



Crear... Crear... Crecer...

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICO-QUÍMICAS Y NATURALES

Tesis para acceder al título de Doctor
en Ciencias Químicas

**NANOCOMPUESTOS SINÉRGICOS BASADOS EN POLÍMEROS
TERMOSENSIBLES Y CONDUCTORES**

Lic. Silvestre Manuel Bongiovanni Abel

DIRECTOR: Dr. César Alfredo Barbero

CO-DIRECTORA: Dra. Claudia Rosana Rivarola

Río Cuarto, Febrero 2018

COMISIÓN ASESORA Y JURADO

Nombre y Apellido.....Lugar de Trabajo.....

Firma.....Aclaración.....

Nombre y Apellido.....Lugar de Trabajo.....

Firma.....Aclaración.....

Nombre y Apellido.....Lugar de Trabajo.....

Firma.....Aclaración.....

DEFENSA ORAL Y PÚBLICA

Lugar y Fecha.....

Calificación.....

A mi familia

"La vida no es fácil, para ninguno de nosotros. Pero... ¡qué importa! Hay que perseverar y, sobre todo, tener confianza en uno mismo. Hay que sentirse dotado para realizar alguna cosa y que esa cosa hay que alcanzarla, cueste lo que cueste."

Marie Curie

- Agradecimientos -

Quisiera agradecer a todos aquellos que de una u otra manera han colaborado y me han acompañado en el desarrollo y ejecución del trabajo necesario para llevar adelante esta Tesis Doctoral.

A Dios, por haberme dado la vida y la fuerza de voluntad para afrontar los momentos más difíciles.

A mi familia: mis padres, mi hermano y mi abuela, por ser los pilares más importantes de mi vida. Sin ellos, nada de esto hubiera sido posible.

A mis amigos. Los del pueblo (especialmente Pollo, Checho y Chato), los de la oficina (especialmente Poli, Lu, Ceci, Lina y Dari), los de la vida, los viejos y los nuevos... quienes estuvieron a mi lado en los momentos lindos y en aquellos que no fueron tan fáciles de sobrellevar.

A mi Director y mi Co-Directora: Dr. César A. Barbero y Dra. Claudia R. Rivarola. Por su predisposición, arduo trabajo, consejos y acompañamiento desde el comienzo hasta el final de este camino.

A los miembros de la Comisión Asesora y Jurado de Tesis: Dr. Javier I. Amalvy, Dr. Fernando G. Fungo y Dr. Fernando Moyano, quienes han sido una guía muy importante y con sus comentarios, sugerencias y correcciones han ayudado a enriquecer mi trabajo durante estos años.

A los integrantes del Laboratorio de Investigación y Desarrollo en Materiales Avanzados, quienes compartieron conmigo el espacio de trabajo y han sido una grata compañía. A la Dra. María C. Miras, quien desde que llegué al grupo se encargó de formarme, aconsejarme y guiarme tanto en lo académico como en lo personal. Muy especialmente a la Dra. María Molina y al Dr. Diego F. Acevedo, quienes desinteresadamente en todo momento han colaborado con el diseño y ejecución del trabajo experimental así como también en el análisis y discusión de los resultados.

A los investigadores del Departamento de Biología Molecular de la UNRC que han colaborado en las mediciones experimentales relacionadas con esta área. En especial, a la Dra. E. Inés Yslas y su grupo de trabajo y al grupo del Dr. Pablo Bosch: Dr. Fabrisio E. Alustiza, Dra. Ana C. Liaudat y Mic. Virginia Cappella.

Al grupo de investigación del Dr. Marcelo J. Kogan (Universidad de Chile) por su colaboración en ensayos biológicos referidos a la toxicidad de materiales.

A los investigadores de la Universidad Tomas Bata (Zlín, República Checa), con quienes tuve la oportunidad de trabajar tanto en su país como también aquí en Argentina: Dr. Pter Saha, Dr. Pter Slobodian y Dr. Robert Olejnik.

A las personas que colaboraron en la toma de imágenes por microscopia electrónica, especialmente al Dr. Gabriel A. Planes (UNRC), al Dr. Sergio M. Moreno (Centro Atómico Bariloche) y a la Dra. M. Paula Militello (UNRC).

A la Universidad Nacional de Río Cuarto, particularmente al Departamento de Química y sus miembros, por brindarme el espacio físico para el desarrollo de mis actividades de docencia e investigación y por ser quienes estuvieron a mi lado en el día a día durante tantos años.

Al CONICET por haber financiado mis estudios doctorales a través de sus programas de Becas de Posgrado.

A todas las instituciones y dependencias que han financiado las investigaciones en las que se inserta el trabajo de esta Tesis Doctoral, especialmente CONICET, FONCYT, FAN, SECYT-UNRC.

Un agradecimiento especial a la Dra. M. Paula Militello por su ayuda en la edición del cuerpo de la Tesis.

RESUMEN

El interés científico en la nanotecnología se basa en la noción que el tamaño de un sistema material en la nanoescala tiene un efecto significativo sobre las propiedades. Existen propiedades materiales que cambian radicalmente cuando el tamaño llega a la escala nanométrica. Otras permanecen sin cambio cuando el tamaño disminuye desde un sólido macroscópico a niveles nanométricos e incluso subnanométricos. Sin embargo, en un sistema determinado una propiedad puede cambiar y las otras permanecer. Específicamente, la relación área/volumen siempre aumenta cuando el tamaño disminuye, por lo cual la estabilidad de las dispersiones y el transporte de masa desde el medio externo se hace más rápido. En el caso de las dispersiones de sólidos esféricos en líquidos, la velocidad del transporte de masa dentro del sólido es inversamente proporcional al cuadrado del radio. Además, para muchas aplicaciones tecnológicas la propiedad subyacente está presente en moléculas y nanopartículas, permitiendo obtener mezclas moleculares y nanocompuestos. Aunque las moléculas (incluyendo las macromoléculas) son más pequeñas que las nanopartículas, es posible que la incorporación de un grupo funcional afecte a las propiedades de toda la estructura. Por el contrario, en los nanocompuestos cada parte mantiene sus propiedades. Los polímeros conductores han tenido un gran auge especialmente en la última mitad del siglo XX. Son materiales de interés básico y tecnológico ya que combinan las propiedades de los metales o semiconductores con una estructura orgánica que permite versatilidad en los procesos de síntesis y funcionalización. Por otro lado, los polímeros de naturaleza termosensible han sido muy desarrollados en los últimos años, con especial enfoque en las aplicaciones biológicas debido a su característica de responder a un estímulo externo del medio tan importante como es la temperatura.

En la presente Tesis se estudian sistemas materiales que consisten en la combinación de polímeros termosensibles (ej. PNIPAM, HPC) y polímeros conductores (ej. PANI, PPy) en una misma estructura haciendo uso de las herramientas que provee la nanotecnología para la síntesis y caracterización. Se exploran diferentes niveles de tamaño donde se estudian las propiedades de cada uno de los componentes y el efecto sinérgico de la conjunción de ambos en una misma estructura, partiendo desde el nivel macroscópico hasta llegar al molecular. Entre ambos, surgen otros niveles interesantes como lo son el microscópico, el nanométrico y el supramolecular u organizado. Se hace un especial hincapié en el desarrollo de materiales compuestos y nanocompuestos. Aprovechando la conductividad y termosensibilidad de cada componente, se estudian las propiedades sinérgicas para conocer acerca del comportamiento del sistema compuesto haciendo uso de diversas técnicas microscópicas, espectroscópicas y de dispersión de luz, sumado a estudios de propiedades electrónicas. Con los resultados obtenidos se explora el concepto propuesto en los objetivos, esto es: si la acción sinérgica de la absorción de radiación electromagnética y la termosensibilidad se mantienen desde el nivel macroscópico al macromolecular. Se muestran ejemplos que sugieren que el mencionado efecto permanece en las diferentes escalas de tamaño. A su vez, se demuestra el efecto fototérmico logrado por irradiación con luz infrarroja cercana, microondas o radiofrecuencias para los materiales más prometedores, aprovechando la capacidad de absorción de luz de los polímeros conductores para luego transformarla en energía térmica, provocando así cambios en la estructura por el colapso del polímero termosensible. Adicionalmente, se plantean ensayos referidos a la toxicidad de los materiales desarrollados en líneas celulares diversas y en modelos animales con vistas a sus potenciales aplicaciones en sistemas biológicos, especialmente enfocados a terapia fototérmica antibacteriana. Otra área de aplicaciones a la que se apunta en esta Tesis es el desarrollo de sensores (tanto resistivos como de presión) y dispositivos actuadores.

ABSTRACT

Research interest in nanotechnology is based on the fact that the size of the system on the nanoscale has an important effect on its properties. There are properties of materials that change significantly, when the size arrive at the nanometric scale. Other kinds of properties are not affected when the size change from macroscopic to nanometric or sub-nanometric levels. However, in a system, one of the properties is able to change but others remain unaffected. In particular, the surface area/volume ratio increase when the size of the system decrease, making more effective the dispersion stability and the mass transport from the external medium. In the case of spherical solid materials dispersed in liquids, the mass transport rate within the solid is inversely proportional to the square radius. On another side, for many technological applications, the underlying property is present in molecules and nanoparticles, allowing molecular and nanocomposite mixtures. Although molecules (including macromolecules) are smaller than nanoparticles, it is possible that the incorporation of a functional group affects the properties of the entire molecule. Conversely, in nanocomposites each part maintains its properties. Conducting polymers were studied and developed, particularly in the second part of the XX century. These kind of materials are very interesting for basic and applied science/technology due to they combine the properties of materials such as metals or semiconductors with an organic structure that allow versatility in synthetic design and functionalization. On another hand, thermosensitive polymers have been studied in the last years, especially because are promising to apply in biological systems due to be able to respond external stimuli such as temperature.

In this Thesis, systems that combine thermosensitive polymers (e.g. PNIPAM, HPC) with conducting polymers (e.g. PANI, PPy) in the same structure are studied. Nanotechnology provides different tools and ways to synthesize and characterize the generated materials. Different sizes are explored (from the macroscopic to molecular) to understand the properties of each component and the synergistic effect of the combination in the same structure. Between macroscopic and molecular size, other levels are also interesting: microscopic, nanometric and supramolecular. A special approach to the development of nanocomposites and composite materials is made. Taking advantage of the conductivity and thermosensitivity of each component, the synergistic properties are studied by microscopic, spectroscopic, light dispersion and conductive/electronic techniques. Based on the obtained results, the proposed concept in the objectives is explored, that is: if the synergistic action of electromagnetic radiation absorption and thermosensitivity are maintained from macroscopic to macromolecular level. Examples that suggest that the mentioned effect is maintained at the different size scales are shown. Photothermal effect produced by the irradiation with near infrared light, microwaves or radiofrequency is tested with the most promising materials, taking advantage of conducting polymers are capable to absorb light and generate localized heat that induce a collapse of the thermosensitive polymer. In addition, the toxicity of the materials is tried using assays with different cell lines and animal models. One of the desired applications of the materials in biological systems is the antibacterial photothermal therapy. Another kind of applications is referred to the field of sensors (resistivity or pressure changes) and actuators devices.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN.....	iv
ABSTRACT	v
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	vi
ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE ESQUEMAS	xii
ÍNDICE DE FIGURAS	xv
ABREVIATURAS	xxiii
I HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	3
I.1 HIPÓTESIS	3
I.2 OBJETIVOS.....	3
I.2.1 Objetivo general.....	3
I.2.2 Objetivos específicos	3
II ANTECEDENTES Y FUNDAMENTOS	7
II.1 NANOCIENCIA Y NANOTECNOLOGÍA.....	7
II.1.1 Métodos de obtención de nanomateriales.....	9
II.2 POLÍMEROS	10
II.2.1 Polímeros conductores.....	11
II.2.2 Polímeros inteligentes.....	22
II.3 MATERIALES POLIMÉRICOS DE DIVERSA MORFOLOGÍA Y TAMAÑO ..	29
II.3.1 Hidrogeles (HG)	29
II.3.2 Redes inteligentes interpenetradas (IPN) y semi-interpenetradas (semi-IPN) ..	35
II.3.3 Materiales compuestos y nanocompuestos.....	37
II.3.4 Micro/nanogeles	40

II.3.5 Nano-objetos en base a PANI.....	41
II.3.6 Emulsiones y coloidosomas.....	44
II.4 APLICACIONES	45
II.4.1 Sensores y actuadores de presión	45
II.4.2 Sensores de resistividad.....	46
II.4.3 Terapia fototérmica (PTT).....	48
III MATERIALES Y METODOLOGÍA	53
III.1 SÍNTESIS DE MATERIALES	53
III.1.1 Síntesis de PANI masiva.....	53
III.1.2 Hidrogeles (HG).....	54
III.1.3 Micropartículas PNIPAM-co-2%AMPS semi-IPN	56
III.1.4 Nanomateriales.....	57
III.1.5 Método de obtención de coloidosomas	63
III.1.6 Síntesis de copolímero termosensible y conductor PNIPAM- <i>b</i> -PANi	63
III.2 TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN	65
III.2.1 Espectroscopias	65
III.2.2 Microscopias	66
III.2.3 Técnicas de dispersión de luz.....	67
III.2.4 Técnicas termoanalíticas	68
III.2.5 Fuentes de irradiación	68
III.2.6 Otras técnicas para determinar propiedades fisicoquímicas de los materiales.	70
III.2.7 Ensayos biológicos.....	76
IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	85
IV.1 NIVEL MACROSCÓPICO.....	85
IV.1.1 Películas de PANI	85

IV.1.2 Hidrogeles PNIPAM-co-2%AMPS y redes semi-IPNs	90
IV.1.3 Hidrogeles basados en HPC	103
IV.2 NIVEL MICROSCÓPICO	111
IV.2.1 Obtención del material: MP PNIPAM-co-2%AMPS semi-IPN con PANI... ..	111
IV.2.2 Morfología y tamaño de las micropartículas.....	111
IV.2.3 Efecto fototérmico.....	112
IV.3 NIVEL NANOMÉTRICO.....	117
IV.3.1 Nanopartículas de gel PNIPAM-co-2%AMPS	117
IV.3.2 Nanopartículas de polipirrol (NP PPy)	122
IV.3.3 Nanofibras de polianilina (NF PANI).....	126
IV.3.4 Nanopartículas de polianilina (NP PANI)	131
IV.3.5 Generación de materiales nanocompuestos	157
IV.4 NIVEL SUPRAMOLECULAR	166
IV.4.1 Coloidosomas estabilizados con NP PANI.....	166
IV.5 NIVEL MOLECULAR	178
IV.5.1 Obtención del copolímero PNIPAM- <i>b</i> -PANI.....	178
IV.5.2 Propiedades de solubilidad	178
IV.5.3 Caracterización espectroscópica: ¹ H NMR y FT-IR	180
IV.5.4 Propiedades electrónicas y conductoras.....	181
IV.5.5 Propiedades termosensibles	184
IV.5.6 Efecto sinérgico en el copolímero.....	186
IV.6 INTERACCIÓN DE LOS MATERIALES CON SISTEMAS BIOLÓGICOS ...	190
VI.6.1 Viabilidad y citotoxicidad.....	190
VI.6.2 Morfología celular.....	195
VI.6.3 Toxicidad y teratogenicidad en modelo anuro <i>Rhinella arenarum</i>	197



IV.7 APLICACIONES DE LOS MATERIALES SINTETIZADOS.....	203
IV.7.1 Sensores de presión.....	203
IV.7.2 Actuadores termoactivados	205
IV.7.3 Sensores resistivos	206
VI.7.4 Actividad antimicrobiana de NP PANI.....	219
V CONCLUSIONES GENERALES	227
VI REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	233

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Premios Nobel otorgados a investigadores por su contribución en el área de los polímeros.	11
Tabla 2. Homopolímeros termosensibles reportados en bibliografía.	26
Tabla 3. Clasificación de hidrogeles reportada en bibliografía.	31
Tabla 4. Coloidosomas obtenidos a partir de nanopartículas dispersas en agua y solventes orgánicos.	63
Tabla 5. Composición de solución de Ringer (pH 7,5).	78
Tabla 6. Composición del medio de cultivo Lauria-Bertani a pH 7,2.	80
Tabla 7. Elementos distintivos detectados por EDS y sus correspondientes proporciones en las diferentes películas de PANI modificadas.	88
Tabla 8. Valores de ángulo de contacto con agua cuantificados para las películas de PANI sin modificar y post-modificadas.	89
Tabla 9. Temperatura de transición de fase del hidrogel PNIPAM-co-2% AMPS y el material semi-IPN con PANI.	98
Tabla 10. Estados de agua para un hidrogel PNIPAM-co-2% AMPS sin interpenetrar y semi-IPN con PANI.	100
Tabla 11. Módulo de elasticidad determinado por compresión uniaxial sobre los diferentes materiales.	101
Tabla 12. Temperatura de transición de fase medida por la técnica de DSC para un hidrogeles de HPC.	109
Tabla 13. Resultados de diámetros hidrodinámicos y polidispersidad de las NP PPy medidos por dispersión de luz dinámica.	123
Tabla 14. Diámetro hidrodinámico y su correspondiente índice de polidispersidad para NP PANI haciendo uso de diferentes estabilizantes.	131
Tabla 15. Diámetro hidrodinámico de las nanopartículas estabilizadas por mezclas de polímeros y su correspondiente índice de polidispersidad.	133
Tabla 16. Diámetro hidrodinámico medido por la técnica DLS para NP PANI utilizando diferentes estabilizadores.	148
Tabla 17. Constantes de velocidad medidas para cada uno de los materiales nanocompuestos sintetizados.	162

Tabla 18. LCST medidas mediante la técnica de calorimetría diferencial de barrido para los tres tipos de materiales nanocompuestos sintetizados.....	164
Tabla 19. Ensayo de solubilidad para PNIPAM- <i>b</i> -PANI en diferentes solventes a 20 °C.....	180
Tabla 20. Resultados arrojados por el análisis probabilístico de la exposición a NP PANI de larvas en estadio S.25.....	199
Tabla 21. Resultados arrojados por el análisis probabilístico para larvas en estadio S.2-S.4 al ser expuestas a NP PANI.	202
Tabla 22. Identificación de cada uno de los sensores y su correspondiente tiempo de recuperación para cada morfología.	213

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Escala de tamaños donde es posible dimensionar al nanometro. Adaptado de referencia. ³	7
Esquema 2. Principales vías para la obtención de materiales utilizadas en nanotecnología. Adaptado de referencia. ¹³	9
Esquema 3. Clasificación de los polímeros conductores según naturaleza del material y origen de la conductividad.....	12
Esquema 4. Banda de valencia y banda de conducción de un polímero conductor durante el proceso de dopado.	14
Esquema 5. Hechos más importantes acontecidos en el área de estudio relacionada con los polímeros conductores.....	16
Esquema 6. Estructuras que se obtienen por protonación de PANI en estado esmeraldina base.	18
Esquema 7. Mecanismo de polimerización para la obtención de PANI.	19
Esquema 8. Proceso de dopado del PPy: a) PPy neutro, b) polarón y c) bipolarón.	21
Esquema 9. Mecanismo de reacción de polimerización del Py para dar PPy.	22
Esquema 10. Clasificación de los materiales termosensibles.....	24
Esquema 11. Diagramas que explican las temperaturas críticas LCST y UCST.	25
Esquema 12. Efecto del cambio en la temperatura sobre el hinchamiento de un hidrogel unido covalentemente.	32
Esquema 13. Etapas de polimerización a partir de monómeros vinílicos.	34
Esquema 14. Diferencia entre red semi-IPN (a) y red IPN (b). Adaptado de referencia. ¹⁴⁶	35
Esquema 15. Diferentes ejemplos de materiales nanocompuestos generados a partir de celulosa o derivados y su combinación con otros compuestos o polímeros.....	39
Esquema 16. Diferencias entre las propiedades fisicoquímicas de geles macroscópicos y microgeles.....	41
Esquema 17. Diversas morfologías de la PANI: a) globular, b) nanofibras, c) nanotubos, d) películas delgadas, e) recubrimientos y f) partículas coloidales. Adaptado de referencia. ⁶⁹	42
Esquema 18. Diferentes tipos de estabilización de emulsiones: a) utilizando surfactantes con carga, b) utilizando surfactantes no cargados y c) utilizando partículas sólidas. Adaptado de referencia ²¹²	44

Esquema 19. Ventana terapéutica para aplicación de terapia fototérmica utilizando NIR. Referencias: Hb (hemoglobina), HbO ₂ (oxihemoglobina).	49
Esquema 20. Estructuras químicas de monómeros, agente entrecruzador y componentes del sistema iniciador de polimerización para la obtención de hidrogeles PNIPAM-co-2%AMPS. ...	54
Esquema 21. Proceso experimental para la obtención de PNIPAM-co-2%AMPS semi-IPN con PANI.	55
Esquema 22. Procedimiento de síntesis de PANI en el interior de la matriz termosensible de HPC.	56
Esquema 23. Reacción de obtención de NP PPy por polimerización oxidativa a partir del monómero.	57
Esquema 24. Diagrama de obtención de NP PANI por desplazamiento de solvente.	59
Esquema 25. Proceso de funcionalización y conjugación de la PANI lineal.	61
Esquema 26. Pasos experimentales llevados a cabo para la obtención de materiales nanocompuestos basados en hidrogeles termosensibles y nano-objetos conductores.	62
Esquema 27. Procedimiento sintético para la obtención del copolímero bloque PNIPAM- <i>b</i> -PANI.	64
Esquema 28. Equipamiento utilizado para la irradiación de materiales con luz NIR.	69
Esquema 29. Representación del instrumento utilizado en la medición de módulo de elasticidad.	72
Esquema 30. Cambio longitudinal en piezas cilíndricas de material expuestas a compresión. ...	73
Esquema 31. Diagrama de la reacción para modificación de PANI por sustitución electrofílica aromática.	86
Esquema 32. Distribución del agua dentro de los hidrogeles: a) PNIPAM-co-2%AMPS y b) PNIPAM-co-2%AMPS semi-IPN.	101
Esquema 33. Diagrama de obtención de las micropartículas PNIPAM-co-2%AMPS semi-IPN con PANI a partir de un hidrogel macroscópico.	111
Esquema 34. Diagrama ilustrativo de la estructura sugerida para las NP PPy.	124
Esquema 35. Diagrama ilustrativo de los fenómenos ocurridos en el proceso reversible de estabilización de NP PANI termosensibles.	139
Esquema 36. Representación del método de desplazamiento de solvente en la generación de NP PANI.	146

Esquema 37. Diagrama ilustrativo de la estructura que poseen los coloidosomas obtenidos a partir de NP PANI y un solvente orgánico.....	169
Esquema 38. Representación de la distribución de PANI dentro de una matriz de hidrogel, antes y después de aplicar presión externa. Comparación del material semi-IPN con un nanocompuesto.	205
Esquema 39. Modelo propuesto para sensores de volátiles construidos: a) basados en nanofibras de polianilina y b) basados en películas de polianilina.	218

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructuras moleculares de los polímeros conductores intrínsecos más estudiados.	13
Figura 2. Estructura de la molécula de PANI.....	17
Figura 3. Estados de óxido-reducción de la PANI: a) leucoesmeraldina, b) pernigranilina y c) esmeraldina.	17
Figura 4. Estructuras químicas del monómero pirrol (Py) y su correspondiente polímero (PPy).	20
Figura 5. Estructura molecular de la poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAM).....	27
Figura 6. Estructura molecular de la hidroxipropilcelulosa (HPC).....	28
Figura 7. Estructura de los diferentes estabilizantes utilizados en la generación de NP PANI: a) PVP, b) PNIPAM y c) HPC.	59
Figura 8. Estructura de los compuestos utilizados como agentes estabilizantes en la síntesis de NP PANI por desplazamiento de solvente: a) polivinilpirrolidona (PVP); b) sulfato de condroitina (ChS); c) dodecilsulfato de sodio (SDS); d) polivinilalcohol (PVA); e) poli(cloruro de vinilo) (PVC) y f) ácido poliacrílico (PAAc).....	60
Figura 9. Estructura del fluoróforo cloruro de dansilo (DNS-Cl).	61
Figura 10. Dispositivo utilizado para irradiar radiofrecuencias.	70
Figura 11. Fotografía de sensores interdigitados utilizados en medidas de cambio de resistividad.	75
Figura 12. Estructuras químicas de los compuestos utilizados en la determinación de viabilidad celular y citotoxicidad: a) (3-[4,5,dimetiltiazol-2-il]-5-[3-carboxi metoxi-fenil]-2-[4-sulfofenil]-2H-tetrazolio); b) (3(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-bromuro de difeniltetrazolio y c) cristal violeta.	76
Figura 13. Fotografía de una película de PANI obtenida sobre sustrato de polietileno.	85
Figura 14. Estructura de los reactivos utilizados para llevar a cabo la adición nucleofílica a la PANI.....	86
Figura 15. Imágenes correspondientes a la microscopia electrónica de barrido de las diferentes películas: a) PANI, b) PANI-TIO, c) PANI-DOT, d) PANI-ATF, e) PANI-CIA y f) PANI-2-Cl-ANI. Barra de escala: 100 μm	87
Figura 16. Imágenes correspondientes a la medición de ángulo de contacto entre agua y las distintas películas en base a PANI.....	89

Figura 17. Estructura química de la matriz de hidrogel PNIPAM-co-2%AMPS entrecruzada con BIS.	91
Figura 18. Cinética de hinchamiento para un hidrogel PNIPAM-co-2%AMPS en agua y su comparación con NMP.	92
Figura 19. Cinética de hinchamiento de hidrogel PNIPAM-co-2%AMPS en NMP y soluciones de diferentes concentraciones de PANI en el mismo solvente.	93
Figura 20. Fotografía de un hidrogel de PNIPAM-co-2%AMPS: a) hinchado en agua y b) hinchado en una solución PANI/NMP 0,4 g/L.	93
Figura 21. Imágenes SEM del material semi-IPN (método de impregnación por absorción del polímero a partir de una solución en NMP). Barras de escala: a) 2 μm , b) 200 nm.	94
Figura 22. Comparación de los espectros UV-Visible de PANI disuelta en NMP y en agua (a baja concentración).	95
Figura 23. Curva de calibración para PANI/NMP a $\lambda_{\text{abs}} = 328 \text{ nm}$	96
Figura 24. Coeficientes de partición de PANI en un hidrogel de PNIPAM-co-2%AMPS a 20 °C.	97
Figura 25. Cinética de hinchamiento en agua para el hidrogel PNIPAM-co-2%AMPS semi-IPN con PANI.	97
Figura 26. Termogramas obtenidos en la medición de DSC: a) semi-IPN y b) PNIPAM-co-2%AMPS.	100
Figura 27. Módulo de elasticidad del hidrogel cargado con PANI a partir de una solución 0,4 g/L PANI/NMP a diferentes tiempos de impregnación.	102
Figura 28. Cambio de temperatura en el hidrogel semi-IPN generado por irradiación con radiofrecuencias.	103
Figura 29. Cinética de hinchamiento en agua del hidrogel basado en HPC.	104
Figura 30. Espectro infrarrojo de una muestra de hidrogel de HPC.	105
Figura 31. Calorimetría diferencial de barrido de una muestra de hidrogel HPC.	106
Figura 32. Hidrogel de HPC: a) antes de la incorporación de PANI y b) con PANI incorporada por polimerización <i>in situ</i>	107
Figura 33. Hinchamiento en agua del material basado en HPC con PANI incorporada a distintos tiempos: 0, 8 y 24 horas.	108
Figura 34. Incremento de temperatura por acción de radiofrecuencias sobre el material de HPC con PANI incorporada.	109

Figura 35. Micropartículas termosensibles semi-IPN dispersas en agua observadas por microscopía óptica.....	112
Figura 36. Curva de incremento de temperatura en función del tiempo de irradiación con luz NIR para las MP PNIPAM-co-2%AMPS semi-interpenetradas con PANI dispersas en agua. Temperatura inicial: 20 °C.	113
Figura 37. Cambio de temperatura en función de la irradiación con radiofrecuencias para las micropartículas termosensibles conteniendo el polímero conductor PANI. Temperatura inicial: 20 °C.....	114
Figura 38. Cambios de temperatura para micropartículas dispersas en agua tras ser irradiadas con microondas. Temperatura inicial: 20 °C.....	115
Figura 39. Distribución de tamaños de las nanopartículas de gel PNIPAM-co-2%AMPS.....	117
Figura 40. Imágenes de las nanopartículas de gel tomadas por microscopía electrónica de barrido. Barra de escala: a) 2 μm , b) 1 μm	118
Figura 41. Microscopía TEM que muestra la morfología de una nanopartícula de gel PNIPAM-co-2%AMPS.....	119
Figura 42. Medidas de AFM de una dispersión de nanogeles PNIPAM-co-2%AMPS: a) imagen bidimensional y b) perfil en tres dimensiones de a).	119
Figura 43. Espectro infrarrojo correspondiente a nanopartículas de gel PNIPAM-co-2%AMPS.	120
Figura 44. Variación de diámetro hidrodinámico en función de la temperatura para nanogeles de PNIPAM-co-2%AMPS en agua.	121
Figura 45. Termograma correspondiente a nanogeles PNIPAM-co-2%AMPS.....	122
Figura 46. Imágenes SEM de NP PPy: a y b) estabilizadas con PVP, c y d) estabilizadas con PVP-PNIPAM.	124
Figura 47. Espectro de absorción UV-Visible de NP PPy estabilizadas con PVP.....	125
Figura 48. Incremento de temperatura para NP PPy en agua tras ser irradiadas con radiofrecuencias.....	126
Figura 49. Microscopía electrónica de barrido de las NF PANI a distintas magnificaciones. Barra de escala: a) 50 μm , b) 10 μm y c) 5 μm	127
Figura 50. Espectro UV-Visible de NF PANI en agua a pH ácido.	128
Figura 51. Espectro infrarrojo de las nanofibras de polianilina en estado sal esmeraldina.....	128

Figura 52. Imágenes SEM de NF PANI luego del proceso de funcionalización: a) PANI-TIO, b) PANI-DOT, c) PANI-ATF, d) PANI-CIA y e) PANI-2-Cl-ANI.....	130
Figura 53. Espectros de absorción UV-Visible para NF PANI: a) comparación en agua y en medio de reacción para la modificación (etanol) y b) tras modificación por reacciones de química orgánica.	131
Figura 54. Distribución de tamaños para NP PANI utilizando diferentes estabilizantes poliméricos: a) PVP, b) PNIPAM y c) HPC. Temperatura de medición: 25 °C.....	132
Figura 55. Imagen de NP PANI estabilizadas con PVP obtenida por AFM.	134
Figura 56. Imágenes tomadas por microscopia SEM para NP PANI utilizando diferentes estabilizantes: a) PVP, b) PNIPAM y c) HPC.....	135
Figura 57. Imágenes obtenidas por microscopia electrónica de transmisión para: a) NP PANI estabilizadas con PVP y b) NP PANI estabilizadas con PNIPAM.	135
Figura 58. Fotografías de las dispersiones de NP PANI estabilizadas con PVP, PNIPAM y HPC, a diferentes temperaturas: a) 25 °C y b) 50 °C.....	136
Figura 59. Variación de transmitancia en función de la temperatura para NP PANI estabilizadas con diferentes agentes poliméricos.....	137
Figura 60. Diámetro hidrodinámico frente a variaciones de temperatura de NP PANI estabilizadas con PNIPAM obtenida mediante estudios de dispersión de luz.....	138
Figura 61. Transmitancia de NP PANI termosensibles frente a variación de temperatura a diferentes pH.....	139
Figura 62. Fotografía de una dispersión de NP PANI a distintos pH donde se evidencia el cambio de estado conductor de la PANI.	140
Figura 63. Espectro UV-Visible de las NP PANI a diferentes pH.....	141
Figura 64. Variación de la transmitancia de NP PANI termosensibles en función del tiempo de irradiación con microondas.	142
Figura 65. Transmitancia en función de variación de temperatura a partir de medidas turbidimétricas tras irradiación con microondas de la dispersión de NP PANI estabilizadas con PNIPAM.	143
Figura 66. Incremento de temperatura respecto al tiempo de irradiación con luz NIR sobre dispersiones de NP PANI a diferentes concentraciones.....	144
Figura 67. Transmitancia en función de la temperatura para una dispersión de NP PANI estabilizada con PVP-PNIPAM en iguales proporciones al irradiar con NIR.	144

Figura 68. Cambios topográficos inducidos por radiación NIR en una superficie cubierta por NP PANI estabilizadas con PNIPAM: a) antes de irradiar y b) tras 2 minutos de irradiación.	145
Figura 69. Medida de DLS para NP PANI usando PVP como agente estabilizador.	146
Figura 70. Micrografías SEM de NP PANI sintetizadas por el método de desplazamiento de solvente sin funcionalización previa. En ambos casos se utilizó PVP como estabilizador. a) Barra de escala: 1 μ m. b) Barra de escala: 200 nm.	147
Figura 71. Comparación de diámetros hidrodinámicos de las NP PANI obtenidas por dos métodos diferentes.	149
Figura 72. Espectro infrarrojo para DNS-Cl, PANI masiva y NP PANI/ DNS-Cl.	150
Figura 73. Gráfico obtenido por la técnica de dispersión de luz dinámica para NP PANI funcionalizadas con el fluoróforo extrínseco DNS-Cl.	151
Figura 74. Imágenes tomadas por microscopia electrónica de barrido correspondientes a NP PANI/DNS-Cl sintetizadas por el método de desplazamiento de solvente. En ambos casos se utilizó PVP 2 % p/v como estabilizante. Barra de escala: 1 μ m (a) y 200 nm (b).	152
Figura 75. Espectros UV-Visible para DNS-Cl, NP PANI y NP PANI/DNS-Cl: a) pH 7 (20 °C) y b) pH 2 (20 °C).	153
Figura 76. Comparación del aspecto de dispersiones de NP PANI sin funcionalizar y funcionalizadas con DNS-Cl al ser irradiadas con luz UV.	153
Figura 77. Espectros de emisión de fluorescencia normalizados a diferentes pH: a) DNS-Cl en NMP y b) NP PANI/DNS-Cl en NMP/agua. Temperatura: 20 °C.	154
Figura 78. Gráfico de pH del ambiente respecto a la longitud de onda de emisión de DNS-Cl. Identificación del pH interno de NP PANI.	155
Figura 79. Incremento de temperatura por irradiación NIR de NP PANI/DNS-Cl. Temperatura inicial: 20 °C.	156
Figura 80. Incremento de temperatura por irradiación con radiofrecuencias de NP PANI/DNS-Cl.	157
Figura 81. Fotografías correspondientes a piezas de los diferentes materiales nanocompuestos sintetizados: a) HG-NF PANI, b) HG-NP PANI y c) HG-NP PPy.	158
Figura 82. Micrografías SEM de los materiales nanocompuestos sintetizados: a y b) HG-NF PANI, c y d) HG-NP PANI, e y f) HG-NP PPy.	159
Figura 83. Pérdida de masa y sus respectivas derivadas para cada uno de los nanocompuestos: a) HG-NF PANI, b) HG-NP PANI y c) HG-NP PPy.	160
Figura 84. Cinética de hinchamiento en agua de los tres materiales nanocompuestos.	161

