



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

“SÍNTESIS DEL INJERTO BINARIO DE N-VINILCAPROLACTAMA (NVCL)/DIMETIL ACRILAMIDA
(DMAAM) EN HIDROGELES DE QUITOSANO”

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA

Q.A. MITZI PAULINA PÉREZ CALIXTO

TUTOR
DRA. SOFÍA GUILLERMINA BURILLO AMEZCUA
INSTITUTO DE CIENCIAS NUCLEARES, UNAM

MÉXICO, D.F. SEPTIEMBRE 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

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

**Síntesis del injerto binario de N-vinilcaprolactama (NVCL)/Dimetil
acrilamida (DMAAm) en hidrogeles de quitosano**

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA

Q.A. MITZI PAULINA PÉREZ CALIXTO



TUTOR: DRA. SOFÍA GUILLERMINA BURILLO
AMEZCUA

México, D.F., 2015

JURADO

Presidente	Dra. Alicia Negrón Mendoza
Vocal	Dr. Francisco Alberto Ruiz Treviño
Vocal	Dr. Juan Manuel Navarrete Tejero
Vocal	Dr. Miguel Ángel Hernández Gallegos
Secretario	Dr. Emilio Bucio Carillo

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Macromoléculas del departamento de Química de radiaciones y radioquímica perteneciente al Instituto de Ciencias Nucleares UNAM.

Dra. Sofía Guillermina Burillo Amezcu
Tutor

Parte de este trabajo se presentó en los siguientes congresos:

- Quimiunam. Ciudad Universitaria. Abril 2015
- XXIV International Materials Research Congress, en Cancún, México. Agosto 2015

AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Nacional Autónoma de México** (UNAM) por ser mi alma máter, a la cual debo mi formación; así mismo al **Instituto de Ciencias Nucleares** (ICN), por ser mi segunda casa.

A la **Dra. Sofía Guillermina Burillo Amezcua** por la oportunidad que me otorgó de formar parte de su grupo, que a través de su guía, paciencia y su ejemplo de trabajo arduo, puedo ver culminado mi trabajo de maestría.

A la **Dra. Alejandra Ortega A.** por ser mi segunda guía, así como su disposición para ayudarme en cualquier momento.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología** (CONACyT) por la beca otorgada de mis estudios de maestría (No. de becario 292921).

Al proyecto IN200214 de DGAPA UNAM y a CONACyT-CNPq Project 174378 por el apoyo económico.

A los miembros del jurado, la Dra. Alicia Negrón Mendoza, Dr. Francisco Alberto Ruiz Treviño, Dr. Juan Manuel Navarrete Tejero, Dr. Miguel Ángel Hernández Gallegos y Dr. Emilio Bucio Carillo; por sus valiosas contribuciones a este trabajo.

Al **Dr. Epifanio Cruz Z.** por comenzar conmigo esta etapa de mi formación.

Al **Físico Francisco García** y al **M. en C. Benjamín Leal** de la unidad de irradiación, por su amistad y apoyo en las irradiaciones realizadas, así mismo a **Martín Cruz** y **Luis Miguel Valdez** de la unidad de cómputo del ICN.

Con gran amor y agradecimiento

A Dios “El Shaddai”, porque de su plenitud tomamos todos.

*A mis **Padres** por su amor incondicional.*

*A mi **hermano** por su amor y complicidad.*

*A mis **amigos y compañeros de laboratorio**, por formar parte de este cruce que llamamos vida, con una mención especial a **José Ángel**, por ser quien es gracias por estar en mi vida.*

*A **Benjamín Leal** por ser una persona increíble.*

A los que estuvieron, están y llegarán.

ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN	1
I HIPÓTESIS	3
II OBJETIVOS	3
CAPÍTULO 2 . GENERALIDADES	4
2.1 POLÍMEROS	4
2.2 CLASIFICACIÓN DE POLÍMEROS	4
2.3 POLÍMEROS “INTELIGENTES” O ESTIMULO SENSIBLES	6
2.3.1 Polímeros termosensibles	6
2.3.1.1 N-vinilcaprolactama (NVCL).....	8
2.3.2 Polímeros pH sensibles	9
2.3.3 Quitosano (CS).....	11
2.3.3.1 Hidrogeles de quitosano	13
2.3.3.2 Reticulación de quitosano	14
2.4 N,N´-DIMETILACRILAMIDA (DMAAM)	14
2.5 RADIACIÓN IONIZANTE	15
2.5.1 Cobalto-60 (⁶⁰ Co).....	17
2.5.2 Interacción de la radiación con la materia.....	18
2.5.2.1 Efecto fotoeléctrico.....	18
2.5.2.2 Efecto Compton	19
2.5.2.3 Formación de pares.....	20
2.6 RADIACIÓN EN POLÍMEROS	20
2.6.1 Injerto.....	20
2.6.1.1 Método directo	21
2.6.1.2 Método de Pre-irradiación.....	22
2.6.1.3 Método de pre-irradiación oxidativa	22
2.6.2 Injerto binario.....	23
2.7 CARACTERIZACIÓN.....	24
2.7.1 Espectroscopia de infrarrojo (FTIR-ATR).....	24
2.7.2 Análisis termogravimétrico (TGA)	24
CAPÍTULO 3 . PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	26
3.1 MATERIALES Y EQUIPO	26
3.2 PREPARACIÓN DE HIDROGEL DE QUITOSANO (NET-CS).....	27
3.3 DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE DESACETILACIÓN DEL CS Y PORCENTAJE DE RETICULACIÓN DEL GEL DE CS	28
3.4 INJERTO BINARIO EN UN PASO. SÍNTESIS DE (NET-CS)-G-(NVCL/DMAAM)	29
3.4.1 Injerto binario por método directo en gel de quitosano	29

3.4.2 Injerto binario por método de pre-irradiación oxidativa en gel de quitosano	29
3.4.3 Injerto binario en quitosano en polvo por método directo (método inverso).....	30
3.5 INJERTO BINARIO DE NVCL Y DMAAM EN GEL DE CS EN DOS PASOS POR MÉTODO DIRECTO.....	31
3.5.1 Primer paso. Síntesis de (net-CS)-g-NVCL	31
3.5.2 Segundo paso. Síntesis de [(net-CS)-g-NVCL]-g-DMAAM.....	32
3.5.2.1 Influencia del porcentaje de injerto de NVCL en gel de quitosano sobre el injerto de DMAAm en un segundo paso	32
3.5.2.2 Influencia de la concentración de DMAAm en el injerto en un segundo paso	32
3.5.2.3 Injerto de DMAAm en función de la dosis	33
3.5.3 Injerto de DMAAm por pre irradiación oxidativa en películas de CS-g-NVCL.....	33
3.6 CARACTERIZACIÓN	33
3.6.1 Tiempo de hinchamiento al equilibrio	33
3.6.2 pH crítico.....	34
3.6.3 Temperatura crítica (LCST)	34
3.6.4 FTIR-ATR.....	35
3.6.5 Propiedades térmicas	35
3.6.5.1 Análisis termogravimétrico (TGA)	35
CAPÍTULO 4 . ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	36
4.1 PORCENTAJE DE RETICULACIÓN DEL GEL DE CS	36
4.2 INJERTO BINARIO EN UN PASO. SÍNTESIS DE (NET-CS)-G-(NVCL/DMAAM)	37
4.2.1 Injerto binario por método directo y pre irradiación oxidativa en gel de quitosano	37
4.2.2 Injerto binario en un paso (net-CS)-g-(NVCL/DMAAm) mediante un método inverso.....	41
4.3 INJERTO BINARIO DE NVCL Y DMAAM EN GEL DE CS EN DOS PASOS POR MÉTODO DIRECTO.....	44
4.3.1 Primer paso. Síntesis de (net-CS)-g-NVCL	44
4.3.2 Segundo paso. Síntesis de [(net-CS)-g-NVCL]-g-DMAAm por método directo	45
4.3.2.1 Efecto del porcentaje de injerto de NVCL en gel de quitosano	46
4.3.2.2 Efecto de la concentración del monímero de DMAAm en el porcentaje de injerto en (net-CS)-g-NVCL.....	47
4.3.2.3 Efecto de la dosis en el porcentaje de injerto.....	48
4.3.3 Segundo paso. Síntesis de [(net-CS)-g-NVCL]-g-DMAAm por método de pre-irradiación oxidativa.....	49
4.4 CARACTERIZACIÓN	51
4.4.1 Tiempo de hinchamiento al equilibrio	51

4.5 DETERMINACIÓN DE PH CRÍTICO	54
4.6 DETERMINACIÓN DE LA TEMPERATURA DE SOLUCIÓN CRÍTICA (LCST)	56
4.7 FTIR-ATR	59
4.8 PROPIEDADES TÉRMICAS.....	62
4.8.1 Análisis termogravimétrico (TGA).....	62
CAPÍTULO 5 .CONCLUSIONES.....	64
6. REFERENCIAS.....	65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Morfología de diferentes copolímeros	5
Figura 2. Efectos de la temperatura sobre el hinchamiento	7
Figura 3. Estructura de la N-vinilcaprolactama y Poli (N-vinilcaprolactama)	8
Figura 4. Fenómeno de LCST en la PNVCL (adaptado de Sun & Wu 2011)	9
Figura 5. Hinchamiento de hidrogeles en respuesta al pH a) aniónico b) catiónico (adaptado de Gupta, et al., 2002)	10
Figura 6. Estructuras químicas de celulosa, quitina y quitosano	12
Figura 7. Proceso de deacetilación de la quitina para obtener quitosano	13
Figura 8. Estructura de la DMAAm y la Poli(DMAAm)	15
Figura 9. Espectro electromagnético	16
Figura 10. Poder de penetración de la radiación ionizante	17
Figura 11. Decaimiento del ⁶⁰ Co	18
Figura 12. Copolimerización de injerto por método directo	21
Figura 13. Injerto por radiación ionizante. Método de pre irradiación oxidativa (adaptado de Muñoz-Muñoz & Bucio, 2012)	22
Figura 14. Copolímero de injerto en una matriz polimérica usando dos monómeros en: (a) un paso y (b) en dos pasos (adaptada de Muñoz-Muñoz & Bucio, 2012). ____	23
Figura 15. Representación esquemática de una termobalanza de TGA	25
Figura 16. Diagrama de flujo para la obtención del injerto binario sobre el hidrogel de CS	27
Figura 17. Reacción de entrecruzamiento del quitosano con formaldehído (Sinh et al., 2006)	36
Figura 18. Mecanismo de injerto de NVCL/DMAAm en gel de CS por método a) pre- irradiación oxidativa y b) directo	38
Figura 19. Efecto de la dosis de radiación en el porcentaje de injerto binario en un paso sobre gel de CS. Concentración 15% NVCL y 5% DMAAm en metanol; Método directo; Pre-irradiación oxidativa. T: 60°C, tiempo de reacción 6h. _____	40
Figura 20. Estabilidad del radical en la NVCL y la DMAAm	41
Figura 21. Dependencia del porcentaje de injerto en función de la dosis a diferentes concentraciones de NVCL y DMAAm.-NVCL/DMAAm (25/10 %v/v) NVCL/DMAAm (15/5 % v/v) NVCL/DMAAm (25/5 % v/v)._____	42

Figura 22. Estructura del quitosano _____	43
Figura 23. Porcentaje de injerto de NVCL en net-CS, en función de la dosis a diferentes concentraciones NVCL (15% v/v), NVCL (25%v/v) en ácido acético. _____	45
Figura 24. Injerto de DMAAm en segundo paso [(net-CS)-g-NVCL]-g-DMAAm. Método directo _____	46
Figura 25. Porcentaje de injerto de DMAAm en (net-CS)-g-NVCL con diferentes porcentajes de injerto. _____	47
Figura 26. Porcentaje de injerto de DMAAm en función de su concentración en metanol en (net-CS)-g-NVCL _{7%} . _____	48
Figura 27. Porcentaje de injerto DMAAm en función de la dosis a diferentes porcentajes de injerto NVCL en el gel de CS. Concentración DMAAm: 5% v/v en metanol. Porcentaje de injerto de NVCL en net-CS: 7% 30% _____	49
Figura 28. Hinchamiento límite para el hidrogel de CS en agua _____	51
Figura 29. Hinchamiento al equilibrio de (net-CS)-g-(NVCL/DMAAm) en un solo paso 11 % de injerto 31% de injerto _____	52
Figura 30. Hinchamiento límite del injerto de en dos pasos. Primer paso (net-CS)-g-NVCL _{12% graft} _____	53
Figura 31. Hinchamiento límite del injerto binario en gel de CS en 2 pasos[(net-CS)-g-NVCL _{7.5% graft}]-g- DMAAm _{2.2 % graft} [(net-CS)-g-NVCL _{12% graft}]-g- DMAAm _{10 % graft} ; [(net-CS)-g-NVCL _{30 % graft}]-g- DMAAm _{7% graft} _____	54
Figura 32. pH crítico de net-CS _____	54
Figura 33. pH crítico (net-CS)-g-NVCL _{4% graft} _____	55
Figura 34. pH crítico de injerto binario. (net-CS)-g-(NVCL/DMAAm) _{31% graft} [(net-CS)-g-NVCL _{7.52 % graft}]-g-DMAAm _{10 % graft} _____	56
Figura 35. Temperatura crítica de (net-CS)-g-NVCL _{9% graft} _____	57
Figura 36. Determinación de la LCST del injerto binario. [(net-CS)-g-NVCL _{7.52graf %}]-g-DMAAm _{10graft %} (net-CS)-g-(NVCL/DMAAm) _{11% graft} _____	57
Figura 37. IR de (a) (net-CS), (b) -(net-CS)-g-(NVCL/DMAAm) y (c) [(net-CS)-g-NVCL]-g-DMAAm _____	59
Figura 38. FTIR del sistema sintetizado por el método inverso: (d) CS-g-(NVCL/DMAAm) y (e) (net-CS)-g-(NVCL/DMAAm) _____	61
Figura 39. Termogramas de TGA _____	62

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Materiales y equipos	26
Tabla 2. Porcentajes de los monómeros utilizados en el método inverso	30
Tabla 3. Porcentaje de reticulación de net-CS al 3% w/v	37
Tabla 4. Porcentaje de reticulación para las muestras (net-CS)-g-(NVCL/DMAAm)	43
Tabla 5. Porcentaje de injerto de DMAAm en un segundo paso por el método de pre-irradiación oxidativa.	50
Tabla 6. Propiedades térmicas de net-CS y los injertos binarios T _{10 °C} : temperatura de descomposición al 10% de pérdida; T _d : temperaturas de descomposición.....	63

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

Los materiales poliméricos han sido muy importantes a lo largo de la historia de la humanidad, son componentes básicos para la vida y desarrollo del ser humano, desde la industria automotriz hasta la alimenticia. Cada vez más se busca desarrollar polímeros o derivados de estos de acuerdo a las necesidades de la humanidad.

Existe un gran interés en los polímeros y su aplicación en áreas como ingeniería, biotecnología y biomedicina. En los últimos años se ha centrado la atención en desarrollar polímeros que puedan responder a ciertos estímulos externos. Recientemente, las investigaciones se han enfocado en aquellos polímeros denominados “inteligentes” con potencial aplicación en biotecnología, inmovilización de compuestos, liberación controlada de fármacos, cromatografía, etc. (Burillo et al, 2012; Meléndez Ortiz & Bucio, 2008; Muñoz-Muñoz and Bucio, 2012; Benamer et al, 2011; Majeti and Kumar, 2000).

El término de “polímero inteligente” se refiere a aquellos sistemas poliméricos que presentan cambios drásticos, físicos y/o químicos en respuesta a pequeños estímulos como puede ser luz, campo eléctrico, campo magnético, pH, temperatura, etc. Estos sistemas son capaces de cambiar sus propiedades en respuesta a un cambio externo.

Nuevas aplicaciones en el campo de la biotecnología, biomedicina e ingeniería han impulsado la síntesis de sistemas inteligentes, sobre todo con respuesta a la temperatura y pH. Para desarrollar o sintetizar esta clase de polímeros, se pueden combinar dos o más materiales en una matriz polimérica, con respuesta a diferentes estímulos.

Un polímero que exhibe respuesta al pH es el quitosano (CS), un polisacárido natural, producto derivado de la desacetilación de la quitina en presencia de una base, no es tóxico, biodegradable y biocompatible (Chmielewski A.G., 2010). El CS puede ser modificado según se requiera para alguna aplicación específica, una de ellas puede ser como una red, es decir un hidrogel (*net-CS*).

La síntesis de hidrogeles ha sido ampliamente investigada por su aplicación potencial en descontaminación de aguas residuales y liberación de fármacos. Los hidrogeles son materiales versátiles, en el que una matriz sólida se dispersa dentro de una fase tipo líquida. Así, los geles combinan su comportamiento, tipo líquido por su capacidad para deformarse y tipo sólido por mantener una forma dada. Los hidrogeles de quitosano, tienen importantes propiedades, como biodegradabilidad, biocompatibilidad, hidroflicidad y respuesta al pH (Majeti N.V., 2000). Además es posible combinarlo con varios materiales para obtener sistemas que respondan a varios estímulos externos específicos. El estímulo más estudiado en los sistemas inteligentes es la temperatura, debido a que este es un proceso crucial en procesos biológicos.

Uno de los sistemas sintetizados que responden a pH y temperatura ha sido el injerto de CS con poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAAM), con aplicaciones biomédicas; ya que presenta una temperatura crítica inferior de solución (LCST) cercana a 32 °C, sin embargo, los productos de hidrólisis son no degradables y tóxicos. Por otro lado existe la poli-N-vinilcaprolactama (PNVCL), un polímero que al igual que el PNIPAM, presenta una LCST en un intervalo de 30-50 °C (Sun S. & Peiyi W., 2011), y las ventajas de este son toxicidad nula, soluble en agua, biocompatible y no iónico (Kozanglu et al., 2011).

También se encuentra la N,N-dimetilacrilamida (DMAAm), monómero altamente hidrofílico y biocompatible, que se ha usado para la modificación de propiedades de hidrogeles.

Al tener polímeros con grupos funcionales diferentes (aminas y amidas) en un sistema, le confiere al material mayor hidroflicidad, por lo tanto su capacidad de absorción mejora, además de presentar respuesta al pH y temperatura.

En este trabajo se presentan diferentes estrategias para la síntesis del injerto binario de NVCL y DMAAm en uno y dos pasos sobre una matriz polimérica de gel de quitosano, mediante el uso de radiación ionizante, otorgándole sensibilidad al pH y temperatura además de mejorar la hidroflicidad del material final.

I HIPÓTESIS

Se sintetizará un sistema de injerto binario “polímero sensible” o “inteligente” basado en un hidrogel de quitosano (*net-CS*) con monómeros de N-vinilcaprolactama y dimetilacrilamida, en un paso (*net-CS*)-g-(NVCL/DMAAm) y dos pasos [(*net-CS*)-g-NVCL]-g-DMAAm; mediante radiación gamma. Los cuales presentarán respuesta a los estímulos de pH y temperatura, que podrán ser utilizados en retención de fármacos y de iones pesados.

II OBJETIVOS

El objetivo general de este trabajo se enfocó a la síntesis del injerto binario de N-vinilcaprolactama (NVCL) y N,N dimetilacrilamida (DMAAm) en hidrogeles de quitosano (CS) en uno y dos pasos por medio de la radiación gamma así como su posterior caracterización. Y comparación en sus propiedades. En base a esto se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- Síntesis de hidrogeles de quitosano con formaldehído como agente reticulante.
- Determinación del grado de acetilación y entrecruzamiento de la red de quitosano (*net-CS*).
- Injerto binario de NVCL/DMAAm en *net-CS* quitosano mediante radiación gamma por diferentes métodos en un paso.
- Injerto binario de NVCL y DMAAm en *net-CS* mediante radiación gamma por método de directo en dos pasos.
- Injerto binario de NVCL/DMAAm en un solo paso sobre quitosano en polvo, y posteriormente realizar el entrecruzamiento del CS.
- Determinación de la temperatura crítica inferior de disolución (LCST) y pH crítico de los sistemas poliméricos sintetizados en uno y dos pasos.
- Caracterización de los injertos binarios sintetizados mediante las técnicas de análisis termogravimétrico (TGA), Infrarrojo (FTIR).

CAPÍTULO 2 . GENERALIDADES

2.1 POLÍMEROS

Nuestros cuerpos como nuestra forma de vida dependen de los polímeros, también llamados macromoléculas. Desde tiempos ancestrales, los materiales poliméricos han sido usados para satisfacer las necesidades humanas: carbohidratos, proteínas, ácidos nucleicos, maderas, resinas naturales y gomas; así como fibras de algodón, lana y seda, entre otros.

Los polímeros son moléculas largas, construidas a partir de unidades repetitivas llamadas monómeros, que son moléculas más simples, unidas covalentemente (Askelan, 2009). La palabra polímero se deriva del griego *poly* que significa mucho y *meros*, que significa partes. Así los polímeros son producidos por la unión de cientos de miles de moléculas pequeñas llamadas monómeros. El tamaño y forma de los polímeros se relaciona con el tipo de enlace presente en las cadenas. La unión de éstos puede ser por medio de enlaces covalentes, atracciones iónicas, puentes de hidrógenos y fuerzas de Van der Waals.

2.2 CLASIFICACIÓN DE POLÍMEROS

Los polímeros pueden clasificarse de diferentes maneras. Por ejemplo, según su composición química se clasifican en orgánicos e inorgánicos; también por su origen si es natural, semi sintético o sintético; o de acuerdo al tipo de polimerización: polímeros de adición y de condensación; según la reacción que proceda, ya sea adición a un doble enlace o por condensación entre moléculas que posean dos o más grupos funcionales; también por su estructura, ya sea amorfo o cristalino; en cuanto a los polímeros que son amorfos, no tienen un orden específico en su estructura, mientras que los cristalinos contienen regiones orientadas a las tres dimensiones y son opacos; los polímeros que son semi-cristalinos, poseen regiones de cristalinidad y amorfas.

Por otra parte, también se pueden clasificar de acuerdo a su estructura química como homopolímeros y copolímeros. Cuando un polímero presenta en su estructura unidades de monómeros idénticos, se dice que es un homopolímero.

Los materiales formados por dos o más monómeros se denominan copolímeros. Un copolímero formado por dos especies de monómeros (A y B) puede clasificarse de diferentes maneras. Por ejemplo, cuando el arreglo de los monómeros A y B se va alternando, el copolímero se llama copolímero alterno, cuando un bloque de unidades monoméricas A se va alternando con un bloque de unidades monoméricas B, se llama copolímero en bloque, también llamados secuenciales. También existen copolímeros de injerto, los cuales están formados por una cadena principal lineal de unidades tipo A, a las cuales se unen cadenas monoméricas del tipo B. Un copolímero al azar está formado por monómeros A y B sin importar como está ordenado en la cadena lineal, tal como se muestra en la Figura 1.

Un copolímero de injerto se sintetiza polimerizando un monómero B en presencia de un polímero A, de manera que los centros iniciadores de las reacciones de polimerización del segundo elemento (B) estén situados todos en el polímero principal (A).

