

HIDROGELES HÍBRIDOS NANO Y MICROESTRUCTURADOS DE POLIACRILAMIDA/ HIDROXIAPATITA/PLATA

MARIA PIRELA ^{1-3*}, VIANA ABREU ², ERIC PLAZA ⁴, LISBETH LOZADA ², ALEXANDER BRICEÑO ²,
GEMA GONZALEZ ^{1,3}

¹ Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela. e-mail: gemagonz@gmail.com

² Laboratorio de Síntesis y Caracterización de Nuevos Materiales, Centro de Química, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Caracas, Venezuela. e-mail: abriceno@ivic.gob.ve

³ Laboratorio de Materiales, Centro de Ingeniería de Materiales y Nanotecnología, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Caracas, Venezuela.

⁴ Instituto Zuliano de Investigaciones Tecnológicas, Maracaibo, Venezuela. e-mail: ericvpp@gmail.com

Recibido: diciembre 2012

Recibido en forma final revisado: mayo 2014

RESUMEN

En la búsqueda de materiales osteoinductivos y bactericidas nuevos hidrogeles híbridos basados en la combinación de poliacrilamida (PAAm) con nanopartículas de Hidroxiapatita (HAP), fueron sintetizados vía radicales libres en solución, en presencia de diferentes concentraciones de iones de plata (Ag^+). La caracterización estructural por DRXP, UV-Visible, MEB y MET revela la formación de redes poliméricas con estructuras heterogéneas nano y macroporosas, conteniendo nanopartículas de Ag y la formación de una nueva fase cristalina de fosfato de plata (Ag_3PO_4), junto con la hidroxiapatita de partida. Los componentes inorgánicos presentan una distribución amplia de tamaños (nano a micrómetros) y diferentes morfologías a medida que aumenta la concentración de Ag^+ . Las propiedades hidrofílicas de la matriz, en fluido de cuerpo simulado a 37 °C, se observan claramente afectadas por el aumento de la concentración de las partículas inorgánicas presentes. La estructura de la matriz de poliacrilamida obtenida, es estable a la temperatura corporal humana.

Palabras Clave: Hidrogeles, Poliacrilamida, Nanohidroxiapatita, Fosfato de Plata, Radicales Libres.

HIBRIDS HYDROGELS NANO Y MICRO STRUCTURED OF POLYACRYLAMIDE/ HYDROXYAPATITE/SILVER

ABSTRACT

In the search for osteoinductive and bactericides materials, new hybrid hydrogels based on the combination of polyacrylamide (PAAm) with Hydroxyapatite nanoparticles (HAP) were synthesized via free radicals in solution by adding different concentrations of silver nitrate as Ag-precursor. Structural characterization by XRPD, UV-visible, SEM and TEM revealed the formation of polymeric networks with heterogeneous nano and macroporous structures, containing Ag nanoparticles and the formation of a new crystalline phase of Silver phosphate (Ag_3PO_4), along with starting hydroxyapatite. These particles display a wide distribution of sizes (nano to micron) and different morphologies with increasing concentration of Ag^+ . The hydrophilic properties of the matrix, in simulated body fluid at 37 °C, are clearly affected by the increased concentration of the inorganic particles. The structure of the polyacrylamide network obtained is stable at the body temperature.

Keywords: Hydrogels, Polyacrylamide, Nanohydroxyapatite, Silver Phosphate, Free Radical.

INTRODUCCIÓN

Los hidrogeles de Poliacrilamida han sido utilizados en diferentes aplicaciones tales como electroforesis (Rill *et al.* 1998), liberadores de fármacos (Bajpai & Rajpoot, 2001; Al-Karawi & Al-Daraji, 2010), inmovilización de proteínas (González-Sáiz & Pizarro, 2001), absorción

de metales pesados (Ulusoy & Simsek, 2005; Ramadan *et al.* 2010), entre otros. Los hidrogeles híbridos son una combinación de la matriz polimérica con partículas inorgánicas, combinando sinérgicamente las propiedades individuales. En la literatura se han estudiado materiales híbridos de PAAm/HAP como materiales reparadores de hueso (Bajpai & Bundela, 2009; Yokoi *et al.* 2010), en

absorción de iones pesados (Jang *et al.* 2008; Ulusoy & Akkaya, 2009), ingeniería de tejidos (Jie & Yubao, 2004) obteniéndose resultados promisorios como biomateriales. También se encuentran reportados hidrogeles híbridos con nanopartículas de Ag para aplicaciones antibacteriales (Malmsten, 2011), como andamios para la síntesis de nanopartículas (Murali *et al.* 2010). Estudios de materiales de fosfato de calcio recubiertos con nanopartículas de Ag, los cuales mostraron alta actividad antibacterial y baja citotoxicidad (Ando *et al.* 2010). Bajo este contexto en el presente trabajo, se han preparado hidrogeles híbridos de PAAm/HAP/Ag con el propósito de combinar las características de la PAAm con las propiedades de la HAP y bactericidas de la Ag. Los autores, hasta el momento, no tenemos conocimiento de reportes de estos materiales, por lo cual se estudian las propiedades físico química de hidrogeles con diferentes concentraciones de Ag (0,5-2% m/m) y 2%HAP (m/m) preparados vía radicales libres en solución.

METODOLOGÍA

Reactivos: Monómeros Acrilamida (AAm), N', N' Metilenbisacrilamida (NNMBAAm); Sales: Persulfato de Amonio (PSA), Nitrato de Plata (AgNO_3), todos adquiridos desde Sigma Aldrich. Las nanopartículas de Hidroxiapatita fueron sintetizadas por el método de precipitación (Spadavecchia & González, 2007).