Figura 85. Valores de hinchamiento en el equilibrio de los tres materiales nanocompuestos en cuestión.....	163
Figura 86. Incremento de temperatura de materiales nanocompuestos y un hidrogel PNIPAM-co-2%AMPS inducido por irradiación con radiofrecuencias	164
Figura 87. Materiales nanocompuestos antes y después de ser irradiados con radiofrecuencias: a) HG-NF PANI, b) HG-NP PPy y c) HG-NP PANI.....	165
Figura 88. Medición de tamaño de coloidosomas utilizando la cámara acoplada al microscopio óptico: a) C ₁ , b) C ₃ , c) C ₂ y d) C ₄	167
Figura 89. Imagen de un coloidosoma C ₂ tomada por microscopia electrónica de barrido. Barra de escala: 100 μm.	168
Figura 90. Imágenes de coloidosomas C ₄ tomadas por microscopia electrónica de barrido. Barras de escala: 100 μm.	168
Figura 91. Espectros UV-Visible de los diferentes coloidosomas: a) C ₁ y C ₂ , b) C ₃ y C ₄	170
Figura 92. Efecto de pH sobre el espectro UV-Visible de los coloidosomas C ₁	171
Figura 93. Ensayos turbidimétricos sobre los coloidosomas termosensibles: a) C ₃ y b) C ₄	172
Figura 94. Efecto térmico sobre coloidosomas C ₃ observado por microscopia óptica.	173
Figura 95. Efecto térmico sobre coloidosomas C ₄ observado por microscopia óptica.	174
Figura 96. Variación de temperatura en función del tiempo de irradiación con radiofrecuencias para los coloidosomas termosensibles: a) C ₃ y b) C ₄ . Temperatura inicial: 16 °C.	175
Figura 97. Efecto fototérmico producido por irradiación con radiofrecuencias a distintos tiempos: a) C ₃ y b) C ₄	176
Figura 98. Estructura química de PNIPAM- <i>b</i> -PANI.	178
Figura 99. Comparación de las diferentes dispersiones de los polímeros en agua: a) PNIPAM, b) PANI y c) PNIPAM- <i>b</i> -PANI.....	179
Figura 100. Espectros de ¹ H NMR: a) PNIPAM modificado con 4-ATF y b) copolímero bloque PNIPAM- <i>b</i> -PANI.	181
Figura 101. Espectro infrarrojo de la macromolécula PNIPAM- <i>b</i> -PANI.....	181
Figura 102. Espectro UV-Visible para la macromolécula en medio ácido y básico.	182
Figura 103. Comportamiento de PNIPAM- <i>b</i> -PANI como sensor al ser expuesto a vapores de propanol.....	184

Figura 104. Solución de PNIPAM- <i>b</i> -PANI a 25 °C y 42 °C.....	185
Figura 105. Ensayo turbidimétrico de PNIPAM- <i>b</i> -PANI al variar la temperatura.....	185
Figura 106. Fotografías de una gota de PNIPAM- <i>b</i> -PANI en función del tiempo de irradiación con luz NIR.....	186
Figura 107. Imágenes obtenidas con cámara infrarroja tras irradiación de luz NIR (5 minutos).	187
Figura 108. Perfiles 3D construidos durante la medición con cámara infrarroja tras 5 minutos de irradiación de la gota correspondiente a la macromolécula PNIPAM- <i>b</i> -PANI: a) antes de irradiar y b) tras irradiación NIR (15 minutos).	187
Figura 109. Imágenes tomadas por microscopia AFM: a) antes de irradiar y b) tras 2 minutos de irradiación con luz NIR.	188
Figura 110. Incremento de temperatura de PNIPAM- <i>b</i> -PANI generado por irradiación con luz NIR. Temperatura inicial: 20 °C.	189
Figura 111. Ensayos de viabilidad celular sobre T3T-L1 realizado mediante: a) técnica MTT y b) tinción con cristal violeta.....	191
Figura 112. Ensayo de cristal violeta para los hidrogeles sin modificar, nanocompuestos e interpenetrados con PANI.	192
Figura 113. Viabilidad celular de nanopartículas de gel medida medida por distintas técnicas: a) MTT y b) ensayo de cristal violeta.....	193
Figura 114. Efectos citotóxicos de NP PANI sobre la línea celular SH-SY5Y: a) citotoxicidad a 48 horas y b) citotoxicidad a 48 horas. C+: control de vida C-: control de muerte. Se trabajó con un grupo de datos n = 15 y un error P < 0.0001.	194
Figura 115. Células T3T-L1 sobre superficies de hidrogeles: a) control 10X, b) control 20X, c) hidrogel PNIPAM-co-2%AMPS 10X, d) hidrogel PNIPAM-co-2%AMPS 20X, e) hidrogel con PANI polimerizada <i>in situ</i> 10X, f) hidrogel con PANI polimerizada <i>in situ</i> HG NC 20X, g) hidrogel semi-IPN con PANI 10X y h) hidrogel semi-IPN con PANI 20X.....	196
Figura 116. Imágenes tomadas por microscopia óptica (aumento 30X) para la observación de la morfología celular al exponer a diferentes concentraciones de nanogeles: a) control, b) dilución 1/10, c) dilución 1/100 y d) dilución 1/1000.	197
Figura 117. Porcentaje de supervivencia de las larvas de <i>Rhinella arenarum</i> en un tiempo de 96 horas de exposición frente a: a) NP PANI estabilizadas con PVP y b) NP PANI estabilizadas con PVP 1% - PNIPAM 1%.....	198
Figura 118. Porcentaje de embriones con morfología normal tras 96 horas de exposición a: a) NP PANI estabilizadas con PVP y b) NP PANI estabilizadas con una mezcla de PVP y PNIPAM en idénticas proporciones. Controles: PBS y RS.	200

Figura 119. Porcentaje de mortalidad de embriones tras 96 horas de exposición a diferentes concentraciones de NP PANI (estabilizadas con PVP) y PVP 2% en PBS, comparados con el control.....	201
Figura 120. Resistencia eléctrica en función del estrés de un material semi-IPN basado en PNIPAM-co- 2%AMPS con 14 días de carga de PANI estabilizada a pH 2 a 20°C.	203
Figura 121. Fotografías y lectura de la resistividad eléctrica del material semi-IPN entre dos placas de aluminio conectados a un multímetro a diferentes temperaturas: a) 20 °C, b) 48 °C y c) 55 °C.	206
Figura 122. Respuesta típica de los sensores: a) NF PANI expuesta a propanol, b) película PANI expuesta a propanol, c) NF PANI expuesta a butanol y d) película PANI expuesta a butanol. Las flechas indican exposición (naranja) y remoción (azul) al vapor.	207
Figura 123. Respuesta de los diferentes sensores construidos a partir de nanofibras y películas de PANI sin modificar y tras ser modificadas. Medidas realizadas a 25 °C, HR 30 %.....	209
Figura 124. Velocidad de respuesta para todos los sensores construidos. Medidas realizadas a 25 °C, HR 30 %.....	211
Figura 125. Tiempos de recuperación para la operación de los sensores basados en nanofibras y películas de PANI. (Véase identificación en Tabla 22).....	213
Figura 126. Efecto del % HR en la respuesta de los sensores frente a vapores de compuestos orgánicos: a) PANI-TIO expuesto a propanol, b) PANI-TIO expuesto a butanol, c) PANI-DOT expuesto a propanol y d) PANI-DOT expuesto a butanol.....	215
Figura 127. Gráficos multicomponentes para comparación de la respuesta de sensores entre las distintas morfologías previo y post-modificación química.	216
Figura 128. Análisis de los diferentes sensores construidos a partir de NF PANI frente un mismo vapor de compuesto orgánico.	217
Figura 129. Efecto antimicrobiano de NP PANI sobre <i>P. aeruginosa</i> a diferentes concentraciones tras 24 horas de exposición.....	220
Figura 130. Efecto fototérmico frente a <i>P. aeruginosa</i> por irradiación con luz NIR (15 minutos) sobre las NP PANI.....	221
Figura 131. Imágenes tomadas por microscopia de fluorescencia para el control de viabilidad <i>P. aeruginosa</i> : a) control, b) células expuestas a NIR, c) células expuestas a NP PANI, d) células expuestas a NP PANI y luz NIR.....	221
Figura 132. Variación de UFC por efecto antibacteriano de NP PANI/DNS-Cl y por efecto sinérgico del nanomaterial y luz NIR. Tiempo de exposición: 15 minutos.	222

ABREVIATURAS

% Hinch.	Porcentaje de hinchamiento
% Hinch. eq.	Porcentaje de hinchamiento en equilibrio
% HR	Porcentaje de humedad relativa
2-Cl-ANI	2-cloroanilina
A	Sección transversal
AAc	Ácido acrílico
AAM	Acrilamida
AFM	Microscopia de fuerza atómica
AMPS	Ácido 2-acrilamido-2-metilpropansulfónico
ANI	Anilina
ATF	2-aminotiofenol
B	Unidad bencenoide
BIS	N,N'-metilbisacrilamida
ButOH	Butanol
C₁	Coloidosoma a partir de NP PANI estabilizadas con PVP en ciclohexano
C₂	Coloidosoma a partir de NP PANI estabilizadas con PVP en octanol
C₃	Coloidosoma a partir de NP PANI estabilizadas con PNIPAM en ciclohexano
C₄	Coloidosoma a partir de NP PANI estabilizadas con PNIPAM en octanol
ChS	Sulfato de condroitina
CIA	Cisteamina
Cp	Coeficiente de partición
DADMAC	Cloruro de dialilmetilamonio
DEA	N, N-dietilacrilamida
DLS	Dispersión de luz dinámica
DMEM	Medio modificado <i>Dulbecco's Eagle's</i>
DNS-Cl	Cloruro de dansilo
DOT	Dodecanotiol
DSC	Calorimetría diferencial de barrido
EDMA	Dimetacrilato de etilenglicol
EDS	Espectrometría de dispersión de energía de Rayos X
EHEC	Etil(hidroxietil)celulosa
ELISA	Ensayo inmunoenzimático (del inglés <i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i>)
EM	Esmeraldina
EtOH	Etanol
EWC	Contenido de agua en equilibrio
F	Fuerza restauradora
FT-IR	Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier

G	Factor Gauge
HEMA	Metacrilato de 2-hidroxietilo
Hept	Heptano
HG	Hidrogel
HG-NF PANI	Nanocompuesto hidrogel con NF PANI
HG-NP PANI	Nanocompuesto hidrogel con NP PANI
HG-NP PPy	Nanocompuesto hidrogel con NP PPy
HPC	Hidroxipropilcelulosa
HPMC	Hidroxipropilmetilcelulosa
I	Corriente
IPN	Red interpenetrada
IT	Índice teratogénico
k	Constante de velocidad
ki	Constante de iniciación
kp	Constante de propagación
kt	Constante de terminación
λ	Longitud de onda
LB	Caldo Luria-Bertani
LCST	Temperatura crítica inferior
LM	Leucoesmeraldina
Lo	Longitud inicial
MBAA	N,N'-Metileno-bisacrilamida
MC	Metilcelulosa
MeOH	Metanol
MP	Micropartículas
MTT	Ensayo colorimétrico de actividad metabólica
NAD(P)H	Enzima nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducida
NC	Nanocompuesto
NF	Nanofibras
NF PANI	Nanofibras de polianilina
NF PANI-2-Cl-ANI	Nanofibras de polianilina modificadas con 2-Cl-ANI
NF PANI-ATF	Nanofibras de polianilina modificadas con ATF
NF PANI-CIA	Nanofibras de polianilina modificadas con CIA
NF PANI-DOT	Nanofibras de polianilina modificadas con DOT
NF PANI-TIO	Nanofibras de polianilina modificadas con TIO
NIPAM	N-isopropilacrilamida
NIR	Radiación infrarroja cercana
NMP	N-metilpirrolidona
NMR	Resonancia magnética nuclear
NP	Nanopartículas
NP PANI	Nanopartículas de polianilina
NP PANI/DNS-Cl	Nanopartículas de polianilina funcionalizadas con cloruro de dansilo

NP PPy	Nanopartículas de polipirrol
PAA	Poliacrilamida
PAAc	Ácido poliacrílico
PANI	Polianilina
PANI-2-Cl-ANI	Polianilina modificada con 2-cloroanilina
PANI-ATF	Polianilina modificada con 2-aminotiofenol
PANI-CIA	Polianilina modificada con cisteamina
PANI-DOT	Polianilina modificada con dodecanotiol
PANI-TIO	Polianilina modificada con ácido tioglicólico
PBMEAM	Poli(N,N-bis(2-metoxietil) acrilamida)
PBS	Solución tampón fosfato salino
PDADMAC	Poli(cloruro de dialilmetilamonio)
PDEA	Poli(N, N-dietilacrilamida)
PDMA	Poli(2-dimetilamino)etil metacrilato
PEA	Poli(N-etilacrilamida)
PEMA	Poli(N,N-etilmetilacrilamida)
PentOH	Pentanol
PEOZ	Poli(2-etil-2-oxazolina)
PEPA	Poli(etoxipropilacrilamida)
PIPOZ	Poli(2-isopropil-2-oxazolina)
PMPAM	Poli(N-(3-metoxipropil)acrilamida)
PN	Pernigranilina
PNIPAM	Poli(N-isopropilacrilamida)
PNIPAM-<i>b</i>-PANI	Copolímero bloque en base a poli(N-isopropilacrilamida) y polianilina
PNPAM	Poli(N-propilacrilamida)
PP	Polipropileno
PPO	Poli(óxido de propileno)
PPy	Polipirrol
PropOH	Propanol
PSA	Persulfato de amonio
PTT	Terapia fototérmica
PVA	Poli(vinilalcohol)
PVC	Poli(cloruro de vinilo)
PVCL	Poli(N-vinilcaprolactama)
PVDF	Fluoruro de polivinilideno
PVME	Poli(vinilmetileter)
PVME	Poli(vinilmetileter)
PVP	Poli(vinilpirrolidona)
Py	Pirrol
Q	Unidad quinónica
Q_{endo}	Calor endotémico
Q_{pw}	Calor endotérmico de fusión de agua pura

R	Resistencia eléctrica
ρ	Resistividad
RS	Solución de Ringer
SDS	Dodecilsulfato de sodio
SEM	Microscopia electrónica de barrido
semi-IPN	Red semi-interpenetrada
t	Tiempo
TEM	Microscopia electrónica de transmisión
TEMED	N,N,N',N'-tetrametiletilenacrilamida
TGA	Análisis termogravimétrico
TIO	Ácido tioglicólico
UCST	Temperatura crítica superior
UFC	Unidades formadoras de colonias
UI	Unidad internacional (farmacología)
UV	Ultravioleta
V	Variación de potencial
w	Ancho de "gap"
W₀	Masa inicial
wd	Masa seca
W_f	Agua libre
W_{fb}	Agua congelada enlazada
W_{freezing}	Agua total congelada
W_{nofb}	Agua no congelada enlazada
ws	Masa húmeda
Wt	Peso del hidrogel a tiempo t
ΔT	Variación de temperatura
σ	Conductividad

CAPÍTULO I
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

◆—————◆



I HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

I.1 HIPÓTESIS

Las propiedades fisicoquímicas de los polímeros conductores y los termosensibles se mantienen desde el nivel macroscópico al molecular.

I.2 OBJETIVOS

I.2.1 Objetivo general

Explorar la persistencia de las propiedades fisicoquímicas de nanocompuestos basados en polímeros termosensibles y conductores a diferentes niveles de tamaño: macroscópico, microscópico, nanométrico, supramolecular y molecular.

I.2.2 Objetivos específicos

- Sintetizar nuevos materiales -particularmente nanocompuestos- a partir de polímeros conductores y termosensibles, en diferentes tamaños y morfologías: nanopartículas, nanofibras, superficies, hidrogeles, coloidosomas y macromoléculas, entre otros.
- Estudiar las propiedades electrónicas y conductoras de los polímeros por técnicas de conductividad, tanto macroscópicas como espectroscópicas.
- Analizar el comportamiento de los polímeros termosensibles haciendo uso de técnicas de dispersión de luz, espectroscopias, turbidimetría, calorimetría y microscopia de fuerza atómica.
- Estudiar las propiedades sinérgicas en los materiales por monitoreo de los cambios volumétricos provocados por irradiación con luz infrarroja, microondas y radiofrecuencias.
- Evaluar aspectos tales como la viabilidad celular, toxicidad y teratogenicidad de los materiales sintetizados más prometedores para dilucidar acerca de su interacción con sistemas biológicos.



- Desarrollar aplicaciones en el área de sensores, tanto de presión como cambios de resistividad, así como también en lo que respecta a la terapia fototérmica antibacteriana.

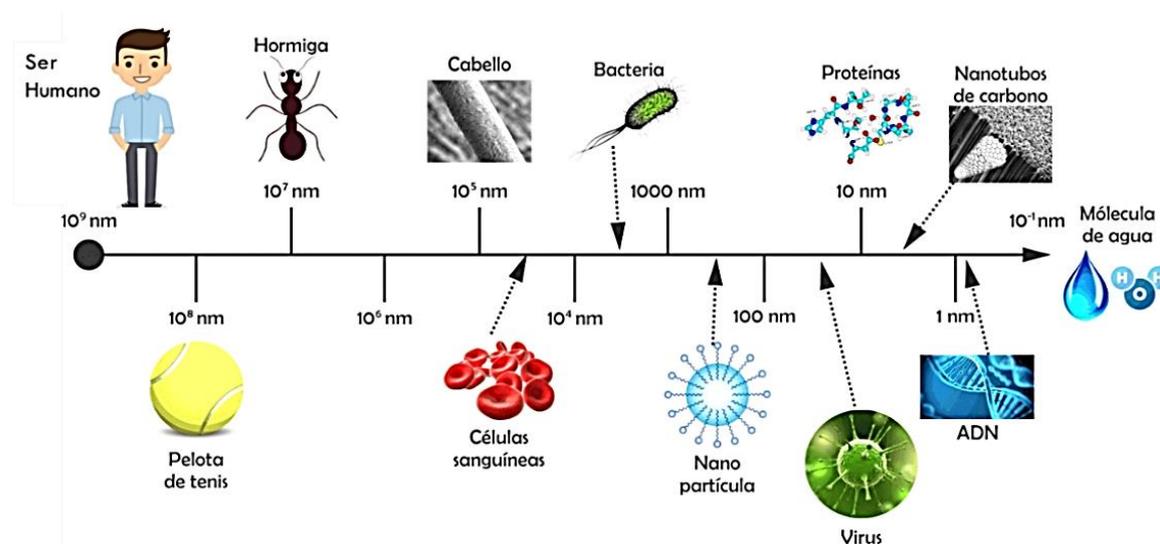


II ANTECEDENTES Y FUNDAMENTOS

II.1 NANOCIENCIA Y NANOTECNOLOGÍA

Los términos de “ciencia” y “tecnología” hacen referencia a dos facetas diferentes de la actividad humana. Mientras el término de ciencia incluye la búsqueda de los principios que puedan explicar o dilucidar el comportamiento de las entidades de las que estamos rodeados e inclusive de los seres humanos, la tecnología comprende al conjunto de los conocimientos, instrumentos y procedimientos que posibilitan que modifiquemos nuestro entorno.¹ Esta definición, muy propia de la filosofía clásica, no resulta muy útil en áreas de la ciencia diferentes de la física. En química se realiza un mayor esfuerzo en la creación de nuevos entes (ej. sustancias químicas) que en el estudio de los ya existentes, por lo cual la química podría ser considerada más como una tecnología que como una ciencia. Sin embargo, esta creación también amplía el campo de estudio de las ciencias.

El prefijo “nano” hace referencia a un factor 10^{-9} . Un nanometro (nm) es la unidad de longitud que equivale a la millonésima parte de un milimetro; define las dimensiones típicas donde la nanotecnología muestra todo su potencial: la nanoescala. En el **Esquema 1** es posible observar la dimensión nanométrica y compararla con seres vivos, objetos, estructuras biológicas o moléculas a fin de poder tener idea de dicha dimensión. La nanociencia y la nanotecnología buscan comprender los fundamentos y propiedades de los objetos (nanociencia) y diseñar elementos o dispositivos con funciones específicas (nanotecnología) cuyas dimensiones sean del orden de los nanometros.²



Esquema 1. Escala de tamaños donde es posible dimensionar al nanometro. Adaptado de referencia.³

El origen del término “nanotecnología” no es muy lejano a nuestros días. Fue en el año 1974 cuando Norio Taniguchi lo utilizó para describir el conjunto de técnicas que se necesitan para fabricar objetos o dispositivos con la precisión del orden del nanometro.⁴ En un sentido más amplio, la nanotecnología es vista como la combinación de técnicas pertenecientes a diversos campos que tienen como finalidad la investigación y el desarrollo tecnológico a nivel atómico, molecular y supramolecular. Las mismas están destinadas a proporcionar el entendimiento fundamental de los fenómenos y los materiales en la nanoescala para así poder crear y utilizar estructuras, dispositivos y sistemas con nuevas propiedades y funciones que podrían surgir por el particular comportamiento cuando su tamaño deja de ser considerado macroscópico ya que al menos una de sus dimensiones es del orden de los nanometros.⁵ En una primera instancia puede decirse que la nanotecnología se encuentra fuertemente relacionada con la mecánica cuántica, cuyos principios tienen una discontinuidad de tamaño ya que a tamaños comparables a la longitud de onda de la partícula, las leyes de la física macroscópica dejan de ser válidas.

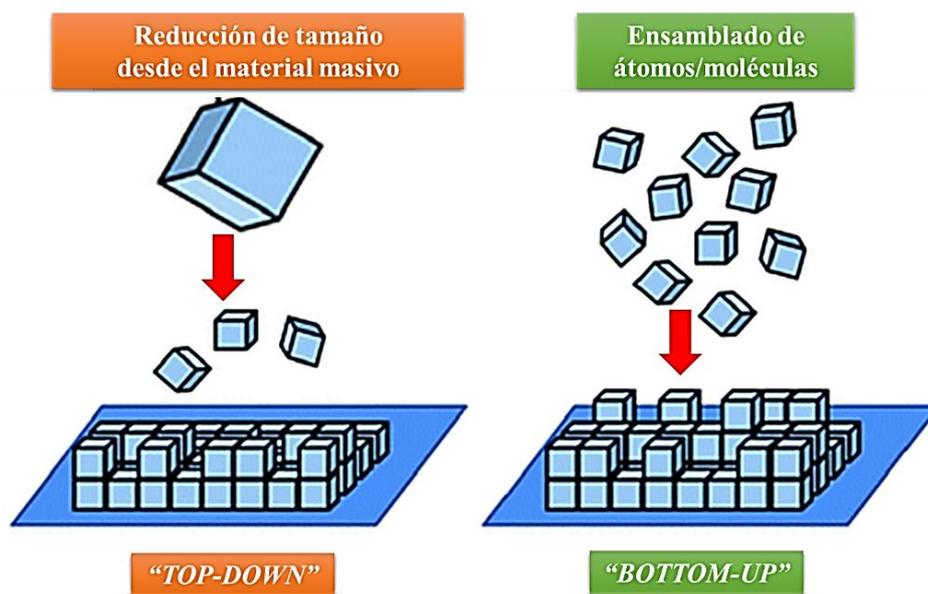
El interés científico en la nanotecnología se basa en la noción que el tamaño del sistema material tiene un efecto significativo sobre las propiedades.⁶ Esto se produce por dos mecanismos contrapuestos. Por una parte, existen propiedades materiales que cambian radicalmente cuando el tamaño de la especie llega a ser nanométrico. Un ejemplo de este comportamiento es el confinamiento cuántico en semiconductores que cambia la brecha de banda del material generando propiedades ópticas de interés.⁷ El otro mecanismo está dado por aquellas propiedades que permanecen sin cambio cuando el tamaño disminuye desde un sólido macroscópico a sistemas nanométricos. Un ejemplo es una resina de intercambio iónico cuya capacidad de absorción de iones es la misma para partículas nanométricas que micrométricas.⁸ Sin embargo, en un sistema determinado una propiedad puede cambiar y las otras permanecer sin variar o viceversa. Específicamente, la relación área-volumen siempre aumenta cuando el tamaño disminuye, por lo cual el transporte de masa se hace más rápido.⁹ Por otra parte, en sistemas nanotecnológicos pueden surgir las llamadas propiedades emergentes, esto es: que el todo sea más que la suma de las partes (sinergismo).

Es de importancia destacar que el propio carácter multidisciplinar de la nanotecnología hace que el campo de sus aplicaciones sea muy extenso y variado. Muchas de ellas se encuentran muy próximas a insertarse en el mercado actual e incluso algunas ya forman parte del mismo. Entre algunos ejemplos pueden citarse a los sensores de gases o

aromas en forma de narices y lenguas electrónicas, materiales para la industria aeroespacial y la microelectrónica, envases para alimentos, cosméticos, materiales para catálisis, revestimientos, sistemas para la conversión de energía, técnicas de diagnóstico, dispositivos y materiales para aplicaciones biomédicas, entre otros.¹⁰ Por todo lo expuesto, queda de manifiesto que la nanociencia y la nanotecnología actualmente experimentan un desarrollo que se incrementa en forma exponencial. Es así que algunos autores consideran que estas áreas junto a las tecnologías de la información, las comunicaciones y la biotecnología sientan las bases para la actual revolución científico-tecnológica.¹¹

II.1.1 Métodos de obtención de nanomateriales

Con el objetivo de generar materiales en la escala nanométrica, se han desarrollado numerosas técnicas que involucran las herramientas de la nanotecnología. Las vías de obtención para la generación de dichas estructuras pueden ser clasificadas en dos grandes grupos: vía “*top-down*” (de arriba hacia abajo) y vía “*bottom-up*” (de abajo hacia arriba). La primera de ellas consiste en la obtención de nanoestructuras a partir de una pieza masiva de material, reduciendo su tamaño por procesos de remoción como la molienda o las técnicas litográficas. En contraposición, la vía “*bottom-up*” se refiere a la posibilidad de generar estructuras a partir del ensamblado a nivel atómico, molecular e incluso supramolecular, haciendo uso de interacciones físicas o por procesos que involucran reacciones químicas.^{2, 12} Ambos métodos se diagraman ilustrativamente en el **Esquema 2**.



Esquema 2. Principales vías para la obtención de materiales utilizadas en nanotecnología. Adaptado de referencia.¹³

La vía “*top-down*” está basada principalmente en métodos físicos, aunque también pueden utilizarse otros con características de tipo químicas. El resultado del mismo es la obtención de nanoestructuras generalmente mayores al tamaño de 100 nm, presentando distribuciones de tamaño polidispersas, con defectos y sin una morfología bien definida. Entre los más populares métodos agrupados en esta categoría se destacan la trituración o molienda a partir del material masivo, los métodos de activación mecano-químicos, la evaporación térmica, la utilización de depósitos en fase vapor, la preparación de *clusters* (conjuntos de átomos o moléculas) gaseosos, la ablación láser y la litografía. A excepción de que se utilice la molienda, los demás métodos requieren de un instrumental complejo y costoso.¹⁴⁻¹⁶

En lo que respecta a la vía “*bottom-up*”, el procedimiento generalmente ocurre químicamente, logrando características en la nanoestructuras a las que no pueden arribarse fácilmente por la vía antes descrita como la uniformidad y el menor tamaño de partícula. Es posible que la síntesis ocurra por equilibrio termodinámico o sea controlada por cinética, de acuerdo a los mecanismos de nucleación y crecimiento de los nanomateriales. Existen diversos métodos y variantes de cada uno de ellos para obtener un nanomaterial por la vía que parte desde abajo hacia arriba. Entre los más conocidos se destacan los métodos coloidales, el proceso sol-gel, síntesis solvotermales, métodos fotoquímicos, sonoquímicos, electroquímicos, síntesis en microemulsiones, aerosoles, por moldeo o nanoprecipitación, entre otras.^{14, 17-22} Es interesante señalar que la fabricación “*bottom-up*” implica la creación de orden a partir del desorden y por lo tanto es un proceso que implica disminución de entropía. De acuerdo a la Segunda Ley de la termodinámica, la entropía de otra parte del universo deberá aumentar en mayor medida y esto se logra a través de un intercambio de energía.²³

II.2 POLÍMEROS

El término “polímero” proviene del griego *poly* (muchos) y *meros* (partes). La palabra designa a una molécula formada por la repetición de muchas unidades simples, las cuales son llamadas monómeros.²⁴ Químicamente, los polímeros son moléculas de cadena larga de muy alto peso molecular. Es por ello que el término de macromoléculas es usado frecuentemente para referirse a los materiales poliméricos.²⁵ Existen polímeros de origen natural y también los fabricados o sintetizados por el hombre, a los cuales se los denomina polímeros sintéticos.²⁶ A lo largo de la historia de la ciencia, la investigación en polímeros

se ha ido incrementando hasta llegar al punto de que existen diversos investigadores que han recibido el Premio Nobel en las disciplinas de la Química o la Física por su contribución en este campo. En la **Tabla 1** se resumen aquellos hechos más relevantes que dieron origen a dicha distinción junto a una breve descripción del descubrimiento o desarrollo en cuestión.

Tabla 1. Premios Nobel otorgados a investigadores por su contribución en el área de los polímeros.

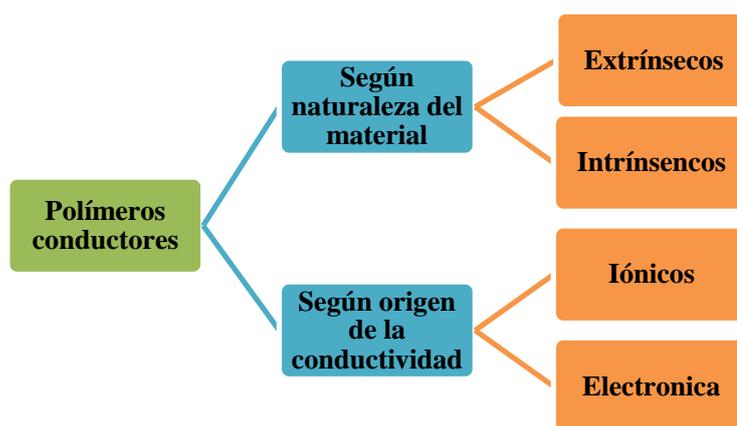
Año de otorgamiento	Investigador/es	Aporte, desarrollo o descubrimiento
1953	Hermann Staudinger	Descubrimientos en el campo de la química macromolecular.
1963	Karl Ziegler y Giulio Natta	Desarrollo en el campo de la química y tecnología de polímeros (catalizador Ziegler-Natta).
1974	Paul J. Flory	Logros teóricos y experimentales en la fisicoquímica de las macromoléculas.
1991	Pierre-Gilles de Gennes	Desarrollo de métodos de estudio referidos a fenómenos simples de los materiales para crear formas más complejas de la materia como los polímeros. Desarrollo de una teoría generalizada de las transiciones de fase con aplicaciones particulares para describir el orden y las transiciones de fase en polímeros.
2000	Alan J. Heeger, Alan G. MacDiarmid y Hideki Shirakawa	Descubrimiento y desarrollo de los polímeros conductores.

II.2.1 Polímeros conductores

Se hace referencia a los polímeros conductores para indicar aquellos materiales sintéticos de naturaleza polimérica que presentan la capacidad de conducir corriente eléctrica.^{27, 28} La denominación suele utilizarse en forma exclusiva para aquellos polímeros en los que la conductividad eléctrica es una propiedad inherente a la naturaleza del material;

son estos los denominados polímeros conductores intrínsecos. En contraposición a los recientemente mencionados, los polímeros conductores extrínsecos son aquellos que adquieren la propiedad de conducir corriente eléctrica por la adición de un material que posee la propiedad de ser conductor. En este último grupo, la conductividad se rige según el modelo de percolación, es decir, el movimiento de electrones se produce a través de los dominios conductores del material adicionado (ej. metales en forma de polvo o hilos, grafito, complejos de transferencia de carga u otros) que forman rutas de conducción en el seno de la matriz polimérica aislante.²⁹

Puede realizarse otra clasificación de acuerdo al origen de la conductividad: si es debida a portadores de carga como los electrones, o bien, a iones.³⁰ Los primeros mencionados son los denominados polímeros electrónicos, donde la conducción se debe al movimiento de electrones en las cadenas. Si se mide la conductividad de una cadena individual (macromolécula), la misma es definida por la movilidad de los electrones en la cadena. Sin embargo, aún en sistemas nanométricos, la transferencia de carga ocurre a través de varias macromoléculas. Por lo tanto se requiere el salto de electrones entre cadenas (“*electron hopping*”) que puede ocurrir por un mecanismo redox.^{31, 32} Los conductores de iones se comportan como electrolitos sólidos, siendo el fenómeno de conducción el resultado de la difusión de iones en el interior de la matriz polimérica.^{33, 34} En el **Esquema 3** se resumen los distintos tipos de polímeros conductores mencionados.



Esquema 3. Clasificación de los polímeros conductores según naturaleza del material y origen de la conductividad.

Centrándonos ahora en los polímeros conductores intrínsecos, cabe mencionar que en este caso para tener propiedades de tales es condición necesaria la existencia de un sistema de enlaces conjugados a lo largo de la cadena polimérica. Incluidos en este grupo

se encuentran, entre los principales: el poliacetileno (PA), el politiofeno (PT), el polipirrol (PPy) y la polianilina (PANI), cuyas estructuras químicas se muestran en la **Figura 1**.³⁵ Todos ellos poseen átomos de carbono en la cadena principal con hibridación sp^2 , la cual es capaz de crear enlaces covalentes entre los carbonos de la cadena principal y los de las cadenas ramificadas del polímero. El hecho de que tengan hibridación sp^2 deja un orbital p sin enlazar, lo que hace que estos orbitales se solapen y constituyan un enlace π con una distribución de dobles enlaces C=C, alternándose con enlaces simples C-C a lo largo de la cadena. Una serie de polímeros conductores intrínsecos incluyen heteroátomos como el azufre y el nitrógeno en la unidad repetitiva.^{36, 37}

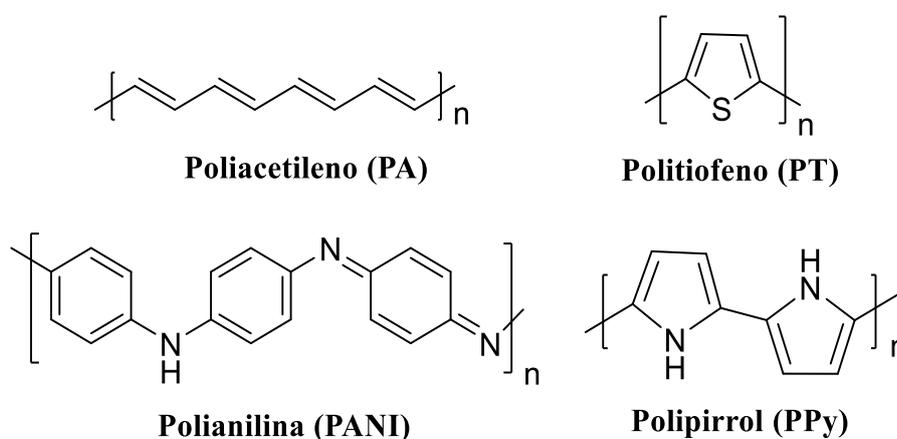
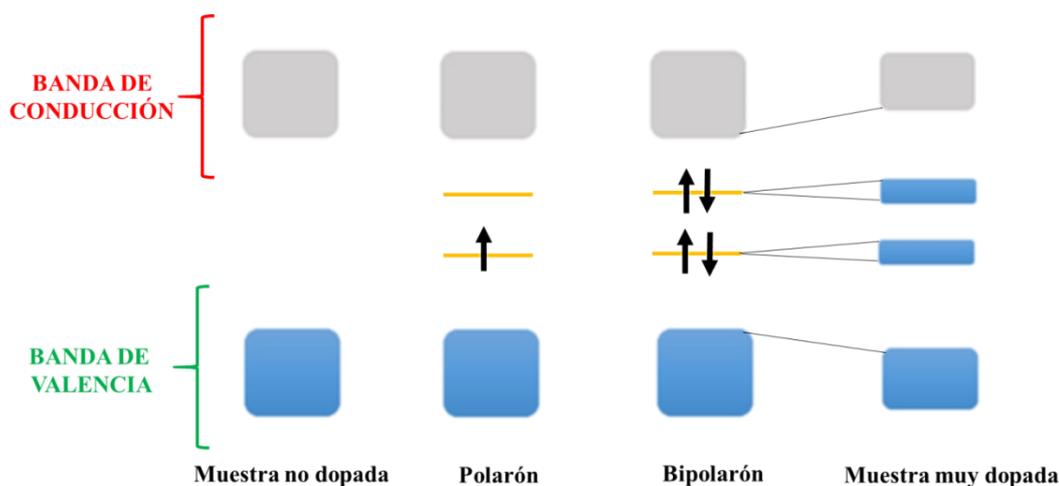


Figura 1. Estructuras moleculares de los polímeros conductores intrínsecos más estudiados.

