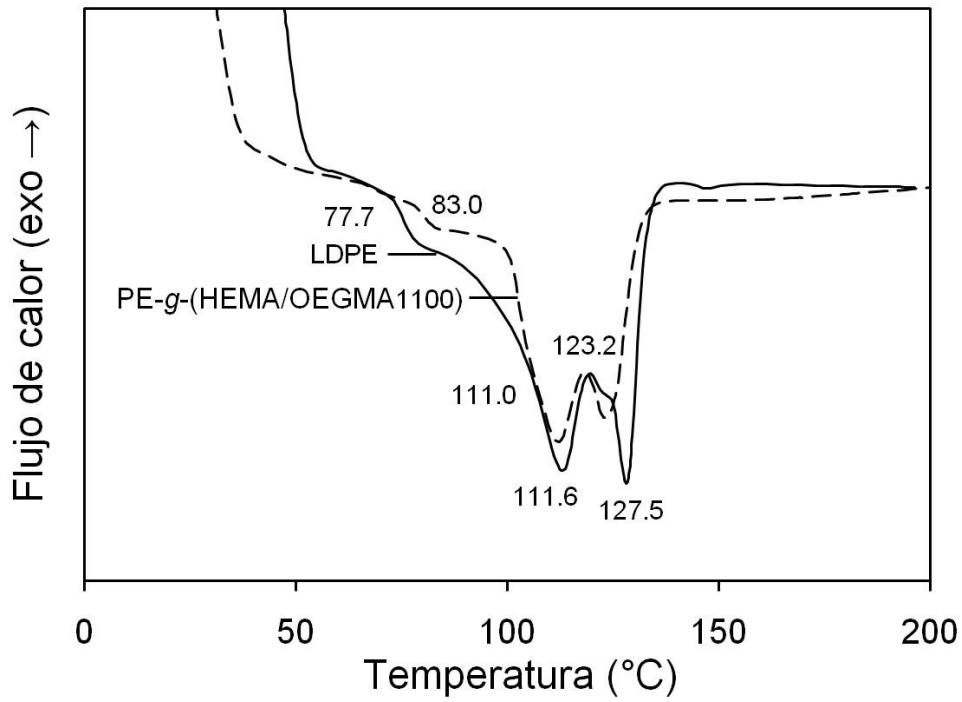
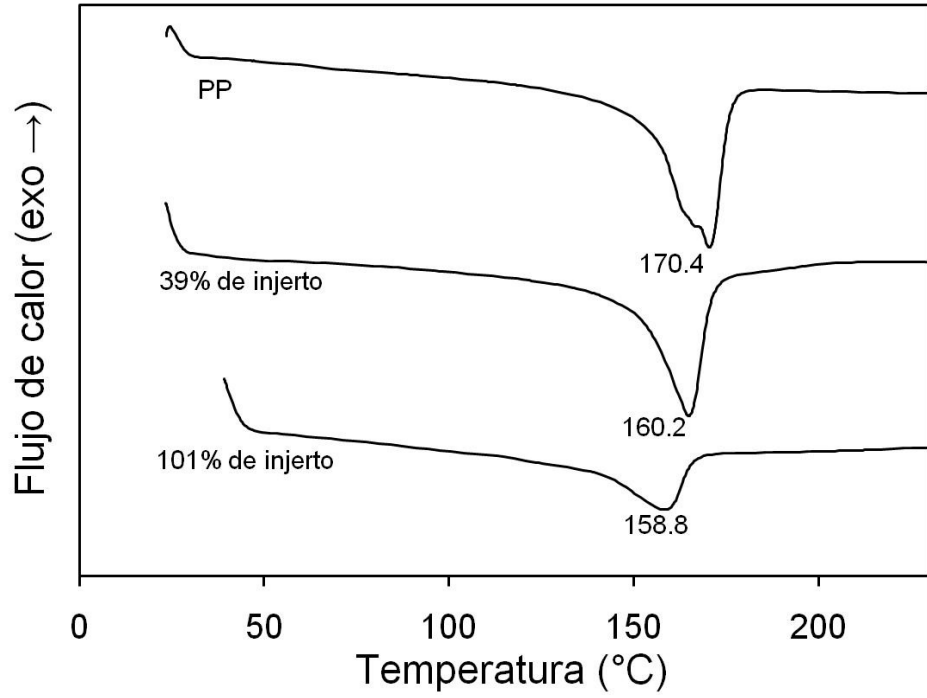


Figura 7.8 Calorimetría Diferencial de Barrido

SEM

Se obtuvieron micrografías de la superficie de los copolímeros de injerto PP-g-(HEMA/OEGMA1100). La muestra que contenía un 13 % de injerto mostró una superficie ligeramente rugosa pero homogénea, interesantemente aquella muestra con 29 % de injerto, su superficie se observó casi tan lisa como el PP. Muestras con injertos mayores al 50 % se sienten rígidas al tacto y se quiebran al ejercer una ligera presión; mediante SEM se observó que una muestra con 57 % de injerto presentó grietas lo cual explica su fragilidad (**Figura 7.9**). Al obtener imágenes de la sección transversal, se observó en las tres muestras una interfase cerca de la superficie lo cual indica claramente que el injerto de estos monómeros bajo las condiciones experimentales empleadas es en la superficie de la matriz (**Figura 7.10**).

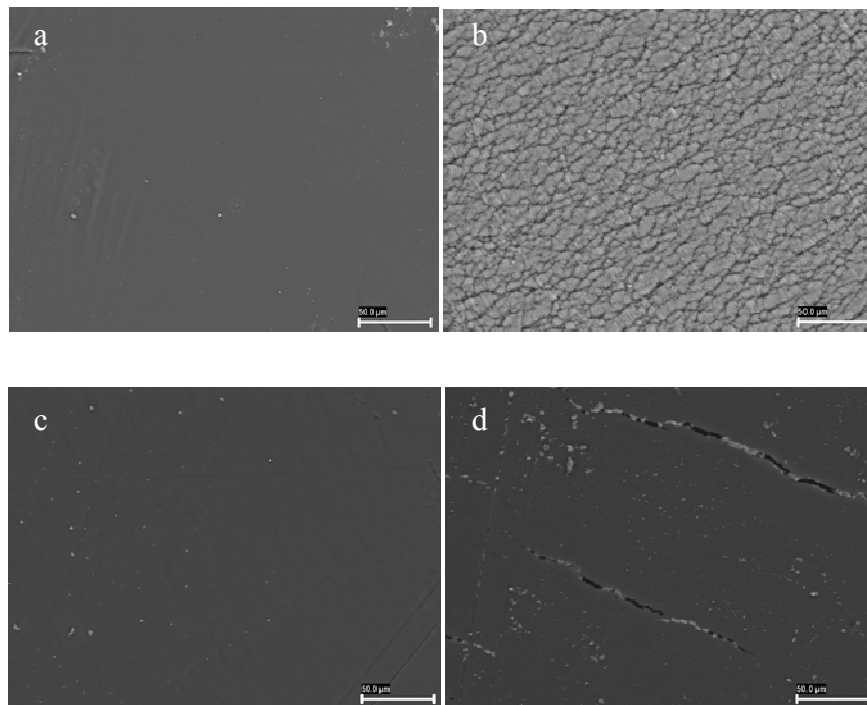


Figura 7.9 Imágenes de SEM 1000X aumentos. a) PP; b) 13%; c) 29% y d) 57% de injerto de HEMA/OEGMA1100.

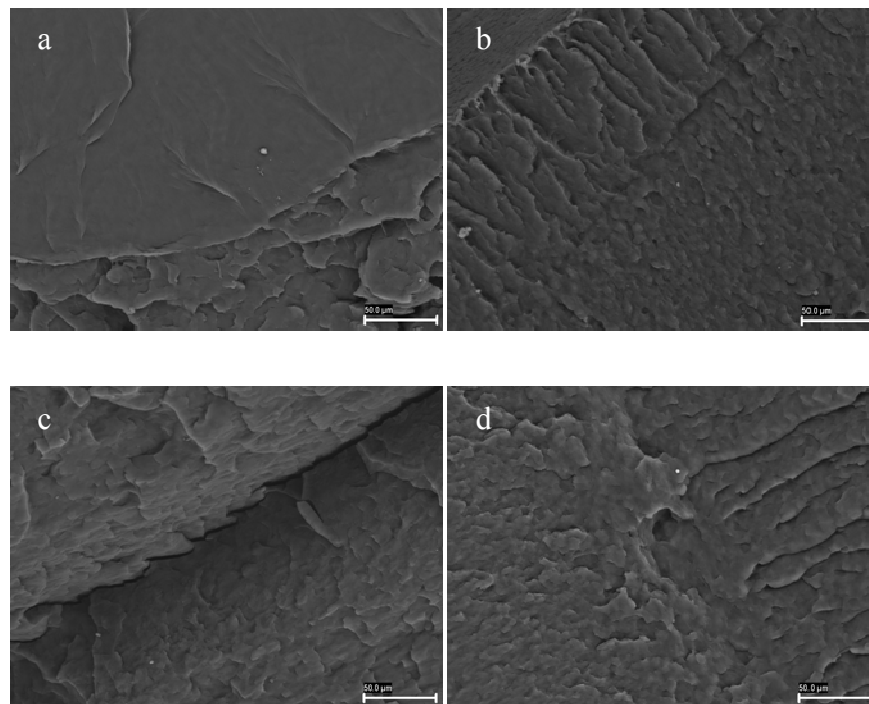


Figura 7.10 Imágenes de corte transversal SEM 1000X aumentos. a) PP; b) 13%; c) 29% y d) 57% de injerto de HEMA/OEGMA1100.

7.1.2 Hidrofilia

Los monómeros injertados sobre PP y LDPE tienen una alta hidrofilia debido a la polaridad de los enlaces C-O y además del grupo OH en el caso de HEMA, así que para demostrar que se tienen estos grupos en el copolímero de injerto se llevaron a cabo pruebas de hinchamiento en agua así como medición del ángulo de contacto a diferentes temperaturas.

Hinchamiento

En las pruebas de hinchamiento los copolímeros fueron sumergidos en agua bidestilada y se midió la masa de agua absorbida en función del tiempo a una temperatura controlada. En la **Figura 7.11** se observó que para alcanzar el máximo hinchamiento a 25 °C fue necesario dejar los copolímeros más de 10 días; esto indica la presencia de fragmentos de OEGMA en las cadenas injertadas debido a que en injertos de HEMA sobre LDPE el equilibrio se alcanza en solo unos minutos [44 ferreira] mientras que para OEGMA este equilibrio es muy lento [58 Lutz]. En el caso del injerto sobre LDPE el equilibrio es aun más lento, alcanzándose en unos 12 días para 60 % de injerto mientras que para 42 y 14 % se alcanzó hasta los 20 días (**Figura 7.12**). Esto puede deberse a que por ser menor el injerto las cadenas de LDPE permanecen lo suficientemente compactas que no permiten la difusión del agua, mientras que con porcentajes de injerto mayores los espacios se hacen mayores. Esto también permite concluir que el injerto de estos monómeros, bajo las condiciones empleadas, se fue en masa.

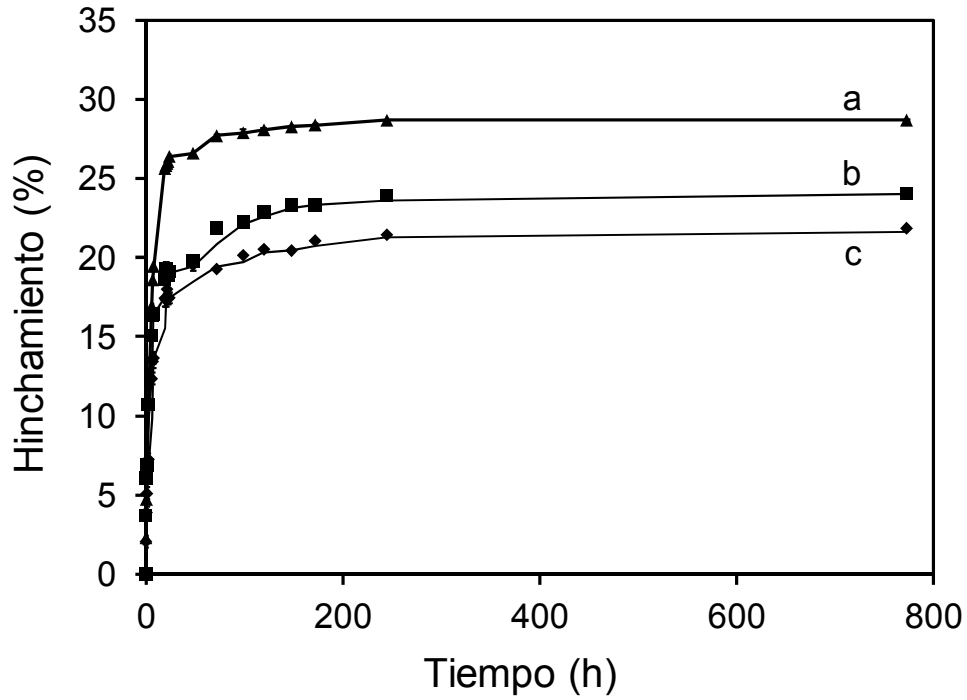


Figura 7.11 Hinchamiento límite a 25 °C de copolímeros de injerto PP-g-(HEMA/OEGMA1100). a) 91 %, b) 61 % y c) 43 % de injerto en PP

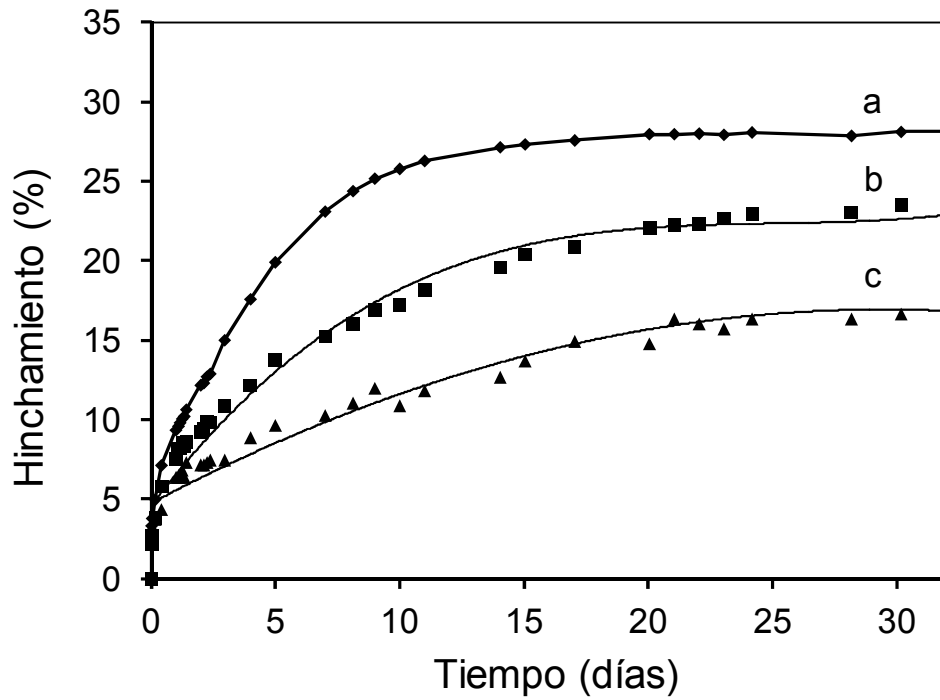
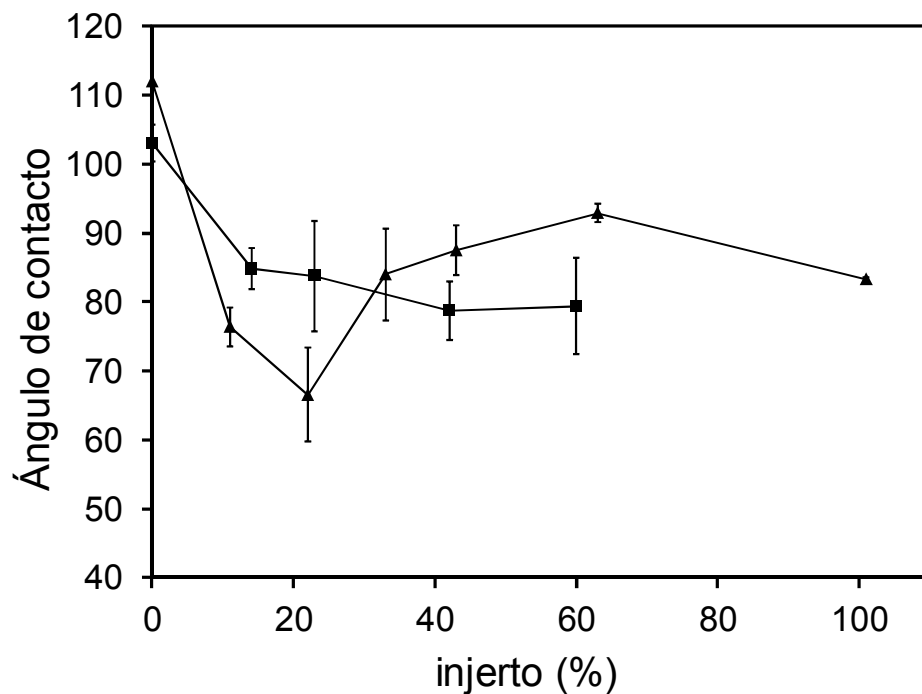


Figura 7.12 Hinchamiento límite a 25 °C de copolímeros de injerto LDPE-g-(HEMA/OEGMA1100) a) 60 %, b) 42 % y c) 14 %

Ángulo de contacto

El ángulo de contacto sobre los copolímeros de injerto, se midió a 25 °C un minuto después de aplicar la gota de agua, en la **Figura 7.13** se observa que para PP, el ángulo disminuyó 35 y 45 grados en comparación con los polímeros sin modificar con porcentajes de injerto de solo 11 y 22 %, siendo mínimo para este último; por encima de este valor el ángulo de contacto tiene un valor más alto siendo solo entre 20 y 30 grados menor en comparación con el PP sin modificar. En el caso de LDPE se observa que el ángulo disminuyó ligeramente al aumentar el porcentaje de injerto. Al evaluar el ángulo de contacto a diferentes temperaturas, se observó que este permanece prácticamente constante en el intervalo estudiado.



Gráfica 7.13 Ángulo de contacto en función del porcentaje de injerto HEMA/OEGMA. ▲ PP; ■ LDPE.

7.2 Injerto de OEGMA₃₀₀ y HEMA sobre PP

Se llevó a cabo el injerto de HEMA/OEGMA₃₀₀ variando la fracción mol de HEMA que se colocó en la disolución. El procedimiento fue el mismo que para el injerto de HEMA/OEGMA₁₁₀₀. Los resultados de muestran en la **Tabla 7.1**

Tabla 7.1 Condiciones experimentales para la obtención del copolímero de injerto binario PP-*g*-(HEMA/OEGMA₃₀₀). El injerto esta dado en porcentaje en peso \pm una desviación estándar, n = 2.

χ HEMA	Razón de dosis kGy/h	Proporción ψ (monómeros, tolueno)	Dosis(kGy)	T(°C)	T (h)	Injerto (%)
0.54	7.45	3: 5	75	60	40	140 \pm 7
0.44	7.41	3: 5	70	60	40	113 \pm 6
0.39	7.46	3: 5	70	60	40	100 \pm 1
0.33	7.37	3: 5	70	60	40	81 \pm 10
0.24	7.41	3: 5	70	60	40	102 \pm 4
0.14	7.37	3: 5	70	60	40	65 \pm 1

En aquellas muestras con las mismas condiciones de reacción se puede observar que a mayor fracción mol de HEMA inicial, el porcentaje de injerto aumentó, esta tendencia es similar a la observada en el injerto de HEMA/OEGMA₁₁₀₀ pero en este caso, el porcentaje de injerto mayor, esto se debe a que el doble enlace en OEGMA₃₀₀ es más accesible en comparación con OEGMA₁₁₀₀.

7.2.1 Caracterización

En los espectros de FTIR-ATR se observan las bandas características de los monómeros utilizados lo cual confirma la presencia de estos en los copolímeros de injerto. La banda característica del grupo OH aparece centrada en unos 3500 cm^{-1} , la banda de estiramiento asimétrico de los grupos carbonilo se observa en 1727 cm^{-1} y las bandas de estiramiento C-O aparecen en 1104 y 1156 cm^{-1} , (**Figura 7.14b**) todas estas se observan en el copolímero poli(HEMA-co-OEGMA₃₀₀) recuperado de la reacción (**Figura 7.14d**).

En el estudio por DSC, cuando se llevó a cabo el injerto, se observa una disminución en el calor latente de fusión de la parte cristalina del PP (**Figura 7.15**), por ejemplo con un injerto del 88 %, ΔH pasó de 22.4 a solo 10.9 cal/g y la T_m disminuyó de 170.4 a 158.7 °C. Esto indica que el injerto se llevó a cabo en masa y que si bien la región amorfa es donde es más accesible, la región cristalina también fue afectada.

En TGA se observaron pérdidas de masa que corresponden a la descomposición de HEMA/OEGMA₃₀₀, la cual inicia cerca de los 200 °C, la pérdida del 10 % en peso fue a los 260 °C. La mayor contribución en esta pérdida es debida a los fragmentos de HEMA ya que poli(HEMA) presenta una temperatura de pérdida de masa del 10 % cercana a 205 °C. La segunda pérdida que se observa la cual inicia cerca de los 400 °C se debe a la ruptura de los enlaces C-C del PP (**Figura 7.16**).

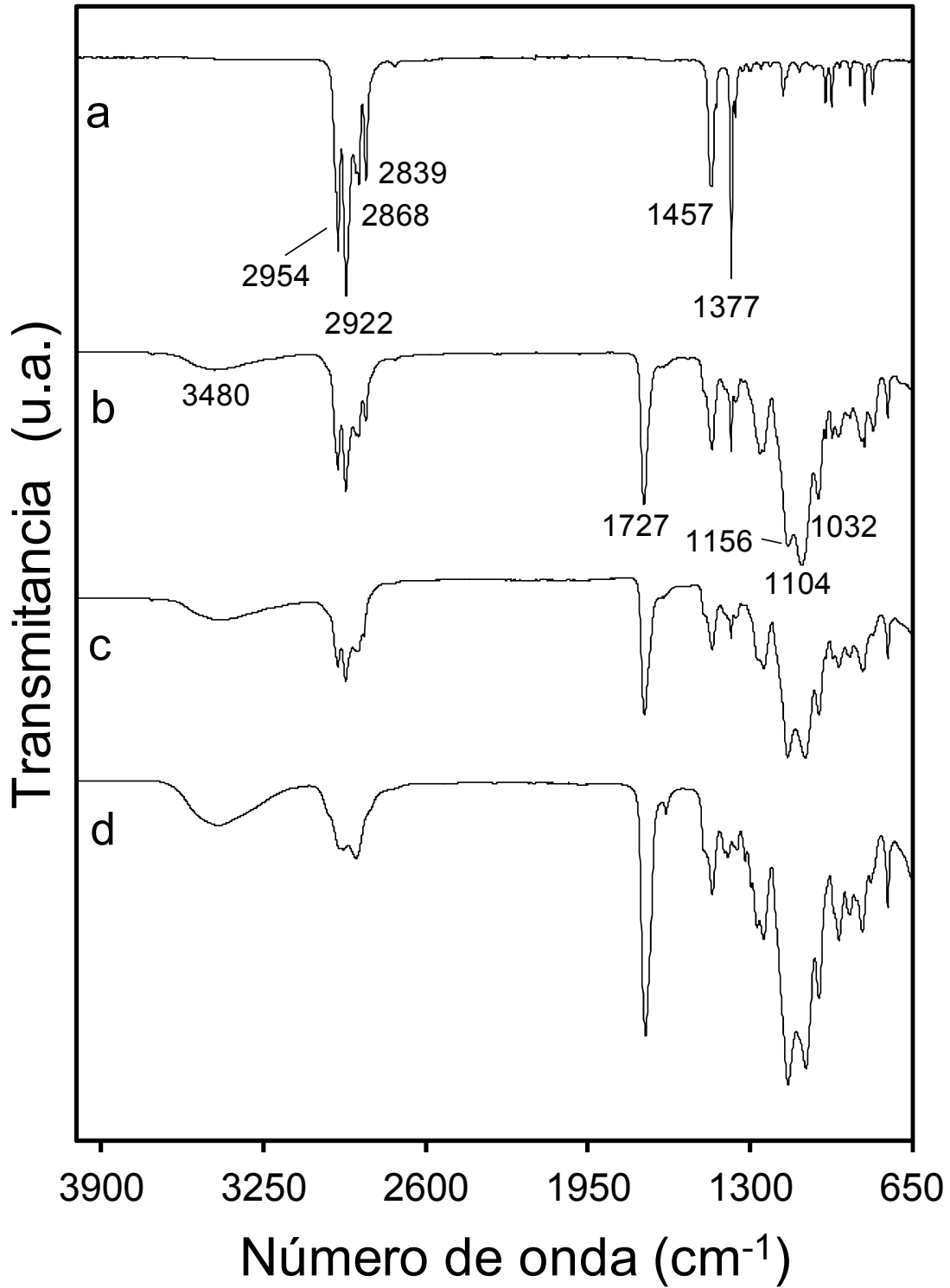


Figura 7.14. FTIR-ATR a) PP, b) PP-g-(HEMA/OEGMA₃₀₀); $\chi_{\text{HEMA}} = 0.33$, c) PP-g-(HEMA/OEGMA₃₀₀); $\chi_{\text{HEMA}} = 0.44$ y d) Poli(HEMA/OEGMA₃₀₀)

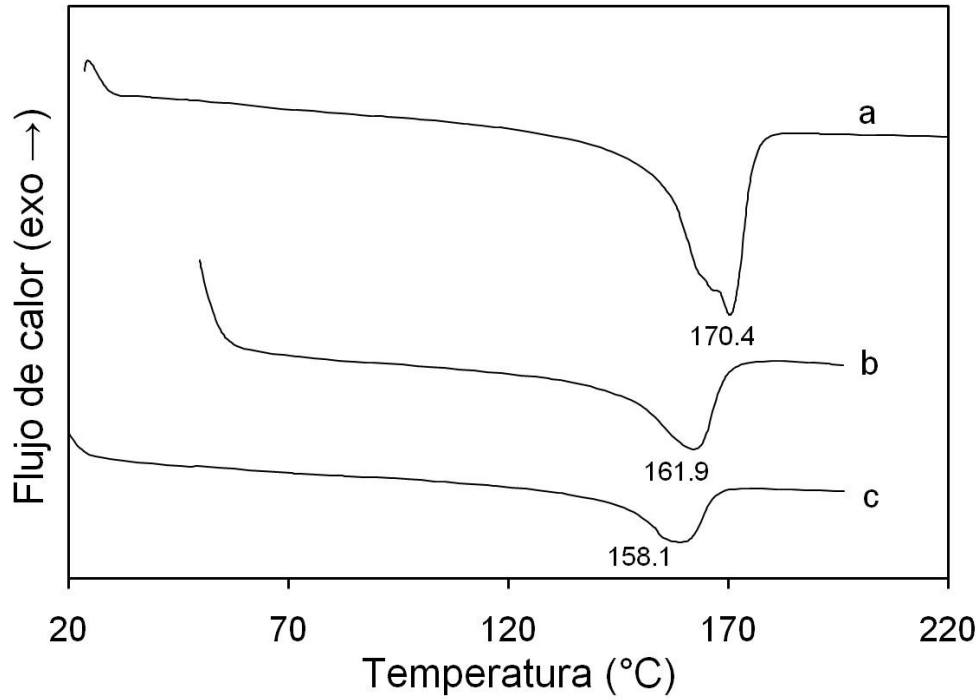


Figura 7.15. DSC de a) PP, b) PP-g-(HEMA/OEGMA₃₀₀) 88 % y c) PP-g-(HEMA/OEGMA₃₀₀) 146 % de injerto.

