



Universidad Nacional de Mar del Plata



Facultad de Ingeniería

DOCTORADO EN CIENCIA DE MATERIALES

**“Hidrogeles Compuestos basados en Polivinilalcohol para
Aplicaciones Biomédicas”**

Jimena Gonzalez

Directora: Dra. Vera Alvarez

Tesis de Doctorado

Mar del Plata
Octubre 2013



Jimena Gonzalez

**HIDROGELES COMPUESTOS BASADOS EN POLIVINILALCOHOL PARA
APLICACIONES BIOMÉDICAS**

*Trabajo presentado en la Facultad de Ingeniería, en la
Universidad Nacional de Mar del Plata como requisito
parcial para obtención del grado de Doctora en Ciencia de
Materiales.*

Directora: Dra. Vera Alvarez

Mar del Plata
Octubre de 2013



RINFI se desarrolla en forma conjunta entre el INTEMA y la Biblioteca de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Mar del Plata.

Tiene como objetivo recopilar, organizar, gestionar, difundir y preservar documentos digitales en Ingeniería, Ciencia y Tecnología de Materiales y Ciencias Afines.

A través del Acceso Abierto, se pretende aumentar la visibilidad y el impacto de los resultados de la investigación, asumiendo las políticas y cumpliendo con los protocolos y estándares internacionales para la interoperabilidad entre repositorios



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-
NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

DEDICATORIA

A mi madre

Por los ejemplos de perseverancia y constancia que la caracterizan y que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante y por su amor.

A mi esposo y compañero de vida

Por ser incondicional en todo momento y llenarme de paz.

A mis hermanos

Por apoyarme incondicionalmente en cada decisión que he tomado a lo largo de mi vida, por amarme y sobre todo por tener fe en mí ¡Gracias a ustedes!

A mis amigos.

Por llenarme de alegría y compartir sus momentos importantes conmigo.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, le agradezco a las Instituciones: *INTEMA* y *UNMdP* por brindarme los conocimientos como el financiamiento para poder lograr culminar el doctorado.

En especial, un enorme agradecimiento a mi directora Vera Alvarez, por su apoyo absoluto, sabiduría, paciencia y amistad, que sin todo ello, no hubiese sido posible terminar mi trabajo.

También agradezco la ayuda de la Dra. Cristina Hoppe por su experiencia, sabiduría y excelente predisposición en el tema de geles magnéticos. Asimismo, al grupo de investigación en Física de la UNLP, Dr. Francisco Sanchez, Dr. Pedro Mendoza Zelis y Dr. Diego Muraca por su gran aporte a la obtención y análisis de propiedades magnéticas. También tuve la ayuda de la Dra. Alejandra Ponce para los ensayos microbiológicos, por lo que le agradezco mucho su colaboración.

Agradezco enormemente a mis compañeros de trabajo (Ex -Polímeros) que de varias maneras siempre estuvieron acompañándome en los momentos que requerí ayuda, por compartir generosamente sus conocimientos conmigo, por compartir vivencias y cargarme de alegría, amor y cariño.

ÍNDICE GENERAL

Resumen.	6
Abstract.	8
Organización y Estructura de la Tesis.	10
Índice de Tablas.	11
Índices de Figuras.	12
Tabla de Abreviaturas.	15
Capítulo I. Introducción: Hidrogeles de Polivinilalcohol.	16
Resumen.	17
I.1. Hidrogeles: Generalidades.	18
I.2. Polivinilalcohol.	18
I.3. Métodos de Formación de Hidrogeles de PVA.	19
I.3.1. Método de Congelamiento-Descongelamiento (C-D).	19
I.3.2. Método Químico.	20
I.4. Hidrogeles Compuestos.	21
I.5. Propiedades de los Hidrogeles.	22
I.5.1. Capacidad de Hinchamiento.	22
I.5.2. Propiedades Mecánicas.	23
I.5.3. Propiedades Específicas.	24
I.6. Motivación, Objetivos Generales, Particulares e Hipótesis de Trabajo.	24
Referencias.	25
Capítulo II. Hidrogeles de PVA: Métodos de Obtención y Variables del Procesamiento.	28
Resumen.	29
II.1. Introducción.	30
II.2. Procedimiento Experimental.	31
II.2.1. Obtención de Los Hidrogeles.	31
II.2.1.1. Criogeles.	31
II.2.1.2. Geles Químicos.	32
II.2.2. Métodos.	32
II.2.2.1 Métodos de Caracterización Morfológica y Térmica.	32
II.2.2.1.1. Microscopía Electrónica De Barrido (SEM).	32
II.2.2.1.2. Calorimetría Diferencial De Barrido (DSC).	32
II.2.2.1.3. Ensayos Termogravimétricos (TGA).	32
II.2.2.2 Métodos de Evaluación de la Capacidad de Hinchamiento.	33
II.2.2.2.1. Determinación de la Fracción de Gel (FG%).	33
II.2.2.2.2. Determinación del Grado de Hinchamiento.	33
II.2.2.2.3. Medición del Espesor.	33
II.2.2.3. Tratamientos Térmicos.	33
II.2.2.4. Ensayos de Tracción.	33
II.3. Resultados y Discusión.	34
II.3.1. Efecto del Método de Entrecruzamiento.	34
II.3.1.1. Concentración del Agente Entrecruzante.	34
II.3.1.2. Comparación entre los Métodos de Obtención Físico y Químico.	34
II.3.2. Efecto de la Concentración de PVA.	35
II.3.3. Efecto del Peso Molecular.	37

II.3.4. Efecto del Número de Ciclos de C-D.	38
II.3.5. Efecto del pH y Temperatura del Medio de Absorción.	39
II.3.6. Efecto del Tratamiento Térmico.	40
II.4 Conclusiones.	42
Referencias.	43
Capítulo III. Ferrogeles.	45
Resumen.	46
III.1. Introducción.	47
III.2. Procedimiento Experimental.	49
III.2.1. Síntesis de los Ferrogeles.	49
III.2.1.1. Ferrogeles obtenidos por entrecruzamiento de dispersiones de MNPs recubiertas con PVA.	49
III.2.1.2. Ferrogeles obtenidos por entrecruzamiento de una solución de PVA y MNPs recubiertas con un polielectrolito (PAA).	50
III.2.1.3. Ferrogeles obtenidos por generación de MNPs en el interior de la red polimérica.	51
III.2.2. Métodos.	51
III.2.2.1 Métodos de Caracterización Morfológica, Física, Química y Térmica.	51
III.2.2.1.1. Microscopía Electrónica de Barrido por Emisión de Campo (FESEM).	51
III.2.2.1.2. Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM).	51
III.2.2.1.3. Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).	52
III.2.2.1.4. Ensayos Termogravimétricos (TGA).	52
III.2.2.1.5. Difracción de Rayos X (DRX).	52
III.2.2.1.6. Espectroscopía Mössbauer.	52
III.2.2.1.7. Dispersión de Rayos X de Ángulo Pequeño (SAXS).	52
III.2.2.1.8. Absorción de Rayos X cerca de Estructura de Borde (XANES).	52
III.2.2.2 Métodos de Evaluación de la Capacidad de Hinchamiento.	52
III.2.2.2.1. Determinación de la Fracción de Gel (FG%).	52
III.2.2.2.2. Determinación del Grado de Hinchamiento.	53
III.2.2.3. Medición de Propiedades Magnéticas.	53
III.3. Resultados y Discusión.	53
III.3.1. Ferrogeles obtenidos por entrecruzamiento de dispersiones de MNPs recubiertas con PVA.	53
III.3.1.1 Caracterización Morfológica y Estructural.	53
III.3.1.2. Propiedades Térmicas, Físicas y Químicas.	56
III.3.1.3. Propiedades Magnéticas.	58
III.3.2. Ferrogeles obtenidos por entrecruzamiento de una solución de PVA y MNPs recubiertas con un polielectrolito (PAA).	60
III.3.2.1. Caracterización Morfológica y Estructural.	60
III.3.2.2. Propiedades Térmicas, Físicas y Químicas.	61
III.3.2.3. Propiedades Magnéticas.	65
III.3.3. Ferrogeles obtenidos por generación de MNPs en el interior de la red polimérica.	67
III.3.3.1. Caracterización Morfológica y Estructural.	67
III.3.3.2. Caracterización Térmica y Física de los Geles.	69
III.3.3.2. Propiedades Magnéticas.	69
III.4. Conclusiones.	70

III.5. Trabajo A Futuro.	71
Referencias.	71
Capítulo IV. Hidrogeles Nanocompuestos para Vendaje de Heridas.	74
Resumen.	75
IV.1. Introducción.	76
IV.2. Procedimiento Experimental.	78
IV.2.1. Preparación de los hidrogeles de PVA solo y reforzados con arcilla o nanocelulosa.	78
IV.2.1.1. Preparación de los Hidrogeles compuestos de PVA/Bentonita.	78
IV.2.1.2. Preparación de los Hidrogeles compuestos PVA/nanocelulosa.	78
IV.2.1.2.1. Nanocelulosa.	78
IV.2.1.2.2. Hidrogeles PVA/nanocelulosa	79
IV.2.2. Métodos.	79
IV.2.2.1 Métodos de Caracterización Morfológica, Física, Química y Térmica.	79
IV.2.2.1.1 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y Microscopía Electrónica de Barrido por Emisión de Campo (FESEM).	79
IV.2.2.1.2 Microscopía de Fuerza Atómica (AFM).	79
IV.2.2.1.3. Calorimetría Diferencial De Barrido (DSC).	80
IV.2.2.1.4. Ensayos Termogravimétricos (TGA).	80
IV.2.2.1.5. Difracción de Rayos X (DRX).	80
IV.2.2.1.6. Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR).	80
IV.2.2.2. Métodos de Evaluación de la Capacidad de Hinchamiento.	80
IV.2.2.2.1. Determinación de la Fracción de Gel (FG%).	80
IV.2.2.2.2. Determinación del Grado de Hinchamiento.	80
IV.2.2.3. Permeabilidad al Vapor de Agua (WVTR).	81
IV.2.2.4. Ensayos de Tracción.	81
IV.2.2.5. Ensayos de Penetración Microbiana.	81
IV.3. Resultados y Discusión.	82
IV.3.1. Hidrogeles Compuestos de PVA/Bentonita.	82
IV.3.1.1. Aspecto Macroscópico.	82
IV.3.1.2 Propiedades Térmicas, Físicas y Morfológicas de los Geles Compuestos con Bentonita.	82
IV.3.1.3. Propiedades Mecánicas de los Geles Compuestos con Bentonita.	87
IV.3.1.4. Velocidad de Transmisión de Vapor de Agua para los Compuestos PVA/Bentonita.	89
IV.3.2. Hidrogeles Compuestos de PVA/Nanocelulosa.	90
IV.3.2.1. Aspecto Macroscópico.	90
IV.3.2.2. Caracterización Química y Estructural de la Nanocelulosa.	91
IV.3.2.3. Características Morfológicas de la Nanocelulosa.	92
IV.3.2.4. Caracterización Morfológica de los Geles Compuestos con Nanocelulosa.	93
IV.3.2.5. Caracterización Térmica y Física del los Geles Compuestos con Nanocelulosa.	94
IV.3.2.6. Propiedades Mecánicas de los Geles Compuestos con Nanocelulosa.	97
IV.3.3. Ensayos de Penetración Bacteriana.	98
IV.4. Conclusiones.	98
IV.5. Trabajo A Futuro.	98

Referencias.	99
Capítulo V. Hidrogeles de PVA Compuestos con Nano-Hidroxiapatita para Reemplazo Articular	102
Resumen.	103
V.1. Introducción.	104
V.2. Procedimiento Experimental.	105
V.2.1. Preparación de los hidrogeles de PVA y reforzados con nano-HA (Figura V.1).	105
V.2.2. Métodos.	106
V.2.2.1 Métodos de Caracterización Morfológica, Física y Química.	106
V.2.2.1.1 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y Electrónica de Barrido con Emisión de Campo (FESEM).	106
V.2.2.1.2 Calorimetría Diferencial De Barrido (DSC).	106
V.2.2.1.3 Ensayos Termogravimétricos (TGA).	106
V.2.2.1.4 Difracción de Rayos X (DRX).	106
V.2.2.1.5 Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR).	106
V.2.2.2. Métodos de evaluación de la capacidad de hinchamiento.	107
V.2.2.2.1 Determinación de la Fracción de Gel (FG%).	107
V.2.2.2.2 Determinación del Grado de Hinchamiento.	107
V.2.2.3. Métodos de Caracterización Mecánica.	107
V.2.2.3.1 Ensayos de Compresión.	107
V.2.2.3.2. Ensayos de Tracción.	107
V.2.2.3.3. Análisis Dinámico Mecánico (DMA).	107
V.2.2.3.4 Ensayos de Fricción.	107
V.2.2.3.5. Ensayos de Nanoindentación.	108
V.3. Resultados y Discusión.	108
V.3.1 Aspecto Macro y Microscópico.	108
V.3.2. Caracterización Térmica y Física.	110
V.3.3. Propiedades Mecánicas.	112
V.3.4 Propiedades Viscoelásticas.	114
V.3.5 Coeficiente de Fricción.	115
V.3.6. Propiedades de Superficie (Ensayos de Nanoindentación Instrumentada).	115
V.4. Conclusiones.	119
V.5. Trabajo a Futuro.	120
Referencias.	120
Conclusiones Generales	124
Trabajo a Futuro	125
Producción Científica	126

RESUMEN

Los hidrogeles constituyen uno de los materiales más destacados en áreas biológicas, médicas y tecnológicas. Estos materiales conforman estructuras tridimensionales hinchadas en presencia de agua o de fluidos biológicos. Son muy blandos y tienen una gran capacidad de absorción de agua, pero son insolubles en ella, se hinchan cuando la absorben y aumentan considerablemente su volumen manteniendo su forma.

El polivinilalcohol (PVA) es un polímero hidrofílico y de bajo costo, a partir del cual pueden obtenerse hidrogeles con la ventaja adicional de poseer una alta resistencia química siendo a su vez biocompatibles con la sangre, fluidos corporales y tejidos. A partir del PVA se pueden generar hidrogeles por entrecruzamiento químico (con un agente entrecruzante como el glutaraldehído) o físico (mediante ciclos de congelamiento-descongelamiento de una solución acuosa de PVA). Esta última técnica posee las ventajas de ser sencilla, económica y no tóxica y se basa principalmente en la formación de cristales poliméricos que a la vez actúan como puntos de entrecruzamiento.

Una opción para mejorar muchas propiedades de los hidrogeles de PVA es el agregado de cargas específicas que brindan la posibilidad de desarrollar hidrogeles compuestos con propiedades adecuadas para ciertas aplicaciones biomédicas. La correcta elección de ambos componentes del gel, el refuerzo y la matriz polimérica, junto con la composición y la técnica de procesamiento son esenciales para obtener estos compuestos.

El objetivo general de la tesis fue obtener hidrogeles compuestos a partir de PVA y diferentes refuerzos con propiedades específicas mejoradas y potencial aplicabilidad en diferentes campos de la biomedicina. Para ello, se optimizó, en primer lugar, el método de obtención de los hidrogeles de PVA. Se analizaron los efectos del peso molecular y la concentración del PVA y del número de ciclos de congelamiento-descongelamiento sobre las propiedades finales. Además se encontró que es posible manipular las propiedades finales de los hidrogeles mediante tratamiento térmico pos-gelado. Una vez analizadas y ajustadas las variables del procesamiento, se obtuvieron hidrogeles compuestos de PVA con diferentes refuerzos utilizando la técnica de congelamiento-descongelamiento.

En primer lugar se trabajó con ferrogeles, que consisten en nanopartículas magnéticas (MNPs) embebidas en geles poliméricos. Pertenecen a una categoría importante de materiales sensibles a estímulos que responden a campos magnéticos externos. Son materiales únicos ya que son mecánicamente blandos, tienen una alta capacidad de absorción de agua y, al mismo tiempo, exhiben una fuerte respuesta magnética. Los ferrogeles fueron obtenidos a partir de óxidos de hierro y PVA mediante tres rutas diferentes: por entrecruzamiento de dispersiones de MNPs recubiertas con PVA, por entrecruzamiento de una solución de PVA y MNPs recubiertas con un polielectrolito (PAA) y por generación de MNPs en el interior de la red polimérica. Se analizaron las propiedades físicas, térmicas, morfológicas y magnéticas de los geles obtenidos por los tres métodos de síntesis. En todos los casos fue posible obtener ferrogeles superparamagnéticos a temperatura ambiente con alto grado de cristalinidad y gran capacidad de hinchamiento. Debido a la naturaleza biocompatible de los componentes, sumado a las buenas propiedades magnéticas y de hinchamiento que

poseen, estos geles son posibles candidatos para dispositivos aplicadores de liberación controlada de fármacos mediante campo magnético.

Se sabe que los hidrogeles proveen de un ambiente propicio para la curación de heridas, ya que pueden absorber los excesos de exudados en las mismas, además de protegerlas de infecciones secundarias y promover el proceso de cicatrización. Sin embargo, las propiedades mecánicas y de barrera a los microorganismos son muy pobres, por lo que una estrategia para potenciar su aplicación en este campo se basa en incorporar nano-refuerzos a los geles de PVA, para ello se agregaron nanoarcillas y nanofibras de celulosa. Se obtuvieron geles compuestos con mejoras en las propiedades mecánicas a la tracción y propiedades apropiadas de permeabilidad al vapor de agua e hinchamiento para ser utilizados como potenciales vendajes.

Todavía no se ha podido superar el desafío de construir un material para la reparación de cartílagos articulares que reproduzca las propiedades mecánicas del cartílago original y que pueda integrarse a la articulación. Los hidrogeles de PVA se han mostrado como prometedores implantes pero su falta de integración con el cartílago circundante además de su baja resistencia mecánica y durabilidad impiden su utilización en este campo. La desventaja de la mala adhesión podría subsanarse desarrollando un hidrogel con un componente tanto bioactivo como biocompatible tal como la hidroxiapatita (HA). Con este objetivo se prepararon geles compuestos de PVA con HA (en diferentes concentraciones) y se pudo ver que las propiedades mecánicas fueron mejoradas con el agregado del refuerzo, lo que indicaría que estos materiales podrían ser adecuados para utilizarse como reemplazo de cartílagos articulares.

ABSTRACT

Hydrogels have been extensively used in a variety of biomedical applications. These materials consist of a three dimensional network, swollen in the presence of water or biological fluids, have a great capacity to absorb water while being insoluble on it, they swell maintaining its shape, are soft and elastic.

Polyvinyl Alcohol (PVA) is a hydrophilic, low cost and synthetic polymer which has a relatively simple structure with a pendent hydroxyl group. PVA has the capability to form hydrogels with high chemical resistance. PVA hydrogels can be obtained by two different routes: chemical method (by using a crosslinking agent, such as glutaraldehyde (GA)) and by physical method (carried out by freezing-thawing (F-T) cycles, resulting in cryogels). The main advantages of F-T are its easiness that does require neither high temperatures nor toxic agents as waste that can be harmful to the human body. It results in the formation of crystallites that serve as physical crosslinks making an insoluble in water three-dimensional network.

An option to improve many properties of PVA hydrogels is the addition of specific fillers that gives the possibility of developing composite hydrogels with desired properties for selected application. The right selection of gel components, the filler and the matrix, with the composition and processing technique are essential to obtain these composites with the desired properties.

The major aim of this thesis was to obtain composites hydrogels based on PVA and different fillers with potential applications in different fields of biomedicine. For this purpose, firstly the obtaining method was optimized. The effects of molecular weight, numbers of F-T cycles and PVA concentrations over the final properties of the hydrogels were analyzed. Moreover all the most important properties of the hydrogels were influenced by an annealing treatment.

Foremost, ferrogels were obtained; these gels, consisting of magnetic nanoparticles (MNPs) embedded in polymer gels, are an important category of stimuli-sensitive polymers that respond to external magnetic fields. They are mechanically soft and highly elastic and, at the same time, exhibit a strong magnetic response. Ferrogels were obtained from PVA and iron oxides following three different synthesis routes: by crosslinking of PVA-coated MNPs dispersion, by crosslinking of PAA-coated MNPs in a PVA solution and by generation of MNPs inside the polymer matrix. Ferrogels with superparamagnetic behaviour at room temperature, high crystallinity degree, and excellent ability to swell were obtained in all cases. Biocompatibility of the components, magnetic and swelling behavior of the final materials and the use of a non-toxic PVA crosslinking strategy (F-T) make these materials promising for drug delivery applications.

Hydrogel are seen as an essential component in many different types of wound care. This is because these kinds of dressings are designed to hold moisture in the surface of the wound, providing the ideal environment for cleaning the wound, absorbing the exudates and promoting the healing process. However, they have a lack in mechanical and antimicrobial properties; composites have been designed to improve mechanical stiffness and durability. For this purpose, composites hydrogels based on PVA and different concentration of nanoclay (bentonite) and cellulose nanowhiskers were synthesized and characterized. Herein it was developed a reliable and a facile way to obtain nanocomposite hydrogels based on PVA with reasonable mechanical properties,

good microbial barrier properties, adequate water vapor transmission rates and excellent swelling behavior. All obtained results indicate that the composite hydrogels are promising materials to be used as wound dressing.

The technological advances in material science are not sufficient to overcome the challenge of construct a material able to replace the cartilage. The designed material has to meet the cartilage mechanical properties and has to be capable to be integrated to the articulation. Poly vinyl alcohol (PVA) hydrogels are promising implants but their low mechanical resistance, durability and the lack of these hydrogels in the integration with the surrounding tissue restrict their application in this area. The poor adhesion can be solved by the development of a composite hydrogel with bioactive and biocompatible filler, as the hydroxyapatite (HA). Hence, composite hydrogels were prepared with the adding of different amount of HA. It can be observed that the PVA/HA composite hydrogel could be deeply investigated for a potential use as articular cartilage replacement.

ORGANIZACIÓN Y ESTRUCTURA DE LA TESIS.

La presente tesis está organizada en cinco capítulos; el primero es una introducción a los hidrogeles en el cual se listan además los objetivos e hipótesis del trabajo realizado. El segundo capítulo se centra en la matriz de PVA, en el mismo se estudiaron y reportaron los resultados obtenidos a partir de la variación de las condiciones de procesamiento de los hidrogeles. El tercer capítulo se basa en el desarrollo de hidrogeles compuestos con nanopartículas magnéticas (ferrogeles) donde se describen y desarrollan tres métodos de obtención de los mismos. El cuarto capítulo trata sobre los compuestos preparados para potenciales vendajes obtenidos a partir de PVA y nanocelulosa o nanoarcillas. El último capítulo está referido a los compuestos obtenidos con hidroxiapatita con potencial aplicación en reemplazos articulares. Cada capítulo cuenta con su introducción correspondiente al tema a desarrollar, la preparación de los materiales, las técnicas utilizadas, la evaluación de las propiedades específicas para cada aplicación propuesta, los resultados obtenidos y las conclusiones. Asimismo, al final de la tesis se encuentran las conclusiones generales del trabajo realizado y la producción científica realizada a lo largo del doctorado.

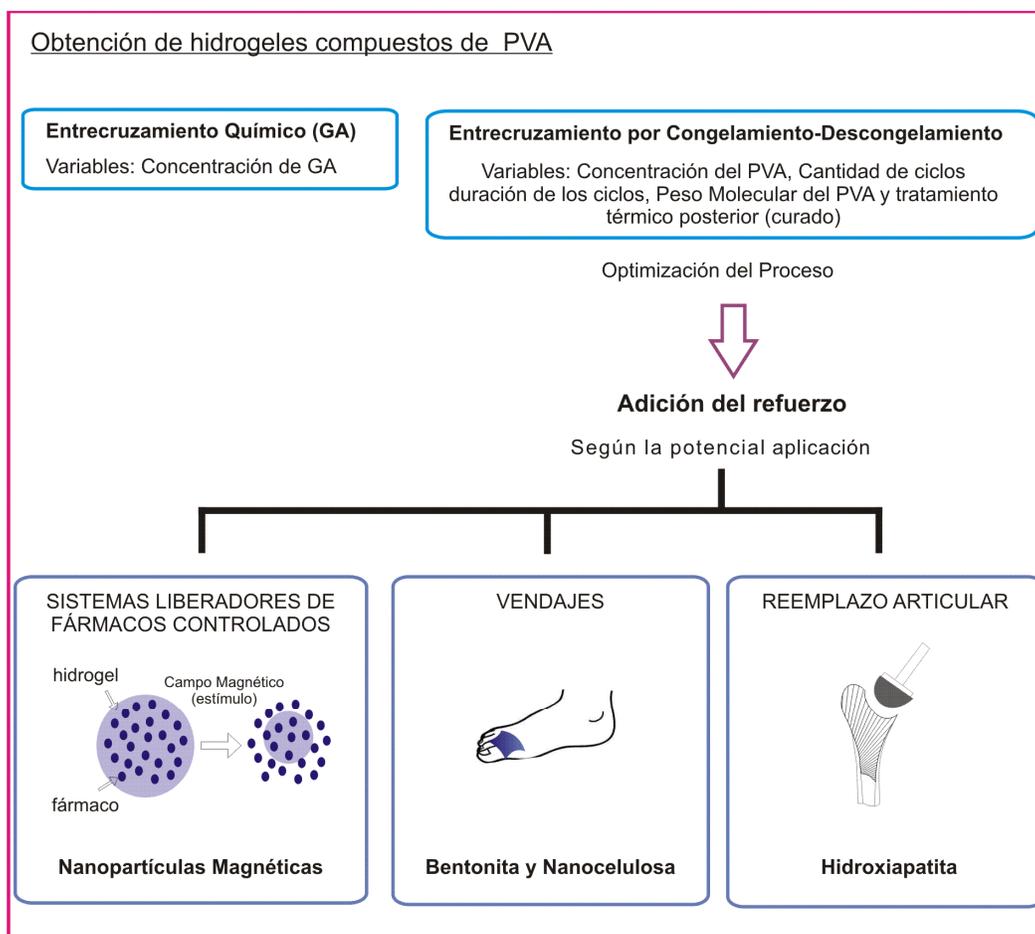


Figura 0. Esquema en bloques del trabajo desarrollado.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla II.1. Grado de hinchamiento en equilibrio de hidrogeles químicos.	34
Tabla II.2. Características principales del gel químico y el criogel.	34
Tabla II.3. Características principales de los criogeles con distintas concentraciones de PVA, peso molecular de 41.000g/mol y 3 ciclos de C-D.	35
Tabla II.4. Características de los criogeles con distintas concentraciones de PVA. Peso molecular de 93.500 con 3 ciclos de C-D.	36
Tabla II.5. Características de los hidrogeles según los pesos moleculares de PVA.	37
Tabla II.6. Criogeles con diferentes números de ciclos de C-D, 10 % p/v y PM 93.500 g/mol.	38
Tabla II.7. Absorción en equilibrio de muestras secas y sin secar en función del número de ciclos.	38
Tabla II.8. Efecto del tratamiento térmico sobre el grado de hinchamiento y la fracción de gel.	41
Tabla III.1. Principales propiedades de los geles físicos.	57
Tabla III.2. Propiedades térmicas y de hinchamiento de los geles físicos con partículas recubiertas y no recubiertas.	62
Tabla III.3. Propiedades térmicas y contenido de óxidos de hierro en los geles.	69
Tabla IV.1. Propiedades térmicas y físicas de los geles compuestos con bentonita.	83
Tabla IV.2. Valores obtenidos aplicando la ley de Bragg a los espectros de DRX.	87
Tabla IV. 3. Propiedades en tracción y absorción de agua de la matriz y los compuestos con bentonita.	88
Tabla IV.4. Propiedades de transmisión de vapor de agua de los hidrogeles de PVA solos y reforzados con diferentes contenidos de bentonita.	90
Tabla IV.5. Dimensiones de las fibras antes (MC) y después (NC) de la hidrólisis	93
Tabla IV.6. Propiedades térmicas y de hinchamiento de los hidrogeles solos y reforzados con diferentes contenidos de nanocelulosa.	94
Tabla IV.7. Propiedades mecánicas en tracción de los hidrogeles solos y reforzados con diferentes contenidos de nanocelulosa.	97
Tabla IV.8. Propiedades de transmisión de vapor de agua de los hidrogeles de PVA solos y reforzados con diferentes contenidos de nanocelulosa.	97
Tabla V.1. Propiedades térmicas y físicas de la matriz y de los geles compuestos con HA.	110
Tabla V.2. Propiedades mecánicas en compresión de los hidrogeles de PVA y PVA/HA.	113
Tabla V.3. Propiedades mecánicas en tracción de los hidrogeles de PVA y PVA/HA hidratados.	114
Tabla V.4. Propiedades viscoelásticas de los hidrogeles de PVA y PVA/HA.	114
Tabla V.5. Coeficientes de fricción de los hidrogeles de PVA y PVA/HA.	115
Tabla V.6. Módulos y trabajos de adhesión obtenidos de ensayos de nanoindentación para las muestras de PVA y 1,5HA.	118

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 0. Esquema en bloques del trabajo desarrollado.	10
Figura I.1. Diferentes representaciones de la estructura del PVA.	19
Figura I.2. Esquema representativo de la organización estructural de los criogeles de PVA.	20
Figura I.3. Representación de la reacción química entre PVA y GA para la obtención de hidrogeles.	21
Figura I.4. Curva de hinchamiento típica de un hidrogel.	23
Figura II.1. Esquema de la Técnica de Congelamiento-Descongelamiento (C-D) para la obtención de hidrogeles de PVA.	30
Figura II.2 Obtención de los criogeles de PVA.	31
Figura II.3 Obtención de los geles químicos de PVA.	32
Figura II.4 Medición de espesor. Soporte de vidrio (derecha) y foto obtenida en la lupa (izquierda).	33
Figura II.5. Variación en el espesor en función del tiempo de criogeles de diferentes concentraciones.	36
Figura II.6. Imágenes SEM de los criogeles con diferentes concentraciones izquierda 10% p/v, derecha 1.5% p/v.	37
Figura II.7. Absorción máxima de agua y fracción de gel en función del peso molecular.	37
Figura II.8. Módulo de Young y elongación a la rotura de los hidrogeles a) secos y b) hidratados, en función del número de ciclos.	39
Figura II.9. a) Absorción de agua a diferentes temperaturas b) Absorción de buffers pH 4 y 7.	39
Figura II.10. Fotografía de los hidrogeles tratados con distintas temperaturas. WT es la muestra sin tratar.	40
Figura II.11. Microfotografía SEM de un hidrogel tratado a 130 °C.	40
Figura II.12. a) Efecto de la temperatura del tratamiento térmico sobre el grado de cristalinidad y la temperatura de fusión del material b) Fracción de Gel en función del porcentaje de cristalinidad del material.	41
Figura II.13: Hinchamiento de los geles no tratado y tratados térmicamente.	41
Figura II.14: Hinchamiento de los geles en función de a) el porcentaje de cristalinidad y b) la fracción de gel.	42
Figura III.1. Obtención de los ferrogeles con NPs generadas “in situ” recubiertas con PVA.	50
Figura III.2. Obtención de los Ferrogeles con NPs recubiertas con PAA y no recubiertas.	51
Figura III.3. Preparación de ferrogeles por hinchamiento y posterior precipitación.	51
Figura III.4. Fotografías de los ferrogeles FCD (a) y FGA (b) con un imán permanente: comprobación de la formación de una fase magnética.	54
Figura III.5. Imágenes FESEM del FCD. La micrografía (b) es una magnificación de la imagen (a).	54
Figura III.6. Imágenes FESEM del FGA. La micrografía (b) es una magnificación de la imagen (a).	55
Figura III.7. Espectros de difracción de rayos X de la magnetita y los ferrogeles FCD y FGA.	55
Figura III.8. Espectros XANES de magnetita, maghemita y ferrogeles FGA y FCD.	56
Figura III.9. Espectros Mössbauer de los ferrogeles FCD y FGA.	56
Figura III.10. Termogramas de los geles obtenidos por congelamiento-descongelamiento.	57
Figura III.11. Curvas de absorción de agua de los geles físicos y químicos.	57
Figura III.12. Curvas de magnetización ZFC/FC en función de la temperatura para los ferrogeles FGA y FCD.	58
Figura III.13. Curvas de magnetización (M) en función del Campo aplicado (H) a diferentes temperaturas para los ferrogeles FCD y FGA.	59
Figura III.14. Fórmula química del ácido poliacrílico (PAA).	60
Figura III.15. Fotografías de a) Ferrogeles con NPs no recubiertas (6NC: ferrogel con 6% p/p de NPs no recubiertas a la izquierda y 9NC: ferrogel con 9% p/p de NPs no recubiertas a la derecha) y b) Ferrogeles con NPs recubiertas con PAA (6PAA: ferrogel con 6% p/p de NPs recubiertas con PAA a	60

la izquierda y 9PAA: ferrogel con 9% p/p de NPs recubiertas con PAA a la derecha).

Figura III.16. Micrografías FESEM de a) 6NC: ferrogel con 6% p/p de NPs no recubiertas b) 9NC: ferrogel con 9% p/p de NPs no recubiertas, c) 6PAA: ferrogel con 6% p/p de NPs recubiertas con PAA y d) 9PAA: ferrogel con 9% p/p de NPs recubiertas con PAA.	61
Figura III.17. Ferrogel con NPs recubiertas con PAA.	63
Figura III.18. Curvas SAXS de los ferrogeles con a) NPs recubiertas (6PAA y 9PAA) y b) NPs no recubiertas (6NC y 9NC).	64
Figura III.19. Curvas de Magnetización en función de Campo de ferrogeles con NPs recubiertas: a) 6PAA y b) 9PAA y ferrogeles con NPs no recubiertas c) 9NC y d) 6NC.	66
Figura III.20. Curvas ZFC/FC de a) ferrogeles con NPs recubiertas con PAA y b) ferrogeles con NPs no recubiertas.	67
Figura III.21. a) hidrogel de PVA, b) hidrogel hinchado hasta el equilibrio con sales de Fe ⁺² y Fe ⁺³ y c) ferrogel (luego de la precipitación de las sales).	67
Figura III.22. Imágenes FESEM (a) y TEM (b,c, y d) de los ferrogeles con diferentes magnificaciones, y en b) la curva de distribución de tamaños.	68
Figura III.23. Difractogramas del ferrogel y la magnetita.	68
Figura III.24. Curvas M vs H del ferrogel a diferentes temperaturas.	69
Figura III.25. M vs T en FC/ZFC para el ferrogel seco e hidratado.	70
Figura IV.1. Estructura de filosilicatos 2:1.	77
Figura IV.2. Estructura de la celulosa.	77
Figura IV.3. Esquema del proceso de obtención de los geles compuestos con bentonita.	78
Figura IV.4. Esquema del proceso de obtención de la nanocelulosa.	79
Figura IV.5. Esquema del proceso de obtención de los geles compuestos con nanocelulosa.	79
Figura IV.6. Ensayos para la determinación de la WVTR.	81
Figura IV.7. Ensayo de penetración microbiana (día cero).	82
Figura IV.8. Fotografía de los geles compuestos PVA/ arcilla y de la matriz (secos durante 24 h a 37 °C).	82
Figura IV.9. Características físicas y estructurales de los hidrogeles compuestos en función del contenido de bentonita.	82
Figura IV.10. Micrografías FESEM de los hidrogeles a) PVA y compuestos de PVA con bentonita b) 1B, c)3B y d) 5B.	84
Figura IV.11. Curvas del análisis termogravimétrico de los hidrogeles compuestos de PVA con bentonita: a) Masa residual y b) DTGA, en función de la temperatura.	84
Figura IV.12. Espectros FTIR de la matriz y la arcilla y los compuestos PVA/B.	85
Figura IV.13. Estructuras posibles en mezclas de silicatos estratificados y polímeros: (a) microcompuesto; (b) nanocompuesto intercalado; (c) nanocompuesto exfoliado.	85
Figura IV.14. Espectros DRX de la matriz, la bentonita y los nanocompuestos. a) espectro completo y b) bajos ángulos.	86
Figura IV.15. Curvas tensión - deformación obtenida en el ensayo de tracción de los geles compuestos: a) secos b) hidratados.	87
Figura IV.16. Curvas tensión-deformación obtenidas de los ensayos de tracción de los hidrogeles compuestos PVA/bentonita.	88
Figura IV.17. Esquema de la estructura del compuesto PVA/arcilla.	89
Figura IV.18. Relación entre la WVTR y el grado de hinchamiento del hidrogel.	90
Figura IV.19. Fotografía de los geles compuestos de PVA con nanocelulosa (secos durante 24 h a 37 °C).	90
Figura IV.20. Espectros FTIR de la nanocelulosa y microcelulosa.	91
Figura IV.21. Espectros DRX de la micro y nanocelulosa.	92
Figura IV.22. Micrografías: a) SEM de la microcelulosa (MC), b) AFM de la nanocelulosa (NC).	92

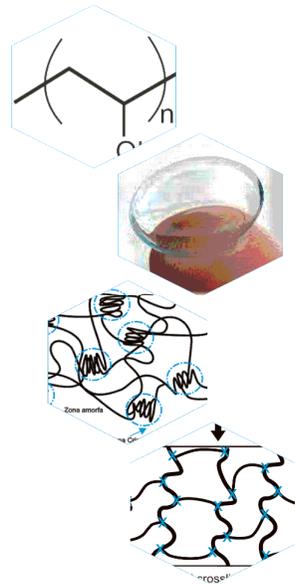
Figura IV.23. Micrografías de nanocompuestos de PVA con nanocelulosa a) 1NC, b) amplificación de a), c) 3NC y d) amplificación de c).	93
Figura IV.24. Curvas del análisis termogravimétrico de la matriz de PVA, la NC y los materiales compuestos PVA/ NC: a) Masa residual y b) DTGA , en función de la temperatura.	95
Figura IV.25. Espectros FTIR del PVA, la NC y los geles compuestos PVA/ NC.	96
Figura IV.26. Espectros de difracción de Rayos X de la matriz, la nanocelulosa y los compuestos PVA/NC.	96
Figura IV.27. Curvas tensión-deformación obtenidas en los ensayos de tracción uniaxial de la matriz y los nanocompuestos con celulosa.	97
Figura IV.28. WVTR en función de M_w para los compuestos PVA/NC.	98
Figura IV.29. Ensayo de penetración microbiana con <i>Staphylococcus aureus</i> a 15 días en hidrogeles de 1B y 3B.	98
Figura V.1. Obtención de los geles compuestos PVA/HA.	105
Figura V.2. Configuración dual cantiléver utilizado en los ensayo dinámico-mecánicos.	107
Figura V.3. Dispositivo utilizado para el ensayo de fricción.	108
Figura V.4. Fotografía de los hidrogeles de PVA (0HA) y de los compuestos PVA/HA.	109
Figura V.5. Imágenes SEM de los hidrogeles de a) PVA, b) 1,5HA, c) 3HA, d) 6HA y e) 7,5HA	109
Figura V.6. Imágenes FESEM de los hidrogeles de a) 1,5HA y b) 3HA.	110
Figura V.7. Patrones de difracción de Rayos X de la matriz, la HA y sus compuestos (PVA/HA).	111
Figura V.8. FTIR de la matriz, la HA y los compuestos (PVA/HA).	112
Figura V.9. Curvas tensión- deformación obtenidas en el ensayo de compresión de los geles.	112
Figura V.10. Indentador cónico de radio R, en nuestro caso 500 μm .	116
Figura V.11. Curvas fuerza-penetración del indentador obtenidas del ensayo de nanoindentación de las muestras de PVA y 1,5HA.	116
Figura V.12. Módulo de Hertz en función de la carga máxima para los hidrogeles de PVA y 1,5HA.	117
Figura V.13. Ajuste con el modelo híbrido de los datos obtenidos de las muestras de a)PVA y b)1,5HA.	117
Figura V.14. Curva P-h con los parámetros a utilizar en la aproximación de Oliver-Pharr.	118
Figura V.15. Geles multicapas.	120

TABLA DE ABREVIATURAS

AFM	Microscopía de Fuerza Atómica
B	Bentonita
C-D	Congelamiento-Descongelamiento
DRX	Difracción de Rayos X
DSC	Calorimetría Diferencial de Barrido
E	Módulo Elástico
FC	<i>Field Cooling</i>
Fe ₃ O ₄	Magnetita
FESEM	Microscopía Electrónica de Barrido por Emisión de Campo
FG	Fracción de gel
FTIR	Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier
GA	Glutaraldehído
H	Campo Magnético
HA	Hidroxiapatita
$H_c(T)$	Campo Coercitivo
M	Magnetización
M _e	Grado de hinchamiento en equilibrio
MC	Microcelulosa
MNPs	Nanopartículas Magnéticas
$M_r(T)$	Magnetización Remanente
$M_s(T)$	Magnetización de Saturación
NC	Nanocelulosa o nano-fibras de celulosa
NPs	Nanopartículas
PAA	Poliácido acrílico
PM	Peso Molecular
PVA	Polivinilalcohol
SAXS	Dispersión de Rayos X de Ángulo Pequeño
SEM	Microscopía Electrónica de Barrido
T _B	Temperatura de Bloqueo
TEM	Microscopía Electrónica de Transmisión
T _f	Temperatura de Fusión
T _g	Temperatura de Transición Vítrea
TGA	Ensayos Termogravimétricos
T _d	Temperatura de Degradación
WVTR	Velocidad de Transmisión de Vapor de Agua
XANES	Absorción de Rayos X cerca de Estructura de Borde
X _c	Grado de Cristalinidad
ZFC	<i>Zero Field Cooling</i>
γ-Fe ₂ O ₃	Maghemita
ε	Deformación
σ	Resistencia

Capítulo I

INTRODUCCIÓN: HIDROGELES DE POLIVINILALCOHOL



Resumen

Los hidrogeles se utilizan actualmente en un gran número aplicaciones biológicas, médicas y tecnológicas; siendo algunas de las más importantes la liberación controlada de fármacos y la ingeniería de tejidos. Estos materiales conforman estructuras tridimensionales hinchadas en presencia de agua o de fluidos biológicos, tienen una gran capacidad de absorción de agua, pero son insolubles en ella, se hinchan cuando la absorben y aumentan considerablemente su volumen manteniendo su forma.

El polivinilalcohol (PVA) es un polímero hidrofílico y de bajo costo, a partir del cual pueden obtenerse hidrogeles con la ventaja adicional de poseer una alta resistencia química siendo a su vez biocompatibles. Este polímero puede formar hidrogeles tanto por métodos físicos como químicos y sus propiedades finales dependerán, entre otras variables, del método de obtención.

Una opción para mejorar muchas propiedades de los hidrogeles de PVA, lo que permite darle diferentes funcionalidades, es el agregado de refuerzos definidos que brindan la posibilidad de desarrollar hidrogeles compuestos con propiedades específicas para la una aplicación seleccionada. Algunos ejemplos son; los minerales inorgánicos, tales como hidroxiapatita; óxidos metálicos y nanotubos de carbono que se incorporan en matrices poliméricas para impartir bioactividad o propiedades especiales para aplicaciones biomédicas.

En base a la introducción en la temática de la tesis, en el presente capítulo se listan la motivación e hipótesis de trabajo así como los objetivos generales y particulares de la tesis.

Palabras claves: hidrogel, PVA, compuestos.

I.1. HIDROGELES: GENERALIDADES.

Durante los últimos cincuenta años, los hidrogeles han sido de gran interés para numerosas aplicaciones biomédicas y farmacéuticas como lentes de contacto, recubrimientos superficiales, vendajes y sistemas de administración de fármacos [1-2]. El primer hidrogel para aplicaciones biomédicas fue descubierto por Lim y Wichterle en 1955 [1] formado por un copolímero de metacrilato de 2 - hidroxietilo y dimetacrilato de etileno, con alta estabilidad bajo diferentes condiciones de pH y temperatura, que lo convertían en una excelente opción para la producción de lentes de contacto.

No existe una definición precisa del término hidrogel. Los hidrogeles consisten básicamente en una red tridimensional de un polímero hidrofílico que tiene la capacidad de absorber una gran cantidad de agua sin disolverse [3]. Asimismo, un gel es un sistema de dos fases, una fase formada por las cadenas de la red (el polímero entrecruzado) y otra por las moléculas de solvente. La capacidad de adsorción de agua que poseen está relacionado con los grupos químicos presentes en el polímero (-COOH, CONH₂, -CONH-, y SO₃H) además de un efecto capilar y de la presión osmótica [4]. La eliminación del solvente del gel resulta en una red polimérica no porosa (los poros se colapsan) [5].

Se ha demostrado que los hidrogeles son biocompatibles con sangre, fluidos corporales y tejidos, lo que les permite convertirse en materiales muy prometedores para aplicaciones biomédicas [6-8]. La biocompatibilidad de los hidrogeles se debe a varios factores [9]. Por un lado, tienen baja energía interfacial con los tejidos y fluidos biológicos; esta propiedad permite minimizar la fuerza motriz para la adsorción de proteínas y la adhesión celular. Además, debido a que su contenido de agua es muy alto, la superficie del hidrogel es extremadamente hidrofílica y capaz de simular algunas propiedades de los tejidos blandos naturales. Finalmente, su aspecto suave minimiza la irritación debido a la fricción de los tejidos circundantes.

Los colágenos y goma guar son ejemplos de polímeros naturales que se modifican para producir hidrogeles. Además muchos polímeros sintéticos tales como el polivinilalcohol [10-11], poliacrilonitrilo/polipirrol, polimetacrilato de hidroxietilo, N - isopropilacrilamida, poliácidoacrílico, y poliacrilonitrilo, entre otros, son adecuados para obtener hidrogeles [12].

Es posible clasificar a los hidrogeles en varias categorías dependiendo de:

- Tipo de polímero: homopolímero, copolímero, múltipolímeros o polímeros interpenetrados.
- Carga: hidrogeles neutros, aniónicos, catiónicos o anfóteros.
- Naturaleza del entrecruzamiento: hidrogeles químicos o físicos.

I.2. POLIVINILALCOHOL.

El Polivinilalcohol (PVA) es un polímero biocompatible que tiene alta solubilidad y capacidad de hinchamiento en agua debido a sus grupos hidroxilos (OH) pendientes de la cadena principal (**Figura I.1**), además de tener bajo costo y ser inocuo [13]. Por todas estas características, el PVA puede cubrir una amplia gama de aplicaciones en diferentes sectores industriales y comerciales, tales como alimentos [14], aguas residuales [15], biomedicina [16] y farmacia[17], entre otros. Por lo tanto, el desarrollo de nuevos materiales, innovadores y útiles, basados en PVA representa una oportunidad comercial en varios campos de aplicación.

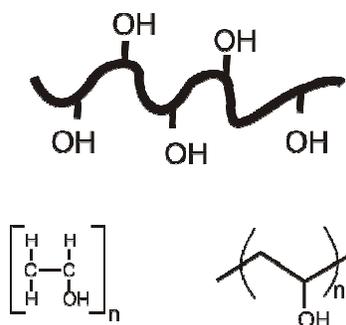


Figura I.1. Diferentes representaciones de la estructura del PVA.

El monómero vinil alcohol, no existe en forma estable, por lo que el PVA es preparado en dos etapas. La primera etapa consiste en la polimerización del acetato de vinilo en acetato de polivinilo por un mecanismo de radicales libres y luego por hidrólisis parcial del polivinil acetato se obtiene el PVA [18-20]. Diferentes grados de hidrólisis del PVA se pueden alcanzar variando el contenido de grupos acetato en el polímero y esto afecta la solubilidad, las propiedades químicas, la cristalinidad y el comportamiento del material final. Industrialmente, el PVA se produce en el orden de varios cientos de miles de toneladas por año en todo el mundo y los grados de hidrólisis varían entre 70 y 99% [23].

El PVA es un polvo blanco, insípido e inodoro desarrollado en 1924 por Hermann y col. [23]. Tiene un punto de fusión entre 180 y 220 °C y es soluble en agua pero insoluble en disolventes orgánicos comunes [24].

I.3. MÉTODOS DE FORMACIÓN DE HIDROGELES DE PVA.

Se puede hacer una primera clasificación de hidrogeles de PVA teniendo en cuenta la naturaleza de la reacción de entrecruzamiento. Existen diferentes rutas de entrecruzamiento para producir geles de PVA que se basan en métodos físicos o químicos [21]. El primero de los métodos puede ser utilizado para formar geles físicos: fuertes o débiles. El gel físico fuerte tiene fuertes enlaces físicos entre las cadenas de polímero. Estas interacciones pueden ser, por ejemplo, microcristales laminares, nódulos vidriosos o hélices dobles y triples. Los geles físicos débiles tienen enlaces reversibles formados a partir de asociaciones temporales entre las cadenas [22]. Estas asociaciones tienen tiempo de vida finito y se rompen y re-forman continuamente y las interacciones pueden ser puentes de hidrógeno, micelas de copolímero de bloque y asociaciones iónicas. En contraste, la gelación química implica la formación de enlaces covalentes. Las tres principales reacciones químicas de gelación incluyen la condensación, la vulcanización y polimerización por adición [23]. Dos de los métodos más importantes, que serán utilizados en el desarrollo de esta tesis, se describen en los párrafos siguientes.

I.3.1. Método de congelamiento-descongelamiento (C-D).

El PVA es un polímero capaz de generar geles mediante este método, ya que puede gelar físicamente mediante la formación de regiones cristalinas [24]. El proceso de entrecruzamiento se basa típicamente en el congelamiento de una solución de PVA a -20 °C (aproximadamente) y el descongelamiento a temperatura ambiente (alrededor de 20 °C), repitiendo estos pasos varias veces. Estos geles, también llamados criogeles,

presentan una estructura porosa, con poros llenos de una fase pobre en polímero [25-27]. La organización estructural a micro escala se origina a partir de la presencia de dos fases separadas: las zonas ricas en polímero y las zonas de baja concentración de polímero, como se puede observar en la **Figura I.2** [28-30].

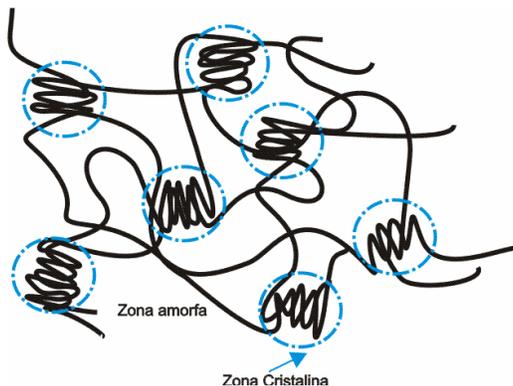


Figura I.2. Esquema representativo de la organización estructural de los criogeles de PVA.

La red se encuentra entrecruzada por regiones interconectadas de una fase rica en polímero. La fase rica en polímero se compone de pequeños agregados de micelas cristalinas formadas por las cadenas de PVA y dominios amorfos; los dominios amorfos conectan a los cristales [30]. Esta estructura es la responsable de que estos hidrogeles tengan mayor resistencia y rigidez que sus homólogos químicamente entrecruzados ya que la carga mecánica se distribuye a lo largo de los cristales en la red [24, 30-31].

Los hidrogeles de PVA preparados por C-D son una elección excelente ya que muestran una elevada tenacidad, un comportamiento mecánico típico de sólido elástico no-lineal, no son tóxicos y pueden ser aceptados por el cuerpo humano sin producir rechazo [32-33]. Es sabido que las propiedades químicas y mecánicas de estos geles son directamente dependientes del número de ciclos de congelamiento y descongelamiento tanto como de la concentración del polímero en la solución acuosa y del peso molecular del mismo [34].

I.3.2. Método químico.

Este método se basa en la utilización de un agente químico que actúa como entrecruzante del polímero para formar el hidrogel. Los agentes químicos aptos para formar geles de PVA, que se han utilizado en bibliografía son etilenglicol-diglicidil-éter [35] o poliéster-sulfonado [36]. El más ampliamente utilizado es el glutaraldehído (GA), en la **Figura I.3** [37] se muestra el entrecruzamiento del PVA utilizando GA como agente químico.

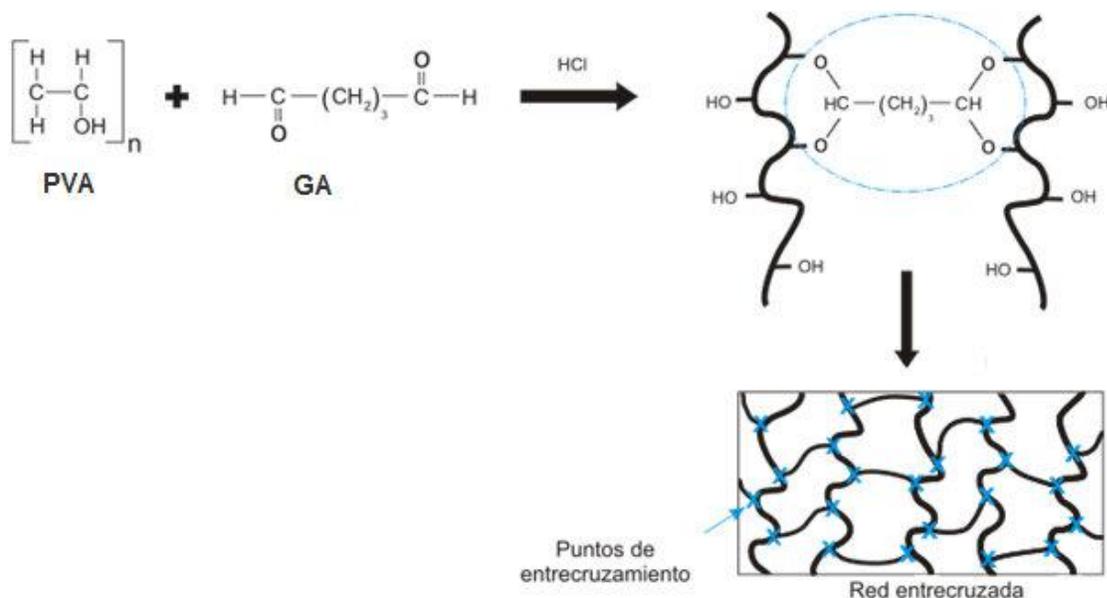


Figura I.3. Representación de la reacción química entre PVA y GA para la obtención de hidrogeles.

Este método de gelación puede reducir la biocompatibilidad de los materiales ya que pueden quedar residuos tóxicos utilizados en la reacción de entrecruzamiento (metanol, ácidos, etc) o monómeros sin reaccionar [38-40].

Otro de los métodos utilizados para la formación de hidrogeles químicos, es el entrecruzamiento mediante irradiación con la aplicación de rayos gamma [41]. Las principales ventajas con las que cuenta este método es que no necesita de iniciadores y/o agentes de entrecruzamiento para producir la síntesis, por lo tanto, el gel contiene solamente polímero en su estructura y no requiere de una purificación adicional [42]. Por otra parte, la irradiación de rayos γ por lo general permite la esterilización de los materiales poliméricos en el mismo paso de la síntesis, reduciendo así los costos y tiempos de producción [43]. Esto hace que la irradiación con rayos γ sea una herramienta muy adecuada para la preparación de hidrogeles. Este método se ha utilizado para preparar hidrogeles de PVA / glicerina [44] y PVA/poli (pirrolidona de vinilo) [45] entre otros sistemas.