El hecho de que los polímeros conductores sean estructuras conjugadas no es suficiente para conducir la corriente eléctrica: un polímero neutro posee una conductividad relativamente baja, del orden de 10^{-7} - 10^{-5} S cm^{-1} .³⁸ Es así que se requiere de un dopado para que pueda transportar la carga a lo largo del material. De esta manera, se le otorga a los polímeros una conductividad mayor que puede asemejarse a la que poseen otros materiales como los metales (10 - 10^4 S cm^{-1}).^{39, 40} El dopado es definido como un proceso de introducción de cargas móviles en el sistema conjugado logrado por una oxidación (o reducción) de la matriz polimérica. Sin embargo, la electroneutralidad de la materia es mantenida por la incorporación de contraiones.⁴¹

Usualmente, para explicar los procesos o mecanismos de conducción en materiales sólidos se usa la denominada Teoría de Bandas.³³ Ésta hace referencia a que en el caso de átomos o moléculas agregadas en forma sólida, ocurre un desdoblamiento de los orbitales atómicos que contienen los electrones de valencia en orbitales enlazantes y antienlazantes,

generándose dos niveles energéticos: banda de valencia y banda de conducción. Según la ocupación de dichas bandas, las propiedades electrónicas de un material variarán. Si la banda de valencia solo se encuentra ocupada parcialmente por los electrones permisibles, o bien, si las dos bandas se superponen de forma tal que no existe barrera energética entre ambas, la aplicación de un potencial permite el paso de algunos de los electrones hacia niveles vacantes donde pueden encontrarse libres para desplazarse a través del sólido produciendo corriente eléctrica. Dicho comportamiento se corresponde con la descripción de un material conductor. Cuando la banda de valencia se encuentra completa y separada de la banda de conducción vacante por una barrera energética, no se presenta flujo de electrones bajo la influencia de un campo externo y para poder hacerlo se requiere una considerable cantidad de energía. Tales materiales serán semiconductores o aislantes, dependiendo de la barrera energética. Sin embargo, en el caso de los polímeros conductores existe no sólo conductividad a lo largo de una cadena, sino también entre cadenas. Por dicho motivo, y otras cuestiones como referidas a los espines de electrones, es que se debe recurrir a otros conceptos para poder explicar los fenómenos que ocurren en este caso. Basándose en estudios del campo de la física del estado sólido, puede decirse que existen diferentes tipos de cargas móviles, encontrándose entre las más comunes el polarón y el bipolarón (**Esquema 4**). El primero es un electrón desapareado que está asociado a una carga (positiva o negativa) que posee espín igual a $1/2$; mientras que el bipolarón es conocido como la presencia de dos cargas (positivas o negativas) que están confinadas en una pequeña región de la cadena del polímero, no posee espín y generalmente es la combinación de dos polarones cuando estos son encontrados en gran densidad en el polímero.⁴²



Esquema 4. Banda de valencia y banda de conducción de un polímero conductor durante el proceso de dopado.

II.2.1.1 Historia y desarrollo de los polímeros conductores

Los polímeros conductores son materiales de interés básico y tecnológico, ya que son capaces de combinar las propiedades conductoras de metales o de materiales semiconductores con una estructura de tipo orgánica que permite la síntesis, modificación y funcionalización por métodos clásicos de química orgánica.²⁷ Si bien este tipo de polímeros es muy importante en la actualidad, posee una historia que se remonta a un siglo y medio atrás, cuando se llevaron a cabo los primeros experimentos y descubrimientos relacionados con este campo de la ciencia. En los siguientes párrafos se resumen los hechos más importantes acaecidos en la historia de los polímeros conductores.

Basado en reportes de la década de 1830, fue Letheby quien en el año 1862 obtuvo por primera vez polianilina.⁴³ En ese entonces, fue publicada haciendo referencia a un producto (negro de anilina), el cual fue sintetizado por oxidación de anilina en una solución ácida sobre un electrodo de platino.⁴⁴ Años después, a principios del siglo XX, comenzaron a proponerse diversas estructuras del producto obtenido en el depósito sobre el electrodo. En la misma época, los investigadores Green y Woodhead estudiaron con más detalle la polianilina como producto de la óxido-reducción al utilizar oxidantes del tipo persulfato y reductores como tricloruros.⁴⁵ Adicionalmente, Mecoy y Moorer se refirieron a la capacidad conductora de compuestos orgánicos.⁴⁶ Por esos años, en 1916, Angeli dio a conocer el negro de pirrol, obtenido como un precipitado negro insoluble por oxidación del monómero.⁴⁷

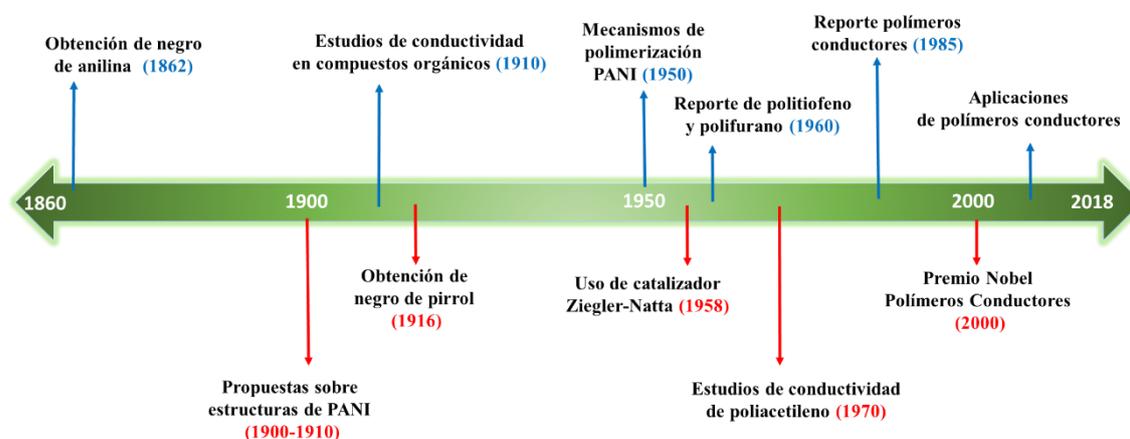
Debieron pasar décadas hasta que en 1950 Khumotov y Gorbahev retomaron los estudios de Letheby para proponer mecanismos de la reacción para obtener la polianilina.⁴⁸ En 1958, un importante hecho fue reportado por parte de Ziegler y Natta: la síntesis de poliacetileno en forma de polvo color negro a partir del monómero gaseoso acetileno en hexano, utilizando el hoy conocido catalizador de Ziegler-Natta.⁵⁰ Ya finalizando la década de 1960, otros polímeros conductores como el politiofeno y polifurano fueron reportados al mismo tiempo que se estudiaba la capacidad conductora de los ya conocidos polipirrol y polianilina, relacionando estos aspectos con la acidez del medio y los estados de óxido-reducción.⁵¹⁻⁵³

Promediando los años 1970, Heeger y Mac Diarmid estaban centrados en el estudio de las propiedades que exhibía un polímero de naturaleza inorgánica: el polisulfuronitruro. Sin embargo, luego comenzaron colaboraciones con Shirakawa, Louis y Chiang para así

obtener poliacetileno de color plateado y brillante, el cual fue dopado con yodo logrando de esta manera que la conductividad aumente significativamente respecto a la película de polímero sin dopar.⁵⁴ Los recién mencionados investigadores direccionaron aún más sus estudios en estos materiales poliméricos conductores a partir de este descubrimiento, logrando en 1985 Mac Diarmid y sus colaboradores que la polianilina pasara a ser el polímero conductor más estudiado junto con el polipirrol y el politiofeno.^{55, 56} Tras tantos años de estudio, investigación y desarrollo en este campo, en el año 2000 Heeger, MacDiarmid y Shirakawa fueron galardonados con el Premio Nobel de Química por el descubrimiento y desarrollo de los polímeros conductores.⁵⁷

A partir del importante acontecimiento acaecido en el año 2000, la investigación en torno a esta disciplina fue partícipe de un gran auge y acoplada a la nanotecnología se direccionó en busca de nuevas aplicaciones entre las que se pueden mencionar: sensores y biosensores, supercapacitores, dispositivos ópticos y fotovoltaicos, actuadores, liberación de sustancias, membranas, etc.^{58, 59}

En el **Esquema 5** se resumen en una línea de tiempo los acontecimientos más significativos e importantes de la investigación en esta área de la ciencia.



Esquema 5. Hechos más importantes acontecidos en el área de estudio relacionada con los polímeros conductores.

II.2.1.2 Polianilina (PANI)

La polianilina (PANI) es uno de los polímeros conductores intrínsecos que se ha estudiado con mayor profundidad.⁶⁰ El nombre del polímero según IUPAC es poli(p-fenileniminoamina). Posee como fórmula general la siguiente:

$[(-B-NH-B-NH-)_{y}(BN=Q=N-)_{1-y}]_{n}$, donde la nomenclatura B y Q corresponde a unidades bencenoides y quinónicas, respectivamente (**Figura 2**).

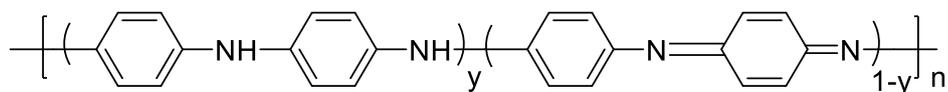


Figura 2. Estructura de la molécula de PANI.

Su estructura varía, dependiendo de su estado de oxidación, desde unidades tipo quinonaiminas hasta arilaminicas. En la PANI, el estado redox intrínseco neutro de forma totalmente oxidada es conocido como pernigranilina (PNA, donde $y = 0$), y la estructura totalmente reducida es la denominada leucoesmeraldina (LM, donde $y = 1$). En el caso que el polímero contenga un porcentaje de 50 % de su estructura oxidada y otro 50 % de su estructura reducida, el mismo es denominado esmeraldina (EM, donde $y = 0,5$). A continuación, en la **Figura 3**, se representan los distintos estados de oxidación-reducción del polímero de anilina.^{45, 61}

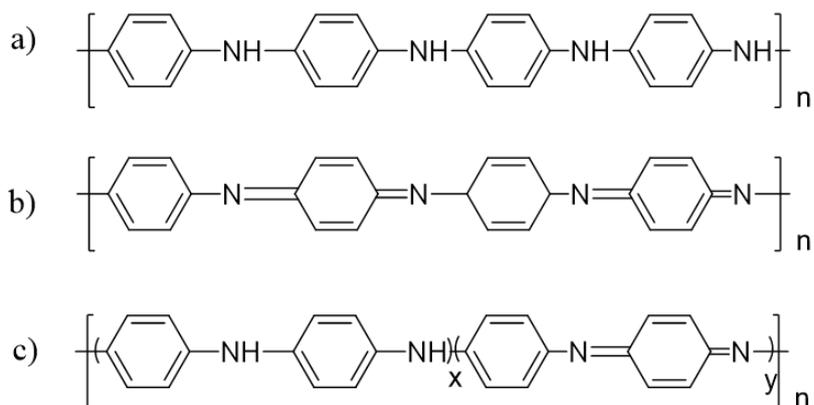
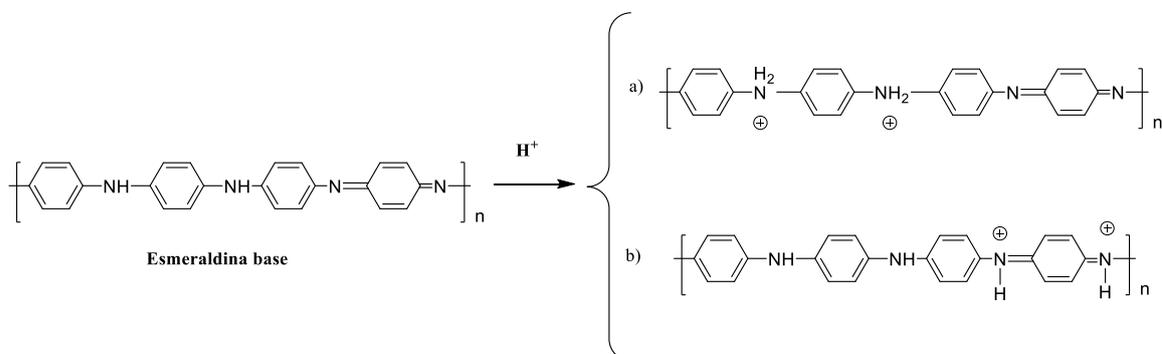


Figura 3. Estados de óxido-reducción de la PANI: a) leucoesmeraldina, b) pernigranilina y c) esmeraldina.

Es importante destacar que la PANI en los estados redox de la **Figura 3** es semiconductor. Sin embargo, es posible que en la forma esmeraldina se protona (en medio ácido) y se origine así la sal esmeraldina. En general, esto sucede preferencialmente en el grupo imina (el cual tiende a tener mayor basicidad), logrando así que al generarse polarones la capacidad conductora del polímero se incremente. De esta manera, se obtienen dos nuevas estructuras: una donde la imina está protonada, la cual posee diferentes formas de resonancia al deslocalizarse la carga positiva en los demás nitrógenos de la cadena, estabilizándose energéticamente y originando los polarones y bipolarones;⁶² mientras que

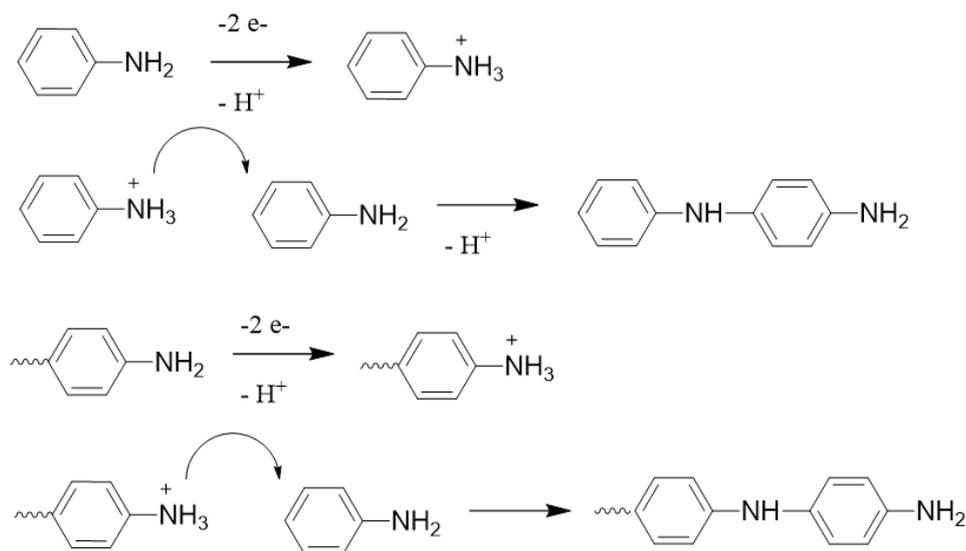
otra estructura surge al poseer nitrógenos sp^3 de naturaleza cuaternaria impidiendo la posibilidad de resonancia y desplazamiento de la carga positiva.⁶³ En el **Esquema 6**, se representan las estructuras originadas por la protonación de la PANI esmeraldina.



Esquema 6. Estructuras que se obtienen por protonación de PANI en estado esmeraldina base.

La síntesis de PANI puede llevarse a cabo principalmente por vía química o electroquímica. Sin embargo, se han reportado otros métodos donde es posible obtener PANI por catálisis de transferencia de fase, utilización de enzimas, polimerización utilizando plasma o depósitos de vapor, polimerización en emulsión y varias más.⁶⁴ En esta Tesis se hará hincapié en la descripción de la síntesis química por polimerización oxidativa a partir del monómero (anilina o sales de anilina) en medio ácido, utilizando generalmente soluciones ácidas (ej. a partir de ácido clorhídrico o sulfúrico) para controlar el pH. Es necesario un agente que provoque la oxidación; se han empleado diferentes tipos, siendo los más populares el persulfato de amonio, el dicromato de potasio, el sulfato de cerio (IV), el peróxido de hidrógeno y el tricloruro férrico. Generalmente, se utiliza el oxidante en una relación estequiométrica respecto al monómero, aunque existen autores que han trabajado también en exceso o defecto de oxidante respecto a la anilina.⁶⁵⁻⁶⁷ La reacción de polimerización es una adición nucleofílica de anilina al extremo de la cadena, generando el polímero en su forma leucoesmeraldina. Entonces, parte del oxidante (0,25 moles) se usa en oxidar el polímero a la forma esmeraldina, por lo cual cualquier relación menor a 1,25 implica un exceso de monómero. Aunque se conocen casos en que se llevó a cabo el proceso a temperaturas mayores a $0\text{ }^\circ\text{C}$,⁶⁸ es muy común que la temperatura sea cercana a dicho valor para controlar el peso molecular del polímero obtenido y evitar reacciones secundarias. Tras 12 horas de reacción se obtiene la PANI, debiendo luego realizar un proceso de filtrado y lavado para eliminar subproductos como son los oligómeros.

El mecanismo de la reacción corresponde al de una polimerización en cadena, como puede observarse en el **Esquema 7**. En un primer momento, ocurre la iniciación de la polimerización, donde se forma el ion anilinio por la pérdida de dos electrones en el nitrógeno y un protón en la molécula de anilina. La estructura obtenida tras este primer paso posee además estructuras de resonancia. En un segundo paso, el ion anilinio ataca a una nueva molécula de monómero por sustitución electrofílica dando lugar a un dímero. Luego, el dímero se oxida para formar un nuevo catión radical, el cual puede reaccionar con el catión radical del monómero o del dímero para formar estructuras de trímero o tetramero, respectivamente. La propagación de la reacción ocurre y los oligómeros son oxidados, reaccionando hasta llegar a formar el polímero. El producto formado directamente por polimerización oxidativa no es la estructura neutra sino que posee la estructura cargada positivamente denominada sal esmeraldina.⁶⁹



Esquema 7. Mecanismo de polimerización para la obtención de PANI.

II.2.1.3 Polipirrol (PPy)

Otro polímero conductor de gran importancia en ciencia de los materiales es el denominado polipirrol (PPy). El mismo es la repetición de la unidad monomérica que corresponde al anillo pirrol (una amina heterocíclica y aromática). El polímero posee conjugación de enlaces (sistema conjugado π) y su fórmula correspondiente es $[C_4H_5N]_n$. En la **Figura 4** se muestra la estructura química tanto del monómero como del polímero.

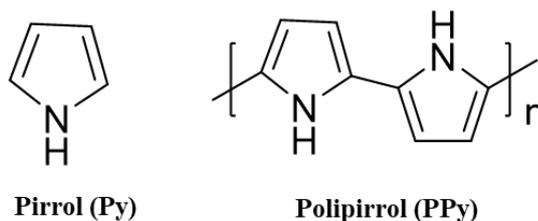
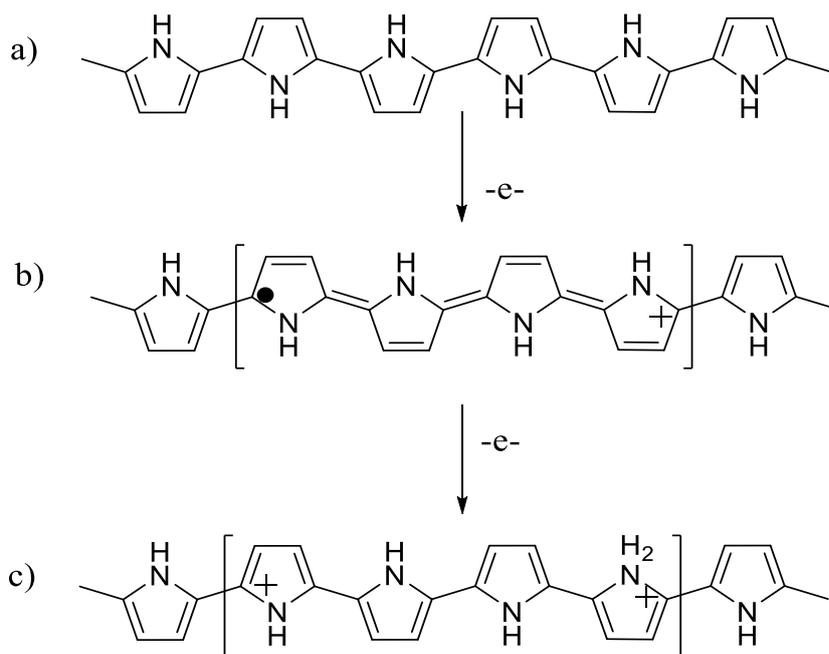


Figura 4. Estructuras químicas del monómero pirrol (Py) y su correspondiente polímero (PPy).

Se conoce que el PPy presenta alta conductividad eléctrica, estabilidad térmica, resistencia a la oxidación, siendo además relativamente simple su obtención, generalmente a partir de disoluciones acuosas y en disolventes orgánicos.⁷⁰ Sin embargo, la conductividad eléctrica del polipirrol depende del dopado. Como ya se ha mencionado para el caso de la PANI, el proceso de dopado es capaz de crear bandas parcialmente llenas por medio de las cuales los electrones libres conducen la electricidad. Además, debe mencionarse que las propiedades conductoras del PPy dependen no sólo del nivel de dopado sino también de la temperatura y la morfología del material.

El PPy neutro es semiconductor, siendo su estructura de tipo bencenoide, como se muestra en la **Esquema 8a**. Cuando el polímero es dopado, una carga negativa (electrón) es extraída del estado neutro, transformándose así la estructura del PPy en una más favorable desde el punto de vista energético: estructura quinoide. De esta manera, ocurre la formación de un polarón (espín $\frac{1}{2}$), donde la molécula posee una carga positiva y hay un espín desapareado (**Esquema 8b**). Si continúa la oxidación, otro electrón de la molécula del PPy es extraído, generándose así otra estructura (aún más favorable energéticamente que el polarón) que corresponde al denominado bipolarón y se muestra en la **Esquema 8c**.

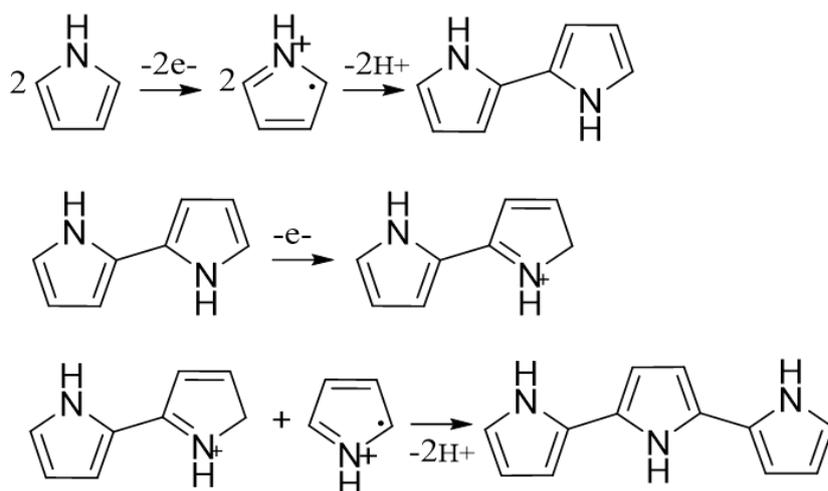


Esquema 8. Proceso de dopado del PPy: a) PPy neutro, b) polarón y c) bipolarón.

Al ser el polipirrol es relativamente estable en aire y en agua, puede sintetizarse fácilmente con bajos costos, ya sea por oxidación química o electroquímica del monómero de pirrol.⁷¹ La síntesis electroquímica es un método relativamente sencillo y utilizado ampliamente para fines de investigación. Permite el control de las características fisicoquímicas del polímero durante el proceso de polimerización.⁷² Además, la conductividad electrónica del polipirrol puede aumentarse varias veces introduciendo un anión de dopante externo durante la electropolimerización.⁷³ Sin embargo, en esta Tesis se utilizará la síntesis por vía química. Es así que se comienza la oxidación del monómero en solución utilizando cualquier agente oxidante del tipo cloruro férrico, quinonas o diversos persulfatos.⁷⁴⁻⁷⁶ Tras el mecanismo de polimerización, el resultado es la obtención del PPy dopado. Debe aclararse que aunque la síntesis química presente ventajas como un mayor grado de control del peso molecular, generalmente la conductividad del polímero obtenido por esta vía es inferior a la conductividad de las películas electropolimerizadas.⁷⁷ Al igual que en el caso de la polimerización oxidativa para obtener PANI, el polímero obtenido depende de factores como la temperatura, el tiempo de reacción, el agente oxidante y el medio en el que ocurre la reacción.⁷⁸

La polimerización para dar lugar al PPy está descrita por el mecanismo basado en el acoplamiento que se da entre radicales catiónicos. En el **Esquema 9** se puede observar

el mecanismo de la reacción de polimerización que da lugar al PPy. Al comienzo, en la etapa de iniciación, se genera un catión radical debido a la oxidación del monómero pirrol. Luego dos radicales catiónicos se acoplan y tras sufrir una deprotonación se obtiene un bipirrol (dos unidades monoméricas de pirrol juntas). Este último es también oxidado y es así capaz de combinarse con otro segmento similar. Tras ello, ocurre la etapa de propagación del mecanismo de polimerización donde tiene lugar la formación de oligómeros tras la reoxidación, el acoplamiento, la deprotonación correspondiente de los bipirroles y la combinación con radicales. Estos oligómeros dan lugar al PPy, momento en el cual se llega a sobrepasar el límite de solubilidad y el polímero se obtiene como un precipitado. La terminación en el mecanismo de reacción se adjudica a un ataque nucleofílico que ocurre sobre la cadena polimérica de PPy.



Esquema 9. Mecanismo de reacción de polimerización del Py para dar PPy.

II.2.2 Polímeros inteligentes

En las últimas décadas, el desafío por crear sistemas poliméricos funcionales que sean capaces de imitar a los existentes en la naturaleza es considerado la fuerza motriz hacia una nueva generación de polímeros: los “polímeros inteligentes”.⁷⁹ Este tipo de sistemas abarca, entre una diversidad de materiales, a los sistemas poliméricos capaces de presentar cambios significativos desde el punto de vista fisicoquímico respondiendo a diferentes tipos de agentes o estímulos externos. Entre los principales estímulos ambientales se destacan la temperatura,⁸⁰ el pH,⁸¹ la concentración de algún ion específico o fuerza iónica,⁸² la radiación,⁸³ el campo eléctrico y magnético,^{84, 85} sustratos enzimáticos o agentes de tipo bioquímico,⁸⁶ entre otros.^{87, 88} El grado o la magnitud, así como también las características

de las respuestas, dependen de diversos factores como el tipo de sistema, la estructura del mismo o la composición y conformación del polímero en cuestión.⁸⁹⁻⁹¹

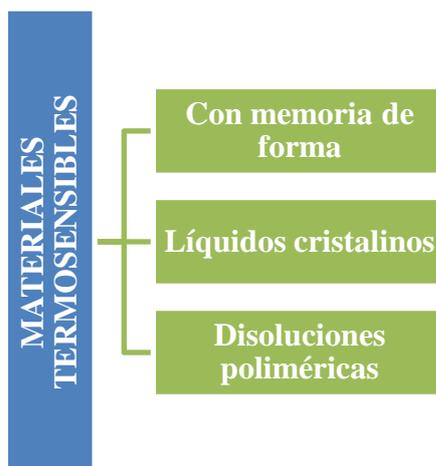
Estos materiales experimentan así una transición de fase, la cual se manifiesta en cambios macroscópicos y generalmente de tipo reversible en la estructura del sistema. Estas variaciones se evidencia en aspectos como la forma o el volumen del material, la solubilidad, las características superficiales, las transiciones de tipo sol-gel, entre otros cambios.^{92, 93} Dependiendo de su forma física, los polímeros inteligentes pueden ser clasificados en tres tipologías: polímeros con cadenas lineales libres en solución, geles reticulados covalentemente o cadenas injertadas sobre superficies.⁷⁹

Los materiales inteligentes poseen una gran versatilidad desde el punto de vista de sus potenciales aplicaciones. Pueden ser utilizados en diferentes estados físicos como hidrogeles (sistemas entrecruzados), ya sean permanentes o reversibles, micelas, interfaces modificadas o en solución. Principalmente, las aplicaciones se orientan al campo de la biomedicina, destacándose su potencialidad en medicina regenerativa (ingeniería de tejidos e implantes)⁹⁴, así como también en sistemas para el transporte y liberación controlada de sustancias activas o fármacos.⁹⁵ Sin embargo, en los últimos años se han reportado estudios que muestran la potencial aplicación de este tipo de materiales en otras áreas como la agricultura^{96,97} y también se han empleado en la regulación de las reacciones enzimáticas.⁹⁸

II.2.2.1 Polímeros termosensibles

Una clase de polímeros inteligentes muy estudiados son los que se caracterizan por ser termosensibles. El comportamiento de los polímeros que responden a estas características puede aprovecharse para la confección de sistemas inteligentes con especial aplicación en seres vivos.⁸¹

Básicamente, los materiales sensibles a la temperatura pueden ser clasificados en tres categorías, las cuales se muestran en el **Esquema 10**.

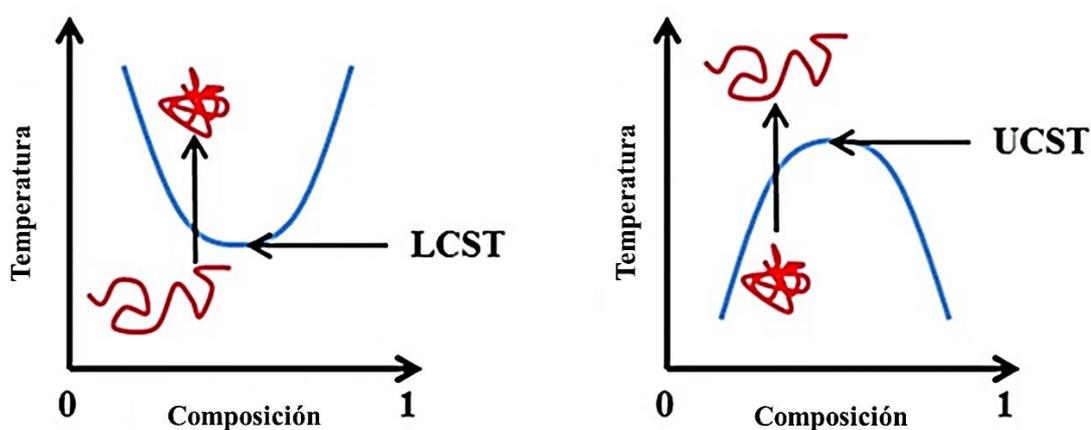


Esquema 10. Clasificación de los materiales termosensibles.

Los materiales con memoria de forma se caracterizan por poseer varias temperaturas de transición vítrea. Los mismos pueden llegar a deformarse al calentarse por encima de la temperatura de transición vítrea superior, obteniendo una forma que no es reversible (permanente); si la deformación ocurre entre dos temperaturas de transición, se induce una forma temporal, la cual puede ser revertida por cambios en la temperatura. Aquellos materiales considerados líquidos cristalinos poseen una fase líquida cristalina con cierto orden anisotrópico, además del estado vítreo y su forma gomosa de características isotrópicas. Finalmente, las disoluciones poliméricas termosensibles sufren una transición de fase de tipo líquido-líquido cuando la temperatura es modificada.⁹⁹ Este último tipo de polímeros será estudiado con detalle en esta Tesis.

Al hacer foco en los polímeros de tipo termosensible, es importante destacar que son solubles en los disolventes en un determinado rango de temperaturas. Esto implica que muchas veces sea limitada la disolución de los mismos a bajas y/o a altas temperaturas. Cuando se trabaja en el rango de bajas temperaturas, se conoce como temperatura crítica superior (UCST) a la máxima temperatura que se debe alcanzar para que el polímero se disuelva. En cambio, en las regiones de temperaturas altas, la mínima temperatura a la que debe llegarse para que el polímero precipite es llamada la temperatura crítica inferior (LCST).¹⁰⁰ Es decir que LCST y UCST son los puntos críticos de temperatura en los que un polímero y su disolvente son completamente miscibles. Generalmente, cuando una solución que contiene un polímero se encuentra a temperaturas inferiores que la LCST de ese polímero, se puede apreciar homogénea, de aspecto incoloro; sin embargo, cuando la

temperatura supera ese punto crítico, en la solución comienza a aparecer cierta turbidez. Si se considera la energía libre (dada por la ecuación de Gibbs) al aumentar la temperatura, la entropía del sistema aumenta siendo la causa que el agua se encuentra menos ordenada cuando el polímero no está disuelto en ella, aumentando la entropía (efecto hidrófobo). El otro punto crítico (UCST), es un efecto del otro componente de la energía libre del sistema en la ecuación de Gibbs: efecto entálpico. Cabe destacar que si bien LCST y UCST no están limitados a medios acuosos, en la mayoría de los casos la propiedad es tomada en cuenta para el agua.¹⁰¹ En el **Esquema 11** se muestra un diagrama cualitativo que explica las temperaturas LCST y UCST, de donde se deduce la separación de fases dada por la inmiscibilidad en esos puntos críticos. Otro aspecto a considerar es el hecho de que las temperaturas críticas pueden ser variadas utilizando técnicas como la copolimerización.¹⁰²



Esquema 11. Diagramas que explican las temperaturas críticas LCST y UCST.

En el caso de los polímeros que forman parte de la familia de las poliacrilamidas, el comportamiento relacionado con la LCST basa su explicación en el balance hidrofóbico-hidrofílico de la molécula, ya que como se mencionó existe una situación de compromiso entre los componentes entálpico y entrópico. La formación de uniones tipo puente hidrógeno entre los grupos del polímero afines al agua y el agua contribuye a que la energía libre de la mezcla resulte menor a cero cuando la temperatura es baja. En el caso de sustancias o moléculas con características hidrofóbicas, el ordenamiento de las moléculas de agua se ve desfavorecido desde el punto de vista entrópico, lo cual se traduce en una escasa solubilidad en agua.¹⁰³ Cuando la temperatura se incrementa en sistemas acuosos este efecto es aún más marcado, por lo que aumentan las interacciones hidrofóbicas entre segmentos de cadenas poliméricas al generarse ruptura de los enlaces de puente hidrógeno.^{104, 105} Es así que el polímero llega al denominado colapso, generándose la

segregación de fases. Este comportamiento es el que ocurre en la poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAM) lineal. En el caso de que exista entrecruzamiento (ej. en hidrogeles), la segregación no ocurre pero tiene lugar la contracción de la red tridimensional al superarse la LCST.

A la actualidad se ha reportado un número considerable de polímeros con características termosensibles. En la **Tabla 2** se muestra un listado de diversos homopolímeros termorresponsivos con su correspondiente LSCT.¹⁰⁶

Tabla 2. Homopolímeros termosensibles reportados en bibliografía.