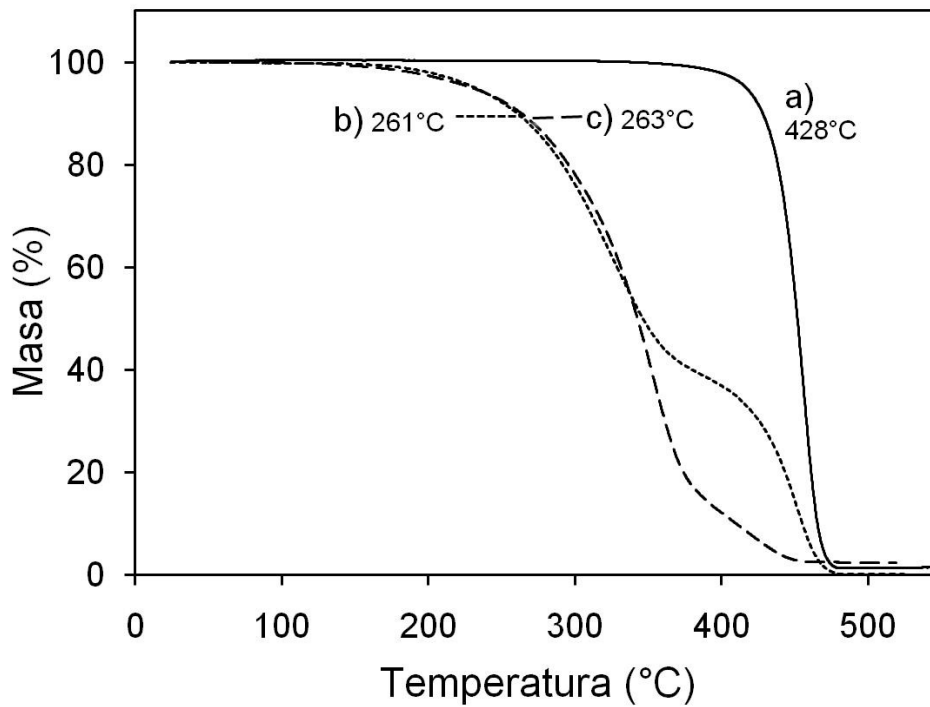


Figura 7.16. TGA de a) PP, b) PP-g-(HEMA/OEGMA₃₀₀) 88 % de injerto, c) Poli(HEMA/OEGMA₃₀₀)

7.2.2 Hidrofilia

La hidrofilia se midió mediante ángulo de contacto e hinchamiento límite en agua. En todos los casos se observó que el ángulo de contacto disminuyó, aunque no se observó ninguna tendencia en cuanto al porcentaje de injerto (**Tabla 7.2**). En la **Figura 7.17** se observa que el máximo hinchamiento se alcanzó a las 20 h a 25 °C, este equilibrio es mucho más rápido en comparación a los copolímeros con HEMA/OEGMA₁₁₀₀, por lo que el tamaño de la cadena lateral de estos monómeros es un factor muy importante considerando que los sistemas puedan tener potencial aplicación por ejemplo en la carga y sesión de fármacos. Por otro lado, al comparar la fracción mol de HEMA colocada al inicio de la reacción contra el porcentaje de hinchamiento (masa de agua/masa injerto), se puede observar que el hinchamiento disminuye conforme la fracción mol de HEMA aumenta por lo que OEGMA presenta mayor hidrofilia, a lo cual se puede atribuir su mayor biocompatibilidad.

Se realizó un estudio de hinchamiento a diferentes temperaturas para buscar si los materiales modificados presentaban un cambio abrupto en la hidrofiliidad, los ensayos se llevaron a cabo entre 10 y 80°C. En ningún caso se observó dicho cambio; sin embargo, cuando la fracción mol inicial de HEMA fue de 0.13 y 0.24 el hinchamiento disminuye al incrementar la temperatura aunque no de manera abrupta (**Figura 7.18**); esto debido a que poli(OEGMA₃₀₀) presenta respuesta a la temperatura, teniendo una LCST por arriba de los 60 °C [59].

Tabla 7.2 Hidrofilia de PP-g-(HEMA/OEGMA₃₀₀)

χ_{HEMA}	Injerto (%)	Ángulo de contacto (20 °C)	Hinchamiento (% $m_{\text{agua}}/m_{\text{injerto}}$)
PP	0	112.0	0
0.0	6	86.5 ± 4.7	-
0.14	66	-	54
0.14	64	80.6 ± 2.9	51
0.24	104	-	54
0.24	99	91.7 ± 1.5	52
0.33	88	-	41
0.33	75	78.0 ± 2.0	40
0.39	100	92.2 ± 5.4	38
0.39	155	-	44
0.44	118	-	36
0.44	109	-	35

Ángulo de contacto a 20 °C sobre copolímeros de injerto binario PP-g-(HEMA/OEGMA₃₀₀) y porcentaje de hinchamiento a 20 °C.

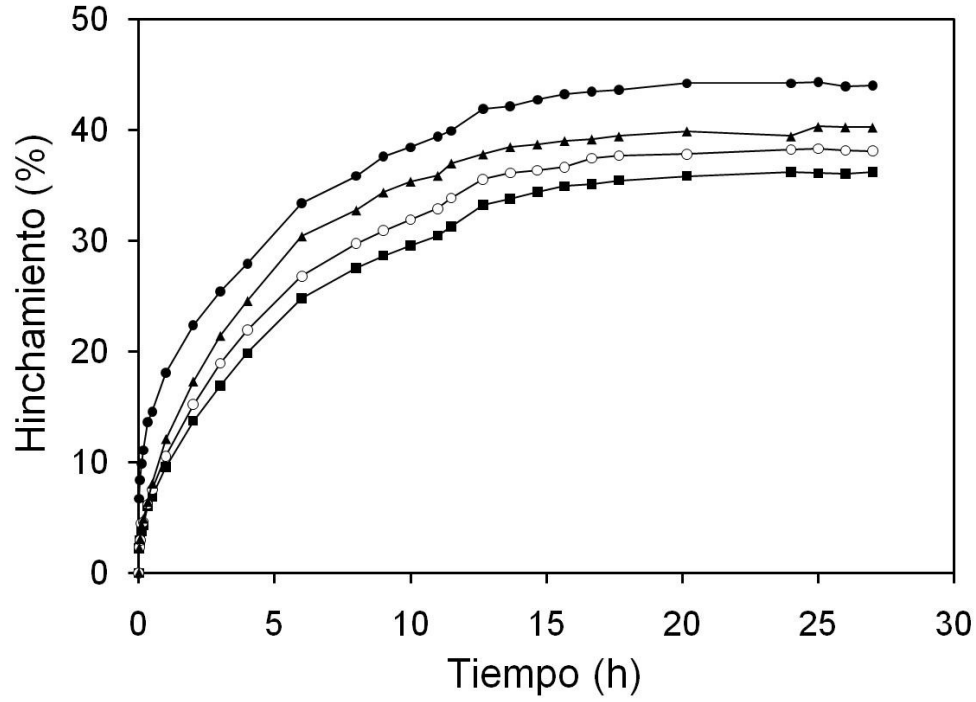


Figura 7.17. Hinchamiento límite de PP-*g*-(HEMA/OEGMA₃₀₀) ● 155, ■ 118, ○ 100 y ▲ 75 % de injerto.

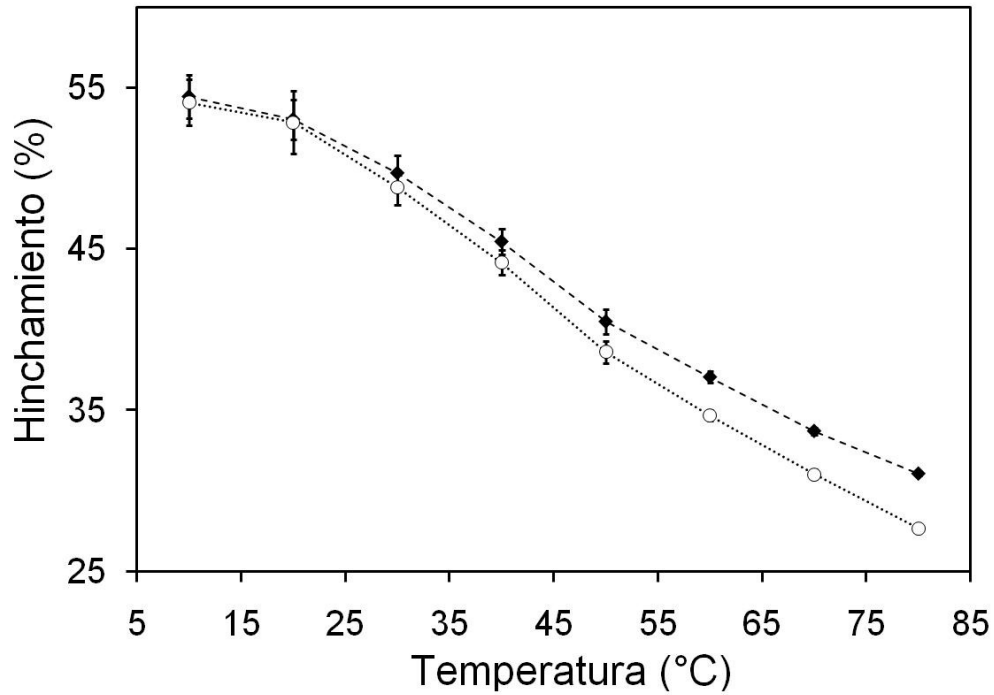


Figura 7.18. Hinchamiento en función de la temperatura para PP-*g*-(HEMA/OEGMA₃₀₀) ◆ 102 % de injerto (χ_{HEMA} inicial = 0.24) y ○ 65 de injerto (χ_{HEMA} inicial = 0.14).

7.3 Injerto de DEGMA y HEMA sobre PP

Se llevó a cabo el injerto de HEMA/DEGMA variando la fracción mol de HEMA que se colocó en la disolución. Las muestras de PP fueron irradiadas a una dosis total de 70 kGy con una razón de dosis de 7.33 kGy/h, la proporción total de monómeros Σ (monómeros, tolueno) = 3: 5, la reacción se llevó a cabo a 60 °C por 40 h. Los resultados se muestran en la **Tabla 7.3**.

Del mismo modo que en el injerto de HEMA y OEGMA300, se observó que el porcentaje de injerto aumentó conforme la cantidad de HEMA inicial fue mayor, en este caso se obtuvieron porcentajes de injerto más altos. Por ejemplo bajo las mismas condiciones con una fracción mol de HEMA = 0.4 y 0.6 para OEGMA300 se obtuvo un injerto del 100 % mientras que con las mismas fracciones de HEMA y DEGMA el injerto fue del 180 %. Estos resultados permiten confirmar que la reactividad de OEGMAs depende del número de unidades de etilenglicol debido al impedimento estérico del grupo vinilo.

7. 3.1 Caracterización

En el análisis cualitativo por FTIR-ATR se observan las bandas características de los grupos funcionales presentes en los monómeros (**Figura 7.19**). Cuando se tiene solo DEGMA injertado, se observa la banda correspondiente a los grupos carbonilo de los metacrilatos en 1726 cm^{-1} y una banda de intensidad muy fuerte en 1112 cm^{-1} la cual es debida al estiramiento C-O de los grupos

éter (Figura 6b). A medida que la fracción mol inicial de HEMA aumenta, las bandas en 1080 y 1158 cm^{-1} correspondientes al estiramiento C-O de HEMA comienzan a observarse (**Figura 7.19c**).

En el estudio por DSC (**Figura 7.20**) se observa nuevamente la disminución en el calor latente de fusión del polímero modificado, en comparación del PP sin modificar. La T_m en el PP se encontró en 170.4 °C, mientras que en el copolímero de injerto se observó en 160.1 °C. Este resultado es similar a lo observado en los sistemas discutidos previamente.

En el TGA se ve la descomposición de los fragmentos que corresponden a las cadenas injertadas, la cual inicia alrededor de los 200 °C con una pérdida de masa del 10 % en 239 °C. Como se mencionó anteriormente, la descomposición del PP inicia por encima de los 400 °C. En el termograma del copolímero se observan ambas descomposiciones lo cual permite confirmar que se obtuvo el injerto y que este afecta muy poco la estabilidad térmica del material original (**Figura 7.21**).

7.3.2 Hidrofilia

La hidrofilia de los materiales fue evaluada mediante ángulo de contacto e hinchamiento en agua bidestilada (**Tabla 7.3**). En este caso no se observa ninguna tendencia en el ángulo de contacto con respecto al grado de injerto. Con respecto al hinchamiento, se notó que a mayor fracción mol de HEMA alimentada en la reacción, la cantidad de agua que se absorbió fue mayor. Estos resultados son opuestos a lo observado en los copolímeros PP-g-(HEMA/OEGMA₃₀₀) en

donde a mayor fracción mol de HEMA inicial menor el porcentaje de agua absorbida por lo que queda de manifiesto la menor hidrofiliidad de DEGMA debido a que solo tiene dos grupos de etilenglicol en la cadena lateral.

El ensayo de hinchamiento a diferentes temperaturas se llevó a cabo en un intervalo entre 10 y 70 °C (**Figura 7.22**). Se nota en todos los casos que a mayor temperatura la absorción de agua disminuye pero no se ve un cambio abrupto. En el PP que contiene únicamente DEGMA se ve un cambio alrededor de los 22 °C, lo cual era lo esperado ya que en la literatura esta reportado una temperatura crítica de solubilidad mínima (LCST) para poli(DEGMA) entre 20 y 30 °C [58, 59].

Tabla 7.3 Ángulo de contacto a 20 °C sobre copolímeros de injerto binario PP-g-(HEMA/OEGMA₃₀₀) y porcentaje de hinchamiento a 20 °C. El injerto esta dado en porcentaje en peso \pm una desviación estándar, n = 2. Para el ángulo de contacto n = 5.

χ_{HEMA}	Injerto (%)	Ángulo de contacto	Hinchamiento (% $m_{\text{agua}}/m_{\text{injerto}}$)
PP	0	112.0	0
0	31.5 \pm 0.7	85.0 \pm 3.8	14
0.10	57.8 \pm 2.0	81.1 \pm 4.7	23
0.19	85.1 \pm 2.3	91.3 \pm 3.2	27
0.28	127.8 \pm 2.9	-	31
0.40	176.3 \pm 6.8	-	34
0.51	191.0 \pm 4.3	-	35

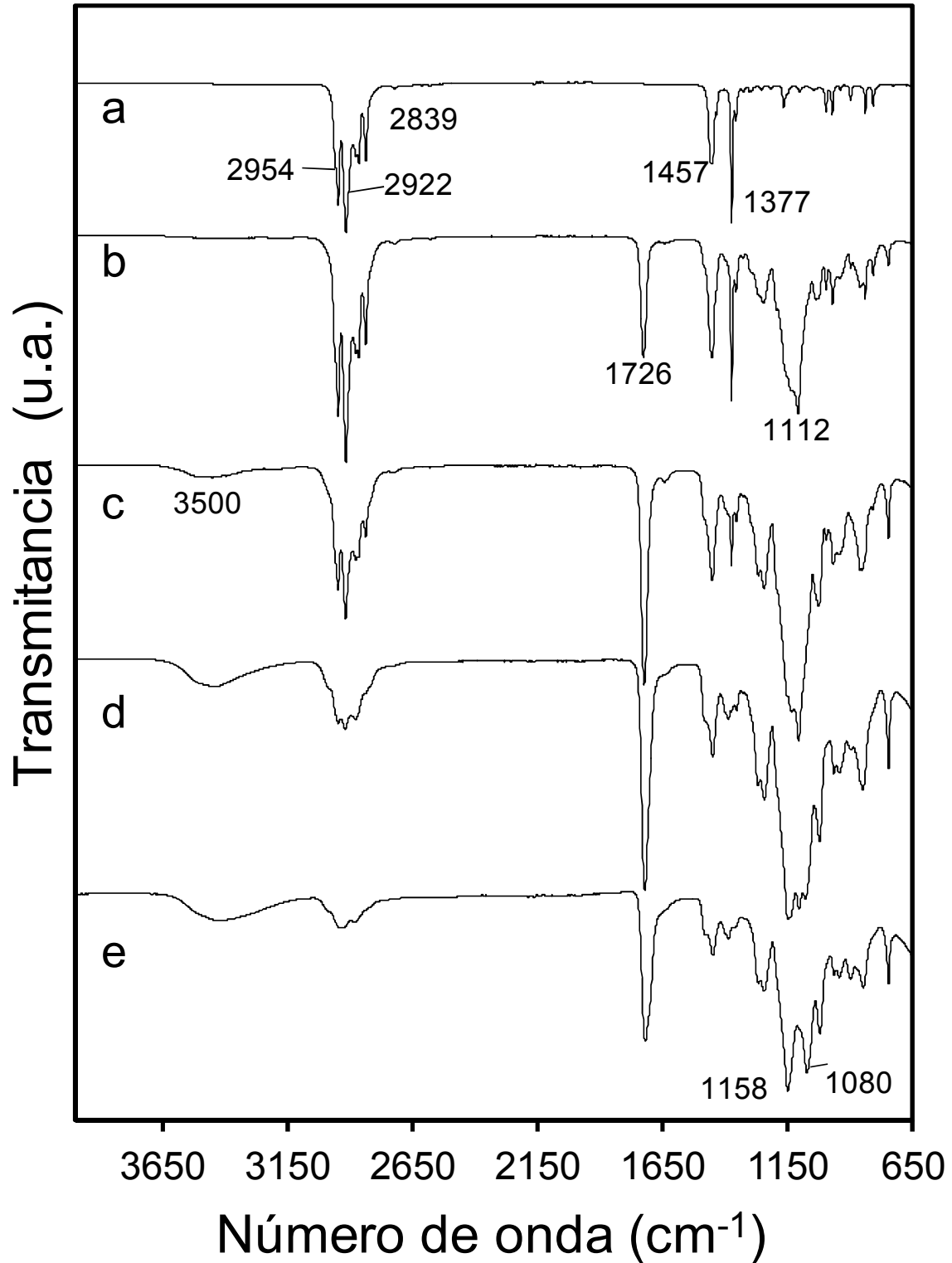


Figura 7.19. FTIR-ATR a) PP, b) PP-g-DEGMA, c) PP-g-(HEMA/DEGMA) $\chi_{\text{HEMA}} = 0.1$, d) Poli(HEMA/DEGMA) $\chi_{\text{HEMA}} = 0.3$ y e) Poli(HEMA/DEGMA) $\chi_{\text{HEMA}} = 0.5$ inicial.

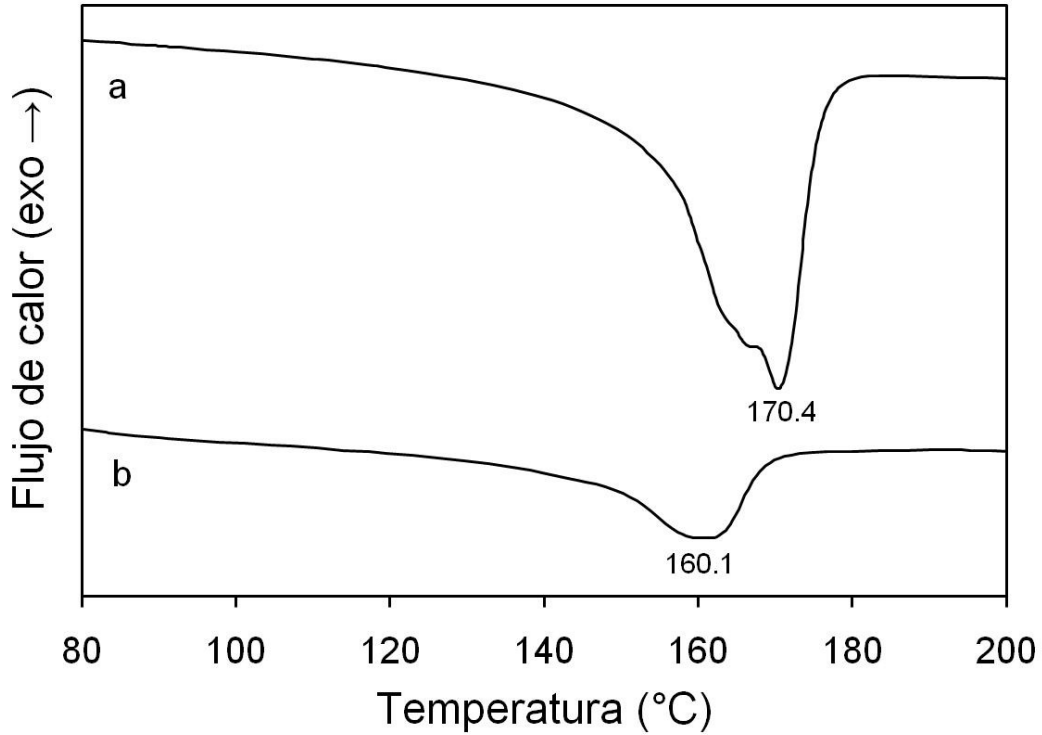


Figura 7.20. DSC a) PP, b) PP-g-(HEMA/DEGMA) 181 % de injerto.

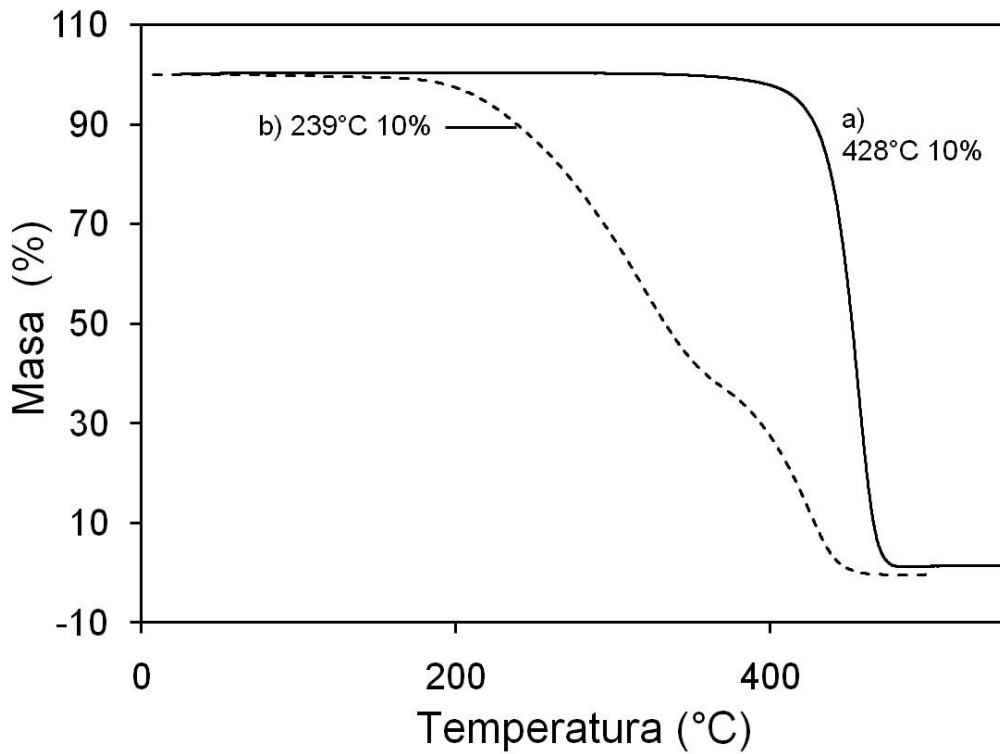


Figura 7.21. TGA a) PP, b) PP-g-(HEMA/DEGMA) 181 % de injerto.

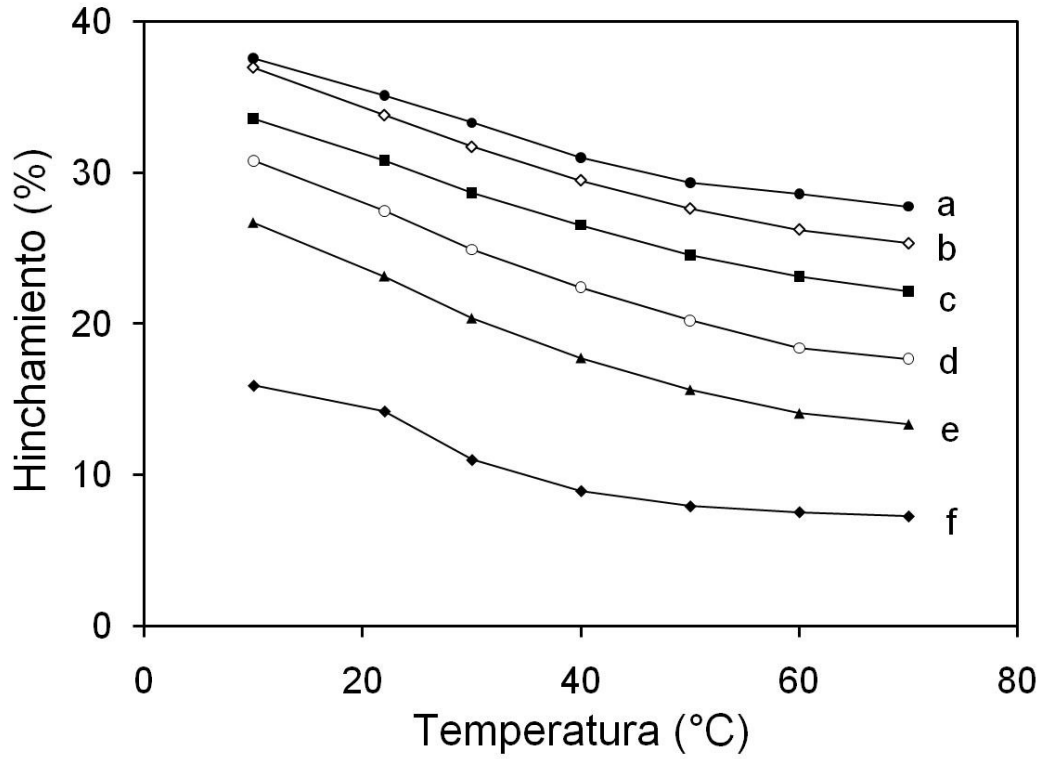


Figura 7.22. Porcentaje de hinchamiento en agua bidestilada con respecto a la masa de injerto para PP-g-(HEMA/DEGMA); a) $\chi_{\text{HEMA}} = 0.5$, b) $\chi_{\text{HEMA}} = 0.4$, c) $\chi_{\text{HEMA}} = 0.3$, d) $\chi_{\text{HEMA}} = 0.2$, e) $\chi_{\text{HEMA}} = 0.1$ y f) $\chi_{\text{HEMA}} = 0.0$, inicial.

7.4 Injerto de DEGMA/OEGMA

Se hicieron varias pruebas de injerto sobre PP utilizando mezclas de metacrilato de dietilenglicol metil éter (DEGMA) con diferentes fracciones mol de metacrilatos de oligoetilenglicol metiléter (OEGMA) con PM = 300 ó 475 (**Figura 7.23**), esto debido a que poli(DEGMA) presenta LCST entre 22 y 26 °C y esta aumenta al formar copolímeros con monómeros más hidrofílicos como OEGMAs, según lo reportado en la literatura, un aumento en la fracción mol de un 0.01 de OEGMA₄₇₅ aumenta aproximadamente 1 °C la LCST, por lo que esta se podría ajustar a la temperatura que uno la desee [59].