I.4. HIDROGELES COMPUESTOS.

Una opción para mejorar muchas propiedades de los hidrogeles de PVA es el agregado de cargas definidas lo que brinda la posibilidad de desarrollar hidrogeles compuestos con propiedades específicas para una aplicación seleccionada. Por ejemplo, los minerales inorgánicos, tales como hidroxiapatita [46-48]; óxidos metálicos [49] y nanotubos de carbono [50-51] se incorporan en matrices poliméricas para impartir bioactividad o propiedades especiales para aplicaciones biomédicas.

Los hidrogeles pueden ser clasificados en tres generaciones [52]. Los hidrogeles convencionales o de primera generación, están caracterizados por hinchamiento rápido y alta capacidad de absorción, pero sus estructuras se rompen fácilmente aún sometidas a bajas cargas o esfuerzos. Los de segunda generación o hidrogeles compuestos, muestran un menor grado de hinchamiento que los de primera generación pero con propiedades mecánicas mejoradas, sin embargo aún se rompen cuando se les aplican esfuerzos moderados. La tercera generación incluye los hidrogeles nanocompuestos, los cuales presentan excelentes propiedades mecánicas

[53]. Estos nanocompuestos generalmente consisten de una matriz orgánica (polímero) y un material de refuerzo (orgánico o inorgánico), en los que al menos unas de las dimensiones de la carga añadida está en el rango de los nanómetros, o sea, se diferencian en longitud en tres órdenes de magnitud de los microcompuestos [54]. Por lo tanto, la distancia entre cargas vecinas es mucho más pequeña en nanocompuestos que en microcompuestos y el área superficial es mucho mayor en el caso de los nanocompuestos. Por todo esto, se espera que las interacciones de las matrices poliméricas con los refuerzos sean mucho más fuertes en los nanocompuestos [55]. En estos materiales se logran, simultáneamente, alta tenacidad, excelentes propiedades ópticas y sensibilidad a los estímulos externos, superando así las limitaciones de los hidrogeles de segunda generación [56-57].

En el caso de las aplicaciones biomédicas, algunos de los casos en donde se utilizan hidrogeles nanocompuestos es en la liberación controlada de fármacos o en la ingeniería de tejidos; estos materiales se diseñan para cumplir con los requisitos específicos para estas aplicaciones particulares [58]. La correcta elección de ambos componentes del material; el refuerzo y la matriz polimérica; junto con la composición y la técnica de procesamiento u obtención, son esenciales para desarrollar materiales adecuados para lo que se los pretende utilizar [59]. Un grupo de materiales especiales son los llamados "materiales poliméricos inteligentes", que se definen como macromoléculas capaces de experimentar transiciones rápidas, de fase reversible de carácter hidrofílico a hidrofóbico [60]. Estas transiciones son provocadas por pequeños cambios en el medio local, tales como pequeñas variaciones en la temperatura, el pH, el campo magnético, la fuerza iónica y/o la concentración de moléculas biológicas específicas [61-62].

I.5. PROPIEDADES DE LOS HIDROGELES.

Generalmente, para caracterizar un hidrogel y poder predecir su comportamiento, se estudian la morfología, el comportamiento térmico, la estabilidad o grado de entrecruzamiento, la capacidad de hinchamiento y el comportamiento mecánico. La mayor atención se pone en la capacidad de hinchamiento, debido a que es muy relevante y determinante del resto de las propiedades en este tipo de materiales y en las propiedades mecánicas ya que no sólo es complejo medirlas sino que los métodos que evalúen precisamente los parámetros mecánicos más importantes en este tipo de material, tan blando y con alto contenido de solvente, se encuentran aún en desarrollo.

I.5.1. Capacidad de hinchamiento.

La capacidad de hinchamiento se define como el porcentaje de solvente que es capaz de absorber el gel a lo largo del tiempo inmerso en dicho solvente en relación al peso seco del gel. La fórmula que se utiliza para determinarla es:

$$M_t \% = \frac{M_t - M_0}{M_0} \times 100 \quad (1)$$

donde M_0 es la masa del hidrogel antes de sumergirlo (peso seco) y M_t es la masa del hidrogel extraído de la solución.

Esta propiedad afecta a otras, como por ejemplo, la permeabilidad, las propiedades mecánicas y superficiales y la biocompatibilidad, por lo que es determinante medirla.

Con el fin de lograr una alta capacidad de hinchamiento es importante para generar una estructura con una buena afinidad con el disolvente acuoso. Esta afinidad depende de varios factores: la morfología (porosidad), el grado de hidrofiliidad y entrecruzamiento, la naturaleza del solvente y la interacción polímero-solvente [63]. La presencia de grupos funcionales (amida, hidroxilo y carboxilo) y de iones monovalentes (potasio, sodio y amonio) favorece el proceso de hinchamiento del polímero [63-64]. El mecanismo de hinchamiento (*swelling* en inglés) puede ser considerado como un proceso de difusión seguido por un proceso de relajación [63, 65]. Al principio, la tasa de hinchamiento se determina por la tasa de difusión de agua que depende de la temperatura de la solución, el peso molecular del disolvente y el grado de porosidad dentro de la estructura de hidrogel. En la siguiente etapa, la velocidad de absorción se ralentiza debido a la relajación de la cadena de polímero (Figura II.4).

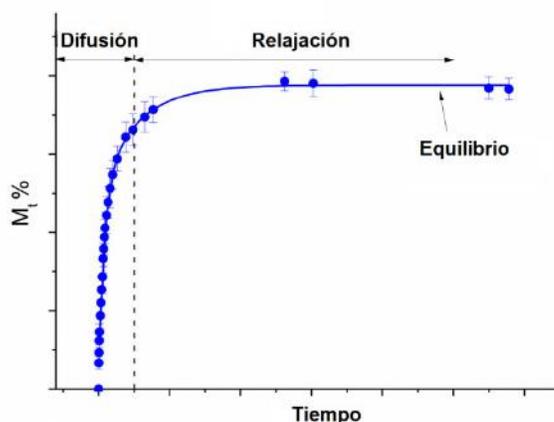


Figura I.4. Curva de hinchamiento típica de un hidrogel.

El grado de hinchamiento influye en las propiedades mecánicas de los hidrogeles, por lo general, a mayores grados de hinchamiento las propiedades mecánicas se deterioran. Sin embargo, para la mayoría de las aplicaciones, es importante obtener un balance entre el grado de hinchamiento y el comportamiento mecánico [66].

I.5.2. Propiedades mecánicas.

Por lo general, los hidrogeles se caracterizan mecánicamente por diferentes técnicas tales como: compresión y tracción uniaxial, creep y relajación de tensiones y nanoindentación, que se relacionan con su comportamiento en servicio y/o en la aplicación seleccionada. Debido al comportamiento viscoelástico de los hidrogeles, se miden también las propiedades ensayando en creep o relajación de tensiones para evaluar la respuesta del material a lo largo del tiempo [67].

El mayor problema que existe actualmente radica en que los instrumentos de medición disponibles fueron diseñados para el estudio de materiales duros [67] por lo que, para poder llevar a cabo las mediciones en los hidrogeles es necesario la adaptación tanto de los parámetros experimentales [68-69] como de las técnicas [70] y los métodos de análisis [71].

I.5.3. Propiedades específicas.

Según la aplicación que se le quiere adjudicar al hidrogel, ciertas propiedades específicas como son: ópticas, permeabilidad al vapor/oxígeno, magnéticas, tribológicas, biocompatibilidad, absorción/ desorción de ciertos compuestos químicos, entre otras, deben ser medidas y tenidas en cuenta.

I.6. MOTIVACIÓN, OBJETIVOS GENERALES, PARTICULARES E HIPÓTESIS DE TRABAJO.

Teniendo en cuenta todas las posibles aplicaciones y bondades que tienen los hidrogeles de PVA y la capacidad de formar compuestos con posibles aplicaciones biomédicas y que:

- actualmente no existen materiales capaces de liberar fármacos de manera eficiente y eficaz,
- que no se han desarrollado materiales capaces de reemplazar al cartílago,
- que no se ha podido solucionar la falta de vendajes capaces de absorber los exudados, al mismo tiempo protegiendo la herida y proporcionando un ambiente óptimo para la cicatrización.

Los objetivos de la presente tesis son:

Objetivo general

Obtener hidrogeles a partir de polivinilalcohol y diferentes refuerzos con propiedades específicas mejoradas y alta aplicabilidad en biomedicina.

Objetivos específicos

Obtener hidrogeles de polivinilalcohol (PVA).

- Optimizar la técnica de obtención de los mismos (entrecruzamiento químico o físico).
 - Analizar el efecto del peso molecular del PVA sobre las propiedades finales.
 - Analizar el efecto de la concentración del PVA sobre las propiedades finales.
 - Analizar el efecto del número de ciclos de congelamiento-descongelamiento sobre las propiedades finales.
 - Optimizar las propiedades de los hidrogeles mediante tratamiento térmico.
- Obtener hidrogeles compuestos de PVA con diferentes refuerzos utilizando la técnica de congelamiento-descongelamiento.
 - Con nanopartículas magnéticas (ferrogeles) para ser utilizados como sistemas liberadores de drogas.
 - Con bentonita y nanocelulosa para ser utilizados como vendajes.
 - Con hidroxipatita para su potencial aplicación en reemplazo articular.

Bajo las siguientes hipótesis:

- Es posible mejorar algunas de las propiedades del hidrogel de PVA modificando: el método de entrecruzamiento, la concentración de PVA, el peso molecular, la cantidad de ciclos de C-D y/o el tratamiento térmico (post gelado).

- Es posible obtener geles magnéticos por métodos simples y no-tóxicos para poder ser utilizados en liberación de fármacos.
- Es posible mejorar las propiedades específicas necesarias para el uso de los hidrogeles de PVA como vendajes mediante el agregado de nanorefuerzos (nanoarcilla y nanofibras de celulosa).
- El agregado de HA puede mejorar no sólo la bioactividad del material final sino que además puede influir sobre otras propiedades (principalmente mecánicas y físicas) relevantes para reemplazos articulares.

Referencias.

1. Janik, H. y Gibas, I., *Review: Synthetic polymer hydrogels for biomedical applications*. Chemistry and chemical technology, 2010. **4**.
2. Vidovic, E., *The development of bioabsorbable hydrogels on the basis of polyester grafted poly (vinyl alcohol)*. 2006, Universitätsbibliothek.
3. Rosiak, J.M. y Yoshii, F., *Hydrogels and their medical applications*. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, 1999. **151**(1-4): p. 56-64.
4. Rosiak, J.M. y col. , *Radiation formation of hydrogels for biomedical purposes. Some remarks and comments*. Radiation Physics and Chemistry, 1995. **46**(2): p. 161-168.
5. Okay, O., *Macroporous copolymer networks*. Progress in Polymer Science (Oxford), 2000. **25**(6): p. 711-779.
6. Hoffman, A.S., *Hydrogels for biomedical applications*. Advanced Drug Delivery Reviews, 2012. **64**: p. 18-23.
7. Michalek, J.y col., *Hydrogels Contact Lenses*, in *Biomedical Applications of Hydrogels Handbook*, R.M. Ottenbrite, K. Park, and T. Okano, Editors. 2010, Springer New York. p. 303-315.
8. Peppas, N.A. y col., *Hydrogels in Biology and Medicine: From Molecular Principles to Bionanotechnology*. Advanced Materials, 2006. **18**(11): p. 1345-1360.
9. Patel, A. y Mequanint, K., *Hydrogel Biomaterials in Biomedical Engineering, Frontiers and Challenges*, in *Biomedical Engineering - Frontiers and Challenges*, R. Fazel-Rezai, Editor. 2011, Ebsco A-To-Z; Base - Bielefeld Academic. p. 275-296.
10. Oka, M. y col., *Development of artificial articular cartilage*. Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine, 2000. **214**(1): p. 59-68.
11. Smetana Jr, K., *Cell biology of hydrogels*. Biomaterials, 1993. **14**(14): p. 1046-1050.
12. Li, H., *Smart hydrogel modelling*. 2009, Heidelberg : New York : Springer. xvii, 359 p.
13. Chiellini, E. y col., *Biodegradation of poly (vinyl alcohol) based materials*. Progress in Polymer Science (Oxford), 2003. **28**(6): p. 963-1014.
14. Tripathi, S.; Mehrotra G.K. y Dutta, P.K., *Physicochemical and bioactivity of cross-linked chitosan-PVA film for food packaging applications*. International Journal of Biological Macromolecules, 2009. **45**(4): p. 372-376.
15. Zhang, J. y col., *Supercritical water oxidation of polyvinyl alcohol and desizing wastewater: Influence of NaOH on the organic decomposition*. Journal of Environmental Sciences, 2013. **25**(8): p. 1583-1591.
16. Liu, K. y col., *Graphite/poly (vinyl alcohol) hydrogel composite as porous ringy skirt for artificial cornea*. Materials Science and Engineering C, 2009. **29**(1): p. 261-266.
17. Singh, B. y Sharma, V., *Design of psyllium-PVA-acrylic acid based novel hydrogels for use in antibiotic drug delivery*. International Journal of Pharmaceutics, 2010. **389**(1-2): p. 94-106.
18. Jiang, S.; Liu, S. y Feng, W., *PVA hydrogel properties for biomedical application*. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, 2011. **4**(7): p. 1228-1233.
19. Slaughter, B.V. y col., *Hydrogels in regenerative medicine*. Adv Mater, 2009. **21**(32-33): p. 3307-29.
20. Chang, J.Y., *Biopolymers, PVA hydrogels, anionic polymerisation, nanocomposites*. 2000, Berlin: Springer.
21. Hennink, W.E. y van Nostrum, C.F., *Novel crosslinking methods to design hydrogels*. Advanced Drug Delivery Reviews, 2012. **64**: p. 223-236.
22. Schexnailder, P. y Schmidt, G., *Nanocomposite polymer hydrogels*. Colloid and Polymer Science, 2009. **287**(1): p. 1-11.
23. Gulrez, S. y Al-Assaf, S.y Phillips, G.O., *Hydrogels: Methods of Preparation, Characterisation and Applications in Molecular and Environmental Bioengineering*, in *Analysis and Modeling to Technology Applications*, A. Carpi, Editor. 2011.

24. Hassan, C. y Peppas, N., *Structure and Applications of Poly(vinyl alcohol) Hydrogels Produced by Conventional Crosslinking or by Freezing/Thawing Methods*, in *Biopolymers · PVA Hydrogels, Anionic Polymerisation Nanocomposites*. 2000, Springer Berlin Heidelberg. p. 37-65.
25. Yokoyama, F. y col., *Morphology and structure of highly elastic poly(vinyl alcohol) hydrogel prepared by repeated freezing-and-melting*. *Colloid & Polymer Science*, 1986. **264**(7): p. 595-601.
26. Willcox, P.J. y col., *Microstructure of poly(vinyl alcohol) hydrogels produced by freeze/thaw cycling*. *Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics*, 1999. **37**(24): p. 3438-3454.
27. Takeshita, H. y col., *Gelation process and phase separation of PVA solutions as studied by a light scattering technique*. *Macromolecules*, 1999. **32**(23): p. 7815-7819.
28. Ricciardi, R. y col., *Structural organization of poly(vinyl alcohol) hydrogels obtained by freezing and thawing techniques: A SANS study*. *Chemistry of Materials*, 2005. **17**(5): p. 1183-1189.
29. Millon, L.E. y col., *SANS characterization of an anisotropic poly(vinyl alcohol) hydrogel with vascular applications*. *Macromolecules*, 2007. **40**(10): p. 3655-3662.
30. Shoichet, M.S., *Polymer scaffolds for biomaterials applications*. *Macromolecules*, 2010. **43**(2): p. 581-591.
31. Padavan, D.T. y col., *Synthesis, characterization and in vitro cell compatibility study of a poly(amic acid) graft/cross-linked poly(vinyl alcohol) hydrogel*. *Acta Biomaterialia*, 2011. **7**(1): p. 258-267.
32. Bolto, B. y col., *Crosslinked poly(vinyl alcohol) membranes*. *Progress in Polymer Science (Oxford)*, 2009. **34**(9): p. 969-981.
33. Ricciardi, R. y col., *Short time dynamics of solvent molecules and supramolecular organization of poly (vinyl alcohol) hydrogels obtained by freeze/thaw techniques*. *Macromolecules*, 2005. **38**(15): p. 6629-6639.
34. Wang, J.Q. y Satoh, M., *A novel reversible thermo-swelling hydrogel*. *Express Polymer Letters*, 2010. **4**(7): p. 450-454.
35. Paranhos, C.M. y col., *Microstructure and free volume evaluation of poly(vinyl alcohol) nanocomposite hydrogels*. *European Polymer Journal*, 2007. **43**(12): p. 4882-4890.
36. Scotchford, C.A. y col., *Osteoblast responses to collagen-PVA bioartificial polymers in vitro: The effects of cross-linking method and collagen content*. *Biomaterials*, 1998. **19**(1-3): p. 1-11.
37. Park, J.S.; Park, J.W. y Ruckenstein, E., *Thermal and dynamic mechanical analysis of PVA/MC blend hydrogels*. *Polymer*, 2001. **42**(9): p. 4271-4280.
38. Rosiak, J.M. y Ulański, P., *Synthesis of hydrogels by irradiation of polymers in aqueous solution*. *Radiation Physics and Chemistry*, 1999. **55**(2): p. 139-151.
39. Gendler, E.; Gendler S. y Nimni M.E., *Toxic reactions evoked by glutaraldehyde-fixed pericardium and cardiac valve tissue bioprosthesis*. *Journal of Biomedical Materials Research*, 1984. **18**(7): p. 727-736.
40. Speer, D.P. y col., *Biological effects of residual glutaraldehyde in glutaraldehyde-tanned collagen biomaterials*. *Journal of Biomedical Materials Research*, 1980. **14**(6): p. 753-764.
41. Mathur, A.M.; Moorjani S.K. y Scranton A.B., *Methods for synthesis of hydrogel networks: A review*. *Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews*, 1996. **36**(2): p. 405-430.
42. Nghiep, T.; Minh D.T. y Cong N., *Formation and characterization of a hydrophilic polymer hydrogel under gamma irradiation*. *Journal of radioanalytical and nuclear chemistry*, 2010. **285**(3): p. 719-721.
43. Gwon, H.J. y col., *Characterization of PVA/glycerin hydrogels made by γ -irradiation for advanced wound dressings*. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 2009. **26**(6): p. 1686-1688.
44. Razzak, M.T. y col., *Irradiation of polyvinyl alcohol and polyvinyl pyrrolidone blended hydrogel for wound dressing*. *Radiation Physics and Chemistry*, 2001. **62**(1): p. 107-113.
45. Nho, Y. y Park K., *Preparation and properties of PVA/PVP hydrogels containing chitosan by radiation*. *Journal of Applied Polymer Science*, 2002. **85**(8): p. 1787-1794.
46. Cai, Y. y col., *Role of hydroxyapatite nanoparticle size in bone cell proliferation*. *Journal of Materials Chemistry*, 2007. **17**(36): p. 3780-3787.
47. Guha, A.; Nayar S. y Thatoi, H.N., *Microwave irradiation enhances kinetics of the biomimetic process of hydroxyapatite nanocomposites*. *Bioinspiration and Biomimetics*, 2010. **5**(2).
48. Cholewa-Kowalska, K. y col., *Gel-derived bioglass as a compound of hydroxyapatite composites*. *Biomedical Materials*, 2009. **4**(5).
49. Mao, L. y col., *Structure and character of artificial muscle model constructed from fibrous hydrogel*. *Current Applied Physics*, 2005. **5**(5): p. 426-428.
50. Bianco, A. y col., *Biomedical applications of functionalised carbon nanotubes*. *Chemical Communications*, 2005(5): p. 571-577.
51. Yang, W. y col., *Carbon nanotubes for biological and biomedical applications*. *Nanotechnology*, 2007. **18**(41).

52. Omidian, H. y Park K., *Hydrogels*, in *Fundamentals and Applications of Controlled Release Drug Delivery*, J. Siepmann, R.A. Siegel, and M.J. Rathbone, Editors. 2012, Springer US. p. 75-105.
53. Kopeček, J., *Hydrogel biomaterials: A smart future?* *Biomaterials*, 2007. **28**(34): p. 5185-5192.
54. Pavlidou, S. y Papaspyrides, C.D., *A review on polymer-layered silicate nanocomposites*. *Progress in Polymer Science (Oxford)*, 2008. **33**(12): p. 1119-1198.
55. Tanaka, T.; Montanari, G.C. y Mülhaupt R., *Polymer nanocomposites as dielectrics and electrical insulation-perspectives for processing technologies, material characterization and future applications*. *IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation*, 2004. **11**(5): p. 763-784.
56. Haraguchi, K. y Takehisa, T., *Nanocomposite hydrogels: a unique organic-inorganic network structure with extraordinary mechanical, optical, and swelling/de-swelling properties*. *Advanced Materials*, 2002. **14**(16): p. 1120.
57. Haraguchi, K.; Takehisa T. y Fan S., *Effects of clay content on the properties of nanocomposite hydrogels composed of poly (N-isopropylacrylamide) and clay*. *Macromolecules*, 2002. **35**(27): p. 10162-10171.
58. Gomes, M.E. y Reis R.L., *Biodegradable polymers and composites in biomedical applications: From catgut to tissue engineering Part I Available systems and their properties*. *International Materials Reviews*, 2004. **49**(5): p. 261-273.
59. Rajkumar, M.; Meenakshi Sundaram N. y Rajendran V., *In-situ preparation of hydroxyapatite nanorod embedded poly (vinyl alcohol) composite and its characterization*. *International Journal of Engineering Science and Technology*, 2010. **2**(6): p. 8.
60. Galaev, I.Y.; Galaev I. y Mattiasson B., *Smart Polymers for Bioseparation and Bioprocessing*. 2002: Taylor & Francis.
61. Ulijn, R.V. y col., *Bioresponsive hydrogels*. *Materials Today*, 2007. **10**(4): p. 40-48.
62. Kumar, A. y col., *Smart polymers: Physical forms and bioengineering applications*. *Progress in Polymer Science (Oxford)*, 2007. **32**(10): p. 1205-1237.
63. Park, K.; Okano, T. y Ottenbrite, R.M., *Biomedical applications of hydrogels handbook*. 2010, New York: Springer. xix, 432 p.
64. Yang, T., *Mechanical and swelling properties of hydrogels*, in *KTH Chemical Science and Engineering*. 2012.
65. Alpesh, P. y Kibret, M., *Hydrogel Biomaterials*. *Biomedical Engineering - Frontiers and Challenges*. 2011.
66. Vidovic, E., *The development of bioabsorbable hydrogels on the basis of polyester grafted poly(vinyl alcohol)*. (Doctoral dissertation, Universitätsbibliothek).2006.
67. Blum, M.M., *Development, Characterization and Simulation of Boundary Lubricant Functionalized Hydrogels for Use as a Low-Friction Cartilage Substitute*, in *University of Notre Dame*. 2012.
68. Drira, Z. y Yadavalli, V.K., *Nanomechanical measurements of polyethylene glycol hydrogels using atomic force microscopy*. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 2013. **18**(0): p. 20-28.
69. Kohn, J.C. y Ebenstein, D.M., *Eliminating adhesion errors in nanoindentation of compliant polymers and hydrogels*. *J Mech Behav Biomed Mater*, 2013. **20**: p. 316-26.
70. Zhu, Y. y col., *Determination of mechanical properties of soft tissue scaffolds by atomic force microscopy nanoindentation*. *Journal of Biomechanics*, 2011. **44**(13): p. 2356-2361.
71. Kaufman, J.D. y col., *Time-dependent mechanical characterization of poly(2-hydroxyethyl methacrylate) hydrogels using nanoindentation and unconfined compression*. *J Mater Res*, 2008. **23**(5): p. 1472-1481.

Capítulo II

HIDROGELES DE PVA:

MÉTODOS DE OBTENCIÓN Y VARIABLES DEL PROCESAMIENTO.



Resumen

En las últimas décadas, los hidrogeles han llamado la atención por sus excelentes propiedades para aplicaciones biológicas, médicas y tecnológicas. Estos materiales conforman estructuras tridimensionales, poseen una gran capacidad de absorción de agua siendo, a la vez, insolubles en ella, se hinchan y aumentan considerablemente su volumen manteniendo su forma además son blandos y se comportan como un sólido elástico no lineal.

Las propiedades de los hidrogeles dependen principalmente del grado de entrecruzamiento y del contenido de agua o fase líquida. En esta parte de la tesis se caracterizaron hidrogeles de polivinilalcohol (PVA) obtenidos por la técnica de congelamiento-descongelamiento (C-D), por medio de ésta se obtienen polímeros entrecruzados físicamente con las ventajas sobre otras técnicas de ser biocompatibles, biodegradables y no dejar residuos tóxicos que pueden afectar al cuerpo humano.

Se estudió la influencia de la cantidad de ciclos (de 1 a 4 ciclos) de C-D, la concentración del PVA (5,10 y15% p/v), el peso molecular (18.000, 41.000, 93.500 y 155.000 g/mol) y tratamientos térmicos post-entrecruzamiento sobre la estructura (cristalinidad, temperatura de transición vítrea y temperatura de fusión por calorimetría diferencial de barrido y fracción de gel por gravimetría); la estabilidad térmica (por análisis termogravimétrico) y el hinchamiento de los hidrogeles, por otra parte se realizó una comparación con los hidrogeles obtenidos mediante el método de entrecruzamiento químico tradicional (utilizando como entrecruzante al glutaraldeído).

Los resultados obtenidos indican que el grado de entrecruzamiento aumenta con la cantidad de ciclos y con la concentración y el peso molecular del PVA. Además, se pudo ver que las propiedades cambian notablemente en función de la temperatura del tratamiento térmico, revelando que es posible obtener hidrogeles con propiedades prefijadas modificando las variables de obtención de los mismos y mediante la aplicación de un tratamiento térmico determinado y, obtener así, hidrogeles con características específicas según la aplicación deseada.

Palabras claves: hidrogel, PVA, congelamiento-descongelamiento, criogel, entrecruzamiento químico.

II.1. INTRODUCCIÓN.

Existen diversos métodos para la obtención de hidrogeles de polivinilalcohol (PVA) tales como: entrecruzamiento químico, utilizando agentes entrecruzantes, por ejemplo el glutaraldehído (GA) [1], la fotopolimerización por radiación UV [2], radiación gamma [3], irradiación de electrones [4] y la técnica de congelamiento-descongelamiento (C-D) [5]. Esta última técnica presenta las ventajas de ser muy sencilla y de no requerir altas temperaturas como sucede en el caso de entrecruzamiento por radiación, ni contener agentes tóxicos que pueden quedar como residuos peligrosos para su utilización en aplicaciones biomédicas como es el caso del entrecruzamiento químico [5-7]. Los hidrogeles son redes elásticas tridimensionales que poseen una gran capacidad de absorción de agua y fluidos biológicos siendo a la vez insolubles en ellos, se hinchan y aumentan considerablemente su volumen manteniendo su forma [8], son materiales muy blandos [9] y, según el contenido de agua, poseen propiedades tanto del estado sólido como del estado líquido [10].

En los últimos años el interés por utilizar hidrogeles de PVA ha aumentado considerablemente, esto se debe principalmente a la alta biocompatibilidad de este polímero. Entre sus posibles aplicaciones se destacan el uso en injertos coronarios [11], bio-adhesivos bucales [12], lentes de contactos [7] y cartílagos articulares [13], entre otras aplicaciones biomédicas.

Las propiedades de estos materiales dependen principalmente de la densidad o grado de entrecruzamiento [14] y del contenido de agua [15]. Estas características están controladas por las variables del proceso de obtención, tales como, la concentración del polímero en la solución acuosa inicial, la cantidad de ciclos de C-D [16] y el peso molecular promedio del polímero (PM) [17].

La obtención del hidrogel por medio de sucesivos ciclos de C-D da como resultado un gel que se conoce generalmente como criogel. Se han propuesto varios mecanismos para intentar explicar el proceso de entrecruzamiento producido por C-D. Algunos autores [18] consideran que en la etapa de congelamiento, los cristales de hielo expulsan a los segmentos amorfos del polímero, aumentando la concentración del medio circundante e induciendo la formación de microcristales poliméricos, que son considerados responsables de la formación de la red, actuando como puntos de entrecruzamiento. En la etapa de descongelamiento, a temperatura ambiente, los cristales de hielo se funden sin que colapse la estructura del gel (**Figura II.1**), dando como resultado una matriz porosa, formada por regiones pobres en polímero rodeada de zonas ricas en el mismo.

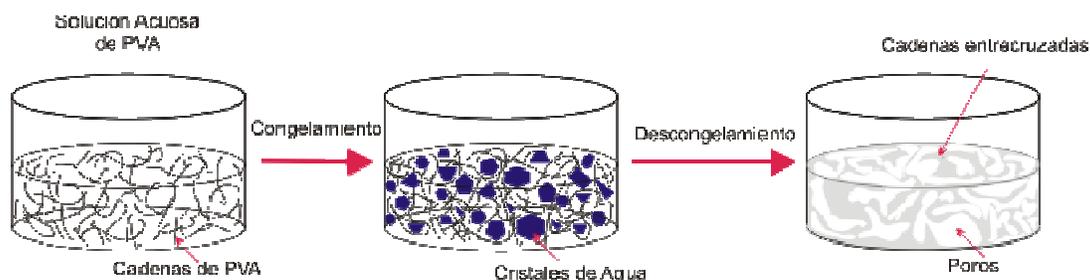


Figura II.1. Esquema de la Técnica de Congelamiento-Descongelamiento (C-D) para la obtención de hidrogeles de PVA.

Durante los sucesivos ciclos de C-D, la estructura del polímero se desarrolla progresivamente y adquiere mayor estabilidad [17-18]. A pesar de que esta es la idea generalmente aceptada, hay otras explicaciones que apuntan a mecanismos de unión tipo puentes de hidrógeno como la interacción inductora responsable de la formación de la red física durante la contracción de las cadenas poliméricas [15, 19] e incluso se ha propuesto que el entrecruzamiento se da por un proceso químico que resulta de la creación de radicales libres formados por cizallamiento durante el crecimiento de los cristales de hielo [17].

Como primera etapa de la tesis se estudiaron los hidrogeles de la matriz (PVA solo) modificando las variables relevantes del procesamiento, para luego continuar con la obtención de hidrogeles compuestos.

Siguiendo la hipótesis de que es posible controlar las propiedades del hidrogel final seleccionando las variables de procesamiento, se estudió la influencia del tipo de entrecruzamiento utilizado comparando el entrecruzamiento químico con GA con el entrecruzamiento físico. Por otra parte, en el caso de los criogeles, se estudió la influencia del número de ciclos (de 1 a 4) de C-D, la concentración del PVA (5,10 y 15 % p/v) y el PM (18.000, 41.000, 93.500 y 155.000 g/mol), sobre la estructura del gel, el grado de hinchamiento en solución fisiológica y las propiedades finales de los hidrogeles. Se analizó además el efecto de realizar un tratamiento térmico a diferentes temperaturas.

II.2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

II.2.1. Obtención de los Hidrogeles.

II.2.1.1. Criogeles (Figura II.2).

Los hidrogeles se prepararon utilizando soluciones de PVA (5, 10 y 15 % p/v), PM: 41.000 g/mol, grado de hidrólisis de 99%, provisto por Sigma-Aldrich, en agua destilada a 85 °C durante 4 horas bajo agitación constante hasta disolver completamente el polímero. Luego se llevaron a un baño ultrasónico por 30 minutos para eliminar todas las burbujas. Una vez que las soluciones se encontraban a temperatura ambiente, se colocaron en moldes antiadherentes, y se llevaron a un freezer (-18 °C) durante 1 hora, luego se dejaron a temperatura ambiente (25 °C) por 1 hora; este ciclo de C-D se realizó 4 veces, obteniéndose así los criogeles.

De forma similar se prepararon hidrogeles a partir de soluciones de 10% p/v de PVA con diferentes pesos moleculares: 18.000, 41.000, 93.500 y 155.000 g/mol.

Además se preparó una solución 10 % p/v de PVA de PM 93.500 g/mol, con la cual se obtuvieron geles con distintos números de ciclos de C-D (1-4).

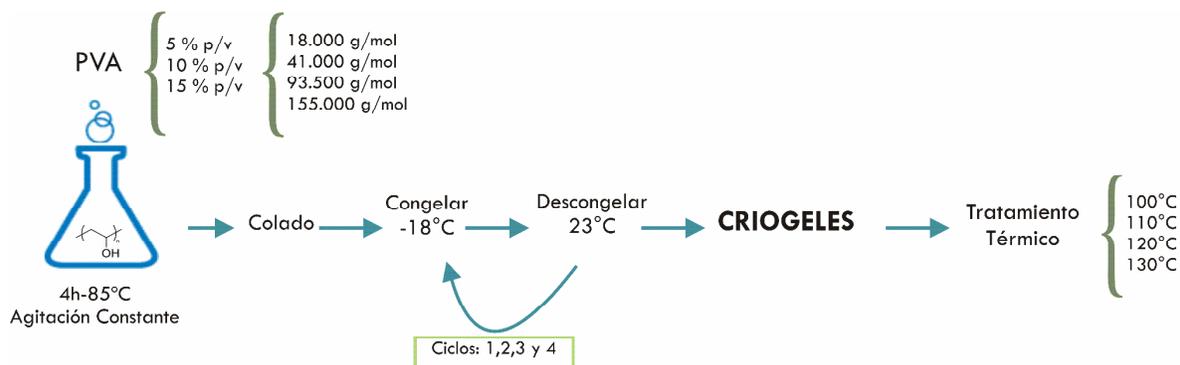


Figura II.2 Obtención de los criogeles de PVA.

II.2.1.2. Geles Químicos (Figura II.3).

Los hidrogeles se prepararon utilizando soluciones de PVA (5, 10 y 15 % p/v) de la forma explicada anteriormente. Una vez que las soluciones se encontraban a temperatura ambiente, se tomaron 10 ml de cada solución y se mezclaron con una solución de entrecruzamiento (2,8 ml). La solución de entrecruzamiento (7 ml) constó de 3 ml de metanol al 50 vol. %, 2 ml de ácido acético al 10 vol. % (buffer), 1, 3 o 5 ml de GA 5 vol. % (agente de entrecruzamiento) y 1 ml de ácido sulfúrico al 10 vol.% (catalizador). Esta mezcla fue colocada en moldes antiadherentes que se llevaron a estufa a 37 °C durante 24 horas.

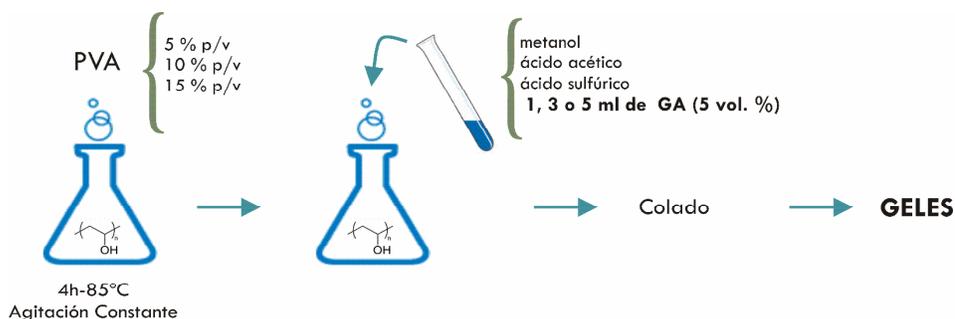


Figura II.3 Obtención de los geles químicos de PVA.

II.2.2. Métodos.

En todos los casos los ensayos se hicieron por triplicado y se utilizó una distribución *T-Student* para determinar las desviaciones.

II.2.2.1. Métodos de Caracterización Morfológica y Térmica.

II.2.2.1.1. Microscopía Electrónica De Barrido (SEM). Se tomaron micrografías para analizar la estructura del hidrogel en un equipo JEOL JSM-6460 LV. Es importante aclarar que las micrografías se tomaron luego de que los geles fueran hinchados y liofilizados, se debe tener mucho cuidado en este paso porque se sabe que el secado de los geles produce el colapso de la red porosa arribando a falsas conclusiones respecto de la porosidad de estos materiales [20]. Luego fueron criofracturados y recubiertos con oro previo a la obtención de las imágenes.

II.2.2.1.2. Calorimetría Diferencial De Barrido (DSC). Los ensayos se realizaron en un calorímetro Shimadzu DSC-50. Las muestras se calentaron en atmósfera de nitrógeno desde temperatura ambiente hasta 37 °C a 10 °C/min y se mantuvieron a esa temperatura durante 15 minutos, luego se calentaron hasta 260 °C a la misma velocidad de calentamiento. Se determinó la temperatura de fusión (T_f) y se calculó el porcentaje de cristalinidad (X_c %) según:

$$X_{cr} \% = \frac{\Delta H}{\Delta H^0} \times 100 \quad (1)$$

donde ΔH es el calor de fusión medido entre 190 y 240 °C y ΔH^0 es el calor de fusión del material 100% cristalino (138,6 J/g) [21].

II.2.2.1.3. Ensayos Termogravimétricos (TGA). Los ensayos se realizaron en un equipo Shimadzu TGA-DTGA 50, desde temperatura ambiente hasta 700 °C a 10 °C/min en atmósfera de aire. Las muestras se secaron a 37 °C durante 48 horas antes de ser analizadas. Se determinó la temperatura de degradación (T_d).

II.2.2.2. Métodos de Evaluación de la Capacidad de Hinchamiento.

II.2.2.2.1. Determinación de la Fracción de Gel (FG%). La fracción de gel se determinó pesando una muestra previamente secada en estufa a 37 °C durante 48 horas (M) y sumergiéndola en agua destilada por 4 días, luego se volvió a secar a 37 °C hasta peso constante (M) y se determinó la fracción de gel, como:

$$FG\% = \frac{M_f}{M_i} \times 100 \quad (2)$$

Cabe aclararse que es importante determinar la FG ya que la misma está directamente relacionada con el grado de entrecruzamiento del hidrogel.

II.2.2.2.2. Determinación del Grado De Hinchamiento. Se estudió el hinchamiento de los hidrogeles sumergiendo las muestras en solución fisiológica (SF) a 37 °C. Todas las muestras fueron previamente secadas en estufa durante 48 horas a 37 °C. Las muestras fueron pesadas antes de comenzar el ensayo (M), extraídas de la solución a diferentes tiempos, secadas cuidadosamente en la superficie con papel absorbente y pesadas (M). Este procedimiento fue repetido hasta que la muestra alcanzó un peso constante (M_s). El porcentaje de hinchamiento a cada tiempo se calculó como:

$$M_t\% = \frac{M_t - M_0}{M_0} \times 100 \quad (3)$$

Para analizar el efecto del pH y la temperatura sobre el hinchamiento, se realizaron los mismos estudios en dos soluciones buffer de pH 4 y 7 respectivamente y en solución fisiológica a 5 °C y a 37 °C.

II.2.2.2.3. Medición del Espesor. La medición del espesor de films de hidrogeles hidratados presenta serias dificultades si se lleva a cabo por el método tradicional (utilizando un micrómetro). Esto ocurre porque el material es altamente deformable y el error llega a ser del orden de magnitud de la medición. Ante estos inconvenientes se desarrolló un método más preciso utilizando un microscopio óptico Olympus SZ-10 y el software de análisis de imágenes Image-Pro Plus 4.5. Se adosó el hidrogel a un vidrio colocado perpendicularmente a la lente, se tomaron fotografías de los mismos utilizando como referencia el espesor del vidrio para calcular el espesor del gel.



Figura II.4. Medición de espesor. Soporte de vidrio (izquierda) y foto obtenida en la lupa (derecha).

II.2.2.3. Tratamientos Térmicos. Las muestras de hidrogel fueron tratadas por 1 hora a diferentes temperaturas: 100, 110, 120, 130 y 140 °C en estufa. Estas temperaturas fueron seleccionadas porque son mayores a la temperatura de evaporación del agua y se encuentran entre la temperatura de transición vítrea (T_g) y la T_m del polímero.

II.2.2.4. Ensayos de Tracción. Se realizaron ensayos de tracción uniaxial en una máquina de ensayos universales Instron 4467 a temperatura ambiente y a una velocidad de travesa de 50 mm/min. Las muestras se

cortaron en tiras de aproximadamente 60 mm de largo por 7 mm de ancho. Se determinaron el módulo de Young (E) y la deformación a la rotura (ϵ).

Es importante destacar que los ensayos se realizaron con el hidrogel seco o con el hidrogel hinchado, ya que los instrumentos y equipos no permiten la medición y/o utilización de la muestra en cualquier estado. Sin embargo, para poder realizar comparaciones correctamente, las muestras siempre fueron analizadas en el mismo estado. Además cabe aclarar que en todos los casos analizados, las muestras fueron obtenidas y caracterizadas el mismo día y en iguales condiciones; se pudo comprobar que los geles son muy sensibles a las condiciones ambientales de ensayo como se observa en el desarrollo de la tesis.

II.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

II.3.1. Efecto del Método de Entrecruzamiento.

II.3.1.1. Concentración del Agente Entrecruzante.

Con el objetivo de sintetizar hidrogeles químicamente entrecruzados, con la menor concentración de GA capaz de producir la gelación del polímero y, de esta forma, reducir la cantidad de agentes tóxicos utilizados; se prepararon hidrogeles con distintos contenidos de GA (1, 3 o 5 ml) y tres concentraciones de PVA (5, 10 y 15 % p/v). El grado de hinchamiento de estos geles se muestra en la **Tabla II.1**.

Tabla II.1. Grado de hinchamiento en equilibrio de hidrogeles químicos.

Muestra % p/v PVA- ml GA	M_c %	FG %
5 % p/v PVA - 1 y 3 ml GA	No entrecruza	No entrecruza
5 % p/v PVA - 5 ml GA	58,2 ± 4,5	67,3 ± 3,6
10 % p/v PVA - 5 ml GA	47,0 ± 3,8	91,3 ± 0,7
15 % p/v PVA - 5 ml GA	41,2 ± 4,0	92,2 ± 2,3

Se encontró que el mínimo volumen de GA que produce gelación, entre las cantidades estudiadas, es de 5 ml ya que a menor cantidad de GA los hidrogeles se disolvían. A medida que aumenta la concentración de PVA, manteniendo constante el volumen de GA (5 ml) el grado de hinchamiento disminuye y la fracción de gel aumenta, lo que indicaría que se produce un incremento de puntos de entrecruzamiento de la matriz.

II.3.1.2. Comparación entre los Métodos de obtención Físico y Químico.

La siguiente tabla (**Tabla II.2**) resume las principales características de los hidrogeles preparados utilizando ambas técnicas.

Tabla II.2. Características principales del gel químico y el criogel.

Muestra	T_g °C	FG %	M_c %
10%PVA/5ml GA	184,1	91,3 ± 0,7	46,9 ± 5,5
10%PVA/4C-D/PM:41.000	289,5	83,4 ± 1,4	221,5 ± 5,4

De la tabla se observa que la temperatura de degradación (T_d) se modifica considerablemente según el método de obtención utilizado, esto se puede atribuir a la degradación del GA a bajas temperaturas. Con respecto a la fracción de gel, ambos geles tienen valores altos de esta propiedad, siendo mayor en las muestras entrecruzadas químicamente, con una notoria disminución en la capacidad de hinchamiento. Por otra parte, se puede observar que la capacidad de hinchamiento de los criogeles es cinco veces mayor que la de los geles químicamente entrecruzados, lo que indica que los criogeles poseen mejores propiedades en general, además de la ventaja de ser obtenidos de manera sencilla y sin reactivos tóxicos [22-23].

II.3.2. Efecto de la Concentración de PVA.

Los resultados obtenidos para los hidrogeles preparados a partir de soluciones con distintas concentraciones se muestran en la **Tabla II.3**.

Tabla II.3. Características principales de los criogeles con distintas concentraciones de PVA, peso molecular de 41.000g/mol y 3 ciclos de C-D.

Muestra	Concentración de PVA % p/v	T_f °C	X_c %	M_c %
H5%	5	210,4	17,2	324,2 ± 10,0
H10%	10	216,5	26,8	319,7 ± 9,8
H15%	15	223,1	23,5	212,7 ± 6,7

Se puede observar que al aumentar la concentración de PVA se incrementa la temperatura de fusión de los cristales en el gel (T_f); esto puede relacionarse con la existencia de cristales de mayor tamaño, lo que debería afectar directamente a las propiedades mecánicas del material [5]. Por otra parte, no se observan cambios significativos ni tendencia general para la cristalinidad de los criogeles, este resultado no era esperable ya que la bibliografía habla de un aumento en la cantidad de cristales o puntos de entrecruzamiento dados por esos cristales a medida que aumenta la concentración del polímero [5, 24]. También se pudo ver que el grado de hinchamiento disminuye a medida que aumenta la concentración de PVA; al aumentar el contenido de PVA, el número de moléculas por unidad de volumen se hace más grande, por lo que se generan más zonas de entrecruzamiento físico y la distancia entre cristales es menor; luego, hay menos espacio para que ocupen las moléculas de agua y una distancia mayor para que penetren hasta el poro [7]. Luego, podemos suponer que el grado de entrecruzamiento sí se ve afectado por la concentración inicial del polímero mientras que la cristalinidad no lo hace, por lo que se podría inferir que los puntos de entrecruzamiento pueden estar dados por estos cristales más grandes que contribuyen al entrecruzamiento de la matriz o por la formación de otro tipo de enlaces (tipo puentes de H o fuerzas de van der Waals) [15, 17, 19].

Otra forma de estudiar el hinchamiento de los geles y, por lo tanto, de inferir su grado de entrecruzamiento y/o tamaño de poro es mediante la observación en los cambios del espesor de las muestras sumergidas en agua (**Figura II.5**).

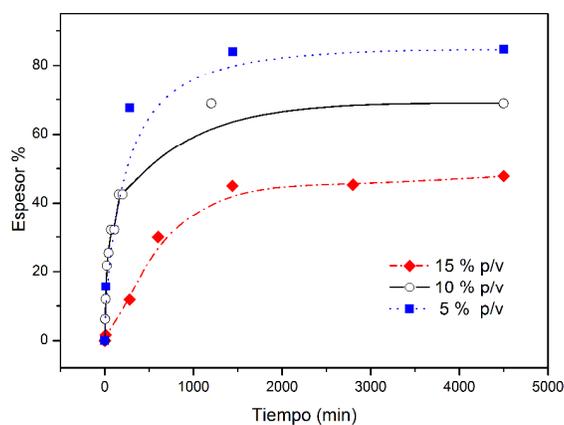


Figura II.5. Variación en el espesor en función del tiempo de criogel de diferentes concentraciones.

Se puede ver que, a medida que la concentración del PVA aumenta, el contenido final de agua de los hidrogel es menor (**Tabla II.3**), al igual que la variación de su espesor, además que las tres concentraciones de PVA ensayadas muestran un comportamiento cinético similar.

El mismo estudio se realizó para soluciones de concentraciones de 10 y 15 % p/v pero con un PVA de peso molecular mayor (93.500 g/mol); el objetivo fue comprobar las tendencias obtenidas anteriormente. Además se determinaron la fracción de gel, el tamaño de poro y la temperatura de degradación térmica (**Tabla II.4**).

Tabla II.4. Características de los criogel con distintas concentraciones de PVA. Peso molecular de 93.500 con 3 ciclos de C-D.

Muestra	Concentración de PVA % p/v	FG %	Tamaño de poro μm	T_p °C
H10%	10	83,0 ± 1,0	8,5 ± 4,0	281
H15%	15	92,0 ± 0,8	0,9 ± 0,3	293

El tamaño de los poros se obtuvo a partir de las imágenes SEM (**Figura II.6**). Se pudo ver que el mismo disminuye en la muestra con mayor concentración de polímero, como se esperaba, ya que los poros en este tipo de materiales están llenos de agua, se forman con el agua circundante del polímero, por lo que al tener mayor cantidad de polímero, el poro posee menores dimensiones [25].

Las otras dos propiedades mostradas en la tabla, fracción de gel y temperatura de degradación, aumentaron al aumentar la concentración del polímero en la solución inicial; este es un fenómeno esperado, ya que al aumentar el contenido de polímero el material es más estable térmicamente debido al mayor grado de entrecruzamiento.

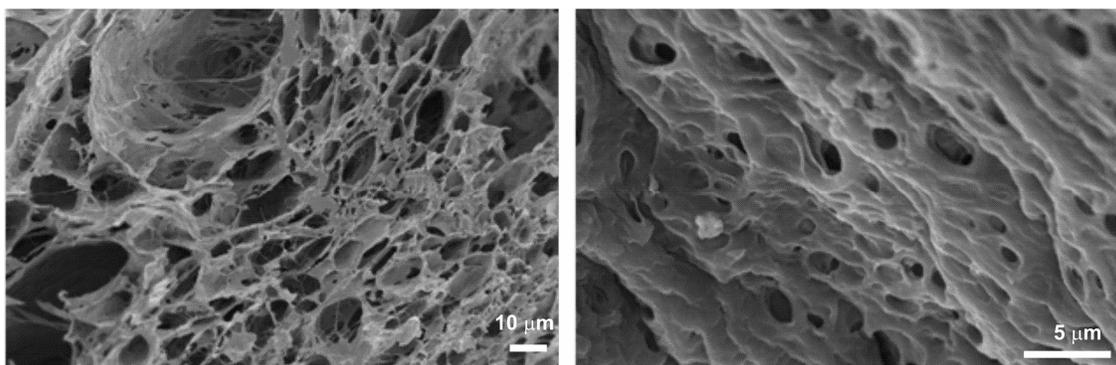


Figura II.6. Imágenes SEM de los criogeles con diferentes concentraciones izquierda 10 % p/v, derecha 15 % p/v.

II.3.3. Efecto del Peso Molecular.

Las principales características de las muestras preparadas a partir de PVA con distintos pesos moleculares se resumen en la **Tabla II.5**.

Tabla II.5. Características de los hidrogeles según los pesos moleculares de PVA.

Muestra	Peso molecular g/mol	T_g °C	X_c %	FG %	M_s %
H18M	18.000	215,6	27,1	(*)	(*)
H41M	41.000	216,5	26,8	69,1 ± 4,9	319,7 ± 9,8
H93M	93.500	228,0	38,4	83,0 ± 1,0	172,4 ± 1,2
H155M	155.000	243,8	30,6	94,6 ± 1,7	144,4 ± 3,9

(*) No se pudo medir ya que la muestra se disuelve.

Se puede ver que la T_g aumenta con el peso molecular del PVA, además se observan cambios notorios en la absorción máxima de solución fisiológica y en la fracción de gel, que indican un mayor grado de entrecruzamiento pero sin influir en el grado de cristalinidad del material. La FG aumenta mientras que la absorción máxima (M_s) disminuye en función del peso molecular del PVA (**Figura II.7**) lo que puede relacionarse con un mayor grado de entrecruzamiento del hidrogel [24, 26]. Nuevamente no se pudo encontrar una tendencia de la cristalinidad con respecto a la variable modificada (el PM), mientras que en la bibliografía se reporta que ambos parámetros aumentan simultáneamente [5].

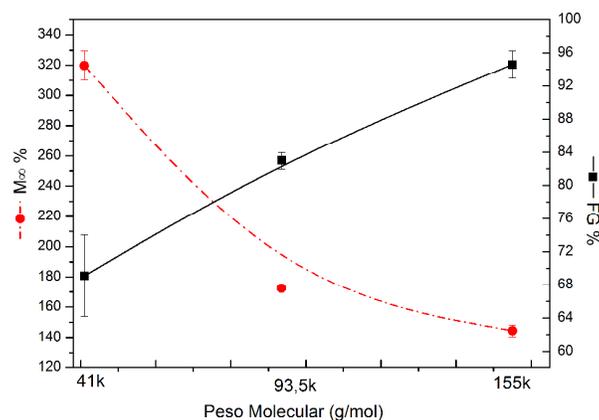


Figura II.7. Absorción máxima de agua y fracción de gel en función del peso molecular.

II.3.4. Efecto del Número de Ciclos de C-D.

El efecto de la cantidad de ciclos de congelamiento-descongelamiento sobre las propiedades del gel también fue analizado y los resultados obtenidos se encuentran en la **Tabla II.6**.

Tabla II.6. Criogeles con diferentes números de ciclos de C-D, 10 % p/v y PM 93.500 g/mol.

Muestra	Número de ciclos	T °C	X_c % DSC	X_c % DRX	GF %	M_c %
H1C	1	227,0	36,5	33,4	94,1 ± 0,2	155,2 ± 3,2
H2C	2	228,4	39,4	38,6	94,5 ± 0,3	165,2 ± 3,7
H3C	3	228,0	42,3	41,5	94,4 ± 0,2	172,4 ± 1,2
H4C	4	230,0	45,8	38,1	94,6 ± 0,4	175,1 ± 3,5

El leve incremento en la X_c y la T en función de la cantidad de ciclos de C-D indicaría un mayor tamaño y cantidad de cristales [27]. Sin embargo, las diferencias no son marcadas. En el caso del grado de cristalinidad determinado a partir de Difracción de Rayos X (DRX), se observa un incremento hasta el tercer ciclo, por lo que no se puede concluir que esta propiedad aumenta significativamente con los ciclos. Lo mismo ocurre para la fracción de gel (que permanece constante y cercana al 94 % para todos los números de ciclos empleados).

La poca diferencia entre los valores, prácticamente no se modifican con los ciclos, se atribuye a que para realizar estas mediciones, los geles deben estar secos y esto influye notablemente en las mediciones. El secado del hidrogel (a 37 °C) induce la cristalización y el aumento en la densidad de entrecruzamiento del polímero [3]. Este efecto se ve acrecentado a altas velocidades de secado [28]. Por otra parte, las propiedades mecánicas también se ven influenciadas por el contenido de agua del material [29]. En la **Tabla II.7** se muestran los comportamientos en la absorción para los hidrogeles obtenidos utilizando diferentes números de ciclos.

Tabla II.7. Absorción en equilibrio de muestras secas y sin secar en función del número de ciclos.

Muestra	Número de Ciclos de C-D	M_c % sin secar	M_c % secada
H1C	1	No entrecruza	293,3 ± 18,6
H2C	2	1556,8 ± 161,5	276,8 ± 25,5
H3C	3	1286,5 ± 167,7	309,7 ± 10,3
H4C	4	992,2 ± 93,9	296,6 ± 11,0

Es notorio que, tanto el valor de absorción máxima como la tendencia con los números de ciclos, se ven afectadas por el secado del material [3]. Incluso el gel con un solo ciclo de C-D, puede entrecruzarse durante el secado.