Abreviatura	Nombre	LCST (°C)
PNIPAM	Poli(N-isopropilacrilamida)	32
PVCL	Poli(N-vinilcaprolactama)	31
PPO	Poli(óxido de propileno)	10-20
PVME	Poli(vinilmetileter)	33,8
MC	Metilcelulosa	50
EHEC	Etil(hidroxietil)celulosa	65
PDMA	Poli(2-dimetilamino)etil metacrilato	50
PEOZ	Poli(2-etil-2-oxazolina)	62
PIPOZ	Poli(2-isopropil-2-oxazolina)	36
PEA	Poli(N-etilacrilamida)	82
PEMA	Poli(N,N-etilmetilacrilamida)	70
PNPAM	Poli(N-propilacrilamida)	25
PBMEAM	Poli(N,N-bis(2-metoxietil) acrilamida)	49
PMPAM	Poli(N-(3-metoxipropil)acrilamida)	>60
PEPA	Poli(etoxipropilacrilamida)	32
HPC	Hidroxipropilcelulosa	42

Los polímeros termosensibles se pueden combinar de diferentes maneras para producir dispositivos que, entre otras posibilidades, sean capaces de mostrar cambios de mojabilidad en la superficie,¹⁰⁷ hidrogeles que conmuten su capacidad de hinchamiento,¹⁰⁸ sistemas que exhiban transición sol-gel,¹⁰⁹ membranas que exhiban cambios en la permeabilidad a las moléculas^{110, 111} o partículas coloidales que intercambien su estado de agregación.¹¹²

II.2.2.1.1 Poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAM)

La poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAM) es el más conocido de la clase de polímeros termosensibles. Los primeros reportes acerca de este polímero datan de la década de 1970. Actualmente es uno de los más usados y estudiados para entender la termosensibilidad e incorporarlo en aplicaciones de tipo tecnológicas.¹¹³ Ha sido empleado en diversas formas: polímeros solubles,¹¹⁴ superficies modificadas,¹¹⁵ hidrogeles entrecruzados,¹¹⁶ películas delgadas,¹¹⁷ nanopartículas,¹¹⁸ cadenas injertadas sobre superficies (“*polymer brushes*”).¹¹⁹ Además, se ha usado PNIPAM para estabilizar nanopartículas metálicas.¹²⁰ Específicamente, la PNIPAM se ha estudiado y explorado ampliamente en el área de aplicaciones biológicas debido a la característica singular de tener una baja temperatura crítica de la solución (LCST) de 32-33 °C, la cual es cercana a las temperaturas fisiológicas. Además, cabe decir que la copolimerización de PNIPAM con monómeros más hidrofílicos como por ejemplo con ácido acrílico (AAC), N-vinil-2,2-pirrolidona, N-metilacrilamida o acrilamida (AAM), permite incrementar la temperatura de transición de fase hacia valores más cercanos a la temperatura del cuerpo humano.

La estructura de la molécula de PNIPAM se muestra en la **Figura 5**. En la misma, se distingue una sección que es más hidrofílica que las otras (amida). El grupo isopropilo y su rotación es el causante de la termosensibilidad. La solución acuosa de PNIPAM se convierte en opalescente por encima de 32-33 °C debido al colapso y a un posterior reordenamiento de las cadenas poliméricas. En dicha transición, las interacciones por enlaces de hidrógeno entre la PNIPAM y el agua se rompen, quedando los grupos isopropilo más expuestos. De esta manera, el comportamiento hidrofílico de PNIPAM (por debajo de 32 °C) cambia a un comportamiento hidrofóbico (por encima de 33 °C). Asimismo, se ha observado que al incrementarse la longitud de la cadena polimérica o la concentración de éste, el valor de la LCST decrece.¹²¹

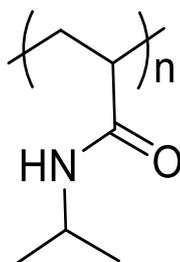


Figura 5. Estructura molecular de la poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAM).

II.2.2.1.2 Celulosa y derivados

La celulosa es un polisacárido estructural presente en las plantas que constituye los tejidos de sostén. Se forma por la unión de moléculas de β -glucopiranososa mediante enlaces β -1,4-O-glucosídicos. La mayoría de los polímeros naturales en solución forman un gel a medida que la temperatura decrece. Entre estos polímeros naturales se pueden mencionar, entre otros, la gelatina y la carragenina.¹²² Algunos derivados de la celulosa son una excepción en lo que respecta a los mecanismos de gelación: a concentraciones bajas (1-10 % p/v) son capaces de formar soluciones estables a bajas temperaturas pero gelifican cuando la temperatura comienza a incrementarse. La metilcelulosa (MC), hidroxilpropimetilcelulosa (HPMC) e hidroxipropilcelulosa (HPC) son típicos ejemplos que presentan este comportamiento. MC forma un gel entre 40 y 50 °C mientras que para HPMC se observa la transición de fase entre 75 y 90 °C. Esta temperatura de transición puede verse reducida realizando modificaciones físicas y químicas, como por ejemplo incorporando sales (ej. NaCl) a la solución de MC reduciendo así la temperatura de transición a 32-34 °C. Del mismo modo, si se sustituyen los grupos oxidrilos de HPMC (ej. por grupos éteres) la temperatura también decrece a 40 °C.^{123, 124} A bajas temperaturas las macromoléculas son hidratadas y existe muy baja interacción entre las cadenas del polímero.⁹²

Entre los polímeros naturales con características termosensibles, la HPC es atractiva debido a su amplia y sintonizable LCST, la cual está en el rango de 41-45 °C en agua y puede ser ajustado por injerto de una cadena lateral de características más hidrofóbicas.^{125, 126} Considerando sus excelentes características biológicas y fisicoquímicas como la biodegradabilidad, la no toxicidad, la multifuncionalidad y respuesta a la temperatura, éste polímero se ha convertido en un material muy atractivo desde el punto de vista de las aplicaciones farmacéuticas y modificaciones químicas.¹²⁷⁻¹²⁹ La estructura química de la molécula de HPC es mostrada en la **Figura 6**.

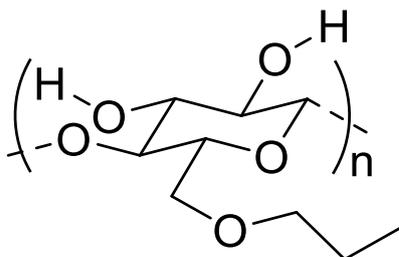


Figura 6. Estructura molecular de la hidroxipropilcelulosa (HPC)

II.3 MATERIALES POLIMÉRICOS DE DIVERSA MORFOLOGÍA Y TAMAÑO

II.3.1 Hidrogeles (HG)

Se denomina hidrogel (HG) al material polimérico entrecruzado de forma tridimensional que al entrar en contacto con el agua es capaz de hincharse almacenando grandes cantidades de ésta en su estructura sin disolverse.¹³⁰ En general, los hidrogeles presentan ciertas características distintivas entre las que se pueden mencionar las siguientes:

- **Carácter hidrofílico.** Debido a que en su estructura se encuentran presentes grupos solubles o que presentan afinidad con el agua (ej. grupos hidroxilos, ácidos, sulfónicos, etc.) y permiten su retención.¹³¹
- **Insolubilidad en agua.** Esta característica está dada por la tridimensional de la red polimérica.
- **Aumento de volumen considerable.** Producido al entrar en contacto con agua, hinchándose hasta alcanzar un equilibrio.
- **Consistencia suave y elástica.** La misma se encuentra determinada por los monómeros a partir de los cuales se origina la síntesis y la baja densidad de entrecruzamiento del polímero.¹³²

La capacidad de retención de agua y la permeabilidad son las características más importantes de los hidrogeles que los distinguen de otros materiales. Los grupos hidrofílicos polares son los primeros en ser hidratados al tomar contacto con el agua, conduciendo así a la formación de la denominada agua enlazada primaria. Como resultado, la red se hincha y expone los grupos de características más hidrofóbicas que sin embargo son también capaces de interactuar con las moléculas de agua. Este fenómeno conduce a la formación del agua ligada hidrofóticamente, también llamada agua secundaria. El agua primaria y secundaria ligada a menudo se combinan y dan lugar a la denominada agua total consolidada. La red absorbe a su vez agua adicional debido a la fuerza osmótica de las cadenas de red hacia dilución infinita. Este hinchamiento adicional se opone a la retracción de tipo elástica de la red proveniente del entrecruzamiento. Por lo tanto, el hidrogel alcanzará un nivel de hinchamiento de equilibrio. El agua adicional absorbida se denomina agua libre o "agua *bulk*", y se supone

que llena el espacio entre las cadenas de la red tridimensional y/o el centro de poros más grandes, macroporos o huecos en el caso de que existieran.¹³³

Adicionalmente a lo descripto, existe otra propiedad característica que es requerida en los últimos años en los hidrogeles: la biocompatibilidad, la cual es determinante en caso que se persigan potenciales aplicaciones biológicas. Se requiere que tanto el hidrogel como sus productos de degradación carezcan de toxicidad. Idealmente deberían ser metabolizados en productos inocuos o poder ser excretados por el proceso de filtración renal en un organismo (biodegradabilidad).¹³⁴

Generalmente, los hidrogeles pueden ser clasificados de diferentes maneras en base a sus características. Según la naturaleza de las fuerzas que mantienen unidas las cadenas poliméricas, pueden ser clasificados como entrecruzados física o químicamente. En los primeros existen múltiples interacciones que mantienen unidas las cadenas de polímeros (ej. uniones puente hidrógeno, interacciones hidrofóbicas, etc.), mientras que los entrecruzados en forma química se mantienen unidos por enlaces de tipo covalente.¹³⁵ Otras características que permiten distinguir a los hidrogeles son: la naturaleza de los grupos (neutros o iónicos), el método de polimerización utilizado en su síntesis (en solución, radicalaria, entre otros), la composición de los polímeros que conforman la red (homopolímeros o copolímeros), la estructura física de la misma (amorfa, semicristalina, hidrocoloidal, etc.), el tamaño de poro (inexistencia de poros, poros micrométricos, mesoporos, macroporos, etc.) y la sensibilidad a estímulos externos como la luz, pH, temperatura, campos eléctricos y magnéticos, entre varios más.¹³⁶ En la **Tabla 3** se resumen las clasificaciones de los hidrogeles que se han mencionado.

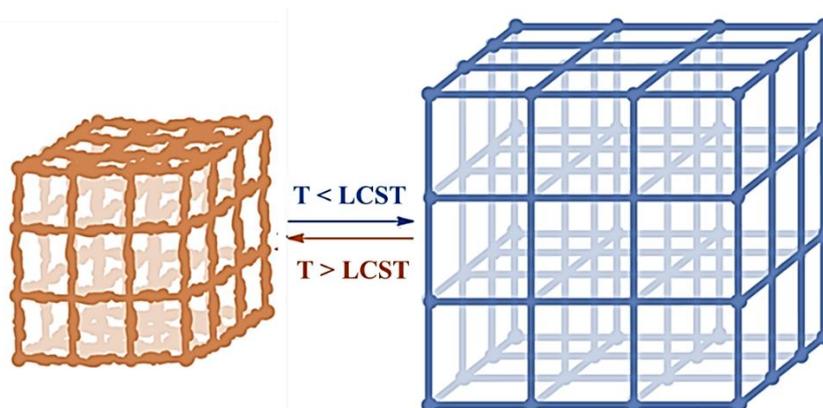
Los hidrogeles que se estudian en esta Tesis poseen la característica de ser entrecruzados químicamente, generalmente no porosos y siempre con la característica distintiva de ser termosensibles.

Tabla 3. Clasificación de hidrogeles reportada en bibliografía.

C L A S I F I C A C I Ó N	Naturaleza de las fuerzas que mantienen unidas las cadenas poliméricas	Física
		Química
	Modo de preparación	Red homopolimérica
		Red copolimérica
		Red polimérica interpenetrada o semi-interpenetrada
	Estructura física de la red	Amorfo
		Semicristalino
		Agregados hidrocoloidales
		Estructura por enlaces hidrógeno
	Tamaño de poro	No porosos
		Microporosos
		Mesoporosos
		Macroporosos
		Superporosos
	Respuesta frente a estímulos externos	Fotosensibles
		Termosensibles
pH sensibles		
Sensibles a campo eléctrico y magnético		

Los primeros hidrogeles termosensibles comenzaron a estudiarse y ser desarrollados allá por el año 1978,¹³⁷ momento en el que fueron reportados los principios termodinámicos del fenómeno de colapso que ocurría en redes poliméricas de geles. Se ha demostrado que la PNIPAM dispersa en agua posee cambios de hidratación-deshidratación como respuesta a las variaciones de temperatura.¹³⁸ Este polímero ha sido utilizado en hidrogeles inteligentes, específicamente termosensibles, debido a que posee una LCST definida en disolución acuosa. Por debajo de esa temperatura el gel es hidrofílico y permanece hinchado, mientras que por encima de la LCST el gel se vuelve más hidrofóbico y colapsa disminuyendo su volumen.¹³⁹ La transición de fase es un proceso reversible y se debe al cambio en el balance entre los diversos tipos de interacciones que existen en el sistema,

especialmente los enlaces de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas. La PNIPAM en forma entrecruzada, se encuentra hidratada con la conformación de cadena extendida por debajo de 32 °C y se deshidrata por encima de dicha temperatura, cambiando su conformación a forma globular.¹⁴⁰ Como se mencionó, la LCST del polímero puede ser mayor o menor copolimerizando con monómeros de características más o menos hidrofílicas. De esta forma es posible sintetizar hidrogeles con diferentes temperaturas de transición de fase. Los hidrogeles que contienen unidades de N-isopropilacrilamida (NIPAM) están clasificados como materiales de este tipo y han sido ampliamente utilizados por poseer una transición de fase reversible, lo que permite efectuar con ellos múltiples ciclos de hinchamiento-deshinchamiento, modificando el grado de hinchamiento del material por los cambios de temperatura.¹⁴¹ Este fenómeno de colapso del hidrogel se muestra en el **Esquema 12**.



Esquema 12. Efecto del cambio en la temperatura sobre el hinchamiento de un hidrogel unido covalentemente.

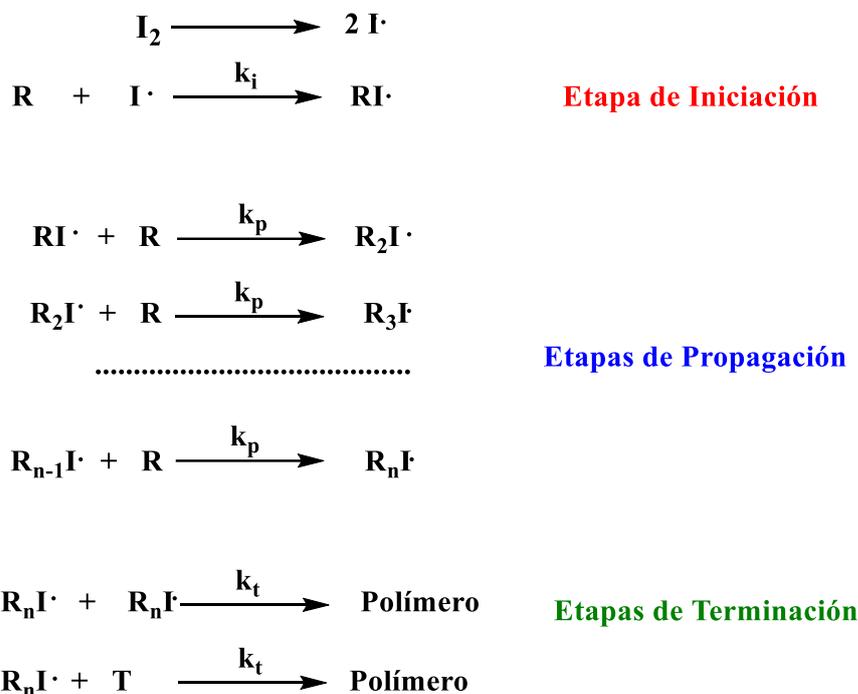
Se han reportado numerosos métodos para obtener hidrogeles, entrecruzados física y químicamente. Entre los primeros se pueden mencionar los entrecruzamientos por interacciones iónicas (ej. utilizando alginato y iones de calcio), hidrofóbicas (utilizando bloques anfifílicos y los copolímeros de injerto en agua para formar estructuras organizadas), por puente hidrógeno (donde las mezclas de dos o más polímeros naturales pueden mostrar sinergismo, lo que significa que las propiedades viscoelásticas de las mezclas de polímeros son más similares a un gel que las de los polímeros constituyentes medidos individualmente), cristalización de polímeros, por autoensamblado y por química supramolecular formando complejos de inclusión.¹⁴² Sin embargo, aunque este tipo de materiales se destacan por la formación del gel sin que sea necesario realizar modificaciones de tipo químicas o añadir un agente de reticulación (entrecruzador), poseen

limitaciones. El tiempo de gelificación, el tamaño de poro de la red formada, la funcionalización y la potencial degradación son difíciles de controlar. Es así, que el entrecruzamiento de tipo químico resulta en una red que posee ventajas adicionales como la alta resistencia mecánica, la capacidad de conservar y recuperar la forma durante la transición de fase y tiempos de degradación relativamente largos.

La obtención de los hidrogeles por entrecruzamiento químico puede ocurrir por varios mecanismos. Ellos pueden ser: polimerización radicalaria de monómeros vinílicos de bajo peso molecular, polimerización radicalaria de polímeros derivatizados con grupos polimerizables (macromonómeros), polimerización inducida por radiación (ej. UV, radiación de alta energía tal como gamma (γ) o radiación de haz de electrones), a partir de grupos funcionales con reactividad complementaria (ej. los polímeros hidrosolubles con grupos hidroxilo pueden estar reticulados utilizando glutaraldehído).^{143, 144}

En esta Tesis se aplica el primer mecanismo de polimerización mencionado; por tal motivo se describe a continuación. En la polimerización radicalaria las especies activas son, como su nombre lo indica, radicales libres. Éstos son moléculas de naturaleza orgánica, las cuales son inestables o reactivas por poseer un electrón desapareado. Los reactivos vinílicos son el tipo de monómero más comúnmente utilizados en esta polimerización. El proceso que da lugar a la formación del polímero consta generalmente de tres etapas: iniciación, propagación y terminación, existiendo la posibilidad de que también ocurran reacciones de transferencia de cadena. Dichas etapas se visualizan en el **Esquema 13**. En la primera etapa (iniciación), una molécula de iniciador (I_2) sufre una descomposición mediante un mecanismo de disociación de tipo homolítica para generar dos radicales libres ($I\cdot$). Esto ocurre tras haber de alguna manera ingresado energía al sistema, pudiendo darse dicha ganancia energética por acción de la luz ultravioleta (iniciación fotoquímica), elevación de temperatura (iniciación térmica) o debido a un potencial redox (iniciación redox). Una vez generado el radical altamente reactivo, en una segunda etapa se combina con una molécula de monómero para generar así una especie activa radicalaria ($RI\cdot$). Tras esto, tiene lugar la propagación donde dicha especie activa reacciona con otras moléculas de monómero, ocasionando una reacción en cadena; es en esta etapa donde interviene el entrecruzador que posee grupos vinílicos. Luego, en la etapa de terminación, se produce el cese o detención del crecimiento de las cadenas poliméricas; pudiendo ocurrir por una reacción de combinación donde dos radicales se encuentran y reaccionan, o bien, por una reacción de

transferencia donde el radical en crecimiento sufre una desactivación por transferencia de algún átomo a una molécula que se encuentre en el medio de reacción (agente de transferencia). Este átomo puede ser del mismo monómero, del iniciador, del polímero o del solvente en el que ocurre la reacción.¹⁴⁵



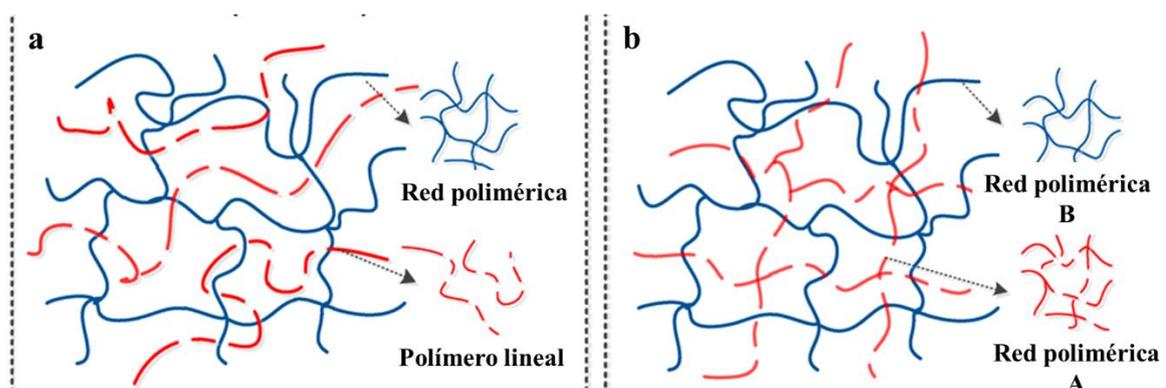
Esquema 13. Etapas de polimerización a partir de monómeros vinílicos.

La polimerización radicalaria de monómeros vinílicos de bajo peso molecular se destaca por ser uno de los métodos más utilizados para la preparación de hidrogeles a base de NIPAM mediante una polimerización tipo redox que hace uso de persulfato de amonio (PSA) como iniciador y N,N,N',N'-tetrametiletenacrilamida (TEMED) como catalizador. El TEMED acelera la velocidad de formación de radicales libres a partir de persulfato y éstos a su vez catalizan la polimerización. Los radicales libres de persulfato logran que se conviertan los monómeros en radicales libres, los cuales reaccionan luego con monómeros inactivados para comenzar la reacción en cadena de polimerización. Las cadenas de polímero son aleatoriamente entrecruzados por algún agente (ej. BIS), dando como resultado un hidrogel con una formulación característica que depende de parámetros tales como las condiciones de polimerización y las concentraciones del monómero y entrecruzador. Este es un sistema muy eficiente que resulta en la rápida formación del gel incluso en condiciones suaves.

Si bien la caracterización que se realice de los hidrogeles dependerá de la potencial aplicación que se le desee dar al material, existen aspectos básicos que siempre son estudiados en el caso de los hidrogeles que presentan respuesta al estímulo de la temperatura. El hinchamiento y el tiempo que tarda el material en llegar al equilibrio es un factor determinante en las características del material, así como también estudios referidos a la temperatura crítica donde el hidrogel colapsa (LCST), la composición y morfología, entre otros.

II.3.2 Redes inteligentes interpenetradas (IPN) y semi-interpenetradas (semi-IPN)

Las redes interpenetradas (IPN) son una combinación de dos o más polímeros en forma de red, donde por lo menos uno de esos polímeros se encuentra polimerizado y/o reticulado en la inmediata presencia del otro. Durante la formación de las IPN, una primera red polimérica es afectada a nivel molecular con la interpenetración de otro polímero o red polimérica. Existe una diferencia entre redes interpenetradas y semi-interpenetradas (semi-IPN). Estas últimas están compuestas por dos polímeros, uno en forma lineal y otro reticulado; mientras que en el caso de las interpenetradas ambos polímeros son reticulados, dando lugar a un material termofijo ya que sus redes no son capaces de fluir sin que se produzca ruptura de los enlaces químicos. En el **Esquema 14** se muestra la diferencia entre ambas.



Esquema 14. Diferencia entre red semi-IPN (a) y red IPN (b). Adaptado de referencia.¹⁴⁶

En la generación de este tipo de redes, la incompatibilidad termodinámica entre dos o más polímeros se puede superar debido al anclaje permanente de los segmentos de red.¹⁴⁷ Las redes poliméricas interpenetradas, incluyendo hidrogeles, han mostrado comportamientos diferentes que los polímeros individuales convencionales y, en

consecuencia, los rangos de aplicaciones han crecido rápidamente para dicha clase de materiales.¹⁴⁸ En hidrogeles altamente elásticos y resistentes, generalmente la interpenetración podría favorecer a determinadas propiedades interesantes de sistema IPN como la velocidad de respuesta, la capacidad de hinchamiento y las propiedades mecánicas. También pueden verse afectados o modificarse los estados del agua y la temperatura de transición de fase.¹⁴⁹

Entre las redes IPN se destacan las que incluyen la conjunción de dos polímeros del tipo inteligentes (ej. PNIPAM, termosensible y PAA, sensible al pH). Se han desarrollado en forma de microgeles para la liberación controlada de dextrano,¹⁵⁰ en síntesis secuencial dentro de matrices poliméricas hidrofóbicas activadas mediante radiación γ e injertando estos dos polímeros inteligentes, empleando la radiación para construir inicialmente la red de PAA e iniciadores redox y N,N'-metilbisacrilamida (MBAA) como agente entrecruzante para la polimerización de la segunda red de PNIPAM,¹⁵¹ sintetizando IPN, incluyendo una matriz de polipropileno como soporte, para su aplicación en la carga y liberación local de vancomicina, entre otros. Aoki y colaboradores han generado redes IPN compuestas de poli(dimetilacrilamida-co-acrilamida) y ácido poliacrílico. Los materiales mostraron temperaturas de transición entre los estados colapsado e hinchado que se desplazan hacia valores más altos al aumentar el contenido de dimetilacrilamida.¹⁵²

También se han reportado hidrogeles termosensibles compuestos de PNIPAM semi-IPN con sulfato de condroitina (ChS), utilizando la técnica de síntesis de polimerización por precipitación para su generación.¹⁵³ Con la introducción del ChS se logró aumentar la capacidad de absorción de agua del hidrogel induciendo además morfología porosa a la red por el método de polimerización por precipitación, lo cual mejoró la velocidad de respuesta del hidrogel frente a las variaciones de temperatura, logrando mantener constante la LCST. Otro ejemplo interesante es el que se llevó a cabo mediante la síntesis de un material semi-IPN de hidrogel de poli(cloruro de dialildimetilamonio)/poli(N, N-dietilacrilamida) (PDADMAC/PDEA)¹⁵⁴ a partir de DEA, utilizando la técnica de polimerización por radicales libres en presencia de un agente de reticulación y DADMAC en solución acuosa. Al generarse el material semi-IPN, la porosidad, la LCST y los estados de agua fueron afectados significativamente. Adicionalmente, al ser el PDADMAC un polielectrolito catiónico con propiedades antibacterianas y altamente hidrofílico, el nuevo material mostró una mejora en las

propiedades respecto al hidrogel sin interpenetrar.¹⁵⁵ También, utilizando PNIPAM se han generado redes semi-IPN con salean (glucano soluble en agua) donde la propiedad termosensible se mantuvo pero se mejoraron aspectos reológicos, mecánicos, así como también la biocompatibilidad, toxicidad y adhesión celular con vistas a sus aplicaciones biomédicas.¹⁵⁶

II.3.3 Materiales compuestos y nanocompuestos

Un material compuesto se define como la dispersión de un material sólido en una matriz de otro material. A diferencia de los materiales de tipo homogéneo, el compuesto presenta la ventaja de que cada uno de sus constituyentes es capaz de aportarle diferentes propiedades al resultante, logrando así que las mismas sean mejores respecto a cuándo cada material se encuentra por separado u obteniendo un material multifuncional.¹⁵⁷

Se habla de un material nanocompuesto cuando se hace referencia a una mezcla de materiales conformada por una matriz y una dispersión de rellenos a escala nanométrica, es decir: alguno de los constituyentes se encuentra en el rango de pocos o algunos nanómetros disperso en el resto del material sin que existan enlaces químicos entre las diferentes partes. Los nanocompuestos pueden ser considerados materiales de gran versatilidad debido a que sus propiedades dependen de la matriz que se utilice, de la naturaleza del material nanométrico que actúa como relleno y de la forma geométrica que disponen.¹⁵⁸ Además, se considera a estos nanomateriales como multifuncionales debido a que se pueden realizar combinaciones únicas de materiales, las cuales serían imposibles de lograr con materiales tradicionales. Debido a esto es que existe un gran esfuerzo para lograr controlar la distribución de tamaños, la dispersión de los objetos nanométricos y el papel que juegan las interfases, las cuales química y estructuralmente difieren de las propiedades del material masiva.¹⁵⁹ Los nanocompuestos pueden clasificarse, según el tipo de material de la matriz,¹⁶⁰ en:

- **Nanocompuestos de matriz metálica**
- **Nanocompuestos de matriz cerámica**
- **Nanocompuestos de matriz polimérica**

Debido a la temática de esta Tesis Doctoral se hará hincapié en los nanocompuestos de matriz polimérica. Ellos combinan las propiedades físicas y químicas dependientes del tamaño de las nanoestructuras con la alta procesabilidad y la estructura morfológica bien

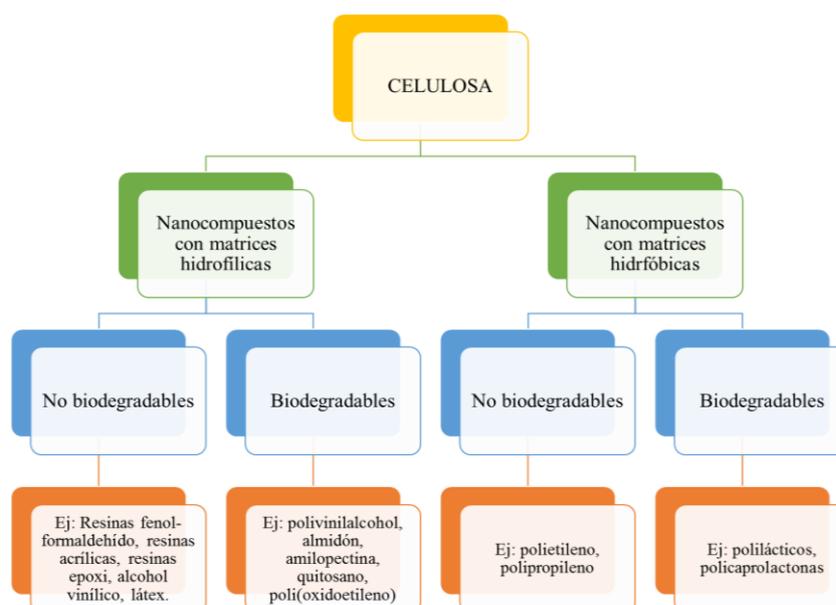
definida que presentan los polímeros para lograr obtener nuevos materiales de características distintivas respecto al tradicional.^{161, 162} A lo largo del siglo XX y lo que va del siglo en curso han ocurrido avances significativos en esta área. Se han incorporado nanopartículas en compuestos poliméricos como la baquelita,¹⁶³ en caucho para neumáticos,¹⁶⁴ en materiales a base de nylon dentro de la industria automotriz,¹⁶⁵ aeroespacial y de la construcción¹⁶⁶ e incluso en la fabricación de dispositivos electrónicos.¹⁶⁷

Los hidrogeles poliméricos han atraído mucha atención y han sido utilizados en diversos campos disciplinares debido a las singulares propiedades y a su sensibilidad a estímulos que se detallaron previamente en esta sección. Sin embargo, la aplicación de estos materiales a menudo se limita como consecuencia del bajo grado de resistencia y la escasa estabilidad que presentan, como algunos de los principales factores. Es por ello, que las propiedades mecánicas, térmicas, óptico-electrónicas y la capacidad o velocidad de respuesta pueden ser mejorados a partir de la generación de nanocompuestos, los cuales pueden facilitar soluciones a los problemas o limitaciones que presenta el material en la nanoescala, aprovechando las técnicas y oportunidades que las nano/biotecnologías ofrecen para desarrollar materiales complejos y optimizados con propiedades de tipo sinérgicas.

Principalmente, se destacan en la literatura dos vías para la síntesis de nanocompuestos de matriz polimérica. Uno de estos enfoques implica la dispersión de nanopartículas en la solución del monómero seguida luego de la reacción de polimerización. Sin embargo, puede también sintetizarse un hidrogel y luego ocurrir la formación de las nanopartículas en el material para obtener el nanocompuesto.^{168, 169} Se han desarrollado técnicas y procedimientos para atrapar físicamente la partícula dentro del polímero matriz. Hilt *et al.* han dispersado nanopartículas de óxido de hierro con propiedades magnéticas en una solución monomérica de NIPAM para luego obtener nanocompuestos magnéticos de hidrogel por polimerización radicalaria.¹⁷⁰ Otros investigadores han trabajado en métodos de incorporación de nanopartículas de oro para lograr calentamiento remoto por aplicación de luz NIR (infrarroja cercana). En este sentido, Budhlall *et al.* han sintetizado microgeles de (PNIPAM-co-AAm) conteniendo oro y demostrando accionamiento a distancia por aplicación de luz y microondas.¹⁷¹ También, en matrices de polímeros termosensibles similares se ha incorporado arcilla en forma de nanopartículas logrando propiedades mecánicas excepcionales.¹⁷² Lin y Wu prepararon

nanocompuestos superabsorbentes por copolimerización de injerto entre ácido acrílico parcialmente neutralizado y mica.¹⁷³ En lo que respecta a polímeros conductores, en los últimos años se publicó un método en el cual se generan nanocompuestos a partir de hidrogeles clásicos de PNIPAM incorporando PPy, logrando una microestructura altamente porosa con una alta conductividad eléctrica (hasta $0,8 \text{ S m}^{-1}$), resistencia térmica, sensibilidad (cambio de volumen significativo en pocos segundos) y otras propiedades mejoradas.¹⁷⁴

Otros materiales compuestos y nanocompuestos muy utilizados actualmente son los que se generan a partir de polímeros naturales como son los derivados de la celulosa. El especial interés se centra debido a la abundancia, la naturaleza renovable y ambientalmente amigable de estos materiales ya que puede aprovecharse residuos de la industria maderera, papelera, agricultura e incluso celulosa bacteriana. Además, otro factor de importancia es la compatibilidad con otros materiales y con los sistemas biológicos. Existen numerosos derivados de la celulosa que permiten a su vez obtener nanocompuestos de diversas morfologías y tamaños.¹⁷⁵⁻¹⁷⁷ En el **Esquema 15** se muestra la clasificación de nanocompuestos basados en materiales celulósicos reportados en literatura, distinguiendo claramente entre aquellos con propiedades más hidrofílicas que los otros y también desde el punto de vista de la biodegradabilidad. Los ejemplos de cada uno hacen referencia a los componentes con los que puede combinarse la celulosa para dar lugar a cada tipo de nanocompuesto.

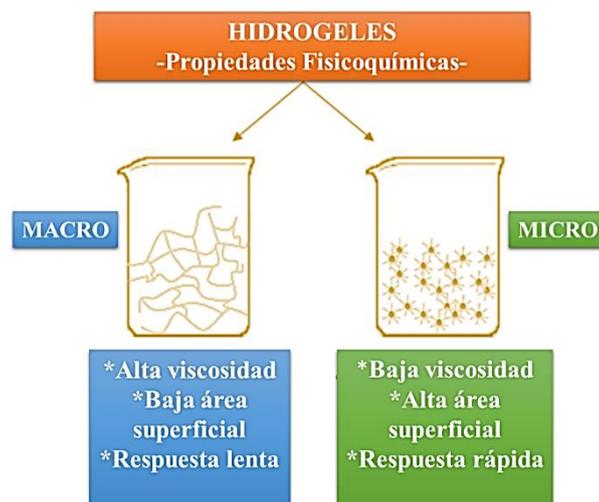


Esquema 15. Diferentes ejemplos de materiales nanocompuestos generados a partir de celulosa o derivados y su combinación con otros compuestos o polímeros.