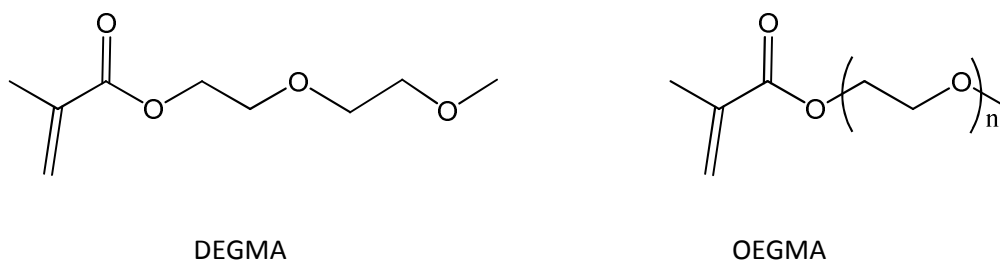


Figura 7.23. Monómeros utilizados para el injerto sobre PP. OEGMA₃₀₀; PM = 300 (n = 4.5), OEGMA₄₇₅; PM = 475 (n = 7.5).

En primer lugar se hicieron pruebas para seleccionar el disolvente más adecuado para llevar a cabo la reacción.

Las muestras se preirradiaron en presencia de aire con una dosis de 60 kGy, se adicionaron los monómeros con una proporción $\psi(\text{monómeros, tolueno}) = 3: 5$, en diferentes disolventes, el

oxígeno se eliminó por burbujeo de argón y se calentaron por 40 h a 60 °C. Los monómeros se utilizaron sin remover los inhibidores. Los resultados obtenidos se muestran en la **Tabla 7.4**.

Se pudo observar que los menores porcentajes de injerto se obtuvieron cuando se utiliza metanol, esto debido a que la terminación por transferencia de la cadena se da más con este disolvente [80, 81]. Con tolueno el injerto aumenta debido a tener mayor afinidad por la matriz lo que permite a los monómeros alcanzar los sitios activos; sin embargo, el porcentaje de injerto incrementa considerablemente cuando se utiliza agua, esto debido a que, DEGMA al ser insoluble en agua tiene mayor afinidad por la matriz polimérica hidrofóbica, la cual se puede considerar como la fase orgánica, predomina la partición [82]. Aunque el porcentaje de injerto es mayor en agua, el PP se deforma y se puede observar a simple vista una diferencia en el grosor y color de las películas por lo que el injerto no es homogéneo. Debido a lo anterior se hicieron pruebas con diferentes mezclas de metanol y agua, se observó que a mayor fracción de agua el injerto es mayor obteniendo en promedio un 65 % con solo agua como disolvente y, a medida que la cantidad de metanol aumentó, el injerto disminuyó hasta obtenerse solo un 13 % en metanol (**Figura 7.24**).

En las pruebas hechas a 70 °C (*) se obtuvieron los porcentajes de injerto mayores, pero las películas se deforman y en la superficie queda el hidrogel adherido incluso después de algunos días de lavado. Cuando la reacción se llevó a cabo a 70 °C (**), con mezcla metanol:agua (2:8), a las 20 horas la disolución se pone muy viscosa evidenciando la formación del homopolímero además se observó la separación de fases por lo que la reacción se detuvo a ese tiempo, el injerto fue de solo 22.5 % y la superficie no era homogénea.

Tabla 7.4. Pruebas realizadas para los injertos de DEGMA/OEGMA sobre PP. Porcentaje de hinchamiento a 20°C.

χ_{DEGMA}	$\chi_{\text{OEGMA}}(\text{PM})$ (%)	Disolvente	Injerto (%)	Hinchamiento (% $m_{\text{agua}}/m_{\text{injerto}}$)
0.86	0.14 (300)	Tolueno	25.7	23
0.78	0.22 (300)	Tolueno	22.8	25
0.90	0.10 (475)	Tolueno	22.1	22
0.85	0.15 (475)	Tolueno	22.8	22
0.85	0.15 (475)	Metanol	12.8	14
0.85	0.15 (475)	Metanol	12.5	16
0.85	0.15 (475)	Agua	70.1	28
0.85	0.15 (475)	Agua	60.0	27
0.85	0.15 (475)	Metanol:Agua (1:9)	58.6	27
0.85	0.15 (475)	Metanol:Agua (2:8)	38.1	22
0.85	0.15 (475)	Metanol:Agua (3:7)	26.3	21
0.85	0.15 (475)	Metanol:Agua (4:6)	20.7	18
0.78	0.22(300)	*Agua	135.6	-
0.78	0.22(300)	**Metanol:Agua (2:8)	22.5	-

*El calentamiento se llevo a cabo a 70°C; ** el tiempo de reacción fue de 20h.

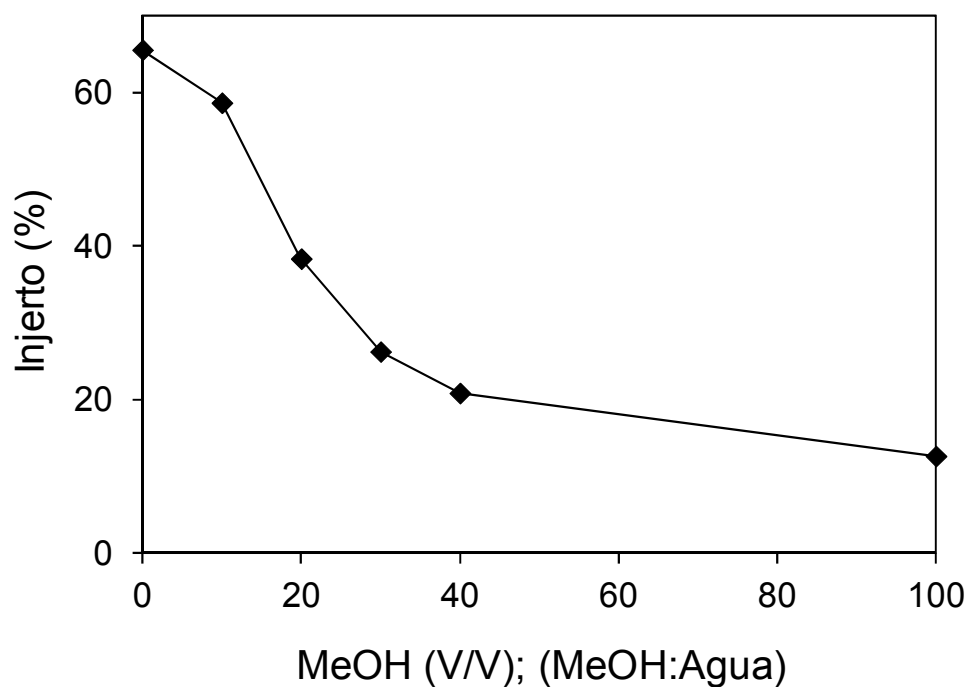


Figura 7.24. Porcentaje de injerto PP-g-(DEGMA/OEGMA475) con respecto del porcentaje de metanol usado como disolvente en mezcla metanol:agua.

7.4.1 Respuesta a la temperatura

7.4.1.1 Hinchamiento en agua

El hinchamiento límite fue evaluado gravimétricamente, los datos de la **Tabla 7.4** corresponden al porcentaje en masa de agua absorbida con respecto a la masa del injerto a 20 °C.

Con el objetivo de evaluar si estos sistemas presentan LCST, se llevó a cabo el estudio de hinchamiento con respecto a la temperatura, para alcanzar el equilibrio de hinchamiento las muestras se dejaron 24 horas a 5 °C y la temperatura se incrementó en intervalos de 5 °C; en cada punto las muestras se dejaron un mínimo 8 horas.

En la **Figura 7.25** se muestran los resultados, se puede observar que en ningún caso se tiene un cambio abrupto; no obstante, la absorción de agua disminuye con el incremento de la temperatura, la ausencia de un cambio rápido se puede deber a que en estos sistemas de injerto, las cadenas de copolímeros no tienen la misma libertad de movimiento, por lo que el cambio a una fase hidrofóbica es lento y por lo tanto, también la desorción de agua.

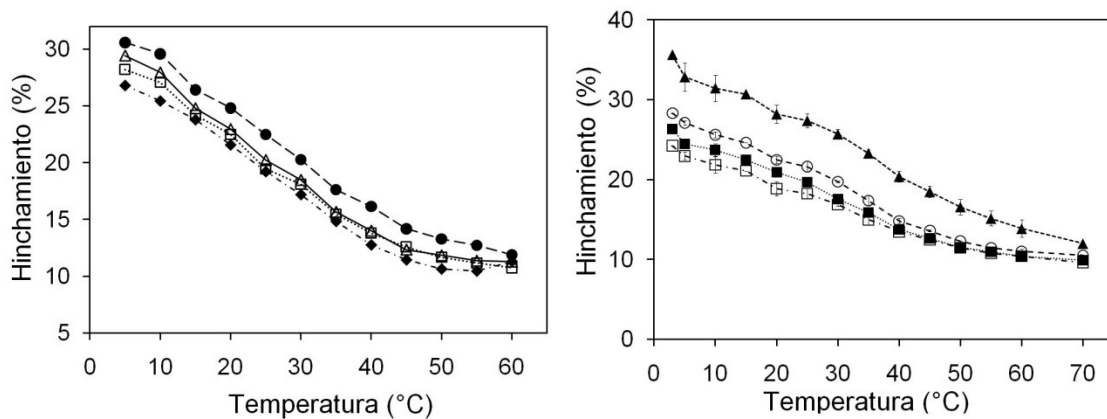


Figura 7.25. Porcentaje de hinchamiento en función de la temperatura a) Muestras preparadas en tolueno; b) muestras preparadas en metanol:agua, ▲ 40 %, ○ 30 %, ■ 20 % y □ 10 % de metanol.

7.4.1.2 DSC

Para observar si existe una LCST, se llevaron a cabo estudios por calorimetría diferencial de barrido, cada muestra se hinchó previamente en agua bidestilada, la velocidad de calentamiento fue de 1 °C/min. Para este estudio se ensayó sólo con muestras que contenían OEGMA₃₀₀. En la **Figura 7.26** se observa que existe más de una transición. La liberación de calor se atribuye al rompimiento de puentes de hidrógeno entre el agua y los oxígenos de los éteres de etilenglicol.

En el injerto del copolímero DEGMA-co-OEGMA₃₀₀ sobre celulosa, se encontró una relación lineal entre la fracción mol de OEGMA y la LCST aumentando 0.5 °C por cada 1 % de OEGMA alimentado en la mezcla [83]. Por tal motivo, el que exista más de una transición se debe a que las cadenas injertadas contienen diferente proporción de monómeros.

7.5 Injerto de DEGMA/OEGMA sin inhibidores

Debido a que no se encontró una sola transición, en la síntesis de los siguientes copolímeros, los inhibidores fueron removidos al pasar la mezcla de monómeros por alúmina neutra, posteriormente se adicionó sulfato de sodio anhidro y se decantó.

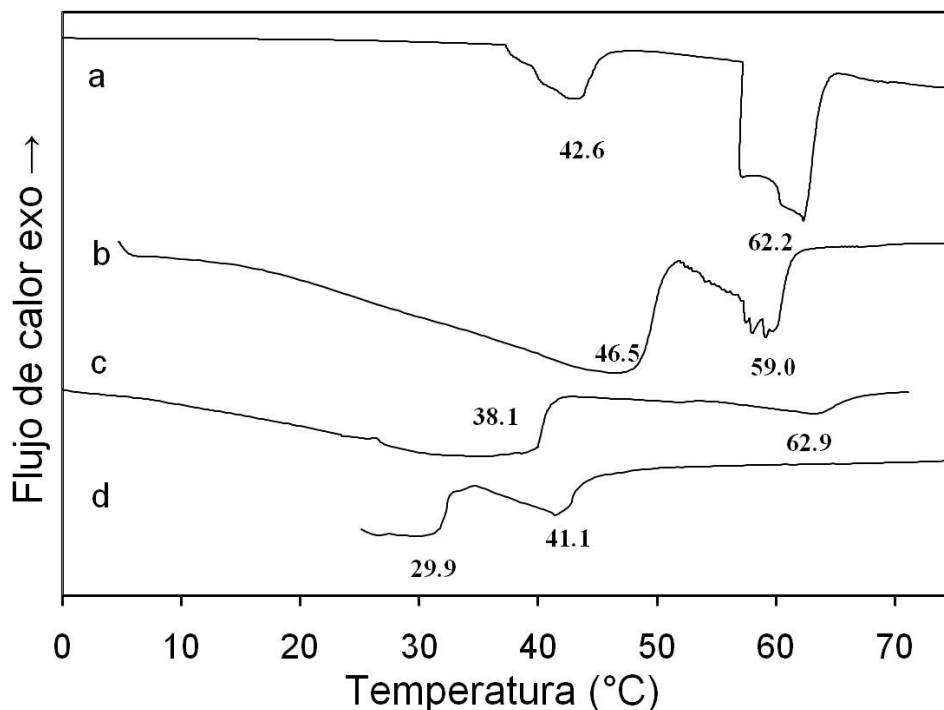


Figura 7.26. DSC: a) poli(DEGMA/OEGMA₃₀₀), b) PP-g-(DEGMA/OEGMA₃₀₀) 23.7 % de injerto (0.78:0.22 mol inicial), c) PP-g-(DEGMA/OEGMA₃₀₀) 32 % de injerto (0.91:0.09 mol inicial) y d) PP-g-(DEGMA/OEGMA₃₀₀) 42 % de injerto (0.91:0.09 mol inicial). Los monómeros fueron usados como se recibieron.

El porcentaje de injerto se evaluó como función de la dosis de preirradiación a 60 y 70 °C. En la **Figura 7.27** se observa que a dosis mayores, el porcentaje de injerto es también mayor; esto debido a una mayor cantidad de peróxidos e hidroperóxidos formados en el PP. Se observa que a mayor temperatura, la cantidad injertada fue ligeramente mayor ya que hay una ruptura más rápida de los peróxidos formando así más sitios reactivos al inicio de la reacción. A 70 °C los porcentajes de injerto fueron 14, 24 y 33 % mientras que a 60 °C fueron 16, 20 y 27 % a 40, 60 y 80 kGy respectivamente. Se observa también que a mayor fracción mol de OEGMA, el injerto fue mayor, obteniéndose 17, 26 y 33 % de injerto a 60 °C, esto se explica porque hay una mayor proporción de OEGMA y este tiene un mayor peso molecular en comparación con DEGMA. En el

intervalo estudiado se observa una tendencia lineal, no se hicieron pruebas a dosis mayores debido a que por encima de los 100 kGy, el PP empieza a entrecruzarse con mayor rapidez [24].

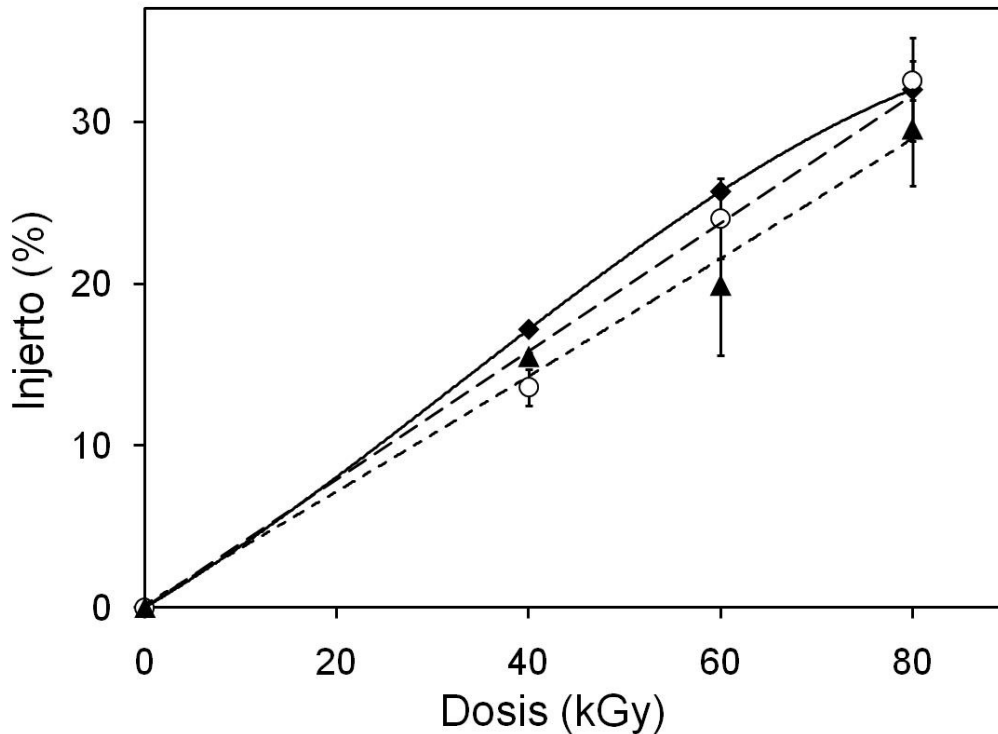


Figura 7.27. Injerto de DEGMA/OEGMA₃₀₀ sobre PP como función de la dosis total de preirradiación, 40 h de reacción en tolueno, $\psi(\text{monómeros, tolueno}) = 3: 5$, ◆ DEGMA/OEGMA 0.86: 0.14 mol inicial a 60 °C, ○ DEGMA/OEGMA 0.91: 0.09 mol inicial a 70 °C, ▲ DEGMA/OEGMA 0.86: 0.14 fracción mol inicial a 60 °C.

En otro ensayo se evaluó el porcentaje de injerto como función del tiempo de reacción. En la **Figura 7.28**, se observa que a mayor tiempo de reacción el porcentaje de injerto es mayor. El máximo grado de injerto no se alcanzó en el intervalo estudiado aunque para el PP se observa un incremento en el injerto de solo 1.5 % al pasar de 30 a 40 h, por lo que un tiempo de 40 h de reacción se usó para experimentos posteriores.

Al hacer la comparación entre PP y LDPE, se observa que bajo las mismas condiciones de reacción el injerto sobre PP en todos los casos es mayor, estos resultados están de acuerdo con lo esperado ya que el rendimiento radioquímico de formación de radicales ($G_{R\cdot}$) de PP es mayor que $G_{R\cdot}$ de LDPE, debido a la formación de radicales más estables, por lo tanto se forman más peróxidos e hidroperóxidos en el PP [79].

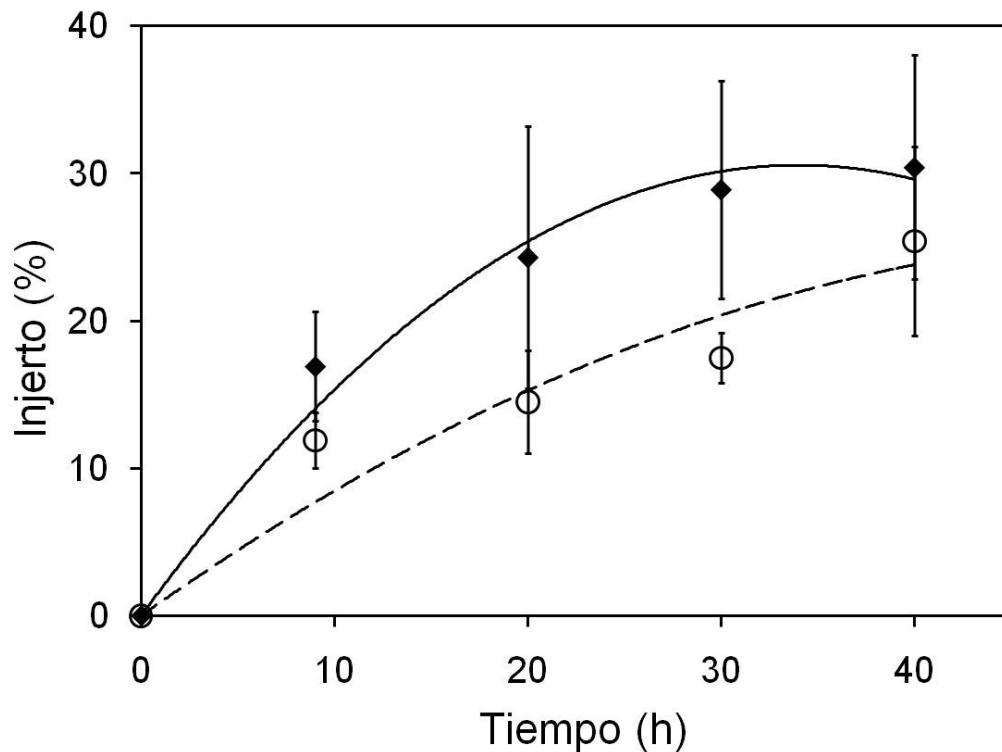


Figura 7.28. Porcentaje de injerto en función del tiempo de reacción. ♦ PP-g-(DEGMA/OEGMA₃₀₀) y ○ LDPE-g-(DEGMA/OEGMA₃₀₀). ψ (monómeros, tolueno) = 3: 5, 70 °C, una dosis total de preirradiación de 60 kGy y una fracción mol inicial de monómeros DEGMA:OEGMA 0.91: 0.09.

El porcentaje de injerto con respecto a la proporción total de monómeros, tolueno, fue evaluado. En la **Figura 7.29** se observa que para el PP se alcanza el máximo injerto con una proporción ψ (monómeros, tolueno) = 1: 1, si dicha proporción aumenta, la formación de cadenas

de copolímero sin injertar se ve más favorecida. En el caso de LDPE no se observa un máximo incluso con una proporción $\psi(\text{monómeros, tolueno}) = 3: 1$. Al igual que en el ensayo discutido previamente el porcentaje de injerto es mayor en PP que en LDPE.

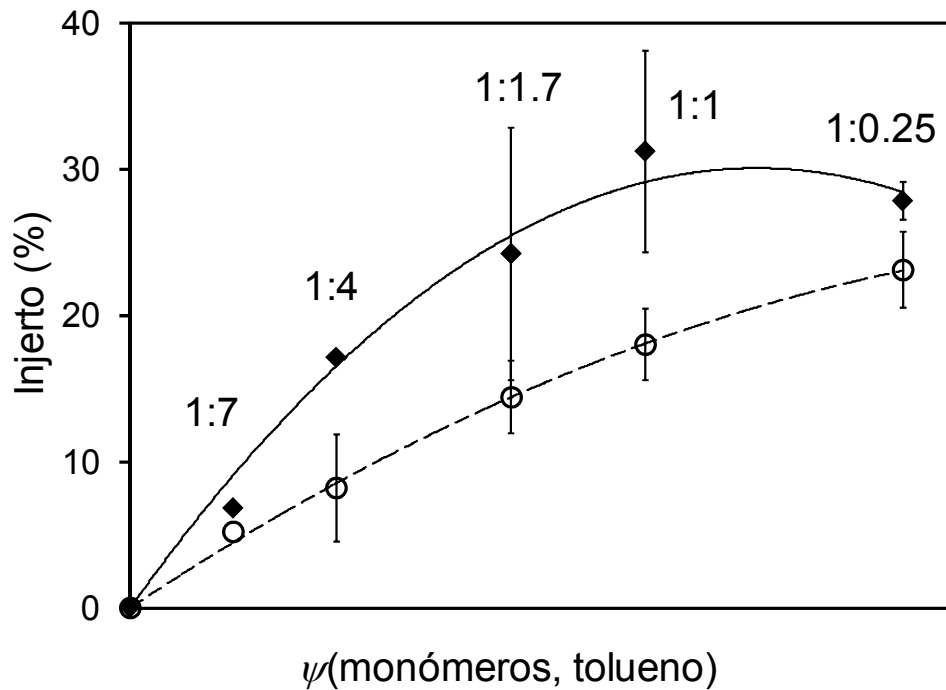


Figura 7.29. Porcentaje de injerto en función de la proporción total de monómeros. ♦ PP-*g*-(DEGMA/OEGMA₃₀₀) y ○ LDPE-*g*-(DEGMA/OEGMA₃₀₀). 40 h de reacción en tolueno, 70 °C, una dosis total de preirradiación de 60 kGy y una fracción mol inicial de monómeros DEGMA:OEGMA 0.91:0.09.

7.5.1 Caracterización

En los espectros de FTIR-ATR, se observa la banda característica de los carbonilos en 1726 cm^{-1} y la banda con una intensidad muy fuerte en aproximadamente 1115 cm^{-1} la cual corresponde

al estiramiento C-O de los grupos éter de los monómeros, estas bandas se hacen relativamente más intensas a medida que el porcentaje de injerto es mayor (**Figura 7.30**).

La estabilidad térmica fue evaluada mediante TGA, el copolímero DEGMA-co-OEGMA300 pierde el 10 % en peso a los 217 °C quedando un residuo del 2 % a 420 °C, el PP sin modificar pierde el 10 % a los 428 °C quedando solo un 1 % a los 480 °C, por otro lado LDPE presentó una pérdida del 10 % a los 442 y un residuo de solo 0.28 % a los 500 °C. En PP-g-(DEGMA/OEGMA300) se observaron ambas descomposiciones, a 276 °C perdió el 10 % en peso (**Figura 7.31**).

Para observar si existen transiciones térmicas, algunas muestras se analizaron mediante DSC. Para PP la T_m se encontró en 174 °C y disminuyó unos 9 °C en los copolímeros de injerto al igual que en los copolímeros descritos previamente, por otro lado en LDPE se observan dos puntos de fusión en 127.7 y 111.7 °C estos permanecieron prácticamente invariables en los polímeros modificados (124.9 y 111.9 °C), estos datos indican que el injerto se llevó a cabo en la región amorfa aunque en el caso del PP la parte cristalina fue más afectada.

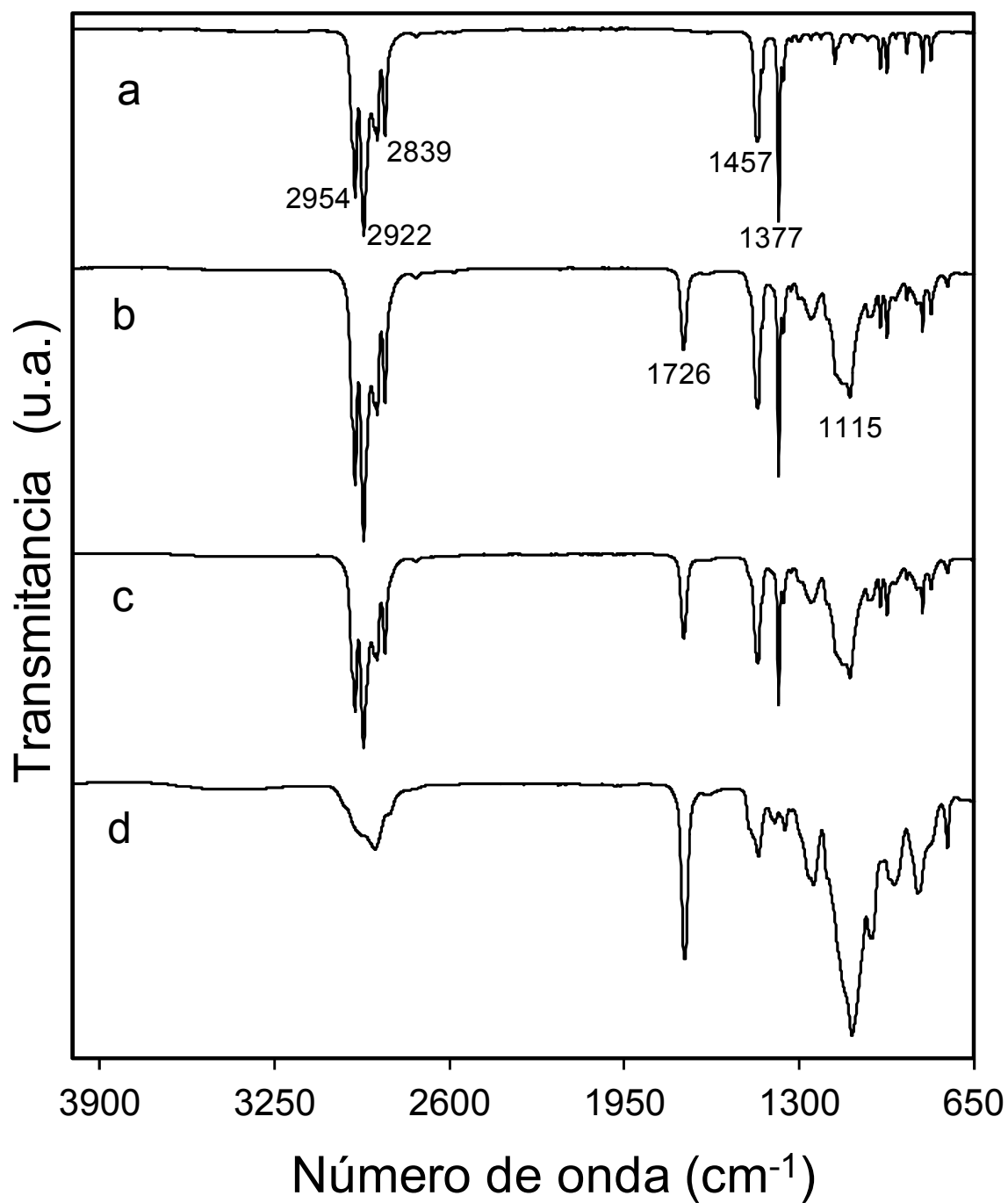


Figura 7.30. FTIR-ATR a) PP, b) PP-*g*-(DEGMA/OEGMA₃₀₀) 22 % de injerto, c) PP-*g*-(DEGMA/OEGMA₄₇₅) 23 % de injerto y d) PP-*g*-(DEGMA/OEGMA₃₀₀) 70 % de injerto.