Síntesis: Los hidrogeles se sintetizaron por polimerización en solución, vía radicales libres utilizando para la matriz monómeros de Acrilamida (1g, 100% m/m), como entrecruzante la NNMBAAm (1,1% m/m) y Persulfato de Amonio (2% m/m) como iniciador de la reacción de polimerización (iniciación química). La concentración de HAP utilizada fue de 2% m/m y la de AgNO_3 , como portador de Plata (Ag), de 0,5 – 2,0% m/m. Se estudiaron hidrogeles de PAAm, PAAm/HAP y PAAm/HAP/Ag. Las síntesis se realizaron a temperatura de $30 \pm 1^\circ\text{C}$, bajo agitación continua de 200 rpm hasta la formación de los hidrogeles híbridos. En 0,7 ml de agua destilada, el tiempo de disolución para la AAm, la NNMBAAm y AgNO_3 fue de 5 minutos cada uno; y la dispersión del modificador (HAP) se realizó durante 15 minutos y por último se adicionó el PSA (Kizilay & Okay, 2004; Zambrano *et al.* 2011). Luego de obtener los monolitos, se lavaron por 2 días con agua destilada, para eliminar los monómeros no reaccionantes. Para obtener los xerogeles (geles en estado seco), requerido por algunas de las caracterizaciones hechas en este estudio, se secaron al vacío a 40°C .

Caracterización: Se realizaron los patrones de difracción

de rayos X de las muestras en polvo (xerogeles) utilizando radiación $\text{CuK}\alpha$ en un Difractómetro-D8-Focus-Bruker. El estudio morfológico se hizo mediante un Microscopio Electrónico de Barrido (MEB), marca FEI modelo quanta 200, y un FEI Inspect, ambos con un cañón de emisión de campo, y acoplados con un microanalizador de análisis elemental de fluorescencia de rayos X por separación en energías (EDX) con una resolución de 126 eV; y uno de transmisión (MET) marca CM10 con registros de películas 4489. Los xerogeles, para ser observados en el MEB fueron fracturados en Nitrógeno Líquido (N_2) y luego cubiertas de carbono - platino en un evaporador de alto vacío (BALZERS BAE 301), y se utilizaron en polvo preparados por suspensión en etanol para ser observados por MET. La espectroscopia de absorción en el intervalo UV-Visible, de los discos de hidrogeles, se analizó en un espectrofotómetro Genesys UV-Vis 105. Las propiedades de hinchamiento se realizaron gravimétricamente, en Fluido de Cuerpo Simulado (SBF) a 37°C , introduciendo por duplicado para cada composición estudiada discos xerogeles cuyas masas están entre (0,0971-0,2737g). Los hidrogeles hinchados fueron removidos de la hidratación en tiempos predeterminados, secados con papel absorbente y pesados en una balanza (Adventure-OAUS con apreciación de $\pm 0,0001$ gramo). El análisis de la vibración molecular en el intervalo de infrarrojo (FT-IR) se realizó en un Espectrómetro Nicolet is 10 Thermo Cientific. El análisis térmico fue realizado en un TGA/SDTA851e Mettler Toledo, siendo el intervalo de temperatura utilizado de $30 - 700^\circ\text{C}$, con una velocidad de calentamiento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$, las medidas térmicas fueron obtenidas bajo atmósfera de Nitrógeno con velocidad de flujo de 50 ml/min, la masa de las muestras varió entre 5 – 9 mg.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN, ANÁLISIS POR DIFRACCIÓN DE RAYOS-X EN MUESTRAS POLICRISTALINA (DRXP)

El análisis estructural, mediante DRXP del xerogel de PAAm con HAP al 2% m/m (Figura 1), muestra la presencia de una alta radiación de fondo debido a la parte amorfa de la matriz de PAAm. Adicionalmente se corroboró la presencia de la HAP al identificar algunos de sus máximos de difracción correspondiente a la fase Hexagonal con grupo espacial $P6_3/m$ y parámetros de celda $a = b = 9,4166 \text{ \AA}$, $c = 6,8745 \text{ \AA}$ (esta fase fue identificada con la ayuda de la Inorganic Crystal Structure Database No. 01-084-1998) (Tabla 1).

Para el xerogel de PAAm/2,0%HAP/2,0%Ag se identificó la presencia de las siguientes fases (Figura 2): fase cúbica con grupo espacial $P43n$ y parámetros de celda $a=6,0040 \text{ \AA}$ de Fosfato de Plata (Ag_3PO_4) (esta fase fue identificada

con la ayuda de la Inorganic Crystal Structure Database No. 01-070-0702) y fase hexagonal de la Hidroxiapatita. La formación de esta nueva fase fue corroborada realizando la combinación en solución de HAP y AgNO_3 en ausencia de la matriz de PAAm, como se puede observar en el difractograma de DRXP mostrado en la Figura 3.

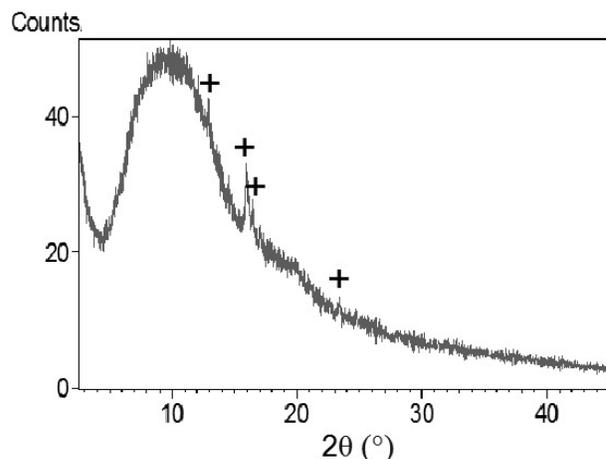


Figura 1. Difractograma de DRXP del xerogel de PAAm/2%HAP. Picos de la HAP (+)

Tabla 1. Máximos de difracción identificados como HAP

Pos. [2Th.(°)]	I/Io	d [Å]	Int. Rel. [%]
25,9436	56	3,43443	56,89
31,7819	100	2,81560	100,00
32,9509	50	2,71834	50,90
46,7456	17	1,94171	17,06