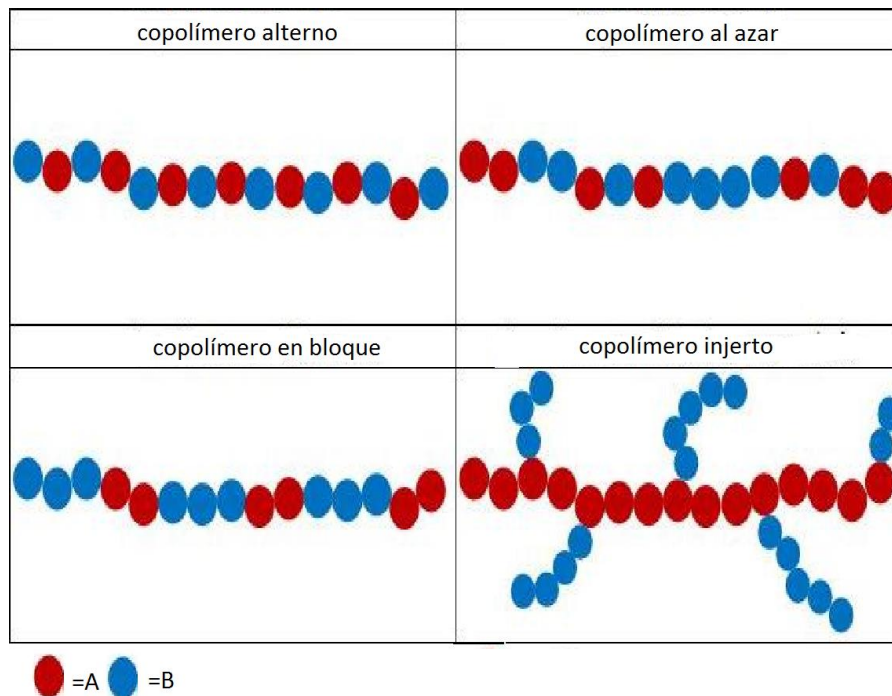


Figura 1. Morfología de diferentes copolímeros

2.3 Polímeros “inteligentes” o estímulo sensibles

Existe un gran interés en los polímeros debido a la extensa gama de aplicaciones en áreas como ingeniería, biotecnología y biomedicina. En los últimos años, se ha centrado la atención en desarrollar polímeros que puedan responder a ciertos estímulos externos. Las investigaciones se han enfocado en los polímeros denominados “inteligentes” debido al potencial de aplicación en la inmovilización de biocompuestos, liberación controlada de fármacos, cromatografía, etc. (Burillo et al, 2012; Meléndez Ortiz & Bucio, 2008; Muñoz-Muñoz & Bucio, 2012; Benamer et al, 2011; Majeti & Kumar, 2000).

Los polímeros “inteligentes” o “estímulo sensibles” son macromoléculas capaces de experimentar una rápida y reversible transición de fase en su microestructura; esta transición es desencadenada por pequeños cambios en el entorno que rodea al material como lo es: la variación de temperatura, cambios en pH, campo eléctrico, luz, fuerza iónica, campo eléctrico, cambio en el disolvente, etc.

La respuesta a estos estímulos ocurre en condiciones de equilibrio, la cual es atribuida a las interacciones o conformaciones presentes entre las cadenas del polímero. La característica especial de estos polímeros es que sus propiedades a nivel macroscópico (hinchamiento, conductividad, elasticidad, etc.) pueden ser controladas a nivel microscópico por la modificación de la estructura y organización de las cadenas del polímero. Los polímeros más estudiados son los que responden a la temperatura y pH.

2.3.1 Polímeros termosensibles

La temperatura es el estímulo más ampliamente usado en los sistemas poliméricos inteligentes. Un gran número de moléculas presentan mayor solubilidad cuando son calentadas, pero algunos polímeros hidrosolubles, precipitan al ser calentados. Esta propiedad es característica de polímeros que disuelven cuando son enfriados y muestran una separación de fases cuando son calentados por encima de una temperatura de transición de fase denominada “temperatura crítica inferior de solución” (LCST por sus siglas en inglés). Por otro lado, también existen materiales que presentan un comportamiento inverso, a la

cual ocurre la separación de fases se le conoce como “temperatura crítica superior de disolución” (UCST por sus siglas en ingles).

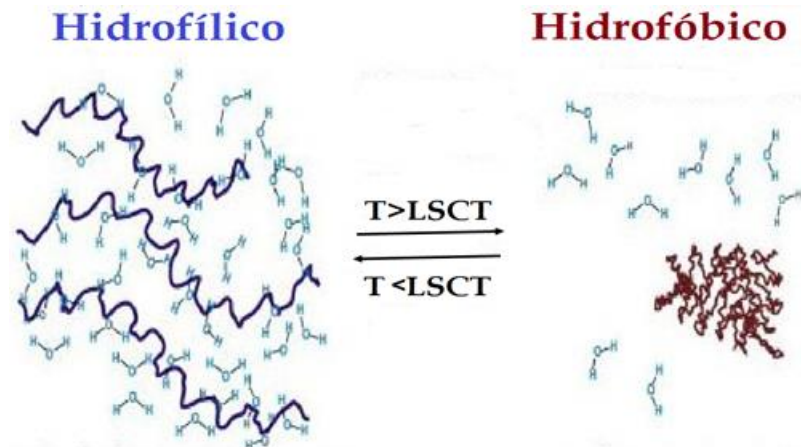


Figura 2. Efectos de la temperatura sobre el hinchamiento

Los polímeros termosensibles generalmente contienen grupos funcionales hidrofóbicos e hidrofílicos dentro de su estructura química, que tienen la capacidad de reorganizarse, dando como resultado fuerzas de atracción intra e intermolecular entre las unidades monoméricas. Conformaciones tales como transición espiral-glóbulo, formación de micelas, separación de fases líquido-líquido, sólido-líquido son algunos ejemplos de auto-organización de los polímeros los termosensibles en solución.

En el fenómeno de LCST el polímero forma una separación de fases en solución y cambia su conformación, debido a que los puentes de hidrógeno entre el grupo hidrofílico del polímero y las moléculas de agua son estables a temperaturas bajas, cuando la temperatura comienza a aumentar los enlaces de puentes de hidrógeno se debilitan e incrementan las interacciones entre los grupos hidrofóbicos de la macromolécula, produciendo un desplazamiento del agua hacia el exterior (Figura 2), el polímero colapsa y la separación de fases ocurre debido a que los puentes de hidrógeno son re-organizados alrededor de la parte no polar de la molécula. El fenómeno de LCST es reversible, cuando la solución es enfriada el polímero termosensible comienza a ser soluble otra vez.

La LCST es sensible a cambios de concentración en el polímero, peso molecular, y composición de la solución. En general, cuando se agregan grupos hidrofóbicos, la LCST

decrece, por otro lado, cuando se agregan grupos hidrofílicos la LCST incrementa, debido a las interacciones entre el agua y el grupo hidrofílico. Algunos polímeros termosensibles son el polietilenglicol (PEG), la etil hidroxietil celulosa (EHC) y la poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAAm) (Meléndez-Ortiz H and Bucio E, 2009; Muñoz-Muñoz F., et al, 2012). Otro polímero que exhibe buena respuesta a la temperatura es la PNVCL, que pertenece a la familia de poli (N-vinilamidas), las cuales han sido estudiadas por sus propiedades fisicoquímicas en soluciones acuosas y biocompatibilidad (Chen C. & Pich A., 2012). La PNVCL posee una LCST en un rango cercano a la temperatura fisiológica (30-50°C).

2.3.1.1 N-vinilcaprolactama (NVCL)

N-vinilcaprolactama (NVCL) es un monómero con carácter anfifílico, que posee un carboxilo y un grupo amida hidrofílico, donde el grupo amida está unido al grupo vinílico que es hidrofóbico.

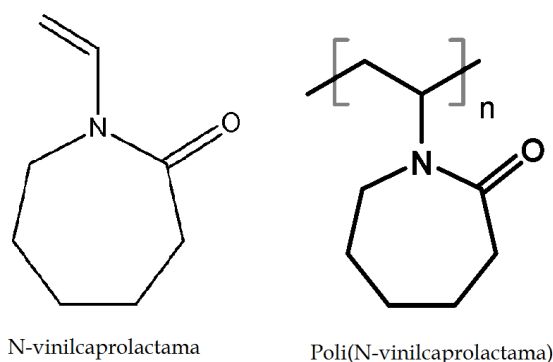


Figura 3. Estructura de la N-vinilcaprolactama y Poli (N-vinilcaprolactama)

La NVCL es un anillo de siete miembros, que consiste en seis carbonos y el nitrógeno del grupo amida que está conectado al doble enlace, por lo tanto la conformación más favorable es en forma de “silla”.

NVCL es un compuesto que se puede disolver en compuestos orgánicos polares y no polares, pero es poco soluble en compuestos acuosos.

Poli (N-vinilcaprolactama) (PNVCL) pertenece al grupo de las poli-N-vinilamida, es soluble en una gran variedad de disolventes como agua, alcoholes (metanol, etano, propanol, etc.)

amidas (DMF), hidrocarburos aromáticos (tolueno, benceno, xilol), pero no es soluble en hidrocarburos y cetonas. No es tóxico, es termosensible y biocompatible (Cheng & Pich, 2012).

La PNVCL es soluble en agua en un rango de temperatura entre los 0 y 30 °C. El calentamiento de soluciones acuosas de PNVCL por arriba de los 32 °C (LCST) genera una separación de fases y la precipitación del polímero. La PNVCL muestra una LCST en un rango de 30 a 50 °C dependiendo de concentración y peso molecular (Sun & Wu, 2011).

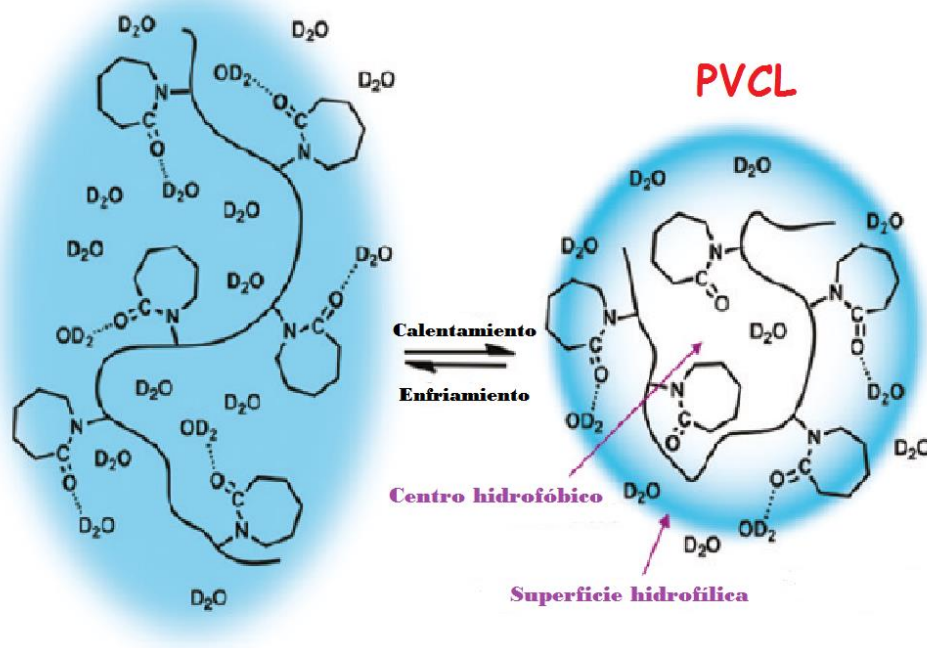


Figura 4. Fenómeno de LCST en la PNVCL (adaptado de Sun & Wu 2011)

En este rango de temperatura, la PNVCL muestra una transición de fase en agua que puede tener aplicaciones en las áreas de bioquímica, medicina y biofarmacia.

2.3.2 Polímeros pH sensibles

Los polímeros sensibles al pH usualmente contienen grupos ionizables dentro de su estructura, como son los grupos carboxilos y amino. El cambio rápido en la carga neta de los grupos causa una alteración en el volumen hidrodinámico de las cadenas poliméricas, es decir, su capacidad de absorción de agua se incrementa. La ionización de los grupos

funcionales depende del pK_a del polímero. Existen dos tipos de polímeros con grupos funcionales que presentan respuesta al pH; los que tienen grupos catiónicos y los aniónicos. Los que contienen grupos catiónicos, como el quitosano, aceptan protones a valores bajos de pH y a valores más altos donan protones; mientras que los grupos aniónicos se ionizan a valores altos de pH, tales como: el poli(ácido acrílico), ácido metacrílico, poli (2-ácido etilacrílico), entre otros.

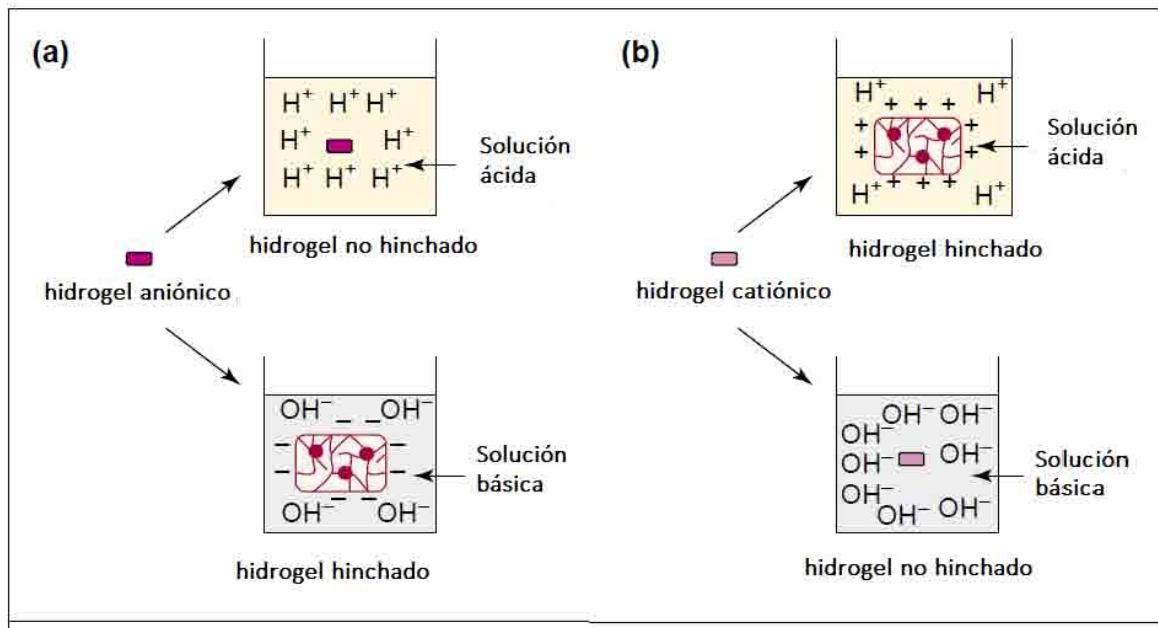


Figura 5. Hinchamiento de hidrogel en respuesta al pH a) aniónico b) catiónico (adaptado de Gupta, et al., 2002)

La Figura 5 muestra el cambio en el volumen en respuesta al pH de los hidrogel, es causado por el carácter ácido o básico del medio. El hinchamiento se da a causa de la ionización de los grupos de la cadena polimérica. Los polímeros con grupos aniónicos no son ionizables por debajo de su pK_a , pero se ionizan por encima de este por causa de los iones presentes en el medio, como consecuencia existe una repulsión de cargas provocando el hinchamiento de la estructura. El caso inverso es de los polímeros con grupos catiónicos, que hinchan en pH bajos y se contraen en pH más altos.

Un polímero que responde al pH es el quitosano (CS), debido a la presencia del grupo amino en su estructura ($pK_a=6.2-6.5$). Cuando el quitosano está en forma de hidrogel, ocurre un

hinchamiento (absorción de agua) y eliminación de agua en su estructura, por la ionización de los grupos amino presentes en la molécula.

El mecanismo de transporte del agua dentro de la estructura puede ser por medio de difusión, convección, o ambos durante el proceso de hinchamiento. El agua y las demás moléculas viajan dentro del gel por diferencia de gradientes de presión osmótica. Todos los polímeros sensibles al pH tienen grupos ácidos o básicos; estos grupos pueden ser ionizados dependiendo del pH del medio y tener un re-arreglo de cargas en la red del polímero que resulta en fuerzas electrostáticas repulsivas, responsables de la dependencia del proceso de hinchamiento/des-hinchamiento del hidrogel. Un ejemplo es el hidrogel de CS, donde los grupos amino son protonados por debajo de su pK_a , por lo tanto el hinchamiento de la estructura ocurre a pHs bajos.

Pequeños cambios en pH, pueden dar como resultado importantes cambios en el tamaño de la red. Teniendo en cuenta que el pK_a del quitosano es 6.5; a $pH > pK_a$, el hidrogel se encuentra en forma colapsada debido a la agregación de las cadenas de quitosano. El hinchamiento del hidrogel y la respuesta al pH cambia dependiendo de los componentes e interacciones entre ellos.

2.3.3 Quitosano (CS)

El biopolímero más abundante en la tierra es la celulosa seguido por la quitina. La celulosa es producida por plantas y la quitina por animales, sus estructuras químicas se muestran en la Figura 6. Se estima que 10 billones de toneladas de quitina son biosintetizadas cada año (Yao, et-al., 2012).

El quitosano (CS) existe como quitina, que es una macromolécula de origen natural. Es un polisacárido formado por unidades de N-acetil-2-amino-2-deoxi-D-glucosa a través de enlaces glucosídicos β -(1,4). El quitosano se forma cuando algunos acetilos son removidos de la quitina. Generalmente, los productos con arriba del 60% del grado de deacetilación (DD), que pueden ser disueltos con ácidos son llamados quitosanos.

Las fuentes de quitina son las siguientes.

Artrópodos: la principal fuente son los crustáceos como camarones y cangrejos, ya que su contenido de quitina es del 58-85%, la segunda fuente de quitina son los insectos (e.g., langosta, mariposas, mosquito, moscas y oruga) con un contenido de 20-60% y miriápodos y arácnidos.

Moluscos incluidos los gasterópodos, cefalópodos, con un contenido de quitina de 3-26%.

Anélidos; éstos contienen 20-38%.

Algunos protozoarios, que son organismos unicelulares. Con pequeña cantidad de quitina

Algas, su contenido de quitina es poco.

La quitina se deriva en quitina α , β y γ . α -quitina comprende 2 cadenas de polisacáridos anti-paralelas. β -quitina comprende 2 cadenas de polisacárido paralelas. γ -quitina comprende tres cadenas de polisacárido paralelas.

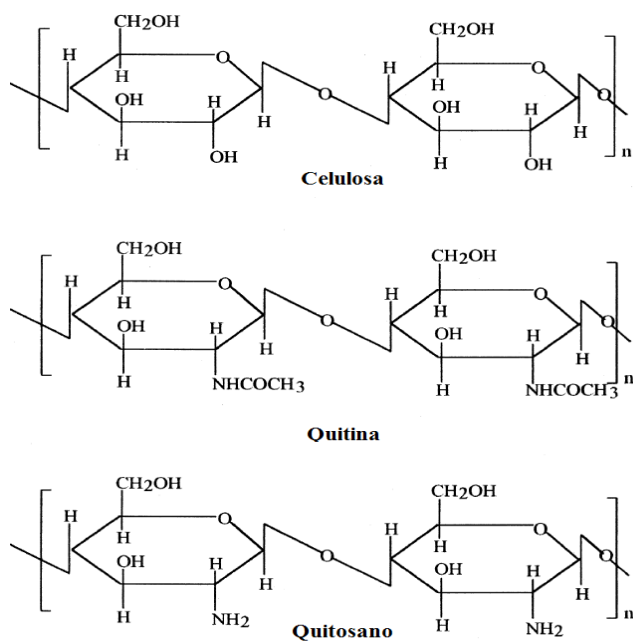


Figura 6. Estructuras químicas de celulosa, quitina y quitosano

La quitina es fácilmente obtenida, como se mencionó anteriormente, de cangrejos, camarones y micelios de hongos. En los primeros productos, el producto de quitina es asociada con la industria alimenticia. En el segundo producto, la producción del complejo quitosano-glucano es asociada a los procesos de fermentación, éste proceso similar al de producción de ácido cítrico de *Aspergillus niger*, *Mucor rouxii*, y *Streptomyces*, que involucra

un tratamiento alcalino. El alcalí remueve la proteína y desacetila la quitina simultáneamente. Por tanto la deacetilación de la quitina se realiza con disoluciones de hidróxido de sodio (40%) a 120°C en un tratamiento de 1-3 h. Este tratamiento produce quitosano con aproximadamente 70% de deacetilación (Figura 7). (Majeti, *et al*, 2000).

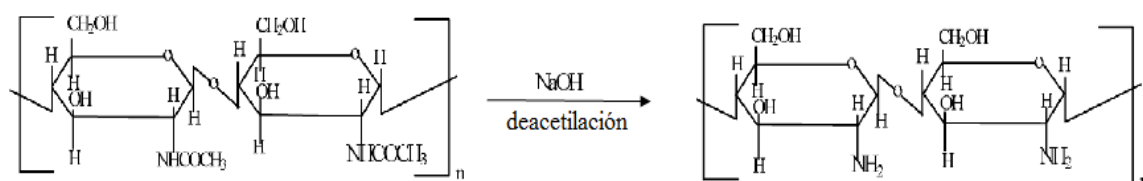


Figura 7. Proceso de deacetilación de la quitina para obtener quitosano

2.3.3.1 Hidrogeles de quitosano

Los hidrogeles son redes de polímeros hidrofílicos, interconectados entre ellos mismos formando una red tridimensional. Estos geles pueden absorber grandes cantidades de agua o fluidos biológicos, sin disolverse e incrementando su volumen drásticamente. La cantidad de agua o fluidos que absorbe depende de varios factores, como son la estructura molecular, el grado de entrecruzamiento, la estructura del gel, así como la cantidad de agua presente en el medio.

Los hidrogeles son considerados como los primeros biomateriales diseñados para uso en el cuerpo humano (Contreras-García et al., 2012; Kost et al., 1987). Una gran variedad de polímeros naturales y sintéticos han sido usados para fabricar hidrogeles. El interés en usar polisacáridos es por su nula toxicidad, biocompatibilidad y biodegradabilidad; las cuales son características requeridas en las áreas de farmacia, biotecnología, ingeniería de tejidos, entre otras aplicaciones. Uno de estos polisacáridos es el quitosano.

Los hidrogeles de quitosano han sido sintetizados con una gran variedad de formas y geometrías que incluyen “beads”, cápsulas, microesféricas, micropartículas, etc. En cada método mencionado, el quitosano es entrecruzado física o químicamente para formar el hidrogel.

2.3.3.2 Reticulación de quitosano

Los hidrogeles son químicamente estables, pero también pueden degradarse y eventualmente disolverse (Hoffman, 2002). Para evitar esta disolución/degradación, se introduce un agente reticulante o entrecruzante. La reticulación es un arreglo intramolecular que presenta enlaces químicos permanentes entre moléculas que originalmente estaban separadas.