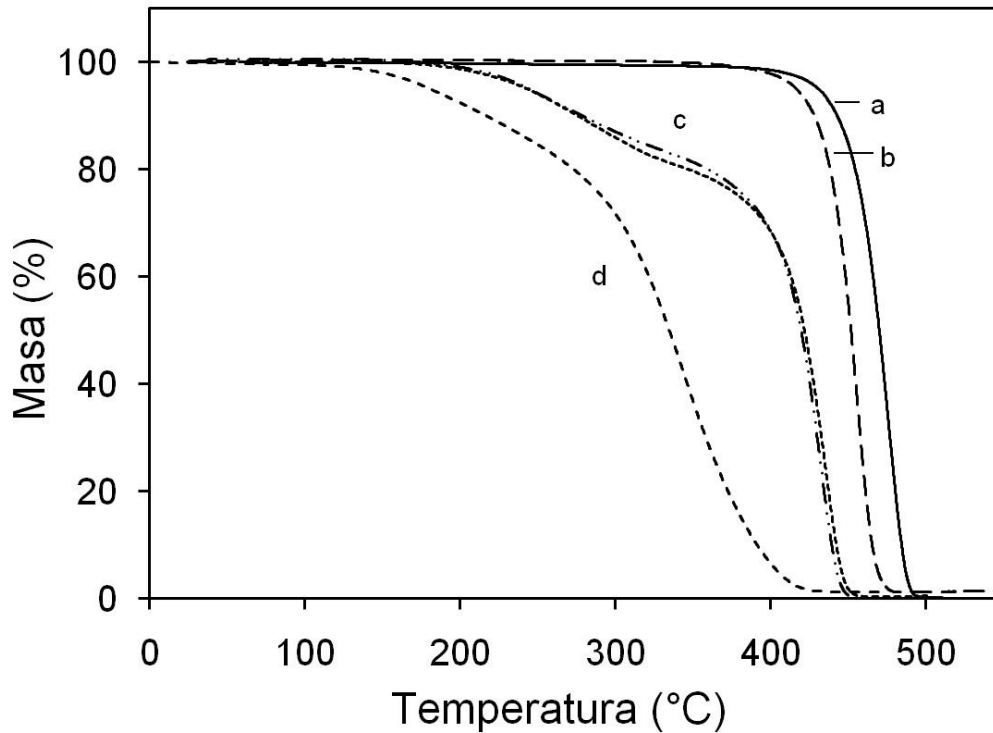


Figura 7.31. Análisis termogravimétrico a) LDPE, b) PP, c) PP-g-(DEGMA/OEGMA₃₀₀) 26 % de injerto, d) DEGMA-co-OEGMA₃₀₀

El análisis químico de oxígeno y carbono en secciones transversales de muestras de PP y LDPE con 18 y 15 % de injerto respectivamente se llevó a cabo mediante EDS. En ambas muestras se encontraron valores similares de oxígeno en ambas orillas como en el centro, los valores en PP fueron 6.46, 4.80 y 6.49 (lado, centro, lado) y para LDPE fueron 4.78, 3.78 y 4.40, estos valores son cercanos a los valores teóricos los cuales son 6.03 y 5.16 para PP y LDPE con los porcentajes de injerto mencionados. Ya que el oxígeno proviene solo de los monómeros y en menor medida de los peróxidos, se comprobó así que el injerto se obtuvo en masa. El mapeo de oxígeno de la muestra de PP-g-(DEGMA/OEGMA₃₀₀) se muestra en la **Figura 7.32**.

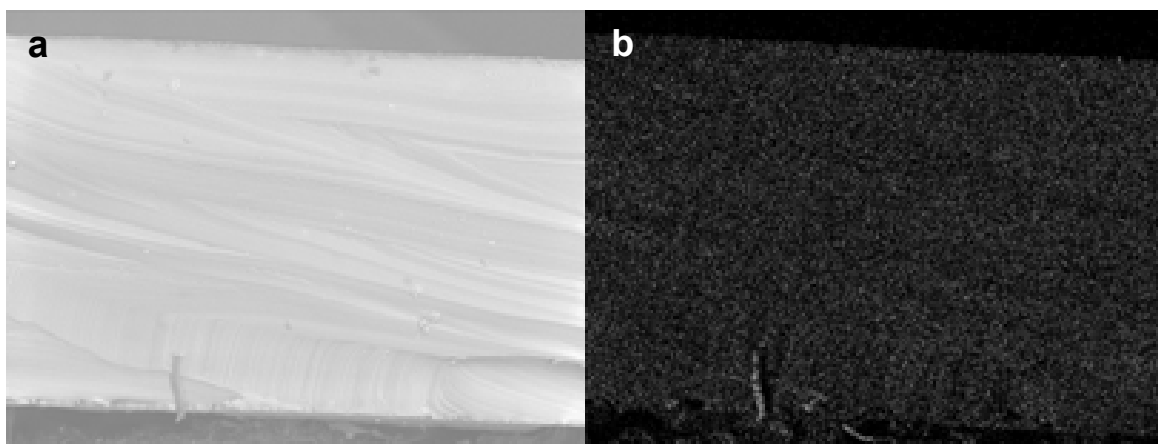


Figura 7.32 Sección transversal de PP (a) y su mapeo de oxígeno (b) mediante EDS en la muestra PP-*g*-(DEGMA/OEGMA₃₀₀). Se muestra en el contraste tonalidad clara.

Las micrografías obtenidas mediante SEM muestran que PP y LDPE tienen una superficie lisa mientras que PP-*g*-(DEGMA/OEGMA₃₀₀) con 18 % de injerto y LDPE-*g*-(DEGMA/OEGMA₃₀₀) con 15 % de injerto muestran superficies homogéneas pero con mayor rugosidad (**Figura 7.33**); esta característica es muy importante en materiales que se deseen aplicar como antitrombogénicos debido a que un requisito para lograr baja adhesión de proteína es tener superficies lisas, sin embargo cabe aclarar que las muestras estaban secas y que al hidratarse la morfología puede verse diferente.

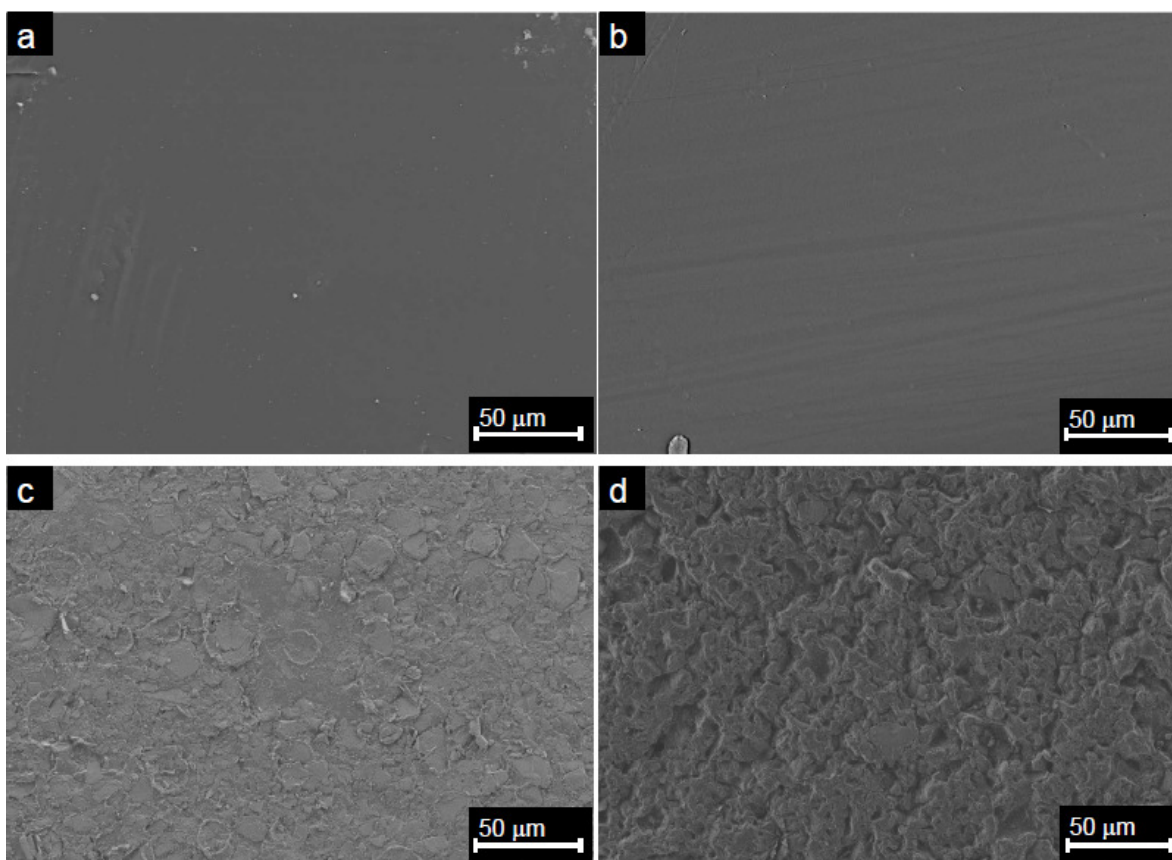


Figura 7.33. Micrografías obtenidas mediante SEM (1000 X) de: a) PP, b) LDPE, c) PP-*g*-(DEGMA/OEGMA₃₀₀) 18 % de injerto, d) LDPE-*g*-(DEGMA/OEGMA₃₀₀) 15 % de injerto.

7.5.2 Hidrofilia

DEGMA y OEGMA son compuestos que, debido a la polaridad de los enlaces C-O presentan una alta hidrofilia, para confirmar la presencia de estos compuestos en el copolímero de injerto, se midió la absorción de agua a 20 °C. En la **Figura 7.34** se observa un rápido hinchamiento en las primeras 24 horas alcanzando alrededor del 85 % del máximo, el cual se alcanzó hasta las 72 h, este comportamiento se obtuvo tanto en el injerto sobre PP como en el injerto sobre LDPE.

Al aumentar la temperatura, de acuerdo a los antecedentes, se esperaba que la absorción de agua fuera menor, para esto las muestras hinchadas se colocaron en un baño maría a 45 °C, se observó que para alcanzar un nuevo equilibrio fueron necesarias solo 8 horas, esto puede deberse a que hay mayor movilidad de las cadenas lo cual favorece la expulsión de agua. Este comportamiento es similar al observado en hidrogeles compuestos de estos dos monómeros [84]. El agua expulsada a 45 °C fue alrededor de un 50 % con respecto a la absorbida a 20 °C.

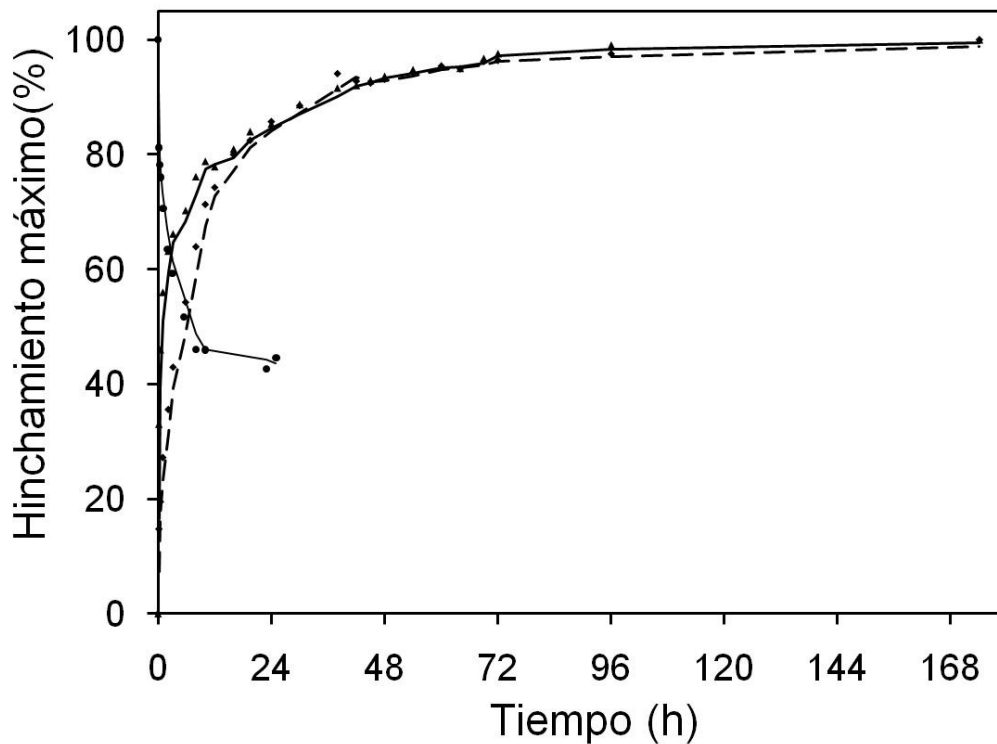


Figura 7.34 Hinchamiento en agua a 20 °C; ▲LDPE-*g*-(DEGMA/OEGMA₃₀₀), ◆ PP-*g*-(DEGMA/OEGMA₃₀₀); ● expulsión de agua a 45 °C. Se tomó el hinchamiento máximo como el 100 %.

7.5.3 Respuesta a la temperatura

7.5.3.1 Hinchamiento en agua

Se llevó a cabo el estudio de hinchamiento en agua con respecto a la temperatura, para esto las muestras se dejaron en agua bidestilada a 5 °C durante un tiempo mínimo de 72 h, posteriormente la temperatura se incrementó en intervalos de 5 °C, hasta alcanzar los 70 °C, en cada punto las muestras se dejaron un mínimo de 8 horas y se pesaron hasta alcanzar una masa constante. En la **Figura 7.35** se observa que, al aumentar la temperatura la cantidad de agua absorbida disminuye de manera lineal hasta aproximadamente 40 °C, por encima de esta temperatura, el agua absorbida disminuye muy poco siendo prácticamente constante, por ejemplo para PP-g-(DEGMA/OEGMA300) con 29 % de injerto, de 5 a 40 °C, la absorción de agua pasó de 30 a 12 %, mientras que, de 40 a 70 °C el hinchamiento disminuyó solo 3 %. Para LDPE con 25 % de injerto, el comportamiento fue el mismo. Aunque en trabajos previos con copolímeros de DEGMA-co-OEGMA logran observar una LCST, esta es monitoreada generalmente por turbidimetría. En nuestro caso esto no fue posible debido a que este copolímero está injertado sobre una matriz sólida. Nuestros resultados permiten concluir únicamente que estos sistemas son más hidrofílicos a bajas temperaturas y que esta hidrofiliidad disminuye al aumentar la temperatura hasta unos 40-45 °C.

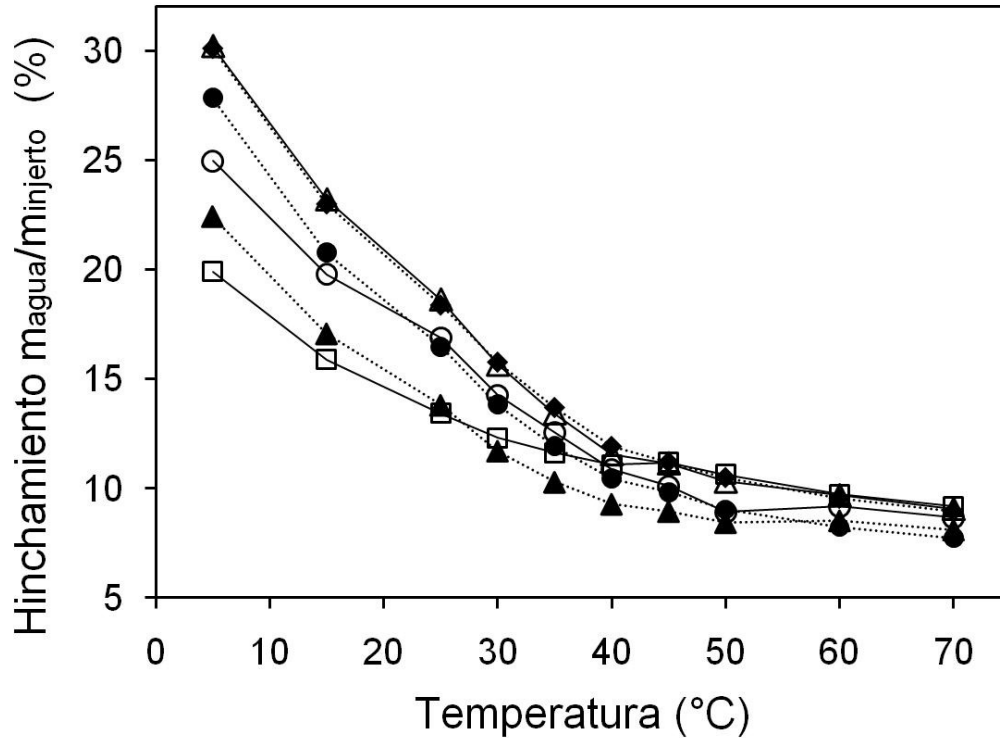


Figura 7.35 Hinchamiento en agua bidestilada en función de la temperatura. PP-*g*-(DEGMA/OEGMA₃₀₀) 29 % de injerto (rombos sólidos), 26 % de injerto (círculos sólidos), 22 % de injerto (triángulos sólidos); LDPE-*g*-(DEGMA/OEGMA₃₀₀) 25 % de injerto (triángulos abiertos), 21 % de injerto (círculos abiertos), 17 % de injerto (cuadros abiertos)

7.5.3.2 Ángulo de contacto

La hidrofilia a diferentes temperaturas también se evaluó mediante ángulo de contacto con agua bidestilada. Muestras secas se colocaron sobre la platina del equipo, al alcanzar la temperatura deseada, se colocó una gota de agua y se midió el ángulo de contacto. Se observó que a medida que la temperatura se incrementó (de 17 a 45 °C), el ángulo de contacto fue mayor, evidenciando una menor hidrofilia con el aumento de la temperatura, por encima de los 45 °C se observa en algunos casos una disminución en el ángulo pero esto es debido a que toma demasiado tiempo para que las muestras alcancen la temperatura deseada y mientras tanto

absorben humedad del ambiente. Los resultados se muestran en la **Tabla 7.5**. No fue posible llevar a cabo el estudio a más temperaturas, esto debido al poco control que se tiene sobre la misma; sin embargo, estos resultados dan valores que corresponden a los encontrados mediante hinchamiento, es decir que las muestras son más hidrofílicas a bajas temperaturas y que el mínimo está cercano a los 40 °C. Resulta interesante ver que la muestra de LDPE con 12 % de injerto resultó ser más hidrofílica lo cual se puede deber al hecho de que presente una menor rugosidad lo cual fue observado mediante SEM para una muestra con porcentaje de injerto similar.

Tabla 7.5 Ángulo de contacto para PP-*g*-(DEGMA/OEGMA₃₀₀) y LDPE-*g*-(DEGMA/OEGMA₃₀₀)

T (°C) ± 1 °C	PP 42 % injerto	PP 35 % injerto	PP 34 % injerto	LDPE 12 % injerto
17	81.5 ± 5.4	81.2 ± 4.0	80.2 ± 3.5	66.3 ± 2.2
25	93.9 ± 1.8	88.4 ± 2.7	87.4 ± 2.2	78.4 ± 2.6
37	99.7 ± 2.6	93.8 ± 3.1	86.4 ± 1.9	76.3 ± 2.2
45	99.2 ± 1.0	91.8 ± 3.3	87.2 ± 1.0	75.6 ± 2.8
58	94.9 ± 2.7	90.0 ± 2.4	91.1 ± 2.6	84.6 ± 3.4

7.5.3.3 DSC

Otra forma para observar si existe una LCST es mediante DSC ya que las muestras se hidratan al formar puentes de hidrógeno con los heteroátomos de las cadenas de DEGMA y OEGMA; al aumentar la temperatura, estos puentes se rompen debido a que la contribución entrópica es mayor a la entálpica y por consiguiente se libera calor de las muestras, debido que la

cantidad de muestra es muy poca y la cantidad de agua es todavía menor la velocidad de calentamiento debe ser baja y en un contenedor hermético. En nuestro caso las muestras hidratadas se calentaron a una velocidad de 1 °C/min. A diferencia de los copolímeros sintetizados sin remover los inhibidores de la polimerización, en este caso se observó solo una transición la cual fue tomada como la LCST. Durante el experimento, se observa que la muestra absorbe más calor para elevar su temperatura con respecto a la referencia, esto se debe al agua contenida en la muestra. El valor que se tomó como LCST fue cuando la muestra comenzó a liberar calor observándose como una subida en el termograma, es decir al inicio del flujo de calor exotérmico. En la **Figuras 7.36 y 7.37** se muestran los resultados obtenidos.

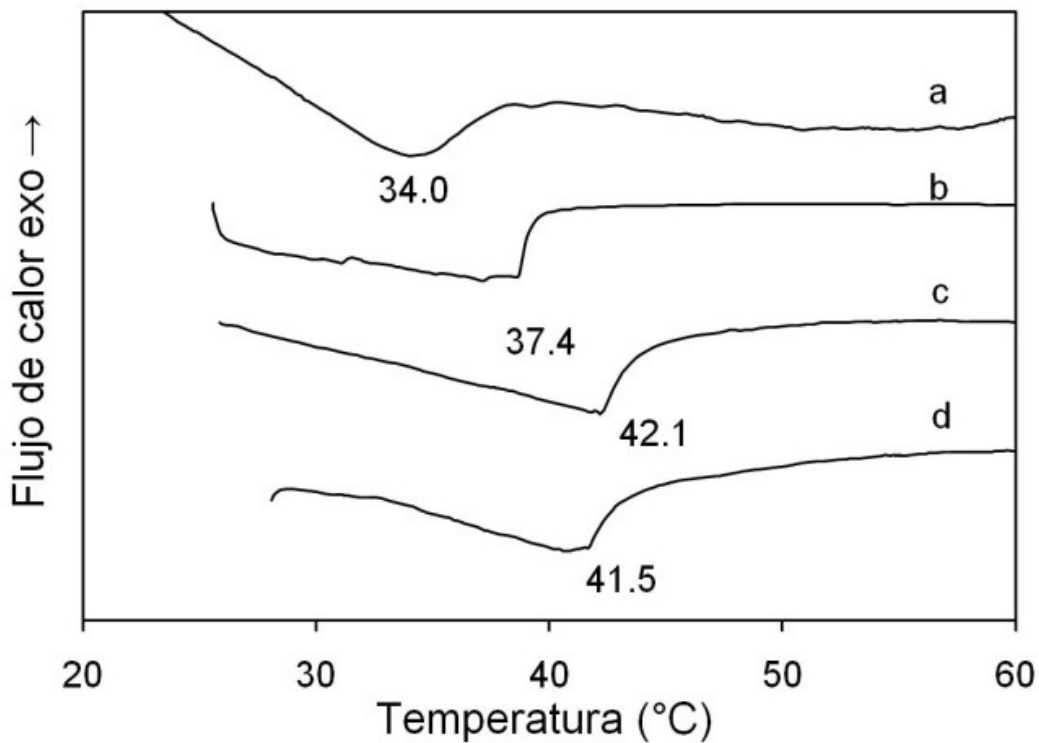


Figura 7.36 DSC de PP-*g*-(DEGMA/OEGMA₃₀₀) a) 29 %; b) 18 %; c) 26 %; d) 34 % de injerto. Muestras hidratadas a 5 °C, velocidad de calentamiento de 1 °C/min

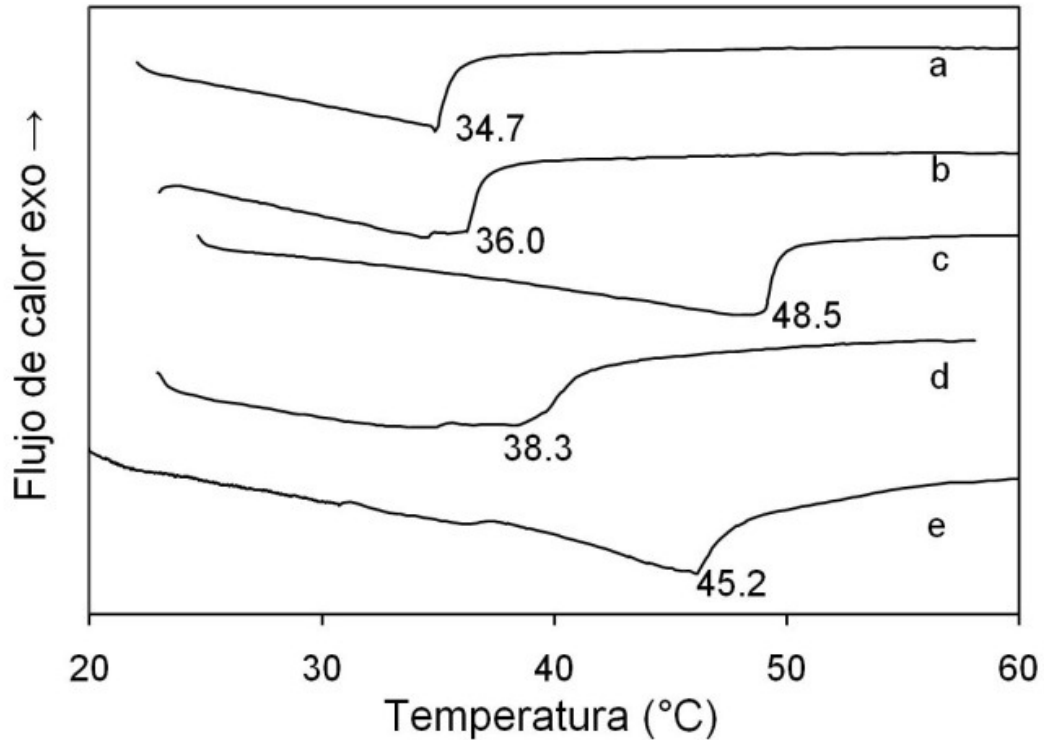


Figura 7.37 DSC de LDPE-*g*-(DEGMA/OEGMA₃₀₀) a) 20 %; b) 29 %; c) 18 %; d) 19 %; e) 30 % de injerto. Muestras hidratadas a 5 °C, velocidad de calentamiento de 1 °C/min

Mediante DSC fue posible medir de manera más precisa la LCST. Se observó que esta no sigue alguna tendencia en cuanto al porcentaje de injerto, en las muestras estudiadas de copolímero de PP la transición se encontró entre 34 y 42 °C, mientras que en LDPE el intervalo fue mayor, la LCST se encontró para la muestra con 29 % de injerto hasta los 48.5 °C. Salvo esta muestra, los valores encontrados son cercanos a lo observado por hinchamiento en agua y ángulo de contacto, por lo tanto, la respuesta a la temperatura fue confirmada por estos tres métodos.