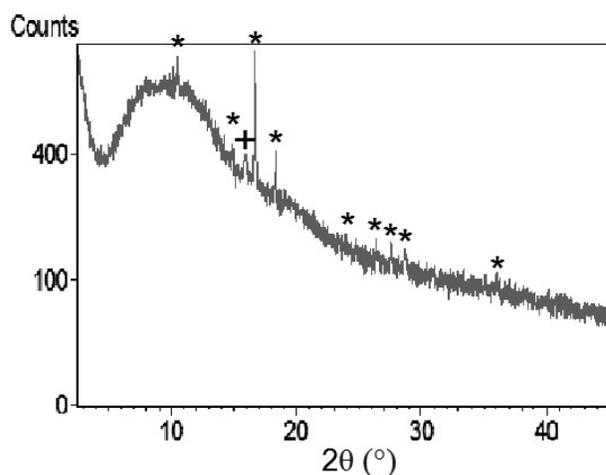


Figura 2. Difractograma de DRXP del xerogel de PAAm/2%HAP/2%Ag. (+) Picos de la HAP y (*) Picos de Fosfato de Plata

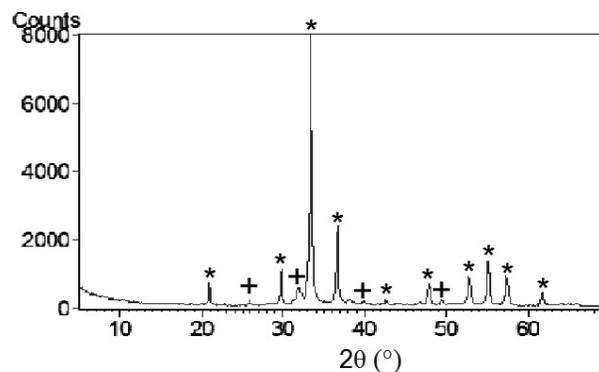


Figura 3. Difractograma de DRXP mostrando los productos obtenidos a partir de la mezcla en solución de la 2%HAP y 2%AgNO₃. (+) Picos de la HAP y (*) Picos de Ag₃PO₄

ANÁLISIS POR MEB Y MET

La morfología de los diferentes xerogeles sintetizados, se observan en las imágenes obtenidas por MEB y MET (Figura 4). En la Figura 4a, se observa la estructura macroporosa de la PAAm, cuyo tamaño de poros varía entre 99-1172 μm , con pliegues en su matriz (inserto, Figura 4a) lo cual podría favorecer la adhesión celular según reportes en la literatura (Karageorgiou & Kaplan, 2005). La Figura 4b, muestra la morfología del xerogel de PAAm/HAP, en la cual se observa la influencia de la partículas de HAP en la estructura macroporosa, formándose mayor número de poros de menor tamaño (35-389 μm). En resultados preliminares, se ha encontrado que la temperatura local del medio de reacción puede alcanzar temperaturas mayores a la temperatura de ebullición del agua (condición de sobrecalentamiento), adicionalmente un registro audiovisual del proceso de polimerización in situ con una cámara de alta velocidad revela la formación de una gran cantidad de burbujas en el interior del medio de reacción, las cuales actúan como un agente porógeno, conduciendo la formación de los macroporos en la estructura del hidrogel. La presencia de partículas sólidas bajo agitación magnética cumplen el rol de “perlas de ebullición” en una destilación, evitando la formación de grandes burbujas, en consecuencia la estructura porosa del xerogel se ve reducida (estos resultados serán reportados en una próxima investigación).

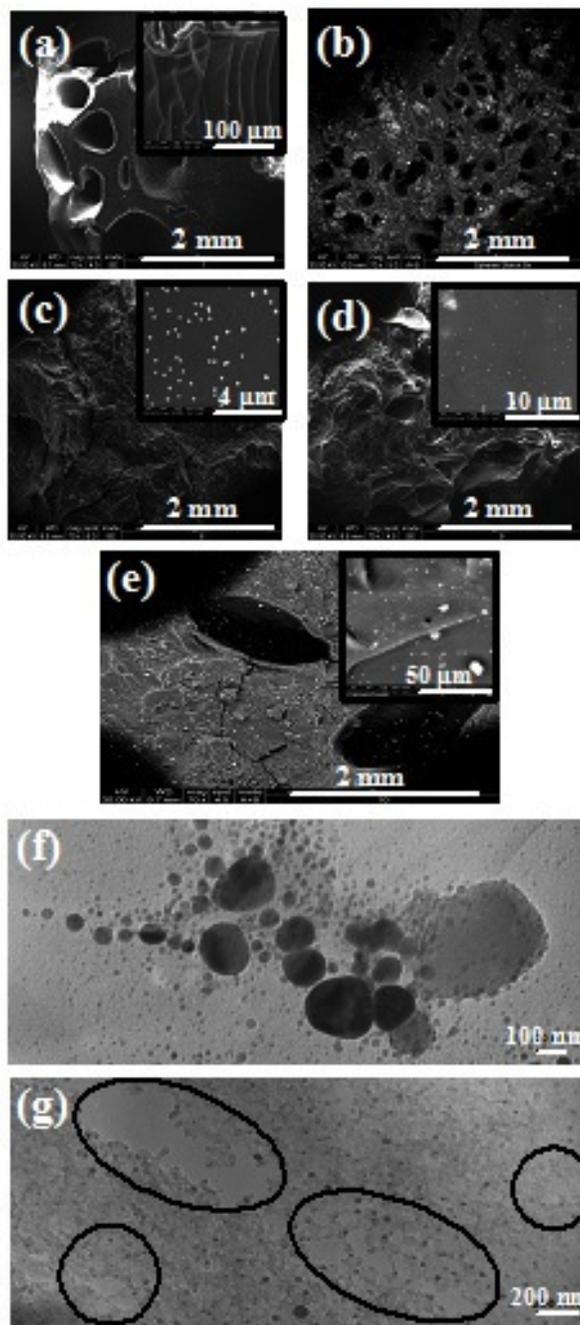


Figura 4. Imágenes por MEB: (a) xerogel de PAAm (matriz plegada, inserto); (b) xerogel de PAAm/2%HAP; xerogeles de PAAm/2%HAP con las concentraciones de (c) 0,5%; (d) 1,0 %; (e) 2,0% de AgNO_3 . Imágenes por MET (f) y (g) del xerogel de PAAm/2%HAP/2,0%Ag.