Se pudo ver que tanto el módulo de Young (E) como la elongación a la rotura (ϵ) varían en función del estado del material, hidratado o seco (**Figura II.8**). Por ejemplo, una muestra de hidrogel seco con 4 ciclos de C-D tiene un módulo de 795 MPa y una elongación a la rotura de 207 % mientras que el mismo hidrogel en estado hidratado tiene un módulo de 1,5 MPa y una elongación a la rotura de 330 %.

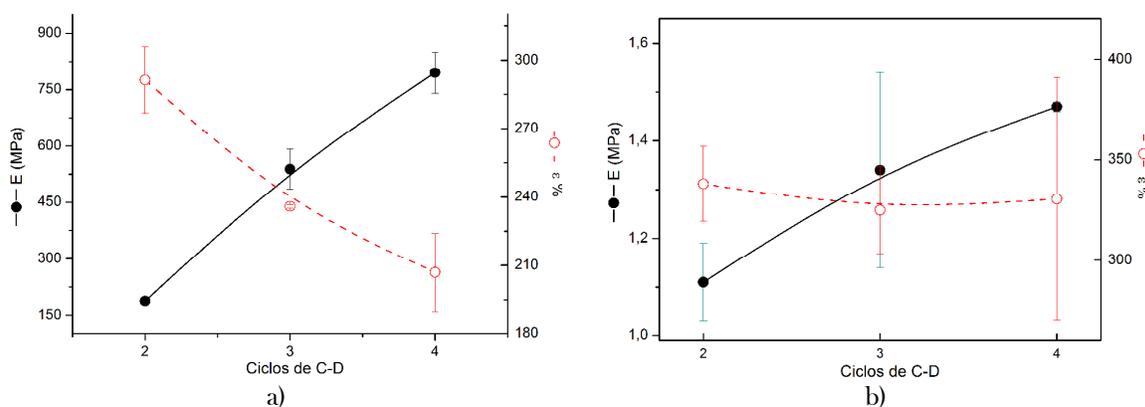


Figura II.8. Módulo de Young y elongación a la rotura de los hidrogeles a) secos y b) hidratados, en función del número de ciclos.

La **Figura II.8** muestra que existe una mejora en las propiedades mecánicas con el aumento del número de ciclos, esto probablemente se relaciona con el incremento en la X_c y/o la densidad de entrecruzamiento del material [7, 11, 30]. Los repetidos ciclos de C-D resultan en la formación de una red tridimensional unida por cristales, por lo que la estabilidad de la estructura se refuerza a medida que aumenta la cantidad de ciclos de C-D [16, 31].

II.3.5. Efecto del pH y Temperatura del medio de absorción.

Se seleccionó el hidrogel obtenido a partir de una solución de 5 % p/v de PVA, con peso molecular de 41.500 g/mol y 4 ciclos de C-D para evaluar el efecto de la temperatura (5 °C, temperatura ambiente aproximadamente 25 °C y 37 °C) y pH (4 y 7) del medio donde se lo sumerge para hinchar. Los resultados obtenidos se muestran en las **Figuras II.9 a y b**.

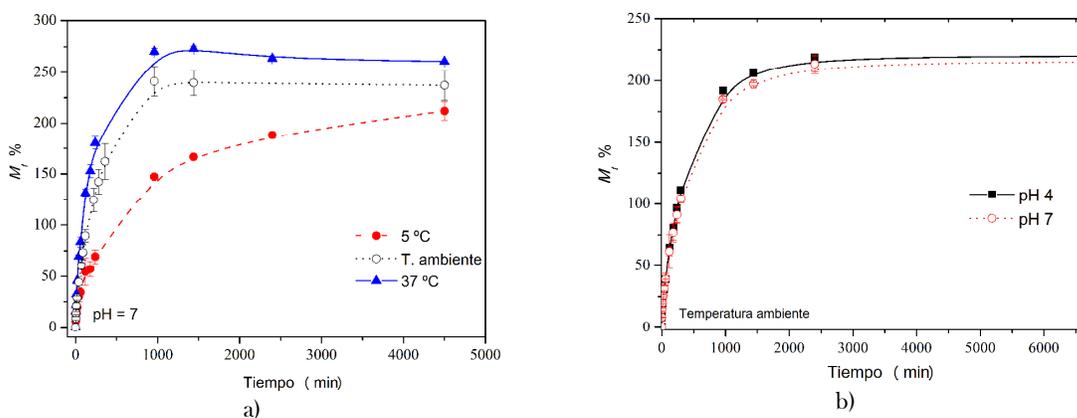


Figura II.9. a) Absorción de agua a diferentes temperaturas b) Absorción de buffers pH 4 y 7.

El mecanismo de hinchamiento puede ser considerado como un proceso de difusión seguido por un proceso de relajación [32]. Al principio, la tasa de hinchamiento se determina por la difusión de agua que depende de la temperatura de la solución, el peso molecular del disolvente y el grado de porosidad dentro de la estructura del hidrogel. En la siguiente etapa, la velocidad de absorción se ralentiza debido a la relajación de la cadena de polímero. La **Figura II.9 a)** muestra que a medida que la temperatura de la solución aumenta la etapa de

difusión controlada se reduce y el hinchamiento de equilibrio se alcanza en menor tiempo [32]. Además, se observa que el contenido final de agua también depende de la temperatura de la solución, este parámetro depende tanto de la cinética como de la termodinámica del proceso de absorción [33-34].

Con respecto a los pH analizados, no se encontraron diferencias significativas en el proceso de absorción, resultado esperado, ya que el gel estudiado no presenta especies capaces de protonarse.

II.3.6. Efecto del Tratamiento Térmico.

Los hidrogeles fueron tratados por 1 hora a diferentes temperaturas (100, 110, 120, 130 y 140 °C) en estufa. A simple vista (**Figura II.10**) se pueden observar los cambios en la transparencia y el aspecto del material con la temperatura del tratamiento; a medida que la temperatura del tratamiento aumenta, los films se vuelven amarillentos y más frágiles.

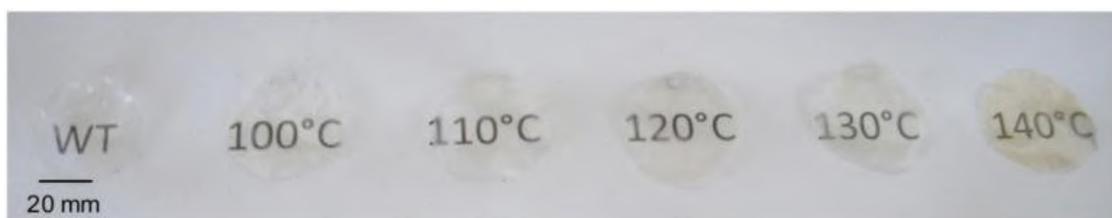


Figura II.10. Fotografía de los hidrogeles tratados con distintas temperaturas. WT es la muestra sin tratar.

La **Figura II.11** es una imagen SEM tomada de un hidrogel tratado a 130 °C. El tamaño de poro promedio es de $0,51 \mu\text{m} \pm 0,22 \mu\text{m}$, son de un orden menor que los obtenidos de la muestra sin tratar ($8,5 \mu\text{m} \pm 4,0 \mu\text{m}$), en los otros materiales tratados térmicamente se encontraron resultados similares o poros completamente colapsados.

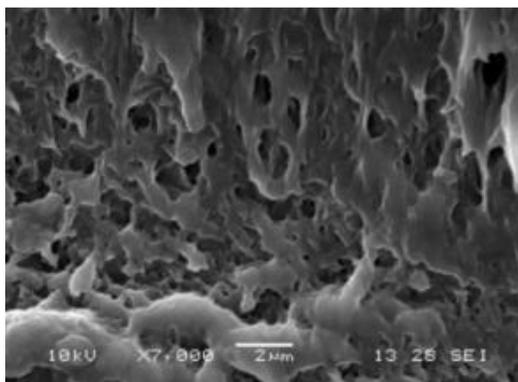


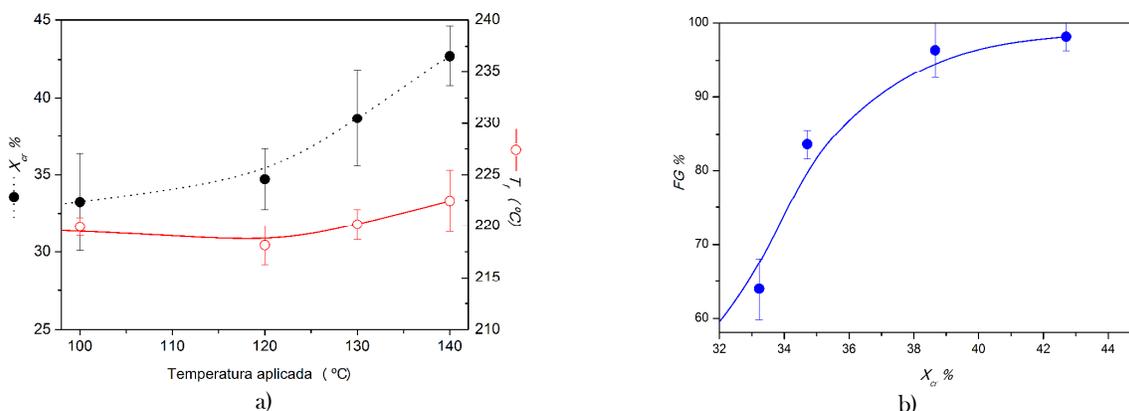
Figura II.11. Microfotografía SEM de un hidrogel tratado a 130 °C.

Se pudo observar que el tratamiento térmico aplicado influye sobre todas las propiedades relevantes del material (**Tabla II.8**). Se puede ver que el grado de hinchamiento máximo alcanzado por el criogel disminuye en función de la temperatura utilizada durante el tratamiento, mientras que la *FG* aumenta como era esperable.

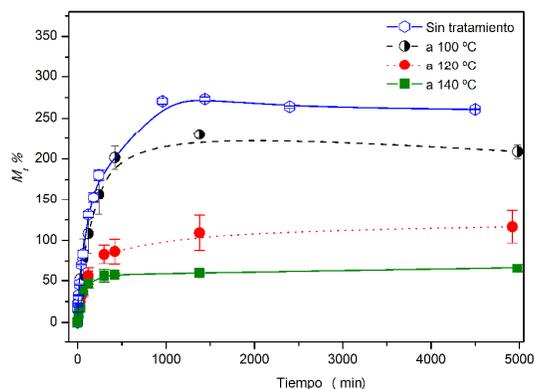
Tabla II.8. Efecto del tratamiento térmico sobre el grado de hinchamiento y la fracción de gel.

Tratamiento <i>Térmico</i>	M_{∞} %	FG %
Ninguno	186,2 ± 2,2	44,7 ± 0,1
100 °C	194,6 ± 9,4	64,0 ± 1,5
110 °C	177,8 ± 10,2	77,3 ± 1,8
120 °C	146,4 ± 5,2	83,5 ± 2,1
130 °C	109,6 ± 9,4	96,3 ± 4,5
140 °C	70,8 ± 6,0	98,2 ± 1,1

En la **Figura II.12** se puede observar que el porcentaje de cristalinidad de los geles tratados, al igual que la temperatura de fusión, están íntimamente influenciadas por la temperatura del tratamiento aplicado; existe también una relación entre la FG y la X_c ; todos estos parámetros aumentaron en función de la temperatura del tratamiento, indicando que la red se fortalece (aumenta su densidad de entrecruzamiento) [34]. El mismo comportamiento fue obtenido independientemente de la concentración del polímero en la solución de partida (se evaluaron muestras obtenidas a partir de soluciones con 5 y 10 % p/v de PVA), lo que indica que es posible obtener criogeles con propiedades deseadas seleccionando el tratamiento térmico a aplicar.

**Figura II.12.** a) Efecto de la temperatura del tratamiento térmico sobre el grado de cristalinidad y la temperatura de fusión del material b) Fracción de Gel en función del porcentaje de cristalinidad del material.

Se realizaron ensayos de absorción de los geles en solución salina. Se puede observar (**Figura II.13**) que la solución salina absorbida disminuye en los hidrogeles tratados térmicamente y este fenómeno es más evidente a medida que aumenta la temperatura del tratamiento.

**Figura II.13.** Hinchamiento de los geles no tratado y tratados térmicamente.

El PVA es un polímero hidrofílico que contiene un gran número de grupos OH los cuales pueden formar fácilmente puentes de hidrógeno con moléculas de agua libre [25]; el agua y otras moléculas pequeñas, pueden penetrar fácilmente en el espacio que queda entre los cristales de PVA [6]. Se ve claramente que la máxima cantidad de solución salina absorbida disminuye con el aumento de la temperatura del tratamiento térmico. Este comportamiento se relaciona con el reducido espacio libre que queda en la red para la difusión de pequeñas moléculas y con una distancia más larga entre las cadenas de PVA para que las mismas puedan penetrar la red y llenar los poros; efecto que se corresponde con el aumento en la densidad de entrecruzamiento y la cristalinidad en función de la temperatura del tratamiento térmico [31], como se observa en la **Figura II.14**.

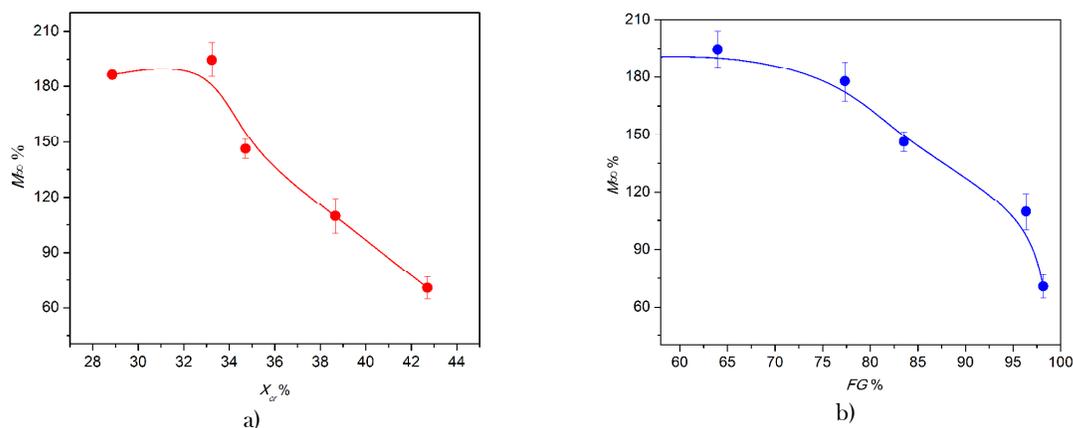


Figura II.14. Hinchamiento de los geles en función de a) el porcentaje de cristalinidad y b) la fracción de gel.

II.4. CONCLUSIONES.

A partir del trabajo realizado se pudo determinar que, tanto con el aumento de concentración del polímero y el peso molecular del mismo como con el incremento del número de ciclos de C-D, el grado de entrecruzamiento aumenta. Se pudo demostrar que las propiedades cambian notablemente en función de la temperatura del tratamiento térmico. Se encontró una relación entre el grado de cristalinidad y la fracción de gel del material. Todas las propiedades del criogel fueron correlacionadas con ambos parámetros.

Los resultados obtenidos indican que es posible obtener hidrogeles con propiedades prefijadas modificando las variables de obtención de los mismos y mediante la aplicación de un tratamiento térmico determinado y obtener así hidrogeles con características específicas según la aplicación deseada.

Sin embargo, la baja resistencia a los solventes, propiedades anti-envejecimiento y, especialmente, las pobres propiedades mecánicas de este material, han restringido su aplicabilidad [35]. Para superar estos inconvenientes, una posibilidad es mezclar al PVA con otros materiales [35] como se desarrolla en los siguientes capítulos de la tesis. A partir de los resultados obtenidos en este capítulo y evaluando la eficiencia en la procesabilidad de los hidrogeles ensayados se continuó el trabajo de investigación con hidrogeles de PVA de 10 y 15 % p/v con peso molecular de 93.500 g/mol y 3 ciclos de CD.

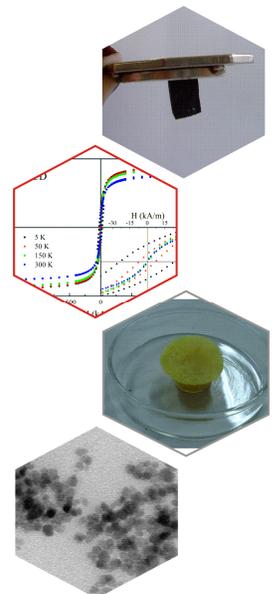
Referencias.

1. Matsuyama, H.; Teramoto, M. y Urano, H., *Analysis of solute diffusion in poly(vinyl alcohol) hydrogel membrane*. Journal of Membrane Science, 1997. **126**(1): p. 151-160.
2. Mawad, D.; Odell, R.; y Poole-Warren, L.A., *Network structure and macromolecular drug release from poly(vinyl alcohol) hydrogels fabricated via two crosslinking strategies*. International Journal of Pharmaceutics, 2009. **366**(1-2): p. 31-37.
3. Hill, D.J.T.; Whittaker, A.K. y Zainuddin, *Water diffusion into radiation crosslinked PVA-PVP network hydrogels*. Radiation Physics and Chemistry, 2011. **80**(2): p. 213-218.
4. Bray, J.C. y E.W. Merrill, *Poly(vinyl alcohol) hydrogels. Formation by electron beam irradiation of aqueous solutions and subsequent crystallization*. Journal of Applied Polymer Science, 1973. **17**(12): p. 3779-3794.
5. Hassan, C. y Peppas, N., *Structure and Applications of Poly(vinyl alcohol) Hydrogels Produced by Conventional Crosslinking or by Freezing/Thawing Methods*, in *Biopolymers · PVA Hydrogels, Anionic Polymerisation Nanocomposites*. 2000, Springer Berlin Heidelberg. p. 37-65.
6. Ma, R.Y. y Xiong, D.S., *Synthesis and properties of physically crosslinked poly (vinyl alcohol) hydrogels*. Journal of China University of Mining and Technology, 2008. **18**(2): p. 271-274.
7. Peppas, N.A. y Mongia, N.K., *Ultrapure poly(vinyl alcohol) hydrogels with mucoadhesive drug delivery characteristics*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 1997. **43**(1): p. 51-58.
8. Berger, J. y col., *Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2004. **57**(1): p. 19-34.
9. Galaev, I.Y.; Galaev, I. y Mattiasson, B., *Smart Polymers for Bioseparation and Bioprocessing*. 2002: Taylor & Francis.
10. Birgersson, E.; Li, H. y Wu, S., *Transient analysis of temperature-sensitive neutral hydrogels*. Journal of the Mechanics and Physics of Solids, 2008. **56**(2): p. 444-466.
11. Ricciardi, R. y col. , *Investigation of the crystallinity of freeze/thaw poly(vinyl alcohol) hydrogels by different techniques*. Macromolecules, 2004. **37**(25): p. 9510-9516.
12. Millon, L.E. y col., *SANS characterization of an anisotropic poly(vinyl alcohol) hydrogel with vascular applications*. Macromolecules, 2007. **40**(10): p. 3655-3662.
13. Grant, C. y col., *Poly(vinyl alcohol) hydrogel as a biocompatible viscoelastic mimetic for articular cartilage*. Biotechnology Progress, 2006. **22**(5): p. 1400-1406.
14. Khurma, J.R.; Rohindra, D.R. y Nand, A.V., *Swelling and thermal characteristics of genipin crosslinked chitosan and poly(vinyl pyrrolidone) hydrogels*. Polymer Bulletin, 2005. **54**(3): p. 195-204.
15. Alves, M-H. y col. , *Poly(Vinyl Alcohol) Physical Hydrogels: New Vista on a Long Serving Biomaterial*. Macromolecular Bioscience, 2011. **11**(10): p. 1293-1313.
16. Holloway, J.L.; Lowman, A.M. y Palmese, G.R., *Aging behavior of PVA hydrogels for soft tissue applications after in vitro swelling using osmotic pressure solutions*. Acta Biomaterialia, 2013. **9**(2): p. 5013-5021.
17. Hernandez, R. y col., *A reappraisal of the 'thermoreversible' gelation of aqueous poly(vinyl alcohol) solutions through freezing-thawing cycles*. Polymer, 2002. **43**(21): p. 5661-5663.
18. Ricciardi, R. y col. , *Structural organization of poly(vinyl alcohol) hydrogels obtained by freezing and thawing techniques: A SANS study*. Chemistry of Materials, 2005. **17**(5): p. 1183-1189.
19. Mc Gann, M.J. y col. , *The synthesis of novel pH-sensitive poly(vinyl alcohol) composite hydrogels using a freeze/thaw process for biomedical applications*. International Journal of Pharmaceutics, 2009. **372**(1-2): p. 154-161.
20. Tomlins, P., et al. *Measurement of pore size and porosity of tissue scaffolds*. Journal of ASTM International, 2004. **1**(1): p.10-45 .
21. Peppas, N.A. y Merrill, E.W., *Differential scanning calorimetry of crystallized PVA hydrogels*. Journal of Applied Polymer Science, 1976. **20**(6): p. 1457-1465.
22. Speer, D.P y col., *Biological effects of residual glutaraldehyde in glutaraldehyde-tanned collagen biomaterials*. Journal of Biomedical Materials Research, 1980. **14**(6): p. 753-764.
23. Gendler, E.; Gendler, S. y Nimni, M.E., *Toxic reactions evoked by glutaraldehyde-fixed pericardium and cardiac valve tissue bioprosthesis*. Journal of Biomedical Materials Research, 1984. **18**(7): p. 727-736.
24. Gupta, S.; Sinha, S. y Sinha, A., *Composition dependent mechanical response of transparent poly(vinyl alcohol) hydrogels*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2010. **78**(1): p. 115-119.
25. Nakaoki, T. y Yamashita, H., *Bound states of water in poly(vinyl alcohol) hydrogel prepared by repeated freezing and melting method*. Journal of Molecular Structure, 2008. **875**(1-3): p. 282-287.

26. Gupta, S. y col., *Composition dependent structural modulations in transparent poly(vinyl alcohol) hydrogels*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2009. **74**(1): p. 186-190.
27. Kenawy, E.R.; El-Newehy, M.H. y Al-Deyab, S.S., *Controlled release of atenolol from freeze/thawed poly(vinyl alcohol) hydrogel*. Journal of Saudi Chemical Society, 2010. **14**(2): p. 237-240.
28. Pazos, V.; Mongrain, R. y Tardif, J.C., *Polyvinyl alcohol cryogel: Optimizing the parameters of cryogenic treatment using hyperelastic models*. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, 2009. **2**(5): p. 542-549.
29. Zhang, D.K. y col., *Research on the Long Time Swelling Properties of Poly (vinyl alcohol)/Hydroxylapatite Composite Hydrogel*. Journal of Bionic Engineering, 2009. **6**(1): p. 22-28.
30. Xie, L. y col., *Controlled mechanical and swelling properties of poly(vinyl alcohol)/sodium alginate blend hydrogels prepared by freeze-thaw followed by Ca²⁺ crosslinking*. Journal of Applied Polymer Science, 2012. **124**(1): p. 823-831.
31. Hickey, A.S. y Peppas, N.A., *Mesh size and diffusive characteristics of semicrystalline poly(vinyl alcohol) membranes prepared by freezing/thawing techniques*. Journal of Membrane Science, 1995. **107**(3): p. 229-237.
32. Park, K.; Ottenbrite, R.M. y Okano, T., *Biomedical Applications of Hydrogels Handbook*. 2010: Springer New York.
33. Alpeh, P. y Kibret, M., *Hydrogel Biomaterials*. Biomedical Engineering - Frontiers and Challenges. 2011.
34. Macias, C.E.; Bodugoz-Senturk H. y Muratoglu, O.K., *Quantification of PVA hydrogel dissolution in water and bovine serum*. Polymer, 2013. **54**(2): p. 724-729.
35. Stammen, J.A. y col., *Mechanical properties of a novel PVA hydrogel in shear and unconfined compression*. Biomaterials, 2001. **22**(8): p. 799-806.

Capítulo III

FERROGELES



Resumen

Los ferrogel es una clase de materiales cuyas propiedades pueden ser controladas por la aplicación de un campo magnético. Las propiedades magneto-elásticas de estos geles les dan potencialidad en aplicaciones como biomembranas separadoras, materiales biomédicos, biosensores, músculos artificiales y dispositivos liberadores de fármacos.

En los últimos años, el uso del PVA como matriz para el desarrollo de ferrogel ha sido ampliamente investigado obteniéndose resultados promisorios. En este capítulo se desarrollarán tres estrategias de síntesis de ferrogel con nanopartículas magnéticas (MNPs) de óxidos de hierro y se analizarán las propiedades físicas, térmicas, morfológicas y magnéticas de los mismos. El primer método explorado se basa en la formación de MNPs en presencia del polímero, seguida de la formación de la red (entrecruzamiento físico o químico), el segundo método consiste en la obtención de geles con la incorporación de MNPs preformadas (recubiertas o no) a las soluciones del polímero seguido de un entrecruzamiento físico del mismo y la última estrategia utilizada radica en el uso de la red polimérica como un entorno que limita la formación de las MNPs.

En todos los casos fue posible obtener ferrogel superparamagnéticos a temperatura ambiente con una buena dispersión de las MNPs en la matriz polimérica. A partir de los estudios realizados se puede concluir que el entrecruzamiento físico permite obtener ferrogel con buenas propiedades magnéticas sin el contenido de residuos tóxicos generado por el entrecruzamiento químico. Tanto la biocompatibilidad de los componentes de los ferrogel (PVA y óxidos de hierro) como la capacidad de hinchamiento de los materiales finales y el uso de las distintas estrategias de obtención no tóxicas hacen de estos materiales prometedores dispositivos para la administración de fármacos.

Palabras claves: ferrogel, gel magnético, nanopartículas magnéticas, óxidos de hierro, polivinilalcohol.

III.1. INTRODUCCIÓN

Los llamados materiales inteligentes son capaces de responder a estímulos externos para producir un efecto específico que consiste, típicamente, en un cambio discontinuo en el comportamiento óptico o mecánico, en las propiedades de la superficie o en su volumen o forma. Los estímulos comúnmente aplicados son: la temperatura, la luz, la presión hidrostática, un esfuerzo mecánico, sustancias químicas y/o biológicas, el pH, fuerza iónica o campos eléctricos y magnéticos [1-10]. Los materiales poliméricos sensibles a estímulos tienen numerosas aplicaciones, en particular en medicina y farmacia. Entre ellas pueden mencionarse la administración de fármacos, biosensado, y la inmovilización de enzimas y células [11-14]. Uno de los usos más populares es en la liberación controlada de fármacos, la cual ofrece las ventajas de eficiencia en la entrega del principio activo y eficacia en el sitio de aplicación con respecto a las rutas convencionales de administración [15].

Una forma interesante de obtener materiales poliméricos sensibles a estímulos es dispersar nanoestructuras en un gel polimérico para formar un hidrogel nanocompuesto [16-17]. En términos generales, los hidrogeles nanocompuestos pueden ser definidos como redes poliméricas entrecruzadas modificadas con nanopartículas (NPs) o nanoestructuras e hinchadas con agua [13]. Un caso particular de geles nanocompuestos son los ferrogeles que consisten en nanopartículas magnéticas (MNPs) embebidas en matrices poliméricas [18-20].

La presencia de las MNPs permite que estos materiales sean deformados [19-21] o calentados [22] [23] por la acción de un campo magnético. Bajo la acción de campos magnéticos moderados y debido al bajo módulo elástico de los ferrogeles, las partículas en movimiento producen una deformación significativa [19-20] del material. Por otra parte, la acción de campos magnéticos alternos en este tipo de sistemas, produce un calentamiento remoto a través del efecto conocido como hipertermia magnética. El proceso mediante el cual se produce la transformación de la energía magnética en calor, debido a la presencia de las MNPs, es todavía un tema activo de investigación, aunque se sabe que están involucrados de una manera compleja muchos parámetros de los materiales [24]. Los cuatro mecanismos principales que participan en este proceso son las corrientes de fuga, histéresis, relajación y resonancia. El primero de estos mecanismos usualmente se desprecia por la baja conductividad eléctrica que tienen las MNPs, y por la ausencia de interacción entre ellas. El último de estos cuatro mecanismos se desprecia por la baja frecuencia del campo aplicado. El segundo y tercero de estos mecanismos son los que más influyen en el calentamiento de las MNPs. En el caso de pérdidas por relajación son producidas por los mecanismos de Neel (relajación de los monodominios superparamagnéticos) y Brown (rotación de toda la partícula) [22, 25]. Ambos mecanismos dependen del tamaño de partícula mientras que sólo la contribución browniana depende de la viscosidad del medio. A pesar de que la relajación de Brown contribuye sólo a la hipertermia magnética en líquido o gel (donde la viscosidad local no es tan grande como para inhibir la rotación mecánica), la relajación de Néel está presente también en nanocompuestos sólidos y es responsable del calentamiento considerable que sufren este tipo de materiales por aplicación de un campo magnético alterno. Las pérdidas por histéresis (los procesos de movimiento de los dominios magnético y de la paredes de dominio) se refieren a NPs multidominio (ferromagnéticas) [26]. La disipación de potencia obtenida por estos procesos dependen tanto de los parámetros internos de los nanocompuestos magnéticos como de los parámetros externos debido a las características del actuador magnético utilizado: frecuencia, e intensidad de campo magnético [24].

En los últimos años, los ferrogel es han sido objeto de muchos estudios y son el ejemplo típico de materiales inteligentes que se pueden utilizar para el desarrollo de actuadores mecánicos [13] debido a que son mecánicamente blandos y, al mismo tiempo, exhiben una fuerte respuesta magnética [27]. Entre otras aplicaciones innovadoras e interesantes, el uso de un campo magnético para modular la liberación de fármacos a partir de matrices de PVA puede conducir al desarrollo de sistemas de respuesta rápida de liberación del fármaco. En ese caso, se "inyecta" una dosis precisa de medicamento cuando el cuerpo lo necesita que puede ser detenida o ralentizada después del estímulo [28].

La forma en que los ferrogel es son sintetizados es muy importante ya que de ella dependen sus propiedades y las prestaciones que pueden brindar [18]. Al preparar ferrogel es para aplicaciones biomédicas es necesario comenzar con técnicas que permitan la síntesis de coloides magnéticos estables en base acuosa, con tamaño de partícula y morfología precisos. Las NPs deben incorporarse al hidrogel de manera controlada evitando así la agregación de las mismas, lo que puede llevarse a cabo con un recubrimiento apropiado de las partículas magnéticas (sustancias inorgánicas u orgánicas) y/o mediante el uso de técnicas de síntesis adecuadas. Debido a su comportamiento no tóxico, las NPs de óxido de hierro, tales como magnetita (Fe_3O_4) y maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), han sido admitidas como componentes potenciales en diversos dispositivos biomédicos [27]. Las rutas de síntesis utilizadas para fabricar nanopartículas magnéticas son diversas e incluyen muchos métodos químicos como co-precipitación, descomposición a alta temperatura de precursores organometálicos, reacción en microemulsiones, y métodos físicos como deposición de vapor. Entre los procedimientos más sofisticados también se puede mencionar el uso de bacterias magnetotácticas [29].

El PVA es un polímero ideal para el desarrollo de ferrogel es porque es no tóxico, no carcinógeno, biocompatible, soluble en agua y de bajo costo. Por todas estas razones, los hidrogel es obtenidos por entrecruzamiento de PVA tienen importantes aplicaciones en medicina y farmacia [30-31]. El uso de nanopartículas magnéticas recubiertas con PVA para aplicaciones biomédicas ha sido reportado previamente por Schulze y col. [32]. El PVA previene la aglomeración de las NPs y estabiliza los coloides mediante la generación de una fuerza de repulsión adicional que contrarresta las fuerzas de van der Waals entre las NPs. Además el ferrofluído de PVA se mantiene estable durante meses, incluso cuando se calienta hasta $100\text{ }^\circ\text{C}$ [33].

En los últimos años, el uso de este polímero como una matriz para el desarrollo de ferrogel es ha sido intensamente investigado obteniéndose resultados promisorios [18, 34]. Entre las rutas habituales para la incorporación de NPs en la matriz la más utilizada ha sido la incorporación de NPs preformadas (recubiertas o no) a las soluciones del polímero lineal seguido de un entrecruzamiento químico o físico del mismo [18, 35-37]. Otra estrategia menos explorada se basa en el uso de la red polimérica como un entorno que limita la formación de las NPs [38-41]. Recientemente se ha publicado un enfoque alternativo para la síntesis de perlas de ferrogel, basado en la formación simultánea de NPs y del entrecruzamiento del PVA [42].

A pesar de estos avances en el área, la obtención de gel es magnéticos con un alto grado de control en la dispersión de las NPs y buenas propiedades magnéticas, a través de procedimientos eficientes, sencillos y no tóxicos constituye aún un desafío. De esta manera, el objetivo principal de este capítulo es lograr obtener ferrogel es con morfología y propiedades magnéticas controladas, potencialmente aplicables en biomedicina, a través del uso de una técnica sencilla y no tóxica como el congelamiento-descongelamiento (C-D). Con este

objetivo se estudiarán tres rutas de síntesis de ferrogeles y se analizarán las propiedades físicas, térmicas, morfológicas y magnéticas de los mismos. En primer lugar se evaluará la síntesis de ferrogeles mediante la generación de un ferrofluido estable obtenido por coprecipitación y estabilización de NPs de magnetita en presencia de PVA seguido de entrecruzamiento físico por C-D. De esta manera, se determinará la factibilidad de utilizar el mismo polímero como estabilizante de las NPs y matriz y la posibilidad de obtener geles a través de una técnica que utilice un único recipiente (técnicas “one-pot”). Se llevará a cabo una comparación con un sistema similar pero entrecruzado químicamente con glutaraldehído (GA). En segundo lugar se determinará la versatilidad asociada a un cambio de ligando de las nanopartículas y el efecto y potencialidades del mismo sobre las propiedades del ferrogel sintetizado. Para ello se utilizarán NPs recubiertas con un polielectrolito con capacidad de generar fuertes interacciones con la red de PVA, en este caso el ácido poliacrílico, y se compararán las propiedades de los mismos con las de ferrogeles sintetizados con NPs no recubiertas. Finalmente se evaluará una estrategia novedosa basada en la generación in-situ de NPs dentro de la red entrecruzada de PVA previamente formada. En este caso se determinará la capacidad del PVA como agente capaz de actuar en la restricción de tamaño y polidispersidad y en la estabilización de las NPs.

III.2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

III.2.1. Síntesis de los Ferrogeles.

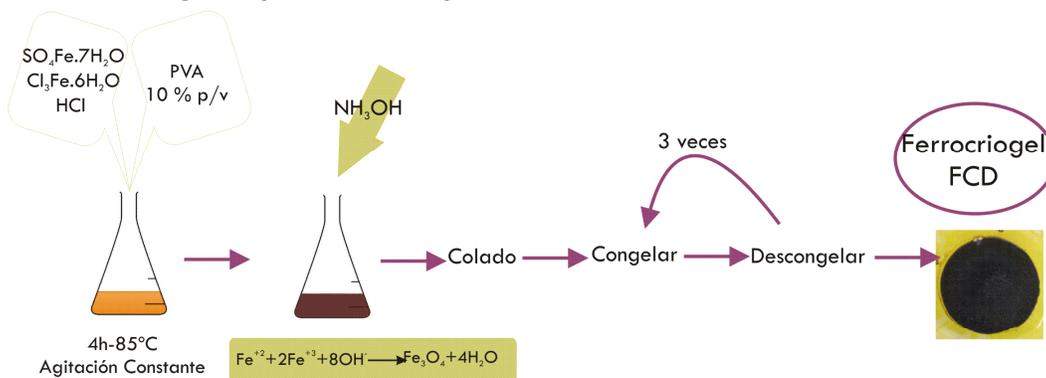
III.2.1.1. Ferrogeles obtenidos por entrecruzamiento de dispersiones de MNPs recubiertas con PVA.

Se preparó 200 ml de solución acuosa de $\text{SO}_4\text{Fe}\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (1,485 g) y $\text{Cl}_2\text{Fe}\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (2,97 g) en proporción estequiométrica 1:2, en presencia de ácido clorhídrico (1ml, 0,1M) para evitar la oxidación de las sales de hierro. A estas soluciones se les agregó PVA (Sigma-Aldrich, PM: 93.500 g/mol) hasta obtener una concentración de 10 % p/v y se mantuvo durante 4 horas a 85 °C en agitación constante. Una vez obtenida una solución límpida, la generación de las MNPs se llevó a cabo por agregado de amoníaco como agente básico precipitante (hasta pH=10) según la reacción:



Durante este proceso, el PVA actúa como agente estabilizante y protector, evitando la agregación de las NPs. De estas soluciones se tomaron alícuotas de 10 ml y se entrecruzaron por dos métodos diferentes. Para el entrecruzamiento por Congelamiento-Descongelamiento (C-D) las muestras se colocaron en moldes antiadherentes y se sometieron a 3 ciclos de 1 hora de C-D entre -18 °C y 25 °C. Las muestras obtenidas se denominaron FCD. En el caso del entrecruzamiento químico, a los ferrofluidos se les agregaron 2,8 ml de una solución que contenía 1 ml de glutaraldehído (GA) al 50 % v/v como agente entrecruzante, metanol como *quencher* (3 ml, 50 % v/v), ácido acético (2 ml, 10% v/v) como buffer y ácido sulfúrico (1 ml, 10 % v/v) como catalizador [43], se llevaron a moldes antiadherentes y se dejaron reposar a temperatura ambiente durante 24 horas. Las muestras obtenidas se denominaron FGA, como se muestra en la **Figura III.1**. También se prepararon hidrogeles siguiendo la misma metodología, pero sin la adición de sales de hierro (HGA y HCD).

Entrecruzamiento por Congelamiento-Descongelamiento



Entrecruzamiento Químico (GA)

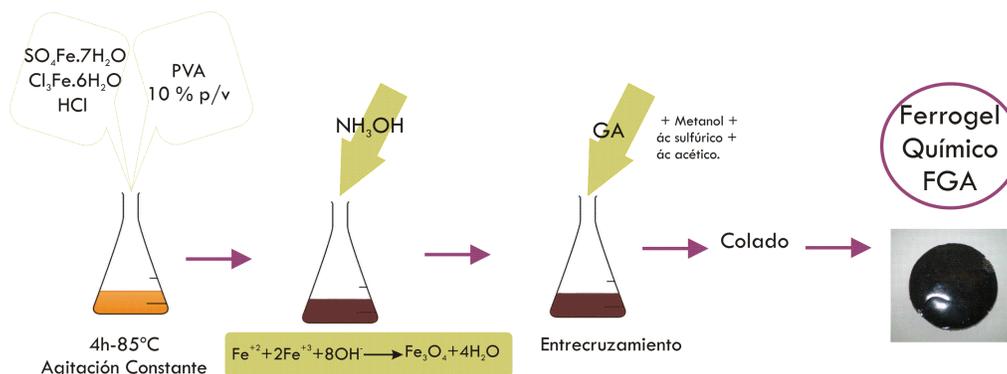


Figura III.1. Obtención de los ferrogel con NPs generadas “in situ” recubiertas con PVA.

III.2.1.2. Ferrogel obtenidos por entrecruzamiento de una solución de PVA y MNPs recubiertas con un polielectrolito (PAA).

Los ferrogel se prepararon entrecruzando dispersiones acuosas de MNPs en PVA en diferentes concentraciones. Las dispersiones acuosas de MNPs, tanto recubiertas con poli ácido acrílico (PAA) como no recubiertas (ambas con un tamaño de aproximadamente 10 nm) fueron proporcionadas por la empresa NANOGAP, España. Las soluciones de PVA (Sigma-Aldrich, peso molecular medio de 93.500 g/mol y grado de hidrólisis de 98-99%) se prepararon mezclando 10 g de polímero y 100 ml de agua destilada a 85 °C bajo agitación constante durante 4 horas. Después de este proceso, los volúmenes previamente calculados de las dispersiones de NPs recubiertas con PAA y no recubiertas (sonicadas por 30 minutos), se mezclaron con 25 ml de la solución de PVA para dar dispersiones estables con aproximadamente 6 y 9 % p/p de NPs magnéticas respecto al contenido total de sólidos. Estas dispersiones se vertieron en un molde y se congelaron durante 1 hora (C, -18 °C). Luego la solución se dejó descongelar a temperatura ambiente (D, 25 °C) durante el mismo tiempo este proceso de C-D se repitió 3 veces, como se esquematiza en la **Figura III.2**. La nomenclatura que se utilizará en todo el capítulo para estas muestras es: 6PAA: ferrogel con 6 % p/p de NPs recubiertas con PAA; 9PAA: ferrogel con 9 % p/p de NPs recubiertas con PAA; 6NC: ferrogel con 6 % p/p de NPs no recubiertas y 9NC: ferrogel con 9 % p/p de NPs no recubiertas.

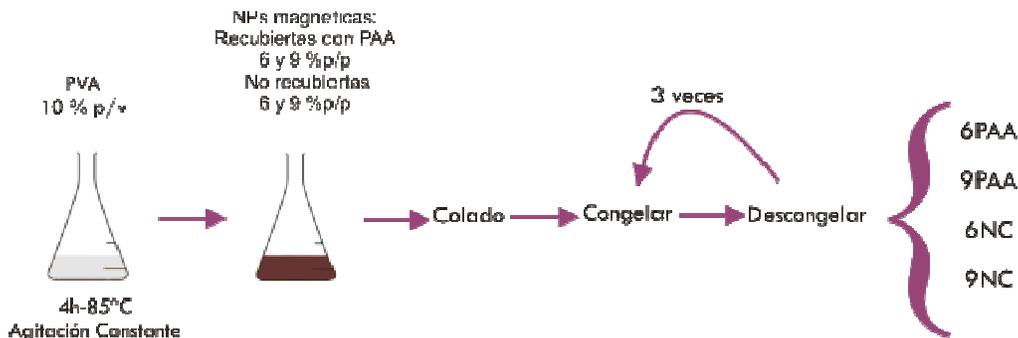


Figura III.2. Obtención de los Ferrogeles con MNPs recubiertas con PAA y no recubiertas.

III.2.1.3. Ferrogeles obtenidos por generación de MNPs en el interior de la red polimérica.

Se prepararon hidrogeles de PVA (10 % p/v, 93.500 g/mol, 98-99 % hidrólisis, Sigma-Aldrich) partiendo de una solución acuosa del polímero y aplicando posteriormente 3 ciclos de C-D a la misma hasta lograr el entrecruzamiento físico de las cadenas del polímero. Una vez obtenido el hidrogel se lo introdujo en una solución acuosa de Fe^{+2} y Fe^{+3} (12,15 g de $\text{Cl}_2\text{Fe}\cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 6,075g de $\text{SO}_4\text{Fe}\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en 100 ml de agua) hasta alcanzar el contenido de solución en equilibrio por hinchamiento. A continuación, se sumergió este gel (que contenía las sales) en una solución amoniacal, permitiendo así la co-precipitación de las NPs de óxidos de hierro dentro del gel (Figura III.3).

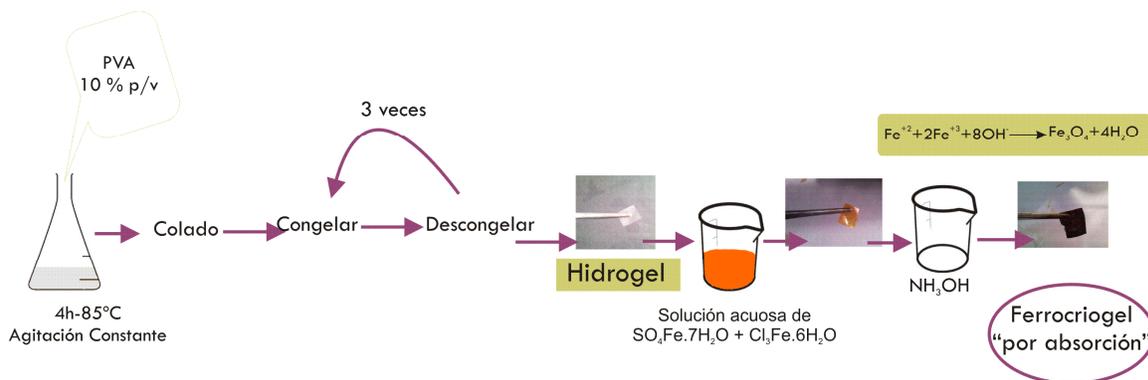


Figura III.3. Preparación de ferrogeles por hinchamiento y posterior precipitación

III.2.2. Métodos.

En todos los casos los ensayos se hicieron por triplicado y se utilizó una distribución T-Student para determinar las desviaciones.

III.2.2.1 Métodos de Caracterización Morfológica, Física, Química y Térmica.

III.2.2.1.1. Microscopía Electrónica de Barrido por Emisión de Campo (FESEM). Se obtuvieron micrografías para analizar la estructura del hidrogel en un equipo JEOL JSM-6460 LV. Las muestras fueron previamente hinchadas en agua destilada, liofilizadas y criofracturadas en aire líquido y luego recubiertas con oro.

III.2.2.1.2. Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM). Se obtuvieron micrografías en un equipo Philips CM-12 operado con un voltaje de aceleración de 100 kV. Las muestras fueron previamente cortadas usando un crioultamicrotomo.

III.2.2.1.3. Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC). Los ensayos se realizaron en un calorímetro Shimadzu DSC-50. Las muestras se calentaron en atmósfera de nitrógeno desde temperatura ambiente hasta 37 °C a 10 °C/min y se mantuvieron durante 15 minutos a esa temperatura, luego se calentaron hasta 260 °C a la misma velocidad de calentamiento. Se determinó la temperatura de fusión (T_f) y se calculó el porcentaje de cristalinidad (X_c %) según:

$$X_{cr} \% = \frac{\Delta H}{w_{pva} \times \Delta H^o} \times 100 \quad (1)$$

Donde ΔH es el calor de fusión medido entre 190 y 240 °C, ΔH^o es el calor de fusión del material 100% cristalino (138.6 J/g) y w_{pva} es la fracción másica del polímero en el ferrogel [44].

III.2.2.1.4. Ensayos Termogravimétricos (TGA). Los ensayos se realizaron en un equipo Shimadzu TGA-DTGA50, desde temperatura ambiente hasta 900 °C a 10 °C/min en atmósfera de aire. Las muestras se secaron a 37 °C durante 48 horas antes de ser analizadas. Se determinó la temperatura de degradación (T_d) del ferrogel y el contenido de Fe (Fe_2O_3 %) reportado como el porcentaje de fase cristalina completamente oxidada, medida a 900 °C.

III.2.2.1.5. Difracción de Rayos X (DRX). Se realizaron utilizando un equipo Analytical Expert Instrument ($K_{\alpha}Cu=1.54 \text{ \AA}$) desde $2\theta = 3^\circ$ a 60° a 2 °/minutos a temperatura ambiente. La tensión del generador fue de 40 kV y la corriente de 40 mA.

III.2.2.1.6. Espectroscopía Mössbauer. Esta técnica permite reconocer y caracterizar los entornos estructurales, químicos, eléctricos o magnéticos de los átomos de una muestra a través de la variación que experimenten los niveles nucleares de dichos átomos cuando los entornos mencionados se alteran. Estas variaciones de los niveles nucleares son tan pequeñas que sólo pueden medirse usando el efecto Mössbauer, debido a su alta resolución. El espectro se adquirió usando una fuente de ^{57}Co embebida en una matriz de Rh, que decae a ^{57}Fe en estado excitado, los ensayos se realizaron a 300 K en transmisión.

III.2.2.1.7. Dispersión de Rayos X de Ángulo Pequeño (SAXS). Se llevó a cabo en la línea SAXS del Laboratorio Nacional de Luz Sincrotrón (Campinas, Brasil), línea 1 a temperatura ambiente, a una longitud de onda λ de 1,488 Å. La intensidad de dispersión I se midió en función del vector de dispersión q , donde $q = 4\pi \sin(\theta)/\lambda$ donde 2θ es el ángulo de dispersión. Los ferrogel es sistemas que interactúan y a menudo derivan en estructuras que muestran conjuntos jerárquicos, por lo que exigen la observación de vectores de dispersión en un amplio rango desde 0,06 a 6 nm⁻¹.

III.2.2.1.8. Estructura próxima al borde de absorción de los Rayos X(XANES). Se realizaron estos ensayos para identificar el estado de oxidación del hierro en los geles. Se llevaron a cabo en la línea XAFS2 del Laboratorio Nacional de Luz Sincrotrón (Campinas, Brasil). Los espectros se tomaron a temperatura ambiente, en modo transmisión usando un monocromador de silicio.

III.2.2.2. Métodos de Evaluación de la Capacidad de Hinchamiento.

III.2.2.2.1. Determinación de la Fracción de Gel (FG%). La fracción de gel se determinó pesando una muestra previamente secada en estufa a 37 °C durante 48 horas (M) y sumergiéndola en agua destilada por 4 días, luego se volvió a secar a 37 °C hasta peso constante (M) y se determinó la fracción de gel, como:

$$FG\% = \frac{M_f - M_r}{M_i - M_r} \times 100 \quad (2)$$

donde M es la masa de óxido de hierro, calculado del análisis de TGA.

III.2.2.2. Determinación del Grado de Hinchamiento. Se estudió el hinchamiento de los hidrogeles sumergiendo las muestras en agua destilada a 23 °C. Las muestras fueron pesadas antes de comenzar el ensayo (M_i); extraídas de la solución a diferentes tiempos, secadas cuidadosamente en la superficie con papel absorbente y pesadas (M_t). Este procedimiento fue repetido hasta que la muestra alcanzó un peso constante (M_s). El porcentaje de hinchamiento a cada tiempo se calculó como:

$$M_t \% = \frac{M_t - M_i}{M_i} \times 100 \quad (3)$$

III.2.2.3. Medición de Propiedades Magnéticas. El comportamiento magnético de las MNPs obtenidas se determinó mediante experimentos de magnetización en función del campo aplicado y la temperatura. En el primer caso se realizaron a temperatura constante y permitieron obtener parámetros como la magnetización de saturación $M_s(T)$, la magnetización remanente $M_r(T)$ y el campo coercitivo $H_c(T)$. En el segundo caso se realizaron bajo un campo constante siguiendo protocolos ZFC/FC (zero field cooling y field cooling) que permitieron determinar las temperaturas de irreversibilidad T_{ir} y de bloqueo T_b . Estos estudios permitieron verificar el estado monodominio de las MNPs, cuantificar las potenciales interacciones dipolares magnéticas entre las mismas y observar si se manifiesta una reducción de M_s por efecto de desorden magnético superficial y si éste depende del recubrimiento de las NPs. Los estudios se realizaron utilizando magnetometría SQUID y de muestra vibrante.

Los ensayos ZFC/FC se llevaron a cabo según se describe a continuación: la muestra se enfrió primero desde 300 a 5 K sin campo magnético, a continuación, se aplica un campo magnético estático de 50 Oe y se aumenta la temperatura hasta 350 K (medición ZFC), se mide la magnetización en todo el calentamiento. A continuación la muestra se enfrió a 5 K bajo campo magnético aplicado (50 Oe) y se midió nuevamente la magnetización en todo el enfriamiento (FC curva).

III.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

III.3.1. Ferrogeles obtenidos por entrecruzamiento de dispersiones de MNPs recubiertas con PVA.

La mayoría de los trabajos que aparecen en bibliografía, orientan la obtención de ferrogeles en una primera etapa que implica la síntesis de las NPs magnéticas, seguidas de su incorporación en una solución de PVA que será posteriormente entrecruzada para obtener un ferrogel. El principal problema asociado con esa técnica es la casi inevitable formación de agregados de NPs. Este problema suele ser minimizado mediante el uso de recubrimientos químicamente compatibles en las NPs para funcionalizarlas. Sin embargo, estos procedimientos suelen añadir complejidad y tiempo adicional para el proceso de obtención del ferrogel. Por lo que la hipótesis de esta parte de la tesis es que es posible sintetizar MNPs en presencia de una solución de PVA, previo a la formación del gel, lo que podría evitar los problemas de agregación y reducir las etapas del proceso de obtención.

III.3.1.1 Caracterización Morfológica y Estructural.

Los ferrogeles FGA y FCD fueron obtenidos entrecruzando dispersiones de NPs en soluciones de PVA. Este proceso involucra un primer paso de co-precipitación donde el PVA es utilizado para controlar el tamaño de

las NPs y el grado de agregación de las mismas, debido a la habilidad de este polímero como estabilizante [45]. A la vez, las interacciones partícula-polímero pueden afectar la eficiencia del método de entrecruzamiento, tanto por congelamiento-descongelamiento como el mediado por un agente entrecruzante, y por lo tanto el comportamiento del ferrogel.

El primer aspecto interesante de las síntesis es la alta estabilidad y homogeneidad óptica de las dispersiones PVA-NPs iniciales. La presencia de grupos OH en la cadena principal del PVA es la responsable de la gran afinidad con la superficie de los óxidos de hierro. La obtención de los ferrogeles está enfocada en la utilización de la técnica de C-D, pero a fines comparativos se realizaron muestras entrecruzadas químicamente con glutaraldehído.

En la **Figura III.4** se muestran las fotografías de los ferrogeles obtenidos y su comportamiento cuando se los expone a un imán permanente. Este simple análisis permite inferir la presencia de una fase magnética en los geles sintetizados.

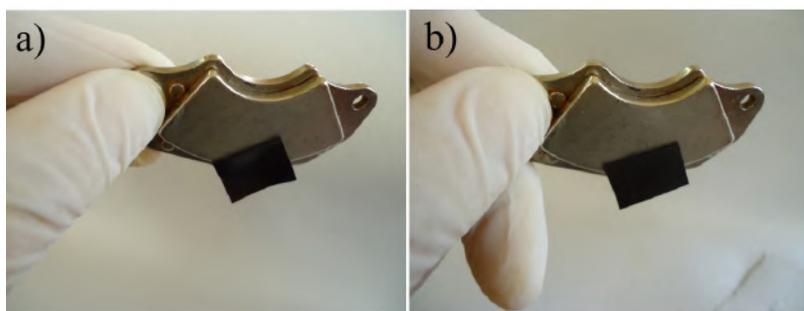


Figura III.4. Fotografías de los ferrogeles FCD (a) y FGA (b) con un imán permanente: comprobación de la formación de una fase magnética.

En las **Figuras III.5 y III.6** se puede observar la presencia de dispersiones homogéneas de NPs, con bajos niveles de agregación y con partículas de tamaño menor a 50 nm. Estos resultados confirman la eficacia del PVA como limitador del crecimiento y agregación de NPs magnéticas. Asimismo, se pudo ver que el método de congelamiento/descongelamiento es útil para la síntesis de ferrogeles con NPs bien dispersas y características similares a las obtenidas por entrecruzamiento químico.