7.6 Pruebas de biocompatibilidad

7.6.1 Formación de trombos

Para la selección de un biomaterial se deben considerar sus propiedades mecánicas, físicas, químicas y biológicas esperando que pueda cumplir con los requerimientos necesarios para tener una respuesta adecuada del organismo; rara vez un material puede cumplir con todas las características, por lo que la búsqueda de nuevas opciones continúa. Una de estas es la modificación de materiales mediante uso de radiación ionizante.

En el caso de dispositivos biomédicos que vayan a tener contacto con la sangre, una alta hemocompatibilidad es deseada. Esta biocompatibilidad es el resultado de múltiples interacciones entre el dispositivo y el flujo sanguíneo. Lo que se desea evitar es principalmente la formación de trombos, en donde el primer evento para que se dé esta formación es la adsorción de proteínas [85]. De manera general, lo que se ha observado es que para que un material sea hemocompatible, se requiere que la superficie sea lisa, químicamente neutra e hidrofílica [86]. Para esto se han estudiado varios compuestos que contengan por ejemplo zwitteriones como fosforilcolina, derivados de oligoetilenglicol o polietilenglicol, sulfobetaína o carboxibetaína, esto debido a que estos compuestos presentan una muy baja adsorción de fibrinógeno.

HEMA y OEGMAs son hidrofílicos y neutros por lo que han sido utilizados en modificación de superficies que presenten una baja adsorción de materia orgánica y con ello una mayor biocompatibilidad [65-69].

En nuestro caso, se llevaron a cabo dos ensayos para medir la hemocompatibilidad de los materiales, hemólisis y formación de trombos de acuerdo a lo descrito por Imai y Nose [87]. En el ensayo de formación de trombos, los resultados indican que hay una muy ligera reducción en el trombo formado con respecto al control positivo (vidrio Pyrex). El trombo formado en PP fue un 19 ± 1 % menor que el formado en el control positivo, PP-*graft*-(HEMA/OEGMA₁₁₀₀) con 22 % de injerto presentó la más baja formación de trombos con solo un 40 ± 20 % con respecto al formado en el control positivo.

En los ensayos realizados con LDPE-*graft*-(HEMA/OEGMA₁₁₀₀), se encontraron valores promedio más bajos en comparación con PP-*graft*-(HEMA/OEGMA₁₁₀₀) en muestras con porcentaje de injerto similar, (**Tabla 7.6**); sin embargo, tomando en cuenta el análisis estadístico, no existe diferencia alguna. Por ejemplo para PP con 58 % de injerto el valor del tamaño del trombo fue del 72 ± 4 %, mientras que para LDPE con 60 % de injerto, el valor fue de 55 ± 23 %.

Para los copolímeros PP-*graft*-(HEMA/OEGMA₃₀₀), PP-*graft*-(HEMA/DEGMA) y PP-*graft*-(HEMA/OEGMA₁₁₀₀), solo se pudieron comparar las muestras con aproximadamente un 60 % de injerto. Los resultados indican que la muestra con injerto de HEMA/OEGMA₁₁₀₀ resultó ligeramente menos trombogénica, disminuyendo el tamaño del trombo a solo un 72 ± 4 % con respecto al valor del control positivo, mientras que los valores para PP-g-(HEMA/OEGMA₃₀₀) y PP-

g-(HEMA/DEGMA) con 64 y 59 % de injerto, fueron 81 ± 16 y 81 ± 9 %, respectivamente (**Tabla 7.6**).

Para los copolímeros PP-*graft*-(DEGMA/OEGMA₃₀₀) sintetizados sin inhibidores (**Tabla 7.7**) se encontraron valores entre 56 ± 17 % y 81 ± 11 %. Tomando en cuenta el análisis estadístico, no se observó alguna tendencia con respecto al porcentaje de injerto; sin embargo, se puede decir que, con porcentajes de injerto de un 20 a 26 % se redujo alrededor de 10 % el tamaño del trombo con respecto al PP. Por otro lado, para los copolímeros sintetizados sin eliminar los inhibidores se encontraron valores entre 74 ± 17 % y 101 ± 8 %. Aunque los monómeros injertados son de la misma naturaleza química y porcentaje de injerto similar, los valores más altos pueden deberse a una superficie menos homogénea debido a la formación de cadenas con diferente composición de monómeros.

En el caso de las muestras LDPE-*graft*-(DEGMA/OEGMA₃₀₀) y PP-*graft*-(DEGMA/OEGMA₃₀₀) los valores son estadísticamente iguales para porcentajes de injerto similares (**Tabla 7.6**).

7.6.2 Hemólisis

Los valores de porcentaje de hemólisis obtenidos fueron en todos los casos inferiores al 5 % indicando que no hay una alteración en la membrana celular de los eritrocitos (**Tablas 7.6 y 7.7**).

Tabla 7.6 Valores de hemólisis y formación de trombos para los copolímeros de injerto con HEMA. Los valores mostrados corresponden al promedio \pm una desviación típica (n= 3).

Muestra	Injerto %	Hemólisis (%)	Trombogenicidad (%)
PP	0	0.79 \pm 0.6	81 \pm 1
PE	0	0.35 \pm 0.7	66 \pm 1
PP- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA ₁₁₀₀)	12	0.00 \pm 0.32	79 \pm 9
PP- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA ₁₁₀₀)	22	1.20 \pm 2.49	40 \pm 20
PP- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA ₁₁₀₀)	32	4.76 \pm 3.89	74 \pm 9
PP- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA ₁₁₀₀)	58	1.29 \pm 0.05	72 \pm 4
LDPE- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA ₁₁₀₀)	13	0.00 \pm 0.48	65 \pm 9
LDPE- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA ₁₁₀₀)	18	0.07 \pm 0.75	70 \pm 6
LDPE- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA ₁₁₀₀)	42	1.77 \pm 2.70	76 \pm 11
LDPE- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA ₁₁₀₀)	60	0.00 \pm 0.67	55 \pm 23
PP- <i>g</i> -(HEMA/DEGMA)	31	1.99 \pm 2.63	81 \pm 9
PP- <i>g</i> -(HEMA/DEGMA)	59	1.27 \pm 1.62	81 \pm 9
PP- <i>g</i> -(HEMA/DEGMA)	83	0.84 \pm 2.55	66 \pm 9
PP- <i>g</i> -(HEMA/DEGMA)	126	0.00 \pm 0.68	82 \pm 8
PP- <i>g</i> -(HEMA/DEGMA)	172	0.00 \pm 0.77	85 \pm 8
PP- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA ₃₀₀)	5	-	66 \pm 7
PP- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA ₃₀₀)	64	2.93 \pm 5.43	81 \pm 16
PP- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA ₃₀₀)	67	0.00 \pm 0.30	68 \pm 9
PP- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA ₃₀₀)	88	0.00 \pm 0.97	75 \pm 21
PP- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA ₃₀₀)	99	0.00 \pm 1.62	84 \pm 18
PP- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA ₃₀₀)	100	0.00 \pm 1.52	92 \pm 6
PP- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA ₃₀₀)	118	0.00 \pm 0.77	60 \pm 18

Tabla 7.7. Valores de hemólisis y formación de trombos para los copolímeros de injerto. Los valores mostrados corresponden al promedio \pm una desviación típica (n= 3).

Clave	Injerto %	Hemólisis (%)	Trombogenicidad (%)
PP	0	0.79 \pm 0.6	81 \pm 1
PE	0	0.35 \pm 0.7	66 \pm 1
PP- <i>g</i> -(DEGMA/OEGMA475)*	22	0.94 \pm 2.8	79 \pm 19
PP- <i>g</i> -(DEGMA/OEGMA475)*	23	Nd	84 \pm 19
PP- <i>g</i> -(DEGMA/OEGMA300)*	26	1.69 \pm 2.4	74 \pm 17
PP- <i>g</i> -(DEGMA/OEGMA300)*	23	1.90 \pm 2.3	101 \pm 8
PP- <i>g</i> -(DEGMA/OEGMA300)	14	0.28 \pm 1.1	68 \pm 20
PP- <i>g</i> -(DEGMA/OEGMA300)	20	1.22 \pm 0.3	58 \pm 14
PP- <i>g</i> -(DEGMA/OEGMA300)	25	0.22 \pm 1.3	56 \pm 17
PP- <i>g</i> -(DEGMA/OEGMA300)	26	0.46 \pm 0.6	72 \pm 4
PP- <i>g</i> -(DEGMA/OEGMA300)	29	1.59 \pm 1.1	81 \pm 11
LDPE- <i>g</i> -(DEGMA/OEGMA300)	11	0.18 \pm 0.1	84 \pm 16
LDPE- <i>g</i> -(DEGMA/OEGMA300)	21	Nd	73 \pm 12
LDPE- <i>g</i> -(DEGMA/OEGMA300)	5	1.51 \pm 3.3	82 \pm 2
LDPE- <i>g</i> -(DEGMA/OEGMA300)	16	5.01 \pm 0.6	64 \pm 3
LDPE- <i>g</i> -(DEGMA/OEGMA300)	25	Nd	69 \pm 18

**Copolímeros sintetizados sin remover los inhibidores. Nd (no detectado)*

7.6.3 Adsorción de proteínas plasmáticas.

Para el estudio de adsorción de proteínas plasmáticas se utilizaron albúmina sérica bovina (BSA, por sus siglas en inglés) (67 kDa) y fibrinógeno bovino (340 kDa). BSA es la proteína más abundante en plasma y se utiliza comúnmente como modelo debido a su fácil obtención y a su elevada estabilidad. Por su parte, el fibrinógeno desempeña un papel clave en la formación de trombos y en la adhesión de microorganismos a la superficie de materiales utilizados en la preparación de productos sanitarios de implantación.

Para la determinación de la cantidad adsorbida se aplicó el ensayo de tinción Amido Black [88, 89], que consiste en la formación de un complejo entre los grupos amino libres en las proteínas y el naftol. Este método proporciona valores relativos, aunque es posible hacer una cuantificación mediante una curva de calibración la cual se construye empleando derivados de celulosa. En nuestro caso se utilizó una membrana millipore de nitrocelulosa y se asumió capaz de absorber el 100 % de proteína. La curva de calibración se linealizó representando los valores inversos de la concentración contra la absorbancia.

Los resultados muestran que PP adsorbió $14.5 \pm 2 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ de BSA y $11.0 \pm 3.4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ de fibrinógeno. Las muestras PP-*graft*-(DEGMA/OEGMA₃₀₀) con 18, 20 y 24 % de injerto disminuyeron ligeramente la adsorción, mientras que aquella con 36 % fue estadísticamente igual para BSA y mayor para fibrinógeno (**Tabla 7.8**). Por otro lado, para LDPE-*graft*-(DEGMA/OEGMA₃₀₀), los

resultados fueron similares que para el LDPE ya que los valores caen dentro del error experimental.

Tabla 7.8 Adsorción de proteínas para los copolímeros de injerto PP-*graft*-(DEGMA/OEGMA₃₀₀) y PE-*graft*-(DEGMA/OEGMA₃₀₀). Los valores mostrados corresponden al promedio \pm una desviación típica (n= 3).

Muestra	Injerto (%)	BSA	Fibrinógeno
		$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$
Control+	-	178.5 ± 27.6	550.5 ± 132.9
PP	-	14.5 ± 2.3	11.0 ± 3.4
PP- <i>g</i> -(DEGMA/OEGMA ₃₀₀)	18	4.2 ± 1.5	-
PP- <i>g</i> -(DEGMA/OEGMA ₃₀₀)	20	8.7 ± 5.1	9.4 ± 2.8
PP- <i>g</i> -(DEGMA/OEGMA ₃₀₀)	24	7.7 ± 0.0	7.3 ± 0.1
PP- <i>g</i> -(DEGMA/OEGMA ₃₀₀)	36	15.8 ± 3.1	20.7 ± 4.1
LDPE	-	18.6 ± 7.9	8.2 ± 2.1
LDPE- <i>g</i> -(DEGMA/OEGMA ₃₀₀)	13	17.7 ± 4.6	6.8 ± 0.0
LDPE- <i>g</i> -(DEGMA/OEGMA ₃₀₀)	15	17.0 ± 3.1	-
LDPE- <i>g</i> -(DEGMA/OEGMA ₃₀₀)	19	17.0 ± 3.6	10.4 ± 2.2
LDPE- <i>g</i> -(DEGMA/OEGMA ₃₀₀)	30	21.3 ± 6.1	7.8 ± 1.7

En el caso de las muestras PP-*graft*-(DEGMA/OEGMA₁₁₀₀) no se observa ninguna tendencia, encontrando valores cercanos a los obtenidos con PP (**Tabla 7.8**). Con injerto del 64 % se obtuvieron los valores más altos de adsorción tanto de BSA como de fibrinógeno, esto puede deberse a que las muestras con injertos altos forman grietas por lo que hay una mayor penetración de la disolución de proteína. Las grietas fueron observadas mediante SEM.

En las muestras PP-*graft*-(HEMA/DEGMA) la cantidad de fibrinógeno aumentó mientras que BSA es prácticamente el mismo que el PP, salvo la muestra con 181 % de injerto en donde la cantidad de BSA adsorbida fue de $30.4 \pm 8.9 \mu\text{g}/\text{cm}^2$. Para PP-*graft*-(HEMA/OEGMA₃₀₀) los valores son similares al PP sin injertar (**Tabla 7.9**).

El estudio también se llevó a cabo para PP-*graft*-(HEMA/OEGMA₃₀₀) y LDPE-*graft*-(HEMA/OEGMA₁₁₀₀), encontrando nuevamente valores similares al PP y al LDPE en cada caso (**Tabla 7.9**).

7.6.4 Adhesión de bacterias

El ensayo se llevó a cabo con *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* FV9180. Después de sembrarlas y resuspenderlas en disolución salina estéril, la concentración se cuantificó de acuerdo a la escala MacFarland No. 4 obteniéndose para *E. coli* 3.6×10^9 y para *S. aureus* 1.2×10^9 .

Los resultados mostraron que alrededor de un 10 % de *E. coli* se adhirieron, mientras que en el caso *S. aureus* el número de UFC recuperadas después de sonicar las muestras, fue del mismo orden de magnitud que la concentración inicial, lo que indica una adhesión próxima al 100 % (**Tabla 7.10**).

Tabla 7.9 Adsorción de proteínas para los copolímeros de injerto PP-*graft*-(HEMA/OEGMA₁₁₀₀) y PE-*graft*-(HEMA/OEGMA₁₁₀₀), PP-*graft*-(HEMA/OEGMA₃₀₀) y PP-*graft*-(HEMA/DEGMA). Los valores mostrados corresponden al promedio \pm una desviación típica (n= 3).

Muestra	Injerto (%)	BSA	Fibrinógeno
		$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$
Control+	-	178.5 \pm 27.6	550.5 \pm 132.9
PP	-	14.5 \pm 2.3	11.0 \pm 3.4
PE	-	18.6 \pm 7.9	8.2 \pm 2.1
PP- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA ₁₁₀₀)	6	9.2 \pm 4.3	15.8 \pm 1.4
PP- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA ₁₁₀₀)	14	17.8 \pm 6.0	14.7 \pm 3.0
PP- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA ₁₁₀₀)	43	23.2 \pm 4.0	-
PP- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA ₁₁₀₀)	54	15.0 \pm 5.4	-
PP- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA ₁₁₀₀)	64	25.5 \pm 10.4	43.7 \pm 1.0
LDPE- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA ₁₁₀₀)	6	10.1 \pm 1.1	8.5 \pm 2.7
LDPE- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA ₁₁₀₀)	14	19.7 \pm 1.7	-
LDPE- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA ₁₁₀₀)	23	9.2 \pm 2.3	9.8 \pm 2.8
LDPE- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA ₁₁₀₀)	69	9.5 \pm 3.6	7.7 \pm 4.0
PP- <i>g</i> -(HEMA/DEGMA)	32	9.8 \pm 4.7	22.7 \pm 3.3
PP- <i>g</i> -(HEMA/DEGMA)	56	10.7 \pm 1.4	26.2 \pm 5.3
PP- <i>g</i> -(HEMA/DEGMA)	87	11.3 \pm 1.4	22.1 \pm 4.1
PP- <i>g</i> -(HEMA/DEGMA)	130	12.2 \pm 5.5	19.5 \pm 4.0
PP- <i>g</i> -(HEMA/DEGMA)	181	30.4 \pm 8.9	-
PP- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA ₃₀₀)	66	12.5 \pm 4.8	15.4 \pm 6.8
PP- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA ₃₀₀)	75	21.5 \pm 5.2	-
PP- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA ₃₀₀)	104	18.7 \pm 6.0	-
PP- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA ₃₀₀)	109	14.3 \pm 3.4	15.5 \pm 5.1

Tabla 7.10. Número de UFC recuperadas después del ensayo de adhesión. Las cantidades iniciales de bacterias fueron 7.2×10^9 para *E. coli* y 2.4×10^9 para *S. aureus*.

Muestra	Injerto (%)	<i>E. coli</i> $\times 10^8$	<i>S. aureus</i> $\times 10^9$
PP-g-(DEGMA/OEGMA ₃₀₀)	30	6	1.5
PE-g-(DEGMA/OEGMA ₃₀₀)	16	2	4.0
PP-g-(HEMA/OEGMA ₁₁₀₀)	33	9	3.3
PE-g-(HEMA/OEGMA ₁₁₀₀)	23	1	1.6
PP-g-(HEMA/DEGMA)	130	1	1.7
PP-g-(HEMA/OEGMA ₃₀₀)	66	15	1.6
PE	-	2	13.0
PP	-	9	0.4

7.6.5 Citocompatibilidad

Los métodos utilizados para evaluar la citotoxicidad son varios pero pueden ser agrupados en aquellos que miden el daño celular mediante la morfología, medir el daño celular, crecimiento celular o medir aspectos específicos del metabolismo.

Los estudios de citocompatibilidad *in vitro* se llevaron a cabo con las líneas celulares BALB /3T3 (CCL 163, ATCC, USA) de fibroblastos y RAW 264.7 (ATCC, Manasas, VA) de macrófagos de ratón, siguiendo el protocolo ISO-10993-5. (Ensayo para materiales con contacto directo)

7.6.5.1 Viabilidad de fibroblastos mediante el ensayo del MTT

La viabilidad celular se evaluó usando el ensayo colorimétrico en donde el bromuro de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-yl]-2,5- difeniltetrazolio (MTT) (amarillo en disolución acuosa) es reducido a azul formazan por la enzima succinato-deshidrogenasa únicamente por mitocondrias viables. Kit de MTT (Roche, Switzerland) [90, 91]. El número de células viables se correlaciona con la intensidad de color determinado fotométricamente. La citocompatibilidad se determinó usando la siguiente ecuación.

$$\text{Citocompatibilidad (\%)} = \frac{\text{Abs muestra} - \text{Abs blanco}}{\text{Abs Control} - \text{Abs blanco}} \times 100 \quad (1)$$

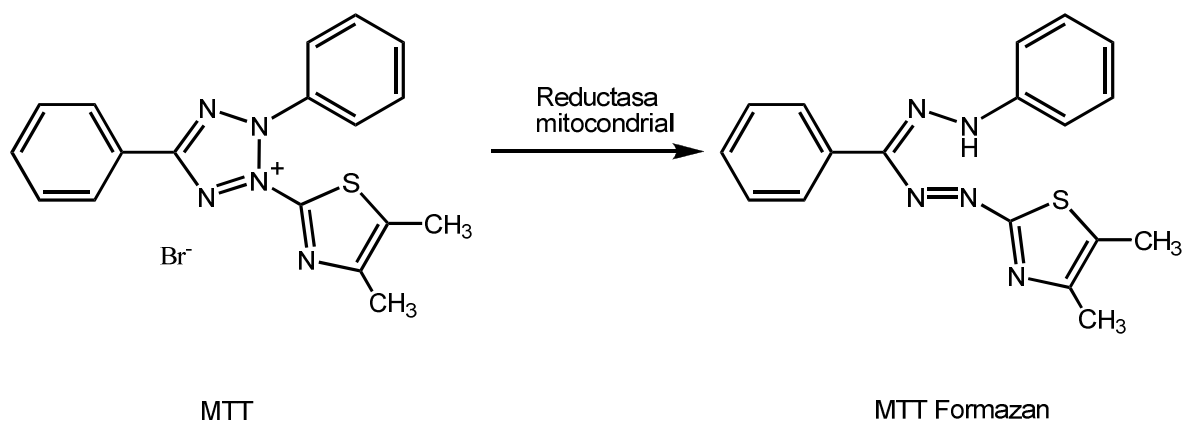


Figura 7.38. Reducción del bromuro de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5- difeniltetrazolio (MTT) a 1-(4,5-dimetil-2-il)-3,5-difenil formazan. (Azul de tiazolilo, formazano).

Como se observa en la **Tabla 7.11** a las 48 horas la muestra que más redujo la viabilidad celular fue *PP-graft*-(HEMA/OEGMA₃₀₀) con un 83.9 ± 31.0 , en este caso el error fue muy alto, por lo que tomando el límite inferior, se puede decir que esta muestra presenta una elevada citotoxicidad contra esta línea celular, aunque el promedio es mayor al 70 % de viabilidad lo cual es el valor por debajo del cual se considera que una muestra presenta un efecto tóxico.

En general las muestras no presentaron algún efecto tóxico hacia los fibroblastos dentro de las 48 h de contacto con las células.

Tabla 7.11 Citocompatibilidad con la línea celular de fibroblastos BALB/3T3 (CCL 163, ATCC, USA). Los valores mostrados corresponden al promedio \pm una desviación típica (n= 3).

Muestra	Injerto (%)	24 h	48h
PE	-	110.0 ± 9.4	102.8 ± 7.1
PP	-	107.8 ± 6.0	99.6 ± 1.6
PP- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA ₁₁₀₀)	6.2	104.6 ± 12.9	99.0 ± 4.7
PP- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA ₁₁₀₀)	43	113.1 ± 8.1	101.7 ± 13.7
PE- <i>g</i> -(DEGMA/OEGMA ₃₀₀)	12	121.7 ± 5.6	109.2 ± 4.8
PE- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA ₁₁₀₀)	14	112.9 ± 13.1	98.6 ± 3.3
PP- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA ₃₀₀)	112	90.6 ± 9.3	83.9 ± 31.0
PP- <i>g</i> -(HEMA/DEGMA)	130	97.7 ± 16.6	97.8 ± 11.9
PP- <i>g</i> -(DEGMA/OEGMA ₃₀₀)	24	104.6 ± 9.4	101.7 ± 13.7

7.6.5.2 Viabilidad de macrófagos

7.6.5.2.1 Ensayo de LDH

En el caso de los macrófagos, se evaluó la citocompatibilidad mediante el ensayo de LDH y la producción de citocinas TNF- α y IL-1 β , esto mediante el análisis de inmunoabsorción enzimática (ELISA). La citotoxicidad viene dada por la siguiente ecuación:

$$\text{Citotoxicidad (\%)} = \frac{Abs_{\text{exp}} - Abs_{\text{control negativo}}}{Abs_{\text{control positivo}} - Abs_{\text{control negativo}}} \times 100$$

El ensayo calorimétrico para la cuantificación de muerte y lisis celular se basa en la medida de la actividad de LDH en el sobrenadante; esta enzima es liberada del citosol de las células dañadas.

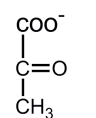
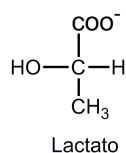
La actividad de LDH es determinada en un ensayo enzimático. En un primer paso NAD⁺ es reducido a NADH/H⁺ debido a la conversión de lactato a piruvato, la reacción es catalizada por LDH. En un segundo paso la enzima diaforasa transfiere H/H⁺ proveniente de NADH/H⁺ a la sal de tetrazolio (cloruro de [2-[4-iodofenil]-3-[4-nitrofenil]-5-feniltetrazolio]) (INT) el cual es reducido a una sal de formazan (**Figura 7.39**).

Un incremento en la muerte o daño a la membrana plasmática de las células, resulta en un incremento en la actividad de LDH en el sobrenadante y éste se correlaciona con un la cantidad de formazan formado durante un periodo de tiempo establecido. Por lo tanto, una mayor absorbancia significa una mayor cantidad de células lisadas; formazan absorbe fuertemente a 500 nm mientras que INT prácticamente no absorbe.

Los resultados en cuanto a citocompatibilidad con la línea celular de macrófagos se muestran en la **Tabla 7.12**. Como se puede observar a las 24 horas, PP y LDPE presentan una inhibición del crecimiento celular cercana al 30 %. *PP-graft-(DEGMA/OEGMA₃₀₀)* con 18 % de injerto y *LDPE-graft-(DEGMA/OEGMA₃₀₀)* con 19 % de injerto mostraron los valores más bajos incluso a las 72 horas.

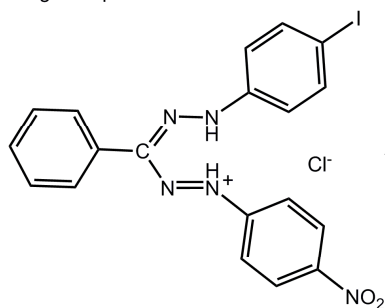
De estos resultados se puede concluir que no existe una relación entre la toxicidad y el porcentaje de injerto, sin embargo, durante las primeras 24 horas los copolímeros no son altamente tóxicos contra los macrófagos lo cual indica de podrían no afectar al sistema inmune en periodos de tiempo cortos.

Primer paso

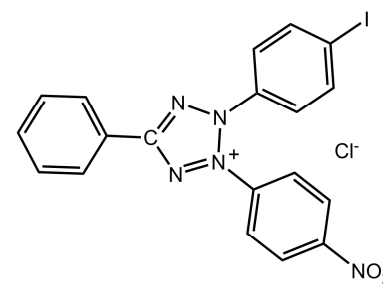


Piruvato

Segundo paso



Sal de formazan (rojo)



INT (amarillo pálido)

Figura 7.39. Determinación de la actividad catalítica de LDH.

Tabla 7.12. Inhibición del crecimiento celular de macrófagos RAW 264.7 (ATCC, Manasas, VA). Los valores mostrados corresponden a porcentajes promedios \pm una desviación típica (n = 2).

Muestra	Injerto (%)	5h	24h	72h
PE	-	1.1 \pm 2.3	21.4 \pm 6.4	49.6 \pm 0.3
PP	-	-8.3 \pm 1.7	26.2 \pm 6.1	26.5 \pm 2.3
PP- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA1100)	43	4.3 \pm 3.8	21.4 \pm 5.7	43.4 \pm 9.9
LDPE- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA1100)	14	-10.4 \pm 1.1	33.6 \pm 6.0	37.4 \pm 0.8
PP- <i>g</i> -(DEGMA/OEGMA300)	18	3.1 \pm 3.9	20.0 \pm 3.0	10.5 \pm 4.1
PP- <i>g</i> -(DEGMA/OEGMA300)	24	11.8 \pm 3.6	44.3 \pm 7.5	63.2 \pm 13.1
LDPE- <i>g</i> -(DEGMA/OEGMA300)	12	-7.3 \pm 1.6	37.2 \pm 4.2	67.4 \pm 3.5
LDPE- <i>g</i> -(DEGMA/OEGMA300)	19	-6.4 \pm 3.0	26.3 \pm 2.0	8.2 \pm 0.7

7.6.5.2.2 Cuantificación de citocinas TNF- α e IL-1 β

El principio del ensayo se basa en la adsorción de anticuerpos sobre micropocillos los cuales forman un recubrimiento (**Figura 7.40a**). La citocina presente se unen al anticuerpo (**Figura 7.40b**), después el conjugado anticuerpo-biotina se une a la citocina atrapada por el primer anticuerpo (**Figura 7.40c**), posteriormente la estreptavidina-HRP (horseradish peroxidase) es unida a la biotina (**Figura 7.40d**).