En el contraste se observa la matriz gris, partículas de HAP como blancos opacos, y partículas con Ag con blancos muy brillantes y oscuras; y la nanoestructura de la matriz de PAAm (nanoporos encerrados en óvalos y círculos).

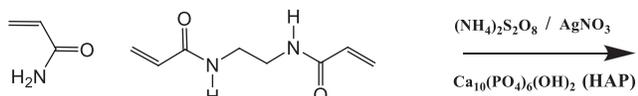
Las Figuras 4c-4g muestran las microestructuras de los xerogeles de PAAm/2%HAP preparadas con diferentes

concentraciones de AgNO_3 (0,5 – 2,0% m/m).

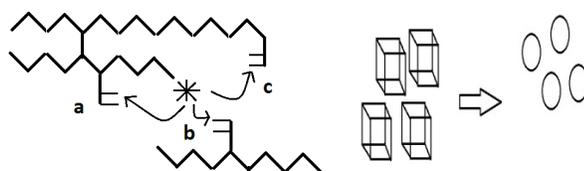
En estas imágenes se observa que la microestructura del xerogel se modifica al incorporar el precursor de la plata, observándose una estructura más compacta con menos macroporos. Por otro lado, se observó que la incorporación de la Ag^+ acelera el proceso de polimerización (tiempo de gelación ~ 3 s). Esta observación sugiere que la presencia de la Ag^+ favorece la formación de radicales libres conduciendo a un mayor entrecruzamiento de la matriz polimérica, en comparación de la misma reacción en ausencia de Ag^+ (tiempo de gelación ~ 4 min).

Las micrografías obtenidas por MET revelan la presencia de partículas de tamaños desde aproximadamente 2 nm a 200 nm (Figura 4f), además de que las estructuras resultantes son nanoporosadas, para todos los xerogeles, tal como se observa en la Figura 4g, para el xerogel de PAAm/2%HAP/2%Ag.

Etapa 1



Etapa 2



Etapa 3

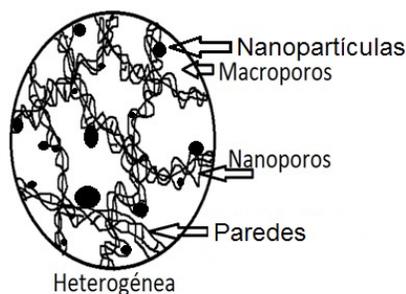


Figura 5. Esquema hipotético de la formación de los hidrogeles. Etapa 1: Moléculas utilizadas en las síntesis. Etapa 2: (a) Posibles Interacciones de copolimerización entre AAm y NNMBAAm (mecanismo de radicales libres): 1) ciclización, 2) entrecruzamiento, 3) múltiple entrecruzamiento. (b) Morfología cúbica-esférica de las partículas. Etapa 3: Estructura nano y micro estructurada de la red de PAAm con nanopartículas esféricas

Un modelo hipotético para explicar la formación de la nano y microestructura de los hidrogeles de PAAm (Figura 5, etapa 3), ha sido propuesto por Naghash & Okay (1996). Este explica la copolimerización de monómeros vinílicos y divinílicos (AAm y NNMBAAm) con baja concentración de entrecruzante (NNMBAAm) en presencia de iniciador (PSA) y diluyente inerte (H_2O , para la estructura polimérica formada mediante el mecanismo de radicales libres en solución, Figura 5, etapa 1). Entre las posibles recombinaciones de radicales libres en la formación de la estructura polimérica planteadas por Naghash & Okay (1996), en nuestro sistema se observa la tendencia predominante mediante el mecanismo de entrecruzamiento (mecanismo 2, Figura 5, etapa 2a), siendo esta estructura hidrofílica (amidas y carboxílicos como grupos funcionales) reticulada con las moléculas del diluyente dentro del gel en forma de gotas (dos fases gel-diluyente), las cuales en su mayoría son evaporadas al final de las reacciones de polimerización (se observa una reacción exotérmica que promueve la separación de las dos fases), formándose así los macroporos. La distribución en tamaños de los retículos de la red, que a su vez determinarían la estructura porosa del hidrogel, se debe a que los geles formados por este método de síntesis son siempre inhomogéneos debido al hecho de que el entrecruzante tiene al menos dos grupos vinil. Y, por lo tanto, si se asume igual reactividad de los grupos vinílicos, la reactividad del entrecruzante es dos veces mayor que el monómero vinílico; como consecuencia, las moléculas de entrecruzantes son incorporadas en las cadenas del crecimiento copolimérico mucho más rápido que las moléculas monoméricas, así como al final la red exhibe una densidad de distribución de entrecruzante, por lo que las regiones de la red formadas primero son diferentes (Righetti, 1995; Naghash & Okay, 1996; Okay, 2000).

Simultáneamente, a la formación de la estructura polimérica de PAAm, se forman *in situ* partículas de Ag, además se produce entre la sal de $AgNO_3$ y las partículas de HAP un intercambio iónico formándose partículas de Ag_3PO_4 y alguna especie conteniendo Calcio (Ca) probablemente $CaCO_3$, debido a el desplazamiento de los iones de Ca^{2+} (Figura 5, etapa 2b). Por lo tanto, como resultado obtenemos un material compuesto de PAAm/ Ag_3PO_4 /Ag/HAP. En el cual las partículas de Ag, HAP y Ag_3PO_4 se encuentran altamente dispersas, como se puede observar en la Figura 4. En los espectros EDX (Figura 6), se identifica la presencia atómica de la composición de cada fase. En la Tabla 2, se presentan de manera apreciativa las semi cuantificaciones de los EDX, puesto que la cuantificación del Carbono (C) aportado por la matriz y el recubrimiento utilizado en la preparación de las muestras para ser observadas por MEB, altera todas las cuantificaciones.