II.3.4 Micro/nanogeles

Generalmente se utiliza el término “microgel” para describir a los polímeros resultantes de técnicas de polimerización heterogénea en solución.¹⁷⁸ Suele también referirse con el mismo nombre a las macromoléculas reticuladas a nivel intramolecular y a un tipo de polímeros superabsorbentes basados en moléculas reticuladas flexibles que muestran una combinación de propiedades de tipo fisicoquímicas de los sólidos masivos y los líquidos.¹⁷⁹ Existe una amplia variedad de clasificaciones acerca de los tamaños que se consideran dentro de lo que se denominan microgeles. Sin embargo, algunos autores tratan indistintamente a los microgeles y a los nanogeles,⁸⁸ con estructuras de partículas resultantes desde unos pocos nanómetros hasta decenas de micrones. Estas redes revelan propiedades intrínsecas, tales como alto contenido de agua, naturaleza suave, compatibilidad con los tejidos biológicos, así como una excelente dispersabilidad y solubilidad en agua. A diferencia de las soluciones verdaderas monofásicas, los micro/nanogeles son dispersiones de partículas debido a su comportamiento típico coloidal, como por ejemplo en lo que respecta a la turbidez. Los microgeles coloidales son en general una fase dispersa de partículas de gel discretas de polímero, las cuales se encuentran en forma uniforme en un medio solvente continuo, hinchado por un buen disolvente.¹⁸⁰

Un error común es el uso indistinto de los términos "hidrogeles" y "microgeles". Ellos tienen en común la química de polímeros pero sus arreglos moleculares físicos son diferentes. Los microgeles, comparados con hidrogeles macroscópicos o masivos, son diferenciados como partículas discretas de tipo gel. Sin embargo, cualquiera de estos materiales puede responder a cambios sutiles en las condiciones ambientales (un cambio en la temperatura, pH, fuerza iónica, solvente, intensidad de luz o la influencia de un campo eléctrico) y podría considerarse un “gel inteligente”. Los microgeles poseen muchas propiedades fisicoquímicas interesantes, incluyendo viscosidades mucho más bajas que macrogeles y áreas superficiales muy altas. La velocidad de respuesta es un factor que también cambia en la escala de tamaño: se puede acelerar la velocidad de respuesta del material disminuyendo el tamaño de la partícula. Como los microgeles forman una solución coloidal estable pueden ser analizados con técnicas propias de solución como espectroscopias de transmisión y fluorescencia.⁸⁸ En el **Esquema 16** se destacan las propiedades fisicoquímicas entre hidrogeles macroscópicos y microgeles.



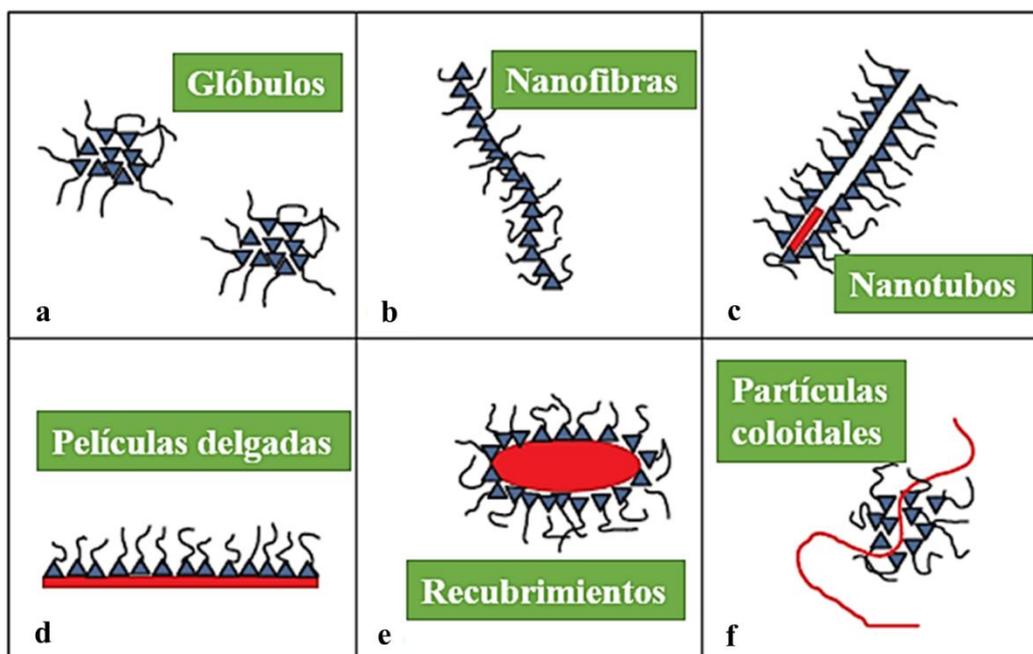
Esquema 16. Diferencias entre las propiedades físicoquímicas de geles macroscópicos y microgeles.

II.3.5 Nano-objetos en base a PANI

Tanto los oligómeros de anilina como la PANI son insolubles en medios de reacción acuosos. Sin embargo, la precipitación no siempre ocurre como una aglomeración desordenada del polímero insoluble. Se sugiere que en muchos casos la organización de macromoléculas se desarrolla a medida que ocurre el crecimiento durante la síntesis. Éste es acompañado por la formación de enlaces de hidrógeno entre cadenas existentes y en formación, siendo la razón por la cual se generan estructuras auto-organizadas e, incluso, muchas veces cristalinas. Este modelo explica la formación de todo tipo de estructuras supramoleculares y permite así comprender las razones de los cambios morfológicos según las condiciones experimentales.⁶⁹

Dependiendo de cómo se organizan los núcleos de PANI que se forman, el crecimiento de los mismos es capaz de producir diferentes morfologías. Entre las formas que se conocen, puede hacerse referencia a gránulos o glóbulos, nanofibras, nanotubos, partículas coloidales, nanoesferas y microsferas de PANI entre las más comunes, las cuales se muestran en el **Esquema 17**. En varias de las estructuras nombradas, algunas dimensiones son similares (ej. radio de las nanofibras y partículas coloidales, espesores de las paredes de los nanotubos y películas depositadas que es posible fabricar con la PANI). Se conoce que las mismas varían su tamaño dependiendo de las condiciones experimentales entre el rango de 50 y 500 nm, pareciendo ser proporcionales al peso molecular del

polímero.¹⁸¹ Estos hechos muestran las similitudes estructurales de todas las nanoestructuras generadas a partir de PANI.



Esquema 17. Diversas morfologías de la PANI: a) globular, b) nanofibras, c) nanotubos, d) películas delgadas, e) recubrimientos y f) partículas coloidales. Adaptado de referencia.⁶⁹

Los glóbulos se producen cuando la oxidación de la anilina se lleva a cabo bajo condiciones fuertemente ácidas. Su formación se explica por la oxidación del monómero anilina, la cual produce oligómeros tipo fenazina que son nucleados. Al ser insolubles en el medio de reacción, son separados y forman agregados aleatorios, los cuales actúan como centros de iniciación y posteriormente comienza el crecimiento de cadenas de polianilina que producen el glóbulo.¹⁸²

La PANI como polvo por sí sola es difícil de aplicar, excepto que se convierta en parte de materiales compuestos. Sin embargo, se comprime sencillamente a gránulos, quienes presentan buenas propiedades mecánicas. La dilución de la mezcla de reacción permite una mejor organización de los núcleos que tienden a agregarse debido al apilamiento π - π con la fenazina.¹⁸³ El crecimiento de las cadenas a partir de los núcleos apilados genera nanofibras de polianilina.

Los nanotubos se producen cuando la oxidación de la anilina comienza en condiciones neutras o ligeramente ácidas.¹⁸⁴ Los oligómeros de anilina son obtenidos al

principio y se propone que se organizan en agujas. Sirven como plantillas para el crecimiento de cadenas después de que la acidez se vuelva suficientemente alta (pH bajo).

Las películas delgadas constituyen quizás la forma de aplicación más interesante de la polianilina. Cualquier superficie en el contacto sumergida en la mezcla utilizada para la preparación se recubre con una delgada película. Los oligómeros de anilina se adsorben en las superficies disponibles y el crecimiento posterior comienza a partir de núcleos adsorbidos y produce una película. Se supone que las películas finas tienen una estructura de tipo cepillo; siendo el espesor del film de 100-400 nm dependiendo de las condiciones de reacción.¹⁸⁵ Las películas son más uniformes en superficies hidrofóbicas, mientras que sobre sustratos hidrofílicos tienden a tener una estructura globular. Los recubrimientos o revestimientos se han reportado sobre nanotubos de carbono, partículas de sílice, partículas metálicas, y otros nano-objetos.¹⁸⁶

Si la oxidación de anilina tiene lugar en el medio acuoso que contiene un polímero soluble en agua, a menudo se producen dispersiones coloidales de polianilina. Entre los agentes estabilizadores conocidos se reportan la poli(vinilpirrolidona),¹⁸⁷ goma arábiga,¹⁸⁸ metilcelulosa¹⁸⁹ u otros éteres de celulosa,¹⁹⁰ poli(ácido acrílico), poli(óxido de etileno),¹⁹¹ poli(ácido estirensulfónico) o su sal de sodio¹⁹² y poli(vinilalcohol).¹⁹³ Moléculas y partículas de otra naturaleza que no son poliméricas se han utilizado también con el mismo propósito (ej. ciclodextrinas y sílica).^{194, 195} Las nanopartículas de PANI se han usado para diferentes aplicaciones como terapia fototérmica de tumores, fluidos electrorreológicos, sensores de gases, sensores electroquímicos, nanocompuestos, entre otros.¹⁹⁶⁻¹⁹⁸

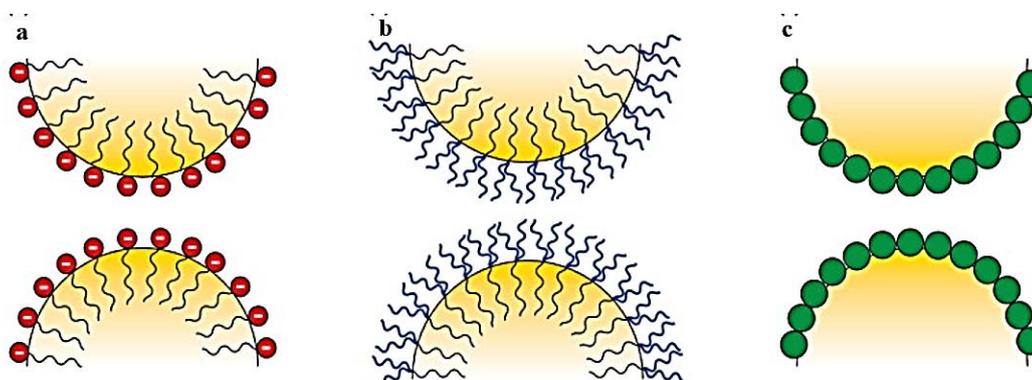
Las nanofibras de PANI pueden prepararse mediante una diversidad de métodos sintéticos tales como polimerización interfacial, método de reacción de mezcla rápida, síntesis radiolítica, síntesis sonoquímica y otros.¹⁹⁹⁻²⁰¹ Un proceso bien conocido para sintetizar las nanofibras PANI es el método de Kaner, donde la formación se da en la interfase entre el solvente orgánico y el agua.^{202, 203} Es posible generar nanofibras de PANI modificadas por polimerización de monómeros funcionalizados. Sin embargo, los grupos funcionales unidos podrían afectar negativamente al proceso de polimerización, incluso inhibiéndola porque los monómeros modificados tienen menor reactividad.²⁰⁴ La PANI puede ser modificada (no solo como nanofibras, sino también como películas delgadas, micropartículas) mediante reacciones orgánicas realizadas sobre los materiales sólidos, por ejemplo por reacciones electrofílicas o de adición nucleofílica.²⁰⁵⁻²⁰⁷

II.3.6 Emulsiones y colidosomas

Una emulsión es un tipo de coloide donde tanto la fase dispersa como la fase continua son líquidas. Ambos líquidos deben ser inmiscibles y uno de ellos está disperso en forma de finas gotas dentro del otro.²⁰⁸ Ya que las dos fases son inmiscibles y no interactúan entre sí, requieren de un estabilizador que se adsorba en la interfase y que posea una parte interactuante con una fase (ej. aceite) y otra parte interactuante con la otra fase (ej. agua). Estas especies son moléculas anfifílicas como sales de ácidos carboxílicos de cadena larga o son polímeros dibloque con un bloque hidrofílico y otro hidrofóbico.

Las emulsiones tipo Pickering son aquellas en las que están presentes partículas sólidas que generan una película resistente en la interfase entre dos fases no miscibles, inhibiendo la coalescencia de las gotas de la emulsión. Este tipo de emulsiones abre la posibilidad de nuevas vías de estabilización y posee gran interés práctico ya que son útiles en campos como la industria de los alimentos, la cosmética, la petrolera, entre otras.^{209, 210} La gran diferencia de las emulsiones Pickering con las convencionales es que no utilizan un agente tensioactivo o emulsificante para estabilizar la emulsión sino que hace uso de nanopartículas sólidas.

Los colidosomas son estructuras formadas por dos fases inmiscibles (líquidas o gaseosas) en las cuales partículas coloidales estabilizan la emulsión que se origina. Aunque puedan existir efectos químicos de estabilización, debido a que las partículas se diferencian de un surfactante por no ser asimétricas (a excepción de las denominadas partículas “Jano”),²¹¹ el efecto de estabilización se produce por un aumento de la superficie de la interfase debido a la intrusión de las partículas en ella. La comparación recientemente mencionada referida a la estabilización de la estructura se muestra en el **Esquema 18**.



Esquema 18. Diferentes tipos de estabilización de emulsiones: a) utilizando surfactantes con carga, b) utilizando surfactantes no cargados y c) utilizando partículas sólidas. Adaptado de referencia ²¹²

Estas estructuras pueden ser originadas por una gran variedad de materiales de distinta naturaleza como partículas inorgánicas, materiales particulados con propiedades magnéticas e incluso partículas de polímeros. En los últimos años, estos sistemas supramoleculares han sido propuestos como una técnica de microencapsulación muy promisoriosa para aplicaciones de liberación controlada. Entre las ventajas puede mencionarse el hecho de que este tipo de encapsulación incluye una gran robustez a nivel estructural y una porosidad que es definida por la uniformidad de las partículas sólidas dispersas que actúan en lugar de moléculas. Además, se han mostrado coloidosomas que son capaces de responder a estímulos externos.^{213, 214}

II.4 APLICACIONES

II.4.1 Sensores y actuadores de presión

Utilizando materiales como los polímeros conductores (clasificados también como electroactivos) se han llevado a cabo numerosas investigaciones las cuales son muy relevantes tanto para el mundo académico como también para su aplicación como sensores de presión y actuadores. En esta sección se comentan los avances más destacados en dicha área.

Lau y colaboradores generaron un nuevo material conductor con la capacidad de ser compresible al utilizar espumas de poliuretano en combinación con PPy.²¹⁵ Ellos demostraron que existe una relación lineal entre la conductancia y la tensión aplicada, pudiendo determinar parámetros tales como sensibilidad, rango dinámico y repetitividad del sensor de presión desarrollado, el cual se convirtió en un prototipo para monitoreo de respiración. Estudios similares fueron realizados utilizando fluoruro de polivinilideno (PVDF) y el mismo polímero conductor a través del mezclado en solución.²¹⁶ También fueron estudiadas membranas fibrosas de materiales compuestos utilizando polímeros conductores por deposición a través de electrohilado, logrando una buena sensibilidad en valores de presión y sensores con respuesta rápida y lineal confiables en su medida.²¹⁷ De esta manera, se podrían aplicar los mismos en dispositivos de prótesis, sistemas de control remoto e interruptores sensibles al tacto.^{218, 219} Por otro lado, a través de la generación de hidrogeles con matrices poliméricas de diferentes características, algunos científicos han orientado su investigación hacia la aplicación en dispositivos actuadores activados por microondas, radiación electromagnética o cambios de temperatura en la matriz.^{220, 221} Finalmente, muchos materiales se están diseñando y confeccionando

con vistas a la generación de materiales compuestos y nanocompuestos para poder aplicarse en diversos sistemas, aprovechando las características y propiedades de los componentes que los constituyen, como es el ejemplo del efecto sinérgico entre nanotubos de carbono y polímeros conductores.^{222, 223}

Otras aplicaciones interesantes de este tipo de sensores-actuadores fueron llevadas a cabo en la industria automotriz, donde se logró desarrollar sensores de presión basados en polímeros para colocar en superficies como los asientos de automóviles. Los mismos son capaces de proporcionar información para que pueda activarse o modularse alguna función relacionada con el sistema de seguridad del vehículo.²²⁴ En el ámbito de la medicina, también se han aplicado materiales electroactivos para desarrollar sistemas multifuncionales con aplicaciones en dispositivos médicos a nivel quirúrgico (ej. en implantes).^{225, 226}

II.4.2 Sensores de resistividad

Los polímeros conductores han sido ampliamente investigados debido a sus propiedades eléctricas especiales que permiten aplicarlos en sensores resistivos.^{227, 228} En comparación con otros materiales, los sensores basados en polímeros conductores presentan varias ventajas como alta sensibilidad, tiempo de respuesta relativamente corto, funcionamiento a temperatura ambiente, baja histéresis, estabilidad ambiental y versatilidad química. De hecho, es posible ajustar las propiedades fisicoquímicas de los mismos utilizando diferentes compuestos o sustituyentes.²²⁹⁻²³¹ De esta manera, los sistemas tecnológicos se producen para generar calentadores autorreguladores, sensores de detección química, narices electrónicas así como también en aplicaciones de grabación óptica-fototérmica, ingeniería de tejidos, sondas neurales, biosensores, suministro de fármacos, catalizadores químicos y electroquímicos, pilas de combustible y baterías.²³²⁻²³⁵ La polianilina es uno de los polímeros conductores intrínsecos más investigados. Algunos autores clasificaron a la PANI como un "material adaptativo" que se puede conmutar entre diferentes formas con características distintivas.^{236, 237} En la actualidad se dedica un especial interés a los polímeros conductores nanoestructurados (nanotubos, nanopartículas, nanofibras, películas delgadas y otros). De este modo, es posible combinar las propiedades de las macromoléculas conductoras orgánicas con las nuevas propiedades de los sistemas de baja dimensión.^{234, 238}

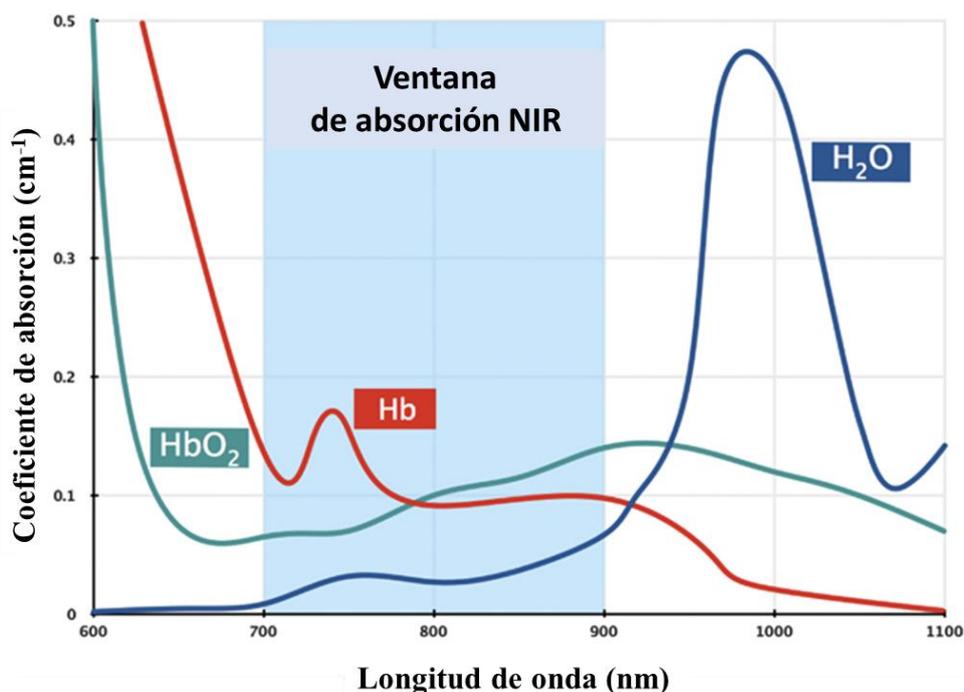
Debido a la aceleración del desarrollo de la nanociencia y la nanotecnología, los sensores a base de nanomateriales están atrayendo una considerable atención.²³⁹ Los sensores resistivos se basan en un cambio de conductancia o resistencia debido a una interacción física del material conductor con materiales volátiles.²⁴⁰ Los sensores basados en PANI se utilizan comúnmente para el análisis de especies solubles en sensores potenciométricos-amperométricos y como un elemento sensible en sensores de pH.²⁴¹ Tradicionalmente, las películas de PANI se han utilizado en dispositivos sensores donde el polímero actúa como quimiorresistor para detectar vapores químicos.²⁴² Cuando el material es expuesto a vapores, un circuito controlado por ordenador puede registrar fácilmente un cambio en la resistencia de la película. Sin embargo, la baja velocidad de difusión de los vapores dentro del polímero produce una respuesta lenta del sensor.²⁴³ El pequeño diámetro de las nanofibras de PANI podría reducir la longitud de la trayectoria de difusión permitiendo un menor tiempo de respuesta. Por lo tanto, las nanofibras de PANI o materiales similares se han utilizado para detectar compuestos volátiles como ácido clorhídrico, amoníaco, aminas orgánicas, cloroformo, metanol, sulfuro de hidrógeno, etc.²⁴⁴⁻²⁴⁶ Virji *et al.*,²⁴⁷ compararon la respuesta de PANI no funcionalizada como películas a partir de disolventes (ej. N-metilpirrolidona) y como depósitos de dispersiones de nanofibras. Dichos autores han descrito la respuesta de los sensores frente a gases reactivos -ácidos (HCl), bases (NH₃), reductores (N₂H₄)- y sólo dos volátiles no reactivos (CHCl₃, CH₃OH). Dado que la respuesta a los volátiles reactivos es irreversible, los autores sólo muestran la respuesta de resistencia de la película a la adición del analito sin el ciclo de recuperación tras la exposición al gas portador limpio. En todos los casos, se halló que la respuesta observada para los depósitos de nanofibras es más rápida que para las películas. Además, en el caso de la hidrazina, la película es insensible al volátil mientras que las nanofibras depositadas muestran un claro aumento de resistencia.

Puesto que la PANI es un polielectrolito, en su estado conductor interactúa fuertemente con las moléculas de agua que están generalmente presentes en el aire como humedad. Se ha demostrado previamente que la humedad del aire afecta fuertemente la magnitud y el signo de la señal de resistencia.²⁴⁸ Por lo tanto, la humedad del gas debe mantenerse constante durante todos los experimentos para conseguir reproducibilidad. Como la PANI es una poliamina aromática de naturaleza polar que interacciona fuertemente con compuestos capaces de formar enlaces de hidrógeno o interacciones dipolares, mientras que interactúa débilmente con compuestos no polares (ej. alcanos).

Aunque es posible cambiar la naturaleza química del esqueleto del polímero (ej. por copolimerización) también cambian otras propiedades requeridas para la fabricación del sensor, tales como la estabilidad de la película y la formación de nanofibras. Por otra parte, la funcionalización covalente de polímeros conductores sólidos permite unir nuevos grupos funcionales a la estructura principal sin modificar considerablemente la estabilidad del sólido.

II.4.3 Terapia fototérmica (PTT)

Se conoce como terapia fototérmica (del inglés *Photothermal Therapy* -PTT-) a la técnica mínimamente invasiva y de alta eficacia que es capaz de convertir la energía proveniente de los fotones en energía térmica. Para ello, se utiliza la radiación del espectro electromagnético que está comprendida entre los 700 y los 1200 nm de longitud de onda (radiación infrarroja cercana, NIR). El efecto de conversión de energía desde un tipo a otra se logra gracias a la capacidad de absorber dicha radiación por parte de un agente, generando luego calor localizado.²⁴⁹ La terapia fototérmica ha emergido en los últimos años frente a terapias de otra naturaleza (ej. quimioterapia, radioterapia) o fotoasistidas utilizadas convencionalmente como la luz UV-Visible, la cual es absorbida por los tejidos vivos.²⁵⁰ A modo de ejemplo, desde una perspectiva clínica, las células anormales son generalmente más sensibles al calor que las células normales debido a la inexistencia de un sistema de enfriamiento eficiente suministrado por los vasos sanguíneos, induciendo así daño celular y apoptosis.²⁵¹ Debido a que en la longitud de onda utilizada en PTT, los tejidos biológicos y el agua (el componente principal de los sistemas vivos) son transparentes, se puede definir que existe en esa región del espectro una ventana terapéutica entre los 700 y 900 nm (**Esquema 19**), posibilitando una mayor absorción de radiación y abriéndose así una alternativa muy prometedora para aplicaciones médicas.²⁵²



Esquema 19. Ventana terapéutica para aplicación de terapia fototérmica utilizando NIR. Referencias: Hb (hemoglobina), HbO₂ (oxihemoglobina).

Usualmente, para PTT se han utilizado moléculas o cromóforos que absorben considerablemente en la región del espectro mencionada. En los últimos años, con el auge de la nanotecnología se han reportado diversos nanomateriales que pueden ser utilizados por ser activos como agentes en PTT debido a la alta absorción de radiación infrarroja cercana. Se han utilizado con tal fin nanopartículas poliméricas²⁵³ y metálicas (ej. de oro y plata),²⁵⁴ nanovarillas de oro,²⁵⁵ nanocápsulas,²⁵⁶ dendrímeros,²⁵⁷ liposomas²⁵⁸ y materiales en base a carbono con diversa naturaleza y composición como nanoláminas de grafeno y derivados o nanotubos de carbono.^{259, 260} Sin embargo, muchos nanomateriales presentan inconvenientes desde el punto de vista de la biocompatibilidad, particularmente en lo que respecta a su toxicidad a largo plazo, limitándose así su aplicación clínica.²⁶¹

Los polímeros conductores como el PPy y la PANI han sido también evaluados como agentes útiles en PTT.^{262, 263} Particularmente, la PANI se ha estudiado por sus propiedades como la alta estabilidad ambiental, química y térmica, su conductividad y propiedades electroquímicas reversibles y su destacada absorción de radiación NIR.²⁶⁴ Adicionalmente, presenta aspectos beneficiosos como su versatilidad desde el punto de vista sintético y, desde el punto de vista de las aplicaciones en bio/nanomedicina por la baja toxicidad, la probabilidad de incorporación en ambientes celulares sumado a su capacidad de inducir la

muerte celular tumoral por efecto fototérmico.^{265, 266} Estudios *in vitro* e *in vivo* utilizando nanomateriales basados en PANI han sido reportados en la última década.²⁶⁷⁻²⁶⁹

En esta Tesis se plantea la utilización de materiales basados en este polímero conductor para terapia fototérmica aplicada a bacterias patógenas como *Pseudomonas aeruginosa*. Dicho microorganismo es uno de las causantes más comunes de infecciones en el ambiente hospitalario y en la comunidad en general. Se clasifica como una bacteria *Gram-positiva* que se puede encontrar principalmente en la piel. Es capaz de producir un tipo numeroso de infecciones de la piel tales como foliculitis, furunculosis o abscesos.^{270, 271} Además, se sabe que es la principal causa de bacteriemia y endocarditis infecciosa, así como también de problemas en tejidos pulmonares. Al día de hoy, algunos microorganismos entre los que se incluye a *Pseudomonas aeruginosa* se hicieron resistentes a varios fármacos (ej. antibióticos) y afectaron así al tratamiento de las infecciones nosocomiales.^{270, 272} Por lo tanto, se considera que es urgente la prevención de infecciones causadas por estos patógenos y el desarrollo de nuevas técnicas terapéuticas, entre las que es posible contemplar a la terapia fototérmica antibacteriana.

CAPÍTULO III
MATERIALES Y
METODOLOGÍA

◆—————◆



III MATERIALES Y METODOLOGÍA

Todos los reactivos químicos y solventes utilizados en el trabajo experimental de esta Tesis Doctoral fueron de calidad analítica y se emplearon tal cual fueron adquiridos, sin realizar modificaciones posteriores.

III.1 SÍNTESIS DE MATERIALES

III.1.1 Síntesis de PANI masiva

La PANI fue sintetizada a partir de los siguientes reactivos y condiciones experimentales: 0,1 M de hidrocloreto de anilina (ANI) en ácido clorhídrico (HCl) 1 M y persulfato de amonio (PSA) en proporciones equimolares a la anilina, actuando el PSA como oxidante. La reacción de polimerización se realizó colocando la solución de ANI 0,1 M en un reactor refrigerado (mezcla hielo-agua) para mantener la temperatura en el rango entre 0 °C-0,3 °C. Se adicionó luego la solución acuosa de PSA (refrigerada también a una temperatura de 0 °C) y se dejó reaccionar a esa temperatura durante 12 horas bajo agitación constante. Se retiró la solución del reactor, se filtró al vacío y lavó con HCl 1 M, luego con agua bidestilada y con hidróxido de amonio (NH₄OH) 0,1 M. Finalmente, la PANI sintetizada fue secada en estufa de vacío a una temperatura de 50 °C durante 8 horas y se procedió a molerla para utilizarse.²⁷³

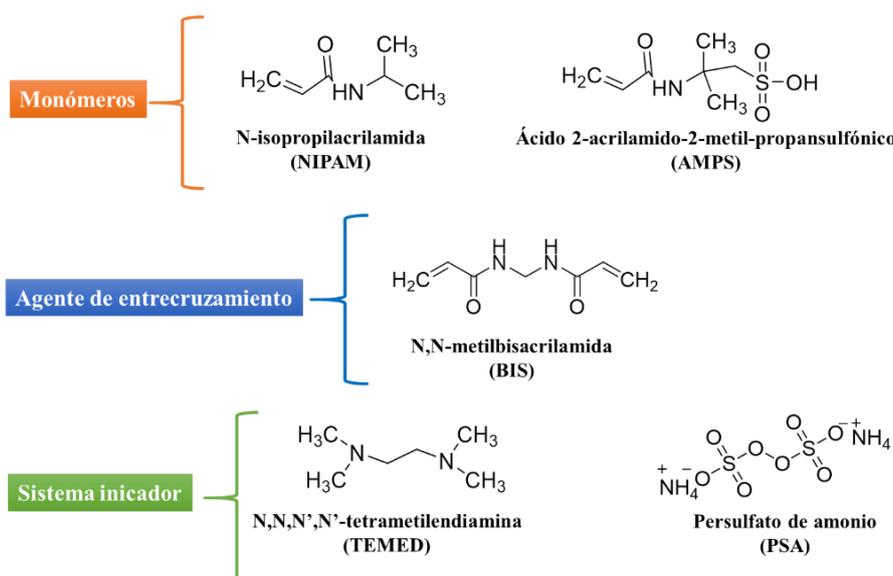
Otra variante en la síntesis de PANI fue realizada llevando a cabo la reacción de polimerización sobre películas de polietileno.²⁷⁴ En este caso, fue necesario modificar previamente la superficie, provocando así una oxidación superficial de las películas y aumentando la hidrofiliidad de las mismas para favorecer la adhesión del polímero conductor. Este procedimiento se realizó sumergiendo las películas durante 5 minutos en una mezcla sulfocrómica, la cual fue preparada a partir de la disolución de 35 gramos de dicromato de potasio (K₂Cr₂O₇) en 500 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄). Tras ello, se colocaron las películas en una mezcla hielo-agua (~ 0 °C) y se procedió a su secado por contacto con el aire. Posteriormente, se llevó a cabo la reacción de polimerización de la PANI sobre las películas de polietileno oxidado.

III.1.2 Hidrogeles (HG)

III.1.2.1 Síntesis de hidrogeles basados en PNIPAM

Las matrices de hidrogeles termosensibles de PNIPAM-co-2%AMPS se sintetizaron por copolimerización de los monómeros N-isopropilacrilamida (NIPAM) y ácido 2-acrilamido-2-metilpropansulfónico (AMPS) en proporciones definidas. Como agente de entrecruzamiento se utilizó N, N-metilbisacrilamida (BIS). La reacción de polimerización se llevó a cabo agregando un sistema iniciador compuesto por PSA y N,N,N',N'-tetrametilenacrilamida (TEMED). En el **Esquema 20** se muestran las estructuras de los monómeros vinílicos, agente entrecruzante y sistema iniciador utilizados para obtener los hidrogeles.

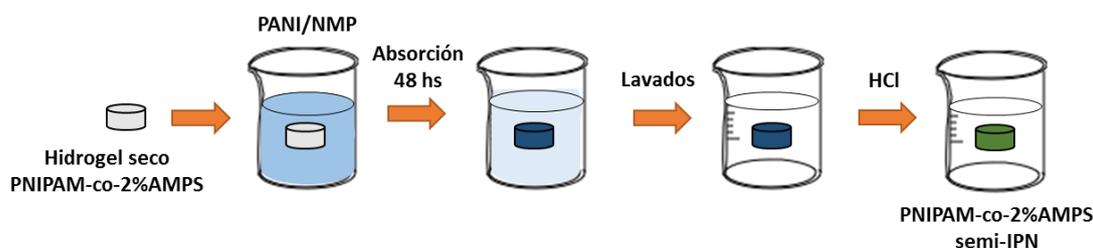
Experimentalmente, el agente entrecruzador fue disuelto en una proporción de 2 % en moles respecto de los moles totales de NIPAM en una solución acuosa del monómero 0,5 M y se agregó 2 % en moles del otro monómero (AMPS) respecto a NIPAM. Luego, el sistema iniciador (0,001 g/mL de PSA y 10 μ L/mL de TEMED) fue añadido mientras se burbujeara nitrógeno en la solución. La reacción de polimerización se llevó a cabo a temperatura ambiente (20 °C) durante 3 horas. De esta forma, el hidrogel PNIPAM-co-2%AMPS, fue obtenido al completarse la reacción. Los hidrogeles resultantes fueron sometidos a sucesivos lavados con agua bidestilada a temperatura ambiente durante 48 horas para eliminar los reactantes en exceso o monómeros que no hayan reaccionado.



Esquema 20. Estructuras químicas de monómeros, agente entrecruzador y componentes del sistema iniciador de polimerización para la obtención de hidrogeles PNIPAM-co-2%AMPS.

III.1.2.2 Síntesis de redes semi-IPN de PANI en matrices de hidrogeles

La generación de redes semi-interpenetradas fue llevada a cabo a partir de la conjunción de un polímero conductor lineal (PANI) y la matriz de hidrogel termosensible (PNIPAM-co-2%AMPS).²⁷⁵ Se seleccionó N-metilpirrolidona (NMP) como buen solvente tanto para disolver la PANI como para hinchar el hidrogel. En primer lugar, la PANI fue disuelta en NMP, adquiriendo la solución el color azul oscuro característico del polímero cuando se encuentra en a pH básico en NMP. Una vez preparada la solución de PANI/NMP a distintas concentraciones (entre 0,4 y 1 g/L), los hidrogeles secos de PNIPAM-co-2%AMPS fueron hinchados en las mismas a temperatura ambiente durante 48 horas. Los hidrogeles absorbieron así el contenido de la solución, coloreándose azul oscuro. Luego, los materiales obtenidos fueron lavados en agua bidestilada durante 48 horas. El proceso recientemente descrito se resume en el **Esquema 21**.



Esquema 21. Proceso experimental para la obtención de PNIPAM-co-2%AMPS semi-IPN con PANI.

III.1.2.3 Síntesis de hidrogeles basados en HPC

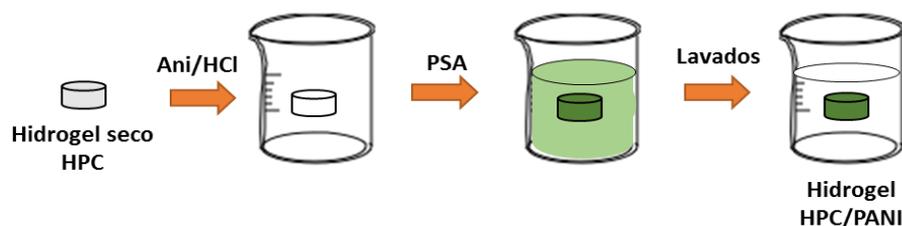
Las matrices termosensibles de hidroxipropilcelulosa fueron sintetizadas a partir de una solución del polímero en agua (2 g HPC/5 mL de agua) y un agente entrecruzante que reacciona con los grupos –OH del polímero para generar la estructura de gel. El reactivo entrecruzante escogido fue el etano-1,2-diona (glioxal) y se utilizó en forma de una solución al 40 % v/v en agua. Se requirió el uso de HCl 3 % v/v en agua como catalizador. Tras mezclar los tres componentes en el recipiente de reacción, se procedió a desoxigenar burbujeando con nitrógeno gaseoso y luego se centrifugó a una velocidad de 8000 rpm durante 20 minutos. La mezcla se mantuvo en ausencia de luz y a temperatura ambiente durante 96 horas para permitir que se complete la reacción entre los grupos reactivos de la HPC y los del dialdehído. Transcurrido este tiempo se obtuvieron los hidrogeles, los cuales fueron sometidos a lavados con el objetivo de eliminar reactantes que puedan haber

quedado sin polimerizar o reaccionar. Finalmente, se procedió a secar el material obtenido en estufa de vacío a una temperatura de 60 °C.