Después de la incubación y el lavado posterior, se remueven el conjugado anticuerpo-biotina y la estreptavidina-HRP no unida, enseguida se adiciona un sustrato reactivo a HRP (**Figura 7.40e**) formando así un producto colorido el cual es proporcional a la cantidad de citocina presente en la muestra (**Figura 7.40f**). La reacción se detiene al adicionar ácido y la concentración se cuantifica mediante una curva de calibración midiendo la absorbancia a 450 nm.

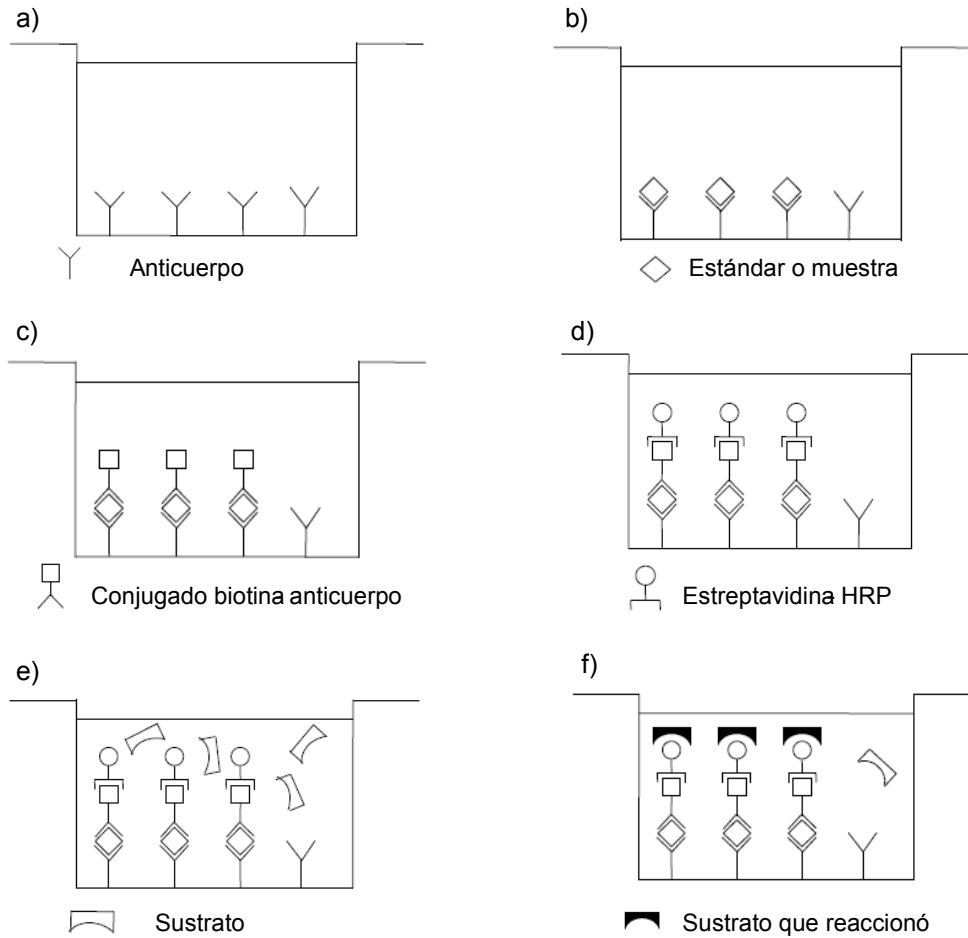


Figura 7.40. Procedimiento simplificado para la determinación de las citocinas liberadas mediante el ensayo de inmunoabsorción enzimática (ELISA)

Los resultados mostrados en las Tablas 6 para la IL-1 β , presentan ciertas incongruencias lo cual hace imposible su análisis; por ejemplo, a las 24 h de incubación el control positivo tiene un valor promedio menor al obtenido en el control negativo, además la desviación estándar es muy grande. Esta disparidad en los resultados se debe a que la concentración de células fue muy baja, dando valores de absorbancia bajos incluso en el control positivo.

Resultados y discusión

Para la TNF α , a las 24 h de incubación, solo LDPE-*graft*-(DEGMA/OEGMA300) con 19 % de injerto, presentó valores de citocina menores en comparación con el polímero sin injertar. Cuatro de las seis muestras presentaron valores superiores al control positivo indicando contaminación. A las 72 horas los resultados no son más satisfactorios.

Tabla 7.13 Liberación de citocinas en una línea celular de macrófagos RAW 264.7 (ATCC, Manassas, VA). Los valores mostrados corresponden al promedio \pm una desviación típica (n= 2).

Muestra	Injerto	IL-1 β (pg/mL)		TNF α (pg/mL)	
		24h	72h	24h	72h
PE	-	0.65 \pm 0.57	1.10 \pm 0.06	903.8 \pm 168.1	581.6 \pm 51.9
PP	-	0.33 \pm 0.51	3.14 \pm 0.39	762.7 \pm 22.0	1060.3 \pm 189.2
PP- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA1100)	43	-0.57 \pm 1.02	1.08 \pm 0.22	4239.3 \pm 513.8	367.8 \pm 54.8
PE- <i>g</i> -(HEMA/OEGMA1100)	14	1.95 \pm 0.89	1.71 \pm 0.11	1541.6 \pm 168.1	1044.0 \pm 123.7
PP- <i>g</i> -(DEGMA/OEGMA300)	18	2.72 \pm 0.83	-0.07 \pm 0.95	889.3 \pm 110.0	4812.8 \pm 578.1
PP- <i>g</i> -(DEGMA/OEGMA300)	24	1.59 \pm 0.13	1.28 \pm 1.57	1701.6 \pm 740.1	1777.8 \pm 189.2
LDPE- <i>g</i> -(DEGMA/OEGMA300)	12	1.68 \pm 2.17	-0.39 \pm 0.39	2081.6 \pm 463.6	1957.8 \pm 832.6
LDPE- <i>g</i> -(DEGMA/OEGMA300)	19	-0.34 \pm 0.19	0.72 \pm 0.51	288.2 \pm 48.7	901.5 \pm 24.8
Control negativo	-	0.92 \pm 0.39	0.20 \pm 0.83	-188.5 \pm 56.6	-191.8 \pm 4.7
Control positivo	-	0.69 \pm 1.15	1.23 \pm 1.40	1272.7 \pm 403.8	1849.3 \pm 355.1

8 CONCLUSIONES

- Se lograron obtener los copolímeros de injerto binario

PP-*g*-(HEMA/OEGMA1100), PE-*g*-(HEMA/OEGMA1100),
PP-*g*-(HEMA/OEGMA300), PP-*g*-(HEMA/DEGMA),
PP-*g*-(DEGMA/OEGMA475), PP-*g*-(DEGMA/OEGMA300) y
PE-*g*-(DEGMA/OEGMA300)

- Las pruebas de hinchamiento y ángulo de contacto mostraron que todos los materiales fueron más hidrofílicos en comparación con los polímeros sin modificar.
- La caracterizaron mediante FTIR-ATR, DSC, TGA, ángulo de contacto, hinchamiento, SEM y EDS permitió confirmar el injerto binario.
- Los copolímeros de injerto PP-*g*-(DEGMA/OEGMA300) y PE-*g*-(DEGMA/OEGMA300) presentaron una LCST en un intervalo entre 34 y 48 °C, lo cual indica poco control en la composición del injerto.
- El injerto de HEMA/OEGMA1100 se dio principalmente en la superficie, mientras que DEGMA/OEGMA300 fue en masa, esto se debe principalmente al tamaño del monómero.
- En los ensayos de hemólisis los valores fueron aceptables, menores al 5 %. Por otro lado, la formación de trombos fue prácticamente la misma independientemente de los monómeros y el porcentaje de injerto, con excepción de las muestras de PP-*g*-(DEGMA/OEGMA300) con porcentajes de injerto de 20, 25 y 26, las cuales disminuyeron alrededor de un 10 % la formación de trombos en comparación con PP.

- Los copolímeros adsorbieron cantidades similares de proteínas BSA y fibrinógeno en que los materiales no modificados, aunque en promedio PP-*g*-(DEGMA/OEGMA300) con injertos de 18, 20 y 24 % disminuyeron ligeramente la adsorción. Estos resultados indican que no solo la hidrofiliidad es suficiente para disminuir dicha adsorción sino que la morfología juega un papel importante debido al área superficial.
- Los compuestos mostraron citocompatibilidad hacia los fibroblastos incluso a 72 horas.
- Las muestras no inhiben considerablemente el crecimiento de macrófagos a las 24 h. Para las muestras PP-*g*-(DEGMA/OEGMA300) y LDPE-*g*-(DEGMA/OEGMA300) con injertos de 18 y 19 %, incluso a las 72 h; sin embargo causan cierta irritación lo cual se comprobó por la producción de citocinas.
- En general se puede decir que el injerto de alrededor de 20 % de DEGMA/OEGMA300 presenta las mejor biocompatibilidad además de ser termosensibles.

9 PARTE EXPERIMENTAL

9.1 Materiales usados para llevar a cabo los injertos.

Películas de polipropileno isotáctico (PP) y polietileno de baja densidad (LDPE) ambos de 1 mm de espesor, las cuales son productos comerciales de Goodfellow (Reino Unido). Las películas fueron cortadas para obtener muestras de 1 x 5 cm, se lavaron en metanol durante 2 horas y secadas al vacío hasta obtener la masa constante. El metacrilato de dietilenglicol metil éter (DEGMA), metacrilatos de oligoetilenglicol metil éter (OEGMA) de diferente masa molar y metacrilato de 2-hidroxietilo (HEMA) son productos comerciales de Aldrich Chemical Co. (E. U. A.). HEMA fue destilado a presión reducida previo a su uso, mientras que OEGMA1100, OEGMA475 y OEGMA300, fueron utilizados como se recibieron con excepción de los injertos de los copolímeros termosensibles en donde los inhibidores de la polimerización de DEGMA y OEGMA300 fueron removidos pasando los monómeros sobre alúmina neutra. Tolueno y metanol (Baker) se usaron como se recibieron.

9.2 Materiales usados para las pruebas biológicas

Los siguientes reactivos y disolventes fueron utilizados como se recibieron: tolueno, etanol, metanol, fosfato de sodio monobásico, cloruro de calcio, formaldehído al 37-40 % y ácido acético glacial son productos de Panreac (Barcelona, España); albúmina sérica bovina, fibrinógeno

de suero humano (> 80 % de proteína), naphtol blue black (1 %) y EDTA son productos de Aldrich Chemical Co. (E. U. A.), hidróxido de sodio es producto de VWR International.

9.3 Injerto mediante radiación gamma

Las muestras de PP o LDPE, se colocaron en ampollas de vidrio de borosilicato Pyrex, las cuales fueron expuestas a radiación gamma proveniente de una fuente de ^{60}Co (Gammabeam 651 PT, MDS Nordion), en presencia de aire a temperatura ambiente; la intensidad de la radiación varió entre 7 y 12 kGy/h, las dosis de preirradiación fueron entre 10 y 100 kGy. A los polímeros irradiados se les adicionó una disolución que contenía los monómeros a injertar, posteriormente el oxígeno fue eliminado mediante burbujeo de argón por 20 minutos y las ampollas fueron selladas, posteriormente estas se calentaron en baño de agua maría a diferentes temperaturas y por diferentes periodos de tiempo, después de este tiempo las ampollas se retiraron del baño y se abrieron, las películas se retiraron y se extrajeron con tolueno y/o agua por 4 y 24 horas, por último, se llevaros a sequedad hasta alcanzar una masa constante. El porcentaje de injerto fue calculado con la siguiente fórmula:

$$\text{Injerto \%} = \frac{m_f - m_o}{m_o} \times 100$$

en donde m_f es la masa del copolímero de injerto y m_o es la masa inicial del polímero. Cada ensayo se llevó a cabo por duplicado.

9.4 Caracterización

Los espectros de infrarrojo (FTIR-ATR) se corrieron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer Spectrum 100, en una ventana de 650 a 4000 cm^{-1} , 16 barridos (Perkin Elmer Cetus Instruments, Norwalk, CT). El análisis termogravimétrico (TGA) se llevó a cabo en atmósfera de nitrógeno entre 25 y 600 °C a una velocidad de calentamiento de 10 °C/min utilizando un TGA Q50 (TA Instruments, New Castle, DE). La calorimetría diferencial de barrido (DSC) se determinó utilizando en equipo DSC 2010 calorimeter (TA Instruments, USA) en atmósfera de nitrógeno; para medir los puntos de fusión el intervalo de temperatura fue entre 25 y 250 °C a una velocidad de calentamiento de 10 °C/min utilizando muestras secas. Para medir la LCST las muestras de hincharon previamente en agua y se corrieron de temperatura ambiente a 70 °C a una velocidad de calentamiento de 1 °C/min. La espectroscopia semicuantitativa de dispersión de energía de rayos X (EDX) fue llevada a cabo para secciones transversales de copolímeros usando un microscopio electrónico SEM EVO LS15. Para llevar a cabo el corte las muestras se congelaron con nitrógeno líquido y se quebraron aplicando una ligera presión. Las imágenes de la superficie, las cuales fueron obtenidas utilizando un microscopio electrónico FESEM ultra plus (1.5 KeV) sin sombreado para los copolímeros de injerto (DEGMA/OEGMA) y sombreadas con oro para los copolímeros (HEMA/OEGMA); las imágenes se obtuvieron con un detector de electrones retrodispersados.

9.5 Interacción con agua

El equilibrio de absorción de agua fue monitoreado por introducir las muestras y los polímeros sin modificar en agua a 25 °C, el exceso de agua sobre los copolímeros fue retirado con toques suaves de papel absorbente. El porcentaje de hinchamiento fue calculado mediante la siguiente ecuación:

$$\text{hinchamiento (\%)} = \frac{m_h - m_o}{m_o} \times 100$$

donde m_h y m_o son las masas del injerto hinchado y m_o es la masa del injerto.

Para el estudio de hinchamiento contra temperatura se siguió el mismo procedimiento controlando la temperatura entre 5 y 70 °C con intervalos de 5 °C. Para medir el hinchamiento en cada punto las muestras se dejaron un mínimo de 8 horas a una determinada temperatura. Los ensayos se llevaron a cabo por duplicado.

El ángulo de contacto se midió utilizando un equipo drop shape analyzer Kruss DSA 100 apparatus (Matthews NC, USA). Gotas de agua bidestilada fueron depositadas sobre la superficie de los copolímeros secos; la temperatura de la cámara de medición fue controlada entre 15 y 50 °C.

9.6 Biocompatibilidad

Se llevaron a cabo estudios de hemólisis y formación de trombos, de acuerdo a lo descrito por Mai y Nose [87]. Muestras del copolímero de injerto se hincharon previamente en disolución salina isotónica por un mínimo de 72 h.

9.6.1 Hemólisis

5 mL de buffer de fosfatos pH = 7.4, una muestra del copolímero de injerto de 1x1 cm y 250 mL de sangre humana procedente del banco de sangre de la USC fueron colocados en tubos de plástico. Los tubos se incubaron 1 h a 37 °C y después se centrifugaron a 700 rpm. La cantidad de hemoglobina liberada debido a la hemólisis se cuantificó en un espectrofotómetro a 542 nm. Los valores reportados corresponden al porcentaje de hemólisis con respecto al control positivo (agua) y como control negativo se utilizó buffer de fosfatos pH = 7.4. Cada ensayo se llevo a cabo por triplicado.

9.6.2 Formación de trombos

Para el estudio de formación de trombos, se colocaron sobre las muestras 50 µL de sangre anticoagulada con 10 % en volumen de una disolución de citrato de sodio 0.1 M. Para iniciar la reacción se adicionaron 5 µL de cloruro de calcio 0.1 M y se incubó por 30 minutos. Después de ese tiempo se adicionaron 500 µL de agua miliQ para detener la reacción y se esperó 5 minutos. El

trombo formado se removió con una espátula y se colocó en un tubo epperdorf con 2 mL de formaldehído al 37 %. Transcurridos 5 minutos, el trombo fijado se secó con papel absorbente y se pesó en una balanza analítica digital. Los valores reportados corresponden al porcentaje en masa de trombo con respecto al control positivo (vidrio). Cada ensayo se llevó a cabo por triplicado.

9.6.3. Adsorción de proteínas

Para el estudio de adsorción de proteínas plasmáticas se utilizaron albúmina sérica bovina (BSA, por sus siglas en inglés) (67 kDa) y fibrinógeno bovino (340 kDa). Para la determinación de la cantidad adsorbida se aplicó el ensayo de tinción Amido Black, que consiste en la formación de un complejo entre los grupos amino libres en las proteínas y el naftol. Este método proporciona valores relativos, aunque es posible hacer una cuantificación mediante una curva de calibración midiendo la absorbancia mediante UV/VIS, empleando derivados de celulosa, los cuales se asumen capaces de absorber el 100 % de proteína. En nuestro caso se utilizó una membrana millipore de nitrocelulosa. La curva de calibración se linealizó representando los valores inversos de la concentración vs absorbancia.

Para llevar a cabo el estudio, se preparó una disolución de lavado constituida por metanol:agua: ácido acético glacial en relación 90:8:2 % V/V, una disolución de tinción con metanol:agua:ácido acético glacial en relación 45:45:10 % V/V y 100 mg de naphthol blue black 1 % (Sigma-Aldrich, USA); y una disolución eluyente compuesta de 50 % de etanol y 50 % de NaOH (50 mM) con 0.1 mM de EDTA.

Muestras de copolímeros de injerto de 5x5 mm, previamente hidratadas, fueron colocadas en tubos Eppendorf Protein LoBind de 2 mL. A los tubos se les adicionaron 200 μ L de disolución de proteína (BSA 30 mg/mL o fibrinógeno 3 mg/mL) y se incubaron a 37 °C durante 1 h. Después de ese tiempo, la disolución se desechó y se enjuagaron las muestras con agua milliQ 2 veces durante 3 minutos. A continuación, se adicionaron 150 μ L de disolución de tinción y se dejó por 3 minutos. Seguidamente, se lavó 2 veces durante 3 minutos con agua, 2 veces durante 3 minutos con disolución de lavado y una vez más con agua por cinco minutos. El siguiente paso consistió en adicionar 150 μ L de disolución eluyente y agitar 30 minutos a 300 rpm en una placa agitadora. Finalmente se traspasaron 100 μ L de cada una de estas disoluciones a una placa de 96 pocillos y se midió la absorbancia a 595 nm en un lector automático de placas (Fluostar Optima, BMG Labtech, Alemania). A partir de las absorbancias se calcularon las cantidades de proteína adsorbida utilizando la curva de calibración y por último se determinó la cantidad de proteína adsorbida por unidad de área. Para cada ensayo se hicieron tres replicas.

9.6.4 Adhesión de bacterias

El ensayo se llevó a cabo con *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* FV9180. Después de sembrarlas y resuspenderlas en disolución salina estéril, la concentración se cuantificó de acuerdo a la escala MacFarland No. 4 obteniéndose para *E. coli* 3.6×10^9 y para *S. aureus* 1.2×10^9 .

Los copolímeros de injerto de 1x1 cm se lavaron con etanol, se hidrataron en buffer de fosfatos pH = 7.4 y se esterilizaron en un autoclave a 121 °C por 30 minutos antes del estudio. Las muestras se colocaron en tubos con 2 mL de suspensión de bacterias y se incubaron por 3 h a 37 °C, con agitación suave y constante. A continuación, los copolímeros se retiraron cuidadosamente del medio, se enjuagaron tres veces con disolución salina estéril, y se les adicionaron 2 mL de disolución salina estéril y se sometieron a sonicación en un baño de ultrasonidos Branson 250 durante un minuto. Las suspensiones obtenidas se diluyeron hasta una concentración teórica de unidades formadoras de colonias (UFC) de 10^2 , se sembraron en placas de agar y se incubaron durante 24 h a 37 °C.

9.6.5 Citocompatibilidad

Los estudios de citocompatibilidad *in vitro* se llevaron a cabo con las líneas celulares BALB /3T3 (CCL 163, ATCC, USA) de fibroblastos y RAW 264.7 (ATCC, Manassas, VA) de macrófagos de ratón, siguiendo el protocolo ISO-10993-5.

En el caso de los fibroblastos, se depositaron 100 μ l de suspensión de células (2×10^5 /mL) en medio de cultivo DMEM – F12 Ham (Dulbecco's modified Eagle's medium–nutrient mixture F12 Ham, Sigma-Aldrich, USA), suplementado con 10 % de suero fetal bovino (FBS, Lonza, Bélgica) y 1 % de antibiótico (penicilina 10,000 unidades/ml y estreptomina 10,000 μ g/mL, Thermo, EE.UU.) en los pocillos de una placa de 96, y se incubaron durante 24 horas en una atmósfera con 5 % de CO₂ y una humedad relativa del 90 %. A continuación, en cada pocillo se colocó una muestra de 2.5x2.5 mm de copolímero (previamente hidratados con tampón fosfato pH 7.4 durante 3 días y

autoclavados a 121 °C durante 20 min) y se añadieron 100 µl de medio. La placa se incubó a 37 °C durante 24 y 48 horas. Como control negativo se utilizaron células en medio de cultivo no expuestas a las muestras y como blanco el medio de cultivo sin células. El ensayo se llevó a cabo por triplicado. La viabilidad celular se evaluó usando el ensayo colorimétrico en donde el bromuro de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-yl]-2,5- difeniltetrazolio (MTT) es reducido a azul formazan únicamente por las mitocondrias viables empleando un Kit de MTT (Roche, Switzerland). Después de la incubación, se retiraron los polímeros de los pocillos, y se añadieron 20 µl del reactivo 1 del kit de MTT (MTT 5 mg/mL stock en tampón fosfato salino). Después de 4h de incubación (37 °C, 5 % CO₂/95 % aire), se añadieron 200 µl del reactivo 2 (MTT disolvente: 10 % SDS in 0.01 M HCl) y se dejó incubar la placa en las mismas condiciones durante 12 h. A continuación, las muestras fueron congeladas a -20 °C hasta la lectura de la absorbancia a 550 nm en un lector de placas ELISA (BIORAD Modelo 680 Microplate Reader, USA). La citocompatibilidad (%) se calculó aplicando la siguiente ecuación.

$$\text{Citocompatibilidad (\%)} = \frac{\text{Abs muestra} - \text{Abs blanco}}{\text{Abs Control} - \text{Abs blanco}} \times 100$$

En el caso de los macrófagos, se evaluó la citocompatibilidad mediante el ensayo de LDH y la producción de citocinas. Para ello, se sembraron células (1×10^5 en 2 mL) en placas de 24 pocillos y se incubaron durante 24 h. A continuación, a cada pocillo se le incorporó una muestra de copolímero de 1x1 cm previamente hidratado en buffer de fosfatos pH = 7.4 durante 3 días y autoclavados (121 °C, 20 min). Se tomaron alícuotas de 1 mL de medio a las 5, 24 y 72 h, que se congelaron inmediatamente a -80 °C; cada alícuota fue remplazada con medio fresco. El ensayo se

llevó a cabo por duplicado. En las alícuotas se determinó la concentración de las citocinas TNF- α y IL-1 β mediante el análisis de inmunoabsorción enzimática (ELISA) utilizando los kits adecuados (Bender MedSystems GmbH, Austria) y siguiendo las instrucciones del fabricante. Las placas se leyeron a 450 nm en un espectrofotómetro. Como controles negativo y positivo se utilizaron medios de cultivo sin copolímero y cultivos con una concentración de lipopolisacárido de 10 ng/mL, respectivamente. También se evaluó la supervivencia celular con un kit de detección de citotoxicidad (LDH, Roche, España) a las 5 h, 24 h y 72 h con 100 μ l del sobrenadante, siguiendo las instrucciones del protocolo del kit. La citotoxicidad viene dada por la siguiente ecuación:

$$Citotoxicidad(\%) = \frac{Abs_{exp} - Abs_{control\ negativo}}{Abs_{control\ positivo} - Abs_{control\ negativo}} \times 100$$

5 REFERENCIAS

1. Jagur-Grodzinski, J. **Polymers for tissue engineering, medical devices, and regenerative medicine. Concise general review of recent studies**, *Polymer. Adv. Technol.* 17, **2006**, 395-418.
2. Bhattacharya A.; Misra, B. N. **Grafting: a versatile means to modify polymers. Techiques, factors and applications**. *Prog. Polym. Sci.* 29, **2004**, 768-814.
3. Nho, Y. C.; Kwon, O. H. **Blood compatibility of AAc, HEMA, and PEGMA-grafted cellulose film**. *Radiat. Phys. Chem.* 66, **2003**, 299-307.
4. Heras, A. C.; Pennadam, S.; Alexander, C. **Stimuli responsive polymers for biomedical applications**, *Chem. Soc. Rev.* 34, **2005**, 276-285.
5. Kumar, A.; Srivastava, A.; Galeav, I. Y., Mattiasson, B. **Smart polymers: Physical forms and bioengineering applications**. *Prog. Polym. Sci.* 32, **2007**, 1205-1237.
6. Galaev, I. Y.; Mattiason, B. **"Smart" polymers and what they could do in biotechnology and medicine**, *Trends. Biotechnol.* 17, **1999**, 335-340.
7. Jenkins D. W.; Hudson S. M. **Review of Vinyl Graft Copolymerization Featuring Recent Advances toward Controlled Radical-Based Reactions and Illustrated with Chitin/Chitosan Trunk Polymers**, *Chem. Rev.* 101, **2001**, 3245-3273.
8. Minko S. **Grafting on solid surfaces: "Grafting to" and "grafting from" methods, en Polymers surfaces and interfaces**. Capitulo 11, Ed. M. Stamm, Spring Berling Heidelberg, **2008**, PP 215-234.
9. Chapiro A. **Radiation Chemistry of Polymers Systems**, Chapter 12. Interscience Publishers, **1962**, New York.
10. Nurkeeva Z. S.; Aal A. S. A.; Kupchishin A. I.; Khutoryanskiy V. V.; Mun G. A.; Beksyrgaeva A. G. **Radiation grafting from binary monomers mixtures: Vinyl ether of monoethanolamide and N-Vinylpyrrolidone**, *Radiat. Phys. Chem.* 6, **2003**, 793-798.
11. Ramírez-Fuentes YS, Bucio E, Burillo G. **Radiation-induced grafting of N-isopropylacrylamide and acrylic acid onto polypropylene films by two step method**, *Nucl. Instrum. Meth. B*, 265, **2007**, 183-186.
12. Alvarez-Lorenzo C.; Bucio E.; Burillo G.; Concheiro A. **Medical devices modified at the surface by γ -ray grafting for drug loading and delivery**, *Expert Opin. Drug Del.* 7, **2010**, 173-185.
13. Contreras-Garcia A.; Burillo G.; Aliev R.; Bucio E. **Radiation grafting of N,N'-dimethylacrylamide and N-isopropylacrylamide onto polypropylene films by two step method**. *Radiat. Phys. Chem.* **2008**, 77, 936-940.
14. Vahdat A.; Bahramia H.; Ansaria N.; Ziaie F. **Radiation grafting of styrene onto polypropylene fibres by a 10MeV electron beam**, *Radiat. Phys. Chem.* 76, **2007**, 787-793.
15. Hernández-Martínez A.R.; Bucio E. **Radiation-induced grafting of stimuli-responsive binary monomers: PDMAEMA/PEGMEMA onto PP films**, *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 283, **2010**, 559-563.