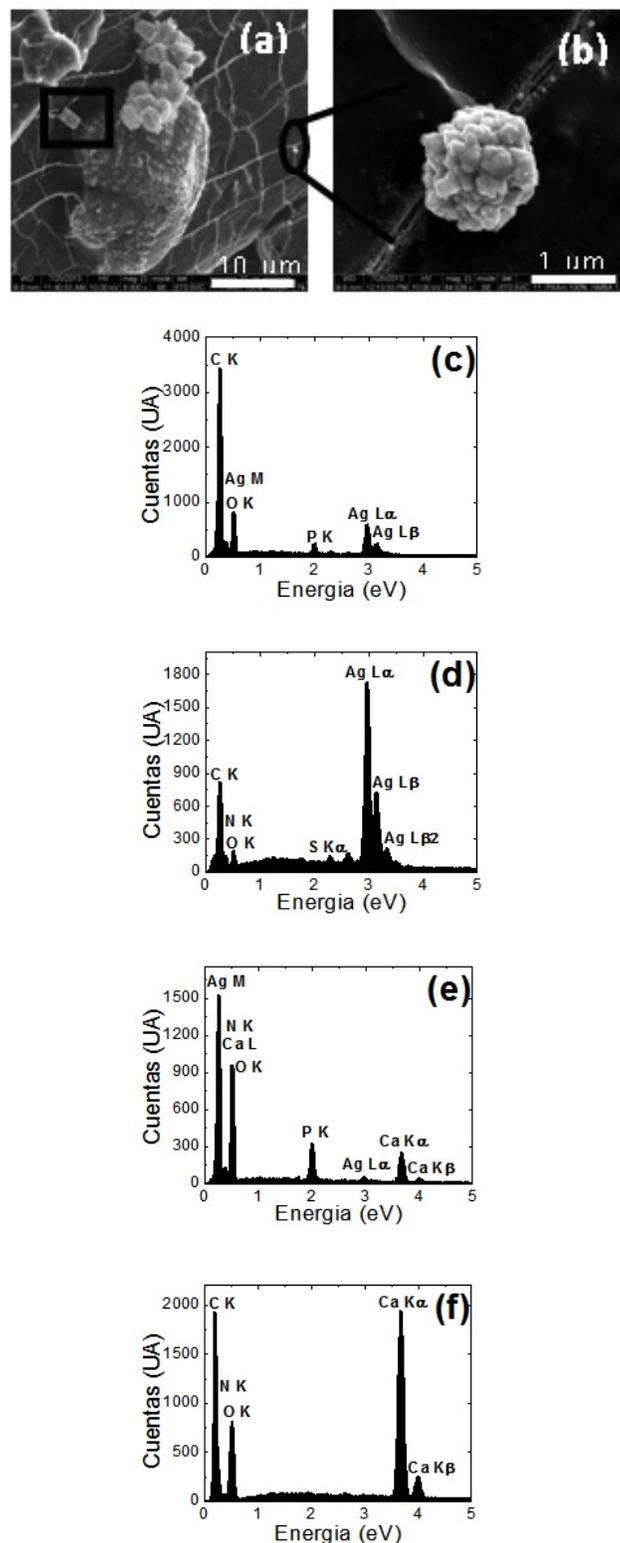


Figura 6. Imágenes por MEB (a) xerogel de PAAm/2%Ag/2%HAP; (b) magnificación del xerogel de PAAm/2%Ag/2%HAP mostrando un aglomerado de Ag; EDX de partículas de (c) Ag_3PO_4 (tomado del cuadrado de la imagen a); (d) Ag (tomado de la imagen b); (e) HAP (tomado de otra imagen no presentada); (f) fase Cálctica (tomado de otra imagen no presentada)

Tabla 2. Cuantificaciones de los EDX de las partículas de Ag_3PO_4 , Ag, HAP y fase cálcica, encontradas en los xerogeles de PAAm/2%HAP/2%Ag

EDX	Elemento	Atómico (%)	Intensidad (UA)
Figura 6 c	C K	72,58	726,67
	O K	20,76	170,58
	P K	1,69	57,58
	Ag L	4,97	190,58
Figura 6 d	C K	38,17	150,50
	N K	9,50	15,85
	O K	12,37	28,36
	S K	1,16	14,55
	Ag L	38,80	574,31
Figura 6 e	O K	72,33	207,95
	P K	9,94	95,31
	Ag L	1,03	12,47
	Ca K	16,67	83,37
Figura 6 f	C K	53,61	454,22
	N K	8,42	15,83
	O K	34,85	235,28
	Ca K	2,98	776,54

Como se observa en las imágenes 4 y 6 las partículas, presentan una distribución de tamaños de nano a micro, debido a la formación de aglomerados, con morfologías que su mayoría, van desde cúbica a esférica (insertos Figuras 4b-e) a medida de que aumenta la concentración de Ag^+ . Esto es consistente con trabajos de la literatura en los cuales se reportan morfologías cúbicas, esféricas, dodecahédricas, agregados fractales, etc., de partículas de Ag (Murali et al. 2010) y tipo Ag_3PO_4 (Thomas et al. 2002; Lee et al. 2006; Bi et al. 2012), obtenidas por diferentes métodos de síntesis. Es importante resaltar que este material compuesto con partículas de Ag, Ag_3PO_4 , e HAP puede tener muy importantes aplicaciones, debido al aporte de la Ag como bactericida, el Ag_3PO_4 por su propiedades dieléctricas y la HAP por sus características Biocompatibles.