III.1.2.4 Generación de PANI en matrices de HPC

Con el objetivo de otorgarle propiedades conductoras al material basado en HPC, se polimerizó ANI en la matriz original y de esta manera se logró que posea la capacidad de conducir corriente eléctrica y responder a estímulos de temperatura (hidrogel inteligente) simultáneamente en un mismo material.

Experimentalmente, se polimerizó *in situ* la PANI en la matriz de HPC.²²⁰ Para ello, se realizó un procedimiento similar al explicado en la **sección III.1.1** para la obtención de PANI masiva. Se partió de una solución 0,1 M del monómero ANI en HCl 0,1 M (termostatazando la misma a 0 °C) a la cual se colocó el hidrogel de HPC en estado seco para lograr la absorción de la solución mientras ocurría el hinchamiento durante 12 horas. Luego, se agregó una solución de PSA 0,1 M como iniciador redox de polimerización de ANI y se dejó reaccionar durante 12 horas bajo agitación. De esta manera, el polímero conductor se genera en el interior de la matriz termosensible de HPC. El proceso experimental se muestra en el **Esquema 22**. Posteriormente, el hidrogel conteniendo la PANI se extrajo y se lo lavó repetidamente con agua bidestilada durante 48 horas. Para finalizar, se procedió a secar en estufa de vacío.



Esquema 22. Procedimiento de síntesis de PANI en el interior de la matriz termosensible de HPC.

III.1.3 Micropartículas PNIPAM-co-2%AMPS semi-IPN

Las micropartículas se obtuvieron a partir de un proceso de triturado (molienda) del material generado a partir de los hidrogeles PNIPAM-co-2%AMPS semi-interpenetrados con PANI. Las piezas macroscópicas de hidrogel se solidificaron utilizando nitrógeno líquido y luego se colocaron en un molino triturador para reducir el tamaño, utilizando

finalmente un mortero. Para homogeneizar las partículas se utilizó un tamiz. Luego, las micropartículas obtenidas se dispersaron en agua y se acidificó el medio.

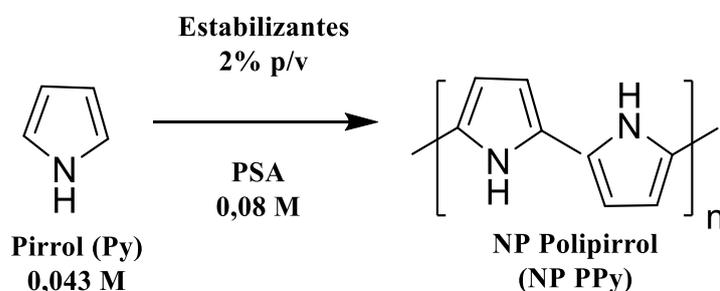
III.1.4 Nanomateriales

III.1.4.1 Síntesis de nanogeles termosensibles (PNIPAM-co-2%AMPS)

Los nanogeles de PNIPAM-co-2% AMPS fueron sintetizados utilizando el método de copolimerización por precipitación.⁸⁸ La composición molar de los monómeros empleados fue: 98 % NIPAM y 2 % AMPS. Como agente entrecruzante se usó BIS (1,6 %), resultando una concentración total de monómero de 130 mM en agua. En primer lugar, se llevó a cabo la mezcla de NIPAM y BIS en un volumen final de 10 mL de agua; luego se desoxigenó utilizando un flujo de nitrógeno gaseoso y se calentó a 70 °C durante 60 minutos bajo agitación. Posteriormente, se añadió el segundo monómero (AMPS) junto con 2 mM de PSA en 1 mL de agua, el cual actuó como iniciador de la polimerización. La temperatura, la agitación y el desgasado con nitrógeno se mantuvieron durante 4 horas. Transcurrido este tiempo se obtuvo una dispersión blanquecina que contenía los nanogeles.

III.1.4.2 Síntesis de nanopartículas de polipirrol (NP PPy)

En este caso, las nanopartículas de polipirrol (NP PPy) fueron sintetizadas por polimerización oxidativa a partir de una solución acuosa del monómero pirrol (0,043 M).²⁷⁶ Como agente oxidante se escogió el mismo que se utilizó en la síntesis de PANI: PSA, en una concentración 0,08 M en la mezcla de reacción. Para evitar la coalescencia y posterior precipitación de las NP PPy se hizo uso de estabilizantes como PVP, PNIPAM y mezcla de ambos en proporción 50:50. La reacción de obtención del material nanoparticulado se muestra en el **Esquema 23**.



Esquema 23. Reacción de obtención de NP PPy por polimerización oxidativa a partir del monómero.

III.1.4.3 Síntesis de nanofibras de polianilina (NF PANI)

Las nanofibras de polianilina (NF PANI) se obtuvieron siguiendo el procedimiento reportado por Kaner y colaboradores.^{202, 277} La reacción de polimerización ocurre cuando están en contacto dos fases inmiscibles. En un recipiente se preparó la fase orgánica (cloroformo), disolviendo 24 mM de ANI en 75 mL de cloroformo; mientras que en otro recipiente se disolvieron 6 mM de PSA en 75 mL de una solución acuosa 0,8 M de HCl. Ambos líquidos fueron cuidadosamente transferidos a un frasco cerrado, generando de esta manera la interfase líquido-líquido entre la fase orgánica y la fase acuosa. Así, el monómero difunde hacia la zona acuosa, oxidándose por acción del PSA y dando lugar a la generación de la PANI. La reacción se llevó a cabo en completa ausencia de luz y transcurridas 24 horas se obtuvieron dos fases con características diferentes: en la acuosa la PANI en estado esmeraldina (con su coloración verde característica), mientras que en la fase orgánica apareció un color anaranjado donde se encontraban los subproductos de la reacción. Se recolectó la fase acuosa que contenía las NF PANI para su caracterización y posterior utilización.

III.1.4.4 Síntesis de nanopartículas de polianilina (NP PANI) por polimerización oxidativa

Para la síntesis de nanopartículas de polianilina (NP PANI) por polimerización oxidativa se siguió, en líneas generales, el protocolo reportado por IUPAC,²⁶⁴ modificando la naturaleza de los estabilizantes de las nanoestructuras. Por un lado, se disolvieron 259 mg de ANI en 5 mL de una solución acuosa 4 % p/p de estabilizante y se agitó hasta lograr una solución homogénea. Por otro lado, se disolvieron 571 mg de PSA en 5 mL de agua bidestilada. Se procedió a mezclar ambas soluciones, bajo agitación constante y a temperatura ambiente (excepto cuando se utilizó HPC como agente estabilizante, refrigerando la mezcla a 0 °C).¹³⁸ Las concentraciones resultantes en el reactor fueron: 0,2 M de ANI; 0,25 M de PSA y 2% p/v de PVP. Cuando la mezcla se tornó color verde, tras 10 minutos de reacción, se consideró que la polimerización ocurrió completamente y se obtuvo la dispersión de NP PANI. En la **Figura 7** se muestran las estructuras químicas de los diferentes estabilizantes utilizados en este método de síntesis.

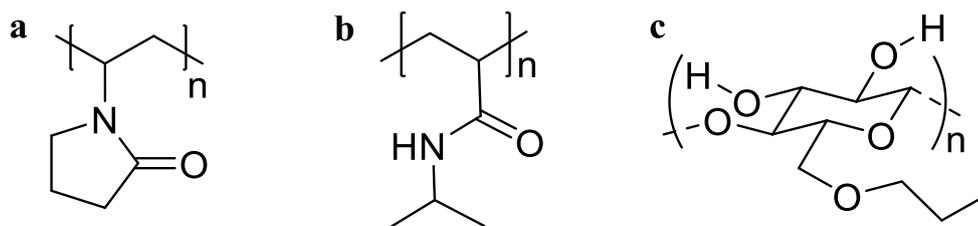
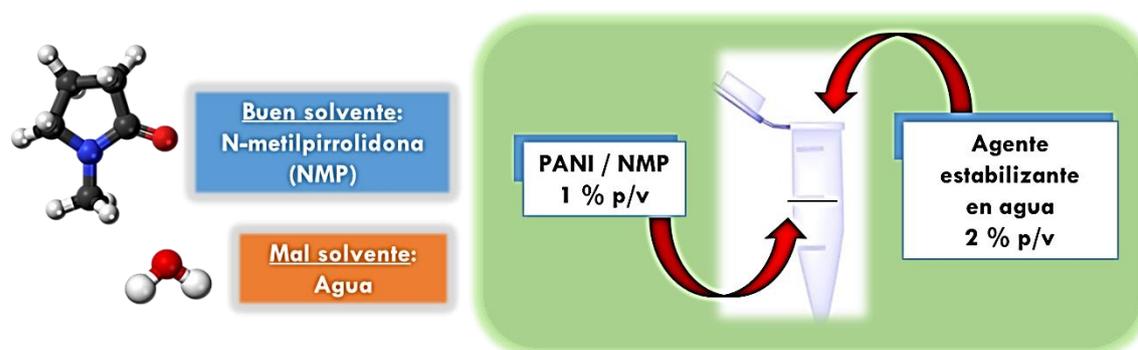


Figura 7. Estructura de los diferentes estabilizantes utilizados en la generación de NP PANI: a) PVP, b) PNIPAM y c) HPC.

III.1.4.5 Síntesis de nanopartículas de polianilina (NP PANI) por desplazamiento de solvente

El método de síntesis por desplazamiento de solvente se basa en la precipitación controlada de nanopartículas al utilizar la combinación de un buen solvente para el polímero que dará origen a la nanoestructura y un mal solvente para el mismo polímero, el cual es capaz de disolver el agente estabilizante.

Para obtener las nanopartículas, se mezcló una solución que contiene el polímero conductor (PANI, esmeraldina base) disuelto en NMP (un buen solvente) en una proporción 1 % p/v, con una solución en agua (solvente pobre) del agente estabilizante (2 % p/v). Al poner en contacto ambas soluciones a temperatura ambiente, se originó el coloide por desplazamiento de la NMP desde la cercanía de las cadenas de PANI hacia el agua en la cual es miscible. Esto hace que la PANI precipite homogéneamente en agua. Este proceso ocurre por formación de núcleos que crecen para formar nanopartículas y luego un precipitado. Los agentes estabilizantes (polímeros hidrosolubles) se adsorben sobre las nanopartículas, logrando mantener el coloide por su interacción con el agua que forma capas poliméricas estabilizantes. El método utilizado es representado en el **Esquema 24**.



Esquema 24. Diagrama de obtención de NP PANI por desplazamiento de solvente.

Para la estabilización de las NP PANI que se sintetizaron por este método se utilizó una variedad de compuestos, entre los que se incluyen polímeros de naturaleza neutra, polímeros cargados, compuestos de características biocompatibles, surfactantes, entre otros. Las estructuras químicas de los distintos agentes estabilizantes utilizados se muestran en la **Figura 8**.

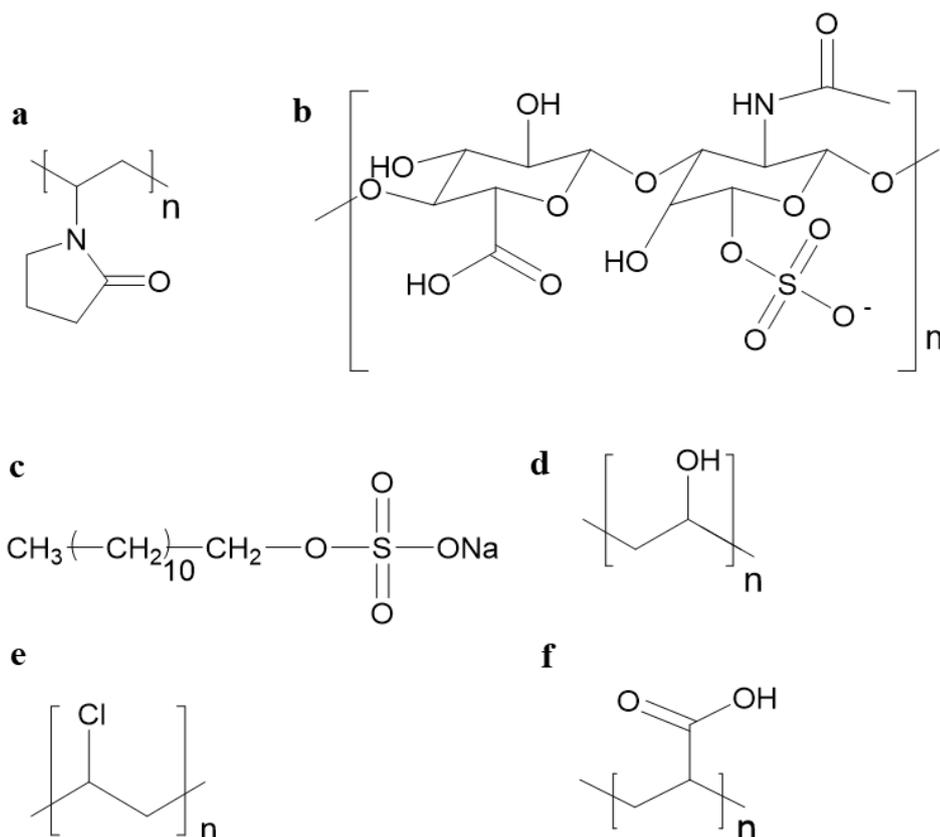


Figura 8. Estructura de los compuestos utilizados como agentes estabilizantes en la síntesis de NP PANI por desplazamiento de solvente: a) polivinilpirrolidona (PVP); b) sulfato de condroitina (ChS); c) dodecilsulfato de sodio (SDS); d) polivinilalcohol (PVA); e) poli(cloruro de vinilo) (PVC) y f) ácido poliacrílico (PAAc).

III.1.4.5.1 Funcionalización y conjugación de PANI lineal

Para otorgarle nuevas propiedades a las nanopartículas, se modificaron químicamente las cadenas de PANI previo a la síntesis de NP PANI por desplazamiento de solvente. En una primera instancia, se la funcionalizó con cisteamina y luego se la combinó con un fluoróforo extrínseco: cloruro de dansilo (DNS-Cl), cuya estructura química puede observarse en la **Figura 9**.

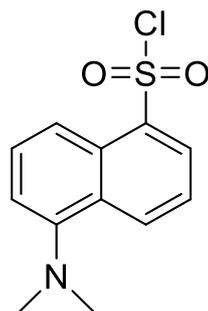
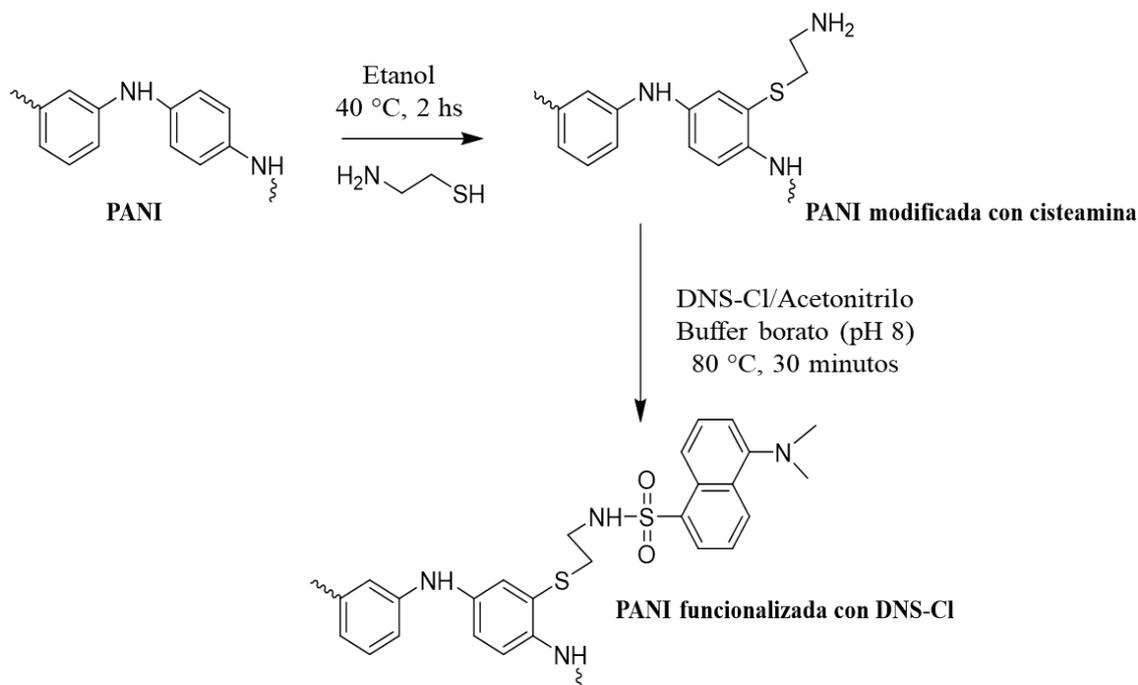


Figura 9. Estructura del fluoróforo cloruro de dansilo (DNS-Cl).

Se disolvieron 100 mg de PANI en 10 mL de etanol junto con 50 mM de cisteamina. Se calentó a una temperatura de 40 °C en baño de agua durante 2 horas. Luego se filtró y se lavó con etanol, obteniendo así el sólido y dejando secar. Este sólido ya presentaría unida la cisteamina a la estructura original de la macromolécula de PANI. Luego, 0,26 gramos de DNS-Cl se disolvieron en 1 mL de acetonitrilo y se lo hizo reaccionar con 1 mL de la PANI modificada con cisteamina en una solución tampón borato (pH 8) durante 30 minutos a una temperatura de 80 °C, en total ausencia de luz. Tras ello se centrifugó y filtró, redispersando el sólido en etanol. Se lavó con etanol hasta que el líquido filtrado no presentó rastros fluorescentes al irradiar con una lámpara UV. Las reacciones de funcionalización y conjugación se muestran en el **Esquema 25**.

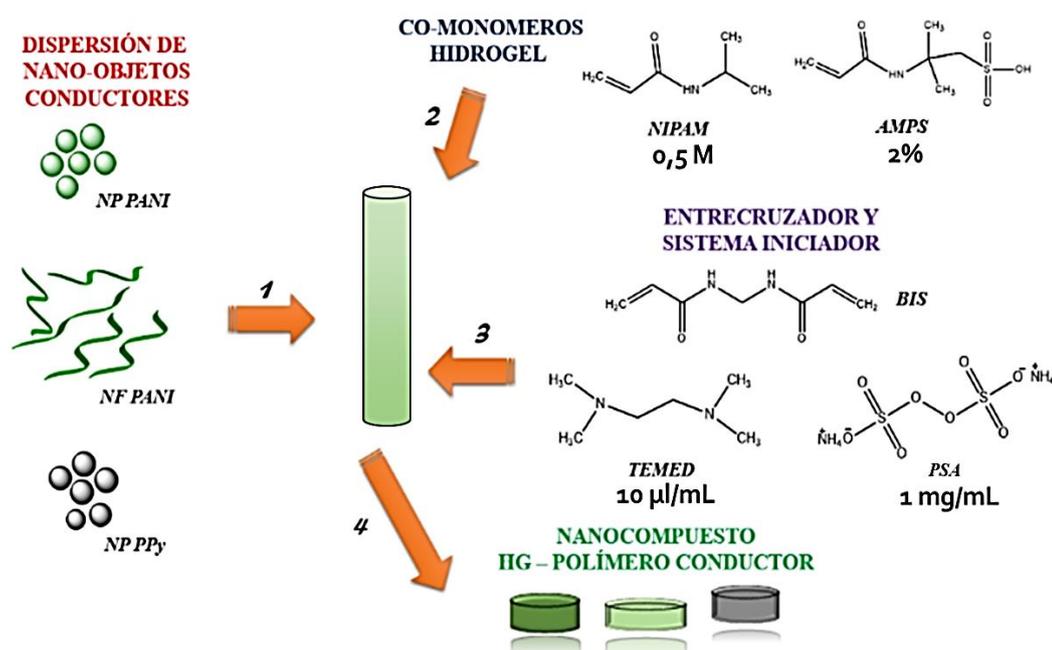


Esquema 25. Proceso de funcionalización y conjugación de la PANI lineal.

Una vez finalizada la funcionalización con cisteamina y la posterior conjugación con el fluoróforo, se sintetizaron las NP PANI. Para ello, se disolvió la PANI obtenida en NMP en una concentración igual al 1% p/v. En forma separada, se preparó una solución del estabilizante (PVP) en agua al 2% p/v. Tras el contacto entre ambas fases, se formaron las nanopartículas por precipitación (desplazamiento de solvente). Finalmente, se realizó diálisis contra solución tampón fosfato salino (PBS) a pH 7,4.

III.1.4.6 Materiales nanocompuestos

Los materiales nanocompuestos se sintetizaron a partir de la generación de hidrogeles termosensibles por medio de copolimerización radicalaria (**sección III.1.2.1**) con nano-objetos conductores disueltos en la solución prepolimérica. En el **Esquema 26** se muestra el procedimiento sintético descrito. Se utilizaron como solventes de la mezcla prepolimérica diluciones acuosas de los distintos nano-objetos -NP PPy, NP PANI y NF PANI- (paso 1). Luego se agregaron los monómeros (paso 2), entrecruzador y sistema iniciador (paso 3) logrando después de un tiempo de reacción el copolímero de PNIPAM-co-2%AMPS en forma de nanocompuestos con los objetos conductores incorporados en su matriz (paso 4). Una vez completada la polimerización, los materiales resultantes fueron sometidos a sucesivos lavados con agua bidestilada a temperatura ambiente durante 48 horas para eliminar los reactantes en exceso o aquellos que no hayan reaccionado.



Esquema 26. Pasos experimentales llevados a cabo para la obtención de materiales nanocompuestos basados en hidrogeles termosensibles y nano-objetos conductores.

III.1.5 Método de obtención de coloidosomas

Los coloidosomas fueron sintetizados dispersando un solvente hidrofóbico (ciclohexano o 1-octanol) en una dispersión acuosa de nanopartículas de polímero conductor (NP PANI) que actúan como estabilizantes de la emulsión. Se utilizó el mismo volumen de fase acuosa que de fase orgánica (2 mL de cada uno). Las mismas fueron agitadas vigorosamente utilizando un dispositivo tipo Vortex durante 2 minutos. De esta forma, se obtienen estructuras donde se puede estudiar la química supramolecular del sistema. Como ya se ha mencionado, las dispersiones de NP PANI no son estables en agua y requieren de un estabilizante polimérico adsorbido en su superficie. Los estabilizantes poliméricos de las nanopartículas utilizados para evitar la aglomeración y coalescencia de las mismas fueron PVP y PNIPAM. De esta manera, combinando NP PANI sintetizadas por polimerización oxidativa con distintos estabilizantes y solventes hidrofóbicos se logró obtener cuatro sistemas diferentes listados en la **Tabla 4**.

Tabla 4. Coloidosomas obtenidos a partir de nanopartículas dispersas en agua y solventes orgánicos.

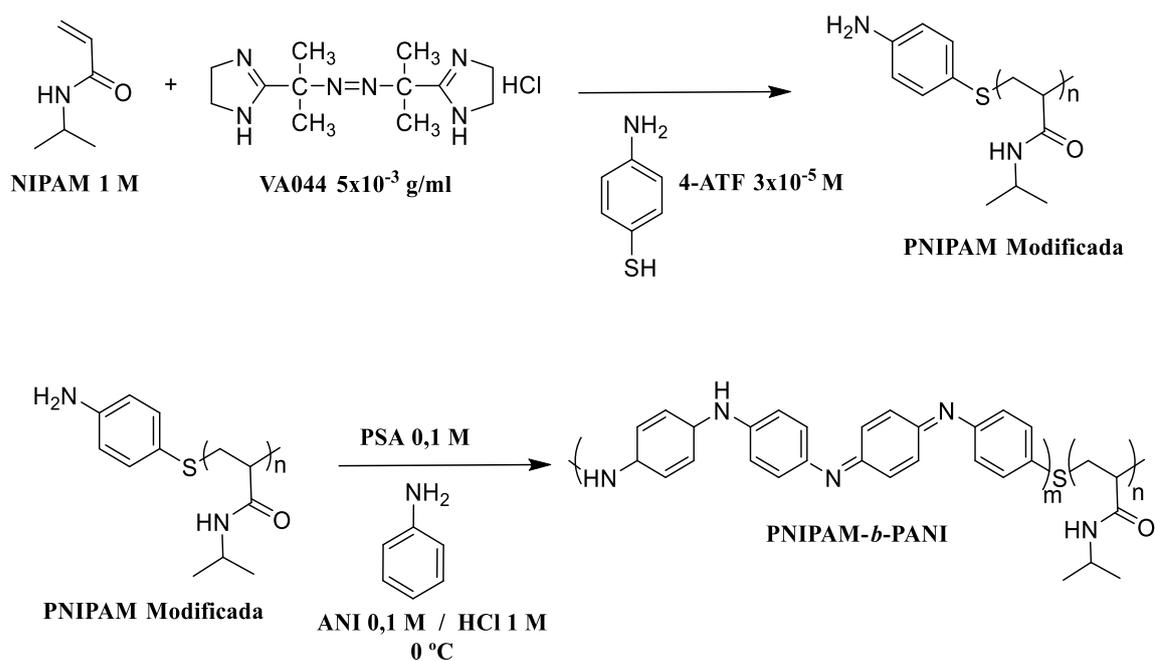
Identificación	Fase acuosa	Fase orgánica
C ₁	NP PANI (PVP)	Ciclohexano
C ₂	NP PANI (PVP)	1-octanol
C ₃	NP PANI (PNIPAM)	Ciclohexano
C ₄	NP PANI (PNIPAM)	1-octanol

III.1.6 Síntesis de copolímero termosensible y conductor PNIPAM-*b*-PANI

Para obtener una molécula que tenga la capacidad de presentar termosensibilidad y conductividad en la misma estructura, se siguió el procedimiento experimental que se detalla a continuación. En primera instancia, se preparó una solución del monómero NIPAM a una concentración 1 M en agua. Se utilizó dihidrocloruro de 2,2'-Azobis [2-(2-imidazolin-2-il) propano] (VA044) como agente de iniciación de la polimerización, el cual se agregó en una proporción de 5×10^{-3} g/mL a la solución del monómero. Las condiciones experimentales definidas para la reacción fueron: temperatura controlada a 60 °C, agitación constante y burbujeo con nitrógeno durante 4 horas. Transcurrido este tiempo, se adicionó un agente de transferencia de cadena para finalizar la reacción de polimerización: se escogió 4-aminotiofenol (4-ATF),²⁷⁸ en una concentración final de 3×10^{-5} M en la mezcla. Terminada la reacción, la molécula se purificó por sucesivos ciclos de colapso térmico de

la molécula (calentamiento-enfriamiento) para remover los reactantes en exceso y monómeros residuales. Finalmente, se precipitó en metanol obteniendo así el polímero modificado PNIPAM-ATF en forma de un sólido de coloración blanca.

Luego, el sólido PNIPAM-ATF se disolvió en agua bidestilada y se lo utilizó como material de partida para crecer el polímero conductor (PANI) desde su grupo amino terminal. Para ello fue necesaria la preparación de una solución 0,1 M de ANI en HCl 1 M, refrigerada a 0 °C. Tras ello, se agregó el oxidante (PSA, equimolar a ANI) con el objetivo de iniciar la polimerización de PANI. El bloque del polímero conductor creció así a partir del bloque termosensible modificado con ATF, mediante un enlace a través del azufre. Se obtuvo el copolímero bloque PNIPAM-*b*-PANI en forma de una solución de coloración verde. Finalmente, sucesivos ciclos de colapso térmico (calentamiento-enfriamiento) fueron realizados con el objetivo de purificar la molécula sintetizada. Los pasos de síntesis mencionados son resumidos en el **Esquema 27**.



Esquema 27. Procedimiento sintético para la obtención del copolímero bloque PNIPAM-*b*-PANI.

III.2 TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN

III.2.1 Espectroscopias

III.2.1.1 Espectroscopia UV-Visible

Las medidas correspondientes a espectroscopia UV-Visible se realizaron en un espectrofotómetro marca Hewlett-Packard (HP) modelo 8453. El mismo posee un detector de arreglo de diodos, siendo la fuente de excitación una lámpara de deuterio y wolframio abarcando el rango de emisión comprendido en longitudes de onda entre 190 y 900 nm. En todos los casos, para la toma de los espectros se utilizaron celdas de cuarzo con un paso óptico de 1 cm y 0,1 cm. Los blancos correspondientes fueron tomados en la misma celda utilizando el solvente según corresponda a cada experimento.

III.2.1.2 Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR)

Se utilizó un equipo FT-IR Bruker Tensor 27 tomando los espectros en modo transmitancia. Las muestras fueron preparadas en forma de pastilla para lo cual cada una de las muestras secas fueron mezcladas con bromuro de potasio (KBr) manteniendo una proporción 1:3 utilizando un mortero de ágata. Luego se preparó la pastilla en un compresor al vacío. La variación de presión se realizó progresivamente variando 5 ton/cm² hasta llegar a 15 ton/cm². Se trabajó con una resolución igual a 4 cm⁻¹ en el rango de frecuencias.

III.2.1.3 Espectroscopia de Fluorescencia

Se utilizó un espectrofluorómetro Spex FluoroMax para tomar las medidas de fluorescencia en estado estacionario. El equipo cuenta con una lámpara de xenón como fuente de excitación, libre de ozono, cuya potencia es de 150 W. El detector del equipo es un tubo fotomultiplicador sensible hasta una longitud de onda de 850 nm. Los espectros se tomaron utilizando celdas de fluorescencia con paso óptico 1 cm y 0,1 cm a un ángulo de 90°. La longitud de onda de excitación fue seleccionada de acuerdo al máximo de absorción de cada muestra medido por espectrofotometría UV-Visible. Se trabajó, según la muestra, en diferentes condiciones variando los tiempos de integración y apertura de rendijas o paso óptico de excitación y de emisión. El equipo consta de un software de análisis DM 3000 3.2.

III.2.1.4 Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear ^1H (^1H NMR)

Para utilizar esta técnica las muestras debieron ser previamente secadas utilizando una estufa de vacío a una temperatura de 50 °C durante 48 horas. Luego, se las redisolvió utilizando agua deuterada y se procedió a analizarlas en el espectrómetro. El equipo utilizado fue un ^1H NMR FT-NMR Bruker Advance DPX400, realizándose las medidas a una frecuencia de 400 MHz.

III.2.2 Microscopias

III.2.2.1 Microscopia Electrónica de Barrido (SEM)

Las muestras conductoras a analizar fueron previamente depositadas sobre una superficie de carbono vítreo permitiendo su secado por evaporación del solvente, previo a la colocación en el microscopio para su observación. Se utilizaron diferentes equipos para realizar las medidas experimentales de este trabajo de Tesis:

- Microscopio electrónico de barrido de alta resolución equipado con un cañón de emisión de campo (FEI) Strata DB 235.
- Microscopio electrónico de barrido Carl Zeiss EVOMA10.
- Microscopio electrónico de barrido Tescan Ltd VEGA LMU.

En todos los casos se utilizó un voltaje de aceleración de 5 kV y se observaron imágenes a distintas magnificaciones.

III.2.2.2 Microscopia Electrónica de Transmisión (TEM)

La observación de nanoestructuras por esta técnica se llevó a cabo en un equipo Zeiss EM 109T. Para la obtención de las imágenes se acopló a una cámara digital Gatan ES1000W al instrumento. Las dispersiones acuosas se depositaron sobre una grilla de Formvar®, dejando secar luego por contacto con el aire. En algunos casos fue necesario realizar un tratamiento con ácido fosfotúngstico para aumentar el contraste.

III.2.2.3 Microscopia de Fuerza Atómica (AFM)

La técnica de microscopía de fuerza atómica fue utilizada para caracterizar nanoestructuras a nivel superficial y para ensayar cambios morfológicos producidos por irradiación con luz infrarroja cercana (NIR). Se utilizó un AFM Agilent Technologies 5420

Scanning Probe® Microscope en modo de operación no contacto con una constante de fuerza de 6 N/m y una frecuencia de resonancia de 156 Hz. Las imágenes se tomaron con la cámara acoplada al mismo equipo y la digitalización se realizó utilizando la interfaz Gwiddion.

III.2.2.4 Microscopía Óptica

Se utilizaron dos microscopios diferentes para realizar observaciones de estructuras con tamaño del orden de los micrometros. En el caso de los coloidosomas se usó un microscopio binocular Arcano X57 107E, variando los aumentos entre 10, 20 y 40X según fuera necesario. Para poder comprobar la existencia de micropartículas termosensibles se utilizó un microscopio óptico marca Nikon modelo Ti-S 100 con sistema óptico de contraste NAMC acoplando un equipo fotográfico digital para captura de imágenes.

III.2.3 Técnicas de dispersión de luz

III.2.3.1 Dispersión de Luz Dinámica (DLS)

La técnica de dispersión de luz dinámica fue utilizada para obtener información acerca de la distribución de tamaños de las partículas sintetizadas y su correspondiente índice de polidispersidad. Se utilizó un equipo Malvern 4700 con goniómetro y dispositivo correlador 7132. El sistema posee un láser ion-argón que emite a una longitud de onda de 488 nm, registrando la medición a un ángulo de incidencia de 90°. Las dispersiones coloidales fueron previamente diluidas en agua destilada para ajustar las cuentas en el equipo y se colocaron en celdas de fluorescencia con paso óptico de 1 cm. En los casos que las dispersiones absorbieran a la longitud de onda del láser se realizó el estudio con un equipo Zetasizer Nano S90, irradiando a una longitud de onda de 633 nm.

III.2.3.2 Turbidimetría

Las medidas turbidimétricas se llevaron a cabo utilizando un espectrofotómetro 1200 RS Spectrophotometer, en el cual se midió la transmitancia de distintas dispersiones de nano/micromateriales y moléculas sintetizadas. Se estudió su variación en relación al cambio de temperaturas, pH y concentración. El blanco fue tomado con agua bidestilada o el solvente en el cual se dispersó el material a medir. El volumen sobre el cual se midió la turbidez fue de 3 mL, contenidos en tubos de ensayo de plástico.

Para estudiar el efecto de la variación de temperatura se siguió a partir de calentamientos en baños de agua, irradiación con microondas o luz infrarroja cercana. El pH en los experimentos se controló con un pHmetro Denver Ultrabasic, el cual consta de un electrodo Ag/AgCl, ajustando la concentración de protones a partir del agregado de un volumen mínimo (gotas) de soluciones de NaOH 0,1 M y HCl 0,1 M.

III.2.4 Técnicas termoanalíticas

III.2.4.1 Análisis Termogravimétrico (TGA)

Las medidas de termogravimetría se realizaron en un equipo TG 209 F1 Libra (Netzsch), el cual posee una resolución de 0,1 μg y trabaja en un intervalo de velocidades de calentamiento y enfriamiento comprendido entre 0,001 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ y 200 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$. La temperatura inicial del experimento fue de 50 $^{\circ}\text{C}$ y se trabajó a una velocidad de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ hasta alcanzar los 600 $^{\circ}\text{C}$. Para cuantificar la masa del material de partida en cada análisis se utilizó la balanza de cuarzo, la cual se encuentra incorporada al equipo.