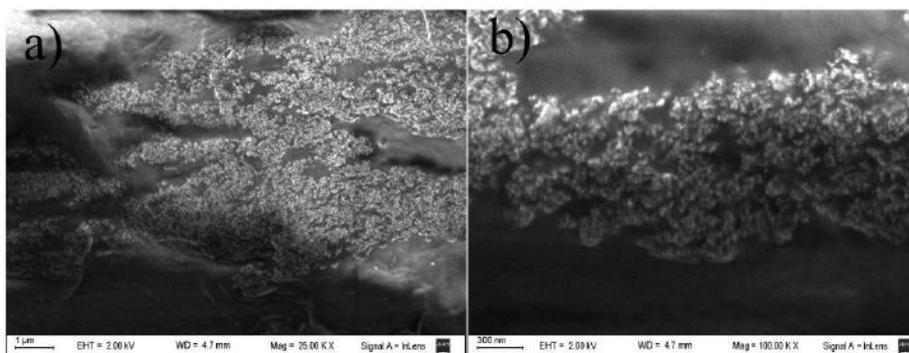


Figura III.5. Imágenes FESEM del FCD. La micrografía (b) es una magnificación de la imagen (a).

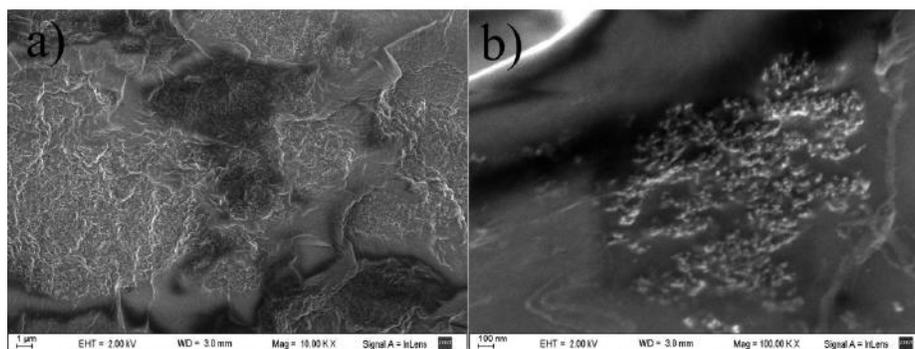


Figura III.6. Imágenes FESEM del FGA. La micrografía (b) es una magnificación de la imagen (a).

Los difractogramas realizados tanto para los ferrogeles FCD como para los FGA se muestran en la **Figura III.7**. Los picos de difracción característicos del PVA semicristalino se encuentran en $19,8^\circ$ y $22,9^\circ$ (2θ) que corresponden a los planos de reflexión $(1\ 0\ 1)$ y $(1\ 0\ \bar{1})$ respectivamente [46-47]. Además, se observó un pico adicional centrado en $35,5^\circ$ (2θ) que coincide con el plano de reflexión $(3\ 1\ 1)$ de la magnetita o maghemita [48], confirmando la presencia de este óxido en la matriz de PVA. Los tamaños de cristal de las NPs en los ferrogeles FCD se evaluaron usando la ecuación de Scherrer [49] y se estimó en 9-10 nm.

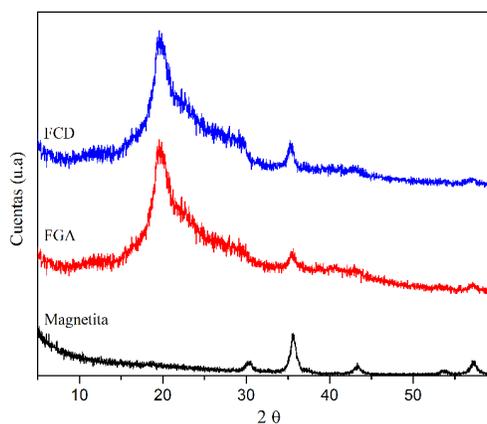


Figura III.7. Espectros de difracción de rayos X de la magnetita y los ferrogeles FCD y FGA.

El estado de oxidación del Fe fue identificado mediante espectroscopia de absorción de rayos X cerca de estructura de borde (**Figura III.8**). Se incluyen en la figura los espectros de maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) y magnetita (Fe_3O_4) en polvo con fines comparativos. La posición de los picos en los espectros depende de la estructura electrónica local de los iones metálicos. Se puede observar que para ambos ferrogeles (FCD y FGA) los espectros son diferentes a los de la magnetita y muy parecidos a la maghemita. A la vez, se observa un ligero corrimiento hacia la izquierda (menores energías) de los espectros de los ferrogeles con respecto al de la maghemita (línea roja), esto puede deberse a los efectos de tamaño finito o a las contribuciones de la superficie de las NPs.

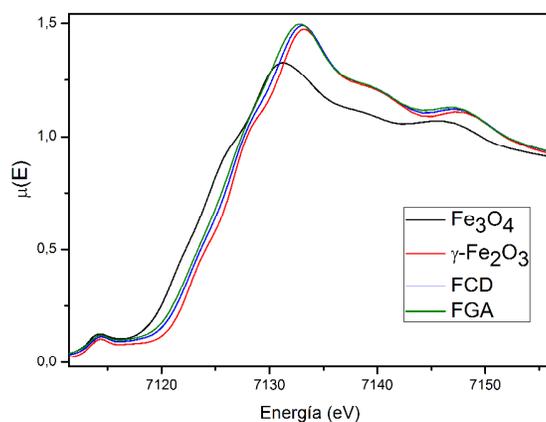


Figura III.8. Espectros XANES de magnetita, maghemita y ferrogel FGA y FCD.

Los espectros ^{57}Fe Mössbauer permiten identificar las posiciones de hierro no equivalentes en la red cristalina además de la identificación de compuestos y fases [50]. Los espectros obtenidos se muestran en la **Figura III.9**, los mismos son similares a los reportados para las MNPs de maghemita [51]. A partir de los espectros obtenidos y utilizando una constante calculada de las mediciones magnéticas (que se explican luego), fue posible determinar las distribuciones de los tamaños de partícula [51]. Los resultados obtenidos fueron: $9,0 \pm 1,4$ nm para FGA y $9,3 \pm 1,5$ nm para FCD.

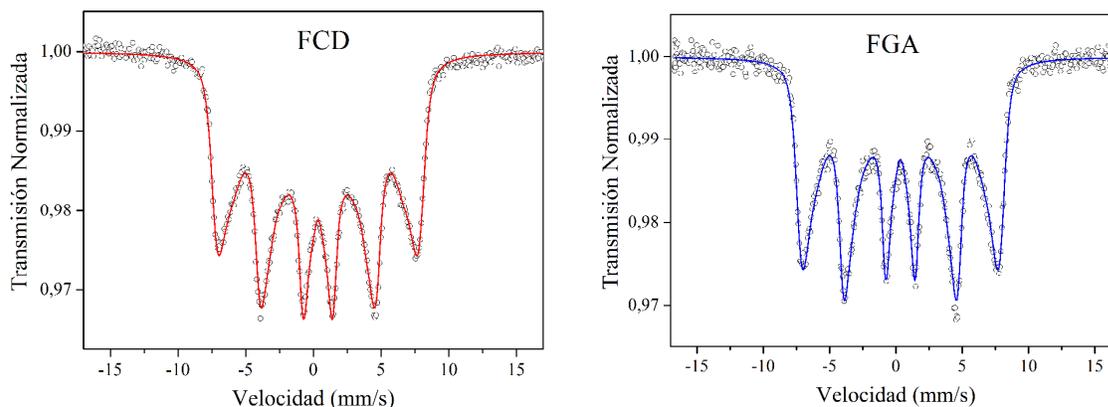


Figura III.9. Espectros Mössbauer de los ferrogel FCD y FGA.

II.3.1.2. Propiedades Térmicas, Físicas y Químicas.

La concentración final de las NPs en la matriz se determinó mediante análisis termogravimétrico (TGA). Según la formulación inicial, el contenido teórico de partículas de maghemita es del 6 % en peso en la muestra anhidra. Luego de restar los residuos carbonosos derivados de la degradación incompleta del PVA (1% p/p) y el agua ligada, se obtuvo el contenido de NPs (6,2 % para el FCD y 5,7 % para el FGA). El valor obtenido para ambas muestras, se encuentra muy cercano al esperado, lo que indica ausencia de exudación de NPs durante el lavado y secado.

Para evaluar el efecto de las NPs sobre las propiedades finales de los geles, se llevaron a cabo ensayos térmicos y de hinchamiento tanto en los hidro como en los ferrogel obtenidos por congelamiento-descongelamiento. La **Tabla III.1** muestra la X_c y los valores de T_f determinados a partir de los ensayos de DSC (**Figura III.10**).

Tabla III.1. Principales propiedades de los geles físicos.

Muestra	X_c %	T_f °C	T_p °C	FG %
HCD	31,8	220,5	386,2	67,3 ± 3,6
FCD	26,2	215,0	315,3	84,2 ± 0,7

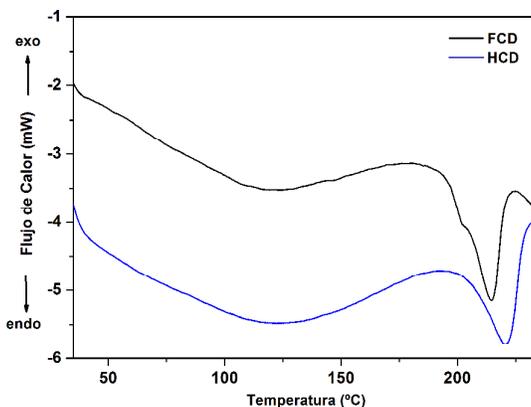


Figura III.10. Termogramas de los geles obtenidos por congelamiento-descongelamiento.

Tanto el grado de cristalinidad como la temperatura de fusión muestran una ligera disminución con la presencia de las NPs, indicando que se ha formado una menor cantidad de cristales y de menor tamaño en comparación con la matriz pura. Además, se ve una disminución de la T_p en los ferrogel, lo que supone que un gel formado por cristales más pequeños debería ser más fácil para degradar que uno formado por cristales más grandes. Según este comportamiento térmico, la presencia de NPs se opondría a la capacidad de las cadenas de PVA a ordenarse en una estructura cristalina [52].

Se midió la capacidad de hinchamiento de las muestras y los resultados para los hidro y ferrogel (físicos y químicos) se muestran en la **Figura III.11**.

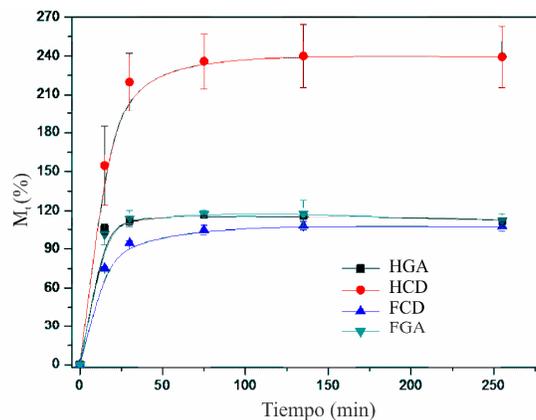


Figura III.11. Curvas de absorción de agua de los geles físicos y químicos.

Como se puede observar, las muestras con GA mostraron un comportamiento de hinchamiento constante, lo que indica que la adición de las NPs tiene una baja influencia en las propiedades de la red. En este caso, la capacidad de hinchamiento depende principalmente del tipo y cantidad de agente entrecruzante.

En el caso de los geles físicos (HCD y FCD) se observó un comportamiento completamente diferente. La presencia de NPs disminuyó marcadamente la capacidad de hinchamiento del gel y aumentó su estabilidad dimensional. Este efecto se puede entender analizando el mecanismo de entrecruzamiento por congelamiento/descongelamiento. En estos hidrogeles, los puntos de entrecruzamiento están constituidos por pequeños cristales que unen más de tres cadenas de PVA. El tamaño y la cantidad de estos cristales dependen de las variables de procesamiento (concentración, cantidad de ciclos C-D, peso molecular, entre otros). En el caso de los ferrogel, la presencia de NPs y su fuerte interacción con el PVA podría conducir a la formación de regiones de baja movilidad que pueden actuar como puntos de entrecruzamiento físicos adicionales, como se ha reportado en la formación de NPs de Fe_3O_4 en presencia de κ -carragenina [13, 27].

En resumen, se pudo determinar que la presencia de NPs influyó sobre la eficiencia de cristalización del PVA lo que se evidencia en la disminución en la cristalinidad global y el tamaño de los cristales. Sin embargo, el hinchamiento se redujo con la presencia de NPs y la fracción de gel aumentó (**Tabla III.1**), indicando un aumento de la densidad de entrecruzamiento.

II.3.1.3. Propiedades Magnéticas.

La **Figura III.12** muestra la dependencia de la magnetización ZFC/FC con la temperatura en el rango de 5 a 300 K para los ferrogel FGA y FCD. A partir de las curvas ZFC y FC, se puede determinar la temperatura media de bloqueo (definida como el máximo de la $d(\text{FC-ZFC})/dT$) [53]. La temperatura que separa los regímenes donde el material se comporta de modo análogo a un sistema paramagnético de uno bloqueado se denomina temperatura de bloqueo (T_b). La T_b está asociada a la barrera de energía y por ello se incrementa con el aumento de tamaño de partícula [54]. Los valores obtenidos se encuentran alrededor de 107 y 110 K para FCD y FGA respectivamente.

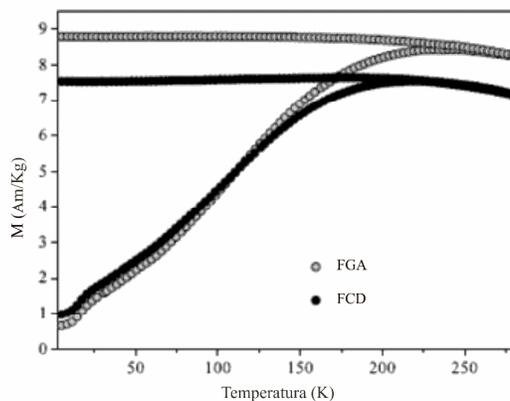


Figura III.12. Curvas de magnetización ZFC/FC en función de la temperatura para los ferrogel FGA y FCD.

Además el comportamiento casi constante de M en función de la temperatura por debajo del valor máximo de magnetización en ZFC sugiere la existencia de interacciones dipolares. Basándose en el tamaño de las NPs, se esperarían T_b menores a las obtenidas, el aumento de la T_b se le atribuye a estas interacciones [55-56].

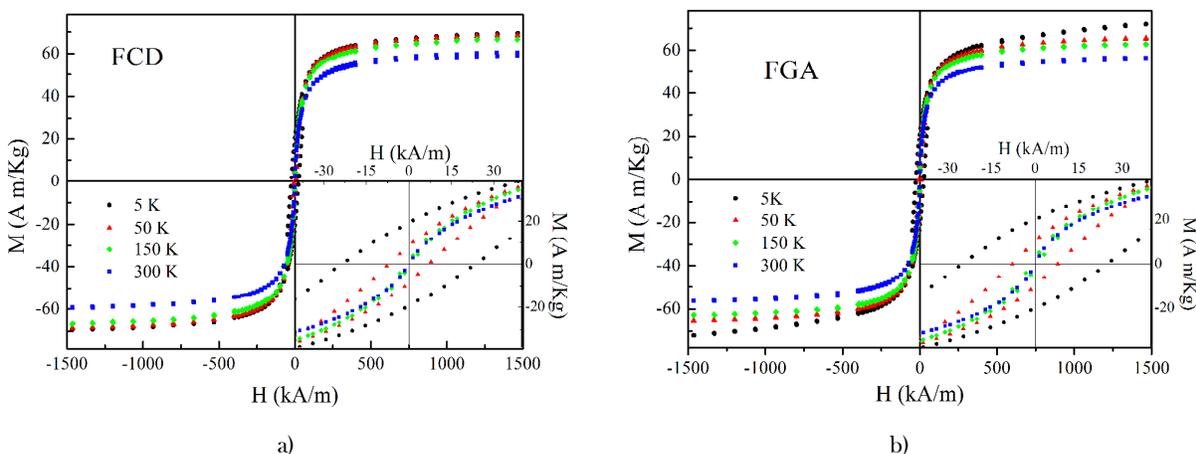


Figura III.13. Curvas de magnetización (M) en función del Campo aplicado (H) a diferentes temperaturas para los ferrogels FCD y FGA.

Se realizaron las curvas de magnetización (M) en función del campo aplicado (H) a 5, 50, 100, 150, 200, 250, y 300 K. Las **Figuras II.13 a y b** muestran las curvas obtenidas para las muestras de FCD y FGA respectivamente. Teniendo en cuenta la concentración de maghemita en los geles (6% p/p en seco) y la magnetización de saturación observada (valores de 3,6 emu/g para FCD y 3,4 emu/g para el FGA), la magnetización de saturación de las NPs a 300 K se puede calcular y resulta ser de 60,6 y 56,4 emu/g, para los geles físicos y químicos respectivamente.

Se sabe que el valor de magnetización de saturación (M_s) de las NPs de óxidos de hierro depende de su tamaño (excitaciones colectivas) y de la configuración magnética de su superficie magnética (desorden). Estos fenómenos pueden reducir la magnetización de saturación por debajo del valor esperado [57-59]. Los valores reportados de M_s a temperatura ambiente para NPs de diferentes tamaños y teniendo en cuenta estos efectos son: M_s de 20 y 58 emu / g para el NPs de óxido de hierro con tamaños promedio de 4,48 y 5,59 nm respectivamente [58], M_s entre 16,80 y 24,10 emu / g para NPs de magnetita con tamaños menores de 5 nm [59], M_s entre 55 y 65 emu / g para NPs de magnetita de 20 nm [60]. Por lo tanto, los resultados obtenidos de magnetización de saturación tanto para los ferrogels con GA como los obtenidos por congelamiento-descongelamiento son consistentes con los valores reportados en bibliografía.

En las **Figuras II.13 a y b** se encuentran insertadas en la parte inferior derecha ampliaciones de la zona central de las curvas M vs H donde se observa el campo coercitivo (H_c) y la zona de remanencia de las curvas M vs H . Ambos ferrogels presentan un comportamiento quasi-superparamagnético a temperatura ambiente, con valores muy bajos de coercitividad. Para ser completamente superparamagnético H_c debe ser igual a cero. El bajo H_c que se obtuvo se puede atribuir a que una pequeña fracción de las partículas tiene tamaños suficientemente grandes como para ser bloqueadas temperaturas menores de 150K, o a que las NPs

experimentan interacciones no despreciables entre ellas, debido a las fluctuaciones de concentración o incluso a un cierto grado de aglomeración de NPs [36, 54].

III.3.2. Ferrogeles obtenidos por entrecruzamiento de una solución de PVA y MNPs recubiertas con un polielectrolito (PAA).

El objetivo principal de esta parte del trabajo es sintetizar ferrogeles por dispersión de NPs, recubiertas con ácido poliacrílico (PAA) (**Figura III.14**) y NPs no recubiertas, en soluciones acuosas de PVA seguida de un entrecruzamiento físico de las cadenas poliméricas por el método de C-D.

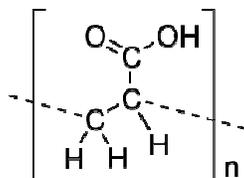


Figura III.14. Fórmula química del ácido poliacrílico (PAA).

La hipótesis general de esta parte del trabajo es que la presencia del PAA en la superficie de las NPs podría facilitar la formación de interacciones de enlaces tipo puente de hidrógeno entre las NPs y la matriz de PVA que permitiría generar ferrogeles con partículas bien dispersas y, al mismo tiempo, redes híbridas que potencialmente tendrían comportamientos de absorción y liberación controladas por el pH.

II.3.2.1. Caracterización morfológica y estructural.

Como una primera e importante etapa se estudiaron los efectos que las NPs recubiertas con PAA tienen sobre la estructura, las propiedades térmicas y la capacidad de hinchamiento de los hidrogeles de PVA y el efecto que produce la agregación de las NPs sobre las propiedades magnéticas finales. En todos los casos se compararon los resultados obtenidos con sistemas equivalentes formuladas con NPs no recubiertas (estabilizadas por carga). Las fotografías de los ferrogeles se pueden observar en la **Figura III.15 (a y b)**.

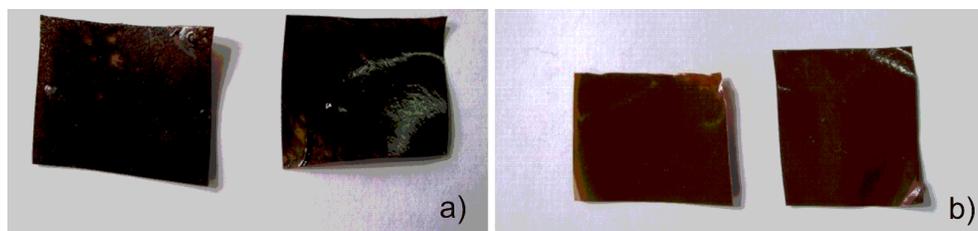


Figura III.15. Fotografías de a) Ferrogeles con NPs no recubiertas (6NC: ferrogel con 6% p/p de NPs no recubiertas a la izquierda y 9NC: ferrogel con 9% p/p de NPs no recubiertas a la derecha) y b) Ferrogeles con NPs recubiertas con PAA (6PAA: ferrogel con 6% p/p de NPs recubiertas con PAA a la izquierda y 9PAA: ferrogel con 9% p/p de NPs recubiertas con PAA a la derecha)

Se muestra una clara diferencia en la homogeneidad entre las muestras preparadas con NPs recubiertas con PAA y las sin recubrir, estas últimas muestran un nivel de agregación muy grande, lo que se manifiesta además en las micrografías FESEM (**Figuras III.16 a, b, c y d**).

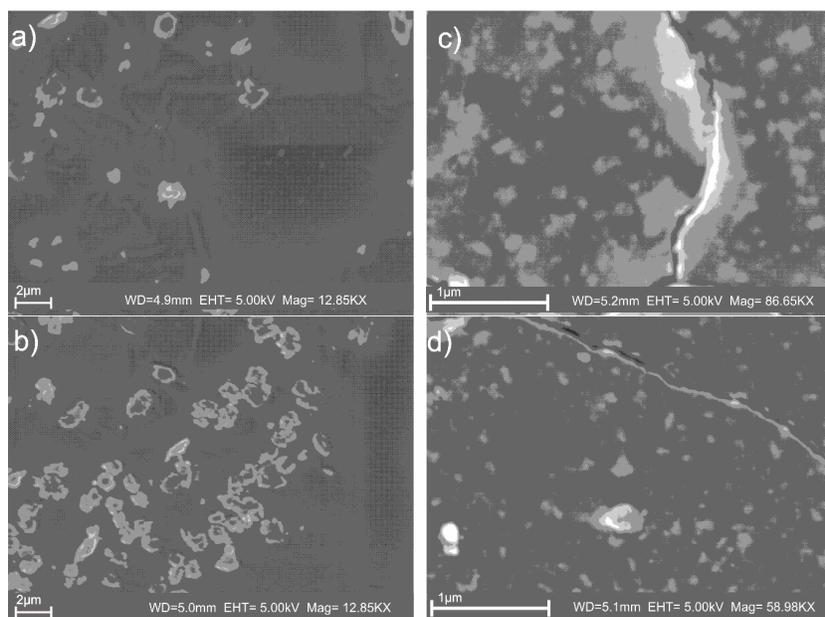


Figura III.16. Micrografías FESEM de a) 6NC: ferrogel con 6% p/p de NPs no recubiertas b) 9NC: ferrogel con 9% p/p de NPs no recubiertas, c) 6PAA: ferrogel con 6% p/p de NPs recubiertas con PAA y d) 9PAA: ferrogel con 9% p/p de NPs recubiertas con PAA.

En estas figuras se puede notar la formación de agregados compactos micrométricos separados en los gels con NPs no recubiertas, mientras que las muestras con NPs recubiertas con PAA presentan una estructura más homogénea caracterizada por *clusters* de NPs difusas dispersos en todo el gel. Este resultado es probablemente una consecuencia de dos efectos: una mejor estabilidad de las partículas recubiertas con PAA en la dispersión coloidal inicial y de las interacciones de tipo enlaces de hidrógeno que se generan entre el recubrimiento de las partículas (PAA) y las cadenas de PVA del hidrogel [61].

II.3.2.2. Propiedades Térmicas, Físicas y Químicas.

La presencia de NPs podría influir fuertemente tanto en el proceso de formación de la red como en las propiedades finales de los materiales. Estos efectos pueden ser incluso más notorios en el caso de las partículas estabilizadas con recubrimientos que puedan formar enlaces fuertes con los grupos funcionales de la matriz. Este es el caso del PAA, que presenta grupos ácidos carboxílicos disponibles en su estructura. Estos efectos en la red pueden analizarse mediante ensayos térmicos y físicos de los ferrogel. Si se analiza en primera instancia a los ferrogel con un contenido similar en peso de Fe_2O_3 (11-12 % p/p), es evidente que aumentaron las T_g , T_c y X_c con la presencia de las NPs recubiertas con PAA y disminuyeron con la adición de las NPs no recubiertas respecto a la matriz. La T_c mostró un pequeño aumento para los sistemas 6PAA y 9PAA respecto al hidrogel de PVA puro. Por el contrario, la adición de NPs no recubiertas produjo una ligera disminución en este valor. Esto podría estar asociado con un aumento en el primer caso y una disminución en el segundo caso del tamaño de los cristales de PVA respecto al hidrogel puro. El porcentaje de cristalinidad también mostró una marcada disminución en el caso de los sistemas no recubiertos, mientras que se observó el comportamiento opuesto para los hidrogeles modificados con NPs recubiertas con PAA. El efecto de la presencia de las NPs en la temperatura de degradación de los nanocompuestos fue significativo. En el caso de

los ferrogel con un mayor nivel de dispersión (obtenidos con las NPs PAA-recubiertas), la T_p aumentó casi 50 °C respecto al hidrogel, lo que resulta un comportamiento esperado para los geles con una buena dispersión de NPs en la matriz [62]. Se ha reportado que incluso pequeñas cantidades de NPs magnéticas bien dispersas son capaces de correr la T_p a valores mayores. Este efecto se ha asociado a las restricciones en la movilidad de la cadena de polímero y a la reducción en la difusividad de los agentes de ataque dentro de la matriz polimérica, debido a las fuertes interacciones polímero-partícula [62].

Los resultados presentados anteriormente sugieren diferentes roles para ambos tipos de NPs en la matriz. Como se ha mencionado, las NPs recubiertas pueden formar fácilmente enlaces de hidrógeno a través de sus grupos carboxilo con los grupos hidroxilo del PVA [63]. Esto permite una fuerte interacción de las NPs con las cadenas del polímero incluso antes de que comience el entrecruzamiento, es decir, antes de la formación del gel. Es posible que el contacto íntimo entre las NPs y el polímero facilite la nucleación de cristales de mayor tamaño en la matriz de PVA, lo que explica los valores más altos de X_c y T_f para estos nanocompuestos respecto al hidrogel de PVA no modificado.

La fracción de gel ($FG\%$) no aumentó con la presencia de NPs recubiertas con PAA y mostró un marcado aumento en el caso de las NPs no recubiertas. Por otra parte, el hinchamiento ($M_s\%$) aumentó en las muestras modificadas con PAA y disminuyó en el caso de los sistemas NC (con alta $FG\%$). Los modelos propuestos para la formación del criogel, descriptos ya en otros capítulos de la tesis, se basan en que los cristales de hielo formados durante la etapa de congelación promueven la generación de cristales de PVA, por incremento a nivel local de la concentración de cadenas de polímero. Estos cristales actuarían como puntos de anclaje para las cadenas poliméricas, actuarían de puente con los cristales de PVA vecinos [64]. Dentro de este marco, los resultados obtenidos para los sistemas modificados con NPs recubiertas con PAA son inesperados. El aumento en la X_c observado para geles 6PAA y 9PAA parece no afectar la densidad de entrecruzamiento del sistema. Esto indicaría que las regiones cristalinas en el PVA podrían estar actuando como puntos de entrecruzamiento físicos de baja efectividad. Los resultados observados se pueden explicar con la formación de una dispersión heterogénea de grandes cristales en la red, lo que podría producir un aumento en el grado de cristalinidad y en la temperatura de fusión del sistema, con una pobre contribución a la gelación física de PVA. Por otro lado, algunos autores [63, 65] han afirmado que el factor predominante en la gelificación de hidrogeles de PVA es la formación de entrecruzamientos físicos por enlaces de hidrógeno entre los grupos hidroxilo del PVA. Se espera que se den enlaces de este tipo en presencia de PAA y las cadenas de PVA, a expensas de los enlaces de hidrógeno que se podrían formar por auto-asociación entre las cadenas de PVA. Sin embargo, el grado de influencia que pueden tener las interacciones entre NPs PAA-recubiertas y las cadenas de PVA en el entrecruzamiento se encuentra aún bajo análisis.

Tabla III.2. Propiedades térmicas y de hinchamiento de los geles físicos con partículas recubiertas y no recubiertas.

Muestra	Fe_2O_3 %	T_p °C	T_f °C	X_c %	M_s %	FG %
PVA	0	284,3 ± 5,3	220,5 ± 0,3	31,8 ± 3,2	221,5 ± 5,4	67,3 ± 3,5
9PAA	15,9 ± 0,1	331,5 ± 5,1	227,3 ± 0,7	45,9 ± 5,0	332,2 ± 32,5	67,3 ± 2,0
6PAA	11,0 ± 0,1	323,5 ± 4,6	226,6 ± 0,2	55,0 ± 4,2	323,0 ± 11,5	68,3 ± 1,1
6NC	11,8 ± 1,0	262,0 ± 6,1	217,8 ± 0,9	25,2 ± 1,6	158,7 ± 3,2	88,4 ± 1,0
9NC	24,9 ± 2,2	255,4 ± 8,8	218,3 ± 0,2	19,1 ± 0,2	204,3 ± 11,3	82,3 ± 2,1

En el caso de las NPs no recubiertas, el gran aumento en la $FG\%$ y la disminución en el $M_c\%$ indican que estos geles están más entrecruzados que la matriz. Sin embargo, la X_c disminuyó, por lo que los agregados de las NPs formados en gel al principio del procesamiento podrían estar actuando como puntos de entrecruzamiento físicos adicionales que llevan a un gel menos cristalino pero más entrecruzado.

Un cambio importante se manifestó en el grado de hinchamiento de los ferrogel con partículas recubiertas con PAA, los que mostraron un aumento considerable en el $M_c\%$ con respecto a la matriz (cerca del 50%). Este efecto es probablemente una consecuencia de la presencia de los grupos carboxilo en la superficie de las NPs. A pH fisiológico (7,4), la mayor parte de los grupos carboxilo están presentes como aniones carboxilato. En estas condiciones, la repulsión electrostática entre los iones de la misma carga y el desequilibrio osmótico entre el interior y el exterior de los geles causan una mayor expansión de la red tridimensional polimérica [66]; expansiones adicionales similares se han observado para geles de polímeros catiónicos cuando el pH del medio disminuye por debajo de un valor crítico (punto isoeléctrico) [67]. En resumen, la utilización de NPs recubiertas con PAA y en ausencia de cualquier otro co-monómero, hizo que el hidrogel de PVA se transformara en un ferrogel con mejor capacidad de hinchamiento, mayor cristalinidad y temperatura de degradación y posible sensibilidad al pH.

Un posible modelo que mostraría en donde se encuentran las NPs con PAA en la matriz se muestra en la **Figura III.17**.

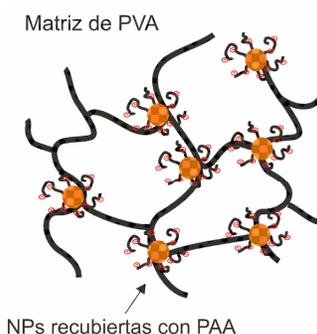


Figura III.17. Ferrogel con NPs recubiertas con PAA.

Para evaluar la organización estructural de las NPs en el gel se utilizó la técnica de dispersión de Rayos X a ángulos pequeño (SAXS). En este trabajo, se utilizó SAXS como una herramienta semi-cuantitativa para el análisis estructural y comparativo de las NPs en los geles de PVA. Las **Figuras III.18 a y b** muestran el gráfico de $\text{Log } I(q)$ vs $\text{Log } q$ para todos los ferrogel obtenidos.

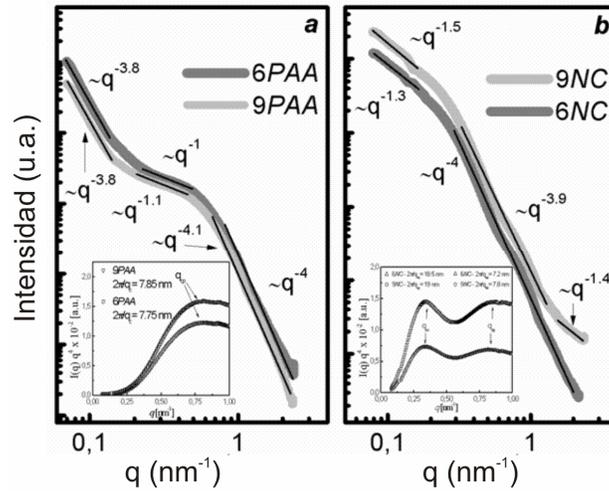


Figura III.18. Curvas SAXS de los ferrogels con a) NPs recubiertas (6PAA y 9PAA) y b) NPs no recubiertas (6NC y 9NC).

Estas curvas experimentales muestran tres y dos regiones diferentes de dispersión, para los gels con NPs recubiertas con PAA y con NPs no recubiertas respectivamente. Según la gráfica a valores bajos de q , ambos tipos de gels mostraron una dependencia de ley de potencia de la intensidad de SAXS de la forma:

$$I(q) = I_0 q^\alpha \quad (4)$$

donde I_0 es una constante y α está relacionado con la longitud de correlación en el material (que puede determinarse a partir de la pendiente de la parte lineal en las curvas log-log) [68]. Para las muestras obtenidas con NPs no recubiertas, la región de bajo q tiene una pendiente de -1,3 para 6NC y -1,5, para 9NC, valores que son cercanos a los reportados para ferrofluidos diluidos [69].

Usando la fórmula de Guinier:

$$I(q) = G \exp(-q^2 R_g^2 / 3) \quad (5)$$

donde G es el prefactor de Guinier y R_g es el radio de giro de los objetos en la dispersión [70]. Los valores obtenidos fueron de aproximadamente 19 y 11 nm para los sistemas con NPs recubiertas y no recubiertas, respectivamente. Suponiendo que la forma de la estructura dispersa más grande es una esfera, y utilizando $D = 2 (5/3)^{1/2} R_g$ (donde D es el diámetro del objeto), se obtuvieron tamaños de aproximadamente 49 nm para las muestras con partículas modificadas con PAA y 28 nm para gels con NPs no recubiertas. Ambos valores son mayores que el tamaño de las NPs individuales. En base a estos resultados preliminares, y teniendo en cuenta las imágenes FESEM, se estima que las distribuciones de las NPs es en forma de agregados micrométricos, donde cada agregado está constituido por pequeños *clusters*. La naturaleza de estos agregados (distancia entre las partículas, forma, etc) parece depender de la naturaleza del recubrimiento de la NP. En el caso de los gels NC, se forman grandes agregados compactos y zonas bien definidas ricas en NPs.

Para facilitar el siguiente análisis se muestran los datos como $q^2 I(q)$ vs q (en los recuadros de la **Figura III.18 a y b**). En estas curvas se puede observar un primer pico que está asociado al tamaño de las NPs dentro de los *clusters*, dando como resultado valores de 7,2 y 7,7 nm para las muestras preparadas con NPs recubiertas con

PAA y no recubiertas, respectivamente. El segundo pico observado se corresponde con el tamaño de los *clusters*. En el caso de los ferrogeles NC se observa centrado alrededor de 40 nm, valor que se encuentra en concordancia con lo obtenido de la fórmula de Guinier, mientras que no se observó un segundo pico en las muestras preparadas con NPs recubiertas con PAA, esto puede deberse a que hay una baja cantidad de *clusters* [71].

En resumen, tanto las micrografías FESEM como los experimentos SAXS indican que los geles fueron formados por agregados micrométricos dispersos en la matriz y que estos agregados están constituidos por *clusters* de NPs más pequeñas. Las muestras preparadas con NPs no recubiertas parecen presentar una estructura interna más compacta que los agregados formados por NPs PAA-recubiertas, es decir, la distancia entre las NPs en los geles con PAA sería mayor que en el caso de los agregados formados con las NPs no recubiertas. Esto es claramente una consecuencia de la presencia del recubrimiento de PAA en la superficie de las NPs.

II.3.2.3. Propiedades magnéticas.

Como se describió anteriormente, los ferrogeles con NPs recubiertas con PAA mostraron un mayor nivel de dispersión en comparación con los sistemas obtenidos con NPs no recubiertas. Sin embargo, el nivel de agregación, la formación de agregados y la distancia entre NPs pueden influir fuertemente en las propiedades magnéticas de estos geles, por lo que el estudio de la respuesta magnética de los materiales finales es de suma importancia.

En la **Figura III.19** se observan las curvas de magnetización (M) en función del campo aplicado (H) a dos temperaturas diferentes (5 y 300 K). Todas las muestras medidas a temperatura ambiente (300 K) mostraron una magnetización de saturación (M_s) relativamente alta. Los valores obtenidos fueron: 50,1; 50,0; 50,1 y 50,0 emu/g de Fe₃O₄ para los geles 6PAA, 9PAA, 6NC y 9NC, respectivamente. Estos valores son más pequeños que los esperados para magnetita en *bulk* (90 emu/g)[72]. La disminución en M_s podría ser una consecuencia del desorden de la superficie y/o de una baja cristalinidad de la partícula [73].

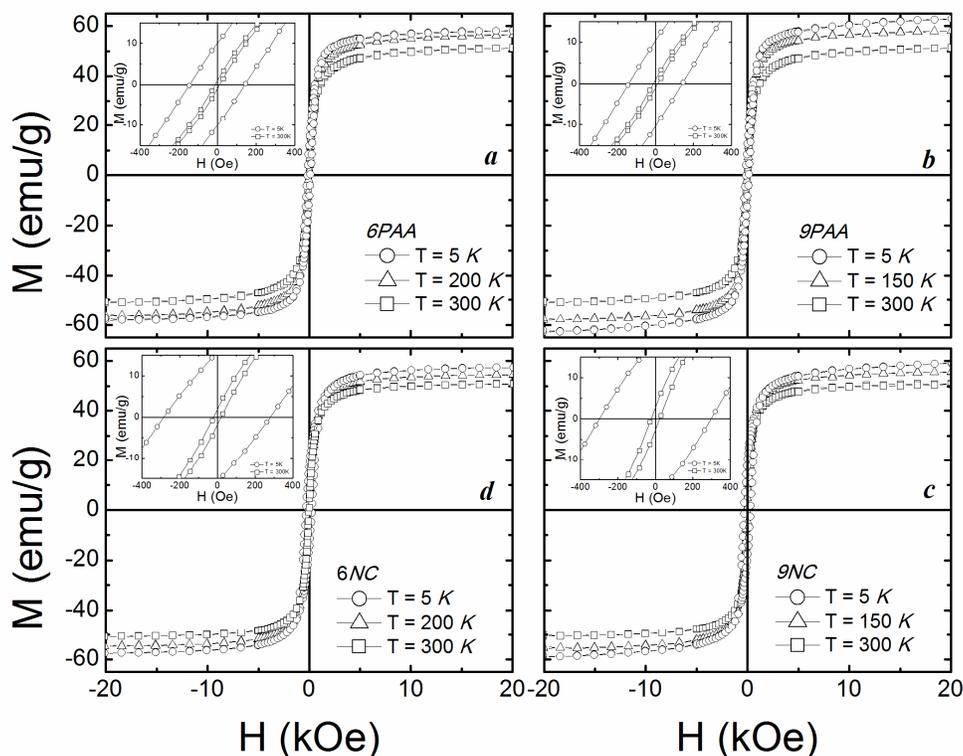


Figura III.19. Curvas de Magnetización en función de Campo de ferrogel con NPs recubiertas: a) 6PAA y b) 9PAA y ferrogel con NPs no recubiertas c) 9NC y d) 6NC.

En el recuadro de las **Figuras III.19** se muestran magnificadas las curvas M-H a bajos valores de H. Como se espera, se observa un marcado aumento en el campo coercitivo (H_c) al disminuir la temperatura. Este es el comportamiento típico esperado para sistemas superparamagnéticos en los que, a bajas temperaturas (por debajo de la temperatura de bloqueo), el tiempo de relajación magnético es más largo que el tiempo de medición, el sistema está térmicamente bloqueado y el campo coercitivo tiene un valor diferente de cero. Para temperaturas más altas, el tiempo de relajación magnética es más corto que el tiempo de medición y los conjuntos de partículas se comportan como "paramagnéticos". A $T=300\text{ K}$ todas las muestras presentan campos coercitivos pequeños, típicos de los sistemas superparamagnéticos con interacciones débiles entre las NPs [54]. Sin embargo, existe una ligera diferencia entre las muestras preparadas con NPs recubiertas y no recubiertas. Los ferrogel PAA muestran valores de H_c cercanos a 10 Oe, mientras que las muestras NC muestran valores alrededor de 20 Oe. En el primer caso, los valores menores obtenidos de H_c se pueden explicar por una mejor dispersión y una menor interacción entre las NPs, resultando en un comportamiento superparamagnético a temperatura ambiente. Esta diferencia fue más pronunciada a bajas temperaturas, con las NPs en estado bloqueado. A $T = 5\text{ K}$, los valores de los campos coercitivos asociados a 6PAA y 9PAA fueron aproximadamente 140 Oe, mientras que para 9NC y 6NC fueron de 298 y 282 Oe. Esto es una consecuencia de la existencia de mayores interacciones entre las NPs en los geles con NPs no recubiertas, debido a la formación de agregados de tamaño micrométrico [74]. Por lo tanto, el recubrimiento de PAA reduce la interacción entre las NPs y promueve una distribución más homogénea de éstas en el PVA.

Las mediciones ZFC/FC, se muestran en las **Figuras III.20 a y b**. A partir de la curva de ZFC se puede determinar la temperatura de bloqueo (T_B , como el máximo de la curva de ZFC), siendo 128 K para muestras 6PAA y 9PAA, lo que demuestra el comportamiento superparamagnético de estos ferrogeles. En muestras preparadas con NPs no recubiertas la temperatura de bloqueo parece estar por encima de la temperatura ambiente.

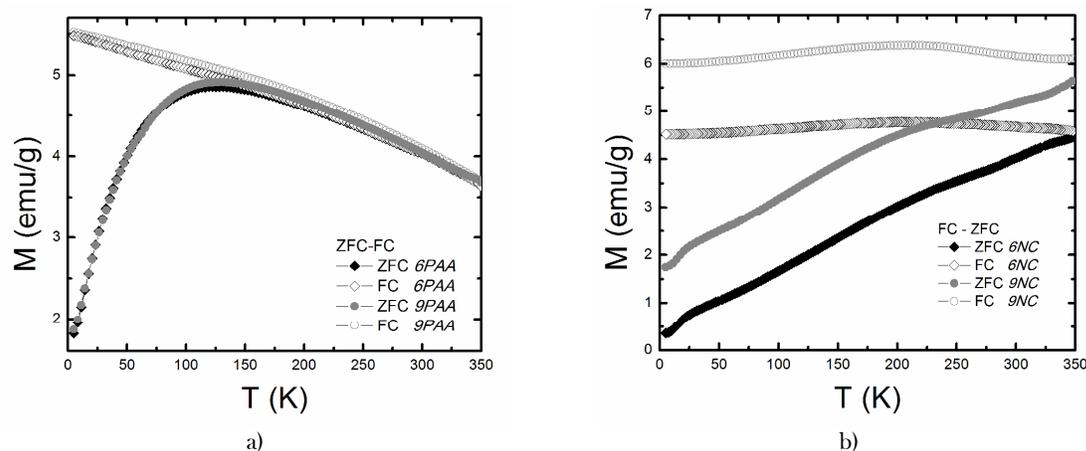


Figura III.20. Curvas ZFC/FC de a) ferrogeles con NPs recubiertas con PAA y b) ferrogeles con NPs no recubiertas.

III.3.3. Ferrogeles obtenidos por generación de MNPs en el interior de la red polimérica.

La tercera estrategia con la que se trabajó para la formación de los ferrogeles se basa en utilizar la red polimérica entrecruzada como un entorno capaz de restringir la generación de las NPs. Algunas de las ventajas de este procedimiento son el uso de un hidrogel preformado, bien caracterizado (formado en ausencia de NPs) y la posibilidad de controlar el tamaño de las partículas magnéticas con las limitaciones impuestas por la red entrecruzada.

II.3.3.1. Caracterización morfológica y estructural.

Los cambios macroscópicos que se observan durante el proceso de obtención de estos ferrogeles se ilustran en la **Figura III.21**. Se puede ver que los hidrogeles de PVA son transparentes y sin color y que toman un color naranja después de la primera etapa de inmersión como consecuencia de la infiltración de sales de hierro. En el paso final del procedimiento, el color de las muestras cambia a color marrón oscuro debido a la precipitación de óxidos de hierro (por la acción de hidróxido de amonio).

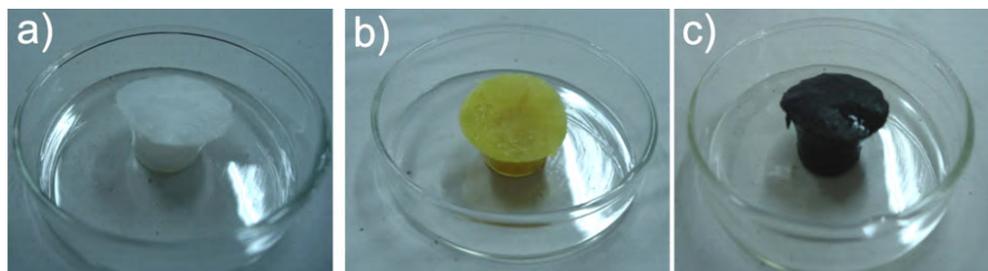


Figura III.21. a) hidrogel de PVA, b) hidrogel hinchado hasta el equilibrio con sales de Fe^{2+} y Fe^{3+} y c) ferrogel (luego de la precipitación de las sales).

Las imágenes de TEM (**Figura III.22**) muestran una excelente dispersión de NPs, con un diámetro promedio de 4 nm en la matriz de PVA. Este menor tamaño y baja polidispersidad de las NPs en el gel surgen probablemente de las limitaciones físicas para el crecimiento de las NPs impuestas por la matriz durante la co-precipitación.

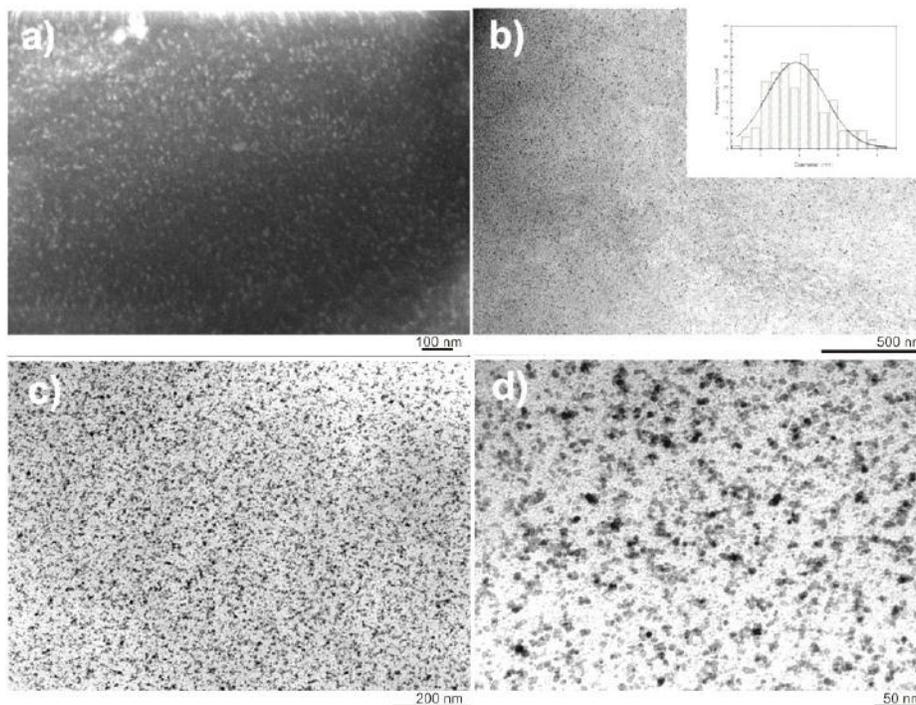


Figura III.22. Imágenes FESEM (a) y TEM (b,c, y d) de los ferrogels con diferentes magnificaciones y en b) la curva de distribución de tamaños.

El espectro de difracción de rayos X obtenido para el ferrogel se muestra en la **Figura III.23**. Los picos de difracción situados en $19,8^\circ$ y $22,9^\circ$ (2θ) (marcados con *) son asignados al PVA semicristalino [46]. El pico adicional en $35,5^\circ$ (2θ) puede ser asignado al pico de difracción más intenso de la magnetita o maghemita (19-0629 JCPDS, Joint Committee on Powder Diffraction Standards) confirmando la presencia de alguno o ambos de estos óxidos en el gel.

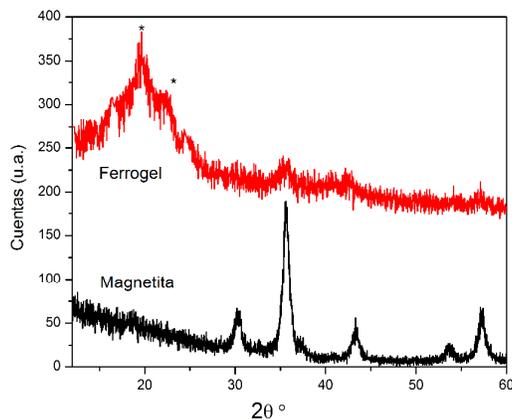


Figura III.23. Difractogramas del ferrogel y la magnetita.

II.3.3.2. Caracterización Térmica y Física de los Geles.

La **Tabla III.3** muestra los resultados obtenidos de los análisis térmicos de DSC y TGA. Para las condiciones de síntesis descritas, las mediciones de TGA revelaron un contenido de hierro superior al 15 % en peso, lo que indica que el proceso es eficiente para la inclusión de cantidades relativamente altas de NPs en la matriz del hidrogel. La temperatura de degradación del ferrogel es mayor que la de la matriz, lo que está posiblemente asociado a una fuerte interacción entre la matriz y la fase nanométrica. Estas interacciones polímero-NPs restringen la movilidad de las cadenas poliméricas reduciendo así la difusión del calor dentro de la matriz, por lo que las NPs actúan como una barrera térmica retrasando la degradación de la matriz [62].

Tabla III.3. Propiedades térmicas y contenido de óxidos de hierro en los geles.

Muestra	T °C	X_r %	T_p °C	Fe_2O_3 %
Hidrogel	$220,5 \pm 0,3$	$31,8 \pm 3,2$	$284,3 \pm 5,3$	0
Ferrogel	$223,7 \pm 0,6$	$35,3 \pm 5,1$	$295,9 \pm 6,4$	$15,7 \pm 3,1$

Con la incorporación de los óxidos de hierro, el grado de cristalinidad y la temperatura de fusión (T) aumentaron ligeramente respecto del hidrogel, lo que podría atribuirse a un proceso de cristalización adicional que se produce durante una segunda etapa de secado [75] y a la presencia de NPs bien dispersas que contribuyen aportando sitios de nucleación. Este proceso permitiría la formación de cristales de mayor tamaño y con una mayor temperatura de fusión.

II.3.3.2. Propiedades Magnéticas.

La magnetización en función del campo aplicado para los ferrogeles a diferentes temperaturas son iguales a las esperadas para un conjunto de partículas magnéticas monodominio que no interactúan entre sí (**Figura III.24**). A temperaturas mayores o iguales a 40 K no se observó histéresis. El análisis de las curvas a 290 K y 300 K de Langevin indica que el tamaño de las NPs es alrededor de 6,4 nm. Este valor se aparta considerablemente del determinado por TEM (aproximadamente en un 46%), lo que estaría asociado a las interacciones dipolares entre las NPs [76].

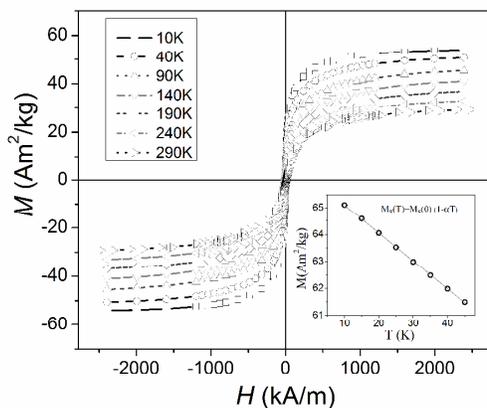


Figura III.24. Curvas M vs H del ferrogel a diferentes temperaturas.

Las mediciones de M en función de T en FC y ZFC se muestran en la **Figura III.25** para el ferrogel en estado hinchado y seco. Se puede observar que las temperaturas de bloqueo promedio T_b^d son diferentes entre la muestra seca e hidratada. Teniendo en cuenta que la hidratación de las muestras ($M_s\%$, grado de hinchamiento en equilibrio en agua bidestilada a temperatura ambiente) da lugar a un crecimiento del 200% del volumen del ferrogel estas diferencias en las temperaturas de bloqueo pueden deberse a las interacciones dipolares entre las NPs, que dependen de la separación entre ellas.

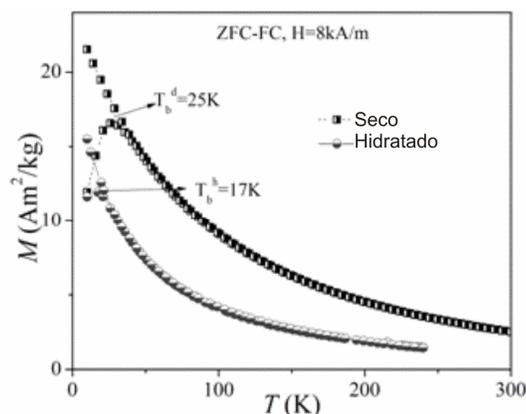


Figura III.25. Curvas M vs T en FC/ZFC para el ferrogel seco e hidratado.