Estudios de evaluación de biocompatibilidad de estos hidrogeles empleando células osteoprogenitoras (Contreras et al. 2012), revelan que los hidrogeles de PAAm y PAAm/HAP son biocompatibles, mientras que los hidrogeles con partículas de Ag resultaron ser citotóxicos, posiblemente debido a la alta tasa de disolución que presentó este compuesto cuando los hidrogeles se preincubaron en medio de cultivo a 37 °C por 48h, resultados que se tomaran en cuenta en próximos estudios. La concentración de las partículas inorgánicas presentes en los materiales que

participan en el comportamiento de biocompatibilidad y citotoxicidad se muestran, de manera aproximada, en el análisis termogravimétrico (Figura 10).

ANÁLISIS POR ABSORCIÓN EN EL RANGO UV-VISIBLE

Aunque no fue observada la presencia de la formación de nanopartículas de Ag en los patrones de difracción de polvo (quizás por la baja concentración de Ag^+ utilizada en la síntesis de los hidrogeles, combinado con el proceso de intercambio iónico experimentado por la HAP), a través de la técnica de absorción de UV-visible se observó la banda de absorción Plasmónica superficial característica de la formación de nanopartículas de Ag (Mulvaney, 1996; Jin et al. 2001), con morfología esférica en 405 nm (Figura 7), las cuales fueron identificadas por los análisis microscópicos (Figura 4f).

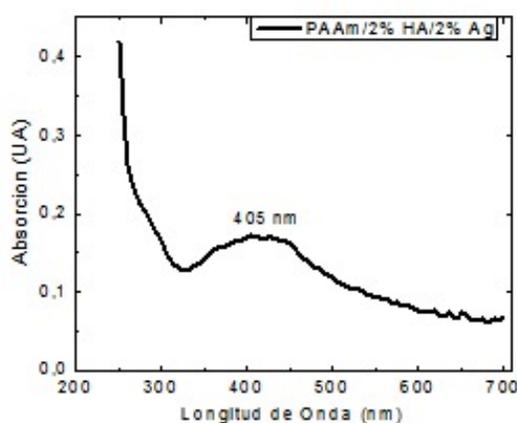


Figura 7. Espectro de Absorción en el rango UV-visible del hidrogel de PAAm/2%HAP/2%Ag mostrando la banda de absorción del plasmón superficial de nano partículas de plata

CAPACIDAD DE ABSORCIÓN EN SBF

Para observar el efecto de las partículas inorgánicas de HAP, Ag_3PO_4 y Ag en las propiedades hidrofílicas de la matriz de PAAm, se realizó el hinchamiento de los hidrogeles en SBF a 37 °C, simulando la temperatura corporal humana. El porcentaje de hinchamiento de los hidrogeles se calcula mediante la siguiente ecuación (Issa et al. 1980):

$$\%S = \left(\frac{m_t - m_o}{m_o} \right) \times 100 \quad (1)$$

donde: m_t es la masa del gel hinchado en un tiempo t y m_o es la masa del gel seco en $t = 0$. En la Figura 8a, se

observan las isothermas de hinchamiento al graficar %S en función del tiempo, observando que a las 15 horas los hidrogeles han alcanzado el hinchamiento máximo, denominado hinchamiento en el equilibrio (%S_{eq}). Además, la cinética de hinchamiento en las primeras 5 horas es muy similar para todos, mostrando que en ese tiempo la absorción depende de la matriz polimérica. En la Figura 8b, se puede observar que el %S_{eq} disminuye a medida que aumenta la concentración de partículas inorgánicas (651-484)%. Este comportamiento está en concordancia con la microestructura observada por SEM, en la cual se pudo apreciar una disminución de la macroporosidad de los xerogeles en función de la incorporación de los iones Ag⁺, debido posiblemente a la estabilización o generación de radicales libres, que induciría a un mayor grado de entrecruzamiento.

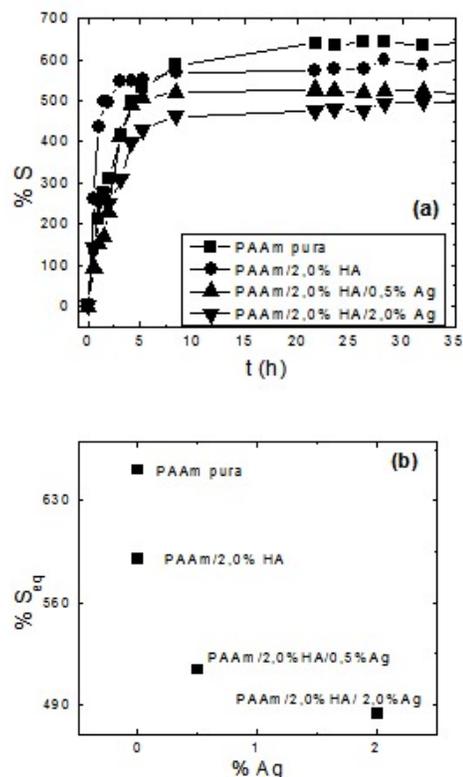


Figura 8. (a) Isothermas de absorción en SBF a 37°C, (b) Porcentaje de hinchamiento en el equilibrio (%S_{eq}) en función de la concentración de plata

ANÁLISIS POR FT-IR

En el espectro de infrarrojo (FT-IR) para el xerogel de PAAm, en el intervalo de transmitancia entre 400-4000 cm⁻¹, se observan (Figura 9a) los picos característicos de la vibración del enlace presentes en la AAm y NNMBAAm,

como lo son (Bajpai & Bundela, 2009): N-H (3432 cm⁻¹, 3200 cm⁻¹); C-H (2800 - 3000 cm⁻¹); C=O (1670 cm⁻¹, 1609 cm⁻¹); C-N (1350 - 1450 cm⁻¹). En el espectro para la HAP pura (Figura 9b), se observan los picos característicos de la vibración del enlace de (Bajpai & Bundela, 2009): PO₄³⁻ (1090, 1050, 600, 565 cm⁻¹) y O - H (630 cm⁻¹). Para los xerogeles de PAAm que contienen 2% de HAP y diferentes %AgNO₃ (Figura 9 (c-g)), se observa que los picos característicos de la HAP solapan en su mayoría a los de la AAm y NNMBAAm.