III.2.4.2 Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

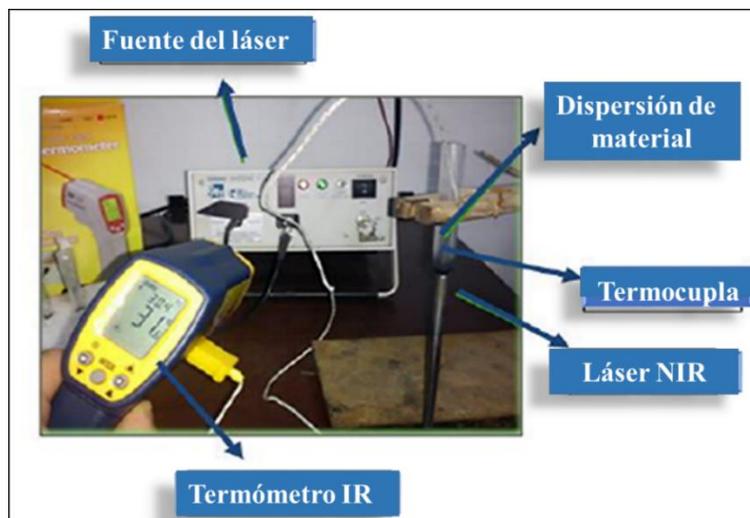
Esta técnica termoanalítica fue llevada a cabo en un equipo TA Instruments DSC 2010 (Netzsch), utilizando un flujo de nitrógeno gaseoso (0,1 Bar/min). Las muestras se colocaron en crisoles de aluminio y como referencia se usó el crisol sin contener la muestra. Se pesaron previamente las muestras en una balanza Ohaus Pioneer para poder luego cuantificar el flujo de calor. El barrido se realizó desde una temperatura de -50 $^{\circ}\text{C}$, a la cual es posible arribar utilizando nitrógeno líquido, llegando hasta 60 $^{\circ}\text{C}$ con una velocidad de calentamiento de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

III.2.5 Fuentes de irradiación

III.2.5.1 Radiación Infrarroja Cercana (NIR)

Para estos experimentos se montó un sistema como el que se ilustra en el **Esquema 28** con el objetivo de irradiar las muestras de dispersiones acuosas de nanomateriales basados en polímeros conductores. La radiación infrarroja se aplicó desde un láser de 100 mW de potencia y una longitud de onda de emisión de 780 nm. Para el control y lectura de las temperaturas se utilizó un termómetro infrarrojo marca TES-1327K con una termocupla acoplada y se colocó en contacto con las dispersiones. En general, el

efecto fototérmico por irradiación con luz NIR se cuantificó durante un tiempo entre 10 y 15 minutos. Una cámara de captura de imágenes Fluke Ti10 IR-Fusion Technology por infrarrojo fue utilizada para monitorear los cambios de temperatura, realizando luego la digitalización de las imágenes en el software SmartView®.



Esquema 28. Equipamiento utilizado para la irradiación de materiales con luz NIR.

III.2.5.2 Radiofrecuencias

Las radiofrecuencias corresponden a una porción del espectro electromagnético considerada radiación no ionizante y emite a longitudes de onda mayores (menor energía) que el infrarrojo. Para exponer los materiales a radiofrecuencias se utilizó un dispositivo para sellado por inducción YNB Xiamen, el cual trabaja a 30 kHz de frecuencia y 1200 W de potencia como máximo, pudiendo regularse la misma en 5 niveles diferentes. Dicha frecuencia se encuentra dentro de las permitidas para utilizarse en aplicaciones biomédicas.²⁷⁹ En el caso de sólidos como los hidrogeles semi-IPN y nanocompuestos en matrices termosensibles, los materiales fueron colocados en placas de Petri de vidrio y se irradiaron a diferentes potencias (1200 mW y menores) en pulsos de 5,9 segundos de duración. En otros casos, como las micropartículas o nanomateriales dispersos en agua, se irradiaron las muestras contenidas en un tubo de ensayos. Los coloidosomas fueron evaluados por irradiación sobre depósitos en superficies de vidrio. La temperatura se registró mediante el uso de un termómetro infrarrojo TES-1327K. En la **Figura 10** se muestra una fotografía del dispositivo utilizado para irradiar radiofrecuencias. La cámara

de captura de imágenes Fluke Ti10 IR-Fusion Technology por infrarrojo fue también utilizada para monitorear los cambios de temperatura.



Figura 10. Dispositivo utilizado para irradiar radiofrecuencias.

III.2.5.3 Microondas

Se utilizó un aparato microondas marca Tyrell como fuente de radiación. Los experimentos se llevaron a cabo a una potencia de 700 Watts. Las dispersiones acuosas de micropartículas y nanopartículas a irradiar se colocaron dentro del horno microondas, sumergiendo el tubo que la contenía en un baño de hielo-agua. Se midió el incremento de temperatura con un termómetro infrarrojo TES-1327K a intervalos regulares de tiempo.

III.2.6 Otras técnicas para determinar propiedades fisicoquímicas de los materiales

III.2.6.1 Estudios de hinchamiento

Para poder realizar las mediciones referidas a capacidad de hinchamiento de los hidrogeles, redes semi-IPN y diferentes materiales nanocompuestos se utilizaron pastillas secadas en estufa a 45 °C durante 48 horas haciendo vacío. Las piezas secas fueron pesadas utilizando una balanza analítica Ohaus Pioneer y tras ello se las colocó en el solvente adecuado a temperatura ambiente para que se produzca el hinchamiento. Se utilizaron distintos solventes, según el material al cual se le midió la cinética de hinchamiento. Se comenzó a medir el tiempo a partir del momento en que cada pieza seca se colocó en el solvente. A intervalos regulares, se extrajeron las piezas, se las secó superficialmente con

papel de filtro, se cuantificó la masa y se volvieron a colocar en el solvente correspondiente. De esta manera pudo calcularse el porcentaje de hinchamiento (% Hinch.) en función del tiempo, teniendo en cuenta la **Ecuación 1**.

$$\% \text{ Hinch.} = \frac{(W_t - W_0)}{W_0} \times 100 \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde W_t representa la masa del material en un tiempo t y W_0 la masa del material seco.

Se repitió este proceso hasta que no existió variación de la masa del material en el tiempo, lo cual indica que el mismo ha alcanzado el estado de equilibrio (% Hinch. eq.), según la **Ecuación 2**.

$$\% \text{ Hinch. eq.} = \frac{(W_{eq} - W_0)}{W_0} \times 100 \quad \text{Ecuación 2}$$

III.2.6.2 Medidas de Coeficiente de Partición (C_p)

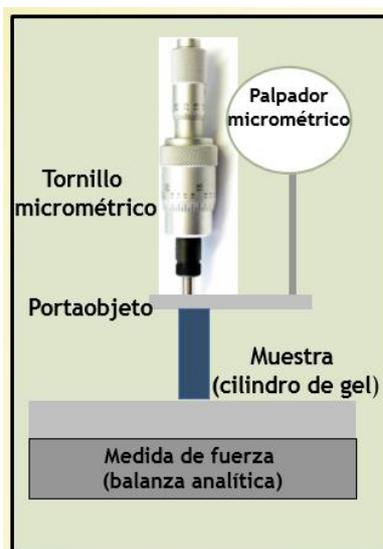
La retención de un compuesto dentro de un hidrogel puede ser cuantificada por cambios en la coloración del mismo mediante la técnica de espectroscopia UV-Visible, tras un seguimiento de la banda correspondiente a la absorción del compuesto. Este método permite conocer cómo se distribuye el compuesto entre el hidrogel y la solución (reparto) hasta llegar a una condición de equilibrio.²⁸⁰ Así, se puede determinar el coeficiente de partición (C_p) de una molécula o partícula y puede ser calculado a partir de la **Ecuación 3**.

$$C_p = \frac{\text{moles de droga}/1000 \text{ g hidrogel}}{\text{moles de droga}/1000 \text{ g solución}} \quad \text{Ecuación 3}$$

Experimentalmente, una pieza de hidrogel totalmente seco fue pesada en una balanza analítica y luego se la colocó en contacto con un volumen conocido de la solución que contiene el compuesto a absorber en una concentración conocida. Sabiendo la longitud de onda de absorción de este compuesto, la absorbancia de la solución se mide utilizando el espectrofotómetro UV-Visible, antes y después de llegar al equilibrio. También se debe cuantificar la masa del hidrogel antes y después de llegar al equilibrio. Finalmente, la cantidad de moles que son absorbidos por el gel puede ser determinada por diferencia.

III.2.6.3 Módulo de Elasticidad

El módulo de elasticidad de un objeto es definido como la pendiente inicial de la curva tensión *versus* deformación en la región de deformación elástica.²⁷⁵ El estrés (σ) puede calcularse como el cociente entre la fuerza de restauración (F) debida a la deformación aplicada y el área de sección transversal original del material (A) a la cual se le aplica la fuerza. La relación entre la variación longitudinal del objeto (ΔL) y la longitud original (L_0) resulta en la deformación del material. Cuando dicha variación de longitud es lo suficientemente pequeña se cumple la Ley de Hooke, siendo de esta forma el estrés proporcional a la deformación. Esta proporcionalidad posee un valor constante y es lo que se conoce como el módulo de Young.²⁸¹ Experimentalmente, se llevaron a cabo medidas de compresión uniaxial de hidrogeles (en su estado máximo de hinchamiento) en forma cilíndrica a una temperatura de 25 °C. La fuerza sobre el cilindro fue aplicada verticalmente utilizando un actuador de tipo micrométrico en cuya terminación estaba provisto de una placa de vidrio de morfología rectangular.²⁸² El dispositivo utilizado para determinar el módulo de elasticidad se muestra en el **Esquema 29**.



Esquema 29. Representación del instrumento utilizado en la medición de módulo de elasticidad.

El material se colocó sobre una balanza analítica Ohaus Pioneer (sensibilidad = 0,1 mg), la cual permite registrar las variaciones de masa y utilizando el valor de la aceleración de gravedad (g) se puede transformar en una fuerza aplicada. La variación de longitud del objeto (o deformación) fue determinada a intervalos regulares de tiempo (30 segundos después de la relajación) mediante un sensor palpador micrométrico.

Utilizando la **Ecuación 4**, puede calcularse la fuerza que actúa sobre el material, leyendo la masa (m) en la balanza analítica y realizando el producto por la fuerza de gravedad ($g = 9,8 \text{ m/s}^2$):

$$F = m \times g \quad \text{Ecuación 4}$$

La presión aplicada, teniendo en cuenta el área de la base del cilindro de hidrogel, puede ser determinada según la **Ecuación 5**.

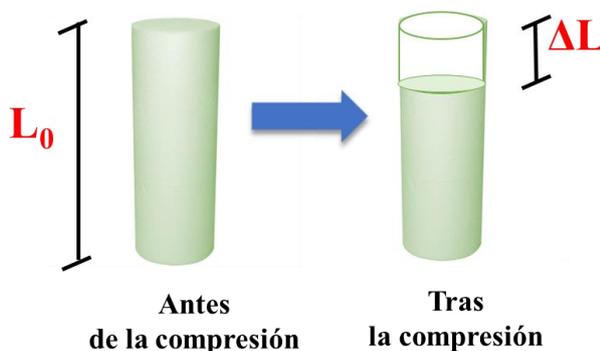
$$\sigma = \frac{F}{A} \quad \text{Ecuación 5}$$

Siendo, F: la fuerza que actúa sobre el material; y A: el área de la base del hidrogel.

Luego, es posible definir la deformación relativa como la relación relativa entre la variación en la longitud del objeto durante la compresión y la longitud inicial del objeto (**Ecuación 6**).

$$\varepsilon = \frac{(L(t) - L_0)}{L_0} \quad \text{Ecuación 6}$$

Siendo, L: la diferencia entre la longitud inicial del gel (L_0) y la longitud a distintas etapas de compresión ($L(t)$), tal como se puede observar en el **Esquema 30**.



Esquema 30. Cambio longitudinal en piezas cilíndricas de material expuestas a compresión.

Finalmente, se representó gráficamente σ vs ε , de cuya pendiente inicial se calculó el módulo de elasticidad. Cada medición fue repetida 5 veces y luego se obtuvo un valor promedio.

III.2.6.4 Cambios de resistencia eléctrica durante la compresión

Estos experimentos fueron llevados a cabo utilizando los materiales compuestos (polímero conductor semi-IPN en una matriz de gel termosensible) en el estado de equilibrio de hinchamiento, a temperatura y pH controlado (25 °C, pH 2). Para que pudiera transmitirse la corriente eléctrica, al cilindro de hidrogel debió colocársele en sus extremos dos placas de aluminio que funcionaron como electrodos y fueron conectados a un multímetro digital HP 34401-A. Este sistema permitió medir el valor de la resistencia eléctrica a diferentes compresiones, asumiendo el cumplimiento de la Ley de Ohm (**Ecuación 7**). La compresión fue incrementándose hasta que el gel se deformó aproximadamente un 10%; de esta manera, la fuerza y la resistencia fueron registradas tras 30 segundos de relajación.

$$I = \frac{V}{R} \quad \text{Ecuación 7}$$

Siendo, I: corriente, R: resistencia eléctrica y V: variación de potencial.

III.2.6.5 Ángulo de contacto

Para medir el ángulo de contacto entre una gota de agua y la superficie de las películas se utilizó un microscopio óptico Intel QX3 controlado por computadora. Se colocó una pieza de polímero plana en una mesa basculante controlada manualmente, iluminando el área de la gota con una fuente de luz blanca y colocando el microscopio en dirección horizontal a la gota. Se depositaron gotas de agua de 3 μL sobre la superficie y se las observó con un objetivo 60X. Todos los datos obtenidos fueron el promedio de cinco mediciones individuales. Las imágenes se analizaron utilizando Drop Analysis del software ImageJ®.²⁸³

III.2.6.6 Mediciones de cambio de resistencia por exposición a sustancias volátiles

Las medidas de resistencia se realizaron dentro de una cabina termostática (ET619- 4, Lovibond) a 25 °C. Se utilizó un electrodo interdigitado (provisto por la Universidad Tomas Bata, República Checa) de dimensiones 0,9 cm x 1,5 cm para medir el cambio de resistencia de un depósito de película delgada y nanofibras conectando al electrodo de pequeño “gap” (400 μm de ancho), el cual se muestra en la **Figura 11**. En el caso de películas delgadas, se presionaron dos contactos hechos de placa de resina enchapada en

cobre sobre las películas soportadas. La resistencia eléctrica se midió en función del tiempo con un multímetro de corriente continua durante los ciclos de adsorción y desorción. En todos los casos, el soporte con la muestra se transfirió rápidamente a un matraz Erlenmeyer herméticamente cerrado (0,5 L) saturado con vapores del analito respectivo (alcoholes de bajo peso molecular y heptano). En una primera instancia, las mediciones se realizaron en vapores saturados a presión atmosférica y temperatura de 25 °C. Después de 6 minutos de medición, el soporte se retiró del recipiente y durante los siguientes 6 minutos la muestra se midió en el modo de desorción (se eligió ácido sulfúrico como blanco para la comparación de la respuesta). Estos ciclos se repitieron cinco veces en cada analito de forma independiente. El sensor se conectó a un multímetro y una PC donde funcionaba el programa de interfaz UNI-T 3.0. Debido a que la resistencia de la PANI cambia al exponerse a compuestos orgánicos volátiles, dependiendo de los valores de humedad relativa (HR), se debió controlar la misma.

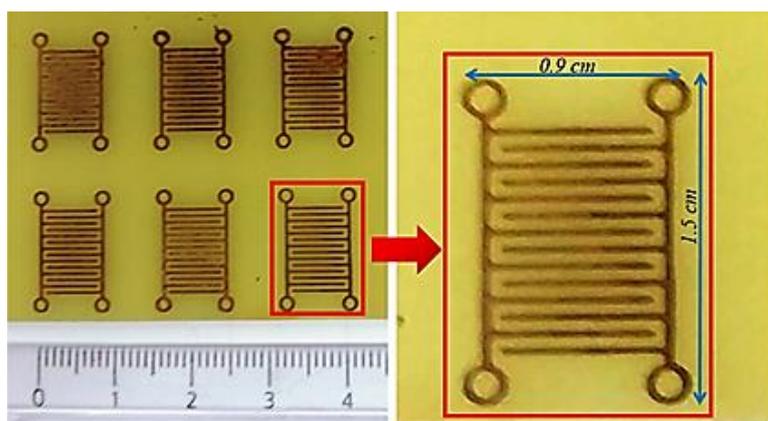


Figura 11. Fotografía de sensores interdigitados utilizados en medidas de cambio de resistividad.

III.2.6.7 Ensayos de solubilidad

Con el objetivo de corroborar si la molécula dibloque sintetizada era soluble o no en diversos solventes se diseñó un ensayo simple y rápido para evaluar este aspecto. Se colocaron 2 mL de cada solvente en tubos de ensayo y luego se agregaron 500 μ L de una solución del compuesto a ensayar. Se clasificó en insoluble, poco soluble o soluble en cada uno de los solventes tras observar aspectos como la segregación de fases, la aparición de turbidez o precipitados, etc., comparando desde un primer momento (tras colocarlos en contacto) y a las 24 horas posteriores.

III.2.7 Ensayos biológicos

III.2.7.1 Viabilidad celular de los materiales sintetizados

Para evaluar aspectos como la toxicidad de los materiales y la variación en la viabilidad celular se utilizaron diferentes tipos de líneas celulares:

- Línea SHSY5Y, correspondiente a células de neuroblastoma humano.
- Línea 3T3-L1, conformada por fibroblastos fetales murinos, exhibiendo las mismas características morfológicas y bioquímicas del tejido adiposo que les dio origen.²⁸⁴

Los ensayos realizados involucraron tres técnicas: MTS, MTT y tinción con cristal violeta. En la **Figura 12** se muestran las estructuras químicas de las sales de tetrazolio utilizadas y del colorante cristal violeta.

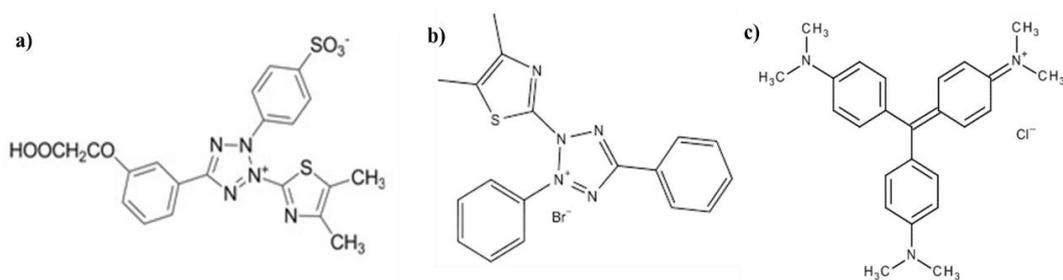


Figura 12. Estructuras químicas de los compuestos utilizados en la determinación de viabilidad celular y citotoxicidad: a) (3-[4,5,dimetiltiazol-2-il]-5-[3-carboxi metoxi-fenil]-2-[4-sulfofenil]-2H-tetrazolio); b) (3(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-bromuro de difeniltetrazolio y c) cristal violeta.

III.2.7.1.1 Ensayo de MTS

El experimento denominado MTS se utilizó como ensayo de toxicidad *in vitro*. El método se basa en la medición de la función metabólica de las células haciendo uso de una sal de tetrazolio: bromuro de (3-[4,5,dimetiltiazol-2-il]-5-[3-carboximetoxi-fenil]-2-[4-sulfofenil]-2H-tetrazolio). Este compuesto es biorreducido a formazan por parte de las enzimas deshidrogenasa presentes en las células que son metabólicamente activas. El formazan es soluble y posee una intensa coloración en el medio de cultivo. El estudio se llevó a cabo poniendo en contacto las células con el nanomaterial en cuestión, lavando luego con solución tampón y colocando en contacto con la sal de tetrazolio. La cuantificación se realizó por mediciones de absorbancia (proporcional al número de células

vivas) a una longitud de onda de 490 nm. La absorbancia basal fue cuantificada midiendo las células no fueron tratadas. La citotoxicidad se evaluó a dos tiempos: 24 y 48 horas de exposición.

III.2.7.1.2 Ensayo de MTT

El ensayo colorimétrico MTT se basa en la habilidad de las enzimas oxidoreductasas NAD(P)H dependientes de las células viables de convertir una sal soluble de tetrazolio (3(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-bromuro de difeniltetrazolio - MTT) en un precipitado insoluble de formazan.²⁸⁵ Los cristales púrpuras de formazan se disolvieron en etanol para luego medirse en base a su absorbancia por ELISA. Las células con un metabolismo bajo reducen muy poco en el ensayo de MTT. En contraste, las células que se dividen rápidamente exhiben altas tasas de reducción en el ensayo de MTT.

III.2.7.1.3 Ensayo de cristal violeta

Para la realización del ensayo de tinción con cristal violeta, las células fueron sembradas en placas de cultivos de múltiples pocillos hasta alcanzar la confluencia. Luego se expusieron a las distintas concentraciones del material al que se deseaba estudiar la toxicidad durante 24 horas. Tras ello, las células fueron lavadas con PBS y se colocaron en contacto con una solución de cristal violeta al 0,2 % p/v en etanol durante un tiempo de 30 minutos. Se lavó para eliminar el colorante en exceso y se agregó SDS (1 % p/v). Las células fueron recogidas en tubos Eppendorf, se centrifugaron a 7000 G durante 5 minutos, recogiendo el sobrenadante y midiendo la absorbancia a la longitud de onda correspondiente a 560 nm. Las células no viables no son capaz de incorporar el colorante en sus membranas, por lo tanto el componente o material más tóxico es determinado como el que menos intensidad de color (absorbancia) posee.²⁸⁶

III.2.7.2 Morfología y densidad celular

Este estudio se realizó colocando finas superficies de hidrogeles y redes semi-IPN en contacto con células de la línea celular T3T-L1 durante 48 horas. Luego se observó en microscopio óptico Nikon modelo Ti-S 100 la morfología y densidad de las células comparadas respecto al control. También se evaluaron mediante esta técnica diferentes concentraciones de nanogeles PNIPAM-co-2%AMPS.

III.2.7.3 Toxicidad y teratogenicidad

III.2.7.3.1 Modelo animal *Rhinella arenarum*

Se trabajó con la especie *Rhinella arenarum*, anteriormente conocida como *Bufo arenarum*. La misma es una especie de anfibio anuro ampliamente distribuida en Argentina, Uruguay, Bolivia y el sur de Brasil.²⁸⁷ Los anuros adultos utilizados en estos estudios se mantuvieron en acuarios con agua de grifo a 20 ± 2 °C, con ciclos alternados de 12 horas de luz-oscuridad. Fueron alimentados con un homogeneizado de hígado bovino respetando una frecuencia de tres veces por semana.

Los embriones y los renacuajos *Rhinella arenarum* se obtuvieron de huevos fertilizados *in vitro* utilizando el método descrito por Casco *et al.*²⁸⁸ Con este fin, las hembras adultas y machos con un peso aproximado de 200-250 g fueron recogidas en Río Cuarto (Córdoba, Argentina). La ovulación de las hembras se indujo por inyección intraperitoneal de una suspensión que contenía una hipófisis homóloga femenina²⁸⁹ y 300 UI de gonadotrofina coriónica humana (Endocorion5000, ELEA)²⁹⁰ en 8 mL de solución al 10 % de Ringer (RS). La composición de solución de Ringer a un pH 7,5 es descrita en la **Tabla 5**.

Tabla 5. Composición de solución de Ringer (pH 7,5).

Componente	Cantidad
Cloruro de sodio (NaCl)	0,66 g
Cloruro de potasio (KCl)	0,015 g
Cloruro de calcio (CaCl ₂)	0,015 g
Bicarbonato de sodio (NaHCO ₃)	0,03 g
Agua destilada	100 mL

El procedimiento descrito fue realizado con el fin de optimizar la ovulación de la hembra. Se recogieron los ovocitos y se hidrataron en RS. Posterior a ello, los ovocitos fueron fecundados *in vitro* con una suspensión de esperma realizada mediante el picado de testículos en 10 % de RS. Tras la fecundación, los embriones obtenidos se mantuvieron en RS a 20 ± 2 °C hasta que llegaron a la etapa de desarrollo adecuado para realizar la prueba teratogénica (etapas embrionarias S.2-S.4) o la prueba de toxicidad (fase larvaria S.25). Los embriones en desarrollo se organizaron de acuerdo con el procedimiento descrito por De

Conte y Sirlin.²⁹¹ Luego se realizaron los distintos ensayos con NP PANI sintetizadas por polimerización oxidativa (estabilizadas con PVP en un caso y con PVP-PNIPAM en idénticas proporciones en el otro).

III.2.7.3.2 Ensayo de toxicidad aguda

Los bioensayos se realizaron con las larvas *R. arenarum* siguiendo las condiciones de ensayo AMPHITOX.²⁹² Las dispersiones de NP PANI fueron diluidas en buffer PBS 1X y RS para alcanzar las concentraciones finales que se utilizaron con las larvas. Diez larvas con opérculos cerrados -lo cual corresponde a la última etapa del desarrollo embrionario (S.25)- se colocaron por triplicado en placas de Petri de vidrio de 10 cm de diámetro que contenían 15 mL de dispersiones de las nanopartículas. En este ensayo de toxicidad aguda, las larvas en desarrollo de S.25 se colocaron en contacto con diferentes concentraciones de NP PANI o soluciones de control durante 96 horas, comprobando la mortalidad de los renacuajos cada 24 horas. Las larvas que no presentaron una reacción hacia el punzado suave fueron contabilizadas como individuos muertos. Las soluciones fueron reemplazadas una vez al día y las larvas muertas se eliminaron para evitar la alteración de las soluciones analizadas. Los experimentos con larvas (S.25) se llevaron a cabo por cuadruplicado en forma independiente.

III.2.7.3.3 Ensayo teratogénico de embriones en etapas blastoméricas 2-4 (S.2-S.4)

Para los ensayos en etapas tempranas se utilizaron embriones en etapas blastoméricas 2-4 (S.2-S.4). Los embriones se colocaron por triplicado en placas de Petri de 6 cm de diámetro que contenían 10 mL de dispersiones de cada tipo de nanopartícula durante 96 horas. Las soluciones de control fueron las mismas que se utilizaron en el experimento de toxicidad aguda (solución de Ringer, PBS, 2% de PVP y 1% PVP-1% PNIPAM). Los embriones se mantuvieron a 20 ± 2 °C y las soluciones se renovaron una vez al día. Los individuos muertos se retiraron de las soluciones de ensayo para evitar alteraciones de calidad. La supervivencia y los efectos subletales se evaluaron cada 24 horas. Los principales criterios de valoración incluyeron la mortalidad, malformaciones y la inhibición del crecimiento. Para evaluar las anomalías se realizaron observaciones de los embriones utilizando un microscopio óptico digital Motic DM39. La supervivencia en estas etapas embrionarias se evaluó cada día y los embriones muertos fueron retirados. Los experimentos con embriones (S.2-S.4) se realizaron de forma independiente cuatro veces.

III.2.7.4 Terapia fototérmica antibacteriana

III.2.7.4.1 Bacterias utilizadas

Las células de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15692 (cepa PAO1) se mantuvieron a la temperatura de -80 °C en solución de glicerol. Luego, se cultivaron a 37 °C en una atmósfera anaeróbica y se transfirieron a placas LB (caldo Luria-Bertani). En la **Tabla 6** se describe la composición de dicho caldo. Los cultivos crecieron durante la noche en medio nutriente LB y se cosecharon en la fase de crecimiento exponencial. Las células se resuspendieron finalmente en solución salina estéril (NaCl al 0,9 %).

Tabla 6. Composición del medio de cultivo Lauria-Bertani a pH 7,2.

Componente	Cantidad
Cloruro de sodio (NaCl)	5,00 g/L
Extracto de levadura	5,00 g/L
Peptona de caseína	10,00 g/L

III.2.7.4.2 Estudio fototérmico

Se evaluó la capacidad fototérmica de NP PANI en contacto con *Pseudomonas aeruginosa*. Las bacterias se incubaron con diluciones de las nanopartículas (a diferentes concentraciones) y luego se irradiaron durante un tiempo de 15 minutos con un láser NIR (780 nm, 100 mW). Después del tratamiento, se observó el daño en las bacterias por microscopía y se realizaron ensayos de viabilidad celular.

El experimento de control células vivas/muertas de bacterias se midió usando un kit de viabilidad bacteriana Live/ Dead® Baclight™ (Life Technologies, Carlsbad, CA, EE.UU.) de acuerdo con las especificaciones del proveedor. Las bacterias se tiñeron para observar fluorescencia y confirmar la viabilidad después de los tratamientos de exposición. La viabilidad se ensayó para la bacteria mencionada y se comparó con el control (bacterias sin exposición a las nanopartículas ni irradiación), control con luz (bacterias irradiadas sin exposición a las nanopartículas) y con las bacterias expuestas a las NP PANI sin irradiar con el láser NIR. En el tratamiento, la concentración de bacterias fue de 10⁴ UFC/mL. Posteriormente, se retiró el medio de cultivo y se lavaron las muestras con solución salina



fisiológica. Finalmente, las células se tiñeron durante 15 minutos en la oscuridad y se observaron mediante la técnica de microscopia de fluorescencia.



CAPÍTULO IV
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

◆—————◆



IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV.1 NIVEL MACROSCÓPICO

IV.1.1 Películas de PANI

Las películas de PANI fueron obtenidas por polimerización oxidativa a partir de anilina sobre sustrato de polietileno, tal como fue detallado en la sección experimental. En la **Figura 13** puede observarse la fotografía de una película de PANI tras su generación. Una vez lavadas con agua y secas, se procedió a realizar las modificaciones químicas sobre las superficies por medio de dos vías diferentes utilizando reacciones de química orgánica.



Figura 13. Fotografía de una película de PANI obtenida sobre sustrato de polietileno.

IV.1.1.1 Modificaciones químicas de PANI post-síntesis

Las reacciones escogidas para llevar a cabo el proceso de funcionalización fueron: adición nucleofílica y sustitución electrofílica aromática.

Con este fin se utilizaron como reactivos los siguientes nucleófilos: ácido tioglicólico (TIO), cisteamina (CIA), 2-aminotiofenol (ATF) y dodecanotiol (DOT), los cuales son capaces de unirse a la PANI a través de los enlaces tiol. En la **Figura 14** se muestran las estructuras de los nucleófilos en cuestión. Se utilizaron soluciones 0,025 M de los nucleófilos en etanol, calentando a reflujo durante 4 horas a 70 °C.

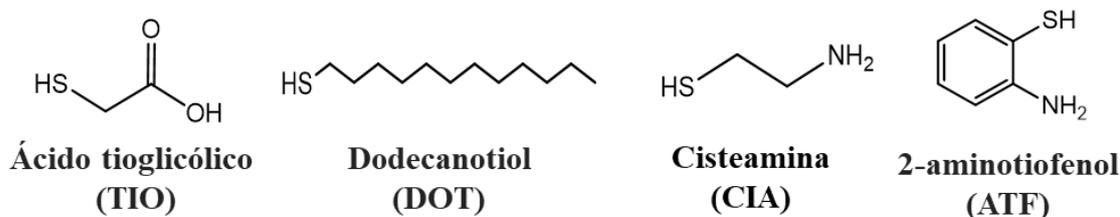
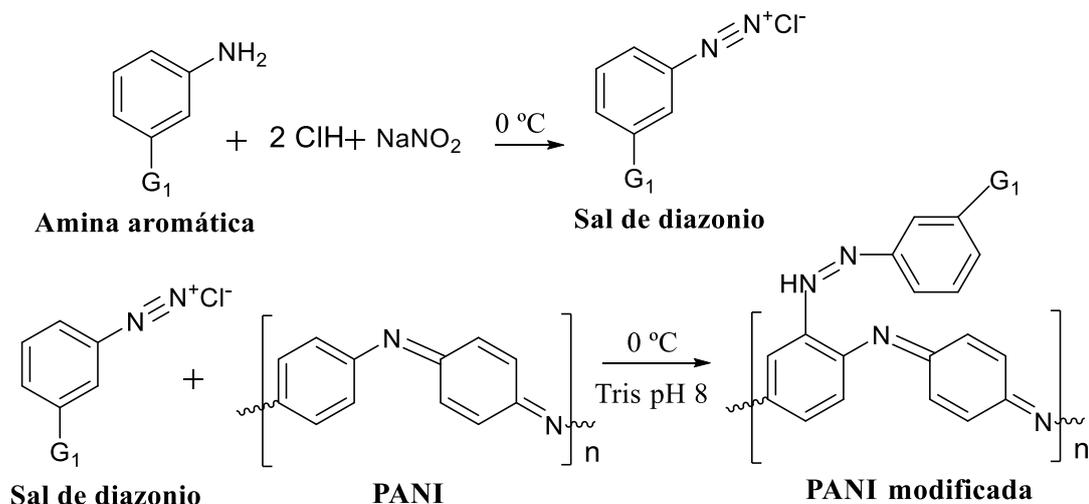


Figura 14. Estructura de los reactivos utilizados para llevar a cabo la adición nucleofílica a la PANI.

Por otro lado, se llevó a cabo la reacción de sustitución electrofílica aromática al anillo de la PANI mediante reacción de formación de la sal de diazonio. Para generar la sal, se partió del reactivo 2-cloro-anilina (2-Cl-ANI) y nitrito de sodio, los cuales fueron mezclados en ácido clorhídrico en una relación molar 2:1 a 0 °C durante el tiempo de 30 minutos. Luego, los compuestos diazotados se hicieron reaccionar con las películas en una solución tampón tris (hidroximetil) aminometano/HCl a pH 8 y temperatura de 0 °C durante 15 minutos, obteniendo de esta forma como producto final los materiales funcionalizados. En el **Esquema 31** se resume el proceso de reacción descripto.



Esquema 31. Diagrama de la reacción para modificación de PANI por sustitución electrofílica aromática.

IV.1.1.2 Caracterización de las películas

Para caracterizar los materiales luego de haber sido modificados se hizo uso de microscopía electrónica de barrido acoplado EDS (Espectrometría de Dispersión de Energía de Rayos X) y adicionalmente se utilizó la técnica de ángulo de contacto.

En la **Figura 15** se muestran las imágenes obtenidas por microscopía SEM para el material sin modificar (PANI) y se lo compara con las otras cinco películas modificadas.

Al analizar las mismas, puede observarse que a diferencia de la PANI (a), cuando se llevaron a cabo las reacciones (tanto de sustitución electrofílica aromática como de adición nucleofílica), aparecen cambios en lo que respecta a la morfología del material, siendo esto muy notorio especialmente en el caso de los depósitos en PANI-ATF, PANI-CIA y PANI-2-Cl-ANI (d, e y f, respectivamente).