III.4. CONCLUSIONES

Con respecto a la primera técnica de obtención de ferrogel descrita en el presente capítulo (por entrecruzamiento de dispersiones de MNPs recubiertas con PVA). Se pudieron obtener ferrogel superparamagnéticos (a temperatura ambiente) con una buena dispersión de NPs en la matriz y con tamaño de partículas de aproximadamente 10 nm. Se puede concluir que el entrecruzamiento físico permite obtener ferrogel con buenas propiedades magnéticas sin el contenido de residuos tóxicos generado por el entrecruzamiento químico, de una manera sencilla y eficiente.

Además, se pudieron obtener ferrogel superparamagnéticos con alto grado de cristalinidad, temperatura de fusión y temperatura de degradación, gran capacidad de hinchamiento y con posible sensibilidad al pH mediante el método de entrecruzamiento de una solución de PVA y MNPs recubiertas con PAA.

En el caso de los ferrogel obtenidos por generación de MNPs en el interior de la red polimérica se puede concluir que el procesamiento utilizado para su obtención también es simple y eficiente, se pudo obtener una concentración elevada de NPs en el gel lo cual facilita su manipulación con campos externos, con una distribución uniforme de NPs.

Tanto la biocompatibilidad de los componentes constitutivos de los ferrogel (PVA y óxidos de hierro) como la capacidad de hinchamiento de los materiales finales y el uso de las distintas estrategias de obtención, todas amigables con el medio ambiente y que no deja residuos tóxicos en el material, hacen de estos geles prometedores dispositivos para la administración de fármacos.

III.5. TRABAJO A FUTURO

Se plantea como continuación de esta tesis la evaluación de estos sistemas en la liberación de fármacos modelos (ibuprofeno y vitamina B) bajo la acción de campos magnéticos alternos.

Referencias.

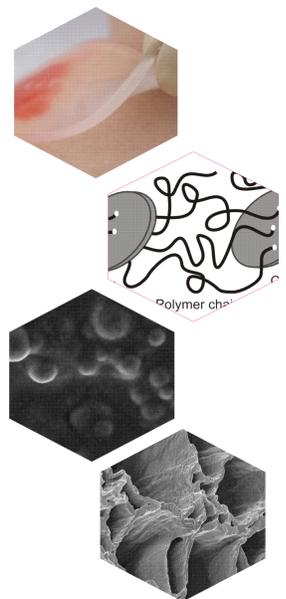
1. Du, Y.; Shen, S.Z.; Cai, K. y Casey, P.S., *Research progress on polymer-inorganic thermoelectric nanocomposite materials*. Progress in Polymer Science, 2012. **37**(6): p. 820-841.
2. Nguyen, T.-P., *Polymer-based nanocomposites for organic optoelectronic devices. A review*. Surface and Coatings Technology, 2011. **206**(4): p. 742-752.
3. Wang, Q. y Zhu, L., *Polymer nanocomposites for electrical energy storage*. Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics, 2011. **49**(20): p. 1421-1429.
4. Sahoo, N.G.; Rana, S.; Cho, J.W.; Li, L. y Chan, S.H., *Polymer nanocomposites based on functionalized carbon nanotubes*. Progress in Polymer Science, 2010. **35**(7): p. 837-867.
5. Zhang, H.; Han, J. y Yang, B., *Structural Fabrication and Functional Modulation of Nanoparticle-Polymer Composites*. Advanced Functional Materials, 2010. **20**(10): p. 1533-1550.
6. Minelli, C.; Lowe, S.B. y Stevens, M.M., *Engineering Nanocomposite Materials for Cancer Therapy*. Small, 2010. **6**(21): p. 2336-2357.
7. Rozenberg, B.A. y Tenne, R., *Polymer-assisted fabrication of nanoparticles and nanocomposites*. Progress in Polymer Science, 2008. **33**(1): p. 40-112.
8. Paul, D.R. y Robeson, L.M., *Polymer nanotechnology: Nanocomposites*. Polymer, 2008. **49**(15): p. 3187-3204.
9. Vaia, R.A. y Maguire, J.F., *Polymer Nanocomposites with Prescribed Morphology: Going beyond Nanoparticle-Filled Polymers*. Chemistry of Materials, 2007. **19**(11): p. 2736-2751.
10. Balazs, A.C.; Emrick, T. y Russell, T.P., *Nanoparticle Polymer Composites: Where Two Small Worlds Meet*. Science, 2006. **314**(5802): p. 1107-1110.
11. Aimé, C. y Coradin, T., *Nanocomposites from biopolymer hydrogels: Blueprints for white biotechnology and green materials chemistry*. Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics, 2012. **50**(10): p. 669-680.
12. Fernández-Barbero, A.; Suárez, I.J.; Sierra-Martín, B. y col., *Gels and microgels for nanotechnological applications*. Advances in Colloid and Interface Science, 2009. **147-148**(0): p. 88-108.
13. Schexnailder, P. y Schmidt, G., *Nanocomposite polymer hydrogels*. Colloid and Polymer Science, 2009. **287**(1): p. 1-11.
14. Ko, D.Y.; Shinde, U.P.; Yeon, B. y Jeong, B., *Recent progress of in situ formed gels for biomedical applications*. Progress in Polymer Science, 2013. **38**(3-4): p. 672-701.
15. Hu, S.H.; Liu, T.Y.; Liu, D.M. y Chen, S.Y., *Controlled pulsatile drug release from a ferrogel by a high-frequency magnetic field*. Macromolecules, 2007. **40**(19): p. 6786-6788.
16. Buenger, D.; Topuz, F. y Groll, J., *Hydrogels in sensing applications*. Progress in Polymer Science, 2012. **37**(12): p. 1678-1719.
17. Hoffman, A.S., *Hydrogels for biomedical applications*. Advanced Drug Delivery Reviews, 2002. **54**(1): p. 3-12.
18. Gonzalez, J.S.; Hoppe, C.E. y Alvarez, V.A., *Poly (Vinyl Alcohol) Ferrogels: Synthesis And Applications in Advances in Materials Science Research: (8)*. Editor: Maryann C. Wythers. Nova Science Publishers, Inc. 2012
19. Zrínyi, M., *Colloidal particles that make smart polymer composites deform and rotate*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2011. **382**(1-3): p. 192-197.
20. Filipcsei, G.; Csetneki, I.; Szilágyi, A. y Zrínyi, M., *Magnetic Field-Responsive Smart Polymer Composites*, in *Oligomers - Polymer Composites - Molecular Imprinting*. 2007, Springer Berlin Heidelberg. p. 137-189.
21. Liu, T.Y.; Hu, S.H.; Liu, D.M. y Chen, S.Y., *Magnetic-sensitive behavior of intelligent ferrogels for controlled release of drug*. Langmuir, 2006. **22**(14): p. 5974-5978.
22. Kumar, C.S.S.R. y Mohammad, F., *Magnetic nanomaterials for hyperthermia-based therapy and controlled drug delivery*. Advanced Drug Delivery Reviews, 2011. **63**(9): p. 789-808.
23. Knecht, L.D.; Ali, N.; Wei, Y.; Hilt, J.Z. y Daunert, S., *Nanoparticle-Mediated Remote Control of Enzymatic Activity*. ACS Nano, 2012. **6**(10): p. 9079-9086.
24. Pineiro-Redondo, Y.; Banobre-Lopez, M.; Pardinás-Blanco, I. y col., *The influence of colloidal parameters on the specific power absorption of PAA-coated magnetite nanoparticles*. Nanoscale Research Letters, 2011. **6**(1): p. 383.
25. Bedanta, S. y Kleemann, W., *Supermagnetism*. Journal of Physics D: Applied Physics, 2009. **42**(1): p. 013001.
26. Rosensweig, R., *Heating magnetic fluid with alternating magnetic field*. J Magn Magn Mater, 2002. **252**: p. 370.

27. Daniel-da-Silva, A.L.; Trindade, T.; Goodfellow, B.J.; Costa, B.F.O.; Correia, R.N. y Gil, A.M., *In situ synthesis of magnetite nanoparticles in carrageenan gels*. *Biomacromolecules*, 2007. **8**(8): p. 2350-2357.
28. Huang, L.Y. y Yang, M.C., *Behaviors of controlled drug release of magnetic-gelatin hydrogel coated stainless steel for drug-eluting-stents application*. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 2007. **310**(2-3): p. 2874-2876.
29. Tartaj, P.; Morales, M.P.; González-Carreño, T. y col., *Advances in magnetic nanoparticles for biotechnology applications*. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 2005. **290-291 PART 1**: p. 28-34.
30. Kokabi, M.; Sirousazar, M. y Hassan, Z.M., *PVA-clay nanocomposite hydrogels for wound dressing*. *European Polymer Journal*, 2007. **43**(3): p. 773-781.
31. Miyata, T.; Uragami, T. y Nakamae, K., *Biomolecule-sensitive hydrogels*. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2002. **54**(1): p. 79-98.
32. Schulze, K.; Koch, A.; Schöpf, B.; Petri, A.; Steitz, B y col., *Intraarticular application of superparamagnetic nanoparticles and their uptake by synovial membrane - An experimental study in sheep*. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 2005. **293**(1): p. 419-432.
33. Nayar, S.; Mir, A.; Ashok, A.; Guha, A. y Sharma, V., *Bovine Serum Albumin Binding and Drug Delivery Studies with PVA-Ferrofluid*. *Journal of Bionic Engineering*, 2010. **7**(1): p. 29-34.
34. Hassan, C. y Peppas, N., *Structure and Applications of Poly(vinyl alcohol) Hydrogels Produced by Conventional Crosslinking or by Freezing/Thawing Methods*, in *Biopolymers · PVA Hydrogels, Anionic Polymerisation Nanocomposites*. 2000, Springer Berlin Heidelberg. p. 37-65.
35. Reséndiz-Hernández, P.J.; Rodríguez-Fernández, O.S. y García-Cerda, L.A., *Synthesis of poly(vinyl alcohol)-magnetite ferrogel obtained by freezing-thawing technique*. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 2008. **320**(14): p. e373-e376.
36. Gonzalez, J.; Hoppe, C.; Muraca, D.; Sánchez, F. y Alvarez, V., *Synthesis and characterization of PVA ferrogels obtained through a one-pot freezing-thawing procedure*. *Colloid and Polymer Science*, 2011. **289**(17-18): p. 1839-1846.
37. Mendoza Zélis, P.; Muraca, D.; Gonzalez, J.S.; Pasquevich, G.A.; Alvarez, V.A.; Pirota, K.R. y Sánchez, F.H., *Magnetic properties study of iron-oxide nanoparticles/PVA ferrogels with potential biomedical applications*. *Journal of Nanoparticle Research*, 2013. **15**(5): p. 1-12.
38. Feldgitscher, C.; Peterlik, H.; Puchberger, M. y Kickelbick, G., *Structural Investigations on Hybrid Polymers Suitable as a Nanoparticle Precipitation Environment*. *Chemistry of Materials*, 2009. **21**(4): p. 695-705.
39. Reddy, N.N.; Varaprasad, K.; Ravindra, S.; y col., *Evaluation of blood compatibility and drug release studies of gelatin based magnetic hydrogel nanocomposites*. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2011. **385**(1-3): p. 20-27.
40. Hernández, R. y Mijangos, C., *In situ Synthesis of Magnetic Iron Oxide Nanoparticles in Thermally Responsive Alginate-Poly(N-isopropylacrylamide) Semi-Interpenetrating Polymer Networks*. *Macromolecular Rapid Communications*, 2009. **30**(3): p. 176-181.
41. Caykara, T.; Yörük, D. y Demirci, S., *Preparation and characterization of poly(N-tert-butylacrylamide-co-acrylamide) ferrogel*. *Journal of Applied Polymer Science*, 2009. **112**(2): p. 800-804.
42. Zhou, L.; He, B. y Zhang, F., *Facile One-Pot Synthesis of Iron Oxide Nanoparticles Cross-linked Magnetic Poly(vinyl alcohol) Gel Beads for Drug Delivery*. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2011. **4**(1): p. 192-199.
43. Matsuyama, H.; Teramoto, M. y Urano, H., *Analysis of solute diffusion in poly(vinyl alcohol) hydrogel membrane*. *Journal of Membrane Science*, 1997. **126**(1): p. 151-160.
44. Peppas, N.A. y Merrill, E.W., *Differential scanning calorimetry of crystallized PVA hydrogels*. *Journal of Applied Polymer Science*, 1976. **20**(6): p. 1457-1465.
45. Albornoz, C.; Sileo, E.E. y Jacobo, S.E., *Magnetic polymers of maghemite (γ -Fe₂O₃) and polyvinyl alcohol*. *Physica B: Condensed Matter*, 2004. **354**(1-4): p. 149-153.
46. Ricciardi, R.; Auriemma, F.; Gaillet, C.; De Rosa, C. y Lauprêtre, F., *Investigation of the crystallinity of freeze/thaw poly(vinyl alcohol) hydrogels by different techniques*. *Macromolecules*, 2004. **37**(25): p. 9510-9516.
47. Gupta, S.; Pramanik, A.K.; Kailath, A.; Mishra, T.; Guha, A.; Nayar, S. y Sinha, A., *Composition dependent structural modulations in transparent poly(vinyl alcohol) hydrogels*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2009. **74**(1): p. 186-190.
48. 19-0629 JCPDS- standard card for magnetite.
49. Cullity, B.D., *Elements of X Ray Diffraction*. 2011: BiblioBazaar.
50. Vandenberghe, R.E.; Barrero, C.A.; da Costa, G.M.; Van San, E. y De Grave, E., *Mössbauer characterization of iron oxides and (oxy)hydroxides: the present state of the art*. *Hyperfine Interactions*, 2000. **126**(1-4): p. 247-259.
51. Zboril, R.; Mashlan, M. y Petridis, D., *Iron(III) Oxides from Thermal Processes Synthesis, Structural and Magnetic Properties, Mössbauer Spectroscopy Characterization, and Applications*†. *Chemistry of Materials*, 2002. **14**(3): p. 969-982.

52. Paradossi, G.; Cavalieri, F.; Chiessi, E.; Spagnoli, C. y Cowman, M., *Poly(vinyl alcohol) as versatile biomaterial for potential biomedical applications*. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 2003. **14**(8): p. 687-691.
53. Micha, J.S.; Dieny, B.; Régnard, J.R.; Jacquot, J.F. y Sort, J., *Estimation of the Co nanoparticles size by magnetic measurements in Co/SiO₂ discontinuous multilayers*. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2004. **272-276**: p. e967-e968.
54. Knobel, M.; Nunes, W.C.; Socolovsky, L.M.; De Biasi, E.; Vargas, J.M. y Denardin, J.C., *Superparamagnetism and Other Magnetic Features in Granular Materials: A Review on Ideal and Real Systems*. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2008. **8**(6): p. 2836-2857.
55. Hoppe, C.E.; Rivadulla, F. y col., *Effect of Submicrometer Clustering on the Magnetic Properties of Free-Standing Superparamagnetic Nanocomposites*. The Journal of Physical Chemistry C, 2008. **112**(34): p. 13099-13104.
56. Serantes, D.; Baldomir, D.; Pereiro, M. y col., *Magnetocaloric Effect in Magnetic Nanoparticle Systems: How to Choose the Best Magnetic Material?* Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2010. **10**(4): p. 2512-2517.
57. Lima, E.; De Biasi, E.; Mansilla, M.V.; y col., *Surface effects in the magnetic properties of crystalline 3 nm ferrite nanoparticles chemically synthesized*. Journal of Applied Physics, 2010. **108**(10): p. 103919-103919-10.
58. Laurent, S.; Forge, D.; Port, M.; Roch, A.; Robic, C.; Vander Elst, L. y Muller, R.N., *Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Vectorization, Physicochemical Characterizations, and Biological Applications*. Chemical Reviews, 2008. **108**(6): p. 2064-2110.
59. Wu, J.-H.; Ko, S.P.; Liu, H.-L.; Kim, S.; Ju, J.-S. y Kim, Y.K., *Sub 5 nm magnetite nanoparticles: Synthesis, microstructure, and magnetic properties*. Materials Letters, 2007. **61**(14-15): p. 3124-3129.
60. Goya, G.F.; Berquo, T.S.; Fonseca, F.C. y Morales, M.P., *Static and dynamic magnetic properties of spherical magnetite nanoparticles*. Journal of Applied Physics, 2003. **94**(5): p. 3520-3528.
61. Yap, H.P.; Quinn, J.F.; Nug, S.M.; Cho, J. y Caruso, F., *Colloid Surface Engineering via Deposition of Multilayered Thin Films from Polyelectrolyte Blend Solutions*. Langmuir, 2005. **21**(10): p. 4328-4333.
62. Goiti, E.; Salinas, M.M.; Arias, G.; Puglia, D.; Kenny, J.M. y Mijangos, C., *Effect of magnetic nanoparticles on the thermal properties of some hydrogels*. Polymer Degradation and Stability, 2007. **92**(12): p. 2198-2205.
63. Mc Gann, M.J.; Higginbotham, C.L.; Geever, L.M. y Nugent, M.J.D., *The synthesis of novel pH-sensitive poly(vinyl alcohol) composite hydrogels using a freeze/thaw process for biomedical applications*. International Journal of Pharmaceutics, 2009. **372**(1-2): p. 154-161.
64. Willcox, P.J.; Howie Jr, D.W. y col., *Microstructure of poly(vinyl alcohol) hydrogels produced by freeze/thaw cycling*. Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics, 1999. **37**(24): p. 3438-3454.
65. Sinclair, G.W. y Peppas, N.A., *Analysis of non-fickian transport in polymers using simplified exponential expressions*. Journal of Membrane Science, 1984. **17**(3): p. 329-331.
66. Ohmine, I. y Tanaka, T., *Salt effects on the phase transition of ionic gels*. The Journal of Chemical Physics, 1982. **77**(11): p. 5725-5729.
67. Lu, Y.; Wang, D.; Li, T.; Zhao, X.; Cao, Y.; Yang, H. y Duan, Y.Y., *Poly(vinyl alcohol)/poly(acrylic acid) hydrogel coatings for improving electrode-neural tissue interface*. Biomaterials, 2009. **30**(25): p. 4143-4151.
68. Beaucage, G.; Kammler, H.K. y Pratsinis, S.E., *Particle size distributions from small-angle scattering using global scattering functions*. Journal of Applied Crystallography, 2004. **37**(4): p. 523-535.
69. Teixeira, A.V.; Morfin, I.; Ehrburger-Dolle, F.; Rochas, C.; Geissler, E.; Licinio, P. y Panine, P., *Scattering from dilute ferrofluid suspensions in soft polymer gels*. Physical Review E, 2003. **67**(2): p. 021504.
70. Guinier, A.; Fournet, G.; Walker, C. y Vineyard, G.H., *Small-Angle Scattering of X-Rays*. Physics Today, 1956. **9**: p. 38.
71. Hernández, R.; Sacristán, J.; Nogales, A.; Fernández, M.; Ezquerro, T.A. y Mijangos, C., *Structure and viscoelastic properties of hybrid ferrogels with iron oxide nanoparticles synthesized in situ*. Soft Matter, 2010. **6**(16): p. 3910-3917.
72. Xu, Y.-Y.; Zhou, M.; Geng, H.-J.; Hao, J.-J.; Ou, Q.-Q.; Qi, S.-D.; Chen, H.-L. y Chen, X.-G., *A simplified method for synthesis of Fe₃O₄@PAA nanoparticles and its application for the removal of basic dyes*. Applied Surface Science, 2012. **258**(8): p. 3897-3902.
73. O'handley, R.C., *Modern magnetic materials: principles and applications*. Vol. 830622677. 2000: Wiley New York.
74. Moscoso-Londoño, O.; Gonzalez, J.S.; Muraca, D.; Hoppe, C.E.; Alvarez, V.A.; López-Quintela, A.; Socolovsky, L.M. y Pirota, K.R., *Structural and magnetic behavior of ferrogels obtained by freezing thawing of polyvinyl alcohol/poly(acrylic acid) (PAA)-coated iron oxide nanoparticles*. European Polymer Journal, 2013. **49**(2): p. 279-289.
75. Gonzalez, J.S. y Alvarez, V.A., *The effect of the annealing on the poly(vinyl alcohol) obtained by freezing-thawing*. Thermochimica Acta, 2011. **521**(1-2): p. 184-190.
76. Allia, P.; Coisson, M.; Tiberto, P.; Vinai, F.; Knobel, M.; Novak, M.A. y Nunes, W.C., *Granular Cu-Co alloys as interacting superparamagnets*. Physical Review B, 2001. **64**(14): p. 144420.

Capítulo IV

HIDROGELES NANOCOMPUESTOS PARA VENDAJE DE HERIDAS



Resumen

Los hidrogeles proveen de un ambiente propicio para la curación de heridas, ya que pueden absorber los excesos de exudados en las mismas, además de protegerlas de infecciones secundarias y promover el proceso de cicatrización. Los hidrogeles de polivinilalcohol, debido a su capacidad de absorber gran cantidad de agua, biocompatibilidad y falta de toxicidad son indicados para ser utilizados como vendajes para heridas. Sin embargo, las propiedades mecánicas y de barrera de estos hidrogeles no son adecuadas para esta aplicación. Una estrategia para solucionar esta desventaja es la formación de nanocompuestos debido a que muestran mejoras considerables por la presencia de una elevada área de interacción entre la matriz y el refuerzo. En las últimas décadas ha habido mucho interés el uso de refuerzos naturales, como las fibras de celulosa y las arcillas, en el campo de los biomateriales por sus buenas propiedades de biocompatibilidad y capacidad de mejorar las propiedades mecánicas de las matrices poliméricas. El objetivo de esta parte de la tesis es mejorar las propiedades necesarias para el uso de los hidrogeles de PVA como vendajes mediante el agregado de nanocelulosa (NC) y bentonita (B). Los hidrogeles compuestos obtenidos se caracterizaron morfológica, térmica y físicamente, adicionalmente se evaluaron las propiedades específicas para esta aplicación: de barrera y mecánicas. En los hidrogeles de PVA se encontró que la cantidad del refuerzo adicionado es clave en la obtención de materiales compuestos con propiedades útiles para vendajes. Los mejores resultados se encontraron con el agregado de concentraciones muy bajas del refuerzo; 3% p/p de B y 3 % p/p de NC.

Palabras claves: hidrogel compuesto, nanocelulosa, bentonita, vendaje, polivinilalcohol.

IV.1. INTRODUCCIÓN

Se han realizado numerosos esfuerzos para desarrollar nuevos materiales que protejan las heridas en la piel de infecciones y deshidratación [1]. Los vendajes comúnmente utilizados requieren ser cambiados frecuentemente, lo que produce dolor e incomodidad al paciente además de lastimar la piel subyacente que está vulnerable e incrementar el riesgo de una contaminación secundaria [2-3].

Un vendaje o apósito ideal debe cumplir ciertos requerimientos [1, 4-5]:

- crear y mantener un ambiente húmedo (para promocionar la migración de agentes de la cicatrización),
- ser biocompatible,
- absorber fluidos y exudados efectivamente,
- permitir una alta permeación de gas,
- tener alta elasticidad y propiedades mecánicas adecuadas,
- ser transparente,
- actuar como una barrera microbiana y
- asegurar la protección de la herida de infecciones y deshidratación.

Los hidrogeles proveen de un ambiente propicio para la curación de heridas, ya que pueden absorber los excesos de exudados en las mismas, además de protegerlas de infecciones secundarias y promover el proceso de cicatrización [6]. Los hidrogeles de polivinilalcohol (PVA), con su gran contenido de agua, alta biocompatibilidad, falta de toxicidad y buenas propiedades mecánicas, han recibido una creciente atención y han sido usados en una amplia variedad de aplicaciones biomédicas [7].

Se sabe que los nanocompuestos de matriz polimérica reforzados con arcilla muestran mejoras considerables en las propiedades mecánicas, resistencia al calor y permeabilidad a los gases, con respecto a los micro o macrocompuestos convencionales. Esto se debe a una elevada área de contacto entre la matriz y el refuerzo [8].

Las nanoarcillas son aluminosilicatos en capas con espesores del orden de un nanómetro (10^9 m) que tienen la capacidad de exfoliarse. El ancho y el largo de las plateletas pueden tener dimensiones más grandes (de 100 a 1000 nanómetros). Por esta razón, se afirma que las arcillas tienen una elevada relación de aspecto (longitud / espesor) y que, de esta manera, el contacto con los polímeros tiene lugar a través de áreas superficiales muy altas [9]. Los elementos de refuerzo macroscópicos, por lo general, contienen imperfecciones. La perfección estructural se alcanza a medida que estos elementos se vuelven de menor tamaño y ésta parece ser la clave del comportamiento sinérgico de los compuestos con nano-refuerzos inorgánicos [10]. Una de las arcillas más utilizadas para formar nanocompuestos es la montmorillonita (MMT), un tipo de MMT que se encuentra en la Argentina es la bentonita. Estas pertenecen a la familia estructural conocida como filosilicatos 2:1 cuya estructura se muestra en la **Figura IV.1**. Su red cristalina consiste en plateletas bidimensionales donde una capa octaédrica central de alúmina o magnesio está unida a dos tetraedros externos de sílice de tal manera que los iones oxígeno de la capa octaédrica también pertenecen a las capas tetraédricas [11]. Estas plateletas están apiladas, unidas por fuerzas de Van der Waals, formando estratos con un espaciado regular llamado distancia interlamina, galería o espaciamiento basal (d_{001}).

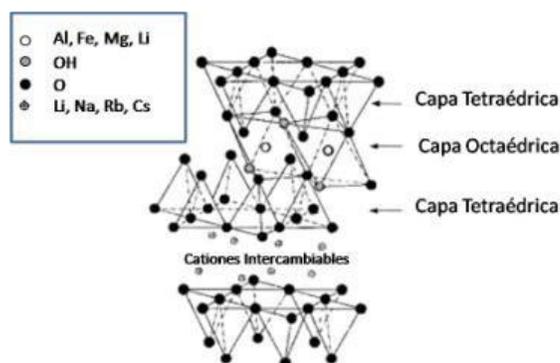


Figura IV.1. Estructura de filossilicatos 2:1

Se sabe que es posible mejorar las propiedades de los polímeros con la adición de pequeñas cantidades de MMT [8, 12-13]. Por ejemplo, en films de PVA/MMT obtenidos por casting, se han encontrado propiedades mecánicas, térmicas y de transmisión de vapor superiores a las de la matriz sola y a las de los compuestos tradicionales (macro y micro) [14]. También en el caso de hidrogeles de poli (N-isopropilacrilamida) se obtuvieron mejoras en el comportamiento mecánico y en el hinchamiento con el agregado de MMT [15-17]. En hidrogeles de PVA se encontró que la cantidad de arcilla adicionada es la clave en la obtención de compuestos con propiedades útiles para vendajes [5].

Debido a las preocupaciones ambientales actuales, en las últimas décadas, se ha puesto atención en el uso de fibras naturales para preparar materiales compuestos de matriz polimérica. La celulosa y sus derivados han sido utilizados en industrias textiles, papeleras y, en especial, el campo de los biomateriales por su buena biocompatibilidad y por poseer propiedades mecánicas similares a los tejidos duro y blando, además se puede procesar fácilmente [18]. La celulosa es uno de los polímeros más antiguos y abundantes en la naturaleza, es biodegradable, renovable y biocompatible [19]. Es el principal polisacárido de las paredes celulares de las plantas. La estructura de la celulosa se muestra en la **Figura IV.2**.

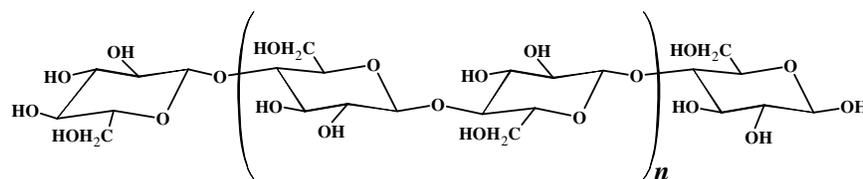


Figura IV.2. Estructura de la celulosa.

Las fibras de celulosa consisten en microestructuras jerárquicas, que contienen a su vez fibras nanométricas. Estas fibrillas nanométricas están compuestas por una parte amorfa y una cristalina, la región cristalina es la llamada “nanocelulosa” [20]. Las cadenas de celulosa son estables lateralmente debido a puentes de hidrógeno existentes entre los grupos hidroxilo, por lo que poseen una resistencia y rigidez estructural altas. Las nanofibras de celulosa son biocompatibles, hidrofílicas y, debido a su gran área superficial y a su estructura química, se espera que generen interacciones muy fuertes (puentes de hidrógeno) con la matriz de PVA [21-24].

Por todo lo anteriormente descrito, el objetivo de esta parte de la tesis es mejorar las propiedades específicas necesarias para el uso de los hidrogeles de PVA como vendajes mediante el agregado de nanocelulosa y bentonita. Se obtuvieron hidrogeles compuestos con bentonita y nanocelulosa en concentraciones de 1, 3, 5 y 7 % p/p (respecto del polímero). Los hidrogeles compuestos obtenidos se caracterizaron morfológica (utilizando SEM y DRX), térmica (mediante DSC y TGA) y físicamente (determinando el grado de hinchamiento y la fracción de gel) y evaluando las propiedades específicas para la aplicación deseada: de barrera (transmisión de vapor de agua), mecánicas (módulo elástico, resistencia máxima y elongación a la rotura en tracción) y penetración antimicrobiana (frente a *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. aureus*).

IV.2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

IV.2.1. Preparación de los hidrogeles de PVA solo y reforzados con arcilla o nanocelulosa.

Los hidrogeles se prepararon utilizando soluciones de PVA (10% p/v), peso molecular 93.500 g/mol, grado de hidrólisis de 99%, provisto por Sigma-Aldrich, en agua destilada a 85 °C bajo agitación constante, luego de 1 hora en estas condiciones, se agregó la cantidad necesaria de refuerzo (bentonita o nanocelulosa) y se mantuvieron a 85 °C bajo agitación constante durante 3 horas más hasta disolver completamente el polímero. Luego se llevaron a un baño de ultrasonido por 30 minutos para eliminar todas las burbujas. Una vez que las soluciones se encontraban a temperatura ambiente, se colocaron en moldes antiadherentes, y se llevaron al freezer (-18 °C) durante 1 hora, luego se dejaron a temperatura ambiente (25 °C) por 1 hora y estos ciclos de congelamiento-descongelamiento se realizaron 3 veces, obteniéndose así los criogeles compuestos. También se obtuvo un hidrogel sin el agregado de refuerzos, llamado PVA.

IV.2.1.1. Preparación de los Hidrogeles compuestos de PVA/Bentonita (Figura IV.3).

Para obtener estos compuestos primero se secó la bentonita (Minarmco S.A., Neuquén, Argentina) durante 24 horas a 90 °C. Luego se pesaron las cantidades correspondientes según las relaciones arcilla/polímero que se quieren estudiar (1, 3, 5, 7 % p/p), se dejaron 24 h con agua hasta hinchar la arcilla por completo [25] y luego se agregaron a la solución de PVA. Los geles se prepararon como se describió anteriormente, obteniéndose los hidrogeles compuestos: 1B, 3B, 5B y 7B.

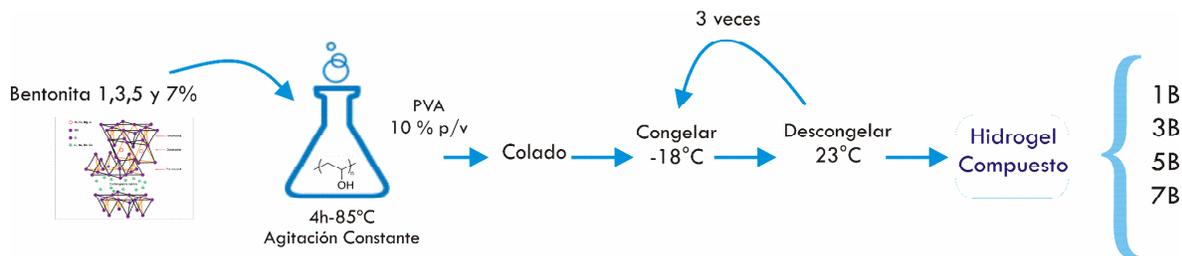


Figura IV.3. Esquema del proceso de obtención de los geles compuestos con bentonita

IV.2.1.2. Preparación de los Hidrogeles compuestos PVA/nanocelulosa (Figuras IV.4 y VI.5)

IV.2.1.2.1. Nanocelulosa. La nanocelulosa utilizada se obtuvo por hidrólisis ácida de celulosa microcristalina (Sigma-Aldrich). Para ello, se preparó una solución acuosa de 64 % p/p de H₂SO₄ y se agregó la microcelulosa

hasta obtener una relación de 1g celulosa/8,75ml de solución en un reactor a 40 °C con agitación constante durante 30 minutos. Esta solución se diluyó posteriormente en agua destilada (10:1) y se colocó en bolsas de diálisis. La diálisis fue realizada durante 5 días (con renovación de agua) hasta obtener un pH de 7 en la solución de diálisis (lo que indica que se ha reemplazado toda la solución ácida por agua). Luego, la solución de nanocelulosa en agua se llevó a un secador por spray (Mini Spray Dryer B-290 de Buchi). La nanocelulosa obtenida se caracterizó por termogravimetría, difracción de rayos X, FTIR y microscopía de fuerza atómica.

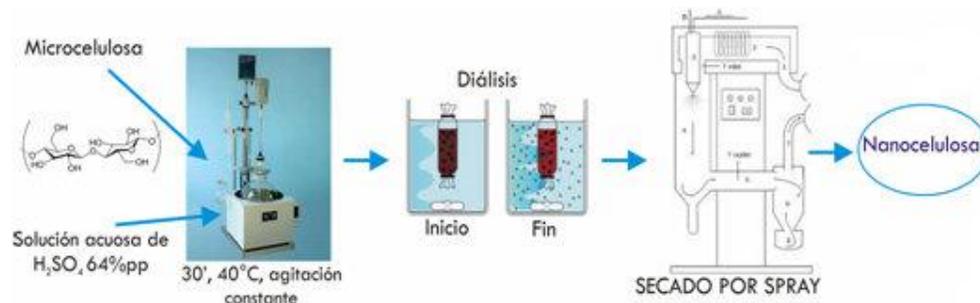


Figura IV.4. Esquema del proceso de obtención de la nanocelulosa.

IV.2.1.2.2. Hidrogeles PVA/nanocelulosa. Se pesaron las cantidades correspondientes de nanocelulosa según las relaciones nanocelulosa/polímero que se deseaba estudiar (1, 3, 5, 7 % p/p) y luego se agregaron a la solución de PVA como se describió anteriormente, obteniéndose los geles compuestos: 1NC, 3NC, 5NC y 7NC.

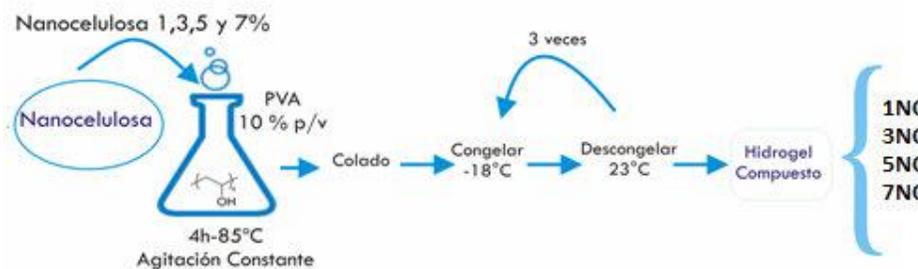


Figura IV.5. Esquema del proceso de obtención de los geles compuestos con nanocelulosa.

IV.2.2. Métodos.

En todos los casos los ensayos se hicieron por triplicado y se utilizó una distribución T-Student para determinar las desviaciones.

IV.2.2.1 Métodos de Caracterización Morfológica, Física, Química y Térmica.

IV.2.2.1.1. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y Microscopía Electrónica de Barrido por Emisión de Campo (FESEM). Se obtuvieron micrografías para analizar la estructura del hidrogel en un equipo JEOL JSM-6460 LV (SEM) y en un equipo FESEM Zeiss ULTRA plus instrument. Los hidrogeles fueron previamente hinchados en agua destilada, liofilizados y criofracturados en aire líquido y luego recubiertos con oro.

IV.2.2.1.2. Microscopía de Fuerza Atómica (AFM). La morfología de la nanocelulosa se observó en un microscopio 5500 Scanning Probe Microscopy de Agilent Technologies en aire, operado en modo contacto. Antes de la observación se dispersaron 5 mg de nanocelulosa en 250 ml de agua destilada en un baño de

ultrasonido a temperatura ambiente por 30 minutos. De esta solución, una gota se dispersó en un disco de mica para AFM (Ted Pella, 10 mm de diámetro) y se secó en estufa de vacío por 1 hora a 70 °C.

IV.2.2.1.3. Calorimetría Diferencial De Barrido (DSC). Los ensayos se realizaron en un calorímetro Shimadzu DSC-50. Las muestras se calentaron en atmósfera de nitrógeno desde temperatura ambiente hasta 37 °C a 10 °C/min y se mantuvieron durante 15 minutos a esa temperatura, luego se calentaron hasta 260 °C a la misma velocidad de calentamiento. Se determinó la temperatura de fusión (T_f) y se calculó el porcentaje de cristalinidad ($X_c\%$) según:

$$X_{cr}\% = \frac{\Delta H}{w_{PVA} \times \Delta H^o} \times 100 \quad (1)$$

Donde ΔH es el calor de fusión medido entre 190 y 240 °C, ΔH^o es el calor de fusión del material 100% cristalino (138,6 J/g) y w_{ma} es la fracción másica del polímero en el gel compuesto [26].

IV.2.2.1.4. Ensayos Termogravimétricos (TGA). Los ensayos se realizaron en un equipo Shimadzu TGA-DTGA50, desde temperatura ambiente hasta 900 °C a 10 °C/min en atmósfera de aire. Las muestras se secaron a 37 °C durante 48 horas antes de ser analizadas. Se determinó la temperatura de degradación (T_d) de los geles compuestos y el contenido de arcilla ($I\%$) reportada como el porcentaje masa residual inorgánica a 900 °C.

IV.2.2.1.5. Difracción de Rayos X (DRX). Los ensayos se realizaron utilizando un equipo Analytical Expert Instrument ($K\alpha\text{-Cu}=1.54 \text{ \AA}$) desde $2\theta = 3^\circ$ a 60° a $2^\circ/\text{minutos}$ a temperatura ambiente. La tensión del generador fue de 40 kV y la corriente de 40 mA.

IV.2.2.1.6. Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR). Se obtuvieron espectros FTIR de la microcelulosa y de la nanocelulosa en modo de transmisión. Para ello se prepararon pastillas de KBr y se analizaron en el espectrómetro Thermo Scientific Nicolet 6700 con una resolución de 4 cm^{-1} realizando 32 barridos a cada muestra, desde 4000 a 400 cm^{-1} . Se obtuvieron espectros FTIR de los hidrogeles con el accesorio de reflexión total atenuada y se analizaron en el espectrómetro Perkin Elmer Spectrum 100 con una resolución de 4 cm^{-1} realizando 32 barridos de cada muestra, desde 4000 a 600 cm^{-1} .

IV.2.2.2. Métodos de Evaluación de la Capacidad de Hinchamiento.

IV.2.2.2.1. Determinación de la Fracción de Gel (FG%). La fracción de gel se determinó pesando una muestra previamente secada en estufa a 37 °C durante 48 horas (M) y sumergiéndola en agua destilada por 4 días, luego se volvió a secar a 37 °C hasta peso constante (M) y se determinó la fracción de gel, como:

$$FG\% = \frac{M_f - M_r}{M_i - M_r} \times 100 \quad (2)$$

donde M es la masa del refuerzo (bentonita o nanocelulosa).

IV.2.2.2.2. Determinación del Grado de Hinchamiento. Se estudió el hinchamiento de los hidrogeles sumergiendo las muestras en agua destilada a 23 °C. Las muestras fueron pesadas antes de comenzar el ensayo (M). Las muestras fueron extraídas del agua a diferentes tiempos, secadas cuidadosamente en la superficie con papel absorbente y pesadas (M). Este procedimiento fue repetido hasta que la muestra alcanzó un peso constante (M_s). El porcentaje de hinchamiento a cada tiempo se calculó como:

$$M_t\% = \frac{M_t - M_i}{M_i} \times 100 \quad (3)$$

IV.2.2.3. Permeabilidad al Vapor de Agua (WVTR). Estos análisis se realizaron según normas farmacopeas europeas [5]. Se cortaron discos de hidrogel de $28 \text{ mm} \pm 2 \text{ mm}$ de diámetro y espesor de $0,16 \text{ mm} \pm 0,04 \text{ mm}$. Cada disco se colocó en la parte superior de un recipiente que contenía 20 ml de agua destilada, se selló el recipiente utilizando pegamento de cianocrilato (**Figura IV.6**). Luego los recipientes fueron pesados y colocados a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ en una cámara con humedad constante con 75% HR acondicionada para tal fin según la norma ASTM D5032 [27]. Pasadas 72 horas, los recipientes se retiraron de la cámara y se registró el peso de cada uno. Finalmente se despegó cada film y se midió el diámetro promedio dentro de la región interior al pegamento. La pérdida de masa del sistema se puede considerar como un índice de la tasa de transmisión de vapor de agua (*WVTR*). Ésta se calculó con la siguiente ecuación:

$$WVTR \left(\frac{g}{m^2 \times h} \right) = \frac{M_0 - M_1}{72 \times A} \times 10^6 \quad (4)$$

donde A es el área del hidrogel en contacto con el vapor (mm^2), M_0 y M_1 son las masas del sistema (frasco, pegamento, agua e hidrogel) antes y después de colocarlo en la cámara de humedad. Además se calculó \mathfrak{R} que es la tasa de transmisión de vapor independiente del espesor de las muestras:

$$\mathfrak{R} \left(\frac{g \times \text{mm}}{h \times m^2} \right) = WVTR \times e \quad (5)$$

donde e es el espesor de las muestras.



Figura IV.6. Ensayos para la determinación de la *WVTR*

IV.2.2.4. Ensayos de Tracción. Se realizaron ensayos de tracción uniaxial en una máquina de ensayos universales Instron 3369 a temperatura ambiente a una velocidad de travesa de 50 mm/min y utilizando una celda de carga de 100 N. Las muestras se cortaron en tiras de aproximadamente 12 mm de ancho, $0,15 \text{ mm}$ de espesor y 50 mm de largo, se les aplicó un tratamiento térmico (24 horas a $37 \text{ }^\circ\text{C}$) y se dejaron hinchar hasta el equilibrio (M_s). Se obtuvieron los valores de módulo de Young (E), tensión máxima (σ_{max}) y elongación a la rotura (ϵ).

IV.2.2.5. Ensayos de Penetración Microbiana (Figura IV.7). La prueba de penetración bacteriana se realizó para evaluar la resistencia del hidrogel contra la transmisión bacteriana de medio ambiente a la superficie de la herida para ser utilizados como vendajes. Se cortaron muestras de cada hidrogel con un diámetro de 5 cm y un espesor de 3 mm , éstos se lavaron y se esterilizaron en lámpara UV (3 exposiciones de 10 minutos). La muestra esterilizada fue puesta en el agar TSA (Trypteína Soya Agar), en la superficie externa del hidrogel se agregaron $10 \mu\text{L}$ de una suspensión de bacterias (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922, brindadas por el Instituto Malbrán, Buenos Aires, Argentina) con una concentración de 10^8 UFC / ml , a continuación, la muestra se incubó a $30 - 35 \text{ }^\circ\text{C}$ durante

7 días. Se controló diariamente el traspaso de bacterias por el gel mediante la observación de la zona de crecimiento de las bacterias en medio TSA.



Figura IV.7. Ensayo de penetración microbiana (día cero).

IV.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

IV.3.1. Hidrogeles compuestos de PVA/Bentonita.

IV.3.1.1. Aspecto macroscópico.

Se puede observar a simple vista (**Figura IV.8**) que los hidrogeles compuestos que contienen bentonita son transparentes y que a medida que aumenta el contenido de arcilla se registra un cambio de color (las muestras 5B y 7B muestran un leve color amarronado).

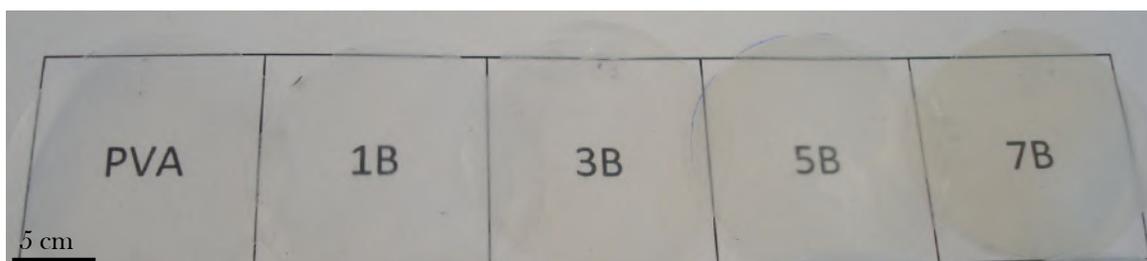


Figura IV.8. Fotografía de los geles compuestos PVA/arcilla y de la matriz (secos durante 24 h a 37 °C).

IV.3.1.2. Propiedades térmicas, físicas y morfológicas de los geles compuestos con bentonita.

En el siguiente gráfico (**Figura IV.9**) se muestra la influencia del agregado de bentonita en las propiedades físicas y estructurales del hidrogel (fracción de gel y cantidad de agua absorbida hasta alcanzar el equilibrio).

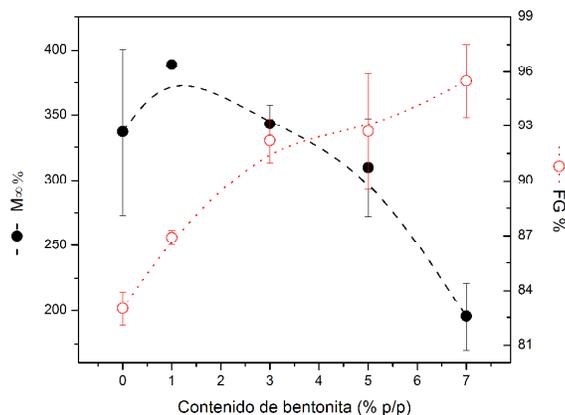


Figura IV.9. Características físicas y estructurales de los hidrogeles compuestos en función del contenido de bentonita.

Se puede ver que el aumento del contenido de refuerzo produce una disminución en la capacidad de absorción de agua junto con un aumento en la fracción de gel, indicando que el refuerzo agregado influye positivamente tanto en el entrecruzamiento de la red como en la estabilidad de la misma [5].

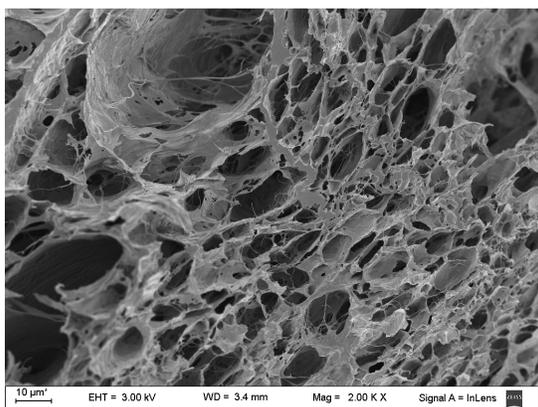
La siguiente tabla (**Tabla IV.1**) resume las propiedades térmicas y físicas de la matriz y los compuestos.

Tabla IV.1. Propiedades térmicas y físicas de los geles compuestos con bentonita

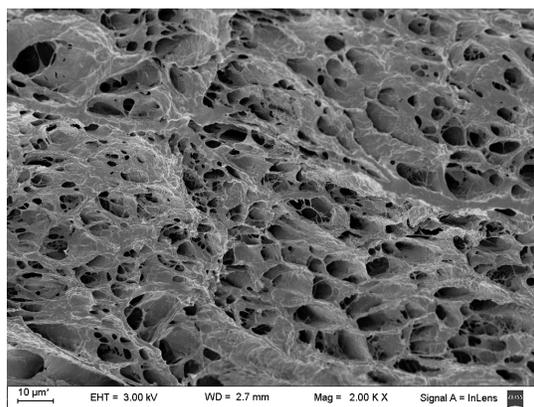
Muestra	T_f °C	X_c %	T_p °C	I %	Díámetro de Poro μm	FG %	M_s %
PVA	228,5	48,6	281,9	0	$8,5 \pm 4,0$	$83,0 \pm 1,0$	$336,9 \pm 6,4$
1B	227,6	51,3	295,2	0,8	$3,2 \pm 1,4$	$86,0 \pm 0,4$	$288,9 \pm 2,5$
3B	227,7	46,9	288,1	2,7	$4,0 \pm 2,2$	$89,4 \pm 1,2$	$242,9 \pm 14,5$
5B	227,6	47,0	294,5	3,8	$4,7 \pm 2,3$	$88,1 \pm 3,2$	$209,7 \pm 37,5$
7B	227,4	43,9	298,5	6,0	-	$88,8 \pm 2,0$	$195,8 \pm 25,4$

Se puede observar que no hay cambios sustanciales en el porcentaje de cristalinidad, ni en la temperatura de fusión, indicando que el agregado de bentonita no tuvo una influencia considerable en la forma de cristalización del material. Se sabe que la forma de entrecruzamiento de los hidrogeles obtenidos por congelamiento-descongelamiento está dada por los cristales, que actúan como puntos de entrecruzamiento del material [28]. Por otra parte, se pudo registrar un cambio tanto en la fracción de gel como en la capacidad de absorción (M_s) de los hidrogeles compuestos con respecto de la matriz. Teniendo en cuenta que tanto la cantidad como el tamaño de los cristales formados en los compuestos es similar a la de la matriz y que si se observaron modificaciones en las propiedades físicas ($FG\%$ y M_s), se puede suponer que la arcilla está actuando como agente de entrecruzamiento debido a las fuertes interacciones por puentes de hidrógeno que puede formar con el PVA [29]. La temperatura de degradación (T_p) del compuesto también aumenta con el agregado del refuerzo, lo que indica una mejora en la estabilidad térmica del material, y que existe una interface muy fuerte entre ambos componentes.

La disminución en la capacidad de absorción de agua se atribuye a que la arcilla promueve la formación de puntos de entrecruzamientos, lo que conduce a una reducción en el tamaño de los poros lo que dificulta el ingreso de las moléculas de agua al material, el tamaño de poro se calculó a partir de las imágenes FESEM obtenidas (**Figura IV.10**).



a)



b)

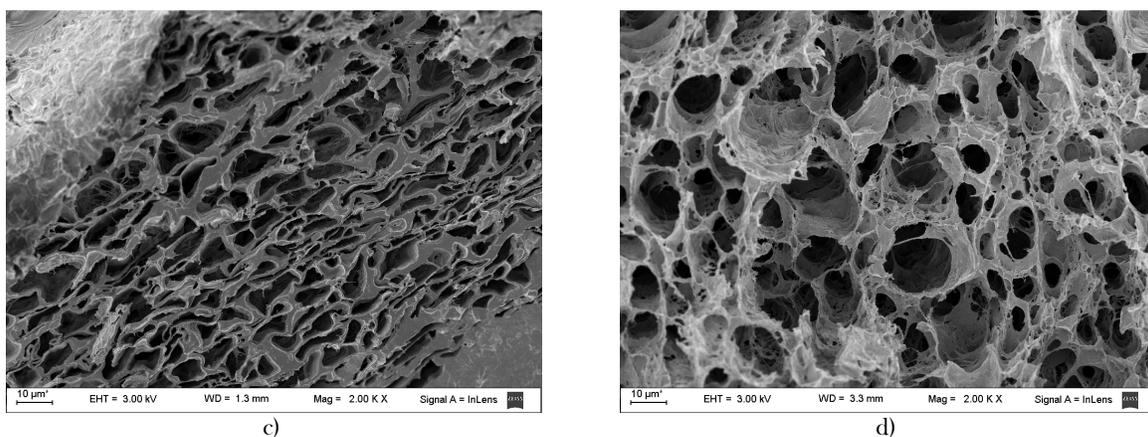


Figura IV.10. Micrografías FESEM de los hidrogeles a) PVA y compuestos de PVA con bentonita b) 1B, c)3B y d) 5B.

En todos los geles compuestos se vió una reducción del 50% del poro con respecto a la matriz, sin embargo no hay una tendencia con el porcentaje de arcilla incorporado. Por otra parte, los puentes de hidrógeno formados entre las cadenas de PVA y la bentonita reducen la movilidad del polímero. Estos resultados indican que las arcillas bien dispersas dentro de la matriz de PVA son capaces de actuar como agentes de entrecruzamiento [28-29].

En la **Figura IV.11** se muestra la derivada de la masa residual en función de la temperatura. Esta curva sirve para analizar la degradación térmica de los diferentes materiales. La degradación del PVA se da en dos pasos, el primero de ellos se debe a las reacciones de eliminación, mientras que el segundo está dominado por los cortes de cadena y las reacciones de ciclación [30-33]. En el caso de los compuestos, el proceso de degradación es similar (en dos etapas); sin embargo, la incorporación de arcillas en la matriz polimérica conlleva a un cambio en los mecanismos de degradación con respecto a la matriz sola. En la primera etapa de degradación tienen lugar la eliminación de agua y grupos acetato residuales que generan agua, polienos no conjugados y ácido acético. La degradación de los nanocompuesto ocurre a temperaturas más altas que el PVA puro, algunas reacciones de corte de cadena también ocurren en la primera etapa de degradación, en donde se producen acetaldehído, acetona y furano. Las reacciones en el segundo paso de la degradación son, en su mayoría, reacciones de corte de cadena [34].

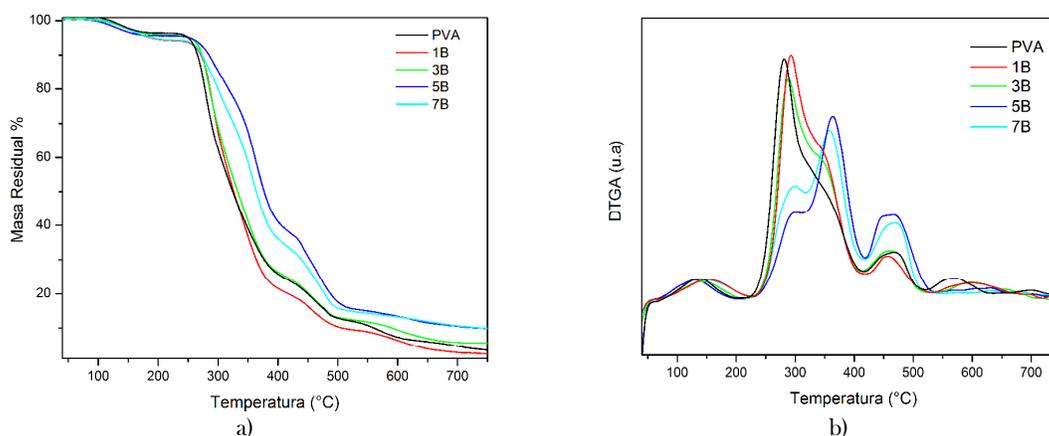


Figura IV.11. Curvas del análisis termogravimétrico de los hidrogeles compuestos de PVA con bentonita: a) Masa residual y b) DTGA, en función de la temperatura.