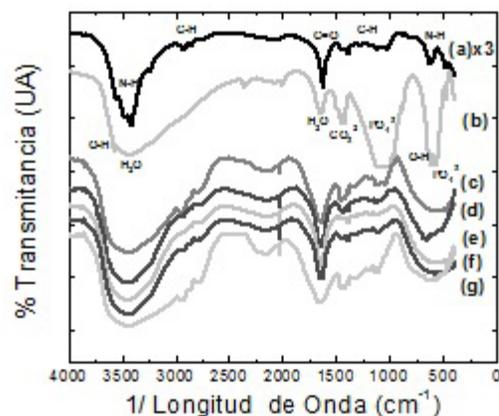


Figura 9. Espectro de transmitancia de energía en el rango infrarrojo: (a) PAAm (intensidad aumentada x3); (b) HAP; (c) PAAm/2,0%HAP; PAAm/2,0%HAP con (d) 0,5%Ag; (e) 1,0%Ag; (f) 1,5%Ag; (g) 2,0%Ag

ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO (ATG)

Se estudio la degradación de los hidrogeles en el intervalo de temperatura entre 30-700 °C mediante termogramas (Figura 10), interpretando la degradación de los hidrogeles en tres etapas, Tabla 3: (Moharram & Allam, 2007; Bajpai & Bundela, 2009).

Primera etapa: deshidratación del hidrogel; Segunda etapa: pérdida de grupos laterales (Imidización); Tercera etapa: pérdida por descomposición de la matriz de PAAm. También se observa que a la temperatura corporal la estructura de los hidrogeles está estable, información importante en caso de posible aplicación médica; a 700°C el hidrogel de PAAm presenta un residuo de 20% de su masa inicial que puede ser su estructura carbonizada, mientras que los hidrogeles con partículas inorgánicas con concentraciones teóricas de 2,0%HAP; 2,0%HAP/1,0%Ag; 2,0%HAP/1,5%Ag y 2,0%HAP/2,0%Ag muestran residuos de 35, 29, 23, 27% de su masa inicial, respectivamente. Al comparar los porcentajes de residuos de los hidrogeles híbridos con el de PAAm, se obtienen diferencias de 15, 9, 3, 7% en peso,

lo que ratifica la presencia de las partículas inorgánicas y la inhomogeneidad de los hidrogeles.

corroborar con los residuos de los ATG a 700 °C.

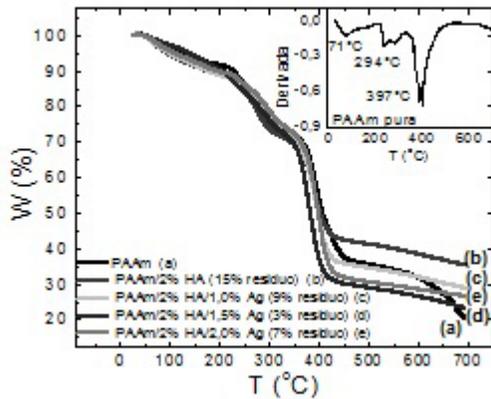


Figura 10. Porcentaje de peso en función de la temperatura de los hidrogeles de: (a) PAAm, (b) PAAm/2,0%HAP, (c) PAAm/2,0%HAP/1,0%Ag, (d) PAAm/2,0%HAP/1,5%Ag, (e) PAAm/2,0%HAP/2,0%Ag. Inserto primera derivada del termograma de la PAAm

Tabla 3. Inicio de picos (I_p), Final de Picos (F_p), Máxima velocidad del Pico (M_{vp}), obtenidos de la primera derivada. Porcentaje de pérdida de masa (%Q). Para la degradación del hidrogel de PAAm pura en el intervalo de temperatura de 30-700 °C

Pérdidas	I_p	F_p	M_{vp}	%Q
1era	58	101	71	8
2da	211	308	294	22
3ra	352	465	397	33

CONCLUSIONES

La síntesis de hidrogeles de PAAm por el método de radicales libres en solución, con bajo contenido de entrecruzante, genera estructuras estables a la temperatura corporal humana, con distribución de poros que van desde los nano a macroporos con propiedades superabsorbentes. La mezcla de $AgNO_3$ y nanopartículas de HAP induce a la síntesis *in situ* de partículas de Ag y Ag_3PO_4 con una distribución de tamaños (nano a macro) y diferentes morfologías, a medida que aumenta la concentración de la plata. El aumento de la concentración de partículas inorgánicas (HAP, Ag y Ag_3PO_4) en la matriz de PAAm, disminuye las propiedades hidrofílicas de los hidrogeles en SBF. La concentración de nanopartículas de Ag formadas *in situ* pudiera estar debajo del límite de detección de DRXP, pero con actividad citotóxicas sobre células osteoprogenitoras. La inhomogeneidad de los hidrogeles se

AGRADECIMIENTOS

Al personal del departamento de fotografía del IVIC. Al Msc. Freddy Sánchez (IVIC) por su disposición para la toma de imágenes por MET. A MSc. Miguel Angel Ramos, INZIT, por los Difractogramas de rayos-X. Al Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), por el financiamiento de los proyectos G-200100900 y G-2005000433.