16. Bucio E.; Contreras-García A.; Meléndez-Ortiz H. I.; Muñoz-Muñoz F. D.; Alvarez-Lorenzo C.; Concheiro A. In: **Smart Polymeric Materials for Biomedical Applications**. NOVA Science Publishers, Inc. New York, USA **2010**, pp 277-306.
17. Burillo G.; Bucio E. **Responsive copolymer films obtained by ionizing radiation Gamma radiation effects on polymeric materials and its applications**. Research Signpost, Kerala India, 2009, pp 45-62.
18. Stannet V. T. **Radiation grafting—state-of-the-art**, *Radiat. Phys. Chem.* 35, **1990**, 82-87.
19. Charlesby A, **Atomic Radiation and Polymers**. Pergamon Press, Oxford 1960.
20. García Sosa Irma Ma. Engracia, **Dosimetría química de una fuente de irradiación de alta actividad de cobalto-60**, Tesis, Universidad Veracruzana, México **1974**.
21. Navarrete M.; Cabrera L. **Introducción al estudio de los radioisótopos**, Ediciones del sector eléctrico CFE, 1979.
22. Postolache C.; Matei L. **Evaluation of fundamental processes in macromolecular structures radiolysis using quantum-chemical methods**, *Radiat. Phys. Chem.* 76, 2007, 1267-1271.
23. Phillips D. C. **Effects of radiation on polymers**, *Mater. Sci. Technol.* 4, **1988**, 85-91.
24. Genshuan W.; Jinliang Q.; Xuan H.; Fengru Z.; Jilan W. **Research on radiation stability of polypropylene**, *Radiat. Phys. Chem.* 52, **1998**, 237-241.
25. Maier C.; Calafut T. **Polypropylene: The Definitive User's Guide and Databook**, William Andrew Publishing/Plastics Design Library. New York, USA **1998**, pp 92.
26. Charlesby A.; Fydeler P. J. **Preliminary observations on a new class of sensitizers for crosslinking polyolefins** *Radiat. Phys. Chem.* 4, **1972**, 107-111.
27. Bucio E.; Burillo G. **Radiation-grafting of 2-bromoethylacrylate onto polyethylene film by preirradiation method**, *Radiat. Phys. Chem.* 48, **1996**, 805-810.
28. Gupta B.D.; Chapiro A. **Preparation of ion-exchange membranes by grafting acrylic acid into pre-irradiated polymer films—1. grafting into polyethylene** *Eur. Polym. J.* 25, **1989**, 1137-1143.
29. Ishigaki I.; Sugo T.; Senoo K.; Okada T.; Okamoto J.; Machi S. **Graft polymerization of acrylic acid onto polyethylene film by preirradiation method. I. Effects of preirradiation dose, monomer concentration, reaction temperature, and film thickness** *J. Appl. Polym. Sci.* 27, **1982**, 1033-1041.
30. Lawler J. P.; Charlesby A. **Grafting of acrylic acid onto polyethylene using radiation as initiator**, *Radiat. Phys. Chem.* 15, **1980**, 595-602.
31. Mazzei R.; Tadey D.; Smolko E.; Rocco C. **Radiation grafting of different monomers onto PP foils irradiated with a 25 MeV proton beam**, *Nuc. Instrum. Meth. B*, 208, **2003**, 411-415.
32. Chuanlun C.; Qiang S.; Lili L.; Lianchao Z.; Jinghua Y. **Grafting acrylic acid onto polypropylene by reactive extrusion with pre-irradiated PP as initiator** *Radiat. Phys. Chem.* 77, **2008**, 370–372.
33. Wang H.; Chen W. **Radiation-induced grafting of binary monomers containing HALS onto polypropylene**, *Radiat. Phys. Chem.* 75, **2006**, 138-148.
34. Gupta B.; Jain R.; Anjum N.; Singh H. **Preirradiation grafting of acrylonitrile onto polypropylene monofilament for biomedical applications: I. Influence of synthesis conditions**, *Radiat. Phys. Chem.* 75, **2006**, 161-167.
35. Khorasani, M. T.; Mirzadeh, H.; Sammes, P. G. **Laser Surface Modification of Polymers to improve biocompatibility: HEMA grafted PDMS, in vitro assay-III**, *Radiat. Phys. Chem.*, 55, **1999**, 685-689.

36. Mei, Y. et al, **Tuning cell adhesion on gradient poly (2-hydroxyethyl methacrylate)-grafted surfaces**, *Langmuir*, 21, **2005**, 12309-12314.
37. Brahim, S.; Narinesingh D.; Guiseppi-Eli A. **Synthesis and hydration properties of pH-sensitive p (HEMA)-based hydrogels containing 3-(trimethoxysilyl) propyl methacrylate** *Biomacromol*, 4, **2003**, 497. Lee, K. Y.; Mooney, D. J. **Hydrogels for Tissue Engineering**. *Chem. Rev.* 101(7) **2001** 1869-1879.
38. Hoffman, A. S. **Hydrogels for biomedical applications**, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 43 **2002** 3–12.
39. Ratner B. D.; Weathersby P. K.; Hoffman A. S. **Radiation-Grafted Hydrogels for Biomaterial Applications as Studied by the ESCA Technique**, *J. Appl. Polym. Sci.* 22 **1978** 643-664.
40. Hsiue G-H; Yang J-M; Wu R-L, **Preparation and properties of a biomaterial: HEMA grafted SBS by γ -ray irradiation**, *J. Biomed. Mater. Res.* 22, **1988**, 405-415.
41. Singh D. K.; Ray A. R. **Graft Copolymerization of 2-Hydroxyethylmethacrylate onto Chitosan Films and Their Blood Compatibility**, *J. Appl. Polym. Sci.* 53, **1994**, 1115-1121.
42. Fang Y-E; Lu X-B; Cheng Q. **Influence of Degree of Grafting and Grafting Temperature on the Permeabilities of Grafted Polypropylene Membranes**, *J. Appl. Polym. Sci.* 68, **1998**, 83-89.
43. Nho Y. C.; Kwo O. H. **Blood compatibility of AAC, HEMA and PEGMA-grafted cellulose film**, *Radiat. Phys. Chem.* 66, **2003**, 299-307.
44. Ferreira L. M.; Falcao A. N.; Gil M. H. **Modification of LDPE molecular structure by gamma irradiation for bioapplications**, *Nucl. Instr. and Meth. In Phys. Res. B*, 266 **2005** 513-520.
45. Jin Z.; Feng W.; Zhu S.; Sheardown H.; Brash J. L. **Protein-resistant polyurethane by sequential grafting of poly(2-hydroxyethyl methacrylate) and poly(oligo(ethylene glycol) methacrylate) via surface-initiated ATRP**, *J. Biomed. Mater. Res. A*, 95 A(4) **2010**, 1223-1232.
46. Lutz J-F, **Thermo-Switchable Materials Prepared Using the OEGMA-Platform**, *Adv. Mater.* 23, **2011**, 2237-2243.
47. Fournier D.; Hoogenboom R.; Thijs H. M. L.; Paulus R. M.; Schubert U. S. **Tunable pH- and Temperature-Sensitive Copolymer Libraries by Reversible Addition–Fragmentation Chain Transfer Copolymerizations of Methacrylates**. *Macromolecules*, 40, **2007**, 915-920.
48. Luo N.; Hutchison J. B.; Anseth K. S.; Bowman C. N. **Surface-Initiated Photopolymerization of Poly(ethylene glycol) Methyl Ether Methacrylate on a Diethyldithiocarbamate-Mediated Polymer Substrate**. *Macromolecules*, 35, **2002**, 2487-2493
49. Tan I.; Zarafshani Z.; Lutz J-F; Titirici M-M, **PEGylated Chromatography: Efficient Bioseparation on Silica Monoliths Grafted with Smart Biocompatible Polymers**, *ACS Appl. Mater. Interf.* 1(9), **2009**, 1869-1872.
50. Lutz, J-F, **Polymerization of oligo(ethylene glycol) (methyl) acrylates: Toward new generations of smart biocompatible materials**. *J. Polymer. Sci. A Pol. Chem.* 46, **2008**, 3459-3470.
51. Driva P.; Bexis P.; Pitsikalis M. **Radical copolymerization of 2-vinyl pyridine and oligo(ethylene glycol) methyl ether methacrylates: Monomer reactivity ratios and thermal properties**. *Eur. Polym. J.* 47, **2011**, 762-771.
52. Jones J. A, et al. **Thermoresponsive Copolymers of Methacrylic Acid and Poly(ethylene glycol) Methyl Ether Methacrylate**. *J. Polym. Sci. A Pol. Chem.* 43, **2005**, 6095–6104.
53. Nwankwo I.; Xia D. M.; Smid J. **Salt effects on cloud points and viscosities of polymethacrylates with pendant oligo-oxyethylene chains**. *J. Polym. Sci. B Pol. Phys.* 26, **1988**, 581-594.
54. Kwon, O. H. et al. **Graft copolymerization of polyethylene glycol methacrylate onto polyethylene films and its blood compatibility**. *J. Appl. Polym. Sci.* 71, **1999**, 631-641.

55. Zou X. P.; Kang E. T.; Neoh K. G. **Plasma-induced graft polymerization of poly(ethylene glycol) methyl ether methacrylate on poly(tetrafluoroethylene) films for reduction in protein adsorption**, *Surf. Coat. Tech.* 149, **2002**, 119–128.
56. Lutz J-F; Akdemir Ö.; Hoth A. **Point by point comparison of two thermosensitive polymers exhibiting a similar LCST: Is the age of poly(NIPAM) over?**. *J. Am. Chem. Soc.* 128, **2006**, 13046-13047.
57. Lutz J-F; Hoth A., **Preparation of ideal analogues with a tunable thermosensitivity by controlled radical copolymerization of 2-(2-methoxyethoxy)ethyl methacrylate and oligo(ethylene glycol) methacrylate**, *Macromolecules*, 39, **2006**, 893-896.
58. Lutz J-F; Weichenhan K.; Akdemir, Ö.; Hoth A. **About the phase transitions in aqueous solutions of thermoresponsive copolymers and hydrogels based on 2-(2-methoxyethoxy)ethyl methacrylate and oligo(ethyleneglycol) methacrylate**. *Macromolecules*, 40, **2007**, 2503-2508.
59. Becer C. R.; Hahn S.; Fijten M. W. M.; Thijs H. M. L.; Hoogenboom R.; Schubert U. S. **Libraries of methacrylic acid and oligo(ethylene glycol) methacrylate copolymers with LCST behavior**. *J. Polym. Sci. A Pol. Chem.* 46, **2008**, 7138-7147.
60. Luzon M., et. al. Water soluble, **Thermoresponsive, hiperbranched copolymers based on PEG-Methacrylates: Synthesis, characterization, and LCST behavior**. *J. Polym. Sci. A Pol. Chem.* 48, **2010**, 2783-2792.
61. Komasa J.; Miłek A.; Ulański P.; Rosiak J. M. **Radiation grafting of oligo(ethylene glycol) ethyl ether methacrylate on polypropylene**, *Radiat. Phys. Chem.* In press.
62. Sun Y. H.; Gombotz W. R.; Hoffman A. S. **Synthesis and characterization of non-fouling polymers surfaces: I radiation grafting of hydroxyethyl methacrylate and polyethylene glycol methacrylate onto silastic film**. *J. Bioact. Compat. Pol.* 1, **1986**, 315-334.
63. Ferreira L. M.; Falcao A. N.; Gil M. H. **Elemental and topographic characterization of LDPE based copolymeric films obtained by gamma irradiation**, *Nucl. Instr. and Meth. In Phys. Res. B*, 265, **2007**, 193-197.
64. Abbasi F.; Mirzadeh H.; Katbab A., **Modification of polyloxane polymers for biomedical applications: a review**. *Polymer. Int.* 50, **2001**, 1279-1287.
65. Zhang D.; Macias C.; Ortiz, C. **Synthesis and solubility of (Mono-) end-functionalized poly(2-hydroxyethyl methacrylate-g-ethyleneglycol) graft copolymers with varying macromolecular architectures**, *Macromolecules*, 38, **2005**, 2530-2534.
66. Gregonis D. E.; Russell G.A.; Andrade J. D.; deVisser A. C. **Preparation and properties of stereoregular poly(hydroxyethyl methacrylate) polymers and hydrogels**. *Polymer*, 19, **1978**, 1279-1284.
67. Wichterle O.; Lim D. **Hydrophilic gels for biological use**. *Nature*, 185, **1960**, 117-118.
68. Tomic S.; Micic M.; Dobic S.; Filipovic J.; Suljovrujic E.H. **Smart poly(hydroxyethyl methacrylate/itaconic acid) hydrogels for biomedical applications**. *Radiat. Phys. Chem.* 79, **2010**, 643-64.
69. Sharrock P.; Grégoire G. **HEMA reactivity with demineralized dentin**. *J. Dent.* 38, **2010**, 331-335.
70. Jin Z.; Feng W.; Beisser K.; Zhu S.; Sheardown H.; Brash, J. L. **Protein-resistant polyurethane prepared by surface-initiated atom transfer radical graft polymerization (ATRGp) of water-soluble polymers: Effects of main chain and side chain lengths of grafts**, *Colloid Surfaces B: Biointerfaces*, 70, **2009**, 53–59.
71. Wischerhoff E. R.; Uhlig K.; Lankenau A.; Börner H. G.; Laschewsky A.; Duschl C.; Lutz J-F, **Controlled Cell Adhesion on PEG-Based Switchable Surfaces**, *Angew. Chem. Int. Ed.* 47, **2008**, 5666–5668.

72. Kessel S.; Schmidt S.; Müller R.; Wischerhoff E.; Laschewsky A.; Lutz J-F; Uhlig K.; Lankenau A.; Duschl C.; Fery A. **Thermoresponsive PEG-Based Polymer Layers: Surface Characterization with AFM Force Measurements**, *Langmuir*, 26(5) **2010**, 2462-3467.
73. Gao X.; Kucerka N.; Nieh M-P; Katsaras J.; Zhu S.; Brash J. L.; Sheardown H. **Chain Conformation of a New Class of PEG-Based Thermoresponsive Polymer Brushes Grafted on Silicon as Determined by Neutron Reflectometry**, *Langmuir*, 25(17), **2009**, 10271-10278.
74. Feng W.; Chen R.; Brash J. L.; Zhu S. **Surface-Initiated Atom Transfer Radical Polymerization of Oligo(ethylene glycol) Methacrylate: Effect of Solvent on Graft Density**, *Macromol. Rapid Commun.* 26, **2005**, 1383–1388.
75. Synytska A.; Svetushkina E.; Puretskiy N.; Stoychev G.; Berger S.; Ionov L.; Bellmann C.; Eichhorn K-J; Stamm M. **Biocompatible polymeric materials with switchable adhesion properties**, *Soft Matter*, 6, **2010**, 5907–5914.
76. Sundardi, F. J. **Graft Copolymerization of Hydrophilic Monomers onto Irradiated Polypropylene Fibers**, *J. Appl. Polym. Sci.* 22, **1978**, 3163-3176.
77. Decker, C. y Mayo, F. R. **Agin and degradation of polyolefins. II. γ -initiated oxidation of atactic polypropylene**, *J. Polym. Sci.* 11, **1973**, 2847-2877.
78. Pietsch C.; Fijten M. W. W.; Lambertont-Thijs H. M. L.; Hoogenboom R.; Schubert U. S. **Unexpected Reactivity for the RAFT Copolymerization of Oligo(ethylene glycol) Methacrylates**, *J. Polym. Sci. A Pol. Chem*, 47, **2009**, 2811–2820.
79. Tabata Y.; Itō Y., Tagawa S. (eds.) **Handbook of radiation chemistry**, CRC press, Boca Ratón **1991**.
80. Mehta, IK; Sood, DS and Misra, BN, **Grafting onto polypropylene II. Solvent effect on graft copolymerization of acrylonitrile by preirradiation method**, *J. Polym. Sci. A Pol. Chem.* 27, 1989, 53-62.
81. Mukjerjee, AK and Gupta, BD, **Radiation-induced graft copolymerization of methacrylic acid onto polypropylene fibers. II. Effect of solvent**. *J. Polym. Sci. A Pol. Chem.* 30, 1985, 2655-2661
82. Choi SH and Nho YC, **Radiation-induced graft copolymerization of binary monomer mixture of containing acrylonitrile onto polyethylene films**, *Radiat. Phys. Chem.* 58, **2000**, 157-168.
83. Porsch C.; Hansson S.; Nordgren N.; Malmström E. **Thermo-responsive cellulose-based architectures: tailoring LCST using poly(ethylene glycol) methacrylates**, *Polym. Chem.* 2, **2011**, 1114-1123.
84. Paris R.; Quijada-Garrido I. **Swelling behaviour of thermo-sensitive hydrogels based on oligo(ethylene glycol) methacrylates** *Eur. Polym. J.* 45, **2009**, 3418-3425.
85. Zhang Z.; Zhang M.; Chen S.; Horbett T. A.; Ratner B. D.; Jiang S. **Blood compatibility of surfaces with superlow protein adsorption** *Biomaterials*, 29, **2008**, 4285-4291.
86. Ratner BN, **Blood compatibility — a perspective**, *J. Biomater. Sci. Polymer Edn*, **2000**, 11(11), 1107–1119.
87. Imai Y.; Noe Y, **A new method for evaluation of antithrombogenicity of materials** *J. Biomed. Mater. Res.* 6, 1972, 165-172.
88. Dieckmann-Schuppert A.; Schnittler H-J, **A simple assay for quantification of protein in tissue sections, cell cultures, and cell homogenates, and of protein immobilized on solid surfaces** *Cell Tissue Res.* **1997**, 288, 119-126.
89. Roach P.; Shirtcliffe N. J.; Farrar D.; Perry C. C. **Quantification of Surface-Bound Proteins by Fluorometric Assay: Comparison with Quartz Crystal Microbalance and Amido Black Assay**, *J. Phys. Chem. B.* 110, **2006**, 20572-20579.

90. Scudiero D. A.; Shoemaker R.H.; Paull K. D.; Monks A.; Tierney S.; Nofziger T. H.; Currens M. J.; Senieff D.; Boyd M. R. **Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines.** *Cancer Res.* 48, 1988, 4827-4833.
91. Mosmann T. **Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assay.** *J. Immunol. Methods*, 65, 1983, 55–63.



Radiation-grafting of 2-hydroxyethylmethacrylate and oligo (ethylene glycol) methyl ether methacrylate onto polypropylene films by one step method

Alejandro Ramírez-Jiménez^a, Carmen Alvarez-Lorenzo^b, Angel Concheiro^b, Emilio Bucio^{a,*}

^a Departamento de Química de Radiaciones y Radioquímica, Instituto de Ciencias Nucleares, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, México DF 04510, México

^b Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Universidad de Santiago de Compostela, 15782-Santiago de Compostela, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 18 August 2011

Accepted 2 September 2011

Available online 8 September 2011

Keywords:

Grafting of acrylates

Surface modification

Gamma-ray

Processing technologies

Medical device

ABSTRACT

Polypropylene films were modified with 2-hydroxyethylmethacrylate (HEMA) and oligo (ethylene glycol) methyl ether methacrylate (OEGMA) using the pre-irradiation method with gamma-rays (one step method). The effect of absorbed dose from 10 to 100 kGy, temperature (50, 60, and 70 °C), monomer concentration between 12.5% and 62.5%, monomers ratio from 10% to 90% and reaction time from 5 to 50 h; on the degree of grafting was determined. The grafted samples were analyzed by FTIR-ATR, TGA, DSC, swelling, and contact angle. Grafts onto polymeric films between 3% and 109% were obtained at doses from 10 to 100 kGy and a dose rate around 7.4 kGy/h. The graft percent increased with the content in HEMA in the HEMA:OEGMA feed mixture, which indicates a lower reactivity of OEGMA compared to HEMA. The hydrogel layer grafted on the polypropylene substrate increases the hydrophilicity of the surface and also provides certain temperature-responsiveness, which may be of interest for biomedical applications.

© 2011 Elsevier Ltd. All rights reserved.

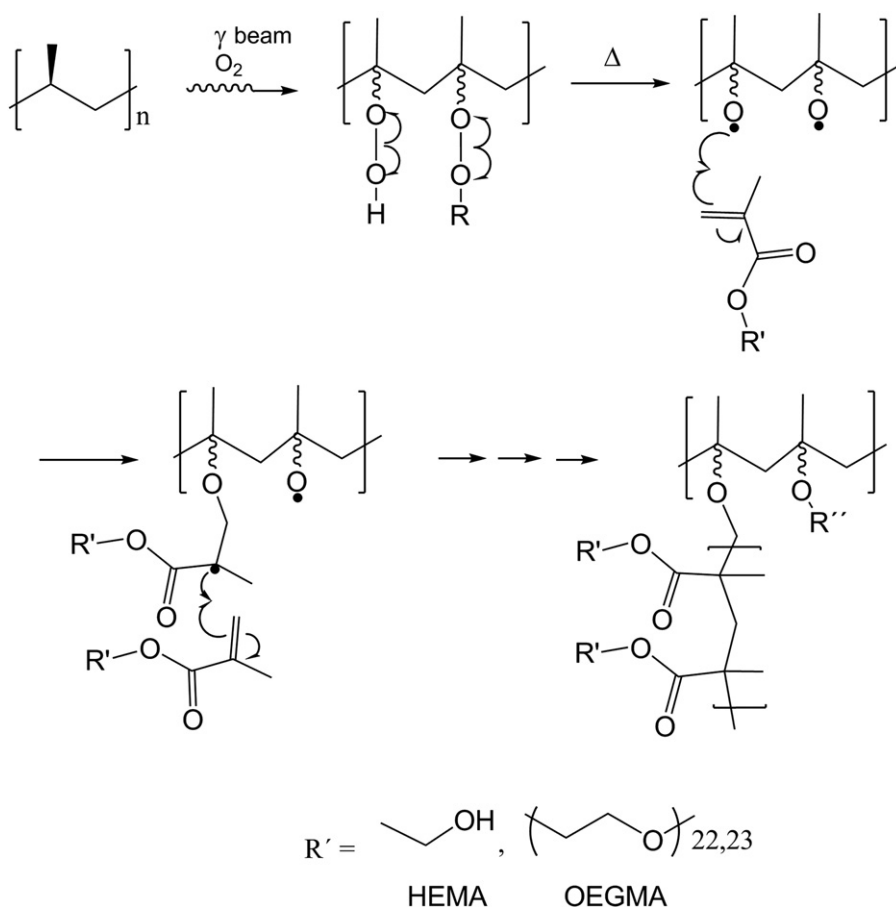
1. Introduction

Radiation grafting is a suitable technique for surface modification of polymeric materials since it allows introducing active functional groups on the polymer backbone (Nurkeeva et al., 2003; Meléndez-Ortiz et al., 2009; Contreras-García et al., 2008; Ramírez-Fuentes et al., 2007; Alvarez-Lorenzo et al., 2010). This method is applicable for many substrates and monomers combinations and, unlike chemically initiated grafting; it does not require initiators (Vahdat et al., 2007). There are several methods of radiation grafting: (i) the direct (or mutual) grafting method in which the polymeric material is irradiated in contact with a monomer, homopolymerization being a collateral effect; (ii) the pre-irradiation method, which involves the irradiation of the polymer matrix in the absence of air and then the grafting is initiated by macroradicals trapped in the irradiated polymer; radiation dose is usually larger than in the direct method and polymer degradation may occur; and (iii) the pre-irradiation oxidative grafting method that consists in the pre-irradiation of the polymer in the presence of air or oxygen, so that the macroradicals formed are converted to peroxides and/or hydroperoxides, and

when the irradiated polymer is heated in the presence of monomer the peroxides decompose to give the macroradicals (Bucio et al., 2010; Burillo and Bucio, 2009).

Currently there is an increasing interest in developing homogeneous polymer networks with controlled microstructure, particularly for highly demanding applications such as medical devices and controlled drug delivery systems (Kurjata et al., 2009). Combination of the mechanical properties of film supports with the recognized biocompatibility of hydrogels may open novel possibilities. The hydrogels obtained from the polymerization of 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) are well-known in the biomedical and biotechnological fields due to their resemblance of biological tissues (Wichterle and Lim, 1960; Hoffman, 2006), hydrophilic character (Gregonis et al., 1978), and versatility to be copolymerized with functional monomers (Tomic et al., 2010). Generally, HEMA is thought to be a solvent-like monomer capable of homogenizing hydrophobic and hydrophilic phases (Sharrock and Grégoire, 2010). Oligo (ethylene glycol) methyl ether methacrylates, represent a very interesting family of monomers, since they are biocompatible and thermoresponsible materials and their solubility in aqueous solutions increases upon increasing the size of the ethylene glycol group (Driva et al., 2011). Poly (ethylene glycol) methyl ether methacrylate (PEGMA)-modified polymeric films could potentially be used for biomedical applications (Fournier et al., 2007; Luo et al., 2002). The aim of this work

* Corresponding author. Tel.: +52 55 56224674; fax: +52 55 56224707.
E-mail address: ebucio@nucleares.unam.mx (E. Bucio).



Scheme 1. Mechanism of grafting of HEMA and OEGMA onto PP by peroxidative pre-irradiation method.

was to evaluate the possibilities of grafting of HEMA and OEGMA onto polypropylene (PP) films using a gamma-ray pre-irradiation method. PP is widely applied as component of medical devices such as catheters, artificial blood vessels, and equipment for extracorporeal circulation (Hernández-Martínez and Bucio, 2009). However, its hydrophobic surface prompts the unspecific adsorption of proteins and microorganisms (Nava-Ortiz et al., 2010, 2009a, 2009b). Hydrogel grafting is intended to enhance the hydrophilicity of the PP surface. The grafted films were obtained at various radiation conditions and characterized by FTIR-ATR spectroscopy, thermogravimetric analysis (TGA), differential scanning calorimetry (DSC), water contact angle and swelling measurements.

2. Experimental

2.1. Materials

Polypropylene (PP) films from Goodfellow England, 1 mm thickness and 1 cm × 5 cm in size were washed in methanol for 2 h and then dried in vacuum to constant weight. Oligo (ethylene glycol) methyl ether methacrylate (OEGMA) and 2-hydroxyethyl-methacrylate (HEMA, 97%) were from Aldrich Chemical Co., USA. HEMA was purified by vacuum distillation before use. Toluene and methanol from Baker were used as-received.

2.2. Grafting

PP films were exposed to ^{60}Co γ -source (Gamma beam 651 PT, MDS Nordion) in the presence of air, at room temperature, at a

dose rate around 7.4 kGy h⁻¹ and doses between 10 to 100 kGy. The irradiated films were placed in a solution of OEGMA/HEMA at different ratio in toluene in glass ampoules that were filled with argon and then sealed. The ampoules were heated at 50, 60, and 70 °C at different reaction time (from 5 to 50 h). To extract the residual monomer and homopolymer formed during the grafting, the samples were soaked in toluene for 24 h and then in distilled water, followed by drying under vacuum to a constant weight. The grafting yield (Y_g) was calculated using the equation:

$$Y_g(\%) = 100[(W_g - W_o)/W_o],$$

where W_o and W_g represent the weights of the initial and grafted films, respectively.

2.3. Structure and thermal stability

FTIR-ATR spectra were taken using a Perkin-Elmer Spectrum 100 spectrometer (Perkin Elmer Cetus Instruments, Norwalk, CT) with 16 scans. Thermal decomposition of samples was determined in nitrogen atmosphere between 25 and 600 °C at a heating rate of 10 °C min⁻¹ using a TGA Q50 (TA Instruments, New Castle, DE). Differential scanning calorimetry (DSC) scans were recorded under nitrogen atmosphere using a DSC 2010 calorimeter (TA Instruments, USA) from 25 to 250 °C at 10 °C min⁻¹.