Se puede ver que bajas cantidades de arcilla (1%) producen un incremento notorio en la T_p del material, al igual que observó en otros materiales [35]. El fenómeno del incremento en la temperatura de degradación del material se puede deber a las restricciones en la movilidad de las cadenas del polímero y a la reducción de la difusión del calor dentro de la matriz polimérica, ambos debidos a las interacciones polímero-refuerzo [36-37]. Generalmente los nanocompuestos de este tipo se describen con modelos de barrera [31, 38-40]. Por lo tanto, las nanoarcillas pueden actuar como una barrera al calor.

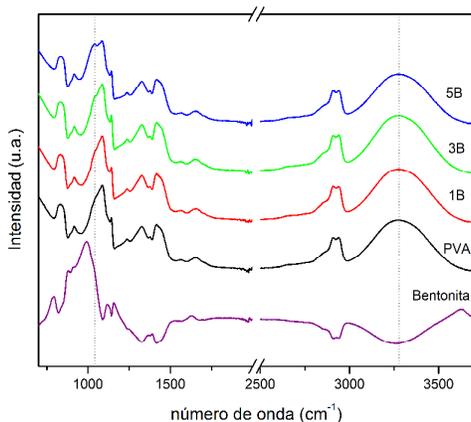


Figura IV.12. Espectros FTIR de la matriz y la arcilla y los compuestos PVA/B.

Con respecto a los espectros FTIR (**Figura IV.12**), el pico correspondiente a los enlaces O-Si de la arcilla sola aparece en 995 cm^{-1} ; en el caso de los geles compuestos aparece un pico en 1040 cm^{-1} , este desplazamiento se puede atribuir a interacción del PVA con la arcilla. También se puede observar el corrimiento del pico correspondiente a las vibraciones de los OH del PVA de 3269 a 3287 cm^{-1} evidenciando también la interacción por puentes de hidrógeno entre ambos compuestos hidrofílicos. Cuando se mezcla una arcilla estratificada con un polímero, dependiendo de la naturaleza de los componentes utilizados (arcilla, catión orgánico y matriz polimérica) y del método de preparación, se pueden obtener tres tipos de compuestos [11]. Los mismos se muestran en las **Figura IV.14 (a-c)**.

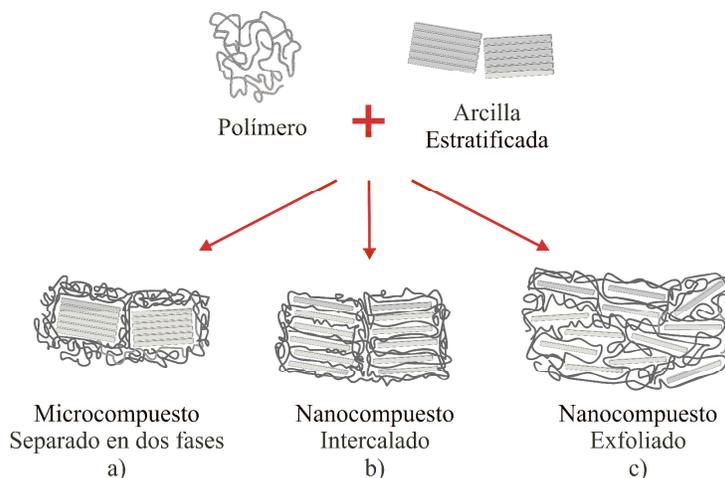


Figura IV.13. Estructuras posibles en mezclas de silicatos estratificados y polímeros: a) microcompuesto; b) nanocompuesto intercalado; c) nanocompuesto exfoliado.

Cuando el polímero no puede ingresar a las galerías entre las capas de silicato se forma un *microcompuesto separado en fases* (**Figura IV.13a**). En este caso las propiedades se mantienen en el rango de los tradicionales microcompuestos. Además de esta familia clásica de compuestos se pueden lograr dos tipos de nanocompuestos. Uno de ellos se caracteriza por una estructura *intercalada* (**Figura IV.13b**) en la cual una o varias cadenas poliméricas extendidas se intercalan entre los estratos de silicato resultando en una morfología construida a partir de plateletas de arcilla y cadenas poliméricas en forma alternada. Cuando las plateletas de arcilla están dispersas completa y uniformemente en una matriz polimérica continua, se obtiene una estructura *delaminada o exfoliada* (**Figura IV.13c**).

Generalmente se utilizan diversas técnicas para caracterizar la morfología de los nanocompuestos, entre ellas, DRX. En los nanocompuestos intercalados la estructura de multiestrato repetitiva está bien preservada, permitiendo la determinación del espaciado interlaminar. La intercalación del polímero produce un incremento de este parámetro con respecto a la arcilla llevando a un corrimiento del pico d_{001} a menores ángulos (2θ).

La **Figura IV.14** muestra los espectros de DRX de los compuestos, en la figura de la derecha se ve una ampliación a bajos ángulos de los mismos espectros.

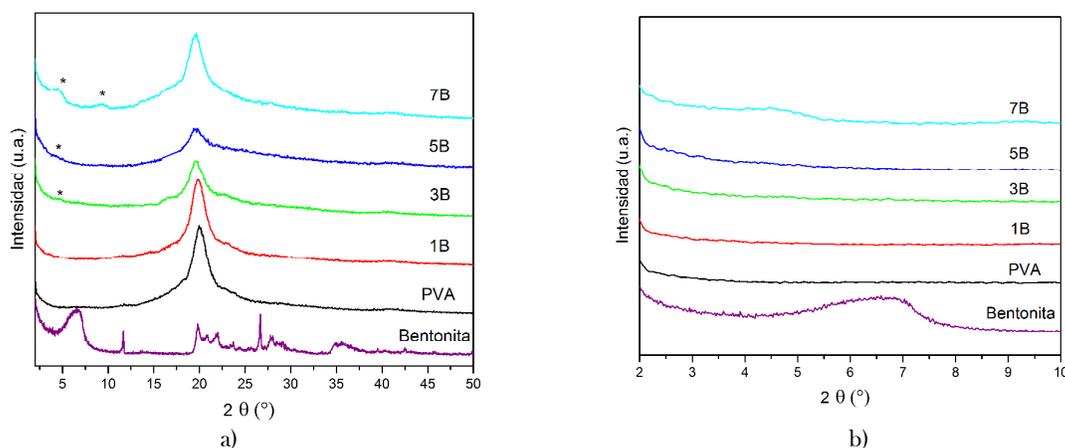


Figura IV.14. Espectros DRX de la matriz, la bentonita y los nanocompuestos. a) espectro completo y b) bajos ángulos.

Para bajos contenidos de arcilla se observa una muy buena dispersión ya que casi no se observan los picos de difracción de la arcilla, mientras que en los casos de 5B y 7B se ven los picos corridos debido al incremento del espaciado interlaminar de la arcilla porque el polímero entra en los espacios interlaminares de la arcilla.

A partir de estos patrones de difracción de Rayos X, es posible determinar el espaciado interlaminar (d_{001}) de una arcilla sola y/o en un material compuesto. La distancia interlaminar se calculó a partir de la posición del pico (001) utilizando la ecuación de Bragg.

$$n \cdot \lambda = 2 \cdot d \cdot \sin \theta \quad (6)$$

donde: n es un número entero; λ es la longitud de onda de los rayos X; d es la distancia entre los planos de la red cristalina de la arcilla; θ es el ángulo entre los rayos incidentes y los planos de dispersión [41]. Los resultados obtenidos para la arcilla sola y los nanocompuestos con diferente contenido de arcilla se muestran en la siguiente tabla (**Tabla IV.2**).

Tabla IV.2. Valores obtenidos aplicando la ley de Bragg a los espectros de DRX.

Muestra	Ángulo 2θ °	d_{001} nm
Bentonita	6,67	1,324
1B	No hay pico	*
3B	2,48	3,558
5B	2,38	3,708
7B	3,21/2,54 (dos picos)	2,749/3,474

Cuando la estructura está exfoliada el pico de difracción desaparece del espectro de Rayos X debido a que el espaciamiento basal es demasiado grande (por ejemplo, superando 8 nm en el caso de estructura exfoliada ordenada) o porque ya no existe más orden en el nanocompuesto. También es posible obtener una estructura intermedia o mixta en los nanocompuestos presentando exfoliación e intercalación a la vez. En este caso se observa un corrimiento hacia menores ángulos y un ensanchamiento del pico de difracción y se debe definir la estructura final mediante técnicas de microscopía tales como microscopía electrónica de transmisión (TEM). Por esta razón, cabe destacar que la desaparición del pico de difracción no asegura la exfoliación completa de las partículas.

Existen dos posibles razones para explicar la buena dispersión de la arcilla en la matriz de PVA. La primera es que el PVA es un polímero soluble en agua (debido a sus grupos OH), la arcilla en escala nanométrica es capaz de estar suspendida en agua, luego, cuando se la mezcla, las láminas de las arcillas son envueltas con las cadenas del polímero y forman una suspensión homogénea [42]. La segunda es que, los enlaces C-OH del PVA pueden asociarse a los grupos OH de la superficie de la arcilla para formar puentes de hidrógeno que pueden prevenir la formación de agregados durante el proceso de separación de fases agua/polímero en los ciclos de congelamiento-descongelamiento [42].

IV.3.1.3. Propiedades Mecánicas de los geles compuestos con bentonita.

Con respecto a los ensayos de tracción, la **Figura IV.15** muestra las curvas típicas tensión-deformación características de este tipo de material, donde se observa un marcado cambio en su comportamiento mecánico relacionado con el contenido de agua.

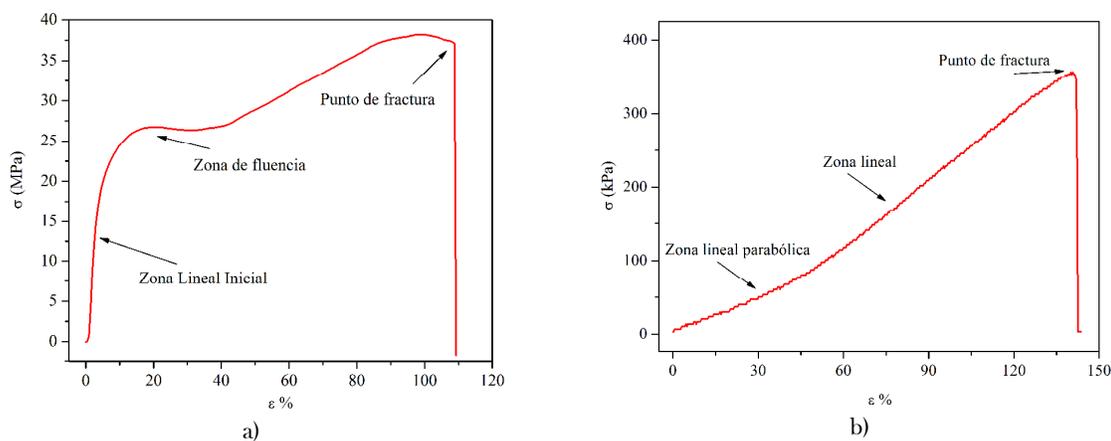


Figura IV.15. Curvas tensión - deformación obtenida en el ensayo de tracción de los geles compuestos: a) secos b) hidratados.

La **Figura IV.15.a)**, que corresponde al material seco (24 h a 37 °C), muestra una región lineal inicial seguida de una zona de fluencia y, finalmente, el punto de ruptura, a diferencia de la **Figura V.15 b)**, correspondiente a un hidrogel hinchado (M_s), donde se encuentra una región parabólica inicial, seguida de una zona lineal y, finalmente, el punto de ruptura.

En la **Figura IV.16** se muestran las curvas típicas obtenidas de los ensayos de tracción de este tipo de materiales que tienen un comportamiento elástico-no lineal, con una región parabólica pequeña. Cabe destacar que estos geles fueron secados o tratados térmicamente y luego hinchados hasta el equilibrio.

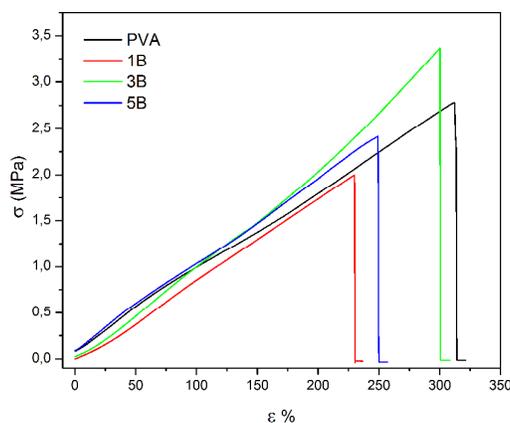


Figura IV.16. Curvas tensión-deformación obtenidas en los ensayos de tracción de los hidrogel compuestos PVA/bentonita.

En la **Tabla IV.3** se resumen las propiedades mecánicas obtenidas de los ensayos de tracción uniaxial de la matriz y los compuestos hinchados hasta el equilibrio.

Tabla IV. 3. Propiedades en tracción y absorción de agua de la matriz y los compuestos con bentonita.

Muestra	E MPa	$\sigma_{m\acute{a}x}$ MPa	ϵ $\%$	M_s $\%$
PVA	$0,8 \pm 0,2$	$2,6 \pm 1,1$	294 ± 10	$336,9 \pm 6,4$
1B	$0,6 \pm 0,1$	$2,1 \pm 0,3$	205 ± 40	$288,9 \pm 2,5$
3B	$0,9 \pm 0,2$	$3,5 \pm 0,5$	309 ± 10	$242,9 \pm 14,5$
5B	$0,8 \pm 0,2$	$2,8 \pm 0,8$	295 ± 82	$209,7 \pm 37,5$
7B	$0,5 \pm 0,1$	$1,7 \pm 0,3$	205 ± 63	$195,8 \pm 25,4$

Hay varios factores a tener en cuenta en los ensayos mecánicos. El primero de ellos es el contenido de agua, porque con mayor cantidad de agua el material se comporta más “elásticamente”; esto ocurre en los materiales analizados, en función del contenido de arcilla, disminuye la absorción de agua. Otro factor que afecta a las propiedades mecánicas de estos materiales es la cristalinidad; como se sabe, un aumento de la misma conduce a un incremento en las propiedades mecánicas [43-44]. Sin embargo, en nuestro caso, la cristalinidad se mantiene aproximadamente constante con el contenido de arcilla, por lo que este efecto podría descartarse. Además al efectuarle a todas las muestras el mismo tratamiento térmico nos aseguramos de inducir la cristalización de todos los compuestos por igual. Otro efecto relevante es la interacción del refuerzo con la matriz, la mejora en las propiedades mecánicas se puede atribuir a una dispersión homogénea de las arcillas dentro de la matriz. Si las láminas de arcilla están bien dispersas y distribuidas en la matriz, la transferencia de

carga de la matriz al refuerzo (altamente rígido) se encuentra favorecida [45]. En nuestro caso encontramos un comportamiento óptimo para el 3% de arcilla, se estima que a partir de ese porcentaje de refuerzo incorporado, se empiezan a aglomerar las nanoarcillas, esto coincide con el análisis de los espectros de DRX. Los valores de la resistencia a la tracción de la piel se encuentran en el rango de 2,5-16 MPa [46], y la deformación es de aproximadamente 70% en las zonas más flexibles [47]. Por lo que estos hidrogeles se podrían utilizar en vendajes para heridas en todas las zonas de la piel, desde las más rígidas hasta las más flexibles.

Además, las propiedades mecánicas observadas son la resultante de la combinación de todos los factores anteriormente explicados. La **Figura IV.17** esquematiza la estructura del compuesto [42, 48].

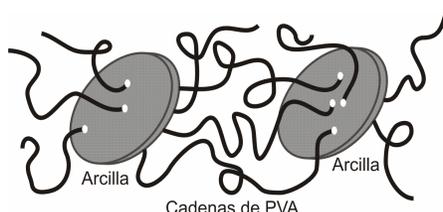


Figura IV.17. Esquema de la estructura del compuesto PVA/arcilla.

IV.3.1.4. Velocidad de Transmisión de Vapor de agua para los compuestos PVA/Bentonita.

Los mayores problemas en el cuidado de heridas, sobre todo de las producidas por quemaduras, es que la víctima ha perdido mucho líquido corporal debido a evaporación y exudación de la misma. Esto afecta a la disminución en la temperatura corporal y acelera el metabolismo [49]. Por lo tanto, un material pensado para vendaje debe eliminar, o al menos reducir, la pérdida de líquido corporal, por ejemplo, controlando la absorción y la transmisión y manteniendo el área cercana a la herida muy húmeda para poder acelerar el proceso de epitelización [50].

El vendaje ideal tiene que controlar la pérdida de agua por evaporación a una tasa óptima. La tasa de evaporación ($WVTR$) de la piel normal es $8,5 \text{ g/m}^2\cdot\text{h}$, mientras que la piel herida tiene un rango que va desde $11,6 \text{ g/m}^2\cdot\text{h}$ para una quemadura de primer grado hasta $214 \text{ g/m}^2\cdot\text{h}$ para una herida granulada. Altos valores de $WVTR$ representan deshidratación de la herida, hecho que puede producir escaras; por otro lado, bajas $WVTR$ pueden causar acumulación de exudados que pueden retardar el curado de la herida o infección de la misma [50] por lo que es recomendable una $WVTR$ que esté entre los valores de la piel normal y de la piel herida, se recomiendan valores alrededor de $100 \text{ g/m}^2\cdot\text{h}$ [1].

Como se puede observar en la **Tabla IV.4**, los valores de tasa de transmisión de vapor se encuentran dentro del rango óptimo (aproximadamente $20 \text{ g/m}^2\cdot\text{h}$) y parecen no estar influenciadas notoriamente por el contenido de arcilla. Con respecto a los valores de R (valores de $WVTR$ independientes del espesor de la muestra) tampoco se obtuvieron tendencias con el agregado de arcilla, por lo que se deduce que el contenido de refuerzo no es determinante en la transferencia de vapor de agua.

Tabla IV.4. Propiedades de transmisión de vapor de agua de los hidrogeles de PVA solos y reforzados con diferentes contenidos de bentonita.

Muestra	$WVTR$ $g/m^2.h$	R $g.mm/m^2.h$
PVA	$19,7 \pm 1,0$	$2,6 \pm 0,3$
1B	$22,0 \pm 2,3$	$2,8 \pm 0,6$
3B	$21,5 \pm 2,3$	$2,5 \pm 0,5$
5B	$22,6 \pm 0,7$	$2,3 \pm 0,1$
7B	$21,2 \pm 2,8$	$2,8 \pm 0,5$

En la **Figura IV.18** se observa que existe una relación entre la $WVTR$ y la absorción de agua del hidrogel.

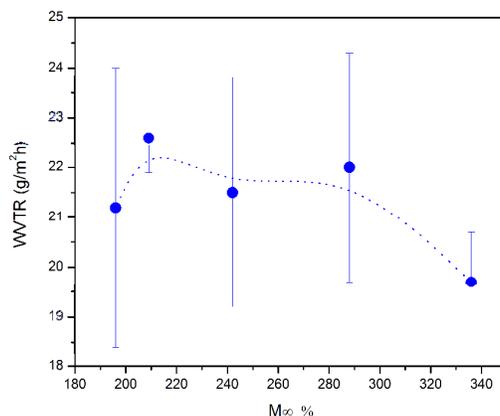


Figura IV.18. Relación entre la $WVTR$ y el grado de hinchamiento del hidrogel

La tendencia observada muestra que cuando el hidrogel tiene mayor capacidad de absorción de agua, por lo que tiene mayor porosidad y/o poros mayores, estos evitan que el vapor de agua pase a través de ellos, reteniéndolo, resultados similares se encuentran en bibliografía para hidrogeles de quitosano y poly(vinilpirrolidona)/PVA [1, 50].

IV.3.2. Hidrogeles Compuestos de PVA/Nanocelulosa.

IV.3.2.1. Aspecto Macroscópico.

Los nanocompuestos de NC son transparentes para todas las concentraciones estudiadas (**Figura IV.19**), este fenómeno se debe al tamaño nanométrico de las fibras de celulosa usadas en este material, que tienen la capacidad de mantenerse transparente [51].

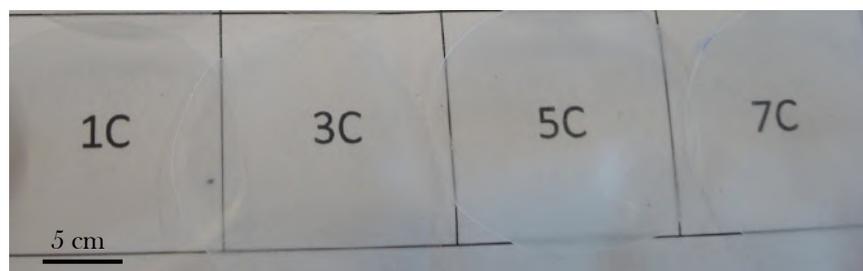


Figura IV.19. Fotografía de los geles compuestos de PVA con nanocelulosa (secos durante 24 h a 37 °C).

IV.3.2.2. Caracterización Química y Estructural de la Nanocelulosa.

En la **Figura IV.20** se muestran los espectros FTIR de la microcelulosa (MC) y de la nanocelulosa (NC) obtenida a partir de la hidrólisis ácida de la MC. En esta figura están identificados con flechas los picos característicos correspondientes a la vibración de los grupos funcionales de la celulosa. La misma fue cortada en el eje X desde 1750 cm^{-1} hasta 2750 cm^{-1} porque no se presentan bandas de interés en dicho rango.

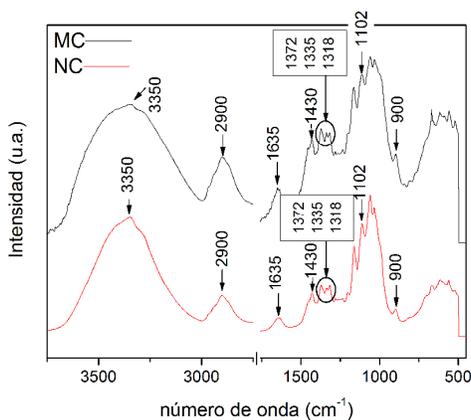


Figura IV.20. Espectros FTIR de la nanocelulosa y microcelulosa.

El pico que se observa en $3060\text{-}3640\text{ cm}^{-1}$ tanto en la NC como en la MC es representativo de los grupos OH. La banda en 1635 cm^{-1} se atribuye a los OH del agua absorbida. Ni la intensidad, ni la posición de estos picos fueron modificados con la hidrólisis ácida, por lo que se puede decir que los componentes de la celulosa no fueron degradados ni removidos con el tratamiento [52]. Se sabe que los cambios en la estructura química de la celulosa se pueden seguir por FTIR [53]; la disminución en la intensidad en 1102 cm^{-1} se puede atribuir a la transición de celulosa I a celulosa II. En nuestro caso este pico no fue significativamente modificado luego de la hidrólisis ácida sugiriendo que la celulosa I polimórfica está presente tanto en la MC como en la NC. Se observa una disminución tanto en la intensidad como en ancho del pico situado en 900 cm^{-1} luego de la hidrólisis. Las bandas en 1430 cm^{-1} , 1372 cm^{-1} , 1335 cm^{-1} y 1318 cm^{-1} corresponden a las vibraciones de los grupos COH y HCC característicos de la celulosa cristalina [54]. Estas bandas no fueron modificadas luego de la hidrólisis ácida, indicando la presencia de NC altamente cristalina [54]. La remoción de la parte amorfa de la celulosa, causada por la hidrólisis, es evidente en el pico en 900 cm^{-1} que se hace más angosto y en la banda de 2900 cm^{-1} que es menos intensa en el espectro de NC [54-55].

La **Figura IV.21** muestra los espectros de DRX de la micro y nanocelulosa.

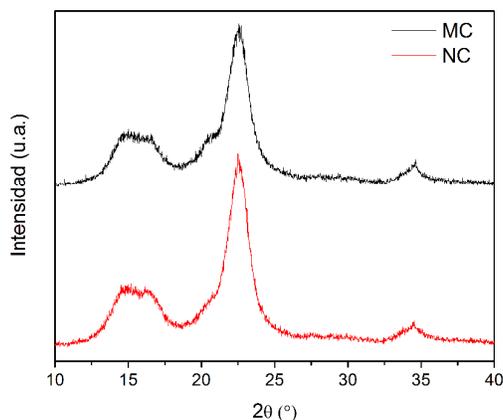


Figura IV.21. Espectros DRX de la micro y nanocelulosa.

Tanto los difractogramas obtenidos de la MC como de la NC muestran los picos más importantes en $2\theta = 22^\circ$ y 16° representando la parte cristalina y la amorfa respectivamente, por lo que se puede decir que la integridad cristalina se mantiene luego de la hidrólisis [52, 56]. De estas curvas es posible estimar el índice de cristalinidad de los materiales con la siguiente ecuación [57]:

$$I_c \% = \frac{(I_{\text{cristalino}} - I_{\text{amorfo}})}{I_{\text{cristalino}}} \times 100 \quad (7)$$

donde $I_{\text{cristalino}}$ es la intensidad en 22° e I_{amorfo} es la intensidad del pico en 16° . El valor obtenido para la MC es de 61% mientras que para la NC es de 64%. Resultados similares fueron obtenidos por otros autores [58]. Sin embargo se nota una disminución en la intensidad del pico correspondiente a la celulosa II luego de la hidrólisis.

IV.3.3.3. Características Morfológicas de la Nanocelulosa.

Las **Figuras IV.22 (a, b)** muestran las imágenes de SEM y AFM de la MC y la NC respectivamente. A partir de las mismas se determinaron el diámetro y la longitud de las fibras midiendo, al menos, 40 fibras con el software ImagePro-Plus. En la **Tabla IV.5** se resumen los resultados obtenidos.

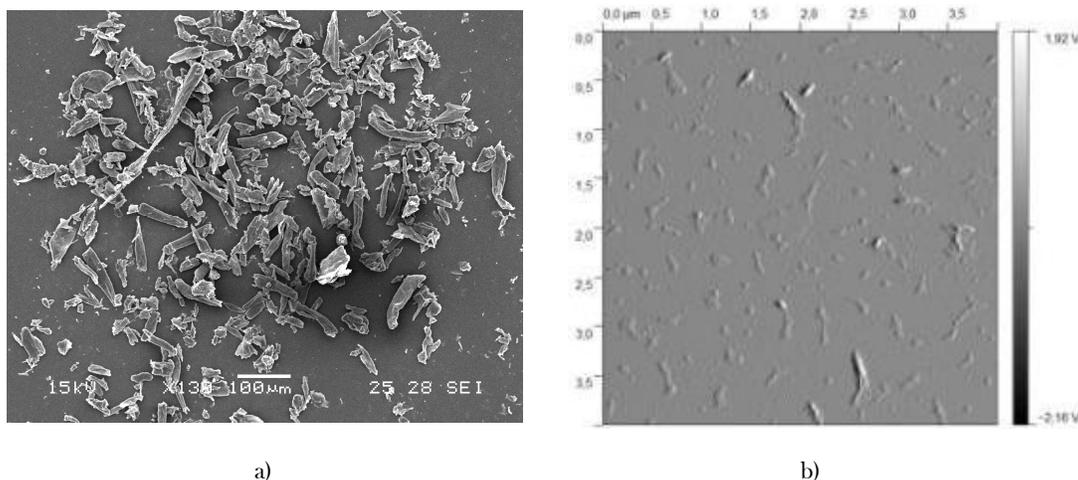


Figura IV.22. Micrografías: a) SEM de la microcelulosa (MC), b) AFM de la nanocelulosa (NC).

Tabla IV.5. Dimensiones de las fibras antes (MC) y después (NC) de la hidrólisis.

Material	Largo, l nm	Diámetro, d nm	l/d
MC	71084 ± 21995	16585 ± 3072	4,3
NC	158 ± 41	45 ± 8	3,5

El diámetro de la microcelulosa se redujo sustancialmente luego de la hidrólisis ácida, debido a la remoción de parte amorfa de la misma (**Tabla IV.5**). Además disminuyó la longitud de las fibras, por lo que la relación de aspecto (l/d) de la NC fue menor que de la MC. Para trabajos futuros se espera poder incrementar la relación l/d optimizando el proceso de hidrólisis.

IV.3.2.4. Caracterización Morfológica de los Geles Compuestos con Nanocelulosa.

La estructura porosa de los hidrogeles se puede observar en las imágenes tomadas en un microscopio electrónico de barrido con emisión de campo (**Figura IV.23**). Estas imágenes se utilizaron para analizar la morfología de los poros, así como la distribución de tamaños de los mismos y la dispersión del refuerzo en el material.

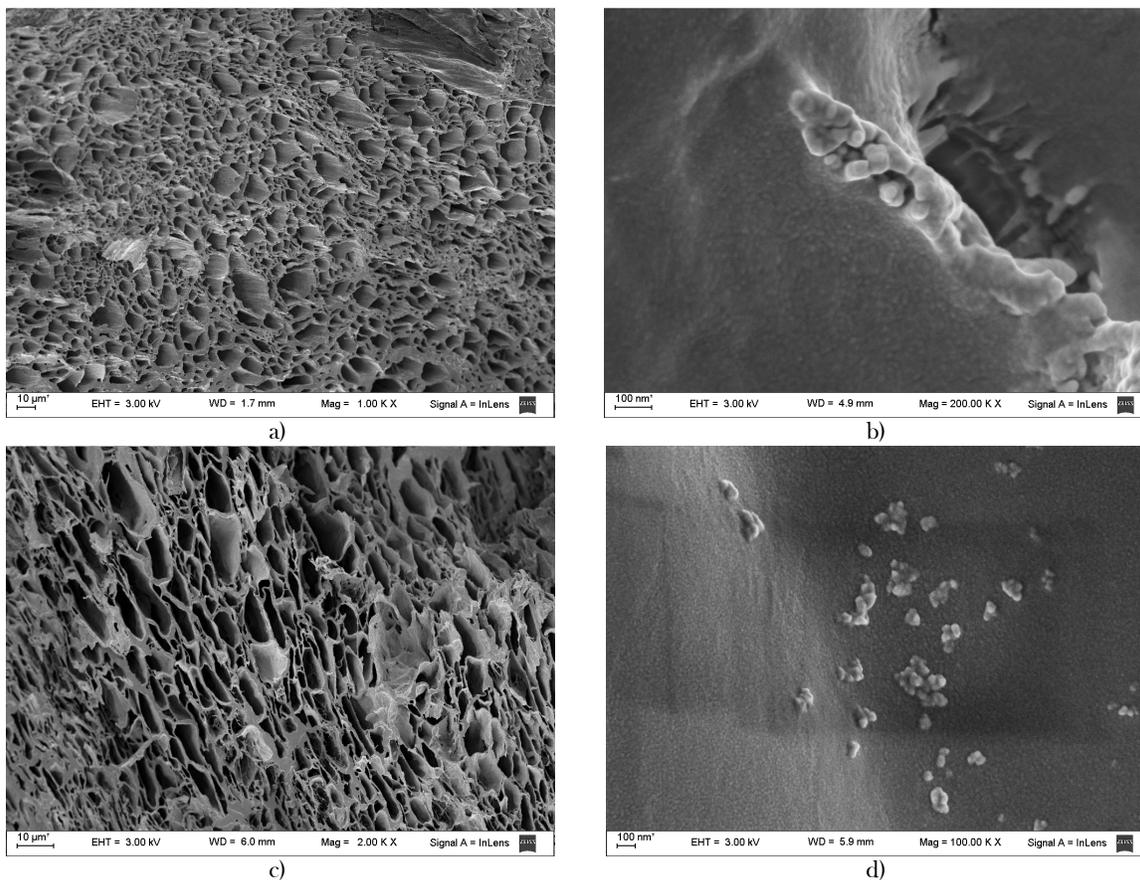


Figura IV.23. Micrografías de nanocompuestos de PVA con nanocelulosa a) 1NC, b) amplificación de a), c) 3NC y d) amplificación de c).

Los diámetros promedios de poros fueron obtenidos analizando varias imágenes FESEM y midiendo al menos 100 poros por imagen utilizando el programa Image Pro-Plus. Para el hidrogel de PVA el diámetro promedio de los poros fue de $8,5 \mu\text{m} \pm 4,0 \mu\text{m}$, para la muestra 1NC fue de $6,4 \mu\text{m} \pm 2,5 \mu\text{m}$ y para el compuesto de 3%

de NC fue de $4,9 \mu\text{m} \pm 3,6 \mu\text{m}$. Este resultado sugiere que las nanofibras de celulosa contribuyen a la estabilidad del material.

Las **Figuras IV.23 b y d** muestran ampliaciones de las muestras 1NC y 3NC. Se cree que la fuerte adhesión entre la nanocelulosa y el PVA se debe a naturaleza hidrófila de los dos componentes que promueve la formación de enlaces tipo puente de hidrógeno entre ambos [59]. La formación de enlaces de hidrógeno entre las fibras individuales de NC también se ve favorecida por el gran incremento en el área expuesta [60], debido a su tamaño nanométrico. Este fenómeno hace que la NC tenga una fuerte tendencia a aglomerarse en lugar de dispersarse dentro de la matriz polimérica. El equilibrio entre estos fenómenos controla la dispersión final de la carga dentro de la matriz. Como consecuencia de este equilibrio, las **Figuras IV.23 c y d** muestran pequeños aglomerados de NC de $95 \text{ nm} \pm 41 \text{ nm}$ y $91 \text{ nm} \pm 32 \text{ nm}$ para 1NC y 3NC, respectivamente. Teniendo en cuenta que el diámetro de la NC fue de $45 \text{ nm} \pm 8 \text{ nm}$ estos aglomerados deberían estar formados por no más de dos o tres fibras de NC individuales, esto puede ser considerado como un excelente grado de dispersión de la carga dentro de la matriz. Se encontraron resultados similares en la muestra de 5NC. En el caso de los nanocompuestos con 7 % p/p de NC, el material era macroscópicamente inhomogéneo de modo que se decidió descartar estas muestras.

IV.3.2.5. Caracterización Térmica y Física del los Geles Compuestos con Nanocelulosa.

Las propiedades térmicas y estructurales de los hidrogeles de PVA reforzados con nanocelulosa se resumen en la **Tabla IV.6**.

Tabla IV.6. Propiedades térmicas y de hinchamiento de los hidrogeles solos y reforzados con diferentes contenidos de nanocelulosa

Muestra	T_i °C	X_c %	T_g °C	FG %	M_w %
PVA	228,5	48,6	281,9	$83,0 \pm 0,9$	$336,7 \pm 6,4$
1NC	228,1	55,2	298,0	$79,4 \pm 1,9$	$265,2 \pm 6,3$
3NC	226,6	49,2	304,3	$84,8 \pm 0,3$	$282,1 \pm 6,5$
5NC	225,5	51,6	310,2	$84,8 \pm 4,5$	$263,2 \pm 3,8$

Es posible ver que el porcentaje de cristalinidad del compuesto con 1 % p/p de NC es mayor que el del resto de los materiales mientras que se observa un valor mínimo de grado de cristalinidad en el gel de PVA solo, los valores intermedios se mantienen casi sin variación (aproximadamente constantes).

Las nanofibras de celulosa pueden actuar como sitios de nucleación en los ciclos de congelamiento-descongelamiento para una mejor organización de las cadenas de PVA, favoreciendo las interacciones y la formación de cristales alrededor de la NC durante el primer ciclo del proceso de entrecruzamiento [24]. En el caso de 1NC también vemos que el valor de $FG\%$ es menor que en el resto de los hidrogeles lo que indicaría que se forman más cristales por la incorporación de este porcentaje de NC, pero que ellos no contribuyen al entrecruzamiento de la red. Esto se puede deber a la baja concentración de NC, donde se forman cristales alrededor de la fibra [59, 61]. También se puede observar que disminuye el M_w lo que puede relacionarse con el hecho de que el tamaño de poros es menor debido a la formación de cristales, o a que tanto los cristales como los nanohilos interfieran en la movilidad del agua dentro de la matriz [24].

Con respecto a las concentraciones intermedias de NC (3 y 5 % p/p) se observa que el grado de cristalinidad del material es muy similar al de la matriz, esto puede deberse a que hay una buena dispersión y las concentraciones son óptimas como para que el PVA cristalice alrededor de las fibras formando las misma cantidad de cristales que si estuviese solo, pero estos cristales son más pequeños (menor T). Con respecto a la $FG\%$ y M_s , se observa que estos cristales son más efectivos que los de la matriz para generar entrecruzamientos (M_s disminuye y FG aumenta).

En la **Figura IV.24** vemos el comportamiento de los materiales durante la degradación térmica. En el caso de la matriz de PVA, se pueden observar cinco eventos principales en el gráfico de DTGA. El primero de ellos, que se encuentra a 140 °C, corresponde a la evaporación del agua no enlazada al PVA. A continuación, un pico seguido por una anchura del hombro se observa a partir de 220 °C hasta 415 °C, que se relaciona con la separación de grupos laterales formando agua, ácido acético y acetaldehído como sub-productos. El pico principal se asocia con la degradación térmica del PVA cristalino. Barrera y col. [62] sugiere que el desprendimiento de grupos laterales es el principal mecanismo para la degradación térmica de PVA. Los picos observados a 468 °C y 569 °C están relacionados con la degradación térmica de la cadena principal de PVA [62]. De la tabla IV.6 se observa que la estabilidad térmica relacionada con la separación de grupos laterales de PVA en el nanocompuesto se mejora en función del contenido de NC (aumenta la T_p). Este resultado indica que la NC actúa como barrera térmica debido a la formación de enlaces de hidrógeno entre el NC y las cadenas laterales de PVA [63]. Este comportamiento indica, además, que existe buena compatibilidad entre la matriz y el refuerzo. Los procesos de degradación térmica relacionados con la cadena principal de PVA no cambiaron significativamente después de la incorporación de NC.

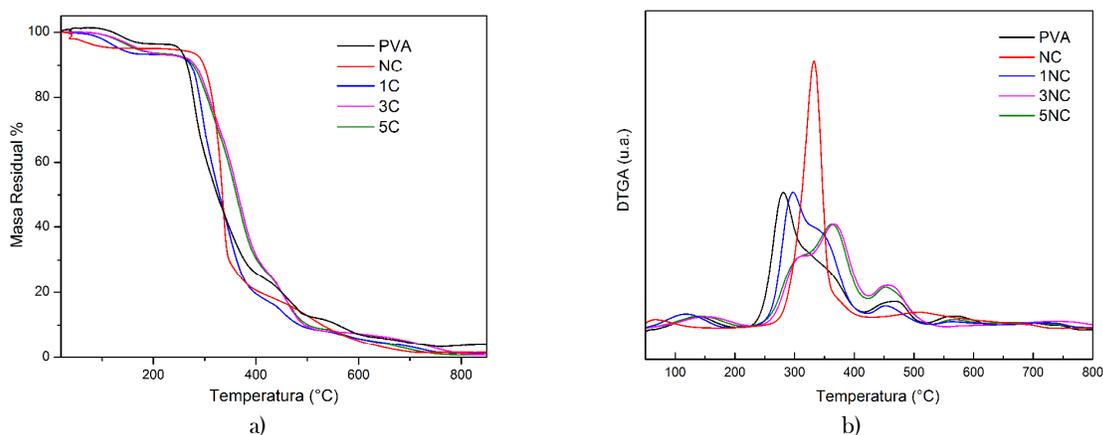


Figura IV.24. Curvas del análisis termogravimétrico de la matriz de PVA, la NC y los materiales compuestos PVA/ NC: a) Masa residual en función de la temperatura, b)DTGA en función de la temperatura.

Los espectros de FTIR (**Figura IV.25**) muestran que la adición de NC modifica la estructura química del gel. En comparación con la matriz, la banda de vibración de estiramiento de OH (a 3269 cm^{-1} para el PVA) se ve desplazada a 3275 - 3280 cm^{-1} en función de la cantidad de NC. Por otra parte, las bandas a 2909 cm^{-1} (CH_2) se corrieron a 2913-2918 cm^{-1} en el caso de los nanocompuestos. Todos estos cambios se pueden explicar en términos de las interacciones entre las cadenas de polímero y el nanorefuerzo que alteran la frecuencia de vibración de estos enlaces.

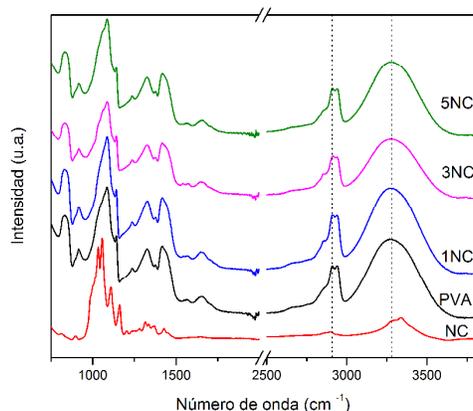


Figura IV.25. Espectros FTIR del PVA, la NC y los geles compuestos PVA/ NC.

Además, estos geles fueron caracterizados por DRX (**Figura IV.26**). En el caso de los nanocompuestos, se puede identificar claramente el pico cercano a $2\theta = 22^\circ$ que representa la parte cristalina de la NC; la intensidad de este pico aumenta a medida que el contenido de NC dentro de los nanocompuestos aumenta. El pico centrado a 22° corresponde a la difracción del plano (200) de la celulosa polimorfa I [64], indicando que la nanocelulosa se encuentra en forma cristalina en el compuesto. Esto implica que se ha mantenido la integridad de los cristales de NC dentro de los nanocompuestos. No fue posible calcular el índice de cristalinidad de la NC dentro de los nanocompuestos ya que la parte amorfa de la NC se encuentra solapada a los picos a ángulos 2θ cercanos a $19,8^\circ$ y $22,9^\circ$ (2θ) debido a los planos de reflexión (1 0 1) y (1 0 $\bar{1}$) del PVA [43, 65].

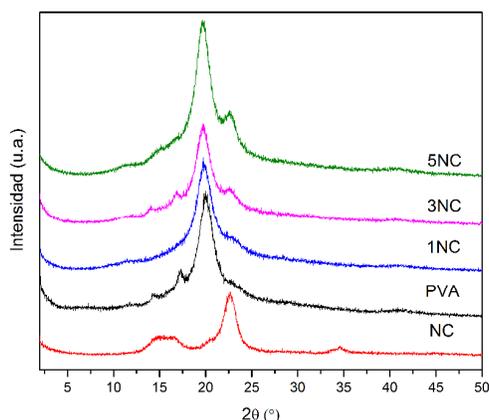


Figura IV.26. Espectros de difracción de Rayos X de la matriz, la nanocelulosa y los compuestos PVA/NC.

IV.3.2.6. Propiedades Mecánicas de los Geles Compuestos con Nanocelulosa

Las curvas tensión-deformación características de un material con comportamiento elástico no-lineal se pueden observar en la **Figura IV.27** para los compuestos con nanocelulosa en un ensayo de tracción uniaxial.

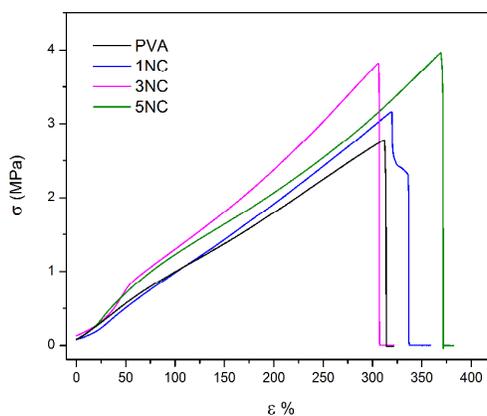


Figura IV.27. Curvas tensión-deformación obtenidas en los ensayos de tracción uniaxial de la matriz y los nanocompuestos con celulosa.

La **Tabla IV.7** resume las propiedades mecánicas en tracción de los compuestos y la matriz.

Tabla IV.7. Propiedades mecánicas en tracción de los hidrogeles solos y reforzados con diferentes contenidos de nanocelulosa

Muestra	E MPa	σ_{max} MPa	ϵ %
PVA	$0,8 \pm 0,2$	$2,6 \pm 1,1$	294 ± 101
1NC	$0,7 \pm 0,2$	$3,4 \pm 0,3$	369 ± 41
3NC	$1,1 \pm 0,3$	$3,8 \pm 0,1$	343 ± 84
5NC	$0,9 \pm 0,2$	$3,7 \pm 0,2$	336 ± 24

Se puede ver el efecto de la interacción del refuerzo con la matriz en todos los casos, tanto en el aumento de la resistencia como de la elongación a la rotura. Al analizar los resultados de la tabla, se puede concluir que existe una concentración óptima de refuerzo (3 % p/p) que maximizan las propiedades mecánicas en tracción. Estas mejoras se pueden atribuir por un lado, al alto módulo y resistencia de las fibras de NC. Asimismo como ambos componentes (PVA y NC) son de naturaleza hidrofílica, existe una buena dispersión y una excelente adhesión entre la matriz y el refuerzo [66] por la formación de un gran número de puentes de hidrógeno [21, 23-24].

En la siguiente tabla (**Tabla IV.8**) se observan los valores de velocidad de transmisión de vapor de agua obtenidos.

Tabla IV.8. Propiedades de transmisión de vapor de agua de los hidrogeles de PVA solo y reforzados con diferentes contenidos de nanocelulosa.

Muestra	$WVTR$ $g/m^2.h$	R $g.mm/m^2.h$	M_w %
PVA	$19,7 \pm 1,0$	$2,6 \pm 0,3$	$336,7 \pm 6,4$
1NC	$29,9 \pm 1,9$	$3,0 \pm 0,3$	$265,2 \pm 6,3$
3NC	$28,4 \pm 0,6$	$4,0 \pm 0,4$	$282,1 \pm 6,5$
5NC	$32,9 \pm 5,2$	$3,4 \pm 0,4$	$263,2 \pm 3,8$

El valor de R aumentó por la adición 1, 3 y 5 % p/p de NC, respectivamente. La misma tendencia fue observada previamente por otros autores para sistemas similares [67]. Estos compuestos, al igual que los

preparados con arcilla, tienen valores de $WVTR$ dentro del rango óptimo para una herida. Además se registró la misma tendencia donde la $WVTR$ disminuye con el aumento de la M_n (Figura IV.28).

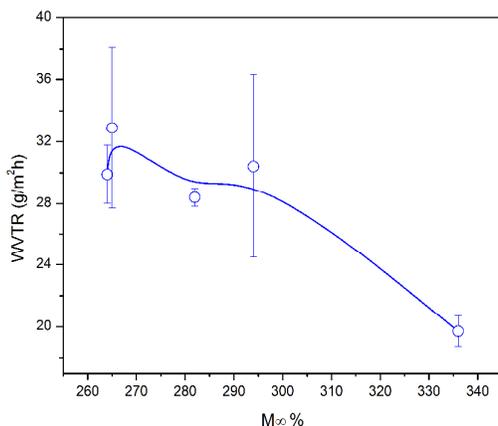


Figura IV.28. $WVTR$ en función de M_n para los compuestos PVA/NC

IV.3.3. Ensayos de penetración bacteriana.

Mediante observación diaria de los cultivos se comprobó que no hubo transmisión de ninguna de las bacterias utilizadas a través de los hidrogeles nanocompuestos (tanto con NC como con bentonita) durante 15 días. A modo de ejemplo se muestra en la Figura IV.29 el resultado obtenido del ensayo con *Staphylococcus aureus* a 15 días en hidrogeles de 1B y 3B. De la fotografía se ve formaciones de colonias alrededor del gel (en el contorno) debido a que no inhiben el crecimiento de los microorganismos, sólo actúan de barrera para los mismos.

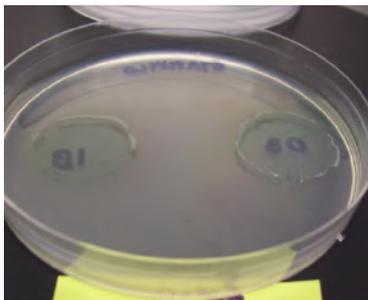


Figura IV.29. Ensayo de penetración microbiana con *Staphylococcus aureus* a 15 días en hidrogeles de 1B y 3B.

Los resultados indicaron que sólo 1 mm de espesor del apósito de hidrogel nanocompuesto puede proteger a la herida de la penetración de bacterias, mientras que, según los trabajos anteriores, se observó que incluso 64 capas de gasa no pueden evitar la entrada de bacterias exógenas en la herida [50]. Esta capacidad del nanocompuesto de proteger a la herida de la infección puede acelerar la cicatrización de la herida [6].

IV.4. CONCLUSIONES.

Se pudieron obtener geles compuestos con bentonita y con nanocelulosa con una buena dispersión de los refuerzos en la matriz.

Se encontró que la adición de los refuerzos modifica la estructura química del gel. Por otra parte, se estableció que la excelente compatibilidad entre la matriz y ambos rellenos es responsable del incremento en las propiedades mecánicas de los hidrogeles compuestos. Además, su función como barrera contra la penetración de bacterias mostró que podían proteger a la herida de la infección adicional, por lo que podrían acelerar el proceso de curación de la misma.

Todos los resultados obtenidos, pero sobre todo las propiedades mecánicas, de barrera y antimicrobianas, indican que los hidrogeles compuestos con 3% en peso de NC y los que contienen 3% en peso de bentonita son prometedores materiales para ser utilizados como apósito para heridas.

IV.5. TRABAJO A FUTURO.

Para continuar con este tema se propone en primera instancia tomar las micrografías TEM de los compuestos con arcilla para poder corroborar la buena dispersión de la misma en la matriz. Dada la complejidad en el corte de los hidrogeles (por ser materiales muy blandos), aún no se han obtenido micrografías con una nitidez aceptable.

En segundo lugar optimizar la técnica de obtención de NC para mejorar la relación l/d de las nanofibras. Finalmente llevar a cabo ensayos *in vitro* e *in vivo* de la penetración bacteriana y evaluar la formación de nuevo tejido en la herida.

Referencias.

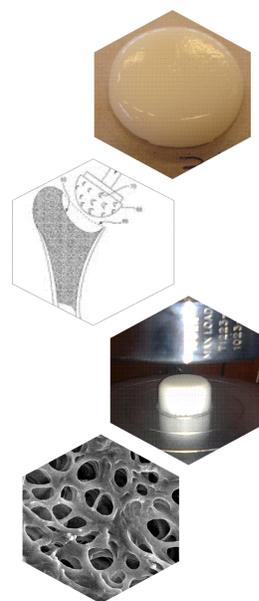
1. Mi, F.L.; Shyu, S.S.; Wu, Y.B.; Lee, S.T.; Shyong, J.Y. y Huang, R.N., *Fabrication and characterization of a sponge-like asymmetric chitosan membrane as a wound dressing*. Biomaterials, 2001. **22**(2): p. 165-173.
2. Gardner, S.E.; Frantz, R.A. y Doebbeling, B.N., *The validity of the clinical signs and symptoms used to identify localized chronic wound infection*. Wound Repair and Regeneration, 2001. **9**(3): p. 178-186.
3. McCulloch, J., *Infection Control: Science, management and practice*. 2000: Whurr.
4. Ajji, Z.; Othman, I. y Rosiak, J.M., *Production of hydrogel wound dressings using gamma radiation*. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, 2005. **229**(3-4): p. 375-380.
5. Kokabi, M.; Sirousazar, M. y Hassan, Z.M., *PVA-clay nanocomposite hydrogels for wound dressing*. European Polymer Journal, 2007. **43**(3): p. 773-781.
6. Gwon, H.J.; Lim, Y.M.; An, S.J.; Youn, M.H.; Han, S.H.; Chang, H.N. y Nho, Y.C., *Characterization of PVA/glycerin hydrogels made by γ -irradiation for advanced wound dressings*. Korean Journal of Chemical Engineering, 2009. **26**(6): p. 1686-1688.
7. Li, X.; Hu, A. y Ye, L., *Structure and Property of Porous Polyvinylalcohol Hydrogels for Microorganism Immobilization*. Journal of Polymers and the Environment, 2011. **19**(2): p. 398-404.
8. Sinha Ray, S. y Okamoto, M., *Polymer/layered silicate nanocomposites: A review from preparation to processing*. Progress in Polymer Science (Oxford), 2003. **28**(11): p. 1539-1641.
9. Aranda, P. y Ruiz-Hitzky, E., *Poly (ethylene oxide)-silicate intercalation materials*. Chemistry of Materials, 1992. **4**(6): p. 1395-1403.
10. Fischer, H., *Polymer nanocomposites: from fundamental research to specific applications*. Materials Science and Engineering: C, 2003. **23**(6-8): p. 763-772.
11. Alexandre, M. y Dubois, P., *Polymer-layered silicate nanocomposites: preparation, properties and uses of a new class of materials*. Materials Science and Engineering: R: Reports, 2000. **28**(1): p. 1-63.
12. Huang, M.-F. ; Yu, J.-G. ;Ma, X.-F. y Jin, P., *High performance biodegradable thermoplastic starch—EMMT nanoplastics*. Polymer, 2005. **46**(9): p. 3157-3162.
13. Bagdi, K.; Müller, P. y Pukánszky, B., *Thermoplastic starch/layered silicate composites: structure, interaction, properties*. Composite Interfaces, 2006. **13**(1): p. 1-17.