REFERENCIAS

- AL-KARAWI, A. & AL-DARAJI, A. (2010). Preparation and using of acrylamide grafted starch as polymer drug carrier. *Carbohydrate Polymers* 79; pp. 769-774.
- ANDO, Y., MIYAMOTO, H., NODA I., SAKURAI, N., AKIYAMA, T., YONEKURA, Y., SHIMAZAKI, T., MIYAZAKI, M., MAWATARI, M., HOTOKEBUCHI, T. (2010). Calcium phosphate coating containing silver shows high antibacterial activity and low cytotoxicity and inhibits bacterial adhesion. *Materials Science and Engineering C*, 30, pp. 175-180.
- BAJPAI, A. K. & RAJPOOT, M. (2001). Release and diffusion of sulfamethoxazole through acrylamide-based hydrogel. *Journal of Applied Polymer Science* 81; pp. 1288-1247.
- BAJPAI, A. K. & BUNDELA, H. (2009). Development of poly(acrylamide)-hydroxyapatite composites as bone substitutes: study of mechanical and blood compatible behavior. *Polymer Composite*, pp.1-12.
- BI, Y. OUYANG, S., UMEZAWA, N., CAO, J., YE, J. (2012). Facet effect of single-crystalline Ag_3PO_4 sub-microcrystals on photocatalytic properties. *Journal of the American Chemical Society*. Communication, pubs.acs.org/JACS.
- CONTRERAS, L., PIRELA M., GONZÁLEZ, G., NORIS-SUAREZ, K. (2012). Evaluación de biocompatibilidad de matrices compuestas de poliacrilamida empleando células Osteoprogenitoras. *Avances en Ingeniería Biomédica en Venezuela*, pp. 130-133.
- GONZÁLEZ-SAIJ, J. & PIZARRO, C. (2001). Polyacrylamide gels as support for enzyme immobilization by entrapment. Effect of polyelectrolyte carrier, pH and temperature on enzyme action and kinetics parameters. *European Polymer Journal*, 37, pp. 435-444.
- ISSA, A., KATIME, A., KATIME, Ó., KATIME, D. (1980). Los Materiales Inteligentes de este Milenio: Los hidrogeles

- macromoleculares. Servicio editorial Universidad del País Vasco.
- JANG, S., JEONG, Y., MIN, B., LYOO, W., LEE, S. (2008). Preparation and lead ion removal property of hydroxyapatite/polyacrylamide composite hydrogels. *Journal of Hazardous Materials*, 159, pp. 294-299.
- JIE, W. & YUBAO, L. (2004). Tissue engineering scaffold material of nano-apatite crystals and polyamide composite. *European Polymer Journal*, 40, pp. 509-515.
- JIN, R., CAO, Y., MIRKIN, C. A., KELLY, K. L., SCHATZ, G. C., ZHENG, J. G. (2001). Photoinduced conversion of silver nanospheres to nanoprisms. *Science*, 294, pp. 1901-1903.
- KARAGEORGIU, V. & KAPLAN, D. (2005). Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis *Biomaterials*, 26, pp. 5474-5491.
- KIZILAY, M. & OKAY, O. (2004). Effect of swelling on spatial inhomogeneity in poly(acrylamide) gels formed at various monomer concentrations. *Polymer*, 45, pp.2567-2576.
- LEE, I-S., WHANG, C-N, OH, K-S., PARK, J-C, LEE, K-Y, LEE, G-H., CHUNG, S-M., SUN, X-D. (2006). Formation of silver incorporated calcium phosphate film for medical applications. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 242, pp. 45-47.
- MALMSTEN, M. (2011). Antimicrobial and antiviral hydrogels. *Soft Matter* de DOI:10.1039/c1sm05809f.
- MOHARRAM, M. A. & ALLAM, M. A. (2007). Study of the interaction of poly(acrylic acid) and poly(acrylic acid-poly acrylamide) complex with bone powders and hydroxyapatite by using TGA and DSC. *Journal of Applied Polymer Science*, 105, pp. 3220-3227.
- MULVANEY, P. (1996). Surface plasmón spectroscopy of nanosized metal particles. *Langmuir*, 12, pp. 788-800.
- MURALI, Y., VIMALA, K., THOMAS, V., SREEDHAR, B., BAJPAL, S. (2010). Controlling of silver nanoparticles structure by hidrogel networks. *Journal of Colloid and Interface Science*, 342, pp. 73-82.
- NAGHASH, H. J. & OKAY, O. (1996). Formation and structure of polyacrylamide gels. *Journal of Applied Polymer Science*, 60, pp. 971-979.
- OKAY, O. (2000). Macroporous copolymer networks. *Progress in Polymer Science*, 25, pp. 711-779.
- POWDER DIFFRACTION FILE. (1997). *Inorganic Crystal Structure Database*.
- RAMADAN, H., GHANEM, A., EL-RASSY, H. (2010). Mercury removal from aqueous solutions using silica, polyacrylamide and hybrid silica-polyacrylamide aerogels. *Chemical Engineering Journal*, 159, pp.107-115.
- RIGHETTI, P. G. (1995). Macroporous gels: facts and misfacts. *Journal of Chromatography A*, 698, pp. 3-17.
- RILL, R. L., VAN WINKLE, D. H., LOCKE, B. R. (1998). Templated pores in hydrogels for improved size selectivity in gel permeation chromatography. *Analytical Chemistry*, 70, pp. 2433-2438.
- SPADAVECCHIA, U. & GONZÁLEZ, G. (2007). Obtención de hidroxiapatita nanométrica para aplicaciones médicas. *Revista de la Facultad de Ingeniería de la U.C.V*, 22, 4, pp. 37-44.
- THOMAS, M., GHOSH, S. K., GEORGE, K. C. (2002). Characterisation of nanostructured silver orthophosphate. *Materials Letters*, 56, pp. 386-392.
- ULUSOY, U. & SIMSEK, S. (2005). Lead removal by polyacrylamide-bentonite and zeolite composites: effect of phytic acid immobilization. *Journal of Hazardous Materials*, B127, pp. 163-171.
- ULUSOY, U. & AKKAYA, R. (2009). Adsorptive features of polyacrylamide-apatite composite for Pb²⁺ and Th⁴⁺. *Journal of Hazardous Materials*, 163, pp. 98-108.
- YOKOI, T., KAWASHITA, M., KIKUTA, K., OHTSUKI, C. (2010). Crystallization of calcium phosphate in polyacrylamide hydrogels containing ions. *Journal of Crystal Growth*, 312, pp. 2376-2382.
- ZAMBRANO, B., CAÑIZALEZ, E., SILVA, P., BRICEÑO, A. (2011). A bottom-up route for the preparation of novel hierarchical nanostructured hybrid molybdenum oxide-hydrogel composites. *New Journal of Chemistry*, 35, pp. 288-291.