El entrecruzamiento por método químico es efectivo para la síntesis de hidrogeles sensibles al pH. El quitosano puede ser entrecruzado por aldehídos o anhidros con dos grupos funcionales, entre estos están el glutaraldehído, glioxal o el más simple de los aldehídos; el formaldehído. La reacción de entrecruzamiento ocurre a temperatura ambiente entre el grupo amino del CS y el carbonilo del formaldehído, formando un grupo imina (base de Schiff). Esta reacción ocurre de manera muy rápida y puede mejorar las propiedades mecánicas y estabilización del hidrogel (Yao et al, 2012; Singh, 2006). La reacción entre el aldehído y el hidroxilo no ocurre frecuentemente.

Los hidrogeles presentan cambios drásticos en su comportamiento de hinchamiento, su estructura, permeabilidad o su respuesta a diferentes estímulos (como temperatura, pH, fuerza iónica, etc). Son llamados polímeros “inteligentes” en el sentido que pueden percibir el estímulo y responden con un cambio en su estructura. Además, se han desarrollado sistemas que combinen más de un estímulo. Por ejemplo los hidrogeles de CS que responden al pH también pueden responder a la temperatura cuando son modificados con algún polímero termosensible como la N-isopropilacrilamida o la N-vinilcaprolactama (Prabaharan et-al, 2008; Sanoj et al, 2011; Montes et al, 2014; Cai. et al, 2005; Recillas et al, 2011).

2.4 N,N'-dimetilacrilamida (DMAAm)

La N,N'-dimetilacrilamida (DMAAm) es un monómero altamente hidrofílico. En los últimos años ha crecido el interés por este polímero ya que al ser altamente soluble en agua y por su

carácter hidrofílico puede modificar la LCST y pH de algunos homopolímeros (Cortes Ortega, 2013; Bauri et al, 2013).

Cuando la DMAAm es copolimerizado con algunos monómeros sensibles a la temperatura el copolímero en solución acuosa muestra una LCST más alta que la del monómero solo, debido a la naturaleza hidrofílica de la DMAAm (Bauri et al, 2013; Contreras, 2008).

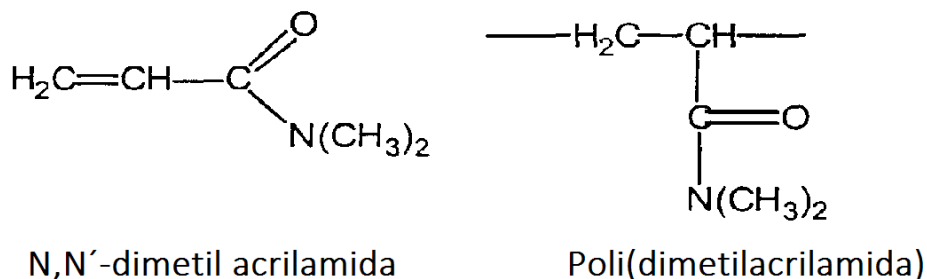


Figura 8. Estructura de la DMAAm y la Poli(DMAAm)

La estructura de la DMAAm y el homopolímero se muestra en la Figura 8. Este polímero puede ser polimerizado e injertado sobre otros polímeros o hidrogeles para mejorar sus propiedades hidrofílicas, disminuyendo la velocidad de liberación del agua.

Por lo tanto, los hidrogeles copolimerizados con DMAAm sensibles a la temperatura, pueden aumentar su LCST dependiendo de la proporción de DMAAm adicionada.

Además este monómero se ha sido utilizado para retener o inmovilizar algunos metales debido a su capacidad de formar complejos con los iones metálicos (Rivas & Moreno-Villoslada, 1998). La combinación con otros polímeros, como el quitosano, puede aumentar la capacidad de adsorción de metales debido a la existencia de grupos $-\text{NH}_2$ libres en su estructura.

2.5 Radiación ionizante

La radiación o energía radiante consiste en la propagación de energía en formas de ondas electromagnéticas o partículas subatómicas a través del vacío o en un medio material. La radiación electromagnética se clasifica de acuerdo a su frecuencia en: ondas de radio, microondas, infrarrojo, visible, UV, rayos X y rayos gamma.

El espectro electromagnético abarca un intervalo de frecuencia o longitudes de onda que pueden ser divididos en distintas regiones, las cuales se les denomina con un nombre particular como se muestra en la Figura 9.

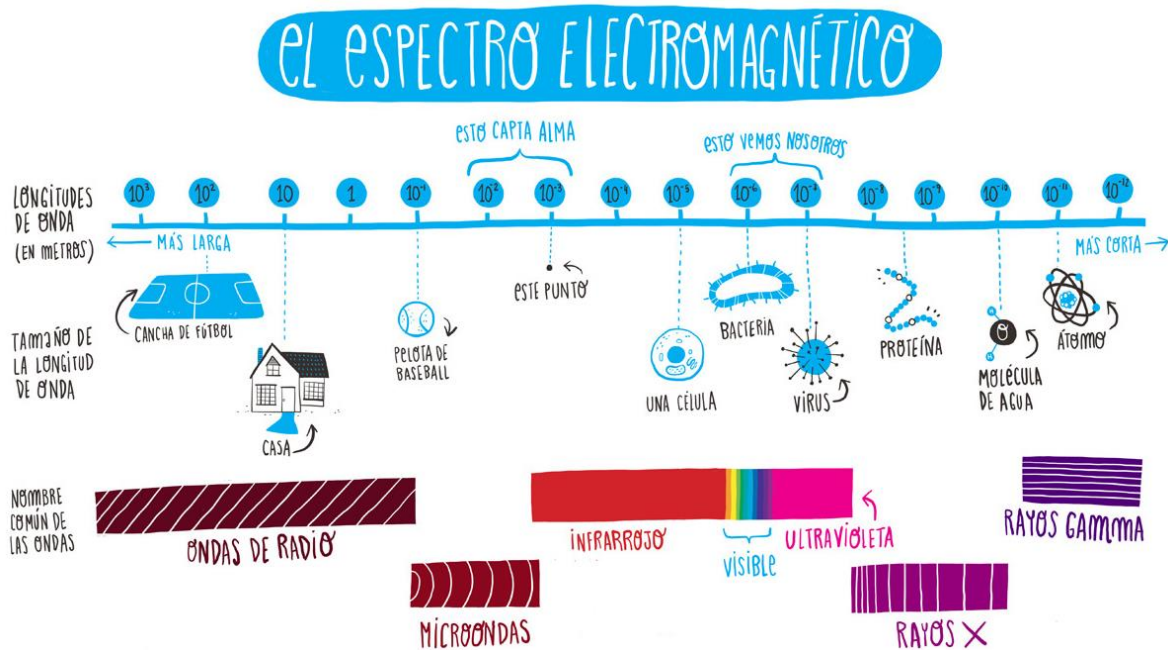


Figura 9. Espectro electromagnético

La radiación α , β y γ tienen diferente alcance o rango en los materiales, gracias a la energía que tiene cada tipo de radiación. De manera que si damos valor de 1 al alcance de penetración de las partículas α , las partículas β tendrían un valor de 100, mientras que los rayos γ tendrían un valor de 10, 000 (Sears, 1999).

Mientras la radiación α tan sólo penetra en las capas superficiales de la piel, la radiación β puede penetrar tejido vivo del grosor de un dedo. Los rayos gamma, son tan energéticos que sólo pueden ser detenidos por materiales densos, como una pared de concreto, plomo o varios metros de agua.

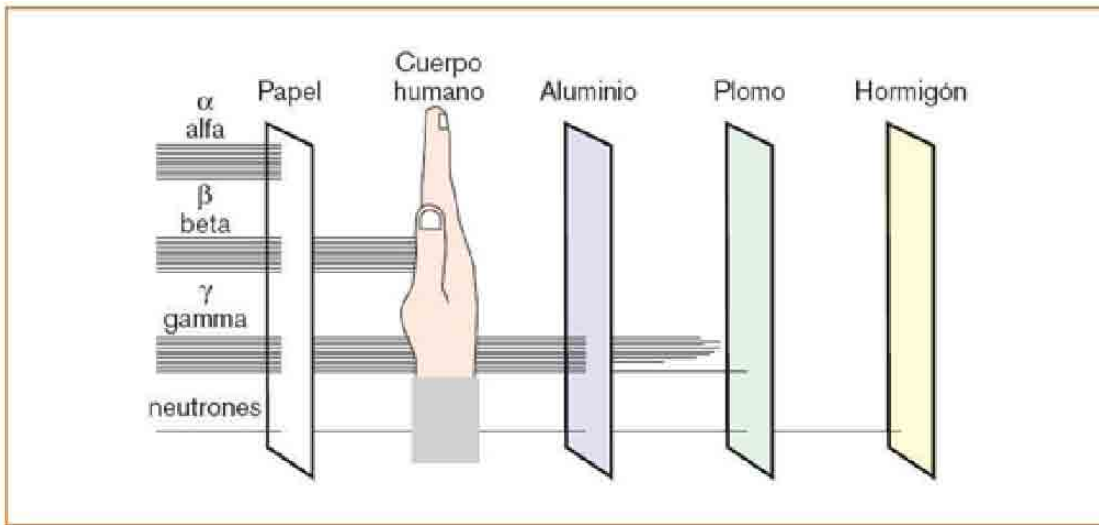


Figura 10. Poder de penetración de la radiación ionizante

La radiación de alta energía es capaz de hacer salir los electrones más externos de los átomos y moléculas convirtiéndolos en iones. Cuando esto ocurre, se habla de un proceso de ionización y los pueden causar básicamente los rayos gamma, rayos x, electrones acelerados y neutrones.

El uso de la radiación ionizante es muy amplio y actualmente, las instalaciones como los irradiadores gamma emplean elementos radiactivos producidos en los reactores nucleares, tal es el caso del ^{60}Co .

Los rayos gamma provenientes del ^{60}Co y ^{137}Cs tienen una longitud de onda muy corta y energía alta. Los rayos gamma del ^{137}Cs tienen un valor de 0.661 MeV, mientras que el ^{60}Co tiene dos rayos gamma de 1.17 y 1.33 MeV.

2.5.1 Cobalto-60 (^{60}Co)

El ^{60}Co es la fuente de radiación gamma más usada en la investigación y en procesos industriales, el cual es un isótopo radiactivo del cobalto. Para obtener al ^{60}Co se expone el ^{59}Co estable ante un haz de neutrones en un reactor nuclear, donde los átomos cambian su masa en una unidad, dando así al isótopo ^{60}Co , mediante la reacción nuclear $^{59}\text{Co}(n,\gamma)^{60}\text{Co}$. La Figura 11 muestra el esquema de decaimiento del ^{60}Co , donde se detalla la energía y el porcentaje de los rayos por medio de los cuales decae a un elemento estable.

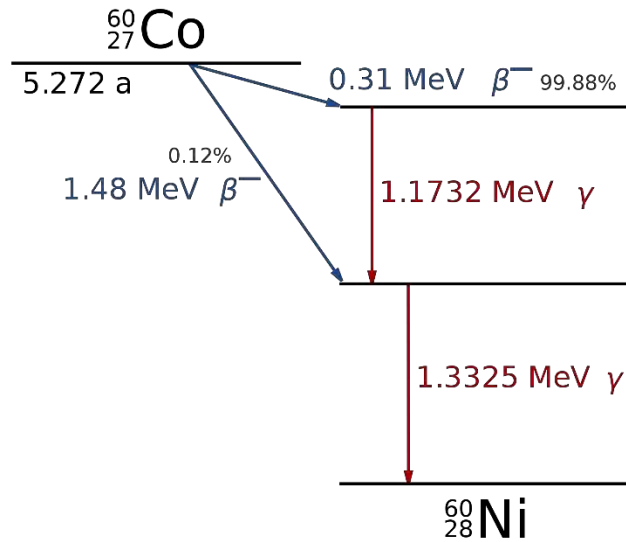


Figura 11. Decaimiento del ^{60}Co

2.5.2 Interacción de la radiación con la materia

Los rayos gamma (γ) son emitidos por el núcleo, cuando éste se encuentra en un estado excitado y decae a un nivel inferior de energía. Este tipo de radiación no posee carga eléctrica ni masa, por lo que, la interacción con la materia no es por atracción o repulsión eléctrica. Los principales mecanismos de interacción de la radiación con la materia son: (Navarrete & Cabrera, 1993; Vértes and Kiss, 1987)

1. Efecto fotoeléctrico
2. Efecto Compton
3. Formación de pares

Por medio de estos tres mecanismos, la radiación será capaz de generar la ionización y excitación de la materia. En los materiales poliméricos, ésta interacción ocurre mediante el efecto Compton principalmente.

2.5.2.1 Efecto fotoeléctrico

En este proceso el fotón incidente pierde totalmente su energía en el choque con un electrón de las capas internas del átomo. Los electrones se encuentran retenidos en sus capas electrónicas con cierta energía. Para que alguno de ellos pueda ser arrancado y suceda el efecto fotoeléctrico, es necesario que la radiación incidente tenga al menos una energía igual

a la energía de unión del electrón. El efecto fotoeléctrico no es posible por interacción de un fotón con un electrón libre, ya que debe de intervenir otra partícula para que se conserve la cantidad de movimiento. El efecto fotoeléctrico es más probable cuando el electrón está más fuertemente unido. La probabilidad de que tenga lugar el efecto fotoeléctrico es notablemente mayor a “bajas” energías y alta sección eficaz como en el caso de un material atenuador como el plomo. (Vértés & Kiss, 1987). A energías bajas, los electrones son emitidos preferentemente formando un ángulo de 90° en relación con la dirección del fotón incidente. A energías más elevadas, la distribución se desplaza hacia adelante.

En esta interacción, la totalidad de la energía del fotón se transfiere a un electrón de las capas L y K del átomo y es expulsado con cierta energía cinética. El fotón desaparece por completo y el exceso de energía en relación a la energía de unión del electrón se convierte en energía cinética del electrón. El fotón no ioniza más que un solo átomo y el electrón desplazado puede excitar o ionizar numerosos átomos y moléculas. La ionización interna causada por el efecto fotoeléctrico termina con la emisión simultánea de rayos X, que también son un tipo de fotón.

2.5.2.2 Efecto Compton

En este efecto, el fotón sólo cede una parte de su energía al electrón de las capas más externas. El fotón incidente se dispersa de su trayectoria con cierto ángulo respecto de su dirección incidente disminuyendo su energía y un electrón es desviado de su órbita. En esta interacción se conserva la energía y la cantidad de movimiento. El efecto Compton es una interacción elástica entre el fotón incidente y un electrón libre o ligado fuertemente a su núcleo, que se supone en reposo. Cabe decir que si el electrón está ligado fuertemente a su núcleo, todo el átomo experimenta retroceso por la interacción con el fotón incidente. La probabilidad que ocurra este efecto es notable a energías “medias”, la prevalencia del efecto Compton puede extenderse, entre aproximadamente, 20 keV y 30 MeV.

2.5.2.3 Formación de pares

En este proceso, el fotón desaparece totalmente y en su lugar aparece el par negatrón-positrón (por lo que se dice que el fotón es absorbido cerca del núcleo); se trata de una transformación de energía en materia. Como la suma de las masas en reposo del negatrón y positrón equivalen a una energía de 1.02 MeV, esta tendrá que ser la energía mínima del fotón incidente para que pueda tener lugar la formación o producción de pares. Luego entonces la formación del par depende de la energía del fotón y del número atómico, generalmente alto, con el que interacciona. La formación ocurre en el campo colombiano del núcleo atómico.

El negatrón y el positrón pierden rápidamente su energía cinética por colisiones con los átomos o partículas circundantes. Una gran cantidad de los positrones formados en esta interacción se transforman en radiación de aniquilación.

2.6 Radiación de polímeros

La radiación ionizante es una herramienta muy útil para modificar materiales poliméricos, ya que pueden iniciar reacciones a cualquier temperatura y en cualquier estado (Chapiro, 1962). La ventaja más grande que presenta es que no es necesario el uso de iniciadores químicos, por lo que en el producto final estará libre de residuos del iniciador.

La radiación promueve la ionización y excitación del material. En los polímeros produce principalmente radicales libres, los cuales son altamente reactivos, produciendo cambios en la estructura fisicoquímica del polímero. Un proceso por el que se pueden modificar los polímeros para mejorar sus propiedades es mediante el injerto por radiación.

2.6.1 Injerto

El injerto en polímeros consiste en introducir cadenas lateralmente a una matriz polimérica por medio de formación de enlaces covalentes.

El injerto en polímeros es muy importante desde un punto de vista tecnológico, puesto que se pueden sintetizar polímeros con ciertas propiedades que con un homopolímero no se

obtendrían. Varios materiales biocompatibles son modificados injertando otros monómeros para potencializar su respuesta o modificar sus propiedades. Existen diferentes métodos para sintetizar copolímeros de injerto, los cuales se pueden dividir en métodos químicos y físicos.

Un método físico conveniente para la modificación de polímeros es por medio de radiación ionizante. El injerto de polímeros mediante este método involucra la formación de especies muy reactivas: radicales libres, iones y moléculas excitadas, produciendo la formación de enlaces covalentes sobre la matriz polimérica, de manera que se combinan las propiedades de cada polímero.

Existen tres formas principales para injertar un monómero en un polímero mediante radiación ionizante, estas son: método directo, método de pre irradiación y pre irradiación oxidativa (Chapiro, 1962).

2.6.1.1 Método directo

Este método consiste en irradiar el polímero en presencia del monómero bajo una atmosfera inerte. El monómero puede estar en fase gas, vapor, o en disolución. La radiación produce radicales libres en la cadena principal del polímero, los cuales inician el injerto, formando ramificaciones en la estructura principal (Figura 12).

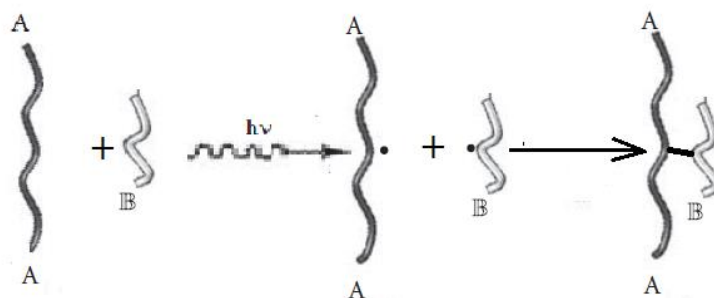


Figura 12. Copolimerización de injerto por método directo

En este método el efecto de la radiación ionizante no es selectivo, dando también la formación de radicales en el monómero, por consecuencia la formación de homopolímero es alta. Para la reducir la formación de este, se usan inhibidores de radicales como Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} o llevar a cabo la reacción a baja temperatura.

2.6.1.2 Método de Pre-irradiación

El material polimérico es irradiado en atmosfera inerte. Como resultado, los macrorradicales formados quedan atrapados en la cadena del polímero y al entran en contacto con las moléculas del monómero, inician el proceso de injerto. La principal desventaja de este método es que los macrorradicales formados se pueden combinar con otros macrorradicales adyacentes, ocurriendo posiblemente entrecruzamiento de las cadenas. Por consecuencia el porcentaje injerto es bajo comparado con el método directo.

2.6.1.3 Método de pre-irradiación oxidativa

El injerto también puede obtenerse irradiando la matriz polimérica en presencia de aire, para formar peróxidos e hidroperóxidos, los cuales al calentarse forman radicales libres que comienzan el proceso de injerto (Figura 13). Una de las ventajas de este método es que se pueden almacenar las muestras irradiadas a baja temperatura por determinados periodos de tiempo, al igual que detener la reacción de injerto en cualquier momento. Sus desventajas es que requiere dosis más altas que en el método directo.

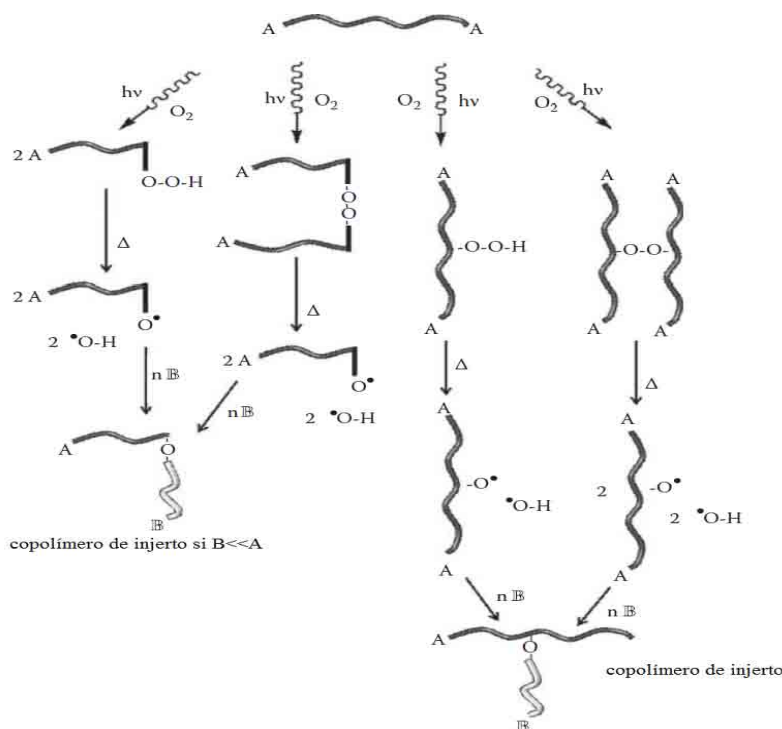


Figura 13. Injerto por radiación ionizante. Método de pre irradiación oxidativa (adaptado de Muñoz-Muñoz & Bucio, 2012)

2.6.2 Injerto binario

Cuando se sintetiza un copolímero de injerto binario, puede ser obtenido mediante uno y dos pasos usando los métodos anteriormente descritos.

El injerto en un paso consiste en injertar los dos monómeros al mismo tiempo sobre la matriz polimérica, obteniéndose un copolímero al azar (Figura 14 a). Por el contrario, el injerto en dos pasos consiste en injertar uno de los monómeros primero y posteriormente injertar el otro por separado, obteniéndose un copolímero en bloque (Figura 14 b). La ventaja de este método respecto al anterior, es que se sabe la cantidad de monómeros injertados en cada paso.

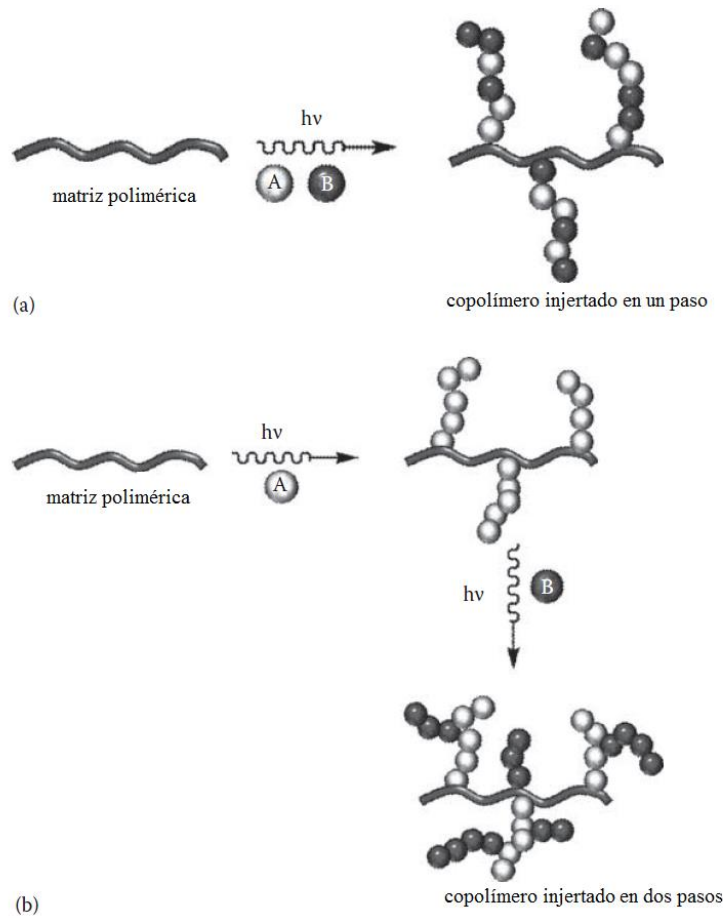


Figura 14. Copolímero de injerto en una matriz polimérica usando dos monómeros en: (a) un paso y (b) en dos pasos (adaptada de Muñoz-Muñoz & Bucio, 2012).