14. Strawhecker, K. y Manias, E., *Structure and properties of poly (vinyl alcohol)/Na⁺ montmorillonite nanocomposites*. Chemistry of Materials, 2000. **12**(10): p. 2943-2949.
15. Xia, X.; Yih, J.; D'Souza, N.A. y Hu, Z., *Swelling and mechanical behavior of poly (N-isopropylacrylamide)/Na⁺ montmorillonite layered silicates composite gels*. Polymer, 2003. **44**(11): p. 3389-3393.
16. Zhou, S.; Yang, J. y Wu, C., *Synthesis and swelling properties of poly (N, N-diethylacrylamide)-clay nanocomposites*. Acta Polymerica Sinica, 2003(3): p. 326-329.
17. Xiang, Y.; Peng, Z. y Chen, D., *A new polymer/clay nano-composite hydrogel with improved response rate and tensile mechanical properties*. European Polymer Journal, 2006. **42**(9): p. 2125-2132.
18. Pinto, R.J.; Marques, P.A.; Neto, C.P.; Trindade, T.; Daina, S. y Sadocco, P., *Antibacterial activity of nanocomposites of silver and bacterial or vegetable cellulosic fibers*. Acta Biomaterialia, 2009. **5**(6): p. 2279-2289.
19. Ebnesajjad, S., *Handbook of Biopolymers and Biodegradable Plastics: Properties, Processing and Applications*. 2012: Access Online via Elsevier.
20. Sain, M. y Oksman, K., *Introduction to Cellulose Nanocomposites*, in *Cellulose Nanocomposites*. 2006, American Chemical Society. p. 2-8.
21. Eichhorn, S.J.; Baillie, C.A.; Zafeiropoulos, N.; Mwaikambo, L.Y.; Ansell, M.P.; Dufresne, A.; Entwistle, y col., *Current international research into cellulosic fibres and composites*. Journal of Materials Science, 2001. **36**(9): p. 2107-2131.
22. Guhados, G.; Wan, W. y Hutter, J.L., *Measurement of the elastic modulus of single bacterial cellulose fibers using atomic force microscopy*. Langmuir, 2005. **21**(14): p. 6642-6646.
23. Klemm, D.; Schumann, D.; Udhardt, U. y Marsch, S., *Bacterial synthesized cellulose - Artificial blood vessels for microsurgery*. Progress in Polymer Science (Oxford), 2001. **26**(9): p. 1561-1603.
24. Millon, L.E. y Wan, W.K., *The polyvinyl alcohol-bacterial cellulose system as a new nanocomposite for biomedical applications*. Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials, 2006. **79**(2): p. 245-253.
25. Ollier, R.; Pérez, C. y Alvarez, V., *Effect of Relative Humidity on the Mechanical Properties of Micro and Nanocomposites of Polyvinyl Alcohol*. Procedia Materials Science, 2012. **1**: p. 499-505.
26. Peppas, N.A. y Merrill, E.W., *Differential scanning calorimetry of crystallized PVA hydrogels*. Journal of Applied Polymer Science, 1976. **20**(6): p. 1457-1465.
27. ASTM international D 5032-97, *Standard Practice for Maintaining Constant Relative Humidity by Means of Aqueous Glycerin Solutions*.
28. Haraguchi, K. y Takehisa, T., *Nanocomposite hydrogels: a unique organic-inorganic network structure with extraordinary mechanical, optical, and swelling/de-swelling properties*. Advanced Materials, 2002. **14**(16): p. 1120.
29. Haraguchi, K.; Takehisa, T. y Fan, S., *Effects of clay content on the properties of nanocomposite hydrogels composed of poly(N-isopropylacrylamide) and clay*. Macromolecules, 2002. **35**(27): p. 10162-10171.
30. Alexy, P.; Bakoš, D.; Crkoňová, G.; Kolomaznik, K. y Kršiak, M. *Blends of polyvinylalcohol with collagen hydrolysate: Thermal degradation and processing properties*. in *Macromolecular Symposia*. 2001: Wiley.
31. Gilman, J.W. y col., *Flammability properties of polymer - Layered-silicate nanocomposites. Polypropylene and polystyrene nanocomposites*. Chemistry of Materials, 2000. **12**(7): p. 1866-1873.
32. Gilman, J.W.; VanderHart, D.L. y Kashiwagi, T., *Thermal decomposition chemistry of poly (vinyl alcohol)*. Fire and Polymers II: Materials and Test for Hazard Prevention ACS, 1994. **599**: p. 161.
33. Zhao, W.; Yamamoto, Y. y Tagawa, S., *Radiation effects on the thermal degradation of poly (vinyl chloride) and poly (vinyl alcohol)*. Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry, 1998. **36**(17): p. 3089-3095.
34. Peng, Z. y Kong, L.X., *A thermal degradation mechanism of polyvinyl alcohol/silica nanocomposites*. Polymer Degradation and Stability, 2007. **92**(6): p. 1061-1071.
35. Vyazovkin, S.; Dranca, I.; Fan, X. y Advincula, R., *Kinetics of the Thermal and Thermo-Oxidative Degradation of a Polystyrene-Clay Nanocomposite*. Macromolecular Rapid Communications, 2004. **25**(3): p. 498-503.
36. Sivaram, S. y Singh, R., *Degradation and stabilization of ethylene-propylene copolymers and their blends: A critical review*, in *Polymer Compositions Stabilizers/Curing*. 1991, Springer. p. 169-215.
37. López, D.; Cendoya, I.; Torres, F.; Tejada, J. y Mijangos, C., *Preparation and characterization of poly (vinyl alcohol)-based magnetic nanocomposites. 1. Thermal and mechanical properties*. Journal of Applied Polymer Science, 2001. **82**(13): p. 3215-3222.
38. Choi, J.; Kim, S.G. y Laine, R.M., *Organic/inorganic hybrid epoxy nanocomposites from aminophenylsilsesquioxanes*. Macromolecules, 2004. **37**(1): p. 99-109.
39. Peng, Z.; Kong, L.X. y Li, S.D., *Thermal properties and morphology of a poly (vinyl alcohol)/silica nanocomposite prepared with a self-assembled monolayer technique*. Journal of Applied Polymer Science, 2005. **96**(4): p. 1436-1442.

40. Vyazovkin, S., *Modification of the integral isoconversional method to account for variation in the activation energy*. Journal of Computational Chemistry, 2001. **22**(2): p. 178-183.
41. Cullity, B.D., *Elements of X Ray Diffraction*. 2011: BiblioBazaar.
42. Huang, S.; Yang, Z.; Zhu, H. y col., *Poly (vinly alcohol)/nano-sized layered double hydroxides nanocomposite hydrogels prepared by cyclic freezing and thawing*. Macromolecular Research, 2012. **20**(6): p. 568-577.
43. Ricciardi, R.; Auriemma, F.; Gaillet, C.; De Rosa, C. y Lauprêtre, F., *Investigation of the crystallinity of freeze/thaw poly(vinyl alcohol) hydrogels by different techniques*. Macromolecules, 2004. **37**(25): p. 9510-9516.
44. Ricciardi, R.; Auriemma, F.; De Rosa, C. y Lauprêtre, F., *X-ray diffraction analysis of poly (vinyl alcohol) hydrogels, obtained by freezing and thawing techniques*. Macromolecules, 2004. **37**(5): p. 1921-1927.
45. Huang, S.; Cen, X.; Zhu, H.; Yang, Z. y col., *Facile preparation of poly (vinyl alcohol) nanocomposites with pristine layered double hydroxides*. Materials Chemistry and Physics, 2011. **130**(3): p. 890-896.
46. Wang, L.; Khor, E.; Wee, A. y Lim, L.Y., *Chitosan-alginate PEC membrane as a wound dressing: Assessment of incisional wound healing*. Journal of Biomedical Materials Research, 2002. **63**(5): p. 610-618.
47. Hansen, B. y Jemec, G.B.E., *The mechanical properties of skin in osteogenesis imperfecta*. Archives of Dermatology, 2002. **138**(7): p. 909-911.
48. Schexnailder, P. y Schmidt, G., *Nanocomposite polymer hydrogels*. Colloid and Polymer Science, 2009. **287**(1): p. 1-11.
49. Peppas, N.; Bures, P.; Leobandung, W. y Ichikawa, H., *Hydrogels in pharmaceutical formulations*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2000. **50**(1): p. 27-46.
50. Razzak, M.T.; Darwis, D.; Zainuddin y Sukirno, *Irradiation of polyvinyl alcohol and polyvinyl pyrrolidone blended hydrogel for wound dressing*. Radiation Physics and Chemistry, 2001. **62**(1): p. 107-113.
51. Iwamoto, S.; Nakagaito, A.N.; Yano, H. y Nogi, M., *Optically transparent composites reinforced with plant fiber-based nanofibers*. Applied Physics A: Materials Science and Processing, 2005. **81**(6): p. 1109-1112.
52. Johar, N.; Ahmad, I. y Dufresne, A., *Extraction, preparation and characterization of cellulose fibres and nanocrystals from rice husk*. Industrial Crops and Products, 2012. **37**(1): p. 93-99.
53. Zuluaga, R.; Putaux, J.L.; Cruz, J.; y col., *Cellulose microfibrils from banana rachis: Effect of alkaline treatments on structural and morphological features*. Carbohydrate Polymers, 2009. **76**(1): p. 51-59.
54. Kavkler, K.; Gunde-Cimerman, N.; Zalar, P. y Demšar, A., *FTIR spectroscopy of biodegraded historical textiles*. Polymer Degradation and Stability, 2011. **96**(4): p. 574-580.
55. Oh, S.Y.; Yoo, D.I.; Shin, Y. y Seo, G., *FTIR analysis of cellulose treated with sodium hydroxide and carbon dioxide*. Carbohydrate Research, 2005. **340**(3): p. 417-428.
56. Mwaikambo, L.Y. y Ansell, M.P., *Chemical modification of hemp, sisal, jute, and kapok fibers by alkalization*. Journal of Applied Polymer Science, 2002. **84**(12): p. 2222-2234.
57. Segal, L.; Creely, J.; Martin, A. y Conrad, C., *An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer*. Textile Research Journal, 1959. **29**(10): p. 786-794.
58. Roman, M. y Winter, W.T., *Effect of sulfate groups from sulfuric acid hydrolysis on the thermal degradation behavior of bacterial cellulose*. Biomacromolecules, 2004. **5**(5): p. 1671-1677.
59. Yang, L.; Zhang, H.Y.; Yang, Q. y Lu, D.N., *Bacterial cellulose-poly(vinyl alcohol) nanocomposite hydrogels prepared by chemical crosslinking*. Journal of Applied Polymer Science, 2012. **126**(SUPPL. 1): p. E244-E250.
60. Azizi Samir, M.A.S.; Alloin, F. y Dufresne, A., *Review of recent research into cellulosic whiskers, their properties and their application in nanocomposite field*. Biomacromolecules, 2005. **6**(2): p. 612-626.
61. Li, W.; Yue, J. y Liu, S., *Preparation of nanocrystalline cellulose via ultrasound and its reinforcement capability for poly(vinyl alcohol) composites*. Ultrasonics Sonochemistry, 2012. **19**(3): p. 479-485.
62. Barrera, J.E.; Rodríguez, J.A.; Perilla, J.E. y Algecira, N.A., *A study of poly (vinyl alcohol) thermal degradation by thermogravimetry and differential thermogravimetry*. Ingeniería e Investigación, 2007. **27**(2): p. 100-105.
63. Yang, L.; Zhang, H.Y.; Yang, Q. y Lu, D.N., *Bacterial cellulose-poly (vinyl alcohol) nanocomposite hydrogels prepared by chemical crosslinking*. Journal of Applied Polymer Science, 2012. **126**(S1): p. E245-E251.
64. Klechkovskaya, V.V.; Baklagina, Y.G.; Stepina, N.D. y col. *Structure of Cellulose Acetobacter xylinum*. Crystallography Reports, 2003. **48**(5): p. 755-762.
65. Gupta, S.; Sinha, S. y Sinha, A., *Composition dependent mechanical response of transparent poly(vinyl alcohol) hydrogels*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2010. **78**(1): p. 115-119.
66. Wang, J.; Gao, C.; Zhang, Y. y Wan, Y., *Preparation and in vitro characterization of BC/PVA hydrogel composite for its potential use as artificial cornea biomaterial*. Materials Science and Engineering C, 2010. **30**(1): p. 214-218.
67. Jipa, I.M.; Stroescu, M.; Stoica-Guzun, A.; Dobre, T.; Jinga, S. y Zaharescu, T., *Effect of gamma irradiation on biopolymer composite films of poly(vinyl alcohol) and bacterial cellulose*. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, 2012. **278**(0): p. 82-87.

Capítulo V

HIDROGELES DE PVA COMPUESTOS CON NANO-HIDROXIAPATITA PARA REEMPLAZO ARTICULAR



Resumen

Pese al avance tecnológico de los últimos años en el área de biomateriales, todavía no se ha podido superar el desafío de construir un material para la reparación de cartílagos articulares que reproduzca las propiedades mecánicas del cartílago original y pueda integrarse a la articulación. El daño del cartílago articular es un problema persistente que afecta a millones de personas en todo el mundo. Los hidrogeles de polivinilalcohol (PVA) se han mostrado como prometedores implantes, debido a su similitud con el tejido blando pero su falta de integración con el cartílago circundante, además de su baja resistencia mecánica y durabilidad, impiden su utilización en este campo. La mala adhesión podría subsanarse desarrollando un hidrogel con un componente que sea tanto bioactivo como biocompatible tal como la hidroxiapatita (HA). Por todo esto, el objetivo del presente capítulo fue obtener y caracterizar (física, química y mecánicamente) hidrogeles compuestos PVA/HA con potencial aplicación en reemplazos articulares. Para ello se prepararon geles compuestos con HA nanométrica, en diferentes concentraciones, mediante la técnica de congelamiento-descongelamiento de una solución acuosa de PVA y HA dispersa en la misma. Se observó que el agregado de HA modificó las características físicas y químicas del hidrogel, promoviendo el entrecruzamiento y la estabilidad del material, Además se determinó que las propiedades mecánicas (compresión, tracción y nanoindentación) del hidrogel fueron mejoradas con el agregado de HA, obteniéndose un óptimo con 1 % p/p de HA, lo que indicaría que estos materiales tienen potencialidad para utilizarse en el reemplazo de cartílagos articulares.

Palabras claves: hidrogel compuesto, PVA, hidroxiapatita, reemplazo articular.

V.1. INTRODUCCIÓN

Año tras año los problemas articulares en adultos tienden a acrecentarse. El problema más recurrente es la degeneración del cartílago articular natural debido a varias enfermedades tales como osteoartritis, condrosarcoma y lesiones traumáticas entre otras [1]. El cartílago articular tiene poca, o carece de, capacidad para repararse por lo que el daño puede ser irreversible o llevar a síntomas crónicos [2]. El impacto sobre los individuos y la sociedad resulta en una disminución de la calidad de vida, pérdida de productividad y el aumento de los costos médicos [3]. Se prevé que el aumento de la esperanza de vida y el envejecimiento de la población hagan de la osteoartritis la cuarta causa de discapacidad en el año 2020 [4].

Pese al avance tecnológico de los últimos años en el área de biomateriales, todavía no se ha podido superar el desafío de construir un material para la reparación de cartílagos articulares que reproduzca las propiedades mecánicas del cartílago original y pueda integrarse a la articulación [5-6].

Tanto polímeros naturales como sintéticos en forma de hidrogeles han sido ampliamente utilizados para la ingeniería de tejido cartilaginoso articular [7]. Los hidrogeles poseen un mecanismo de lubricación bifásico similar al cartílago articular natural debido a su estructura porosa que aloja gran cantidad de agua, por lo tanto, el soporte de la carga de fluido reduce significativamente la interface de contacto y, en consecuencia, el coeficiente de fricción [8].

Dentro de la variedad de polímeros capaces de formar hidrogeles, el polivinilalcohol (PVA) se ha mostrado como prometedor para implantes, pero su falta de integración con el tejido óseo circundante impide su utilización en este campo [9]. Los hidrogeles de PVA poseen varias propiedades biomecánicas útiles, además de buena permeabilidad, hidrofiliidad y bajo coeficiente fricción. Sin embargo, el uso de estos hidrogeles en el campo de la cirugía ortopédica ha sido limitado por su baja resistencia mecánica y durabilidad [10]. La mejora de las propiedades mecánicas de los hidrogeles es un tema muy interesante pero a la vez complejo y, por lo tanto, desafiante.

Actualmente la mayor complicación que presenta este hidrogel, con respecto a su posible aplicación clínica, es la falta de un método de fijación a los tejidos vivos [10]. Los hidrogeles de PVA tienen muy buenas propiedades bio-inertes por lo que se adhieren o unen en muy bajo grado al tejido. Para acoplar implantes articulares con el hueso, en estos momentos, se utilizan hilos de titanio; estos hilos se colocan traspasando el hueso, lo que conlleva a un post-operatorio muy molesto y doloroso para el paciente [11-14]. Además los accesos quirúrgicos de mínima invasión limitan la lesión de los tejidos blandos y facilitan una mejor y más rápida recuperación. Por lo tanto, para lograr esto se pueden seguir estrategias celulares, cuando se combina el hidrogel con las células procedentes de diferentes fuentes o estrategias acelulares mediante la funcionalización de los hidrogeles con biomoléculas [15]. Se sabe que es posible mejorar la adhesión de tejidos blandos al hueso con tratamientos superficiales del implante, como por ejemplo la incorporación de algún agente bioactivo al material [10]. Por lo que la desventaja de la mala adhesión podría subsanarse desarrollando un hidrogel con un componente tanto bioactivo como biocompatible tal como la hidroxiapatita (HA) [16].

La hidroxiapatita es un fosfato de calcio de fórmula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ y de color blanco opaco. Cristaliza en el sistema hexagonal y su celda unidad contiene diez átomos de calcio (Ca), seis grupos fosfato (PO_4^{3-}) y dos grupos oxhidrilo (OH) [17]. Debido a su similitud con la fase mineral del hueso, la HA sintética ha sido ampliamente estudiada y utilizada en el campo de la medicina como biomaterial; pues sus excelentes

características de biocompatibilidad promueven su aceptación y adecuada osteointegración en el medio biológico [18-22]. La hidroxiapatita puede ser obtenida a partir de esqueletos de animales o bien de manera sintética por medio de diferentes rutas de síntesis química. En este último caso pueden controlarse las características físico-químicas y morfológicas además de tener alta pureza y composición homogénea, distribución de tamaños de partículas monomodal y partículas de tamaños nanométricos [23-27].

La hipótesis de trabajo en este capítulo es que el agregado de este fosfato no sólo mejora la bioactividad del material final sino que además es capaz de influir sobre otras propiedades (principalmente mecánicas, físicas y térmicas), por lo que las mismas deben estudiarse una vez modificado el material.

El objetivo de mayor alcance es la construcción de un hidrogel capaz de proporcionar la capacidad de transferencia de carga inmediata y duradera para el sitio del defecto, favoreciendo al mismo tiempo la infiltración celular del tejido adyacente con el fin de unir el cartílago artificial al hueso y simultáneamente optimizar las propiedades físicas, mecánicas y de fricción. Por lo que los objetivos específicos de este capítulo de la tesis son: obtener hidrogeles de PVA/HA; analizar el efecto del agregado de hidroxiapatita sobre la morfología, las propiedades térmicas, de absorción y mecánicas del hidrogel y seleccionar la formulación óptima del hidrogel a partir de los resultados obtenidos.

V.2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

V.2.1. Preparación de los hidrogeles de PVA y reforzados con nano-HA (Figura V.1).

Los hidrogeles se prepararon utilizando soluciones de PVA (15 % p/v), peso molecular 93.500 g/mol, grado de hidrólisis de 99%, provisto por Sigma-Aldrich, en agua destilada a 85 °C bajo agitación constante, luego de 1 hora en estas condiciones, se agregó una dispersión en agua de HA (Sigma-Aldrich, diámetro promedio: 200 nm) en concentraciones de 1,5; 3; 6 y 7,5 % p/p del polímero y se mantuvieron a 85 °C bajo agitación constante durante 3 horas más hasta disolver completamente el polímero. Luego se llevaron a un baño de ultrasonido por 30 minutos para eliminar todas las burbujas. Una vez que las soluciones se encontraban a temperatura ambiente, se colocaron en moldes antiadherentes, y se llevaron al freezer (-18 °C) durante 1 hora, luego se dejaron a temperatura ambiente (25 °C) por 1 hora y estos ciclos de congelamiento-descongelamiento se realizaron 3 veces, obteniéndose así los criogeles compuestos: 1,5HA, 3HA, 6HA y 7,5HA. También se obtuvo un hidrogel sin el agregado de HA, llamado PVA.

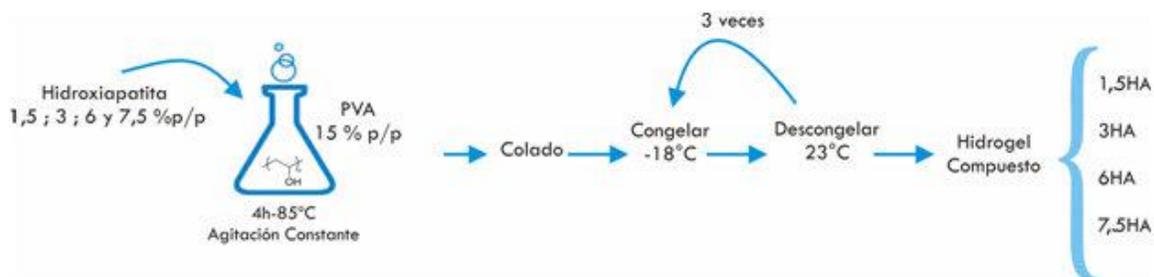


Figura V.1. Obtención de los geles compuestos PVA/HA.

V.2.2. Métodos.

En todos los casos los ensayos se hicieron por triplicado y se utilizó una distribución T-Student para determinar las desviaciones.

V.2.2.1 Métodos de Caracterización Morfológica, Física y Química.

V.2.2.1.1 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y Electrónica de Barrido con Emisión de Campo (FESEM). Se obtuvieron micrografías para analizar la estructura del hidrogel en un equipo JEOL JSM-6460 LV. Las muestras fueron previamente hinchadas en agua destilada, liofilizadas y criofracturadas en aire líquido y luego recubiertas con oro. Los tamaños y distribución de poros, así como de las partículas cerámicas fueron obtenidos a partir de estas imágenes y analizados con el programa ImageProplus. Para observar las partículas en la matriz se utilizó un equipo FESEM Zeiss ULTRA plus instrument con mayor resolución que el equipo SEM.

V.2.2.1.2 Calorimetría Diferencial De Barrido (DSC). Los ensayos se realizaron en un calorímetro TA Instrument Q2000. Las muestras se calentaron en atmósfera de nitrógeno desde temperatura ambiente hasta 37 °C a 10 °C/min y se mantuvieron durante 15 minutos a esa temperatura, luego se calentaron hasta 260 °C a la misma velocidad de calentamiento. Se determinó la temperatura de fusión T_f y se calculó el porcentaje de cristalinidad $X_{cr}\%$ según:

$$X_{cr}\% = \frac{\Delta H}{\Delta H^o \times w_{PVA}} \times 100 \quad (1)$$

Donde ΔH es el calor de fusión medido entre 190 y 240 °C, ΔH^o es el calor de fusión del material 100% cristalino (138,6 J/g) [28] y w_{PVA} es la fracción másica del polímero en el compuesto.

V.2.2.1.3 Ensayos Termogravimétricos (TGA). Los ensayos se realizaron en un equipo Shimadzu TGA-DTGA50, desde temperatura ambiente hasta 900 °C a 10 °C/min en atmósfera de Nitrógeno. Las muestras se secaron a 37 °C durante 48 horas antes de ser analizadas. Se determinó la temperatura de degradación T_p y el porcentaje de inorgánico $I\%$ como la masa residual al final del ensayo (900 °C).

V.2.2.1.4 Difracción de Rayos X (DRX). Los ensayos se realizaron utilizando un equipo Analytical Expert Instrument ($K_{Cu}=1.54 \text{ \AA}$) desde $2\theta = 3^\circ$ a 60° a $2^\circ/\text{minutos}$ a temperatura ambiente. La tensión del generador fue de 40 kV y la corriente de 40 mA.

V.2.2.1.5 Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR). Se obtuvieron espectros FTIR de los hidrogeles con el accesorio de reflexión total atenuada y se analizaron en el espectrómetro Perkin Elmer Spectrum 100 con una resolución de 4 cm^{-1} realizando 32 barridos de cada muestra, desde 4000 a 600 cm^{-1} .

V.2.2.2 Métodos de evaluación de la capacidad de hinchamiento.

V.2.2.2.1 Determinación de la Fracción de Gel (FG%). Se determinó pesando una muestra previamente secada en estufa a 37 °C durante 48 horas (M) y sumergiéndola en agua destilada por 4 días asegurando que llegara al equilibrio, se volvió a secar a 37 °C hasta peso constante (M) y se determinó la fracción de gel, como:

$$FG\% = \frac{M_f - M_r}{M_i - M_r} \times 100 \quad (2)$$

donde M y M son las masas de la muestra seca, antes y después del hinchamiento respectivamente y M es la masa de HA.

V.2.2.2.2 Determinación del Grado de Hinchamiento. Se estudió el hinchamiento de los hidrogeles sumergiendo las muestras en agua destilada a 23 °C. Las muestras fueron pesadas antes de comenzar el ensayo (M_i). Las muestras fueron extraídas del agua a diferentes tiempos, secadas cuidadosamente en la superficie con papel absorbente y pesadas (M_t). Este procedimiento fue repetido hasta que la muestra alcanzó un peso constante (M_s). El porcentaje de hinchamiento a cada tiempo se calculó como:

$$M_t \% = \frac{M_t - M_i}{M_i} \times 100 \quad (3)$$

V.2.2.3. Métodos de Caracterización Mecánica.

V.2.2.3.1 Ensayos de Compresión. Se realizaron ensayos de compresión en una máquina de ensayos universales Instron serie 4467 a temperatura ambiente y a una velocidad de travesa de 5 mm/min. Se utilizó una celda de carga de 30 kN. Las muestras utilizadas para estos ensayos, de aproximadamente 3,5 cm de diámetro y 2 cm de espesor, fueron llevadas hasta el equilibrio de absorción en agua destilada. Los parámetros que se obtuvieron a partir de este ensayo fueron: módulo elástico (E), tensión máxima (σ_{max}) y deformación a la rotura ($\epsilon\%$).

V.2.2.3.2. Ensayos de Tracción. Se realizaron ensayos de tracción uniaxial en una máquina de ensayos universales Instron 3369 a temperatura ambiente a una velocidad de travesa de 50 mm/min y utilizando una celda de carga de 100 N. Las muestras se cortaron en tiras de aproximadamente 12 mm de ancho, 0,15 mm de espesor y 50 mm de largo y se dejaron hinchar hasta el equilibrio (M_s). Se obtuvieron los valores de módulo de Young (E), tensión máxima (σ_{max}) y elongación a la rotura ($\epsilon\%$).

V.2.2.3.3. Análisis Dinámico Mecánico (DMA). Las mediciones de DMA se realizaron en un equipo TA instrument Q800 en dos modos diferentes: multitensión y multifrecuencia. Los hidrogeles fueron llevados hasta el equilibrio en absorción con agua destilada (M_s) antes de ser ensayados. La configuración seleccionada fue dual cantiléver (**Figura V.2**), donde se sujeta al hidrogel en 3 puntos permitiendo el correcto agarre del mismo para realizar estas mediciones, debido al carácter elastomérico y resbaladizo del material, es una de las mejores opciones para el ensayo. Para ello se cortaron barras de aproximadamente 10 mm x 1,5 mm x 60 mm, para el modo multitensión se aplicaron fuerzas de 0,001 a 0,3 N a 25 °C a una frecuencia de 0,3 Hz. Para el modo multifrecuencia se aplicaron frecuencias de 0,1 a 1 Hz a 25 °C con una fuerza de 0,04N. De estos ensayos se obtuvieron los módulos de pérdida (E'') y de almacenamiento (E').

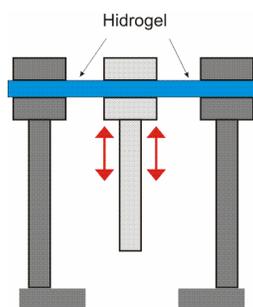


Figura V.2. Configuración dual cantiléver utilizado en los ensayo dinámico-mecánicos.

V.2.2.3.4 Ensayos de Fricción. Se realizaron ensayos de fricción de los hidrogeles de PVA y PVA/HA en una máquina de ensayos universales Instron serie 4467. Los mismos se llevaron a cabo a temperatura ambiente y a

una velocidad de travesa de 18 mm/min utilizando una celda de carga de 100 N. En una base de acero se colocó una placa de vidrio cubierta con teflón, sobre la cual se apoya una muestra de 12 mm x 12 mm de base y 2 mm de espesor. Arriba de la muestra se coloca una placa de aluminio que la arrastra mediante un hilo multifilamento conectado a una polea y enlazado a la celda de carga, como se observa en la **Figura V.3**.

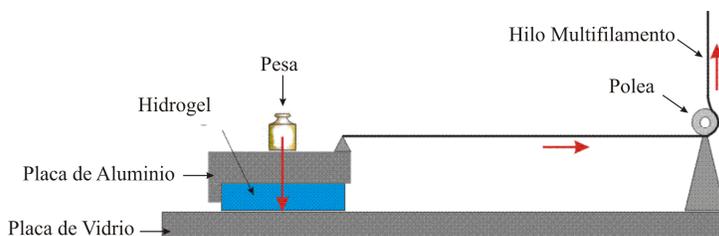


Figura V.3. Dispositivo utilizado para el ensayo de fricción.

Se registró el peso de la placa de aluminio y de la pesa (W), estos valores se utilizaron para calcular el coeficiente de fricción cinético (μ_k). Los datos que se obtuvieron por medio del ensayo fueron la carga (P) necesaria para desplazar el sistema “muestra + placa + pesa” y el desplazamiento de la travesa (Δl). Este ensayo se realizó con los geles completamente hidratados (M_s).

Se calculó el coeficiente de fricción cinético mediante:

$$\mu_k = \frac{P}{W} \quad (4)$$

V.2.2.3.5. Ensayos de Nanoindentación. Estos ensayos se realizaron en un nanoindenter Hysitron serie NT. Para ello se cortaron muestras circulares de hidrogeles de aproximadamente 10 mm de diámetro y 5 mm de espesor. Los hidrogeles habían llegado al nivel máximo de absorción (M_s) antes de realizar los ensayos. Se utilizó el trabajo realizado por Liao y col [29] como referencia. La punta que se utilizó es la de mayor área disponible comercialmente, que se adquirió especialmente para este tipo de materiales muy blandos (tipo cónica de indentación esférica, de diámetro de 500 micrómetros). Se indentaron en 3 regiones distintas y se realizaron 8 indentaciones por región. Con diferentes profundidades de penetración esas 8 indentaciones varían desde 500 a 4000 nm. Las velocidades de carga y descarga fueron de 10 nm/s, con tiempo máximo de desplazamiento de 5 segundos. Las muestras son muy blandas y con mucha adherencia con la punta, por lo que se debieron ajustar varios parámetros antes de hacer el ensayo, entre ellos: la pre-carga (debe ser lo más baja posible), se utilizó 0,1 μN , el tiempo de cálculo y de deriva (drift) del equipo también se disminuyó lo máximo posible (5 segundos) y los tiempos de resolución del piezoeléctrico en 10 segundos.

V.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

V.3.1 Aspecto Macro y Microscópico.

En la **Figura V.4** se muestran las fotografías de los geles con y sin hidroxapatita. Se puede ver que el gel de PVA es transparente, mientras que el agregado de HA opaca y torna a un color blanquecino a los geles.

Se pudo ver que las soluciones con 7,5% de HA no eran estables, se notaba el decantamiento del fosfato, por lo que en el gel se observaban dos fases, una rica en polímero y otra en HA.



Figura V.4. Fotografía de los hidrogeles de PVA (0HA) y de los compuestos PVA/HA

La naturaleza porosa del hidrogel se puede ver en las microfotografías SEM (**Figura V.5**). A partir de éstas y otras varias imágenes (no mostradas) se calculó el tamaño de poro promedio (**Tabla V.1**).

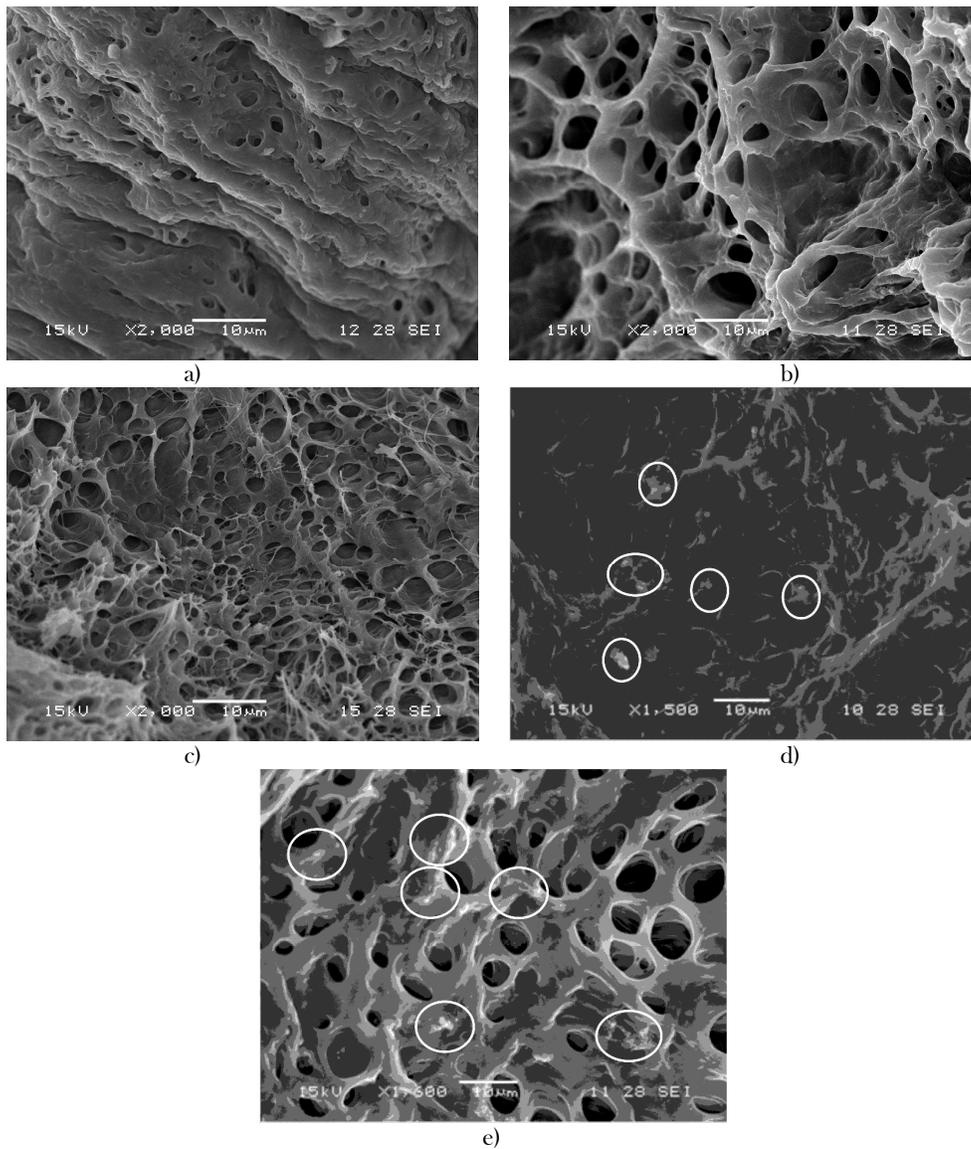


Figura V.5. Imágenes SEM de los hidrogeles de a) PVA, b) 1,5HA, c) 3HA, d) 6HA y e) 7,5HA

Se pueden observar agregados de HA en los geles de 6HA y 7,5HA (marcados con círculos en la **Figura V.5**). El resto de las imágenes SEM no muestran estas aglomeraciones, se decidió inspeccionar en un equipo FESEM (**Figura V.6**) y se observaron pequeñas aglomeraciones en el caso de la muestra 1,5HA y aglomeraciones más marcadas para el caso de la muestra de 3HA, todas estas aglomeraciones tienen tamaños por debajo de las partículas, por lo que se observa en FESEM parte de las partículas están embebidas en la matriz y, por lo tanto, se puede decir que hay buena adhesión entre ambos componentes del material.

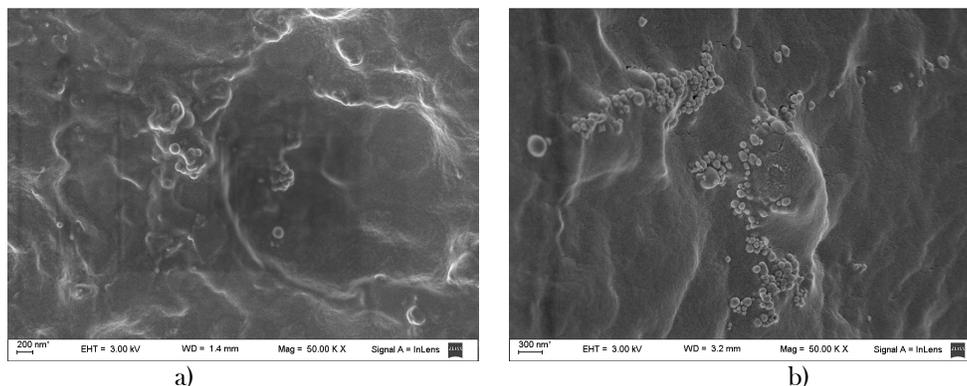


Figura V.6. Imágenes FESEM de los hidrogeles de a) 1,5HA y b) 3HA.

V.3.2. Caracterización Térmica y Física

Las propiedades térmicas y físicas más importantes para este tipo de materiales se resumen en la **Tabla V.1**.

Tabla V.1. Propiedades térmicas y físicas de la matriz y de los geles compuestos con HA.

Muestra	T_f °C	X_{cr} %	<i>Diámetro medio del Poro</i> μm	I %	T_p °C	FG %	M_w %
PVA	227,7	39,4	$0,91 \pm 0,34$	0	293	$92,0 \pm 0,8$	$229,1 \pm 14,4$
1,5HA	229,4	47,5	$3,31 \pm 1,24$	1,7	311	$93,8 \pm 0,6$	$234,8 \pm 7,4$
3HA	227,3	39,8	$2,48 \pm 0,90$	3,8	297	$97,7 \pm 1,3$	$224,8 \pm 20,0$
6HA	228,6	46,7	$5,62 \pm 1,80$	7,8	295	$98,1 \pm 1,8$	$215,5 \pm 20,3$

Los valores obtenidos en la muestra 7,5HA se descartaron ya que estos geles no resultaron homogéneos. Se puede decir que la solución de PVA se satura para dicha concentración de HA.

No ocurrieron cambios significativos en el grado de cristalinidad ni en la temperatura de fusión de los cristales de PVA con el contenido de HA incorporado en los geles.

Por otro lado, es posible observar que el tamaño de poro aumenta significativamente en función del contenido de HA, resultados similares se han obtenido en hidrogeles de poliláctico-co-glicólico [30]. Esto puede deberse a la estabilidad que le provoca el agregado de estos fosfatos cálcicos a la matriz blanda de PVA, evitando que los mismos colapsen [31]. Si bien la técnica utilizada para la obtención de los geles (congelamiento-descongelamiento) se ha utilizado ampliamente para producir estructuras porosas (de poros interconectados) [32-34], este método de preparación dificulta mucho el control preciso del tamaño de poro. Por lo tanto, una posible opción, para el control del poro podría ser entonces la incorporación de HA.

Los resultados obtenidos muestran que la fracción de gel del material aumenta a medida que el contenido de HA se hace mayor, indicando que el agregado del refuerzo influye en el entrecruzamiento de la red [35-36]. También puede notarse un incremento en la temperatura de degradación en el caso de 1,5HA, lo que indica una buena interacción entre el polímero y el cerámico [37]. En los otros casos, esta propiedad se mantiene casi constante, lo que indicaría que la interacción entre los componentes del material no es buena, este resultado puede relacionarse con la aglomeración de los fosfatos que ocurre a partir del 3% de HA de acuerdo a lo que muestran las microfotografías.

Todo lo anteriormente descrito indica que el agregado de nano-HA contribuye al entrecruzamiento de la red, sin influir notablemente sobre la cantidad de cristales ni su tamaño, lo que permitiría inferir que las partículas de HA se ubican en los puntos de entrecruzamiento de la red. Esto podría deberse a la formación de puentes de hidrógeno entre el refuerzo y el polímero [36].

El comportamiento en el hinchamiento de la red es un proceso que está principalmente relacionada a la región amorfa del compuesto [38], donde se absorbe agua libre o se forman puentes de hidrógeno entre el agua y las cadenas de PVA. Luego, el valor de M_w está determinado por la región amorfa y los grupos hidroxilos libres del compuesto. Por otro lado, al aumentar el contenido de moléculas de HA por unidad de volumen en el compuesto, se incrementa la estabilidad del gel y la cantidad de poros disminuye [38]; sin embargo, al ver la estabilidad que le confiere el agregado de HA a la red, se observó que los poros son mayores con el refuerzo, por lo que estos efectos compiten y se compensan dando como resultado valores similares en el grado de hinchamiento del compuesto.

Con respecto a los espectros de DRX mostrados en la **Figura V.7** se puede observar que los hidrogeles de PVA son semicristalinos y muestran dos picos característicos en 19 y 22° (valores de 2θ). Los picos en valores de $2\theta = 25,8; 31,8; 32,2$ y $32,9^\circ$ indican la estructura cristalina típica de la HA asignados a los planos (2 1 1), (1 1 2) y (3 0 0) de la misma [39-41]. De esto se puede deducir que la HA se ha incorporado a la matriz.

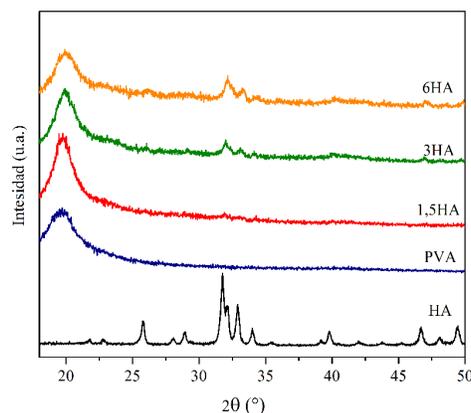


Figura V.7. Patrones de difracción de Rayos X de la matriz, la HA y sus compuestos (PVA/HA).

La **Figura V.8** muestra los espectros FTIR de los geles compuestos, la matriz y la hidroxiapatita.

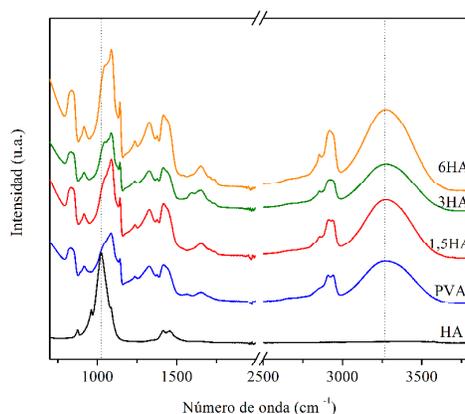


Figura V.8. FTIR de la matriz, la HA y los compuestos (PVA/HA).

Las bandas características de la HA se encontraron en 875, 962, 1024, 1085, 1416, 1455 cm^{-1} [42], al comparar dichas bandas con las presentadas en los compuestos se observaron ligeros desplazamientos en la banda de los grupos fosfato, ubicada en 1045 cm^{-1} , siendo éstos los posibles lugares donde la interacción entre la HA y el PVA ocurre. Además se puede observar un ligero corrimiento de los grupos OH del PVA desde de 3269 a 3278-3280 cm^{-1} en el caso del compuesto, indicando la interacción existente entre el refuerzo y la matriz.

V.3.3. Propiedades Mecánicas.

El cartílago debe cumplir con dos funciones esenciales: 1) distribuir las cargas articulares sobre una área amplia y disminuir así las sollicitaciones mantenidas por el contacto de las superficies articulares y 2) permitir el movimiento relativo de las superficies articulares opuestas con mínima fricción y desgaste [43]. En las actividades comunes, el cartílago articular está sometido mayoritariamente a cargas de compresión, por lo cual es importante determinar las propiedades del material en dicha sollicitación [44].

Las curvas tensión-deformación de los materiales estudiados obtenidas en un ensayo de compresión se muestran en la **Figura V.9**.

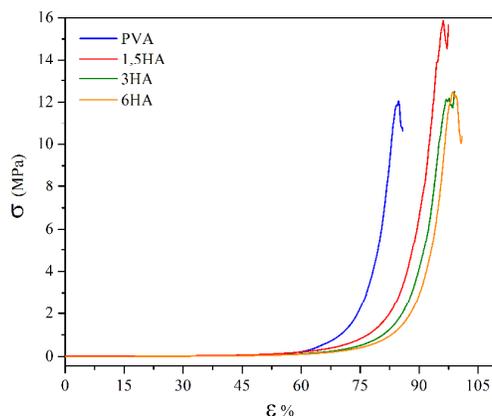


Figura V.9. Curvas tensión- deformación obtenidas en el ensayo de compresión de los geles.

Las mismas se corresponden con el comportamiento de un sólido elástico no lineal [45]. El comportamiento bajo tensión de los hidrogeles depende significativamente de la estructura del polímero y del fluido intersticial (es decir, del medio), lo cual es consistente con el comportamiento de los cartílagos articulares [46]. Una vez

aplicada la carga, las cadenas poliméricas del hidrogel se reorientan y modifican su posición relativa; mientras que el líquido intersticial comienza a escurrir y a salir del hidrogel. En este punto, se requiere aplicar una carga relativamente pequeña para lograr una considerable deformación. Mientras continúa la aplicación de la carga, la orientación de las cadenas tiende a ser uniforme, y la fricción causada por el flujo del fluido intersticial comienza a producir un efecto endurecedor del material, es decir, se requiere mayor esfuerzo para lograr deformar al hidrogel [46].

A partir de los ensayos de compresión se obtuvieron los valores mostrados en la **Tabla V.2**.

Tabla V.2. Propiedades mecánicas en compresión de los hidrogeles de PVA y PVA/HA

Muestra	E MPa	σ MPa	ε %
PVA	93,3 ± 4,6	12,1 ± 0,5	94,4 ± 8,6
1,5HA	166,1 ± 51,0	16,9 ± 2,0	91,6 ± 11,1
3HA	136,2 ± 21,1	15,8 ± 3,3	93,6 ± 3,2
6HA	120,0 ± 37,1	16,3 ± 3,3	96,7 ± 1,9

Se observan mejoras en las propiedades mecánicas en los compuestos en comparación con la matriz sola; siendo el gel compuesto 1,5HA el que exhibe mejor comportamiento mecánico. Estos resultados confirman lo ya observado en las micrografías, que a mayores concentraciones de HA se producen agregados de nanopartículas lo que coincide también con los resultados de las caracterizaciones térmicas y físicas.

La disminución del módulo elástico al incrementar el contenido de partículas de refuerzo, se atribuye a la aglomeración de partículas presente en los hidrogeles con contenido mayor a 1,5 % de HA observadas en las microfotografías y es consistente con lo reportado por otros autores [47]. Se sabe que la resistencia mecánica de los criogeles de PVA se debe a las regiones cristalinas del material y que tanto el módulo elástico como la elongación a la rotura de los mismos dependen de la zona amorfa de los geles y del agua libre que fluye en la red polimérica [48-49]. En todos los casos, los módulos de compresión de los hidrogeles fueron superiores a las del cartílago saludable, que varía entre 0,1 y 2 MPa [9, 50].

Las tensiones que tienen que soportar las articulaciones típicamente se encuentran en el rango de 1 a 6 MPa para actividades diarias suaves o moderadas [51-52] mientras que, bajo condiciones extremas, pueden llegar a tener que soportar tensiones del orden de 12 MPa [53-54]. Luego, un resultado relevante es que los materiales desarrollados son capaces de soportar esfuerzos mayores incluso a estos valores.

Se espera que las propiedades mecánicas del polímero mejoren eficazmente mediante la adición de las nanopartículas inorgánicas a la matriz debido a su alta resistencia mecánica y a la energía superficial además de las interacciones que se generen entre la matriz y el refuerzo [44, 55]. Así, la adición de nanopartículas de HA en la matriz de PVA gelada puede mejorar la resistencia mecánica de los compuestos. Por otra parte, mientras que el contenido de nano-HA es superior a un cierto porcentaje, las partículas de HA también pueden ser fácilmente aglomeradas debido a su alta energía superficial. Se sabe que los aglomerados de nano-partículas de HA deterioran las propiedades mecánicas de los materiales compuestos [56]. De acuerdo a lo anteriormente expuesto, se puede concluir que el compuesto 1,5HA reúne las mejores características mecánicas evaluadas en compresión.

Los hidrogeles bajo carga responden dependiendo tanto de la estructura del polímero como de la cantidad de fluido intersticial que contienen, comportamiento similar y característico del cartílago articular [57].

Las tensiones de tracción también son percibidas por el cartílago articular, incluso cuando se comprime [58], por lo que esta propiedad también se debe evaluar. Los resultados obtenidos de los ensayos de tracción (en hidrogeles hidratados y sin la aplicación de ningún tratamiento térmico) se resumen en la **Tabla V.3**.

Tabla V.3. Propiedades mecánicas en tracción de los hidrogeles de PVA y PVA/HA hidratados

Muestra	E kPa	σ_{max} kPa	ϵ %
PVA	250 ± 50	220 ± 50	166 ± 51
1,5HA	333 ± 80	200 ± 60	52 ± 23
3HA	355 ± 76	168 ± 28	49 ± 24
6HA	460 ± 20	217 ± 53	44 ± 14

Se observan diferencias en todas las mediciones con respecto al capítulo anterior de un orden de magnitud, esto se atribuye a que el hidrogel fue ensayado sin previamente haber sido secado o tratado térmicamente. Sin embargo, es posible notar que la incorporación de HA en la matriz aportan a la mejora en las propiedades mecánicas en tracción, notándose que con 1,5 % de HA se obtienen los mejores valores. El módulo de Young en tracción de un cartílago normal fluctúa entre 5 y 25 MPa, según su ubicación en el cuerpo bajo condiciones de ensayo similares [58]. En nuestro caso, los valores de los hidrogeles compuestos no se encuentran cercanos a lo normal. Se puede plantear realizar de un tratamiento térmico para poder mejorar esta característica y así alcanzar los valores necesarios para la aplicación.

V.3.4. Propiedades Viscoelásticas.

En primera instancia se realizó el ensayo DMA en modo multitensión, de donde se obtuvo que a valores de Fuerza de 0,04 N se veía un *plateau* en los valores de E' y E'' , a esa fuerza se mantenía constante, como se ha hallado por otros autores [59] por lo que se utilizó ese valor para realizar ensayos de multifrecuencia. La **Tabla V.4** muestra los valores de los módulos elástico y viscoso obtenidos.

Tabla V.4. Propiedades viscoelásticas de los hidrogeles de PVA y PVA/HA

Muestra	E' MPa	E'' kPa
0	2,00	7,9
1,5HA	5,20	27,0
3HA	1,98	19,0

Como primera observación, de la tabla se ve que los valores de E' son mucho mayores que E'' ; esto se debe a interacciones muy fuertes existentes entre las cadenas del polímero (uniones elásticas) [60] [61].

Por otra parte, de la tabla anterior se desprende que los valores de ambos módulos se incrementan al agregar HA mostrando el efecto de refuerzo de estas partículas [61]. Tal como se analizó en los anteriores apartados, este efecto no se observa en la muestra 3HA, lo que indica que para esa concentración se generan aglomerados debido a que existe mayor interacción entre las partículas que entre éstas y el polímero.

V.3.5 Coeficiente de fricción.

Para poder utilizarse como reemplazo de prótesis articulares es importante que los implantes de hidrogeles posean un bajo coeficiente de fricción, para minimizar el desgaste de las juntas articulares [49].

Las propiedades de fricción de los hidrogeles están determinadas principalmente por sus propiedades mecánicas y por su contenido de agua [46]. Por un lado, bajo la misma carga normal, la mejora de la resistencia a la compresión aumenta la capacidad anti-deformación de los hidrogeles y disminuye la superficie de contacto con el teflón. Esto se traduce en la disminución de la fuerza de rozamiento y, consecuentemente, la reducción del coeficiente de fricción. Por otro lado, bajo la misma carga normal, el agua libre que se escurre hacia la superficie de fricción aumenta con el contenido de agua de las muestras. Esto hace que la lubricación en la superficie de fricción se vuelva mayor, lo que conduce a una disminución en el coeficiente de fricción [46].

La **Tabla V.5** muestra los valores de coeficiente de fricción obtenidos para los hidrogeles de PVA y PVA/HA.

Tabla V.5. Coeficientes de fricción de los hidrogeles de PVA y PVA/HA

Muestra	μ
0	0,073 ± 0,024
1,5HA	0,123 ± 0,005
3HA	0,074 ± 0,009
6HA	0,076 ± 0,027

El mayor coeficiente de fricción fue obtenido para las muestra de 1,5 % de refuerzo ya que su resistencia a la compresión es notablemente superior a la de las demás composiciones y tiene similar contenido de agua [46]. En todos los casos, estos hidrogeles tienen mecanismos de lubricación bifásicos, al igual que los cartílagos, debido a su estructura porosa y a la gran cantidad de agua que aloja en su interior, por lo que el fluido soporta la carga reduciendo significativamente la interfaz de contacto y, por lo tanto, el coeficiente de fricción [8]. Estos resultados son prometedores ya que se ha encontrado que el coeficiente de fricción medido por este método en cartilago articular de rodilla es de aproximadamente 0,107 [62].

V.3.6. Propiedades de Superficie (Ensayos de Nanoindentación Instrumentada)

Una de las claves para la formación de nuevo tejido es la rigidez de contacto y la dureza del material utilizado como andamio; a partir de estas propiedades se sabrá si el material será capaz de generar tejido cartilaginosa articular [63]. La técnica de nanoindentación provee un procedimiento de testeo de alta relevancia fisiológica para determinar las propiedades viscoelásticas del material en la escala de los constituyentes del cartilago natural (nanométrica) [64]. Por otra parte, esta técnica proporciona una mejor comprensión del comportamiento mecánico en la nano escala y, por lo tanto, da información adicional sobre el comportamiento de la zona superficial del material [65], la que se espera que esté en contacto con el hueso.

El ensayo de nanoindentación consiste en indentar a un material con fuerzas del orden de los nN y generar improntas del orden de los μm , mientras se registran las curvas fuerzas- desplazamiento o penetración del indentador (P-h) tanto en la carga y como en la descarga. Uno de los puntos críticos a tener en cuenta para materiales muy blandos (Módulos de Young < 1 MPa) es la selección de la punta a utilizar. Se escogió para los ensayos una punta cónica con final esférico (**Figura V.10**), con el mayor radio que existe en el mercado, ya que

esta geometría provee un área de contacto mayor y mayor rigidez al contacto en la superficie. Además, al no tener ángulos marcados, minimiza la deformación plástica y la concentración de tensiones en el material indentado [66-67].

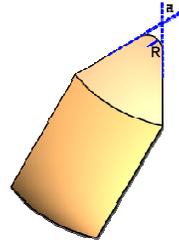


Figura V.10. Indentador cónico de radio R, en nuestro caso 500 μm.

En los ensayos de nanoindentación, un material muy blando se caracteriza por adherirse a la punta o indentador, por lo que en el ensayo se observan fuerzas negativas debido a este efecto como se puede observar en la **Figura V.11**.