2.4. Interactions with water

Water absorption equilibrium was monitored in duplicate by immersion of pristine and modified PP films into distilled water for 5 min to 24 h. The excess of solution on the copolymer films

was removed with filter paper, and the swollen samples were weighed. The swelling percent was determined by the following equation:

$$\text{Swelling}(\%) = [(W_s - W_d)/W_d]100$$

where W_s and W_d represent the weights of the swollen and initial films, respectively.

Contact angles were recorded using a drop shape analyzer Kruss DSA 100 apparatus (Matthews NC, USA). Small drops of distilled water were deposited onto dry films and the contact angle was measured 1 min after. The temperature of circulating water and of the atmosphere in the measurement chamber was controlled in the 10–40 °C range.

3. Results and discussion

3.1. Incidence of reaction variables on the grafting yield

Radiation grafting of some methacrylic monomers, including HEMA and OEGMA, is accompanied by essential homopolymerization of the monomer and the oligomer, respectively. Gamma beam irradiation of PP under air produces latent initiating species as peroxides and hydroperoxides in unordered domains and, to a lower extent, trapped free radicals in crystalline regions (Scheme 1). The efficiency of the grafting polymerization (Y_g) was assessed by gravimetry, after extensive washing and drying of reacted films. The greater the monomer concentration, the higher the polymerization rate was and, consequently, greater values Y_g were obtained (Fig. 1). A broad range of graft content was achieved and the efficiency ranged from a quite high minimal value of 60% yield for OEGMA/HEMA at 12.5% v/v concentration, to a saturation value close to 110% yield for a 62.5% OEGMA/HEMA (1/1, v/v ratio) in toluene. However, higher concentrations of monomers led to a decrease in the grafting efficiency due to OEGMA/HEMA homopolymerization. Such high Y_g values led to an increase in both the thickness (from 1.0 up to 1.4 mm) and the area of the films (nearly 45% more for $Y_g=60\%$), which clearly indicates that the grafting occurred at both the surface and the bulk of PP.

The grafting yield as a function of reaction time for OEGMA/HEMA onto pre-irradiated PP films at 60 kGy and reacted in a 50% v/v OEGMA/HEMA (1/1, v/v ratio) toluene solution is shown in Fig. 2. The degree of grafting increased from 9% at 5 h to 61% at 50 h; the leveling off was not reached in the range of time studied.

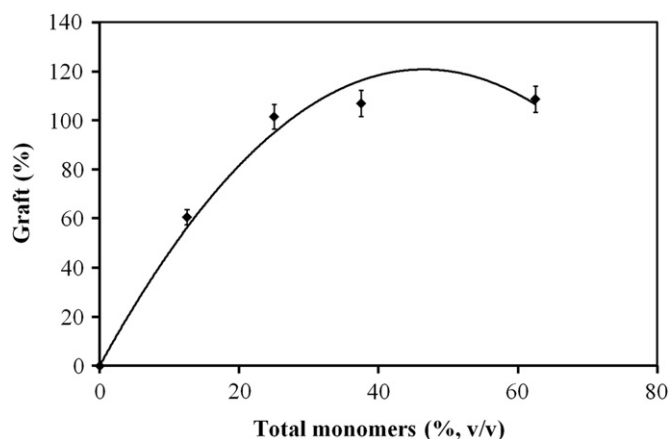


Fig. 1. Grafting yield of OEGMA/HEMA 50% (v/v) onto pre-irradiated PP films as function of the total monomer concentration, $D=60$ kGy, $t=40$ h, and $T=60$ °C. The data are plotted as means values \pm standard deviations ($n=2$).

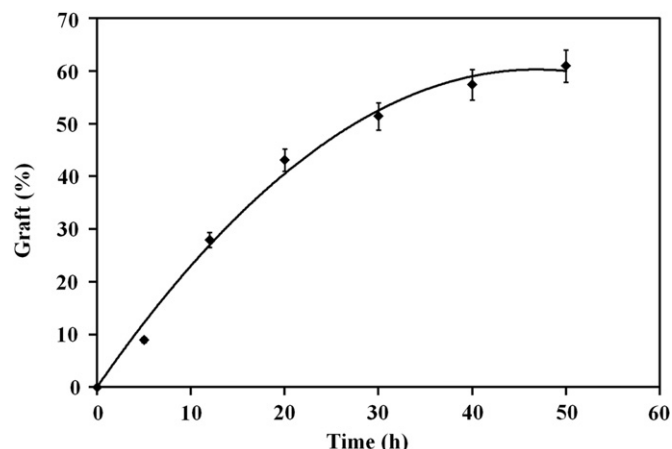


Fig. 2. Evolution of grafting yield of OEGMA/HEMA 50% (v/v) onto pre-irradiated PP films for increasing reaction times, a pre-irradiation dose $D=60$ kGy, and $T=60$ °C. The data are plotted as mean values \pm standard deviations ($n=2$).

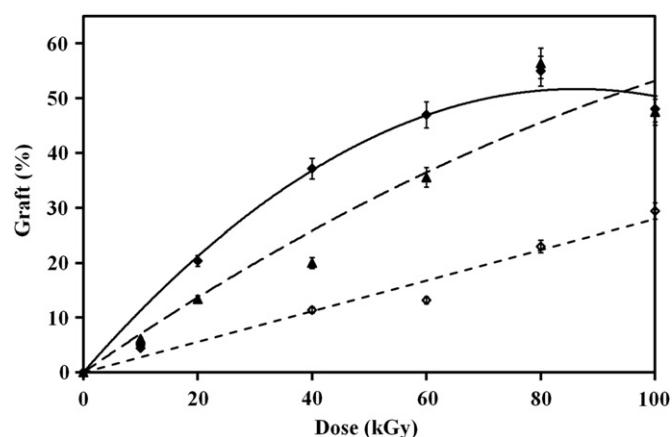


Fig. 3. Grafting yield of OEGMA/HEMA 50% (v/v) onto pre-irradiated PP films as a function of pre-irradiation dose at different reaction temperatures, and reaction time 20 h. \diamond 50 °C; \triangle 60 °C; \circ 70 °C. The data are plotted as mean values \pm standard deviations ($n=2$).

The effect of the pre-irradiation dose on the grafting yield was examined by performing graft polymerizations at three different reaction temperatures, for a reaction time of 20 h at a fix monomer concentration of 50% v/v OEGMA/HEMA (1/1, v/v ratio). The number of latent initiating sites is expected to increase with increasing radiation dose, although not necessarily in a proportional manner. We observed an increase in efficacy of the grafting process when the temperature raised from 50 to 60, and to 70 °C (Fig. 3), which can be explained by the thermal activation of peroxy group's dissociation. Optimal conditions can be adjusted using some basic experimental parameters, i.e., dose, monomer concentration, reaction temperature and reaction time, depending on the desired graft percentage and on the need for surface vs. bulk grafting.

The next step was to evaluate how the relative proportion of both monomers, namely mol percent of HEMA or OEGMA, affects the grafting yield (Fig. 4). When HEMA proportion was low, the Y_g was also low. This finding can be attributed to the lower reactivity of OEGMA compared to HEMA due to steric hindrance of the double bond (Sun et al., 1986). Therefore, it is easier for HEMA than for OEGMA to access to the active site on the PP and on the growing chain.

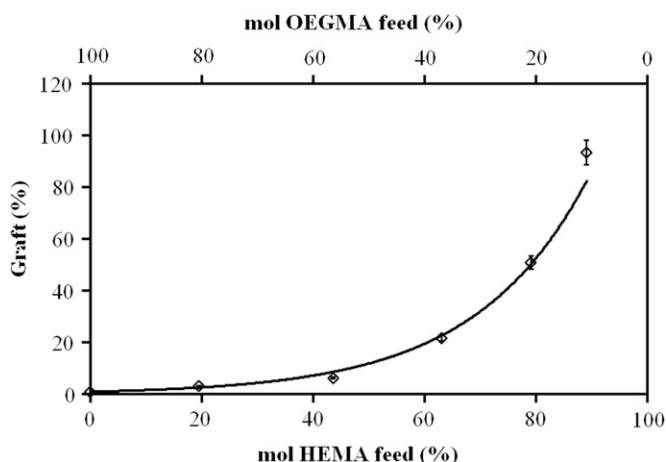


Fig. 4. Grafting yield of OEGMA/HEMA onto pre-irradiated PP films as a function of mol percent of HEMA or OEGMA feed in the reaction. Pre-irradiation dose 60 kGy, reaction time 40 h, and total monomers concentration of 44% (v/v). The data are plotted as mean values \pm standard deviations ($n=2$).

3.2. Composition assessment and thermal stability

Infrared spectrum of PP-g-OEGMA/HEMA graft 60% (Fig. 5b) shows the characteristic bands in 1080 and 1156 cm^{-1} due to stretch of ether groups of HEMA, spread absorption centered at about 3400 cm^{-1} corresponds to hydroxyl groups and a strong absorption in 1724 cm^{-1} is due to asymmetric vibration of ester group. The strong absorption of the ether groups of ethylene glycol at 1102 cm^{-1} (Fig. 5d) was not observed in PP-g-OEGMA/HEMA. However in the copolymer recovered such absorption was clearly seen (Fig. 5c). This finding confirms the higher reactivity of HEMA (Sun et al., 1986) and indicates that the OEGMA/HEMA ratio in the grafted copolymer is lower than in the reaction solution.

Thermal behavior of the materials is shown in Fig. 6. The decomposition temperature of PP was 428 $^{\circ}\text{C}$ (10% loss) and 1.30% char yield (500 $^{\circ}\text{C}$); for poly(OEGMA/HEMA) was 328 $^{\circ}\text{C}$ (10% loss) and 0.20% char yield (500 $^{\circ}\text{C}$); for PP-g-OEGMA/HEMA (39% graft) was 318 $^{\circ}\text{C}$ (10% loss) and 0.03% char yield (500 $^{\circ}\text{C}$). Melting point (T_m) and melting enthalpy (ΔH_m) of pristine PP were 170.4 $^{\circ}\text{C}$ and 22.4 cal g^{-1} as determined by DSC (Fig. 7). As the graft percent increased, T_m and ΔH_m decreased: for 4% grafted T_m 164.9; ΔH_m 20.6 cal g^{-1} ; 39% grafted T_m 160.2; ΔH_m 10.5 cal g^{-1} ; and 107% grafted T_m 158.8; ΔH_m 7.6 cal g^{-1} . Since PP is stable below 100 kGy (Wei et al., 1998), this trend must be due to the effect of HEMA and OEGMA grafting on both the amorphous and the crystalline regions of PP.

3.3. Interactions with water

The swelling kinetics of the OEGMA/HEMA layer grafted onto PP films when immersed in water at room temperature was followed by gravimetric analysis. Swelling of PP-g-OEGMA/HEMA at three different graft percentages was evaluated. Water uptake resembled a typical diffusion process, occurred rapidly in the first 24 h although the equilibrium was reached at around 240 h. The swelling percentage increased up to 7%, 9% and 14% as the grafting yield was 43%, 63%, and 102%, respectively. This finding clearly indicates that the hydrogel layer grafted on PP has a large content in hydrophilic groups. Pristine PP film did not show any swelling effect. It has been previously reported that HEMA networks can reach the swelling equilibrium quite rapidly (Ferreira et al., 2005), while OEGMA systems usually swell slowly (Lutz et al., 2007). In the case of the PP-g-OEGMA/HEMA films, the slow uptake of water clearly indicates the presence of OEGMA in the graft.

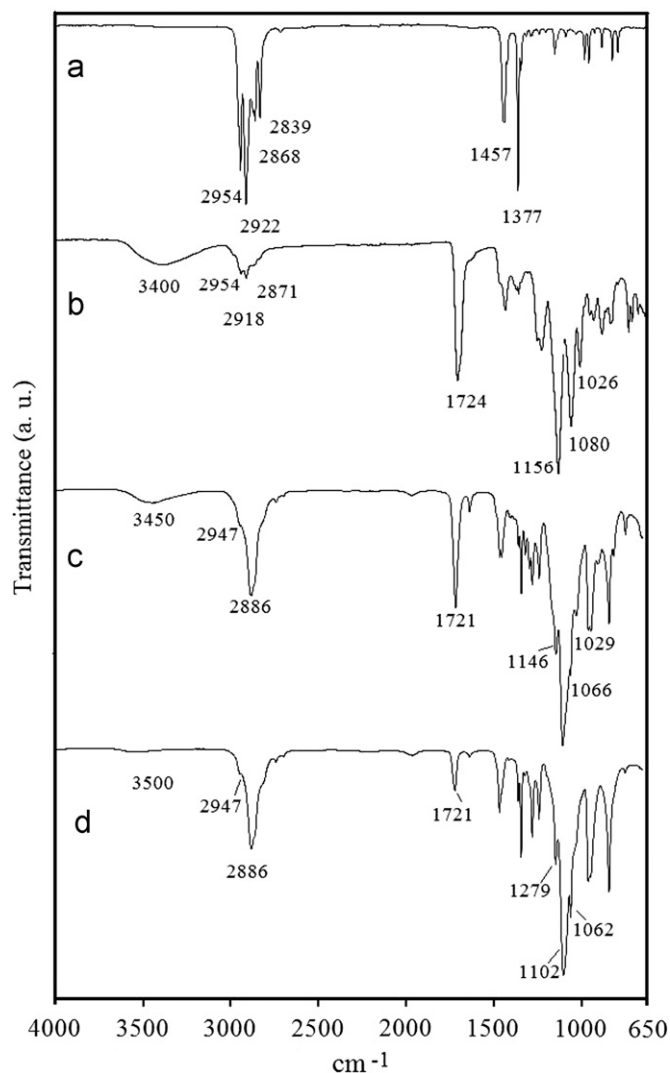


Fig. 5. FTIR-ATR spectra of (a) Polypropylene; (b) PP-g-(OEGMA/HEMA) 16%; (c) Poly(HEMA-co-OEGMA); and (d) Poly(OEGMA).

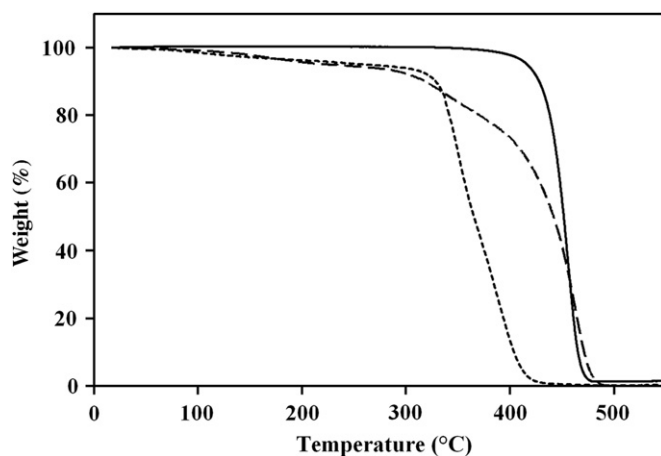


Fig. 6. Thermogravimetric analysis (—) Polypropylene, (---) PP-g-(OEGMA/HEMA) graft 39%; (.....) Poly(HEMA-co-OEGMA).

The influence of temperature on the degree of swelling of PP-g-OEGMA/HEMA with graft percentages of 43%, 63%, and 102% was evaluated in a temperature range between 5 and 85 $^{\circ}\text{C}$ in distilled water at neutral pH (Fig. 8). A progressive decrease in the

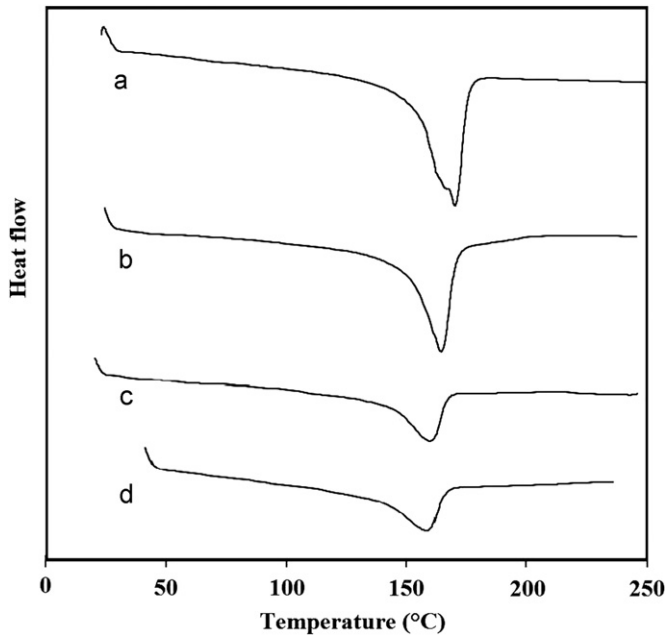


Fig. 7. Differential scanning calorimetry (a) Polypropylene; and PP-g-(OEGMA/HEMA) (b) 4, (c) 39, and (d) 107% respectively.

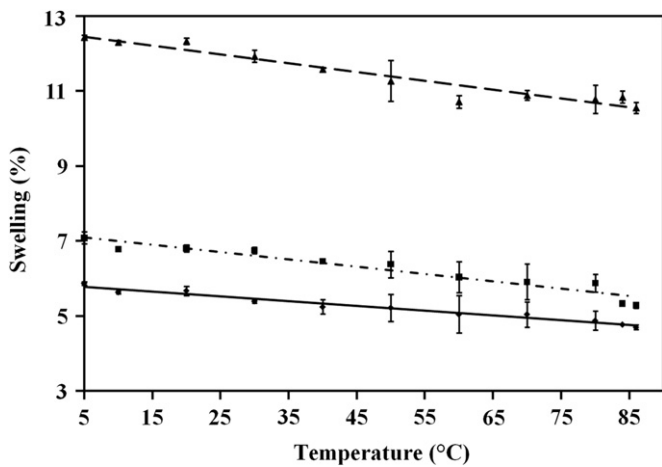


Fig. 8. Swelling as function of temperature for PP-g-OEGMA/HEMA with \blacktriangle –102% graft; \blacksquare –63% graft; \blacklozenge –43% graft.

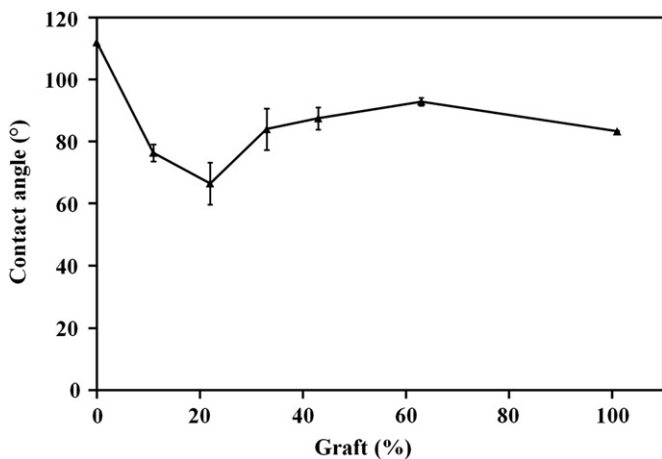


Fig. 9. Contact angle as function of OEGMA/HEMA 50% (v/v) grafted onto PP films in water at 25 °C and pH 7.

swelling of about 1–2% was observed as the temperature increased. The main reason for this behavior is the structural change in the copolymer. At temperatures below the low critical solution temperature (LCST) chains have a coil structure, and the hydrophilic groups of the copolymer form hydrogen bonds with water molecules. When the temperature is raised above the LCST, chains have a globular structure and hydrogen bonds are formed between hydrophilic groups, which cause a release of water molecules and a decrease in the percent swelling; in these grafted films were not possible to observe the LCST.

Fig. 9 shows the variation of contact angle of PP films as the OEGMA/HEMA graft percentage increases. Contact angle for pristine PP films was 110°. PP-g-OEGMA/HEMA with 10% and 20% graft had contact angles of 78° and 75°, respectively; while those with 30% to 100% graft had contact angle values close to $87 \pm 2^\circ$. The decrease in contact angle is due to the presence of hydrophilic poly(OEGMA/HEMA) chains, but no clear trend in the contact angle as a function of the graft percent was observed.

4. Conclusions

A new graft copolymer of PP-g-OEGMA/HEMA has been prepared by applying gamma-ray pre-irradiation method. The grafting percentage can be tuned through adequate combinations of radiation dose, monomers proportion and total concentration, reaction temperature and reaction time. In the grafting onto peroxidized polymers, the rate of initiation is determined by the radiation dose and the grafting temperature; these two parameters were well established in this paper. The maximum grafting obtained was 109% at a pre-irradiation dose 60 kGy, dose rate 7.2 kGy/h, monomers concentration of 60% in toluene, and reaction temperature 60 °C. Grafting of PP-g-OEGMA/HEMA film was confirmed by infrared spectroscopy. At any grafting percentage the surface of the PP films was homogeneously covered by OEGMA/HEMA chains. The new copolymer exhibits moderate thermal stability, with decomposition temperature in nitrogen atmosphere of 318 °C (10% loss), and lower water contact angles due to the hydrophilic layer formed on the PP surface.

Acknowledgements

The authors thank to S. Castillo-Rojas, F. García, B. Leal, and A. Ramírez from ICN-UNAM for technical assistance. This work was supported by DGAPA-UNAM Grant IN202311, Mexico; and by MICINN and FEDER (SAF2011-22771), and the Xunta de Galicia (PGIDT10CSA203013PR), Spain.

References

- Alvarez-Lorenzo, C., Bucio, E., Burillo, G., Concheiro, A., 2010. Medical devices modified at the surface by g-ray grafting for drug loading and delivery. *Expert Opin. Drug Del.* 7, 173–185.
- Bucio, E., Contreras-García, A., Meléndez-Ortiz, H.I., Muñoz-Muñoz, F.D., Alvarez-Lorenzo, C., Concheiro, A., 2010. Smart polymers for biomedical applications and graft synthesis by gamma-rays. *Smart Polymeric Materials for Biomedical Applications*. NOVA Science Publishers, Inc., New York, USA.
- Burillo, G., Bucio, E., 2009. Responsive copolymer films obtained by ionizing radiation Gamma radiation effects on polymeric materials and its applications. *Research Signpost. Kerala, India*, pp. 45–62 (Chapter 4).
- Contreras-García, A., Burillo, G., Aliev, R., Bucio, E., 2008. Radiation grafting of *N,N*-dimethylacrylamide and *N*-isopropylacrylamide onto polypropylene films by two step method. *Radiat. Phys. Chem.* 77, 936–940.
- Driva, P., Bexis, P., Pitsikalis, M., 2011. Radical copolymerization of 2-vinyl pyridine and oligo(ethylene glycol) methyl ether methacrylates: monomer reactivity ratios and thermal properties. *Eur. Polym. J.* 47, 762–771.
- Ferreira, L.M., Falcao, A.N., Gil, M.H., 2005. Modification of LDPE molecular structure by gamma irradiation for bioapplications. *Nucl. Instr. Meth. Phys. Res. B* 266, 513–520.

- Fournier, D., Hoogenboom, R., Thijs, H.M.L., Paulus, R.M., Schubert, U.S., 2007. Tunable pH- and temperature-sensitive copolymer libraries by reversible addition–fragmentation chain transfer copolymerizations of methacrylates. *Macromolecules* 40, 915–920.
- Gregonis, D.E., Russell, G.A., Andrade, J.D., deVisser, A.C., 1978. Preparation and properties of stereoregular poly(hydroxyethyl methacrylate) polymers and hydrogels. *Polymer* 19, 1279–1284.
- Hernández-Martínez, A.R., Bucio, E., 2009. Novel pH- and temperature-sensitive behavior of binary graft DMAEMA/PEGMEMA onto LDPE membranes. *Des. Monomer Polym.* 12, 543–552.
- Hoffman, A.S., 2006. Hydrogels for biomedical applications. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 944, 62–73.
- Kurjata, J., Chojnowski, J., Yeoh, C.T., Rossi, N.A.A., Holder, S.J., 2009. Comparison of reaction kinetics and gelation behaviors in atom transfer, reversible addition–fragmentation chain transfer and conventional free radical copolymerization of oligo(ethylene glycol) methyl ether methacrylate and oligo(ethylene glycol) dimethacrylate. *Polymer* 50, 3488–3494.
- Luo, N., Hutchison, J.B., Anseth, K.S., Bowman, C.N., 2002. Surface-initiated photopolymerization of poly(ethylene glycol) methyl ether methacrylate on a diethyl-dithiocarbamate-mediated polymer substrate. *Macromolecules* 35, 2487–2493.
- Lutz, J.F., Weichenhan, K., Akdemir, Ö., Hoth, A., 2007. About the phase transitions in aqueous solutions of thermoresponsive copolymers and hydrogels based on 2-(2-methoxyethoxy)ethyl methacrylate and oligo(ethyleneglycol) methacrylate. *Macromolecules* 40, 2503–2508.
- Meléndez-Ortiz, H.I., Bucio, E., Burillo, G., 2009. Radiation-grafting of 4-vinylpyridine and N-isopropylacrylamide onto polypropylene to give novel pH and thermo-sensitive films. *Radiat. Phys. Chem.* 78, 1–7.
- Nava-Ortiz, C.A.B., Álvarez-Lorenzo, C., Bucio, E., Concheiro, A., Burillo, G., 2009a. Cyclodextrin-functionalized polyethylene and polypropylene as biocompatible materials for diclofenac delivery. *Int. J. Pharm.* 382, 183–191.
- Nava-Ortiz, C.A.B., Burillo, G., Bucio, E., Álvarez-Lorenzo, C., 2009b. Modification of polyethylene films by radiation grafting of glycidyl methacrylate and immobilization of β -cyclodextrin. *Radiat. Phys. Chem.* 78, 19–24.
- Nava-Ortiz, C.A.B., Burillo, G., Concheiro, A., Bucio, E., Matthijs, N., Nelis, H., Coenye, T., Álvarez-Lorenzo, C., 2010. Cyclodextrin-functionalized biomaterials loaded with miconazole prevent *Candida albicans* biofilm formation in vitro. *Acta Biomater.* 6, 1398–1404.
- Nurkeeva, Z.S., Aal, A.S.A., Kupchishin, A.I., Khutoryanskiy, V.V., Mun, G.A., Beksyrgaeva, A.G., 2003. The study on grafting comonomer of n-butyl acrylate and styrene onto poly(ethylene terephthalate) film by gamma-ray induced graft copolymerization. *Radiat. Phys. Chem.* 6, 793–798.
- Ramírez-Fuentes, Y.S., Bucio, E., Burillo, G., 2007. Radiation-induced grafting of stimuli-responsive binary monomers onto polypropylene films. *Nucl. Instrum. Meth. B* 265, 183–186.
- Sharrock, P., Grégoire, G., 2010. HEMA reactivity with demineralized dentin. *J. Dent.* 38, 331–335.
- Sun, Y.H., Gombotz, W.R., Hoffman, A.S., 1986. Synthesis and characterization of non-fouling polymers surfaces: I radiation grafting of hydroxyethyl methacrylate and polyethylene glycol methacrylate onto silastic film. *J. Bioact. Compat. Pol.* 1, 315–334.
- Tomic, S., Micic, M., Dobic, S., Filipovic, J., Suljovrujic, E.H., 2010. Smart poly(hydroxyethyl methacrylate/itaconic acid) hydrogels for biomedical applications. *Radiat. Phys. Chem.* 79, 643–664.
- Vahdat, A., Bahramia, H., Ansaria, N., Ziaie, F., 2007. Radiation grafting of styrene onto polypropylene fibres by a 10 MeV electron beam. *Radiat. Phys. Chem.* 76, 787–793.
- Wei, G., Quiao, J., Hong, X., Zhang, F., Wu, J., 1998. Research radiation stability of polypropylene. *Radiat. Phys. Chem.* 52 (1–6), 237–241.
- Wichterle, O., Lim, D., 1960. Hydrophilic gels for biological use. *Nature* 185, 117–118.