2.7 Caracterización

2.7.1 Espectroscopia de infrarrojo (FTIR-ATR)

La espectroscopia de infrarrojo es la interacción de la radiación electromagnética de la región infrarroja con la materia. La radiación infrarroja se encuentra en el rango de $10000-100\text{ cm}^{-1}$, es absorbida y convertida por las moléculas a energía de vibración molecular, este tipo de energía es la suma de todas las vibraciones que pueden tener las diferentes uniones químicas.

Esta absorción puede ser cuantificada y la longitud de onda de absorción depende de los átomos involucrados en la vibración y de la fuerza de unión. Una unión química vibrando solo podrá absorber radiación infrarroja si la vibración provoca un momento dipolo que varíe a las mismas frecuencias que la radiación infrarroja absorbida. Al medir y expresar gráficamente la energía absorbida se tiene un espectro de infrarrojo. Las intensidades de las bandas pueden ser expresadas en términos de transmitancia (T) o absorbancia (A).

La espectroscopia infrarroja está considerada como una prueba de identidad. Cuando se comparan los espectros de una muestra patrón y el de un compuesto igual a la misma concentración, los dos espectros deberán ser iguales.

La técnica de reflectancia total atenuada (ATR) permite una mayor sensibilidad en el análisis de la muestra, ya que está en contacto directo con un sólido con un alto índice de refracción. El haz de luz infrarroja es incidido en el sólido que presentará una refracción interna total, que atenuará el rayo y este llegará a la muestra. Esto hace que se obtenga mayor versatilidad en el análisis de sustancias sólidas y líquidas, ya que la preparación de las muestras es prácticamente inexistente y la limpieza de los instrumentos es muy sencilla.

2.7.2 Análisis termogravimétrico (TGA)

El análisis termogravimétrico se puede definir como la técnica en que se mide la pérdida de peso de una muestra en función de la temperatura. Entre los cambios que se presentan al calentar son descomposición, sublimación, reducción, desorción, absorción, etc.

El equipo utilizado en análisis termogravimétrico es una termobalanza que consta de 5 partes principales: una microbalanza y su equipo de control; un horno y los sensores de temperatura, habitualmente un termopar colocado en las proximidades de la muestra pero no en contacto con ella; un programador de temperatura; un controlador de la atmósfera (tipo de gas y caudal) y un dispositivo para almacenar los datos de peso y temperatura fundamentalmente. La microbalanza es sostenida por un brazo, la posición de este se mide mediante un sensor óptico, el cual a cualquier cambio de masa origina un desequilibrio en el brazo y origina una corriente que se comunica a la bobina y la vuelve a la posición inicial en la trayectoria de haz luminoso que se detecta con fotoceldas. La corriente resultante se amplifica y se registra, además de alimentar la bobina del galvanómetro, haciendo que el haz regrese a su posición inicial (Figura 15).

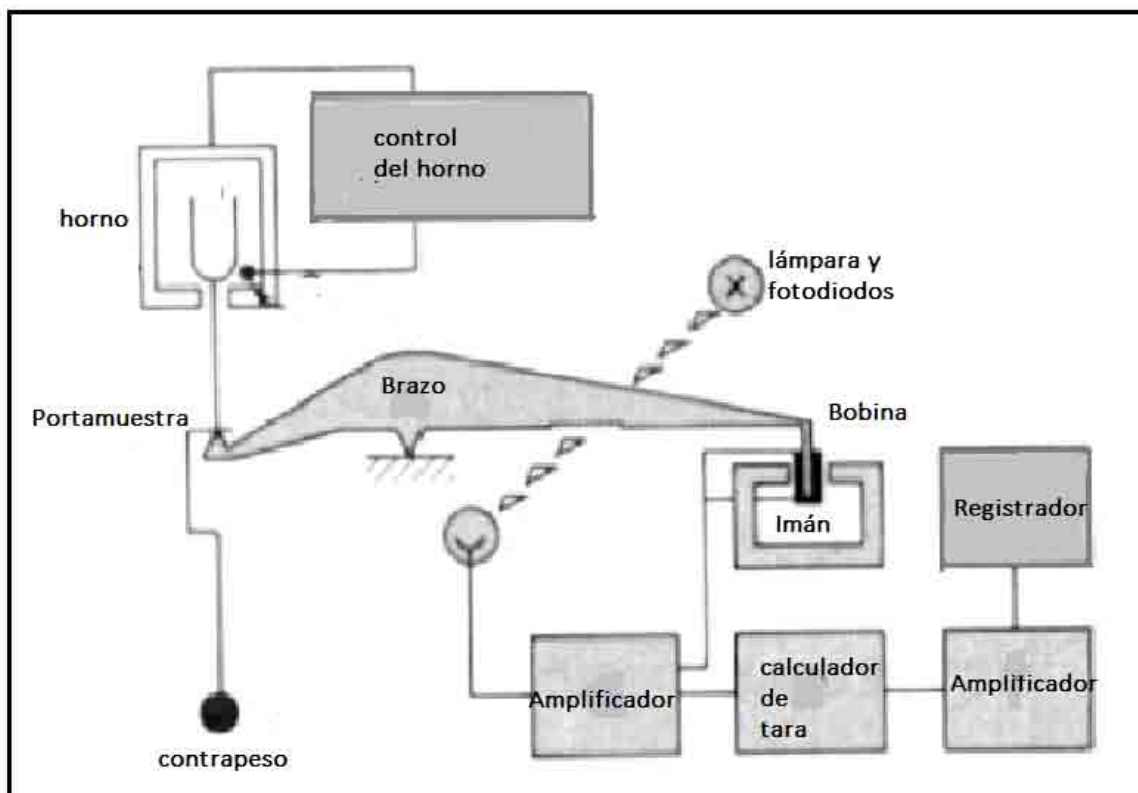


Figura 15. Representación esquemática de una termobalanza de TGA

CAPÍTULO 3 . PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

A continuación se describe la parte experimental que se siguió para la síntesis del injerto binario, así como su posterior caracterización.

3.1 Materiales y Equipo

Tabla 1. Materiales y equipos

Material	Equipos
<ul style="list-style-type: none">• Quitosano, de bajo peso molecular, se adquirió en Sigma Aldrich. Se utilizó como se recibió.• Dimetilacrilamida (DMAAm) y N-vinilcaprolactama (NVCL) de Sigma Aldrich (Aldrich USA), fueron destilados previamente a presión reducida.• Formaldehído, metanol, ácido acético y acetona de Sigma Aldrich, se utilizaron como se recibieron.• Las soluciones amortiguadoras para determinar pH, fueron preparadas a partir de ácido cítrico monohidratado, pureza 100%; y fosfato de sodio dibásico anhidro con pureza de 99.8%. Adquiridos en Baker.	<ul style="list-style-type: none">• Fuente de radiación de ^{60}Co (Gamma beam 651 PT, Nordion International).• Espectrómetro FTIR infrarrojo con transformada de Fourier y punta de diamante. Perkin-Elmer Spectrum 100 (Perkin Elmer Cetus Instruments, Norwalk CT)• Equipo TGA Q50 (TA Instruments, New Castle)• Potenciómetro HI4212, Hanna Instruments, con electrodo de Ag/AgCl

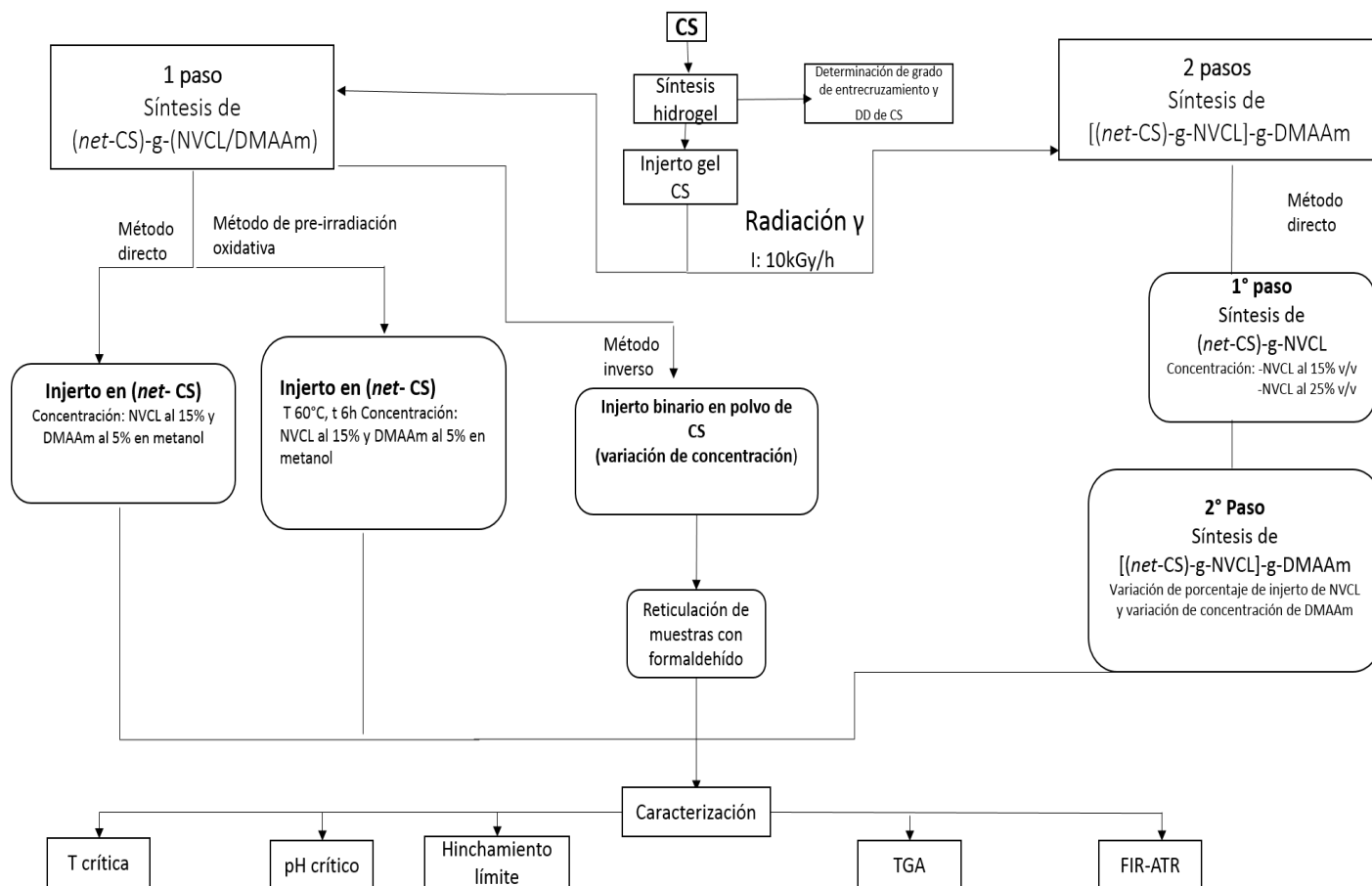


Figura 16. Diagrama de flujo para la obtención del injerto binario sobre el hidrogel de CS

3.2 Preparación de hidrogel de quitosano (*net-CS*)

Para la formación de los geles de quitosano se usan agentes entrecruzantes, como son los di aldehídos, tales como el glicoxal, glutaraldehído y el más simple de ellos, el formaldehído, que reacciona con el grupo amina del CS para formar la red. Para la síntesis de los hidrogeles se utilizó una solución de quitosano (3% w/v), las cuales se prepararon disolviendo el CS en una solución acuosa de ácido acético al 10% v/v. Se colocaron 15 mL de la disolución de quitosano en cajas petri de teflón y se agregó el formaldehído que viene disminuido en el envase con una concentración de 10 %v/w respecto al CS. Se dejó reaccionar en la campana aproximadamente 72 h. Una vez seco, se lavó por 24 h con ácido acético al 1% v/v para eliminar el CS no reticulado, después se lavó con agua destilada hasta llegar a pH neutro.

3.3 Determinación del porcentaje de desacetilación del CS y porcentaje de reticulación del gel de CS

Es importante calcular el grado de desacetilación del quitosano con el cual se está trabajando, para eso se usó el método que describe Czechwska-Biskup, por medio de titulación ácido-base (Czechowska-Biskup *et al*, 2012). Una muestra de quitosano en polvo, aproximadamente 0.125 g, se colocó en un matraz Erlenmeyer de 125 mL y se agregó 25 mL de una disolución acuosa de ácido clorhídrico 0.1 M. Se dejó en agitación durante 24 h y transcurrido este tiempo se tituló con una solución acuosa de NaOH 0.1 M, se fue registrando el cambio de pH por cada mililitro de hidróxido de sodio agregado. Se construyó un gráfico de volumen de NaOH agregados vs pH dando dos puntos de inflexión. Por medio del gráfico se calculó el porcentaje de grupo amino libre o grado de desacetilación (DD) mediante la siguiente ecuación.

$$DD\% = \frac{(C_1 * V_1 - C_2 * V_2) * 10^{-3} * 16}{0.994 * G} * 100 \dots\dots\dots (1)$$

Donde C_1 y V_1 es la concentración en $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ y volumen de HCl respectivamente; C_2 y V_2 es la concentración y el volumen de NaOH utilizado respectivamente; donde G es el peso de la muestra en gramos, 16 g/mol es el peso molecular del grupo amino y 0.994 la fracción teórica de grupos NH_2 presentes en el quitosano 100% desacetilado (Jia *et al*, 2005; Czechowska-Biskup *et al*, 2012). El grado de desacetilación determinado del CS fue de 79%.

Para calcular el grado de reticulación del gel de quitosano, se utilizó el siguiente método; el gel de CS previamente sintetizado, se puso en una solución de ácido acético al 1% previamente pesado durante 24 h a agitación constante, transcurrido el tiempo, se lavó con agua destilada hasta pH neutro, se secó a vacío y se registró el peso. Para calcular el porcentaje de reticulación se usó la siguiente ecuación.

$$\%reticulaci3n = \left(\frac{w_f}{w_o} \right) * 100 \dots\dots\dots (2)$$

Donde W_f y W_o es el peso del quitosano después y antes de la extracción con ácido acético.

3.4 Injerto binario en un paso. Síntesis de (*net*-CS)-g-(NVCL/DMAAm)

En esta sección se describe la síntesis del injerto (*net*-CS)-g-(NVCL/DMAAm) en un paso en el gel de CS por método directo, pre-irradiación oxidativa y método inverso.

3.4.1 Injerto binario por método directo en gel de quitosano

El hidrogel de quitosano se trituró en un mortero con pistilo, se pesaron aproximadamente 0.1 g de la muestra y se sumergieron en 7 mL de una solución de NVCL (15 %v/v) y DMAAm (5 %v/v) en metanol durante 24 h, transcurrido este tiempo se sacaron las muestras de la disolución y se transfirieron a ampollitas de vidrio con junta esmerilada unida a un tubo de vidrio. Con el fin de eliminar el oxígeno presente, se burbujeó argón durante 20 min, se sellaron y se irradiaron en un intervalo de dosis de 2.5-15 kGy con una intensidad de 10 kGy/h. Posteriormente se abrieron las ampollitas, se hicieron lavados del hidrogel con de ácido acético al 1% v/v, después se extrajo con agua durante 24 h para eliminar los residuos de la solución de NVCL/DMAAm así como el copolímero no injertado, y se secaron a vacío hasta peso constante.

El porcentaje de injerto (G%) se calculó de la siguiente forma

$$G\% = \frac{W_g - W_o}{W_o} * 100 \dots\dots\dots(3)$$

Donde

W_g es el peso del injerto y W_o el peso inicial del gel de CS.

3.4.2 Injerto binario por método de pre-irradiación oxidativa en gel de quitosano

Se tomaron muestras del hidrogel de quitosano, se trituraron en un mortero con pistilo y se introdujeron en ampollitas de vidrio; enseguida se irradiaron en presencia de aire con dosis entre 2.5-15 kGy y una intensidad de 10 kGy/h. Posteriormente se agregó una solución de NVCL al 15% v/v y DMAAm al 5% v/v en metanol (7 mL en cada ampollita).

Con el fin de eliminar el oxígeno presente, se burbujeó argón a las ampollitas durante 20 min, se sellaron y se dejaron hinchar por 24 h, que es el periodo de hinchamiento máximo del gel de quitosano. Transcurrido este periodo, se pusieron a reaccionar a una temperatura de 60 °C durante 6 h. Pasado este tiempo, se abrió la ampollita, se extrajo el hidrogel con ácido acético al

1% v/v y después con agua para eliminar los residuos de la disolución de NVCL/DMAAm. Posteriormente se secaron a vacío hasta peso constante.

El porcentaje de injerto se calculó mediante la ecuación (3) donde W_g es el peso del injerto y W_o el peso inicial del gel de CS.

3.4.3 Injerto binario en quitosano en polvo por método directo (método inverso)

El método inverso consiste en realizar primero el injerto de los monómeros (NVCL y DMAAm) en un solo paso sobre polvo de quitosano (sin previa disolución); y en un segundo paso (de manera “inversa” al método previo), reticular el quitosano injertado con el formaldehído. Para ello, se colocaron aproximadamente 0.2 g de quitosano en polvo dentro de ampollitas de vidrio tipo Pyrex. En cada ampollita se agregaron 7 mL de una mezcla de los 2 monómeros disueltos en metanol. Se realizaron 3 ensayos con distintas relaciones de porcentaje en volumen de los monómeros, de acuerdo a lo mostrado en la Tabla 2.

Tabla 2. Porcentajes de los monómeros utilizados en el método inverso

Monómero	NVCL (% v)	DMAAm (% v)
Ensayo 1	15	5
Ensayo 2	25	10
Ensayo 3	25	5

A cada ampollita se le burbujeó argón por un lapso de 20 minutos para eliminar el oxígeno presente. Una vez eliminado el oxígeno, la ampollita fue sellada y refrigerada por 24 h para su posterior irradiación. Las dosis de irradiación fueron de 2.5-15 kGy con una intensidad de 10 kGy/h. Al término de la irradiación, se extrajo el material formado dentro de las ampollitas y se lavó con agua destilada por un periodo de 24 h para eliminar los restos de monómeros sin injertar. Se filtraron con un crisol de placa porosa, se secaron al vacío y fueron pesados. De manera análoga, una ampollita control fue sometida al mismo procedimiento descrito, pero evitando la irradiación. De esta manera podemos estimar la pérdida en peso de CS debido a la metodología seguida. Para la presente investigación, se obtuvo una pérdida de aproximadamente 10 % en peso.

El porcentaje de injerto (G %) se calculó con la ecuación (3); donde W_g y W_o son el peso del CS injertado y el peso inicial del CS, respectivamente. Finalmente, se hizo la corrección al porcentaje de injerto, multiplicando la ecuación anterior por 0.1, correspondiente al porcentaje de pérdida de la muestra control.

Una vez obtenido el injerto binario sobre el CS, se procedió a la reticulación del material de acuerdo al procedimiento experimental descrito en la sección 3.2. El copolímero de injerto (CS-g-NVCL/DMAAm), se disolvió en ácido acético al 10 % (v/v), se colocó en cajas Petri de teflón y se les agregó formaldehído. Después de 72 h las muestras fueron lavadas con ácido acético al 1 % v/v y después con agua hasta alcanzar pH neutro.

Cuando fue sintetizado el gel, se calculó el porcentaje de reticulación con la ecuación (2); donde W_o y W_f son el peso del quitosano antes y después de la extracción con ácido acético.

3.5 Injerto binario de NVCL y DMAAm en gel de CS en dos pasos por método directo

En esta sección se describe la síntesis del injerto [(*net*-CS)-g-NVCL]-g-DMAAm en dos pasos por método directo. En el primer paso se injerto la NVCL y en un segundo paso se injerto la DMAAm.

3.5.1 Primer paso. Síntesis de (*net*-CS)-g-NVCL

En el primero paso, el gel de quitosano (aproximadamente 0.08 g) se sumergió en una solución de NVCL al 15 o 25 % v/v en ácido acético (10 % v/v) durante 24 h, a continuación las muestras de gel de quitosano hinchadas se sacaron del disolvente y se transfirieron a ampollitas de vidrio; se burbujeo argón durante 20 min, se selló la ampolleta y se mandó a irradiar con dosis de 2.5-20 kGy con una intensidad de 10 kGy/h. Después de irradiar las ampollitas, se lavó el injerto (*net*-CS)-g-NVCL con ácido acético al 1% y después con agua durante 24 h para eliminar el homopolímero formado y el monómero no injertado, las muestras injertadas se secaron al vacío por 24 h.

El porcentaje de injerto de NVCL fue calculado con la ecuación (3). Donde W_g y W_o son el peso del gel de CS injertado con NVCL y el peso inicial de *net*-CS, respectivamente.

3.5.2 Segundo paso. Síntesis de [(net-CS)-g-NVCL]-g-DMAAM

Después de que se injertó el monómero de NVCL en la red CS, se buscaron las condiciones óptimas para injertar la DMAAm, por lo que se estudió la influencia de varios factores, como porcentaje de injerto de NVCL, la concentración de DMAAm y la dosis de radiación. A continuación se describe el procedimiento.

3.5.2.1 Influencia del porcentaje de injerto de NVCL en gel de quitosano sobre el injerto de DMAAm en un segundo paso

Se pesaron muestras con diferentes porcentajes de injerto de NVCL obtenidas en el primer paso y se sumergieron en una disolución de DMAAm al 10% en metanol durante 24 h. Después de este tiempo, se sacaron de la disolución, fueron colocadas en ampolletas de vidrio, se burbujeó argón durante 20 min y se sellaron. Se irradiaron a una dosis de 12 kGy, posteriormente se extrajeron las muestras con agua durante 24 h para eliminar el homopolímero y el monómero no injertado, a continuación fueron secadas y pesadas. El porcentaje de injerto se calculó con la ecuación (3) donde W_g es el peso de [(net-CS)-g-NVCL]-g-DMAAm y W_o es el peso inicial de (net-CS)-g-NVCL.