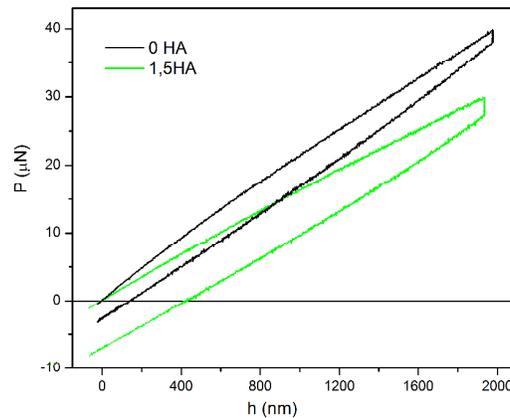


Figura V.11. Curvas fuerza-penetración del indentador obtenidas del ensayo de nanoindentación de las muestras de PVA y 1,5HA.

Cuando se tiene este tipo de comportamiento, se debe calcular u obtener el trabajo de adhesión del material con el nanoindentador para poder obtener valores de módulo y dureza independientes de los parámetros del ensayo. Para esto, se siguió un modelo híbrido, donde utilizan varias mediciones P-h para obtener el trabajo de adhesión. La metodología seleccionada fue la empleada por Liao y col (2010) [21]; dichos autores utilizan un modelo híbrido compuesto del modelo de contacto de adhesión de Johnson-Kendall-Roberts (JKR) donde consideran las interacciones de adhesión [68] y el modelo de Hertz, donde calculan el módulo elástico reducido [69].

Entonces, una vez obtenidas las curvas P-h, se calculan los módulos de Hertz (E^{Hertz}) a diferentes Fuerzas máximas (P_{max}) y se grafican estos valores (**Figura V.12**); aplicando la siguiente ecuación:

$$E^{Hertz} = (1 - \nu^2) \sqrt{\frac{S^3}{6RP_{max}}} \quad (5)$$

donde ν es el módulo de Poisson (0,5 para estos geles [70]), R es el radio nominal del indentador y S la dureza se describe como:

$$S = \left(\frac{dP}{dh}\right)_{h=h_{max}} \tag{6}$$

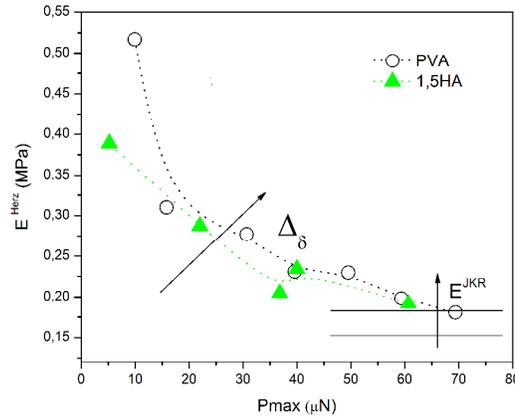


Figura V.12. Módulo de Hertz en función de la carga máxima para los hidrogeles de PVA y 1,5HA.

Como se observa de la **Figura V.12**, el módulo calculado sólo aplicando el modelo de Hertz varía con la P_{max} por lo que la aplicación de este modelo solo no es útil y es necesario aplicar el modelo híbrido JKR-Hertz.

Con estos valores, utilizando el modelo híbrido y haciendo un ajuste de los parámetros (para lo que se utilizó el programa MathCad) se pueden obtener los valores del Trabajo de Adhesión ($\Delta\delta$) sin realizar otro tipo de ensayo y el módulo de JKR (E^{JKR}) que es un valor independiente de la carga máxima aplicada.

Las ecuaciones utilizadas del modelo híbrido son:

$$E^{Hertz} = (1 - \nu^2) \sqrt{\frac{1}{6RP_{max} \times S^*}} \tag{7}$$

donde S^* se describe en la siguiente ecuación:

$$S^* = \sqrt[3]{\frac{1}{R \cdot P_{adh}} \left(\frac{3}{E^{JKR}}\right)^2} \frac{1}{\sqrt{1 - P_{max}/P_{adh}}} \times \left[\frac{1}{18} \left(\frac{1 + \sqrt{1 - P_{max}/P_{adh}}}{2}\right)^{-2} - \frac{1}{3} \left(\frac{1 + \sqrt{1 - P_{max}/P_{adh}}}{2}\right)^{\frac{1}{3}} \right] \tag{8}$$

Las variables que se calculan de este modelo son: el módulo E^{JKR} y la fuerza de adhesión P_{adh} .

Las **Figuras V.13** (a y b) muestran el ajuste del modelo en los datos obtenidos.

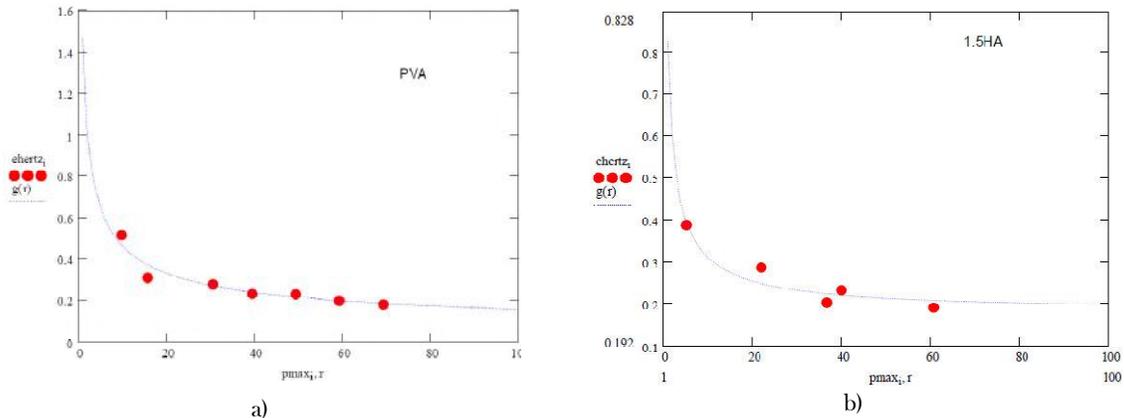


Figura V.13. Ajuste con el modelo híbrido de los datos obtenidos de las muestras de a) PVA y b) 1,5HA.

Se calcula el trabajo de adhesión con la siguiente ecuación:

$$\Delta\delta = \frac{-2}{3} \frac{P_{adh}}{\pi R} \quad (9)$$

Los valores obtenidos se observan en la **Tabla V.6**.

Tabla V.6. Módulos y trabajos de adhesión obtenidos de ensayos de nanoindentación para las muestras de PVA y 1,5HA.

Muestra	E^{RR} kPa	$\Delta\delta$ mJ/m ²	E MPa
PVA	80	231,4	19-37
1,5HA	250	7,43	18-50

Otros autores han demostrado que la técnica de nanoindentación es aplicable para mediciones de tejidos cartilaginosos hidratados [63] [64] y de hidrogeles [64]. El inconveniente que surge es que las mediciones que existen de cartílago se hicieron siguiendo otros modelos, donde se calculó el módulo reducido y a diferentes fuerzas máximas (ya que varían con éstas) [63]. Se han reportado valores de 1-50 MPa para los cartílagos articulares, dependiendo la fuerza, la profundidad de indentación y el tipo de medio que se usó para hidratarlos [63-64, 71]. Para poder comparar con la bibliografía, se calculó el módulo reducido E_r utilizando la aproximación de Oliver-Pharr [72] y las ecuaciones específicas para el indentador esférico [73]. Esto lo realiza automáticamente el software del equipo Hysitron. A modo de ejemplo se muestran en la **Figura V.14** los datos más importantes que se obtienen de las curvas P-h para este modelo.

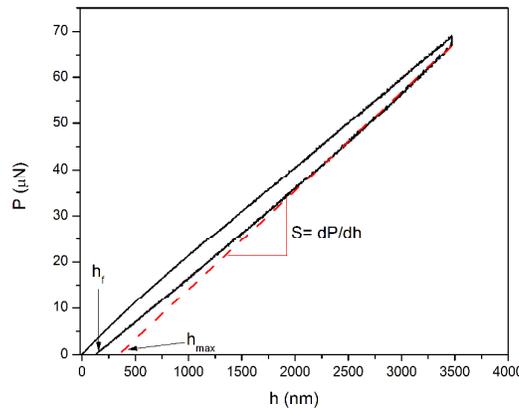


Figura V.14. Curva P-h con los parámetros a utilizar en la aproximación de Oliver-Pharr

Las ecuaciones que se utilizan para este modelo son:

$$E_r = \frac{S\sqrt{\pi}}{2\sqrt{A_c}} \quad (10)$$

donde E_r es el módulo reducido, A_c se define como el área de contacto y para el indentador utilizado tiene la siguiente ecuación:

$$A_c = 2\pi R h_c \quad (11)$$

donde h_c es:

$$h_c = \frac{h_{max} - h_f}{2} \quad (12)$$

Los valores obtenidos con este modelo se incluyen también en la **Tabla V.5**.

Como primera conclusión, se pudo observar que este modelo híbrido es el mejor modelo para el material en cuestión, ya que no varía con las condiciones del ensayo y tiene en cuenta la adhesión del indentador con el gel. A diferencia del otro modelo que no considera esta adhesión y considera además que el material es lineal elástico. Igualmente, comparando con los valores obtenidos de cartílagos articulares en bibliografía, el material se encuentra dentro del rango esperado [63-64, 71].

Con respecto a las muestras utilizadas, sólo se midieron los geles de PVA y 1,5HA ya que de las caracterizaciones anteriores se desprende que 1,5HA tiene mejores propiedades y, al ser un ensayo muy complejo de llevar a cabo, debido a la naturaleza del material, se optó por evaluar sólo estos dos geles. Se puede observar que hay un aumento en el módulo elástico debido a la incorporación de HA resultado esperable debido al aporte de “dureza” de las partículas de HA y una disminución en el trabajo de adhesión debido, posiblemente a la disminución del área de contacto del polímero con el indentador causado por la presencia de HA.

V.4. CONCLUSIONES

En esta parte de la tesis fue posible obtener y caracterizar hidrogeles de PVA/HA utilizando la técnica de congelamiento-descongelamiento. Se observaron pequeñas aglomeraciones en el caso de la muestra con 1,5 % de HA y aglomeraciones más marcadas para muestras con mayores contenidos de HA. No ocurrieron cambios significativos en el grado de cristalinidad ni en la temperatura de fusión de los cristales de PVA con el contenido de HA incorporado a los geles.

Por otro lado, fue posible observar que el tamaño de los poros aumenta significativamente en función del contenido de HA, esto puede deberse a la estabilidad que le provoca el agregado de estos fosfatos cálcicos a la matriz blanda de PVA, evitando que los mismos colapsen. Los resultados obtenidos indican que el agregado de nano-HA contribuye al entrecruzamiento de la red, sin influir notablemente sobre la cantidad de cristales ni su tamaño, lo que permitiría inferir que las partículas de HA se ubican en los puntos de entrecruzamiento de la red. Esto podría deberse a la formación de puentes de hidrógeno entre el refuerzo y el polímero.

Se obtuvieron mejoras en las propiedades mecánicas en los compuestos en comparación con la matriz sola, siendo el gel compuesto 1,5HA el que exhibe mejor comportamiento mecánico. Estos resultados confirman lo ya observado en las micrografías, que a concentraciones mayores de HA se producen agregados mayores de nanopartículas lo que coincide también con los resultados de las caracterizaciones térmicas y físicas.

En todos los casos, los geles tienen mecanismos de lubricación bifásicos, al igual que los cartílagos, debido a su estructura porosa y a la gran cantidad de agua que aloja en su interior, por lo que el fluido soporta la carga reduciendo significativamente la interface de contacto y, por lo tanto, el coeficiente de fricción.

Se ha visto que la técnica de nanoindentación es aplicable para mediciones de hidrogeles y se ha encontrado un modelo que ajusta los parámetros. El inconveniente que surge es que las mediciones que existen de cartílago, se hicieron siguiendo otros modelos, donde se calculó que el módulo reducido y a diferentes fuerzas máximas (ya que varían con éstas), lo que dificulta la comparación con los parámetros obtenidos.

Todos los resultados obtenidos hasta el momento indican que, dentro de los materiales estudiados, los hidrogeles de PVA con 1,5 % de hidroxiapatita serían los más adecuados para utilizarse como reemplazo de

cartílagos articulares. Se puede concluir que el PVA /HA hidrogel es un potencial material para la reparación del cartílago articular.

V.5. TRABAJO A FUTURO.

Para mejorar las propiedades mecánicas de los geles, de modo de hacerlos aptos para ser aplicados como reemplazo articular, se formularán geles multicapas (**Figura V.15**), en primera instancia geles compuestos con fibras de polietilenos de ultra alto peso molecular (UHMWPE) y se agregarán geles compuestos con HA para aprovechar tanto las buenas propiedades mecánicas de los compuestos con fibras como las propiedades osteoconductoras de la HA (y las buenas propiedades de fricción y en nanoindentación que se observaron en el presente capítulo). Actualmente se está co-dirigiendo una tesis de grado con este objetivo.

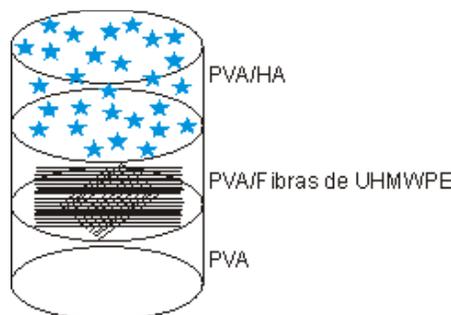


Figura V.15. Geles multicapas.

Referencias.

1. Jackson, D.W.; Simon, T.M. y Aberman, H.M., *Symptomatic Articular Cartilage Degeneration: The Impact in the New Millennium*. Clinical Orthopaedics and Related Research, 2001. **391**: p. S14-S25.
2. Hunziker, E.B., *Articular cartilage repair: basic science and clinical progress. A review of the current status and prospects*. Osteoarthritis and Cartilage, 2002. **10**(6): p. 432-463.
3. Sangha, O., *Epidemiology of rheumatic diseases*. Rheumatology, 2000. **39**(2): p. 3-12.
4. Woolf, A.D. y Pfleger, B., *Burden of major musculoskeletal conditions*. Bulletin of the World Health Organization, 2003. **81**: p. 646-656.
5. Vannini, F.; Filardo, G.; Kon, E.; Roffi, A.; Marcacci, M. y Giannini, S., *Scaffolds for cartilage repair of the ankle joint: The impact on surgical practice*. Foot and Ankle Surgery, 2013. **19**(1): p. 2-8.
6. Charlton, D.C.; Peterson, M.G.E.; Spiller, K.; Lowman, A.; Torzilli, P.A. y Maher, S.A., *Semi-degradable scaffold for articular cartilage replacement*. Tissue Engineering - Part A., 2008. **14**(1): p. 207-213.
7. Zhao, W.; Jin, X.; Cong, Y.; Liu, Y. y Fu, J., *Degradable natural polymer hydrogels for articular cartilage tissue engineering*. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 2013. **88**(3): p. 327-339.
8. Shi, Y. y Xiong, D., *Microstructure and friction properties of PVA/PVP hydrogels for articular cartilage repair as function of polymerization degree and polymer concentration*. Wear, (0).
9. Spiller, K.L.; Holloway, J.L.; Gribb, M.E. y Lowman, A.M., *Design of semi-degradable hydrogels based on poly(vinyl alcohol) and poly(lactic-co-glycolic acid) for cartilage tissue engineering*. Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine, 2011. **5**(8): p. 636-647.
10. Kobayashi, M. y Hyu, H.S., *Development and Evaluation of Polyvinyl Alcohol-Hydrogels as an Artificial Articular Cartilage for Orthopedic Implants*. Materials, 2010. **3**(4): p. 2753-2771.
11. Chang, Y.S.; Oka, M.; Kobayashi, M. y col., *Significance of interstitial bone ingrowth under load-bearing conditions: a comparison between solid and porous implant materials*. Biomaterials, 1996. **17**(11): p. 1141-1148.
12. Chang, Y.S.; Gu, H.O.; Kobayashi, M. y Oka, M., *Comparison of the bony ingrowth into an osteochondral defect and an artificial osteochondral composite device in load-bearing joints*. The Knee, 1998. **5**(3): p. 205-213.
13. Chang, Y.-S.; Gu, H.-O.; Kobayashi, M. y Oka, M., *Influence of various structure treatments on histological fixation of titanium implants*. The Journal of Arthroplasty, 1998. **13**(7): p. 816-825.

14. Kobayashi, M. y Oka, M., *Composite Device for Attachment of Polyvinyl Alcohol-hydrogel to Underlying Bone*. Artificial Organs, 2004. **28**(8): p. 734-738.
15. Pereira, D.R.; Silva-Correia, J.; Oliveira, J.M. y Reis, R.L., *Hydrogels in acellular and cellular strategies for intervertebral disc regeneration*. Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine, 2013. **7**(2): p. 85-98.
16. Huang, H.Y.; Liu, Z.H. y Tao, F., *In vivo evaluation of porous Hydroxylapatite ceramic as cervical vertebra substitute*. Clinical Neurology and Neurosurgery, 1997. **99**(1001): p. 20-21.
17. Thamaraiselvi, T.V. y Rajeswari, S., *Biological Evaluation of Bioceramic Materials - A Review*. Trends in Biomaterials and Artificial Organs, 2004. **18**(1): p. 9-17.
18. Staiger, M.P.; Pietak, A.M.; Huadmai, J. y Dias, G., *Magnesium and its alloys as orthopedic biomaterials: A review*. Biomaterials, 2006. **27**(9): p. 1728-1734.
19. Fang, L.; Gao, P. y Leng, Y., *High strength and bioactive hydroxyapatite nano-particles reinforced ultrahigh molecular weight polyethylene*. Composites Part B: Engineering, 2007. **38**(3): p. 345-351.
20. Djošić, M.S.; Mišković-Stanković, V.B.; Milonjić, S. y col., *Electrochemical synthesis and characterization of hydroxyapatite powders*. Materials Chemistry and Physics, 2008. **111**(1): p. 137-142.
21. Ramesh, S.; Tan, C.Y.; Bhaduri, S.B.; Teng, W.D. y Sopyan, I., *Densification behaviour of nanocrystalline hydroxyapatite bioceramics*. Journal of Materials Processing Technology, 2008. **206**(1-3): p. 221-230.
22. Liao, Y.-M.; Feng, Z.-D. y Li, S.-W., *Preparation and characterization of hydroxyapatite coatings on human enamel by electrodeposition*. Thin Solid Films, 2008. **516**(18): p. 6145-6150.
23. Lazić, S.; Zec, S.; Miljević, N. y Milonjić, S., *The effect of temperature on the properties of hydroxyapatite precipitated from calcium hydroxide and phosphoric acid*. Thermochimica Acta, 2001. **374**(1): p. 13-22.
24. LeGeros, R.Z., *Properties of Osteoconductive Biomaterials: Calcium Phosphates*. Clinical Orthopaedics and Related Research, 2002. **395**.
25. LeGeros, R.Z. y LeGeros, J.P., *Calcium phosphate bioceramics: Past, present, future*. Key Engineer Mater, 2003. **240-242** (1-2): p. 3-10.
26. Riman, R.E.; Suchanek, W.L.; Byrappa, K.; Chen, C.-W.; Shuk, P. y Oakes, C.S., *Solution synthesis of hydroxyapatite designer particulates*. Solid State Ionics, 2002. **151**(1-4): p. 393-402.
27. Wang, Y.; Zhang, S.; Wei, K.; Zhao, N.; Chen, J. y Wang, X., *Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite nanopowders using cationic surfactant as a template*. Materials Letters, 2006. **60**(12): p. 1484-1487.
28. Peppas, N.A. y Merrill, E.W., *Differential scanning calorimetry of crystallized PVA hydrogels*. Journal of Applied Polymer Science, 1976. **20**(6): p. 1457-1465.
29. Liao, Q.; Huang, J.; Zhu, T.; Xiong, C. y Fang, J., *A hybrid model to determine mechanical properties of soft polymers by nanoindentation*. Mechanics of Materials, 2010. **42**(12): p. 1043-1047.
30. Cushnie, E.K.; Khan, Y.M. y Laurencin, C.T., *Amorphous hydroxyapatite-sintered polymeric scaffolds for bone tissue regeneration: Physical characterization studies*. Journal of Biomedical Materials Research - Part A, 2008. **84**(1): p. 54-62.
31. Strachotová, B.; Strachota, A.; Uchman, M.; Šlouf, M.; Brus, J.; Pleštil, J. y Matějka, L., *Super porous organic-inorganic poly(N-isopropylacrylamide)-based hydrogel with a very fast temperature response*. Polymer, 2007. **48**(6): p. 1471-1482.
32. Jin, R.; Moreira Teixeira, L.S.; Dijkstra, P.J.; Karperien, M.; Zhong, Z. y Feijen, J., *Fast in-situ formation of dextran-tyramine hydrogels for in vitro chondrocyte culturing*. J. Controlled Release, 2008. **132**(3): p. e24-e26.
33. Lv, Q.; Hu, K.; Feng, Q. y Cui, F., *Fibroin/collagen hybrid hydrogels with crosslinking method: Preparation, properties, and cytocompatibility*. Journal of Biomedical Materials Research Part A, 2008. **84A**(1): p. 198-207.
34. Lin, W.C.; Yu, D.G. y Yang, M.C., *Blood compatibility of novel poly(gamma-glutamic acid)/polyvinyl alcohol hydrogels*. Colloids and surfaces. B, Biointerfaces, 2006. **47**(1): p. 43-49.
35. Zhang, D.K.; Wang, D.G.; Duan, J.J. y Ge, S.R., *Research on the Long Time Swelling Properties of Poly (vinyl alcohol)/Hydroxylapatite Composite Hydrogel*. Journal of Bionic Engineering, 2009. **6**(1): p. 22-28.
36. Huang, X.; Zuo, Y.; Li, J.D. y Li, Y.B., *Study on crystallisation of nano-hydroxyapatite/polyvinyl alcohol composite hydrogel*. Materials Research Innovations, 2009. **13**(2): p. 98-102.
37. Fenglan, X.; Yubao, L.; Xuejiang, W.; Jie, W. y Aiping, Y., *Preparation and characterization of nano-hydroxyapatite/poly(vinyl alcohol) hydrogel biocomposite*. J.Materials Science, 2004. **39**(18): p. 5669-5672.
38. Pan, Y., *Swelling properties of nano-hydroxyapatite reinforced poly(vinyl alcohol) gel biocomposites*. Micro and Nano Letters, 2010. **5**(4): p. 237-240.
39. Ohtsuki, C.; Kokubo, T.; Takatsuka, K. y Yamamuro, T., *Compositional dependence of bioactivity of glasses in the system CaO-SiO₂-P₂O₅: its in vitro evaluation*. Nippon seramikku kyokai, 1991. **99**(1): p. 1-6.

40. Cho, S.B.; Nakanishi, K.; Kokubo, T.; Soga, N.; Ohtsuki, C.; Nakamura, T.; Kitsugi, T. y Yamamuro, T., *Dependence of apatite formation on silica gel on its structure: effect of heat treatment*. Journal of the American Ceramic Society, 1995. **78**(7): p. 1769-1774.
41. Tsuru, K.; Osaka, A.; Ohtsuki, C.; Iwamoto, T. y Mackenzie, J.D. *Bioactivity of sol-gel derived organically modified silicates*. 1996.
42. Rehman, I. y Bonfield, W., *Characterization of hydroxyapatite and carbonated apatite by photo acoustic FTIR spectroscopy*. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 1997. **8**(1): p. 1-4.
43. Chen, S.S.; Falcovitz, Y.H.; Schneiderman, R.; Maroudas, A. y Sah, R.L., *Depth-dependent compressive properties of normal aged human femoral head articular cartilage: relationship to fixed charge density*. Osteoarthritis and Cartilage, 2001. **9**(6): p. 561-569.
44. Pan, Y. y Xiong, D., *Study on compressive mechanical properties of nanohydroxyapatite reinforced poly(vinyl alcohol) gel composites as biomaterial*. J. Materials Science: Materials in Medicine, 2009. **20**(6): p. 1291-1297.
45. Park, K.; Ottenbrite, R.M. y Okano, T., *Biomedical Applications of Hydrogels Handbook*. 2010: Springer New York.
46. Ma, R.; Xiong, D.; Miao, F.; Zhang, J. y Peng, Y., *Novel PVP/PVA hydrogels for articular cartilage replacement*. Materials Science and Engineering C, 2009. **29**(6): p. 1979-1983.
47. Fischer, H., *Polymer nanocomposites: from fundamental research to specific applications*. Materials Science and Engineering: C, 2003. **23**(6-8): p. 763-772.
48. Hassan, C.M.; Ward, J.H. y Peppas, N.A., *Modeling of crystal dissolution of poly(vinyl alcohol) gels produced by freezing/thawing processes*. Polymer, 2000. **41**(18): p. 6729-6739.
49. Stammen, J.A.; Williams, S.; Ku, D.N. y Guldberg, R.E., *Mechanical properties of a novel PVA hydrogel in shear and unconfined compression*. Biomaterials, 2001. **22**(8): p. 799-806.
50. Almarza, A.J. y Athanasiou, K.A., *Design characteristics for the tissue engineering of cartilaginous tissues*. Annals of Biomedical Engineering, 2004. **32**(1): p. 2-17.
51. Herberhold, C.; Faber, S.; Stammberger, T. y col., *In situ measurement of articular cartilage deformation in intact femoropatellar joints under static loading*. Journal of Biomechanics, 1999. **32**(12): p. 1287-1295.
52. Kaab, M.J.; Ito, K.; Clark, J.M. y Notzli, H.P., *Deformation of articular cartilage collagen structure under static and cyclic loading*. Journal of Orthopaedic Research, 1998. **16**(6): p. 743-751.
53. Matthews, L.S.; Sonstegard, D.A. y Henke, J.A., *Load bearing characteristics of the patello-femoral joint*. Acta Orthopaedica Scandinavica, 1977. **48**(5): p. 511-516.
54. Hodge, W.A.; Carlson, K.L.; Fijan, R.S.; Burgess, R.G.; Riley, P.O.; Harris, W.H. y Mann, R.W., *Contact pressures from an instrumented hip endoprosthesis*. Journal of Bone and Joint Surgery - Series A, 1989. **71**(9): p. 1378-1386.
55. Pan, Y.; Xiong, D. y Gao, F., *Viscoelastic behavior of nano-hydroxyapatite reinforced poly(vinyl alcohol) gel biocomposites as an articular cartilage*. J. Materials Science: Materials in Medicine, 2008. **19**(5): p. 1963-1969.
56. Pan, Y. y Xiong, D., *Stress relaxation behavior of nano-hydroxyapatite reinforced poly(vinyl alcohol) gel composites as biomaterial*. Journal of Materials Science, 2010. **45**(20): p. 5495-5501.
57. Park, S.; Hung, C.T. y Ateshian, G.A., *Mechanical response of bovine articular cartilage under dynamic unconfined compression loading at physiological stress levels*. Osteoarthritis and Cartilage, 2004. **12**(1): p. 65-73.
58. Athanasiou, K.A.; Darling, E.M. y Hu, J.C., *Articular Cartilage Tissue Engineering*. Synthesis Lectures on Tissue Engineering, 2009. **1**(1): p. 1-182.
59. Meyvis, T.K.L.; Stubbe, B.G.; Van Steenberghe, M.J.; Hennink, W.E.; De Smedt, S.C. y Demeester, J., *A comparison between the use of dynamic mechanical analysis and oscillatory shear rheometry for the characterisation of hydrogels*. International Journal of Pharmaceutics, 2002. **244**(1-2): p. 163-168.
60. Islam, A.; Riaz, M. y Yasin, T., *Structural and viscoelastic properties of chitosan-based hydrogel and its drug delivery application*. International Journal of Biological Macromolecules, 2013. **59**(0): p. 119-124.
61. Borges, A.C.; Bourban, P.E.; Pioletti, D.P. y Månson, J.A.E., *Curing kinetics and mechanical properties of a composite hydrogel for the replacement of the nucleus pulposus*. Composites Science and Technology, 2010. **70**(13): p. 1847-1853.
62. Qian, S.h.; Ge, S.R. y Wang, Q.L., *The Frictional Coefficient of Bovine Knee Articular Cartilage*. Journal of Bionic Engineering, 2006. **3**(2): p. 79-85.
63. Franke, O.; Durst, K.; Maier, V.; Göken, M.; Birkholz, T.; Schneider, H.; Hennig, F. y Gelse, K., *Mechanical properties of hyaline and repair cartilage studied by nanoindentation*. Acta Biomaterialia, 2007. **3**(6): p. 873-881.
64. Ebenstein, D.M. y Pruitt, L.A., *Nanoindentation of biological materials*. Nano Today, 2006. **1**(3): p. 26-33.
65. Drira, Z. y Yadavalli, V.K., *Nanomechanical measurements of polyethylene glycol hydrogels using atomic force microscopy*. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, 2013. **18**: p. 20-28.

66. Strojny, A.; Xia, X.; Tsou, A. y Gerberich, W.W., *Techniques and considerations for nanoindentation measurements of polymer thin film constitutive properties*. Journal of Adhesion Science and Technology, 1998. **12**(12): p. 1299-1321.
67. Field, J.S. y Swain, M.V., *Determining the mechanical properties of small volumes of material from submicrometer spherical indentations*. Journal of Materials Research, 1995. **10**(1): p. 101-112.
68. Johnson, K.L.; Kendall, K. y Roberts, A.D., *Surface Energy and the Contact of Elastic Solids*. Proceedings of the Royal Society of London. A. Mathematical and Physical Sciences, 1971. **324**(1558): p. 301-313.
69. Hertz, H., *On the contact of elastic solids*. Journal fuer die reine und angewandte Mathematik 1881. **92**: p. 156-171.
70. Urayama, K.; Takigawa, T. y Masuda, T., *Poisson's ratio of poly(vinyl alcohol) gels*. Macromolecules, 1993. **26**(12): p. 3092-3096.
71. Gupta, S.; Lin, J.; Ashby, P. y Pruitt, L., *A fiber reinforced poroelastic model of nanoindentation of porcine costal cartilage: A combined experimental and finite element approach*. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, 2009. **2**(4): p. 326-338.
72. Oliver, W.C. y Pharr, G.M., *An improved technique for determining hardness and elastic modulus using load and displacement sensing indentation experiments*. Journal of Materials Research, 1992. **7**(06): p. 1564-1583.
73. Fischer-Cripps, A.C., *Nanoindentation*. 2004: Springer.

CONCLUSIONES GENERALES

La tesis desarrollada muestra un estudio profundo y completo de hidrogeles compuestos que no ha sido reportado previamente. La principal innovación que se aporta es el conocimiento sobre el comportamiento de este tipo de materiales blandos, con alta capacidad de absorción y obtenidos mediante una técnica sencilla, eficiente, amigable con el medio ambiente y no-tóxica para ser utilizada en productos biomédicos. Este trabajo de investigación permitió arribar las conclusiones, de acuerdo a los objetivos propuestos, que se presentan a continuación:

- En el capítulo II se mostró que fue posible mejorar algunas de las propiedades del hidrogel de PVA modificando: el método de entrecruzamiento, la concentración de PVA, el peso molecular, la cantidad de ciclos de C-D y/o el tratamiento térmico (post gelado), demostrándose así la primera hipótesis de trabajo.
- En el capítulo III se siguieron tres rutas de síntesis diferentes para la obtención de ferrogel, con todas fue posible obtener geles magnéticos por métodos simples y no-tóxicos para poder ser utilizados en biomedicina, por ejemplo para dispositivos de liberación controlada de fármacos, cumpliéndose así la segunda hipótesis de trabajo. Los ferrogel fueron ampliamente caracterizados y estudiados, tanto química, física como magnéticamente.
- En el capítulo IV se formularon hidrogeles nanocompuestos con celulosa y bentonita y se encontró que con la incorporación de los refuerzos fue posible mejorar algunas de las propiedades específicas necesarias para el uso de los hidrogeles de PVA como vendajes. Para ello, en primera instancia se sintetizó y caracterizó la nanocelulosa para luego preparar los geles. Todos los geles nanocompuestos obtenidos fueron completamente caracterizados y estudiados.
- En el capítulo V se demostró que la incorporación de HA puede influir sobre las propiedades mecánicas relevantes para reemplazos articulares. En este capítulo se desarrolló además un vasto análisis de los ensayos de nanoindentación.

De todo lo anterior expuesto se puede concluir que fue posible cumplimentar los objetivos planteados en esta tesis y que se deberá continuar con el estudio de los materiales desarrollados en cada aplicación específica.

TRABAJO A FUTURO

Como puertas abiertas a seguir investigando, se dejan las evaluaciones *in vitro* e *in vivo* de los hidrogeles compuestos para las aplicaciones pensadas. Debido a que escapa de los objetivos de la presente tesis, no se han realizado estos ensayos. Una de las causas por las que no se propuso realizar estos ensayos es debido a nuestra institución no cumple con los laboratorios y servicios necesarios para poder llevar a cabo este tipo de ensayos, para completar estos ensayos se están llevando a cabo convenios con otras instituciones y se espera poder analizar el comportamiento de estos materiales prontamente.

Con respecto a cada compuesto obtenido:

En el caso de los ferrogel, en primera instancia se plantea como continuación de esta tesis la evaluación de estos sistemas en la liberación de fármacos modelos (ibuprofeno y vitamina B) bajo la acción de campos magnéticos alternos. Trabajo que se ha planteado y se está llevando a cabo en conjunto con un grupo de Física de la UNLP. Además, se ha pensado que para el desarrollo de materiales liberadores de fármacos, otra de las posibilidades es llevarlo a la escala de microesferas de hidrogel con MNPs para poder abordar la ruta de administración endovenosa.

Con respecto a los posibles materiales para vendaje de heridas, se propone en primera instancia tomar las micrografías TEM de los compuestos con arcilla para poder corroborar la buena dispersión de la misma en la matriz. Dada la complejidad en el corte de los hidrogeles (por ser materiales muy blandos), aún no se han obtenido micrografías con una nitidez aceptable. En segundo lugar optimizar la técnica de obtención de NC para mejorar la relación l/d de las nanofibras.

Con respecto a los geles de PVA/HA, para mejorar las propiedades mecánicas de los geles, de modo de hacerlos aptos para ser aplicados como reemplazo articular, y a la vez, tener una capa capaz de osteoinducir el hueso para adherirlo a la articulación, se ha comenzado con un proyecto final de carrera de grado donde se formularán geles multicapas, en primera instancia geles compuestos con fibras de polietileno de ultra alto peso molecular y se agregarán geles compuestos con HA para aprovechar tanto las buenas propiedades mecánicas de los compuestos con fibras como las propiedades osteoconductoras de la HA.

PRODUCCIÓN CIENTÍFICA

Publicaciones en revistas periódicas.

- "Magnetic properties study of iron-oxide nanoparticles/PVA ferrogels with potential biomedical applications" P. Mendoza Zelis, D. Muraca, **J.S. Gonzalez**, G. Pasquevich, V. A. Alvarez, K. R. Pirota, F. H. Sanchez. *J Nanopart Res* (2013) 15:1613.
- "Fabrication of ferrogels using different magnetic nanoparticles and their performance on protein adsorption". **J.S. Gonzalez**, P. Nicolás, M.L. Ferreira, M. Avena, V.L. Lassalle and V.A. Alvarez. *Polymer International*. *En prensa*.
- "Structural And Magnetic Behavior Of Ferrogels Obtained By Freezing Thawing Of Polyvinyl Alcohol/Poly(Acrylic Acid) (Paa)-Coated Iron Oxide Nanoparticles" O. Moscoso-Londoño, **J.S. Gonzalez**, D. Muraca, C. E. Hoppe, V.A. Alvarez, A. López-Quintela, L. M. Socolovsky, K. R. Pirota. *European Polymer Journal* (2013) 49:279-289.
- "Composite gels based on Poly (vinyl alcohol) for biomedical uses" **J.S. Gonzalez**, A.S. Maiolo, C.E. Hoppe and V.A. Alvarez. *Procedia Materials Science* (2012) 1:483 - 490.
- "Development and characterization of Poly (vinyl alcohol) based hydrogels for potential use as an articular cartilage replacement." A. S. Maiolo, M. N. Amado, **J. S. Gonzalez** and V. A. Alvarez. *Materials Science and Engineering C* (2012) 32:1490-1495 (IF:2.178).
- "Synthesis and Characterization of PVA Ferrogels obtained through a One-pot Freezing-Thawing Procedure." **J.S. Gonzalez**, C.E. Hoppe, D Muraca, F.H. Sánchez and V A. Alvarez. *Colloid and Polymer Science* (2011) 289:1839-1846. doi: 10.1007/s00396-011-2501-1. (IF:2.443).
- "The effect of the annealing on the poly(vinyl alcohol) obtained by freezing-thawing". **J.S. Gonzalez** and V.A. Alvarez. *Thermochimica Acta*. (2011) 521:184-190. doi:10.1016/j.tca.2011.04.022. (IF:1.899).

Capítulos de Libro.

- "Hydrogels based on Poly(vinyl alcohol) for Cartilage Replacement" J. Volpe, L. M. Masi, V.A. Alvarez and **J.S. Gonzalez**, In *Biomedical Composites* editor: J.P. Davim , De Gruyter, Berlin Alemania, *en prensa*.
- "Polymeric micro and nanoparticles as drug carriers and controlled release devices: New developments and future perspectives" M.T. Chevalier, **J.S. Gonzalez** and V.A. Alvarez, In: *Advances in Materials Science Research*. Editor: Maryann C. Wythers. Nova Science Publishers, Inc. NY-USA *en prensa*.
- "Composite PVA Hydrogels Applications in Biomedicine: Overview of Current Developments" **J.S. Gonzalez** and V.A. Alvarez, In: *Advances in Materials Science Research*. Volume 15. Chapter 6. ISBN: 978-1-62417-168-0 Editor: Maryann C. Wythers. Nova Science Publishers, Inc. NY-USA 2013.
- "Poly (vinyl alcohol) Ferrogels: Synthesis and Applications". **J.S. Gonzalez**, C.E. Hoppe and V. A. Alvarez. In: *Advances in Materials Science Research*. Volume 13. Chapter 8. ISBN: 978-1-62100-804-0. Editor: Maryann C. Wythers. Nova Science Publishers, Inc. 2012.
- "Poly(vinylalcohol) hydrogels: Influence of Processing Variables on General Behavior and Drug Release Device Performance". **J.S. Gonzalez** and V.A. Alvarez. In: *Advances in Materials Science Research*. Volume 10. Chapter 8. ISBN 978-1-61324-511-8. Editor: Maryann C. Wythers, pp. 265-285. Nova Science Publishers, Inc. 2011.

Congresos y Reuniones Científicas.

- “Hidrogeles multicapas de PVA / fibras de UHMWPE -PVA/nano-HA para reemplazo de cartílagos articulares: obtención y caracterización.” L. M. Masi, J. Volpe, VA Alvarez y JS Gonzalez. X Simposio Argentino de Polímeros, Buenos Aires- Argentina. Presentación de un poster- Congreso Internacional. Fecha: 28-30/08/2013.
- “Caracterización de hidrogeles compuestos de PVA reforzados con fibras de UHMWPE para reemplazo articular” J. Volpe, L. M. Masi, JS Gonzalez y VA Alvarez. X Simposio Argentino de Polímeros, Buenos Aires-Argentina. Presentación de un poster- Congreso Internacional. Fecha: 28-30/08/2013.
- “Efecto de la Distribución y Concentración de Fibras de UHMWPE sobre las Propiedades Mecánicas de Hidrogeles Compuestos de PVA para Reemplazo Articular.” L. M. Masi, J. Volpe, JS Gonzalez y VA Alvarez. 13er Congreso Internacional en Ciencia y Tecnología de Metalurgia y Materiales, Iguazú - Argentina. Presentación de un poster- Congreso Internacional. Fecha: 20-23/08/2013.
- “Hidrogeles de PVA compuestos con Hidroxiapatita para Reemplazo Articular” JS Gonzalez y VA Alvarez. 13er Congreso Internacional en Ciencia y Tecnología de Metalurgia y Materiales, Iguazú-Argentina. Presentación oral- Congreso Internacional. Fecha: 20-23/08/2013.
- “Poly(vinyl alcohol)/cellulose composites for different applications” RP Ollier, JS Gonzalez, L. Ludueña, C. Perez, VA Alvarez. Frontiers in Polymer Science. Sitges-España. Presentación de un poster-Simposio Internacional. Fecha: 21-23/05/2013.
- “Hidrogeles Nanocompuestos PVA/Celulosa para Vendajes de Heridas”. J.S. Gonzalez, L.N. Ludueña, A. Ponce y V. A. Alvarez. XIII Encuentro de Superficies y Materiales Nanoestructurados. Mar del Plata-Argentina. Presentación de un poster-Encuentro Nacional. Fecha: 8-10/05/2013.
- “Crio-Ferogeles: Obtención Y Caracterización” J.S. Gonzalez, C. E. Hoppe, F.H. Sánchez Y V. A. Alvarez. 4º Congreso de Materia Condensada. Bahía Blanca-Argentina. Presentación de un poster-Encuentro Nacional. Fecha: 21-23/11/2012.
- “Vehiculización De Fármacos En Dispositivos De Matriz Polimérica” MT Chevalier, JS Gonzalez, VA Alvarez. 4º Congreso de Materia Condensada. Bahía Blanca-Argentina. Presentación de un poster-Encuentro Nacional. Fecha: 21-23/11/2012.
- “Desarrollo de Sistemas Poliméricos para la Liberación Controlada de Fármacos.” M.T. Chevalier, J.S. Gonzalez y V.A. Alvarez. 4º Encuentro de Jóvenes Investigadores en Ciencia de Materiales, Mar del Plata, Argentina. Presentación de un poster-Encuentro Nacional. Fecha: 8-10/10/2012.
- “Hidrogeles Compuestos para Vendaje de Heridas.” J.S. Gonzalez, L.N. Ludueña y V.A. Alvarez. 4º Encuentro de Jóvenes Investigadores en Ciencia de Materiales, Mar del Plata, Argentina. Presentación de un poster-Encuentro Nacional. Fecha: 8-10/10/2012.
- “Caracterización de un ferrogel de nanopartículas magnéticas de Oxido de Hierro en una red de PVA.” Arciniegas L, Mendoza Zelis P, Pasquevich G A, Sanchez F H, Gonzalez J S, Hoppe C E, Alvarez V A. 97º Reunión Nacional de Física de la Asociación Física Argentina, Villa Carlos Paz, Córdoba, Argentina. Presentación de un poster-Reunión Nacional. Fecha: 25-28/09/2012.
- “Propiedades magnéticas de ferrogeles obtenidos por difusión de nanopartículas de magnetita recubiertas con ácido poliacrílico al interior de una matriz polimérica de polivinil alcohol”. Moscoso Londoño O, Gonzalez J, Muraca D, Socolovsky L M, Hoppe C, Alvarez V, Pirota K. 97º Reunión Nacional de Física de la Asociación Física Argentina, Villa Carlos Paz, Córdoba, Argentina. Presentación de un poster-Reunión Nacional. Fecha: 25-28/09/2012.
- “Efecto del cambio de fase sólido-líquido sobre la magnetización de nanomateriales magnéticos en medios líquidos.” Arciniegas L, De Sousa E, Pasquevich G A, Mendoza Zelis P, Fernández van Raap M, Gonzalez J S, Hoppe C E, Alvarez V A, Sánchez F H. 97º Reunión Nacional de Física de la Asociación Física Argentina, Villa Carlos Paz, Córdoba, Argentina. Presentación de un poster-Reunión Nacional. Fecha: 25-28/09/2012.
- “Comportamiento estructural y magnético de ferrogeles PVA/PAA-magnetita obtenidos por la técnica de congelación-descongelación: el rol del recubrimiento en las propiedades magnéticas de los ferrogeles.” Moscoso Londoño O, González J, Muraca D, Hoppe C, Alvarez V, Socolovsky L M, Pirota K. 97º Reunión

- Nacional de Física de la Asociación Física Argentina, Villa Carlos Paz, Córdoba, Argentina. Presentación de un poster-Reunión Nacional.Fecha: 25-28/09/2012.
- “Ibuprofen Incorporation and Release in Ferrogels”. Jimena S. Gonzalez, Vera A. Alvarez, Silvia Rochetti and Barbara Onida. VIII Convegno Nazionale AICIn (Associazione Italiana di Chimica per Ingegneria). Catania, Italia. Presentación de un poster-Encuentro Internacional.Fecha: 16-19/09/2012.
- “Obtención y caracterización de Geles Superparamagnéticos”. Jimena S. Gonzalez, Cristina E. Hoppe, Francisco H. Sánchez and Vera A. Alvarez. XII Encuentro "Superficies y Materiales Nanoestructurados" 2012.La Falda, Córdoba. Presentación de un poster-Encuentro Nacional.Fecha: 16-18/05/2012.
- “A Simple and Efficient Procedure for the Synthesis of Magnetic Gels Based on PVA”. Jimena S. Gonzalez, Cristina E. Hoppe, Francisco H. Sánchez and Vera A. Alvarez.(ISBN978-80-85009-71-2) 7th International Conference on Nanostructured Polymers and Nanocomposites, Prague, Czech Republic. Presentación oral-Congreso Internacional.Fecha: 24-27/04/2012.
- “PVOH-Bentonite Nanocomposites for Medical and Packaging Applications”. Romina P. Ollier, Jimena S. Gonzalez, and Vera A. Alvarez. (ISBN 978-80-85009-71-2). 7th International Conference on Nanostructured Polymers and Nanocomposites, Prague, Czech Republic. Presentación de un poster- Congreso Internacional.Fecha: 24-27/04/2012.
- “Modeling of the Dynamic of Polymer-Glass Fibers Composites”.Leandro Ludueña, Jimena Gonzalez, Jose Carella, Vera Alvarez and Carlos Dorao. (ISBN 978-80-85009-71-2). 7th International Conference on Nanostructured Polymers and Nanocomposites, Prague, Czech Republic. Presentación de un poster-Congreso Internacional.Fecha: 24-27/04/2012.
- “Ferrogels for Potencial Uses as Drug Delivery Devices”. J.S. Gonzalez, J.I. Morán and V.A. Alvarez. (ISBN 978-84-695-2762-7). 11th European Symposium on Polymer Blends in Donostia - San Sebastian-España. Presentación de un poster- Congreso Internacional.Fecha: 25-28/03/2012.
- “Magnetite-Polyvinylalcohol Ferrogels Obtained by a Cryogenic Technique.” J.S. Gonzalez, C.E. Hoppe and V.A. Alvarez. (ISBN 978-84-695-2762-7). 11th European Symposium on Polymer Blends in Donostia - San Sebastian-España. Presentación oral- Congreso Internacional. Fecha: 25-28/03/2012.
- “Magnetic gels obtained by freezing-thawing for potential uses as drug delivery devices”. y Jimena S. Gonzalez, Juan.I Morán and VA Alvarez. 4th Annual ICPCNanoNet Workshop, Goa, India. Presentación oral - Taller Internacional. Fecha: 2-4/04/2012
- “Synthesis and processing of bionanocomposites for industrial applications”. Leandro N. Ludueña, Romina Ollier, Jimena S. Gonzalez and Vera A. Alvarez. Third International Multicomponent Polymer Conference (IMPC 2012). Kottayam, Kerala, India. Presentación oral - Congreso Internacional.Fecha: 23-25/03/2012.
- Presentación de un poster- Congreso Nacional.Fecha: 15-18/11/2011.“Nanocomposites with Magnetic Response for the sustained release of Model Proteins” Verónica Lassalle, Jimena Gonzalez y Vera Alvarez. IX Simposio Argentino de Polímeros (SAP2011), Bahía Blanca, Argentina.
- “Geles Compuestos basados en Poli (Vinil Alcohol) para su uso en Biomedicina.” A. Sebastián Maiolo, Jimena S. Gonzalez, Cristina E. Hoppe y Vera A. Alvarez. 11º Congreso Binacional de Metalurgia y Materiales SAM / CONAMET 2011-Rosario, Argentina. Presentación oral- Congreso Binacional.Fecha: 18-21/10/2011.
- “Poly(vinylalcohol)/Hydroxiapatite Hydrogels Obtained by Two Differents Techniques: Characterization and Swelling Studies” Jimena S. Gonzalez, Yanina Minaberi, Vera A. Alvarez. (ISBN978-987-27301-0-9). XVIII congreso argentino de Bioingeniería. VII Jornadas de Ingeniería Clínica. 2º Taller de Órganos Artificiales, Biomateriales e Ingeniería de Tejidos. Mar del Plata, Argentina. Presentación de un poster - Congreso Nacional. Fecha: 29-30/09/2011.
- “Magnetic Drug Delivery Devices: Characterization and Swelling Studies” Jimena Gonzalez, Verónica Lassalle and Vera Alvarez. (ISBN978-987-27301-0-9). XVIII congreso argentino de Bioingeniería. VII Jornadas de Ingeniería Clínica. 2º Taller de Órganos Artificiales, Biomateriales e Ingeniería de Tejidos. Mar del Plata, Argentina. Presentación de un poster - Congreso Nacional. Fecha: 29-30/09/2011.
- “Composites based on Poly (vinyl alcohol) Hydrogels for Wound Dressing.” Jimena S. Gonzalez, Adolfo Maiolo, Alejandra G. Ponce and Vera A. Alvarez. (ISBN 978-987-27301-0-9). XVIII congreso argentino de Bioingeniería. VII Jornadas de Ingeniería Clínica. 2º Taller de Órganos Artificiales, Biomateriales e

- Ingeniería de Tejidos. Mar del Plata, Argentina. Presentación de un poster - Congreso Nacional. Fecha: 29-30/09/2011.
- “Nanocomposites Based on Poly(vinyl alcohol)”, R.P. Ollier, J.S. Gonzalez y V.A. Alvarez. 2nd Eulasur Summer School; La Plata, Argentina. Presentación de un poster - Escuela Internacional. Fecha: 4-9/09/2011.
- “Changing essential characteristics of Poly(vinylalcohol) cryogels by thermal treatments” JS Gonzalez and VA Alvarez. European Polymer Congress EPF2011, And XII Congress Of The Specialized Group Of Polymers GEP, Granada- España. Presentación de un poster - Congreso Internacional. Fecha: 26/06/2011-01/07/2011.
- “Effect of processing conditions on the performance of polymer-based materials for biomedical applications”. JS Gonzalez, LN Ludueña and V A Alvarez. (ISBN: 978-84-694-3124-5). European Polymer Congress EPF2011, And XII Congress Of The Specialized Group Of Polymers GEP, Granada- España. Presentación de un poster - Congreso Internacional. Fecha: 26/06/2011-01/07/2011.
- “Composites based on biodegradable polymers and natural filler: synthesis, characterization, properties and applications.” J. Gonzalez, A. Maiolo, R. Ollier, L. Ludueña and V. Alvarez. Fontiers in Polymer Science- Lyon-France. Presentación de un poster - Congreso Internacional. Fecha: 29-31/05/2011.
- “Magnetic Properties of PVA Ferrogels obtained through a One-pot Freezing-Thawing Procedure.” D. Muraca, P. M. Zelis, K. Sharma, R. K. Pirola, J Gonzalez, C. E. Hoppe, V. A. Alvarez and F. H. Sanchez. 20th Latin American Symposium on Solid State Physics SLAFES XX, Maragogi. Brasil. Presentación de un poster - Simposio Latinoamericano. Fecha: 27-31/03/2011.
- “Improving behaviour of biodegradable polymers by the addition of micro fillers for specific applications.” J. Gonzalez, L. Ludueña, M. Amado, A. Maiolo and Vera Alvarez. Hybrid Materials 2011-Strasbourg, France. Presentación de un poster - Conferencia Internacional. Fecha: 06-10/03/2011.
- “Criogeles modificados con nanopartículas magnéticas obtenidas por absorción y coprecipitación de sales ferrosas.” J. Gonzalez, C. Hoppe y V. Alvarez. Materia Blanda 2010, Mar del Plata, Argentina. Presentación de un poster- Encuentro Nacional. Fecha: 24-26/11/2010.
- “Hidrogeles de polivinilalcohol: obtención, caracterización y procesamiento.” J. Gonzalez, A. Maiolo, M. Amado, C. Hoppe y V. Alvarez. Materia Blanda 2010, Mar del Plata, Argentina. Presentación oral - Encuentro Nacional. Fecha: 24-26/11/2010.
- “Hidrogeles de Poli(vinilalcohol) obtenidos por congelamiento/ descongelamiento” J. Gonzalez y V. Alvarez. 3° Encuentro de Jóvenes Investigadores en Ciencia y Tecnología de los Materiales. SAM-UTN regional Concepción del Uruguay, Argentina. Presentación de un poster - Encuentro Nacional. Fecha: 12 y 13/08/2010.
- “Ferrogels de Poli(vinilalcohol)”. J. Gonzalez, C. Hoppe y V. Alvarez. XII Simposio Latinoamericano de Polímeros (SLAP 2010) y el X Congreso Iberoamericano de Polímeros (CIP 2010), San José de Costa Rica, Costa Rica. Presentación de un poster - Congreso Internacional. Fecha: 13-16/07/2010.
- “Hidrogeles de Poli(vinilalcohol) con Hidroxiapatita Generada In Situ”. M. Amado, J. Gonzalez y V. Alvarez. XII Simposio Latinoamericano de Polímeros (SLAP 2010) y el X Congreso Iberoamericano de Polímeros (CIP 2010), San José de Costa Rica, Costa Rica. Presentación de un poster - Congreso Internacional. Fecha: 13-16/07/2010.
- “Thermal and Magnetic Characterization of poly(vinyl alcohol) (PVA) ferrogels”. J. Gonzalez, C. Hoppe and V. Alvarez. X encuentro CNEA "Superficies y Materiales Nanoestructurados 2010". Comisión Nacional de Energía Atómica. San Carlos de Bariloche, Rio Negro. Presentación de un poster- Encuentro Nacional. Fecha: 11-14/05/2010.
- “Poly(vinylalcohol) ferrogels from chemical crosslinking and freezing-thawing”. J. González, C. Hoppe and V. Alvarez. 6th International ECNP Conference on Nanostructured Polymers and Nanocomposites, Madrid, España. Presentación de un poster- Congreso Internacional. Fecha: 28-30/04/2010.
- “Polyvinylalcohol Hydrogels”. J. Gonzalez y V. Alvarez. V Argentine-Chilean Polymer Symposium. VIII Argentine Polymer Symposium. IX Chilean Symposium of Polymer Chemistry and Physical-Chemistry. ARCHIPOL 2009. Los Cocos, Córdoba, Argentina. Presentación de un poster- Congreso Internacional. Fecha: 20-22/10/2009.

“Hidrogel de Polivinilalcohol para liberación controlada de drogas”. J. Gonzalez y V. Alvarez. Sociedad Argentina de Bioingeniería (SABI 2009) Rosario, Santa Fe, Argentina. Presentación Oral- Congreso Internacional. Fecha: 12-16/10/2009.