3.5.2.2 Influencia de la concentración de DMAAm en el injerto en un segundo paso

Cuando que se tuvo el porcentaje de injerto de NVCL bajo diferentes condiciones, se procedió a estudiar la influencia de la concentración de DMAAm. Para este experimento, se pesaron muestras injertadas de (net-CS)-g-NVCL con 7 % de injerto y se sumergieron en una disolución en metanol de DMAAm a diferentes concentraciones (2, 5, 8, 10, 12 %) durante 24 h. Una vez transcurrido el tiempo se retiraron de la solución y se colocaron en ampolletas de vidrio re-sellables (con juntas esmeriladas y un tramo de tubo de vidrio para el sellado de la ampolleta), se burbujeó argón durante 20 min y después se irradiaron a una dosis de 12 kGy. Al concluir el tiempo de irradiación, las muestras injertadas se lavaron con agua durante 24 h para retirar los subproductos formados por la irradiación. El copolímero fue secado a vacío hasta peso constante. Se calculó el porcentaje de injerto de las muestras con la ecuación (3) donde W_g es el peso de [(net-CS)-g-NVCL]-g-DMAAm y W_o es el peso inicial de (net-CS)-g-NVCL.

3.5.2.3 Injerto de DMAAm en función de la dosis

Una vez determinados los factores óptimos de concentración (5% v/v) y porcentaje de injerto de NVCL (7%), se estudió la influencia de la radiación de dosis sobre el porcentaje de injerto.

Se pesaron muestras con injertos de NVCL al 7 y 30% y se sumergieron en una disolución de DMAAm al 5% v/v durante 24 h. En seguida se retiraron de la disolución y se colocaron en ampollitas de vidrio re-sellables, se les burbujeó argón por un periodo de 20 minutos, se sellaron y se irradiaron a dosis de 2.5, 5, 8, 10, 12, 15, y 20 kGy. Posteriormente, las muestras se lavaron con agua durante 24 h y secaron en una estufa de vacío. El cálculo de injerto se realizó mediante la ecuación (3) en el que W_g es el peso del gel de CS injertado y W_o es el peso de (*net*-CS)-g-NVCL.

3.5.3 Injerto de DMAAm por pre irradiación oxidativa en películas de CS-g-NVCL

Algunas muestras injertadas con NVCL, previamente pesadas se colocaron en ampollitas tipo Pyrex y fueron pre-irradiadas en presencias de aire a una dosis de 10 kGy; enseguida se les agregó una disolución de DMAAm en metanol al 5% v/v y se burbujeó argón durante 20 min para después sellarlas y calentarlas a 60 °C, a diferentes tiempos de reacción (1, 3, 6, y 9 h).

Posteriormente, se lavaron con agua durante 24 h, se secaron al vacío y pesaron. Se calculó el porcentaje de injerto con la ecuación (3), donde W_g y W_o son el peso del gel de CS con DMAAm y el peso inicial de CS-g-NVCL, respectivamente.

3.6 Caracterización

3.6.1 Tiempo de hinchamiento al equilibrio

El hinchamiento para los diferentes sistemas sintetizados fue determinado gravimétricamente.

El tiempo de hinchamiento en el equilibrio o hinchamiento máximo es el periodo que tardan las muestras en absorber la máxima cantidad de agua en su estructura. Para ello, se colocó una pequeña pieza de gel de quitosano seco o de injerto en el gel de quitosano, (aproximadamente 0.08 g) previamente pesada, en agua destilada y se pesó cada determinado tiempo hasta obtener un peso constante.

La expresión que se usó para calcular el hinchamiento en equilibrio es

$$\% \text{ hinchamiento} = \frac{W_f - W_o}{W_o} * 100 \dots\dots\dots(4)$$

Donde:

W_f = peso del hidrogel hinchado

W_o = peso del hidrogel seco

3.6.2 pH crítico

La sensibilidad al pH de las muestras injertadas y del gel de quitosano, fue evaluada a partir de la relación de hinchamiento máximo, variando el pH por medio de soluciones buffer de Na_2HPO_4 /ácido cítrico (González-Pérez, 2009; Montané-Cruz., 2013).

Las mediciones fueron llevadas a cabo en un rango de pH de 2 a 6. Las muestras con las cuales se hizo este experimento, primero se pesaron secas, después se sumergieron en una solución buffer de pH conocido a temperatura ambiente, hasta alcanzar el tiempo de hinchamiento límite. Posteriormente se sacaron las piezas de gel, se elimina el excedente de solución buffer y se pesan, a continuación se sumergen nuevamente en la soluciones con los diferentes pHs. Se registraron los diferentes pesos de las muestras en diferentes soluciones buffer para construir un gráfico de % hinchamiento versus pH. Para calcular el porcentaje de hinchamiento se utilizó la ecuación (4). El pH crítico se identificó como el punto de inflexión en el gráfico que se realizó.

3.6.3 Temperatura crítica (LCST)

La temperatura crítica inferior de solución de las muestras fue determinada de la relación de hinchamiento con respecto a la temperatura.

El procedimiento consiste en pesar las muestras secas, sumergirlas en agua destilada a una temperatura dada en un baño maría, hasta alcanzar el tiempo de hinchamiento límite. Pasado el tiempo, se secan las muestras con un poco de papel secante para eliminar el exceso de agua y se pesan. Se vuelven a sumergir y se cambia la temperatura del baño. El intervalo de temperatura a la cual se sometieron los injertos fue de 17-45 ° C. Se realizó un gráfico % de hinchamiento en función de la temperatura. La temperatura crítica se identificó como el punto de inflexión en el gráfico.

3.6.4 FTIR-ATR

La caracterización de los materiales fue llevada a cabo en un espectrómetro Perkin-Elmer Spectrum 100 (Perkin Elmer Cetus Instruments, Norwalk CT) con el accesorio de reflectancia total atenuada (ATR) con punta de diamante; en un rango de número de onda de 4000 a 600 cm^{-1} .

3.6.5 Propiedades térmicas

Las propiedades térmicas de *(net-CS)*, *(net-CS)-g-(NVCL/DMAAm)* y *[(net-CS)-g-NVCL]-g-DMAAm* fueron determinadas por análisis termogravimétrico (TGA).

3.6.5.1 Análisis termogravimétrico (TGA)

Para evaluar la estabilidad térmica se usó un equipo de termogravimetría, modelo TGA Q50 (TA Instruments, New Castle) con una velocidad de calentamiento de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ con atmósfera de nitrógeno, partiendo de temperatura ambiente hasta 700°C . La masa de las muestras fue de 10-15 mg aproximadamente.

CAPÍTULO 4 . ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1 Porcentaje de reticulación del gel de CS

En el entrecruzamiento de quitosano (*net-CS*) las cadenas del polímero están conectadas entre sí, por medio de un agente entrecruzante. En el presente trabajo se utilizó formaldehído como entrecruzante, ya que se ha demostrado que el comportamiento de hinchamiento del sistema resultante es mejor que el que se puede presentar con un entrecruzante distinto (Singh, 2006; Monier, 2012).

Uno de los agentes entrecruzantes más usados en quitosano es el glutaraldehído, que es usado para asegurar buenas propiedades mecánicas y estabilidad química, pero se ha encontrado que tiene un efecto negativo en la capacidad de adsorción (Monier, 2011). Por esa razón se decidió usar formaldehído. La reacción de entrecruzamiento ocurre formando una base de Schiff entre el grupo amino de la estructura del CS y el grupo carbonilo del aldehído. El mecanismo se observa en la Figura 17.

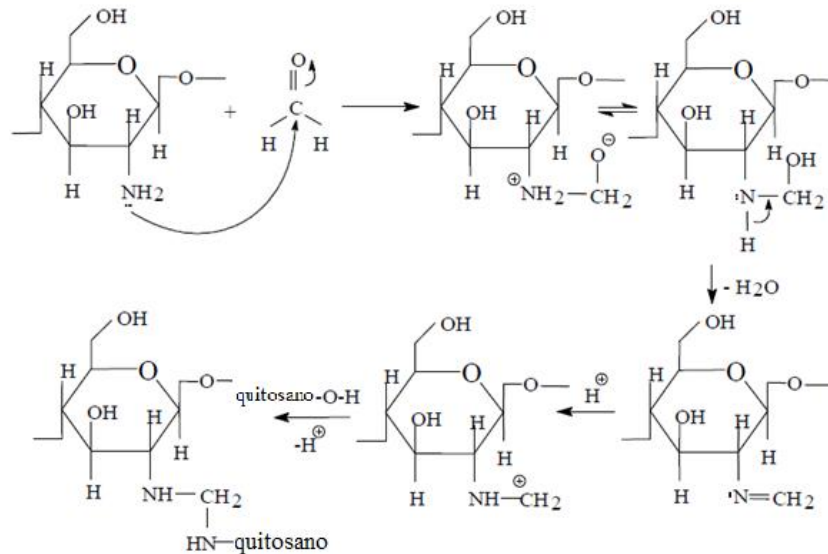


Figura 17. Reacción de entrecruzamiento del quitosano con formaldehído (Sinh et al., 2006)

El porcentaje de gel de C se calculó por medio de la ecuación (2). Los resultados se muestran en la tabla 3 donde el porcentaje de gel promedio fue del 90.65%, por lo tanto, la mayoría de las

cadenas de quitosano están unidas al menos con otra cadena, y hay alrededor de 10 % que se encuentran sin interconectarse con otra.

Tabla 3. Porcentaje de reticulación de net-CS al 3% w/v

Muestra	Peso inicial (W_0)	Peso CS después Extracción (W_f)	% Reticulación
A	0.5224	0.4733	90.60
B	0.4153	0.3767	90.70
promedio			90.65

El grado de entrecruzamiento afecta su comportamiento de hinchamiento y está relacionado con la concentración de formaldehído utilizada, en este caso fue de 10 % v/v respecto a la disolución de CS, lo cual resultó ser suficiente para obtener un alto porcentaje de gel. En general entre más entrecruzado está una red, el grado de hinchamiento decrece porque existe una mayor cantidad de enlaces químicos entre las cadenas, provocando que sea más difícil que se difunda el agua o cualquier disolvente dentro de la estructura. Los geles de CS obtenidos mostraron porcentajes de hinchamientos altos, alrededor de 400 % cuyo comportamiento será discutido posteriormente (equilibrio de hinchamiento, sección 4.4.1).

4.2 Injerto binario en un paso. Síntesis de (*net-CS*)-g-(NVCL/DMAAm)

4.2.1 Injerto binario por método directo y pre irradiación oxidativa en gel de quitosano

Los monómeros de NVCL y DMAAm fueron injertados en hidrogeles de quitosano mediante método directo y de pre irradiación oxidativa (Fig 19).

Para el método de pre irradiación oxidativa, el gel de CS se irradió a dosis entre 2.5 y 15 kGy en presencia de oxígeno, a continuación se le agregaron los monómeros en concentración de NVCL (15% v/v) y DMAAm (5% v/v) en metanol. De igual forma el gel de CS fue irradiado por método directo a la misma concentración de monómeros. La Figura 18 muestra el proceso de injerto de NVCL/DMAAm sobre *net-CS* por método directo y de pre-irradiación oxidativa en un solo paso.

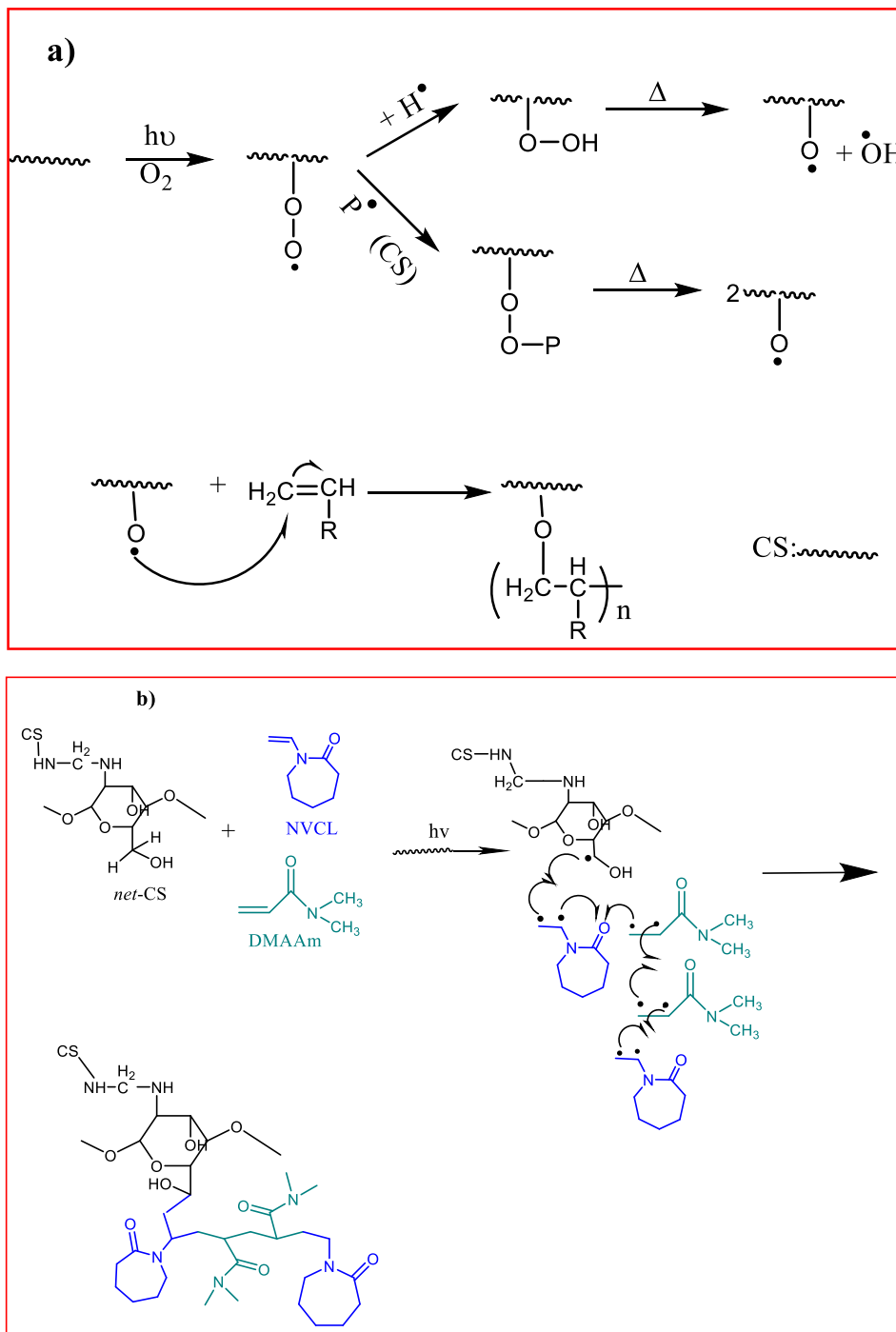


Figura 18. Mecanismo de injerto de NVCL/DMAAm en gel de CS por método a) pre-irradiación oxidativa y b) directo

En la Figura 19 se observa la dependencia del porcentaje de injerto con respecto a la dosis por el método de pre-irradiación oxidativa y método directo. Cuando la dosis es mayor, el porcentaje de injerto aumenta, sin embargo, los porcentajes de injerto son muy bajos para el método de pre-

irradiación oxidativa, alrededor de 2 %, mientras que con el método directo se obtienen injertos de hasta 30 % a una dosis de 10 kGy.

El método de pre-irradiación oxidativa forma peróxidos e hidroperóxidos, que se pueden recombinar entre ellos, o pueden ser desactivados por otras reacciones secundarias. Cuando la cantidad de radicales formados no son lo suficientes en el polímero, no hay injerto o éste es poco. En este caso, el escaso porcentaje de injerto se debe a que el quitosano está en forma de una red (gel), y los monómeros deben de penetrar dentro de la estructura del gel para poder reaccionar con los sitios activos e injertarse. Sin embargo, la difusión de los monómeros es muy lenta debido a las redes compactas de la estructura. Si se incrementara la dosis (>15 kGy) para formar más sitios activos, y por tanto obtener mayor cantidad de injerto, el CS se degradaría considerablemente. Por el contrario, el método directo demostró ser mejor para injertar los dos monómeros, puesto que en este método se ponen en contacto directo la matriz polimérica y los monómeros durante la irradiación, así los macroradicales formados reaccionan inmediatamente con los monómeros y se obtienen mejores porcentajes de injerto. Los injertos obtenidos por este método fueron del 13% al 31% para dosis de 2.5-10 kGy.

Después de llegar a un máximo, los niveles de injerto decrecen por dos motivos principales; la degradación del CS (escisión de la cadena polimérica y apertura del anillo) a partir de los 12 kGy (Chmielewski, 2010; Gryczka, et al 2009; Montes, et-al 2014); y el incremento en la formación del homopolímero o del copolímero, predominando la poli(DMAAm).

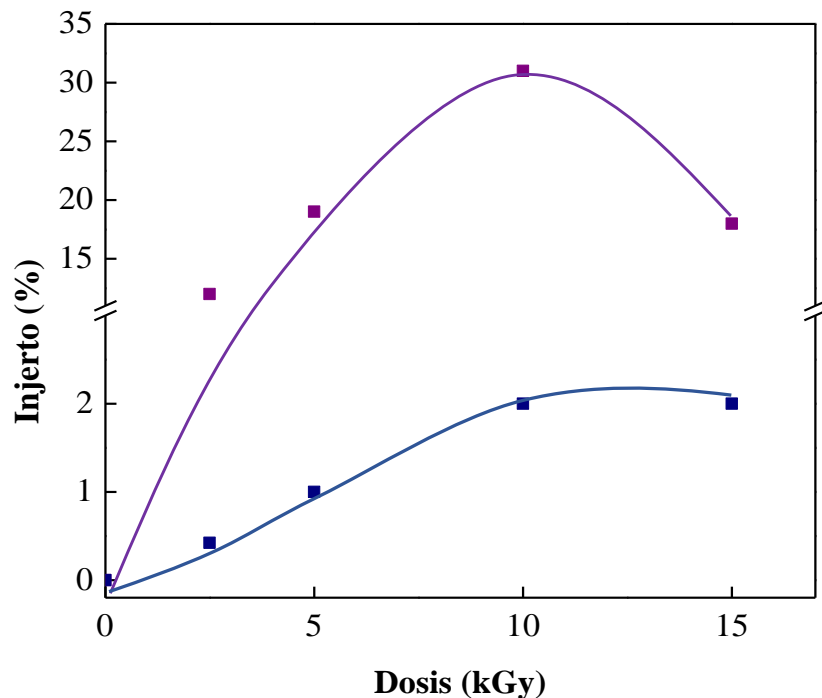


Figura 19. Efecto de la dosis de radiación en el porcentaje de injerto binario en un paso sobre gel de CS. Concentración 15% NVCL y 5% DMAAm en metanol; ■ Método directo; ■ Pre-irradiación oxidativa. T: 60°C, tiempo de reacción 6h.

La radiación ionizante produce especies activas en los monómeros de naturaleza vinílica como la NVCL y la DMAAm (Figura 20). Los sitios activos de la NVCL y de la DMAAm se forman en el carbono secundario, por ser el más estable. En la DMAAm el radical es estabilizado por un carbono cargado parcialmente positivo, mientras que el radical de la NVCL es estabilizado por el nitrógeno del compuesto, por tanto, la NVCL tiene mayor estabilidad.

Por otro lado, la DMAAm difunde mejor dentro de la red polimérica del CS, debido a su estructura (ya que no presenta impedimento estérico como la NVCL) en consecuencia, se puede injertar en mayor cantidad.

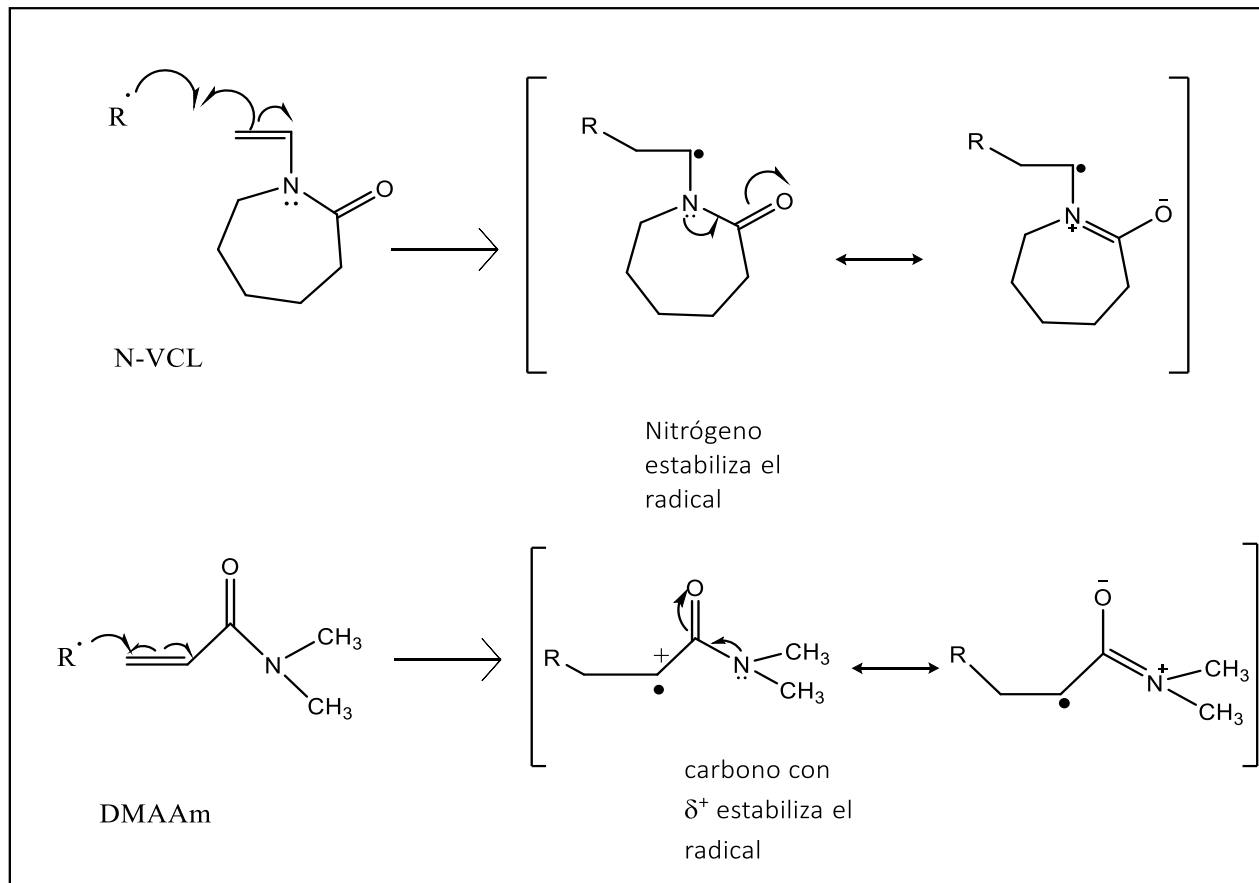


Figura 20. Estabilidad del radical en la NVCL y la DMAAm

4.2.2 Injerto binario en un paso (*net-CS*)-g-(NVCL/DMAAm) mediante un método inverso

En este método primero se sintetizó el injerto binario de NVCL y DMAAm en polvo de CS en un solo paso, con dosis de 5-25 kGy, a diferentes concentraciones de NVCL y DMAAm en metanol y, posteriormente se llevó a cabo la reticulación del CS injertado con formaldehído.

La Figura 21 muestra el porcentaje del injerto respecto a la dosis y la concentración de los monómeros. Cuando se mantuvo constante la concentración de DMAAm (5 %) el porcentaje de injerto aumentó al incrementar la concentración de NVCL hasta alcanzar un máximo a 10 kGy, este comportamiento puede ser explicado considerando que las moléculas de CS tienen mayor superficie de contacto con los monómeros y difunden más fácilmente, por lo tanto, cuando existe mayor número de moléculas de NVCL el injerto aumenta al haberse agotado el monómero de DMAAm. Cuando la concentración de DMAAm es de 10 % v/v, el proceso de injerto aumenta

lentamente debido al proceso de homopolimerización, esto genera un incremento en la viscosidad del medio y dificulta la movilidad de los macrorradicales, reflejándose en bajos porcentajes de injerto.

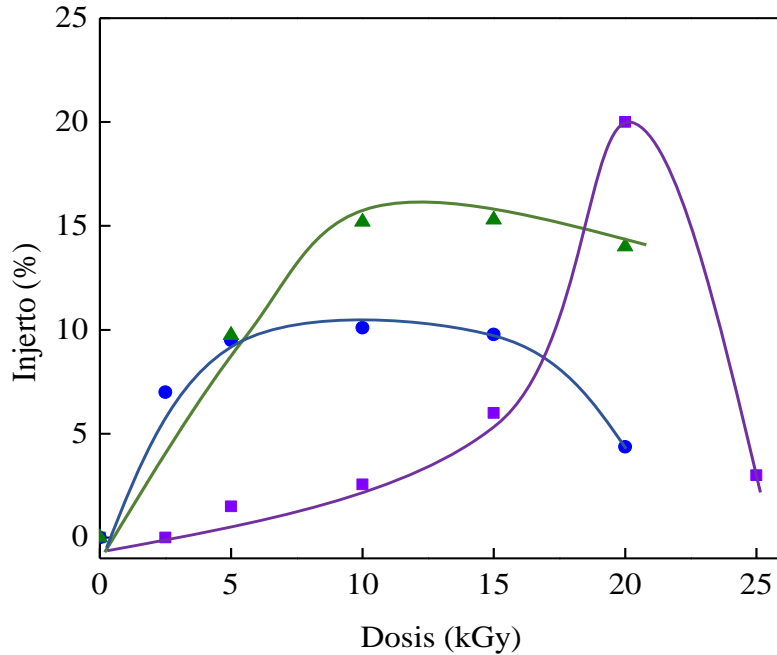


Figura 21. Dependencia del porcentaje de injerto en función de la dosis a diferentes concentraciones de NVCL y DMAAm.- ■ NVCL/DMAAm (25/10 %v/v) ● NVCL/DMAAm (15/5 % v/v) ▲ NVCL/DMAAm (25/5 % v/v).

Una vez que se injertaron los monómeros, se procedió a reticular el copolímero de injerto, para ello se disolvió en ácido acético buscando la concentración de CS (3 % w/v) y el mismo porcentaje de agente reticulante descrito en la sección experimental 3.2. Para conocer el porcentaje en gel de cada copolímero a diferentes dosis se hizo una extracción con ácido acético y los porcentajes de reticulación obtenidos se calcularon con la ecuación (2) (Tabla 4). Los resultados son el promedio del porcentaje de reticulación de las muestras a la misma dosis, pero diferentes concentraciones de monómeros.

Tabla 4. Porcentaje de reticulación para las muestras (net-CS)-g-(NVCL/DMAAm)

Muestra	Reticulación (%)	Injerto (%)
5 kGy	99	9.75
10 kGy	94	15.3
15 kGy	98	15.2
20 kGy	97	14.1
promedio	97	

El porcentaje de reticulación de las muestras injertadas fue en promedio de 97 %, sin importar el porcentaje de injerto de los monómeros. Los resultados muestran que la reacción de reticulación y la de injerto no ocurre en el mismo sitio, de manera que la reacción de injerto, se lleva a cabo en la posición del carbono 2 y carbono 6 del quitosano (Figura 22) (Gryczka et al., 2009; Hong, et al., 2005; Liu, et al., 2001), mientras que el entrecruzamiento ocurre entre el grupo amino del quitosano y el carbonilo del formaldehído para obtener una base de Schiff, formando un grupo imina, lo cual se confirmó por medio de espectroscopia de infrarrojo (Fig 38).

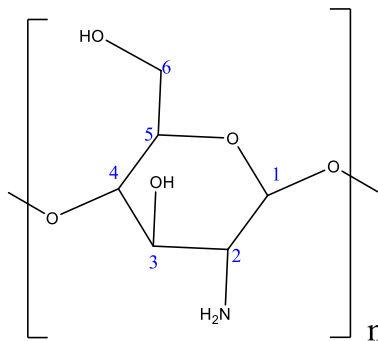


Figura 22. Estructura del quitosano

4.3 Injerto binario de NVCL y DMAAm en gel de CS en dos pasos por método directo

4.3.1 Primer paso. Síntesis de (*net*-CS)-g-NVCL

El copolímero (*net*-CS)-g-NVCL se sintetizó por método directo (2.5-20 kGy), dado que esta técnica demostró porcentajes de injerto más altos (Figura 19). Para ello, el hidrogel fue irradiado en ausencia de aire en disoluciones de NVCL a dos diferentes concentraciones (15 y 25 % v/v).

La Figura 23 muestra la relación entre la cantidad de NVCL injertada y la dosis aplicada para dos concentraciones del monómero. Los porcentajes de injerto aumentan progresivamente y alcanzan un máximo en 12 kGy cuando la concentración fue 25 % y 8 kGy para 15 %. Sin embargo, los niveles de injerto decrecen al llegar a dosis más altas (>15 kGy). Esto sucede porque al aumentar la dosis, una mayor cantidad de radicales libres son producidos en la matriz polimérica y el monómero, provocando la formación de mayor porcentaje de homopolímero que dificulta la difusión de las moléculas dentro de la red, esto genera que el porcentaje de injerto disminuya. Además a dosis mayores a 10 kGy el quitosano se degrada rápidamente debido a la apertura de anillo y depolimerización.

La concentración más baja de NVCL (15 %) resulta en porcentajes de injerto más altos. Una alta concentración de monómero forma mayor cantidad de homopolímero y dificulta la difusión de este en el polímero de CS.

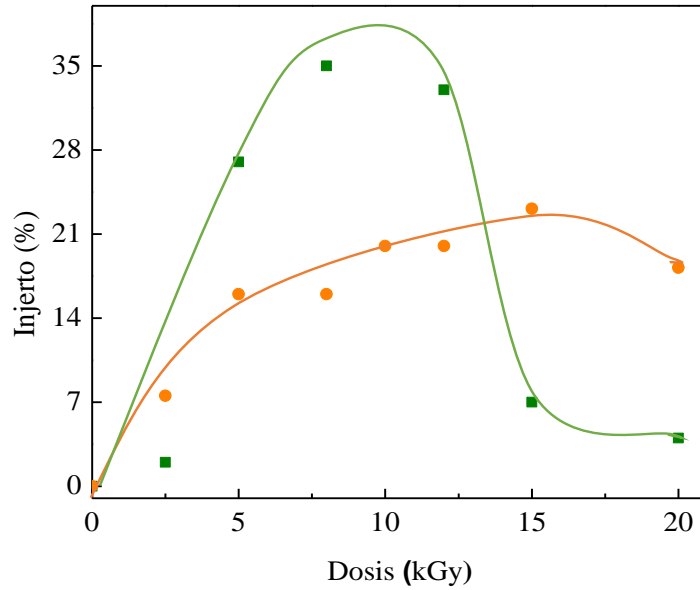


Figura 23. Porcentaje de injerto de NVCL en net-CS, en función de la dosis a diferentes concentraciones ■ NVCL (15% v/v), ● NVCL (25%v/v) en ácido acético.

4.3.2 Segundo paso. Síntesis de [(net-CS)-g-NVCL]-g-DMAAm por método directo

Una vez obtenido el injerto de (net-CS)-g-NVCL por método directo en gel de CS, se procedió a buscar las mejores condiciones para injertar el monómero DMAAm en un segundo paso.

Dado que el injerto se llevó a cabo en pasos, el copolímero formado es un copolímero en bloque.

El mecanismo de injerto se ilustra en la Figura 24. Un protón de la PNVCL es extraído mediante radiación gamma, creando macroradicales en la cadena principal del polímero, los cuales reaccionan con la doble ligadura de la DMAAm dando lugar al injerto. Otro sitio en el cual se puede injertar la DMAAm es sobre el gel de CS, pero es menos probable.

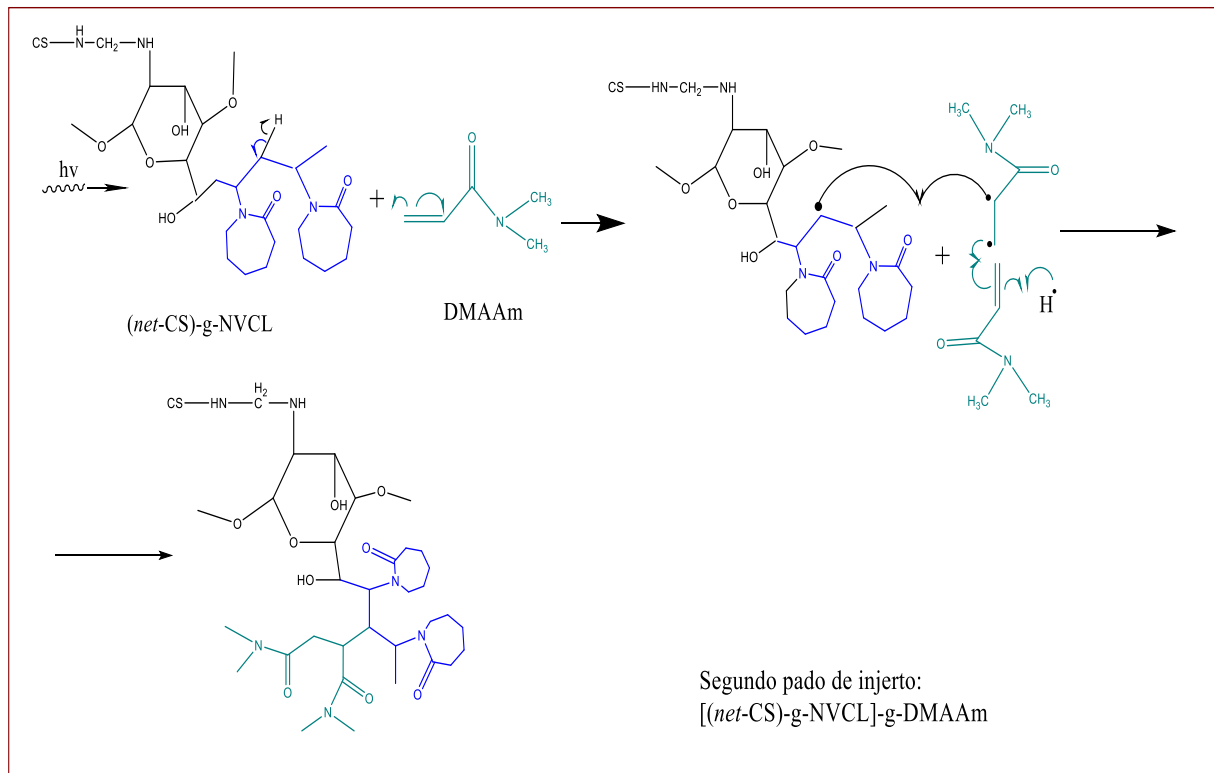


Figura 24. Injerto de DMAAm en segundo paso [(net-CS)-g-NVCL]-g-DMAAm. Método directo

Existen diferentes factores que pueden afectar el porcentaje de injerto del DMAAm como son el porcentaje de injerto del primer monómero, la concentración de DMAAm y la dosis de radiación, por lo que se estudió la influencia de cada uno.

4.3.2.1 Efecto del porcentaje de injerto de NVCL en gel de quitosano

Se estudió como afecta el porcentaje de injerto de NVCL en el segundo paso de injerto sobre la red de quitosano a una dosis de 12 kGy y una concentración de DMAAm al 10 % v/v en MeOH. Para el segundo paso se utilizó metanol como disolvente porque disminuye la formación de homopolímero de la DMAAm.

La Figura 25 muestra que existe una dependencia significativa en cuanto al porcentaje de injerto de DMAAm con respecto al contenido de NVCL en (net-CS). Los sistemas con cantidad menor de NVCL (3 y 7 %), presentaron porcentajes de injerto más altos del segundo monómero (DMAAm); cuando la cantidad de NVCL injertada en CS aumenta (16 %), el porcentaje de injerto de DMAAm disminuye a la mitad (4 %), hasta tener una meseta cercana a 2 % sin importar ya la cantidad de

NVCL injertada en la red. Este comportamiento puede atribuirse a la dificultad de difusión de la DMAAm dentro de la red, puesto que al existir mayor porcentaje de injerto de NVCL, las cadenas en la red están más compactas y presentan poros más pequeños, es por ello que el proceso de injerto de la DMAAm se ve disminuido.

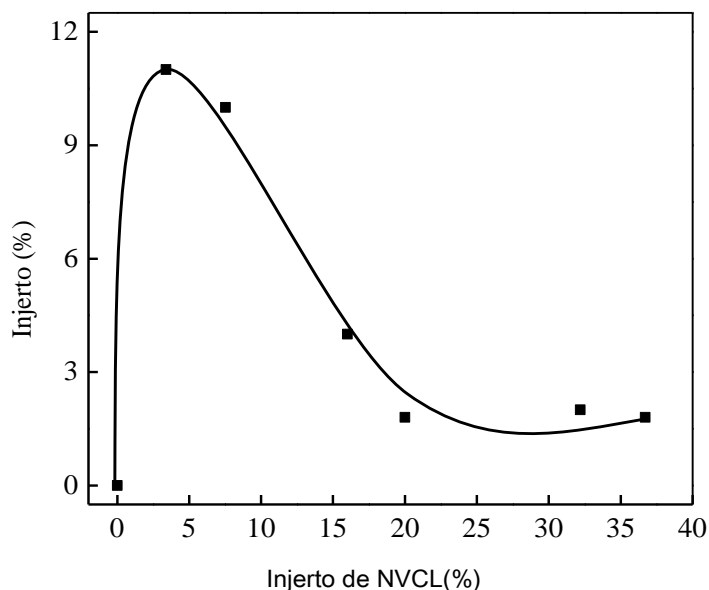


Figura 25. Porcentaje de injerto de DMAAm en (*net-CS*)-g-NVCL con diferentes porcentajes de injerto. Dosis: 12 kGy, concentración DMAAm: 10 % v/v en MeOH

4.3.2.2 Efecto de la concentración del monómero de DMAAm en el porcentaje de injerto en (*net-CS*)-g-NVCL

Después de haber determinado el porcentaje óptimo de injerto de NVCL, se procedió a estudiar el efecto de la concentración de la DMAAm. Para ello se irradió el gel de CS injertado con NVCL (7 %) a una dosis de 12kGy. Los resultados se muestran en la Figura 26.

Como se observa, la DMAAm se injerta en mayores proporciones a una concentración de 5 % v/v. A una concentración mínima de 2 %, el porcentaje de injerto es menor ya que hay muy pocas moléculas de monómero disponibles para reaccionar con los sitios activos y la probabilidad es baja cuando se aumenta la concentración, el porcentaje de injerto llega a un máximo (5 %) y posteriormente disminuye para mantenerse constante, esto es porque los sitios activos en donde ocurre el injerto disminuyen, además de que la DMAAm es muy reactiva y tiende a homopolimerizar, aumentando la viscosidad del sistema e impidiendo la difusión del monómero.

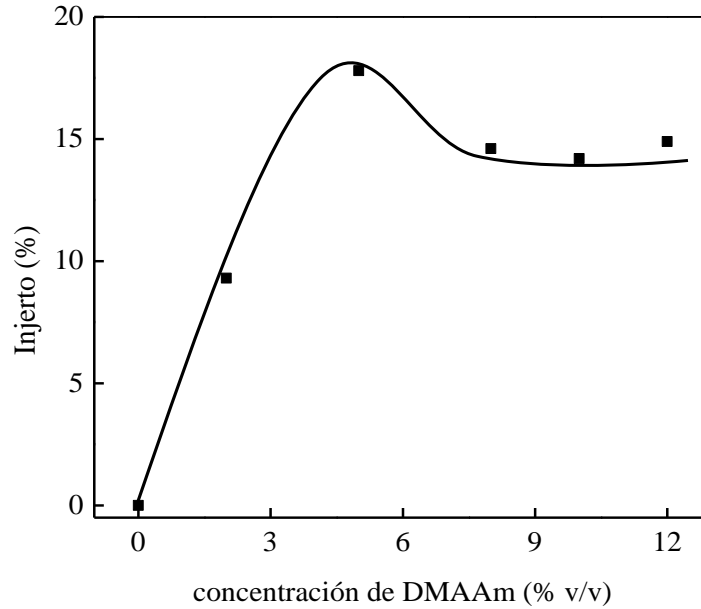


Figura 26. Porcentaje de injerto de DMAAm en función de su concentración en metanol en *(net-CS)-g-NVCL*_{7%}.
Dosis: 12 kGy

4.3.2.3 Efecto de la dosis en el porcentaje de injerto

Se observa que cuando el porcentaje de injerto del primer monómero (NVCL) es de un 7 % (Figura 27), el porcentaje de injerto del segundo monómero (DMAAm) aumentó con el incremento de la dosis, logrando un máximo a 10 kGy esto es porque la radiación va creando sitios activos tanto en el monómero como en la matriz polimérica y así favorece la reacción de injerto. Sin embargo, cuando se alcanzan dosis mayores a 10 kGy, el porcentaje de injerto decrece, esto ocurre porque el polímero de quitosano sufre una escisión de cadena, además existe gran probabilidad de

producción y recombinación entre los macrorradicales se incrementa el homopolímero de DMAAm y se inicia la reticulación del polímero de DMAAm.

Cuando el injerto de NVCL es de 30 % se observa un decrecimiento en los porcentajes de injerto de DMAAm lo que se atribuye al gran porcentaje de NVCL y probablemente a cadenas muy largas en el hidrogel de quitosano, esto genera dificultad de difusión de la DMAAm dentro de la red.

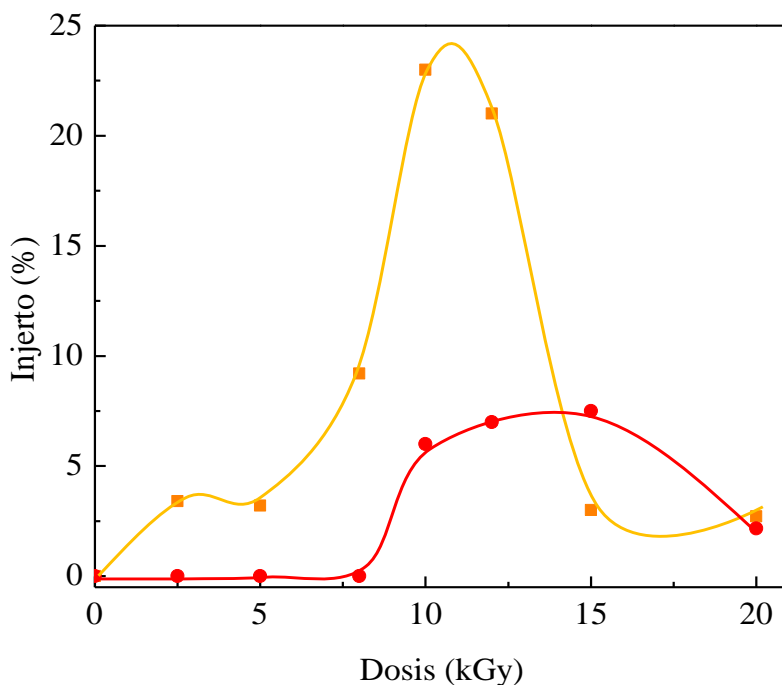


Figura 27. Porcentaje de injerto DMAAm en función de la dosis a diferentes porcentajes de injerto NVCL en el gel de CS. Concentración DMAAm: 5% v/v en metanol. Porcentaje de injerto de NVCL en net-CS: ■ 7% ● 30%

4.3.3 Segundo paso. Síntesis de [(net-CS)-g-NVCL]-g-DMAAm por método de pre-irradiación oxidativa.

Como otra alternativa de síntesis, se trató de injertar la DMAAm en un segundo paso al copolímero de injerto (net-CS)-g-NVCL aplicando el método de pre-irradiación oxidativa. Las muestras que se usaron en este experimento fueron gel de quitosano injertado con 33 % de NVCL. La Tabla 5 muestra los resultados obtenidos en función del tiempo de reacción en películas pre-irradiadas a una dosis de 10 kGy.

Los peróxidos e hidroperóxidos son creados por la radiación en presencia de aire, los cuales se rompen al calentarlos, formando radicales que comienzan la reacción de injerto. Una vez que las especies activas son formadas van iniciando la reacción de injerto hasta que sufren recombinación. Cuando hay un incremento en el tiempo de reacción da lugar a que exista a una mayor difusión del monómero y reaccione con los macroradicales formados en la pre-irradiación oxidativa, hasta que estos se terminan por recombinación. Sin embargo, no se obtuvieron injertos por este método (Tabla 5). La temperatura de reacción (60 °C) favorece la homopolimerización de DMAAm y por lo tanto, se produce en mayor proporción el polímero de DMAAm en lugar del copolímero de injerto [(*net-CS*)-g-NVCL]-g-DMAAm. Otro factor importante es que las películas fueron irradiadas a dosis de 30-50 kGy para injertar la NVCL, a estas dosis se favorece la escisión de cadenas de quitosano lo que conlleva a tener un polímero de menor peso molecular que puede disolverse durante el proceso de lavado en agua/ácido acético, provocando la pérdida de masa.

Tabla 5. Porcentaje de injerto de DMAAm en un segundo paso por el método de pre-irradiación oxidativa. [DMAAm]: 5 % v/v MeOH, dosis: 10 kGy, T: 60 °C, I: 10.22 kGy/h, Injerto de NVCL: 33 %.

Muestra	Tiempo reacción	Pérdida en peso (%)
RV-2	1h	12
RV-3	3h	5
RV-4	6h	4
RV-5	9h	6

Con todos los resultados obtenidos y mostrados en las figuras anteriores se puede concluir que por medio del método directo, el injerto de la DMAAm en (*net-CS*)-g-NVCL se ve favorecido, comparado con el método de pre-irradiación oxidativa.

4.4 Caracterización

4.4.1 Tiempo de hinchamiento al equilibrio

Una vez que se sintetizó el hidrogel de quitosano, se procedió a caracterizarlo. Lo primero que se determinó fue el hinchamiento, esto con el fin de conocer el tiempo de hinchamiento al equilibrio de la red de quitosano y los diferentes sistemas injertados. Es indispensable conocer este dato para después determinar tanto el pH crítico como la LCST. Los hinchamientos de éstos se llevaron a cabo en agua destilada como disolvente y a temperatura ambiente (22 °C).

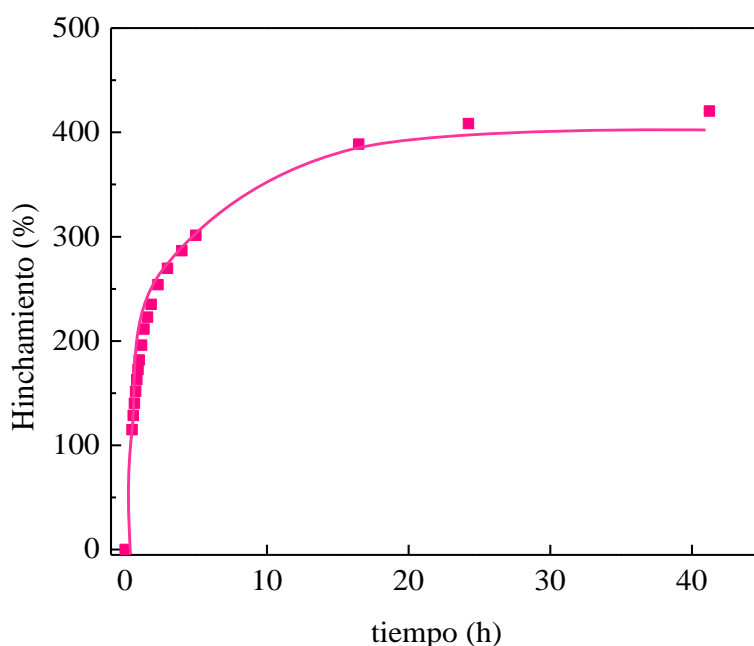


Figura 28. Hinchamiento límite para el hidrogel de CS en agua

La Figura 28 muestra que el tiempo de hinchamiento límite del hidrogel de CS fue de 24 h con un hinchamiento máximo del 400 %.

El porcentaje de hinchamiento está ligado al porcentaje de entrecruzamiento de la red de quitosano y éste depende de la concentración del agente entrecruzante, a mayor entrecruzamiento, menor será el porcentaje de hinchamiento. La gráfica muestra que *net-CS* absorbió agua en un 400 %, aunque la red tiene un entrecruzamiento de 90 %. Se ha estudiado que en soluciones ácidas diluidas las interacciones del quitosano con el agente entrecruzante (formaldehído) se reducen (Yao et al., 2012), mientras que las interacciones intramoleculares aumentan; creando cavidades dentro del hidrogel, así el agua puede difundir y adsorberse, creando nuevas interacciones con los grupos hidrofílicos del quitosano. Al tratarse de un hidrogel,

la estructura permite retener el líquido dentro de ella y no colapsar por la cantidad de agua absorbida.

La Figura 29 muestra el hinchamiento del sistema de injerto binario en un paso: *(net-CS)-g-(NVCL/DMAAm)* con diferentes porcentajes de injerto.

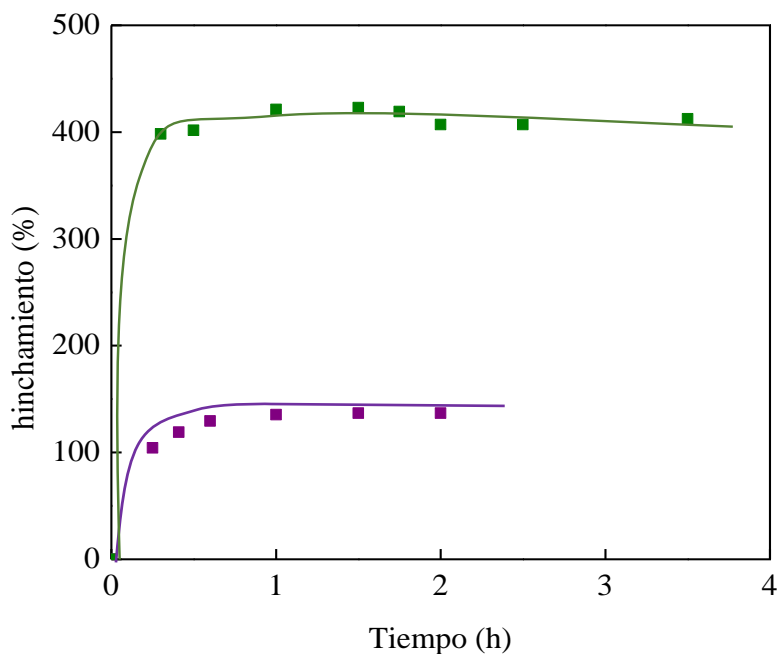


Figura 29. Hinchamiento al equilibrio de *(net-CS)-g-(NVCL/DMAAm)* en un solo paso ■ 11 % de injerto ■ 31% de injerto

Para estos sistemas, el hinchamiento límite fue alcanzado en menos de una hora. Un nivel de injerto bajo (11 %) muestra que el hinchamiento es cercano al obtenido para el hidrogel sin injertar (400 %), sin embargo, llega al equilibrio en menor tiempo, probablemente a causa de la DMAAm, debido a que es una molécula altamente hidrofílica, por consiguiente se asocia con una mayor cantidad de moléculas de agua, lo que causa un aumento en la hidrofilidad del sistema. De forma similar, la muestra con 31 % de injerto, alcanzó su hinchamiento máximo en el mismo periodo de tiempo (75 min), con solo 150 % de hinchamiento.

Para el injerto binario en dos pasos se determinó el tiempo de hinchamiento para cada paso de la síntesis. La Figura 30 muestra el hinchamiento del gel injertado con NVCL $\{(net-CS)-g-NVCL\}$. El hinchamiento límite ocurrió a los 25 min, reduciendo significativamente el tiempo de respuesta en comparación con el hidrogel de quitosano (24 h) y del injerto binario en un paso (75 min). El

porcentaje de hinchamiento disminuyó debido al monómero injertado (NVCL), lo que provoca menos hidrofiliidad del sistema comparado con el gel de CS.

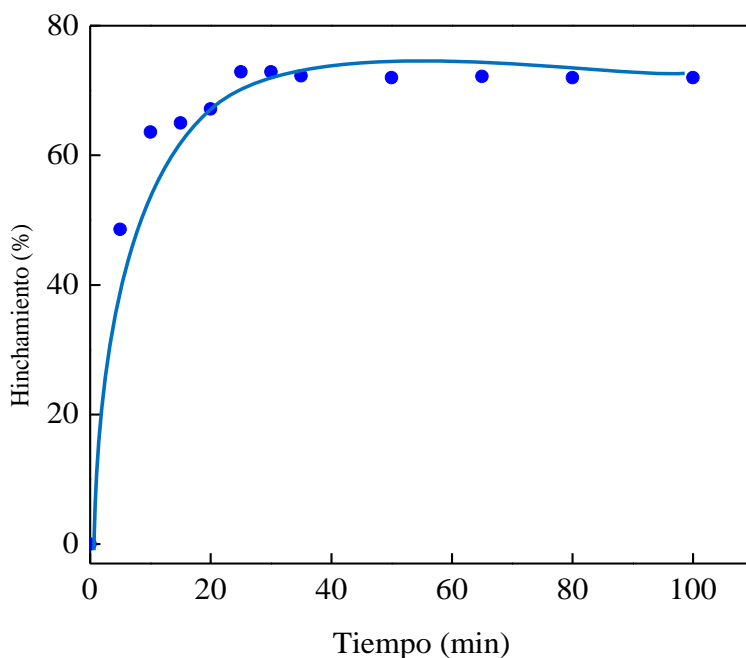


Figura 30. Hinchamiento límite del injerto de en dos pasos. Primer paso (*net-CS*)-g-NVCL_{12%} graft

Para el segundo paso del injerto de la DMAAm en (*net-CS*)-g-NVCL, el hinchamiento límite se muestra en la Figura 31. Su capacidad de hinchamiento al equilibrio es alcanzada alrededor de los 25 min, sin importar el porcentaje de injerto que se tenga de ambos monómeros. La respuesta a su porcentaje de hinchamiento de los tres sistemas presentados en la Figura 31 tiene un rango de 52-60 %, dependiendo de su porcentaje de injerto, cuando existe menor porcentaje de injerto estos hinchan un poco más, debido a que existe más espacio en el cual pueda difundir el agua dentro de la estructura.

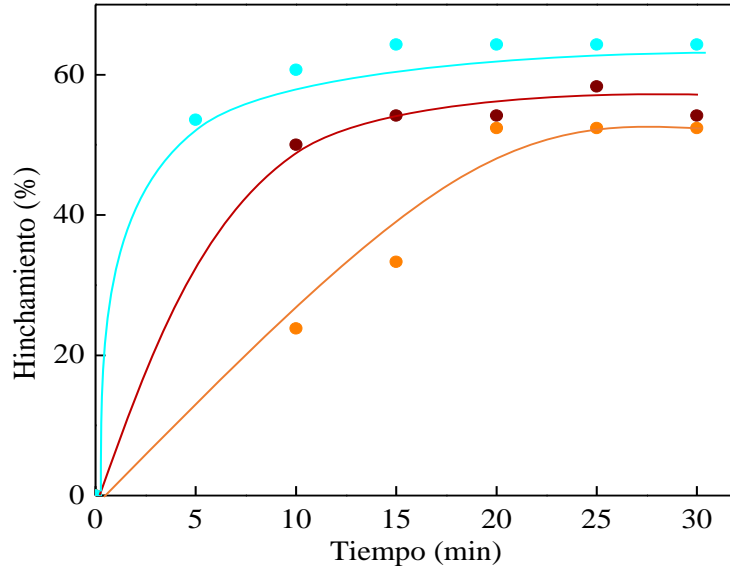


Figura 31. Hinchamiento límite del injerto binario en gel de CS en 2 pasos ● [(net-CS)-g-NVCL_{7.5%} graft]-g- DMAAm_{2.2%} graft ● [(net-CS)-g-NVCL_{12%} graft]-g- DMAAm_{10%} graft; ● [(net-CS)-g-NVCL_{30%} graft]-g- DMAAm_{7%} graft

4.5 Determinación del pH crítico

La sensibilidad al pH en los hidrogeles de CS es un cambio en el volumen del hidrogel en respuesta a los cambios de pH del medio, causado por la presencia de bases o ácidos de carácter débil. La Figura 32 muestra el cambio en el hinchamiento del hidrogel de quitosano como función del pH.

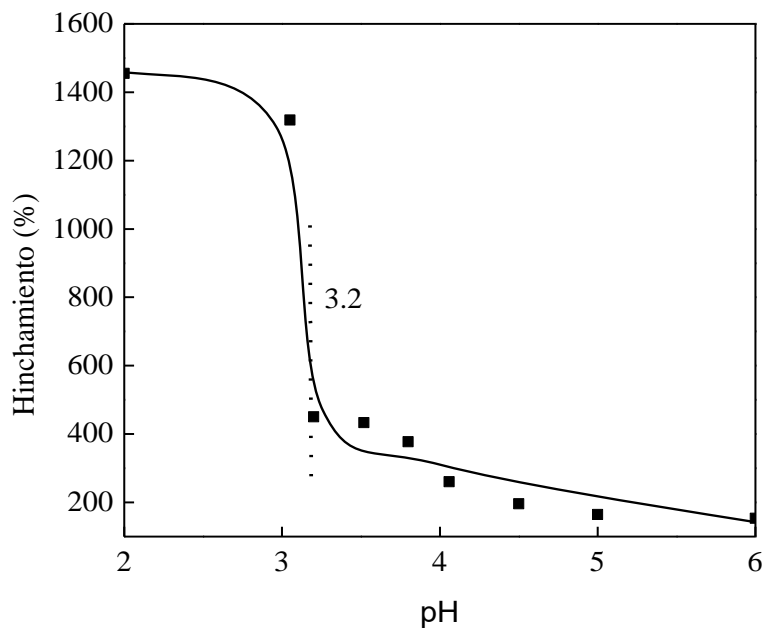


Figura 32. pH crítico de *net*-CS

Como se muestra, el grado de hinchamiento decrece drásticamente a un pH de 3.2, este valor es el que denominamos como pH crítico. La presencia de los grupos amino del CS es lo que le confiere respuesta al pH. El gel de CS pierde algunos grupos amino durante la reacción de entrecruzamiento, sin embargo, el nitrógeno de los restantes grupos amino aún tienen un par de electrones libres, los cuales pueden ser protonados por los iones del medio circundante por debajo de su pK_a (~ 6.5), como consecuencia existen fuerzas electrostáticas repulsivas entre los protones del medio y los grupos amino del hidrogel, por esto el sistema hincha de manera considerable (aprox. 1400 %).

Por otro lado, el pH crítico en los sistemas injertados en uno y dos pasos es diferente del que presenta el hidrogel de CS. Cuando el gel de CS es injertado con NVCL (primer paso) exhibió un pH crítico en 3.8 (Figura 33); el incremento es debido a que se introdujeron grupos hidrofílicos en la estructura (amida) provenientes de la NVCL que son grupos capaces de formar puentes de hidrógeno con el agua.

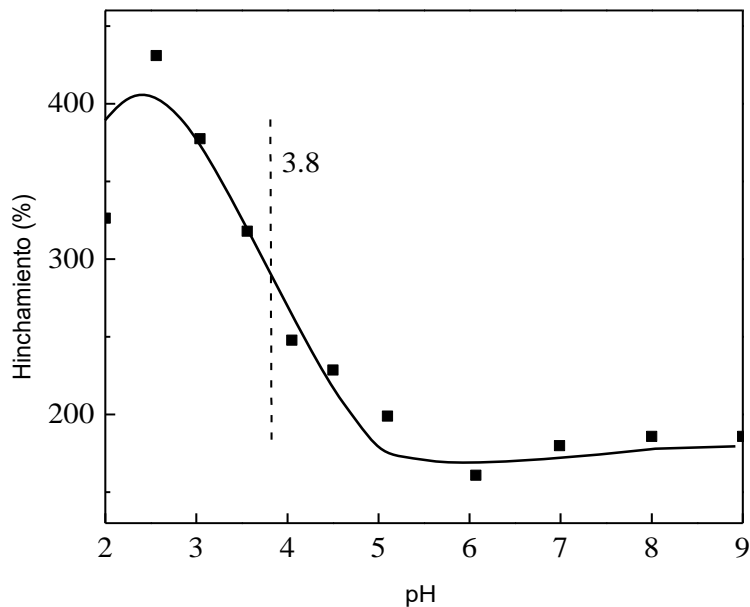


Figura 33. pH crítico (net-CS)-g-NVCL_{4%}graft

En la Figura 34 se observa el pH crítico del injerto binario realizado en uno y dos pasos. El injerto en un paso es similar al sistema (net-CS)-g-NVCL, pues presenta un pH crítico en 3.8. Mientras tanto el injerto en dos pasos presentó un pH crítico en 5.2, además de que la transición es mucho más definida. El aumento en el pH se atribuye a la estructura del copolímero, cuando el injerto

binario se sintetiza en un paso es un copolímero al azar, mientras que al ser sintetizado en dos pasos, se obtiene un copolímero en bloque. Las interacciones de los grupos NVCL/DMAAm son diferentes para ambos tipos de copolímero.

Cuando se sintetizó en dos pasos, el copolímero tiene un acomodo de las unidades de DMAAm y NVCL en bloque, provocando una corta distancia entre los grupos de los monómeros y mayor formación de enlaces de hidrógeno con la red de quitosano; esto son la causa de que el pH crítico de los sistemas injertados en uno y dos pasos se haya desplazado. En adición, el pH crítico está relativamente más definido cuando se sintetizó en dos pasos (al igual que su LCST), el cual, también se atribuye a la arquitectura del sistema.

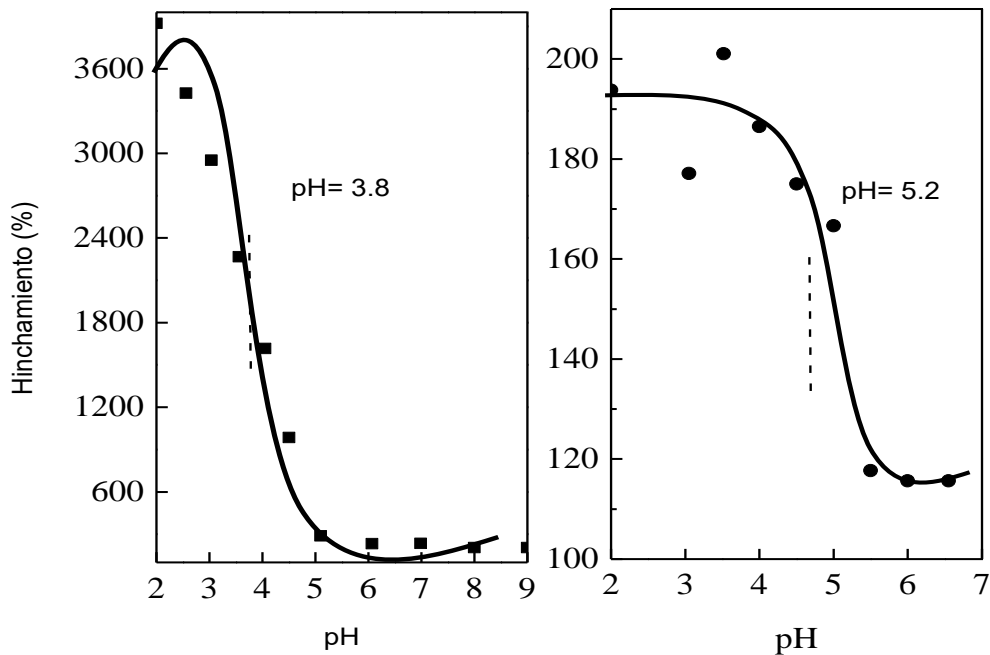


Figura 34. pH crítico de injerto binario. ■ $(net-CS)-g-(NVCL/DMAAm)_{31\% \text{ graft}}$ ♦ $[(net-CS)-g-NVCL_{7.52\% \text{ graft}}]-g-DMAAm_{10\% \text{ graft}}$

4.6 Determinación de la temperatura de solución crítica (LCST)

Después de haber sintetizado el injerto binario, es indispensable saber si presenta respuesta ante los estímulos externos. Por lo cual, se evaluó la respuesta a la temperatura de los sistemas sintetizados.

La LCST para el copolímero $(net)-CS-g-NVCL$ fue de 34 °C (Fig. 35), la cual está dentro del rango reportado en la literatura (32-38 °C) (Kozanoglu et al, 2011; Cheng&Pich, 2012; Sun&Wu, 2011).

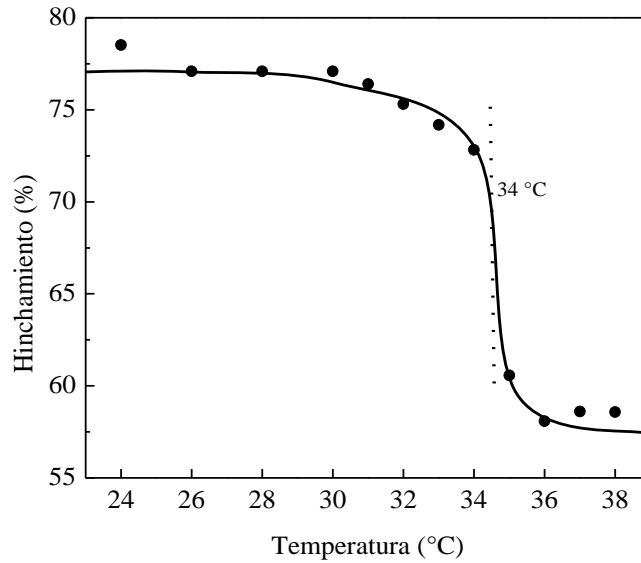


Figura 35. Temperatura crítica de (net-CS)-g-NVCL9%graft

La figura 36 muestra una LCST de 38°C para los sistemas binarios injertados en uno y dos pasos. La respuesta a la temperatura de estos hidrogeles injertados proviene de la NVCL.

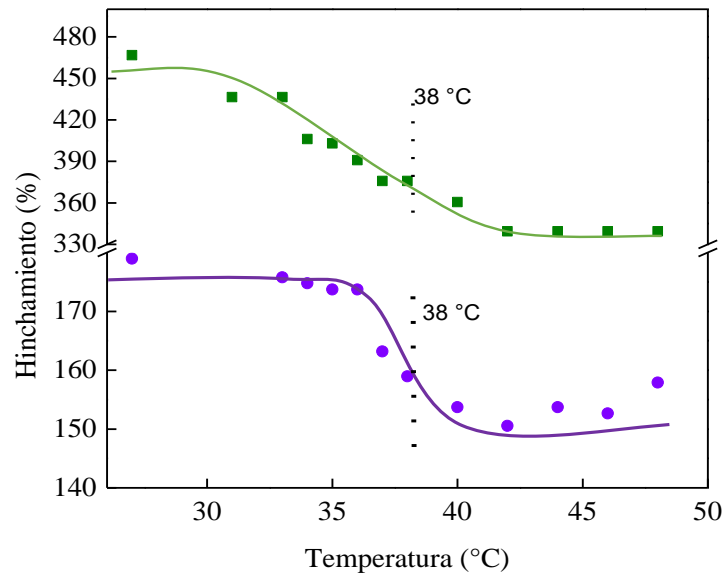


Figura 36. Determinación de la LCST del injerto binario. ● [(net-CS)-g-NVCL7.52graf%]-g-DMAAm10graft% ■ (net-CS)-g-(NVCL/DMAAm)11%graft

El cambio que se da al pasar de ser hidrofílico a hidrofóbico (punto de inflexión) es mucho más marcado en el sistema sintetizado en dos pasos, en el cual se observa una LCST mejor definida, y para el injerto binario en un paso tiene una pendiente suave con una LCST menos definida (Fig. 36). Esto es debido a la arquitectura misma del sistema (copolímero de bloque o al azar) puesto que, cuando los monómeros están acomodados en bloque, permite un aumento en las

interacciones intramoleculares de cada polímero injertado, sin embargo, no sucede así cuando se presenta el arreglo al azar.

Se ha demostrado que la presencia de componentes hidrofílicos en las cadenas del copolímero incrementa la LCST (Cheng & Pich, 2012; Contreras, et al., 2008). Entonces, el desplazamiento de la LCST a temperatura más alta respecto al injerto con NVCL, es causada por la asociación de la DMAAm con las moléculas de agua presentes en el medio. La presencia de los grupos hidrofílicos de este monómero no permite que el agua pueda ser expulsada del sistema de manera más rápida que si el sistema estuviera injertado solo con NVCL. En las Figuras 35 y 36 se observa que al ir aumentando la temperatura, el porcentaje de hinchamiento decrece, la razón principal de este comportamiento es debido a los cambios en la estructura de las cadenas del hidrogel injertado. A temperaturas por debajo de la LCST, existe una interacción entre los grupos hidrofílicos de la NVCL/ DMAAm con el agua, creando puentes de hidrógeno. Al aumentar la temperatura estas interacciones empiezan a romperse incrementando las interacciones entre los grupos hidrofóbicos de la molécula y expulsando el agua del sistema. El polímero colapsa y ocurre una separación de fases de manera que el porcentaje de hinchamiento disminuye.

4.7 FTIR-ATR

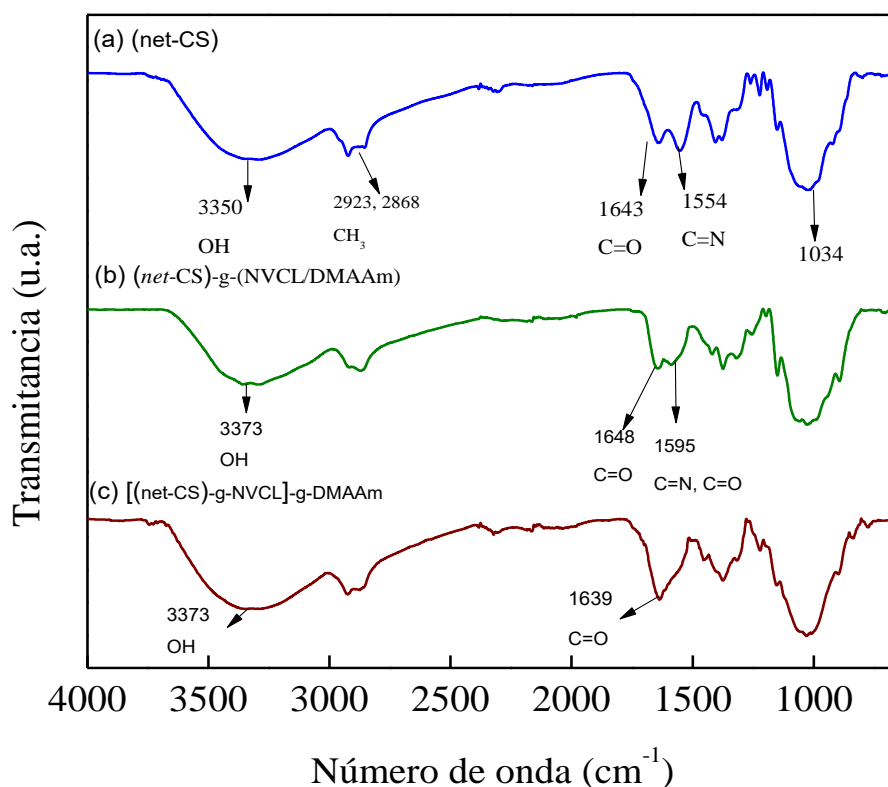


Figura 37. IR de (a) *(net-CS)*, (b) *-(net-CS)-g-(NVCL/DMAAm)* y (c) *[(net-CS)-g-NVCL]-g-DMAAm*

El injerto de NVCL/DMAAm en el gel de CS fue confirmado por FTIR-ATR. El espectro del gel de quitosano así como los sistemas injertados en uno y dos pasos se muestran en la Figura 37.

La Figura 37a el **hidrogel de CS**, muestra una fuerte absorción en 3350 cm^{-1} asociada al grupo hidroxilo (-OH) presente en la estructura; también se puede ver un banda cerca de 1554 cm^{-1} la cual se atribuye al enlace imina (C=N) que se forma por la reacción de entrecruzamiento entre el grupo amino del quitosano y el grupo carbonilo del formaldehído, esta banda característica confirma la formación de la base de Schiff (Lee, et al, 2000; Singh, et al, 2006; Monier 2012; Beppu, et al 2007). La banda que se encuentra en 1643 cm^{-1} correspondiente al grupo acetil amino del CS. La banda de 1034 cm^{-1} corresponde a la tensión de C-OH del alcohol primario

El injerto binario en un paso (Figura 37b) ***(net-CS)-g-(NVCL/DMAAm)*** presenta las bandas características de los componentes; por una parte se encuentra la banda del grupo hidroxilo

correspondiente al CS en 3373 cm^{-1} , en 2923 cm^{-1} y 2868 cm^{-1} se presenta el estiramiento simétrico y asimétrico de los grupos C-H del carbono alifático; la banda en 1641 cm^{-1} corresponde al grupo carbonilo (C=O) de la DMAAm, el cual se traslapa con el carbonilo del CS mientras en 1620 cm^{-1} tenemos el carbonilo (C=O) de la NVCL traslapado con el grupo imina, por lo que las señales se ven bastante anchas.

El injerto binario realizado en dos pasos **[(net-CS)-g-NVCL]-g-DMAAm** (Figura 37c) presenta un espectro muy parecido al de las bandas correspondientes al gel de CS, están en el mismo número de onda a 3373 cm^{-1} (-OH), al igual que el estiramiento simétrico y asimétrico del C-H de los carbonos alifáticos (2923 cm^{-1} y 2868 cm^{-1}). Sin embargo, en la Fig. 37c se observa una sola banda en 1641 cm^{-1} que corresponde al estiramiento del grupo carbonilo de la NVCL y DMAAm así como el grupo imina.

La Figura 38 presenta los espectros de infrarrojo del sistema injertado mediante el método inverso. La Figura 38d corresponde al injerto binario realizado en polvo de quitosano **CS-g-(NVCL/DMAAm)**; se puede ver una banda en 3426 cm^{-1} característico del grupo -OH del quitosano y otra en 3277 cm^{-1} debida al estiramiento asimétrico de la amina primaria (-NH₂); el estiramiento de los carbonos alifáticos (C-H) se presenta en 2920 cm^{-1} y 2857 cm^{-1} ; la banda en 1626 cm^{-1} se debe a los grupos carbonilos tanto de la NVCL y la DMAAm, el enlace C-N del grupo amida se presenta en 1420 cm^{-1} .

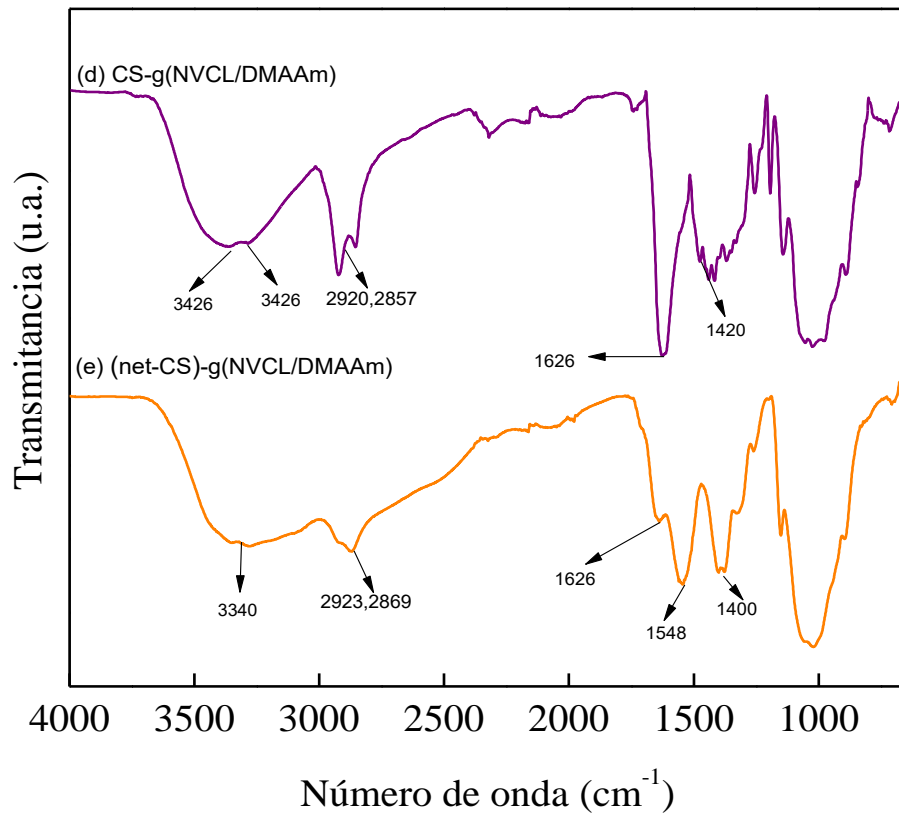


Figura 38. FTIR del sistema sintetizado por el método inverso: (d) CS-g-(NVCL/DMAAm) y (e) (net-CS)-g-(NVCL/DMAAm)

El espectro de la Figura 38e corresponde al IR de injerto binario después de reticularlo. Se pueden ver las bandas características del CS en 3340 cm^{-1} (-OH), la banda en 3426 cm^{-1} debida a los grupos aminos que desaparecieron, ya que en ese sitio se lleva a cabo la reacción de reticulación, a su vez aparece otra banda en 1548 cm^{-1} (C=N) lo cual confirma la formación de la base de Schiff después de la reacción reticulación. Las bandas en 2923 cm^{-1} y 2869 cm^{-1} se deben a los carbonos alifáticos y en 1626 cm^{-1} se encuentra la banda asociada a los carbonilos de la amida, proveniente tanto de la NVCL y la DMAAm.

4.8 Propiedades térmicas

4.8.1 Análisis termogravimétrico (TGA)

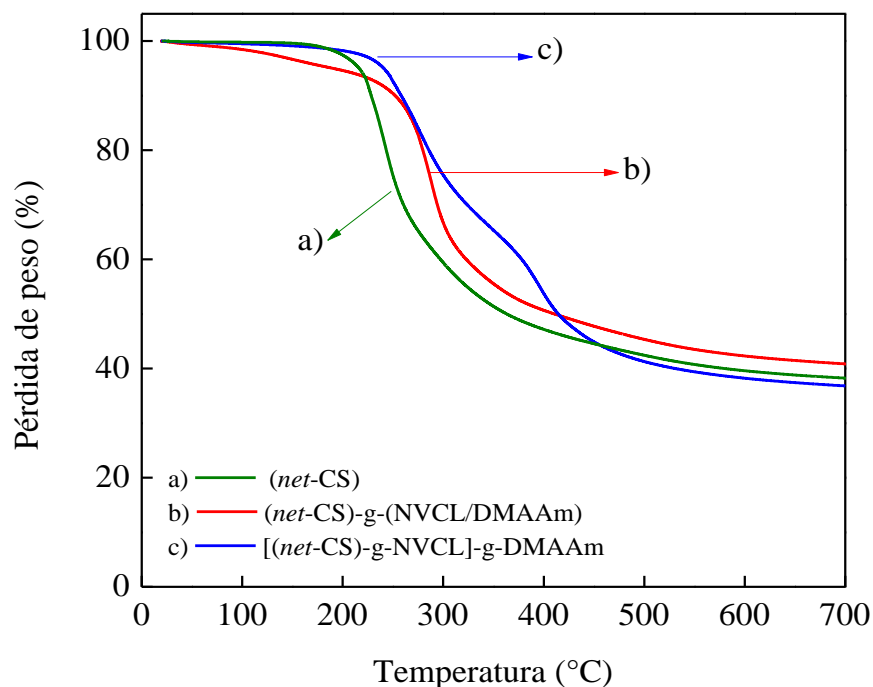


Figura 39. Termogramas de TGA

Las curvas de TGA (Fig 39) muestran la descomposición térmica del gel de quitosano, y de los injertos binarios en uno y dos pasos. En la curva (a) observamos la descomposición del gel de CS, la temperatura de descomposición es de 300 °C, esta degradación se atribuye a la escisión de cadena, deshidratación de la piranosa y apertura del anillo. La curva (c) es la curva de descomposición del injerto binario en 2 pasos. Los copolímeros en bloque usualmente se degradan de manera independiente, por eso se puede observar dos temperaturas de descomposición. En 290 °C es la temperatura de descomposición asociada al gel de CS, la segunda temperatura de descomposición se encuentra en 401 °C, correspondiente a la descomposición de la NVCL (380-430 °C) y la DMAAm (398 °C) (Bauri K., et al, 2013; Xie X. et al, 1996, Kozanoglu S. et al, 2011; Morales W., 2010).

La curva (b) correspondiente al injerto binario realizado en un paso, muestra una sola temperatura de descomposición en 307 °C. Al ser sintetizado en un solo paso, corresponde a un copolímero al azar de NVCL y DMAAm, la descomposición térmica de polímeros al azar usualmente se degradan

como un solo sistema, por lo que solo presenta una temperatura a 307 °C, que se encuentra entre los valores del injerto por dos pasos.

Los valores de la temperatura de descomposición al 10 % de pérdida en peso son muy similares entre sí (Tabla 6), para el injerto binario en dos pasos es de 257 °C mientras que para el injerto en un paso es de 251 °C, por lo que muestran una estabilidad térmica similar a la red del quitosano (250 °C).

Tabla 6. Propiedades térmicas de net-CS y los injertos binarios $T_{10\%}$: temperatura de descomposición al 10% de pérdida; T_d : temperaturas de descomposición

Polímero	$T_{10\%}$ (°C)	T_d (°C)	Residuo a 700 °C (%)
<i>net-CS</i>	250	300	43
[(<i>net-CS</i>)-g-NVCL]-g-DMAAm	257	290	36
(<i>net-CS</i>)-g-(NVCL/DMAAm)	251	307	40

CAPÍTULO 5 . CONCLUSIONES

Los hidrogeles sintetizados como resultado del trabajo de investigación realizado, mostraron un porcentaje de reticulación del 90 % para una concentración de quitosano de 3 % w/v.

Se logró sintetizar un nuevo sistema de hidrogeles injertados con NVCL y DMAAm en una matriz de quitosano por la técnica de irradiación gamma; tanto por método directo en un paso $\{(net-CS)-g-(NVCL/DMAAm)\}$, como en método de dos pasos $\{[(net-CS)-g-NVCL]-g-DMAAm\}$.

Los injertos binarios obtenidos presentaron respuesta a la temperatura (LCST de 38 °C para ambos sistemas).

El pH crítico para los injertos binarios en un paso fue de 3.8, mientras que para el método de dos pasos se presentó en 5.2.

El método que presentó una mayor eficiencia en el porcentaje de injerto en el hidrogel, fue el denominado inverso. Los mejores porcentajes de injerto mediante esta síntesis, fueron logrados cuando se tuvo una relación de concentración de 25 % de NVCL y 5 % de DMAAm.

Se caracterizaron los sistemas injertados mediante la técnica FTIR-ATR, la cual confirmó el injerto, así como el entrecruzamiento.

El análisis térmico de los injertos mostró dos temperaturas de descomposición cuando el injerto se sintetizó en dos pasos, indicativo de un copolímero en bloque. Pero cuando se sintetizó en un paso, sólo se logra ver una descomposición térmica característica de un copolímero al azar.

Los sistemas de síntesis propuestos para un injerto binario en una matriz de hidrogel polimérica, pueden ser usados para la generación de materiales diseñados para la retención de fármacos, gracias a los grupos funcionales hidrofílicos presentes en la estructura de los injertos, logrando con ello la captación y liberación del fármaco.

CAPÍTULO 6. REFERENCIAS

1. Askeland D, Fulay, Wright W. J. (2009) "The Science and Engineering of Materials", SI Edition. Third Edition. EUA
2. Bauri K., Ghosh Roy S., Arora S. (2013) Thermal degradation Kinetics of thermoresponsive poly(N-isopropylacrilamide-co- N,N-dimethylacrilamide) copolymers prepared via RAFT polymerization. J Therm Anal Calorim. 111: 753-761.
3. Benamer S., Mahlous M., Tahtat D., Nacer-Khodja A., Arabi M., Lounici H., Mameri N. (2011) Radiation synthesis of chitosan beads grafted with acrylic acid for metal ions sorption. Radiation Physics and Chemistry 80: 1391-1397.
4. Beppu M.M., Vieira R.S., Aimoli C.G., Santana C.C. (2007) Crosslinking of chitosan membranes using glutaraldehyde: Effect on ion permeability and water absorption. Journal of membranes Science 301: 126-130.
5. Bucio E., Contreras-García A., Meléndez-Ortiz I.H., Muñoz-Muñoz F. D., Álvarez-Lorenzo C., Concheiro A. (2010). Smart Polymers for Biomedical Applications and Graft Synthesis by γ -Rays. Smart Polymers Materials for Bio Applications 277-306
6. Burillo G., Bucio E., Arenas E. et al (2007) Temperature and pH- sensitive swelling behavior of binary DMAEMA/4VP grafts on poly(propylene) films. Macromol Mater Eng. 292: 214-219.
7. Chapiro A., (1962). Radiation chemistry of polymeric systems. New York. Interscience Div. John Wiley and Sons.
8. Chen C. & Pich A., (2012) Poly (N-vinylcaprolactam) nano- and microgels. Hydrogel micro and nanoparticles, First edition. Edited by L. Andrew Lyon and Michawel Joseph Serpe. Wiley-VCh Verlag GmbH & Co. KGaA. 117-140.
9. Contreras-García A., Muñoz-Muñoz F., Burillo G., Bucio E. (2012) Radiación gamma para el diseño de sistemas inteligentes en liberación controlada de fármacos e ingeniería de tejidos. Biomateriales aplicados al diseño de sistemas terapéuticos avanzados. Coimbra University Press.

10. Czechowska-Biskup R., Jarosińska D., Rokita B., Ulański P., Rosiak J. Determination of degree of deacetylation of chitosan - comparison of methods (2012) *Progress on Chemistry and Application of Chitin and its derivatives*, 12: 5-11
11. Chmielewski A. G. (2010). Chitosan and radiation chemistry. *Radiation Physics and Chemistry* 79: 272-275.
12. González Pérez G. (2009) Síntesis y caracterización de hidrogeles de polí (ácido acrílico) y acrilóil-L-prolina metil ester mediante radiación gamma para la inmovilización de Cu^{2+} . (Tesis de Maestría, Posgrado en ciencia e ingeniería de materiales, UNAM, México D.F.)
13. Gryczka U., Dondi D., Chmielewski A.G., Migdal W., Buttafava A., Faucitano A. (2009) The mechanism of chitosan degradation by gamma and e-beam irradiation. *Radiation Physics and Chemistry* 78. 543-548.
14. Gupta P., Vermano K. & Garg S. (2002) Hydrogels: from controlled release to pH-responsive drug delivery. *Drug Discovery Today* 7: 569-579
15. Hoffman A. S. (2002) Hydrogels for biomedical applications. *Advance Drug Delivery Reviews* 54: 3-12
16. Hong C., Zhaeng-Pu Z., Ping Chuan S., Bing Lin H, Xiao Xia Z. (2005) Synthesis and characterization of thermo- and pH- sensitive hydrogels based on Chitosan-grafted N-isopropylacrylamide via γ -radiation. *Radiation Physics and Chemistry* 74: 26-30
17. Jia Z., Yujun W., Guangsheng L. (2005) Adsorption of diuretic furosemide onto chitosan nanoparticles prepared with a water-in-oil nanoemulsion system. *Reactive & Functional Polymers* 65: 249-25
18. Kost J. & Langer R., (1987) Hydrogels in medicine and pharmacy. N.A. Peppas (Ed.), CRC Press, Boca Raton, p. 95.
19. Kozanoglu S., Özdermir T., Usanmaz A. (2011) Polymerization of N-vinylcaprolactam and characterization of Poly(N-vinylcaprolactam). *Journal of macromolecular science, Part A: pure and applied chemistry*. 48: 467-477.

20. Lee S.J., Kim S.S., Lee Y.M. (2000) Interpenetrating polymer network hidrogel base don poly (ethylene glicol) macromer and chitosan. *Carbohydrate Polymers*. 41: 2. 197-205
21. Liu P., Zhai M., Wu J. (2001) Study on radiation-induced grafting of styrene onto chitin and chitosan. *Radiation Physics and chemistry* 61: 149-153.
22. Majeti N.V. & Kumar R., (2000) A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers* 46: 1-21
23. Monier M. (2012) Adsorption of Hg^{2+} , Cu^{2+} and Zn^{2+} ions from aqueous solution using formaldehyde cross-linked modified chitosan–thioglyceraldehyde Schiff's base. *International Journal of Biological Macromolecules* 50: 773-781
24. Montané Cruz L.A. (2013) Injerto de vinilcaprolactama y ácido metacrílico en películas de silicona para carga y cesión de fármacos. (Tesis de licenciatura, Facultad de Química, UNAM, México D.F.)
25. Montes J.A. (2014) Síntesis y caracterización del copolímero de injerto de N-VCL en quitosano mediante radiación γ con potencial aplicación en sistemas de liberación controlada de fármacos. (Tesis de licenciatura, Facultad de Química, UNAM, México D.F.)
26. Montes J. A., Ortega A., Burillo G. (2014) Dual-stimuli responsive copolymers base don N-vinylcaprolactam/chitosan. [Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry](#). DOI 10.1007/s10967-014-3805-7.
27. Morales Wiemer A. Síntesis y caracterización de películas de polipropileno injertadas con dimetilacrilamida e hidroximetacrilato mediante radiación gamma (2010). Tesis de Licenciatura, facultad de química UNAM.
28. Morales-Wiemer E.A., Macossay J., Bucio E. (2013) Radiation grafting of N,N'-dimethylacrylamide and 2-hydroxyethylmethacrylate onto polypropylene films by step method. *Radiation Physics and Chemistry* 84: 166-169.
29. Meléndez Ortiz H.I. & Bucio E. (2008). Radiation Synthesis of a thermo-pH responsive binary graft copolymer (PP-g-DMAEMA)-g-NIPAAm by a two steps method. *Polym Bull*. 61: 619-629.

30. Meléndez Ortiz H.I. & Bucio E. (2009). Stimuli-sensitive behaviour of binary graft copolymers (PP-g-DMAEMA)-g-NIPAAm and (PP-g-4VP)-g-NIPAAm in acidic and basic medium. *Des. Monomer Polym.* 12: 99-108.
31. Muñoz-Muñoz F. & Bucio E. (2012). Surface Modification and Functionalization of Polymer Materials by γ -Irradiation for Biomedical Applications.
32. Muñoz-Muñoz F., Ruiz J.C., Alvarez-Lorenzo C., Concheiro A., Bucio E. (2012) Temperature and pH sensitive interpenetrating polymer networks grafted on PP: cross-linking irradiation dose as a critical variable for the performance as vancomycin-eluting systems. *Radiation Physics and Chemistry.* 81: 531-540.
33. Navarrete J & Cabrera L. (1993). Introducción al estudio de los radioisótopos. Segunda edición, UNAM, México. Pp 13-17, 23.
34. Prabakaran M., Grailer J., Steeber D., Gong S. (2008) Stimuli-responsive chitosan-graft-Poly(N-vinylcaprolactam) as a promising material for controlled hydrophobic drug delivery. *Macromolecular bioscience.* 8: 843-851.
35. Rejinol N., Chennazhi K.P., Nair S.V., Tamura H., Jayakumar R. (2011) Biodegradable and thermo-sensitive chitosan-g-poly(N-vinylcaprolactam) nanoparticles as a 5-fluorouracil carrier. *Carbohydrate Polymers* 83: 776-786.
36. Singh A., Narvi S.S., Dutta P.K. & Pandey N.D (2006). External stimuli response on a novel chitosan hydrogel crosslinked with formaldehyde. *Mater. Sci.* 29: 3, 233-238
37. Sun S. & Peiyi W., (2011) Infrared Spectroscopic Insight into Hydration Behavior of Poly(N-vinylcaprolactam) in water. *The Journal of physical chemistry.* 115: 11609-11618.
38. Vértes & Kiss (1987) Nuclear Chemistry Cap.4. Elsevier, Amsterdam.
39. Xie X. & Hogen-Esch T. (1996) Anionic Synthesis of Narrow Molecular Weight Distribution water-soluble poly(N,N-dimethylacrilamide) and poly(N-acryloyl-N'-methylpiperazine. *Macromolecules* 29: 1746-1752.
40. Yao K., Li J., Yao F. & Yin Y. (2012) Chitosan-based hydrogels function and applications. CRC Press. Taylor & Francis Group. Boca ratón, FL. 179-235.