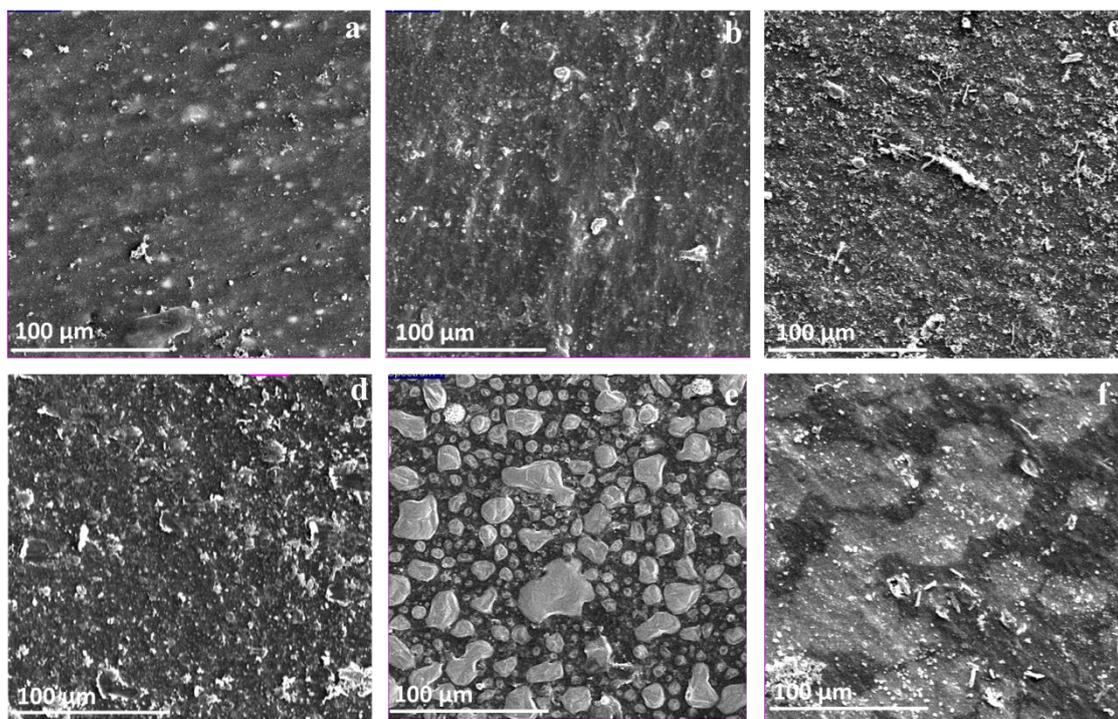


Figura 15. Imágenes correspondientes a la microscopía electrónica de barrido de las diferentes películas: a) PANI, b) PANI-TIO, c) PANI-DOT, d) PANI-ATF, e) PANI-CIA y f) PANI-2-Cl-ANI. Barra de escala: 100 μm .

La técnica EDS se utilizó en forma complementaria al análisis por microscopía electrónica de barrido para confirmar la modificación química de las superficies. Los resultados del estudio se muestran en la **Tabla 7**.

Tabla 7. Elementos distintivos detectados por EDS y sus correspondientes proporciones en las diferentes películas de PANI modificadas.

Material	Característica distintiva
PANI-TIO	4,35 % S
PANI-ATF	30,00 % S
PANI-CIA	1,71 % S
PANI-2-Cl-ANI	4,50 % Cl

De la **Tabla 7** se obtiene información que confirma la eficiencia en la modificación de las películas de PANI. Debe aclararse que previo a las reacciones de modificación, las películas delgadas de PANI muestran principalmente presencia de C (62,00 %) y N (26,00 %). Además, se observó contenido de S en baja proporción (0,28 %), probablemente proveniente del persulfato de amonio utilizado en la polimerización. Después del proceso de modificación con grupos tioles, aumenta la cantidad de azufre en las películas de PANI-TIO, PANI-ATF y PANI-CIA. Los resultados obtenidos indican que la modificación con estos compuestos depende probablemente de la reactividad de las moléculas incorporadas. En la película de polímero conductor modificado mediante la reacción por formación de sal de diazonio (PANI-2-Cl-ANI) se puede observar un claro incremento del contenido de cloro (4,50 %). Como puede deducirse, el análisis de EDS sugiere que la PANI se modificó en diferentes proporciones dependiendo de la reactividad de la molécula con la que se atacó y del tipo de reacción llevada a cabo.

Además, las modificaciones superficiales se confirmaron mediante la técnica de ángulo de contacto con agua y capturando imágenes de las gotas sobre las películas, tal como se muestra en la **Figura 16**.

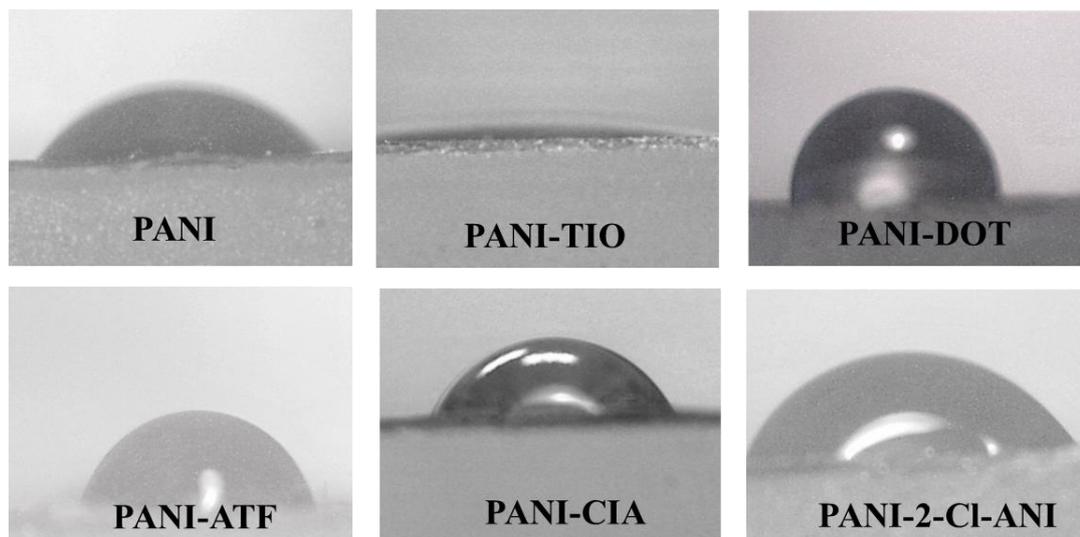


Figura 16. Imágenes correspondientes a la medición de ángulo de contacto entre agua y las distintas películas en base a PANI.

Una vez obtenidas las imágenes, utilizando el programa ImageJ® se procedió a cuantificar el ángulo de contacto entre la superficie de cada una de las películas y la gota de agua depositada sobre las mismas. En la **Tabla 8** se resumen los valores arrojados por este experimento.

Tabla 8. Valores de ángulo de contacto con agua cuantificados para las películas de PANI sin modificar y post-modificadas.

Material	Ángulo de contacto
PANI	$58,2 \pm 0,5^\circ$
PANI-TIO	$19,0 \pm 0,5^\circ$
PANI-DOT	$92,5 \pm 0,5^\circ$
PANI-ATF	$76,0 \pm 0,5^\circ$
PANI-CIA	$77,0 \pm 0,5^\circ$
PANI-2-CI-ANI	$61,0 \pm 0,5^\circ$

Analizando la tabla anterior se observa que el ángulo de contacto medido para la superficie de PANI sin modificar es $58,2^\circ$. Dicho valor concuerda con otros reportes sobre

el mismo material.²⁹³⁻²⁹⁵ Cuando la PANI es funcionalizada con ATF, CIA y 2-Cl-ANI, el valor del ángulo de contacto se incrementa. Esto puede deberse a que las cadenas alquílicas largas que se unen a la PANI provocan un aumento del ángulo de contacto con el agua. Evidentemente, las cadenas carbonadas y los anillos aromáticos influyen sobre las interacciones polares con el agua pero también la adición de grupos polares (PANI-CIA) con cadenas cortas genera una superficie más hidrófoba que la PANI.²⁴³ En el caso de la película PANI-TIO, el valor es menor que para la PANI sin modificación: el ángulo de contacto es cercano a 20,0 °; mostrando que la interacción con el agua es mayor que en otros polímeros debido a la presencia de grupos carboxílicos en la molécula de TIO.

Habiendo corroborado que los materiales presentan características distintivas entre ellos, se procedió a utilizarlos como sensores en cambios de resistividad frente a vapores de compuestos orgánicos volátiles. El comportamiento de las películas se comparó con el de nanofibras de polianilina, las cuales fueron modificadas utilizando las mismas reacciones que las descritas en esta sección. Estos resultados se muestran en el apartado correspondiente a **Aplicaciones** de este capítulo.

IV.1.2 Hidrogeles PNIPAM-co-2%AMPS y redes semi-IPNs

En esta sección se aborda la combinación de matrices termosensibles de PNIPAM-co-2%AMPS con PANI para formar redes semi-interpenetradas (semi-IPN). En bibliografía se han reportado algunos métodos para obtener materiales similares,^{220, 296} los cuales serán comparados en algunos aspectos con el método que se presenta en esta Tesis.

IV.1.2.1 Obtención de la red semi-IPN

En una primera instancia, se obtuvieron los hidrogeles termosensibles PNIPAM-co-2%AMPS para luego poder incorporar el polímero conductor, tal como se detalló en la sección experimental. En la **Figura 17** se representa la estructura química resultante en la matriz de hidrogel entrecruzada con BIS.

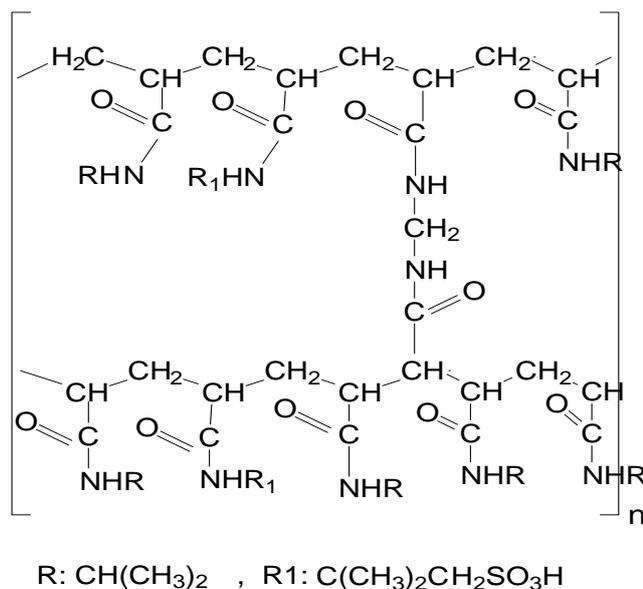


Figura 17. Estructura química de la matriz de hidrogel PNIPAM-co-2%AMPS entrecruzada con BIS.

Luego, se procedió a corroborar que la matriz de hidrogel termosensible es capaz de absorber PANI en su interior al producirse un proceso de hinchamiento (“*swelling*”). Para que esto ocurra fue necesario encontrar un buen solvente para la PANI que permita a la vez el hinchamiento del hidrogel. Se sabe que la N-metilpirrolidona (NMP) es capaz de interactuar con la PANI en su forma base mediante interacciones tipo puente hidrógeno, encontrándose de esta manera las cadenas del polímero conductor en forma expandida y formando una solución verdadera.²⁹⁷ Esta es una de las condiciones fisicoquímicas para que un polímero lineal pueda interpenetrar otra red polimérica. Entonces, resta saber si este solvente es capaz también de hinchar dicha red para facilitar el ingreso del polímero lineal.

IV.1.2.2 Estudios de hinchamiento en NMP y agua

Con la finalidad de poder estudiar detalladamente el comportamiento y la capacidad de hinchamiento de los hidrogeles termosensibles previo a la incorporación del polímero conductor, se escogieron dos solventes: agua y NMP.

En la **Figura 18** se muestra la cinética de hinchamiento de un hidrogel PNIPAM-co-2%AMPS en ambos solventes. Se observa claramente que transcurridos aproximadamente 500 minutos se establece un estado de equilibrio, pudiendo determinar así cuál es el porcentaje de hinchamiento en el equilibrio o máxima capacidad de hinchamiento del material. Estos porcentajes resultan ser aproximadamente 11200 % en agua y 9200 % en el caso del solvente orgánico. Si bien existe una diferencia apreciable

entre ambos valores, la cinética es similar en ambos solventes, con una tendencia semejante para ambos en la velocidad inicial (primeros 180 minutos de experimento) de incorporación del líquido a la matriz.

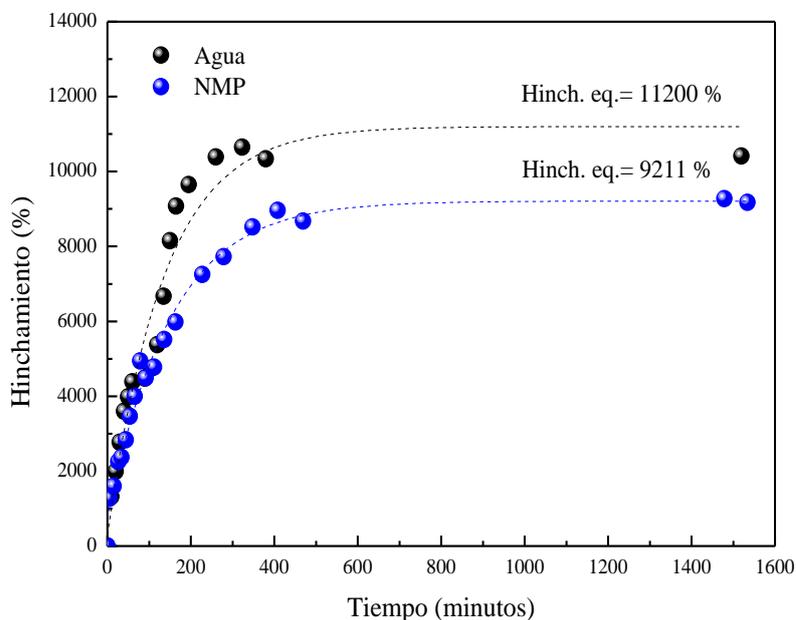


Figura 18. Cinética de hinchamiento para un hidrogel PNIPAM-co-2%AMPS en agua y su comparación con NMP.

Seguidamente, se realizó un estudio de las mismas características que el recientemente descrito pero en esta ocasión hinchando los hidrogeles en soluciones de PANI/NMP a diferentes concentraciones. Con esta finalidad se escogieron dos concentraciones: 0,4 g/L y 1 g/L. En la **Figura 19** se muestra el gráfico de porcentaje de hinchamiento en función del tiempo y se la compara con la curva para el hidrogel en NMP pura. Puede apreciarse que al aumentar la cantidad de PANI presente en la solución, decrece el valor de hinchamiento en el equilibrio para el hidrogel. Esto es probablemente debido a un cambio del módulo de elasticidad del material que resiste la fuerza impulsora del solvente en el proceso de hinchamiento. Sin embargo, la velocidad inicial a la que el material se hincha es similar, independientemente de la cantidad de PANI disuelta en la NMP.

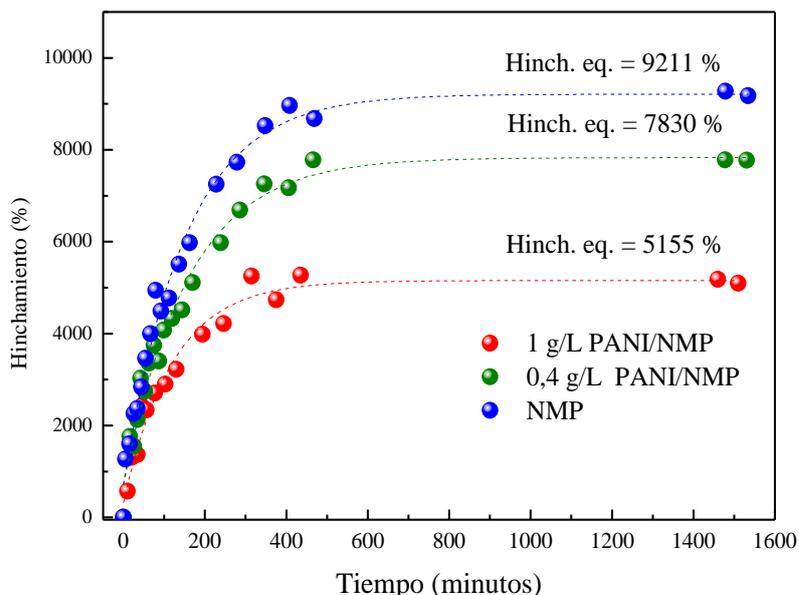


Figura 19. Cinética de hinchamiento de hidrogel PNIPAM-co-2%AMPS en NMP y soluciones de diferentes concentraciones de PANI en el mismo solvente.

En la **Figura 20** se comparan fotografías de un hidrogel PNIPAM-co-2%AMPS hinchado en agua y uno similar hinchado en una solución de PANI en NMP, a una concentración 0,4 g/L.

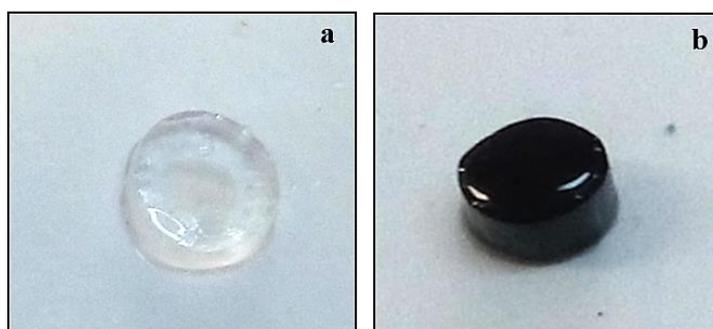


Figura 20. Fotografía de un hidrogel de PNIPAM-co-2%AMPS: a) hinchado en agua y b) hinchado en una solución PANI/NMP 0,4 g/L.

IV.1.2.3 Caracterización morfológica

Haciendo uso de la técnica de microscopía electrónica de barrido, se observaron muestras del hidrogel PNIPAM-co-2%AMPS al cual se le semi-interpenetró PANI. Las imágenes se muestran en la **Figura 21** y revelan que cuando se impregna la matriz termosensible por absorción del polímero lineal en NMP y se obtiene el sistema semi-IPN pueden distinguirse dos zonas definidas de diferente composición en la micrografía

electrónica. La mayor parte del área de la imagen está ocupada por el gel colapsado con una morfología muy diferente a la del otro material, el cual posee una morfología fibrilar que se entreteje dentro del primero. Debido a que estas fibras se encuentran en una menor proporción que el resto del material y presenta diferente conductividad (representada en la imagen por la opacidad-luminosidad de la micrografía) podría decirse que corresponde a la PANI. La morfología del nuevo material generado por la técnica descrita se diferencia de los nanocompuestos reportados en bibliografía para el gel de PNIPAM-co- 2%AMPS con PANI polimerizada *in situ*.²²⁰ Las imágenes SEM en dicho material indicaban que dentro de la matriz termosensible se obtenían dominios nanométricos irregulares aislados entre sí.

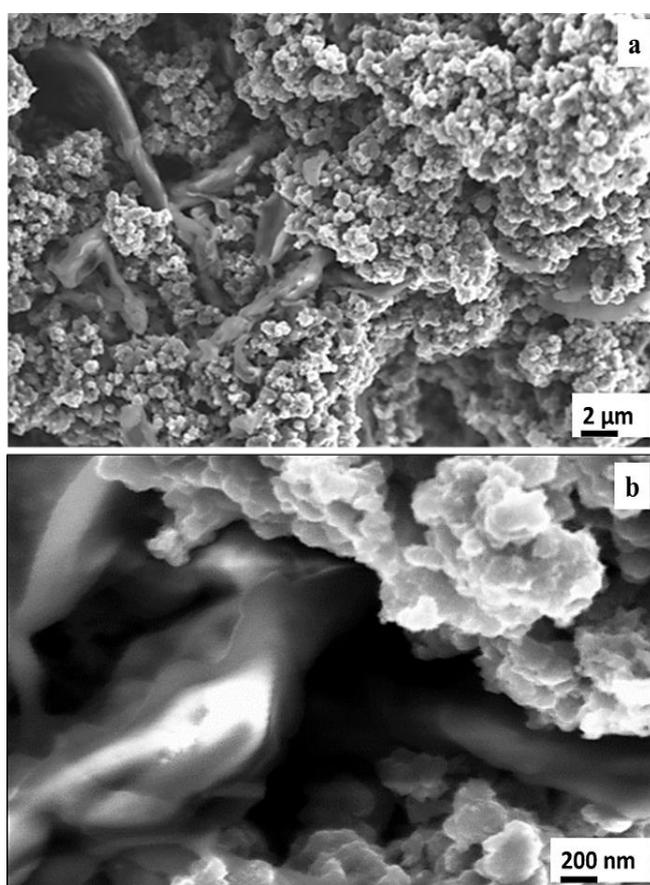


Figura 21. Imágenes SEM del material semi-IPN (método de impregnación por absorción del polímero a partir de una solución en NMP). Barras de escala: a) 2 μm , b) 200 nm.

IV.1.2.4 Coeficiente de partición de PANI entre NMP y la matriz termosensible

La cantidad de PANI presente en la solución PANI/NMP que se utiliza para impregnar la matriz de los hidrogeles y la proporción de polímero conductor que no se impregna en la red del polímero termosensible pueden ser determinadas

espectrofotométricamente. De este modo, es posible calcular los coeficientes de partición de la PANI entre NMP y el hidrogel.

En una primera instancia, fue necesario analizar el espectro de absorción UV-Visible de la solución de PANI/NMP con el objetivo de escoger una longitud de onda que sea útil a fines de determinar la concentración de PANI mediante la confección de una curva de calibración. Como puede observarse en la **Figura 22** el espectro es idéntico al que presenta la PANI a bajas concentraciones en agua. En el espectro se puede identificar una intensa banda de absorción a la longitud de onda igual a 328 nm. Este máximo es el que se escoge para cuantificar luego el ingreso de PANI al hidrogel.

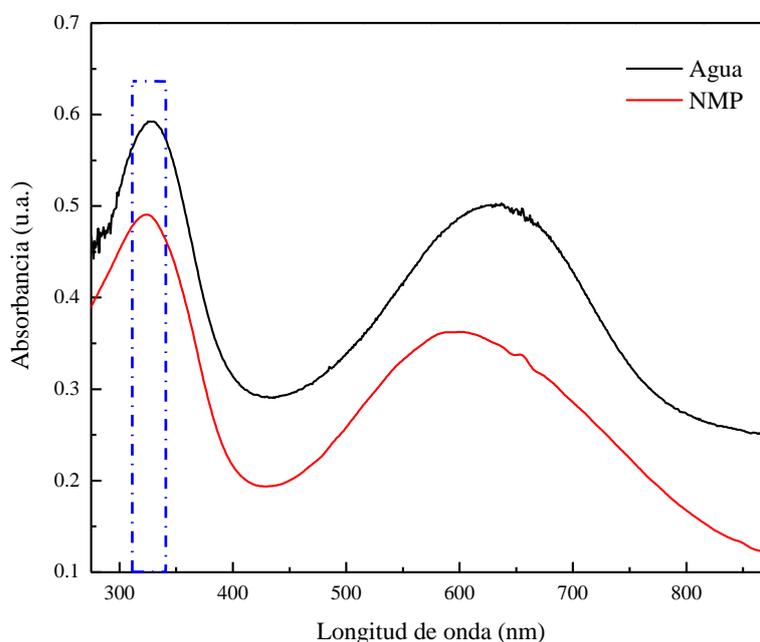


Figura 22. Comparación de los espectros UV-Visible de PANI disuelta en NMP y en agua (a baja concentración).

A partir de los valores de absorbancia a 328 nm, se construyó la curva de calibración para soluciones de diferente concentración de PANI/NMP (**Figura 23**).

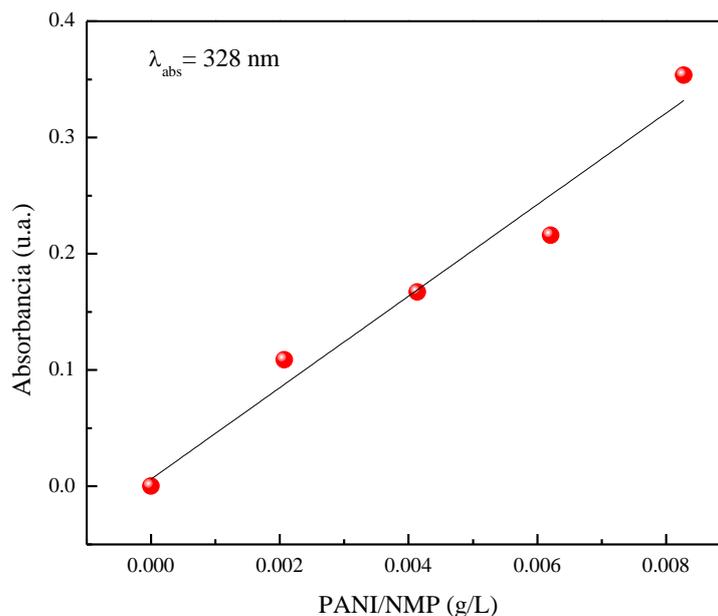


Figura 23. Curva de calibración para PANI/NMP a $\lambda_{\text{abs}} = 328$ nm.

Retomando la definición de coeficiente de partición (C_p), expresado como la partición de una droga entre dos medios diferentes y, haciendo uso de la **Ecuación 3** para diferentes concentraciones de la solución PANI/NMP antes y después de impregnarse al hidrogel, se calcularon los valores de C_p . En la **Figura 24** se muestran los valores obtenidos para el parámetro en cuestión. Puede observarse en el gráfico que el C_p aumenta en forma lineal hasta llegar a un determinado valor (aproximadamente entre 800 y 900 unidades) y luego permanece constante, lo cual indicaría la máxima capacidad del hidrogel termosensible PNIPAM-co-2%AMPS para absorber la PANI desde la solución de NMP.

Tras haber determinado la cantidad de PANI que se incorporó al hidrogel para formar la red semi-interpenetrada, se procedió a estudiar la cinética de hinchamiento en agua. De esta manera, se puede conocer la máxima capacidad de absorción de agua que posee el hidrogel semi-IPN con PANI. En la **Figura 25** se muestra la curva correspondiente a la cinética de hinchamiento. El porcentaje de hinchamiento en el equilibrio es de aproximadamente 8600 %, siendo este valor menor que el obtenido anteriormente para el hidrogel sin interpenetrar (~ 11200 %). Se puede hacer la conjetura de que al ser cargado el hidrogel con el polímero conductor, la distribución espacial de éste dentro de la matriz termosensible hace que las propiedades hidrofóbicas del mismo sean considerables al interactuar con la matriz, reduciendo así la capacidad de absorber el agua del medio. Además, se calculó la constante de velocidad de hinchamiento para el material semi-

interpenetrado en agua según el ajuste exponencial de una ecuación cinética primer orden, resultando un valor de constante $k = 1,3 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$.

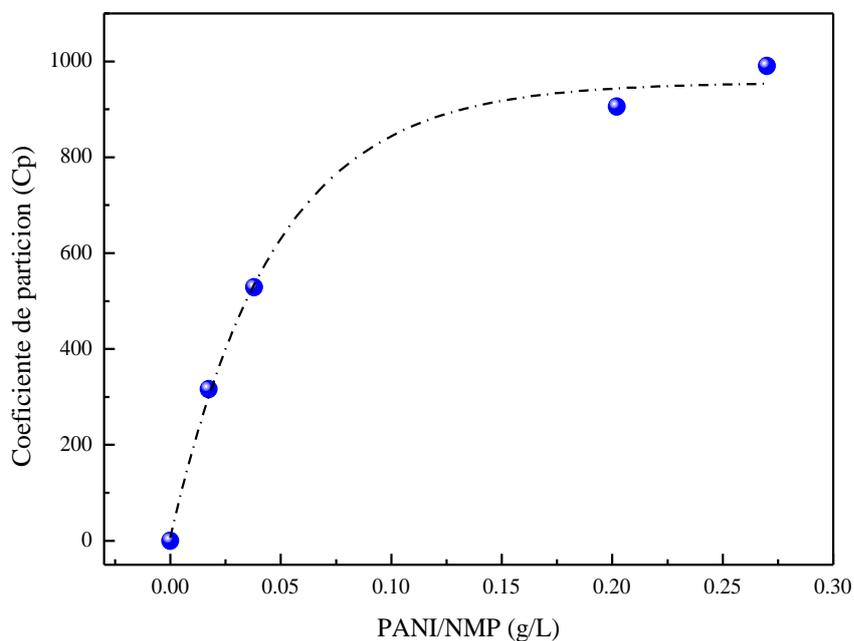


Figura 24. Coeficientes de partición de PANI en un hidrogel de PNIPAM-co-2% AMPS a 20 °C.

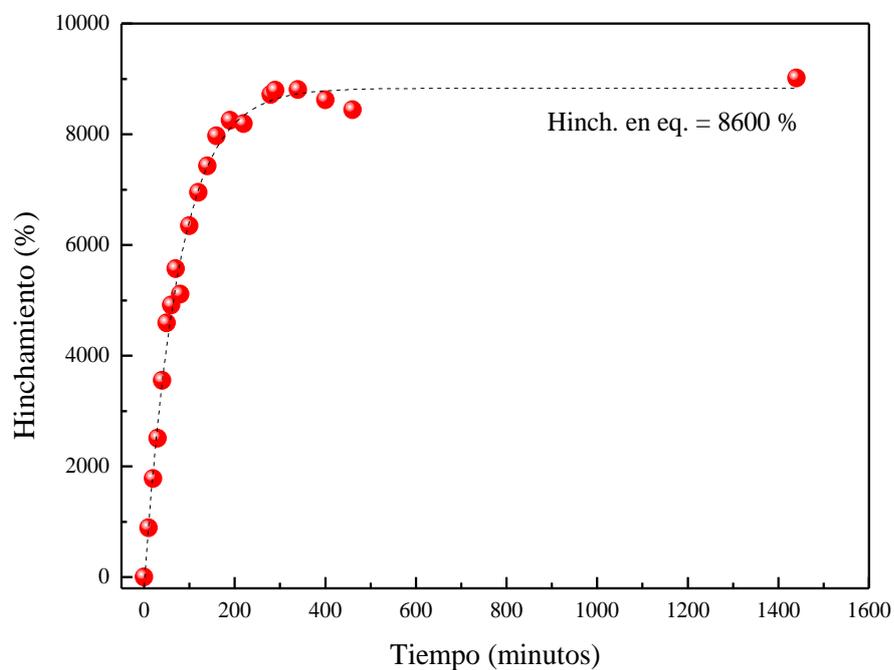


Figura 25. Cinética de hinchamiento en agua para el hidrogel PNIPAM-co-2% AMPS semi-IPN con PANI.

IV.1.2.5 Termosensibilidad del material

La temperatura de transición de fase (LCST) fue determinada por la técnica de calorimetría diferencial de barrido para los diferentes materiales: el hidrogel termosensible y el material semi-interpenetrado con PANI. Los datos obtenidos se muestran en la **Tabla 9**.

Tabla 9. Temperatura de transición de fase del hidrogel PNIPAM-co-2% AMPS y el material semi-IPN con PANI.

Hidrogel	Solvente	LCST (°C)
PNIPAM-co-2% AMPS	Agua	36,5 ± 0,5
PNIPAM-co-2% AMPS	NMP	56 ± 0,5
PNIPAM-co-2% AMPS-PANI	Agua	47 ± 0,5

Para PNIPAM-co-2% AMPS en agua se obtuvo una LCST de alrededor de 36,5 °C, lo cual coincide con lo que ya ha sido reportado previamente.²⁹⁸ Cuando el mismo hidrogel se hincha en NMP se observa un incremento de la LCST de 19 °C, llegando la misma a un valor de 56 °C. Este hecho demuestra claramente que el solvente escogido para el hinchamiento es clave en las propiedades finales del material. Por otro lado, la LCST del material semi-IPN (con un porcentaje de carga de PANI calculado en 17,5% p/p por impregnación durante 24 horas) lavado e hinchado en agua llega a 47 °C, siendo 10 °C más que para el del hidrogel sin interpenetrar polímero conductor. En este caso, el proceso de semi-interpenetrado se da por hinchamiento en NMP y la posterior expulsión de ésta con agua. Es por ello que el incremento de la LCST puede deberse a dos razones: que la NMP no sea expulsada totalmente de la matriz de gel, o bien que la interacción o la disposición estructural entre la PANI y la matriz del hidrogel termosensible sea el factor que produzca este efecto.

IV.1.2.6 Estados físicos del agua

Estudiando los estados físicos del agua que se encuentra dentro del material puede obtenerse información muy útil de la naturaleza de las interacciones físicas entre las

cadena del polímero lineal y el medio circundante (solvente). Generalmente, la estructura del agua en el hidrogel puede ser clasificada de diferentes maneras: agua libre, agua congelada enlazada y agua no congelada enlazada.²⁹⁹ El agua libre (W_f) no forma uniones de tipo puente hidrógeno con las moléculas de polímero. El agua congelada enlazada (W_{fb}) interactúa fuertemente con las moléculas de polímero. El agua no congelada enlazada (W_{nfb}) se combina con las cadenas poliméricas a través de uniones tipo puente hidrógeno. El contenido total de agua congelada ($W_{freezing}$) se puede cuantificar utilizando la técnica de calorimetría diferencial de barrido, a partir del área bajo la curva de tipo endotérmica para el material hinchado (Q_{endo}), según el calor endotérmico de fusión del agua pura ($Q_{pw} = 333,3 \text{ J/g}$).

Teniendo en cuenta las **Ecuaciones 8, 9 y 10** que se muestran a continuación, puede ser indirectamente determinado el W_{nfb} al hacer la diferencia entre EWC (contenido de agua en equilibrio) y W_f .

$$W_{freezing} (\%) = W_f + W_{fb} = Q_{endo} / Q_{pw} \times 100 \quad \text{Ecuación 8}$$

$$EWC = [(w_s - w_d) / w_s] \times 100 \quad \text{Ecuación 9}$$

$$W_{nfb} = EWC - W_{freezing} \quad \text{Ecuación 10}$$

Donde w_s y w_d representan el peso del material hinchado y seco, respectivamente

La **Figura 26** muestra el termograma obtenidos para los hidrogeles semi-interpenetrados con el polímero conductor y se compara con el de un hidrogel PNIPAM-co-2%AMPS. Luego, los estados de agua analizados a partir del pico endotérmico y los parámetros mencionados se muestran en la **Tabla 10**.

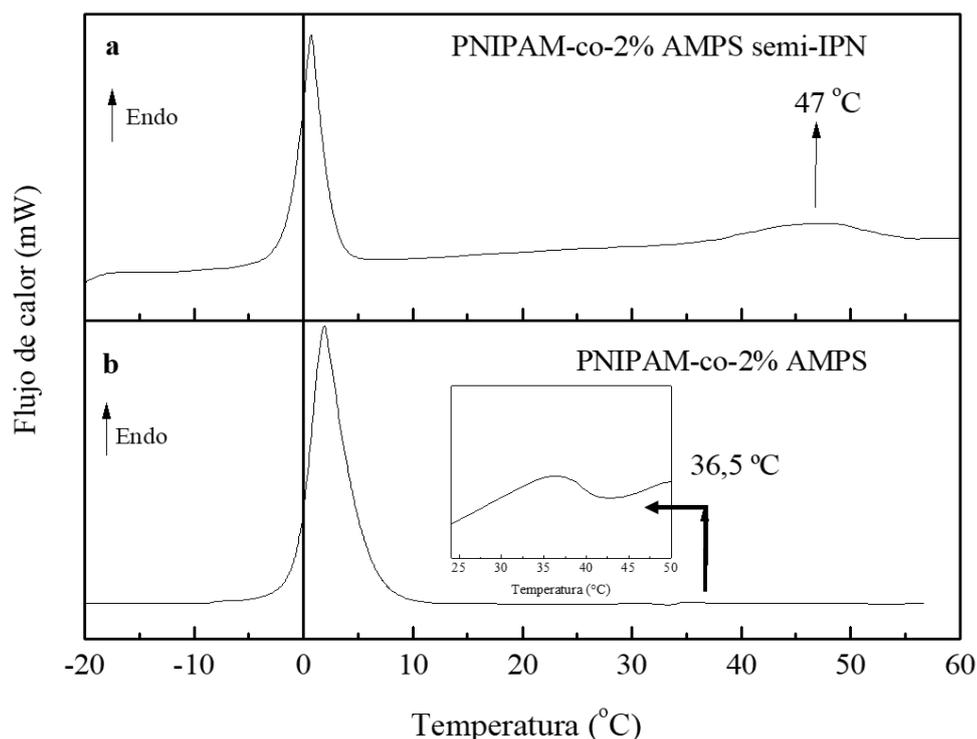


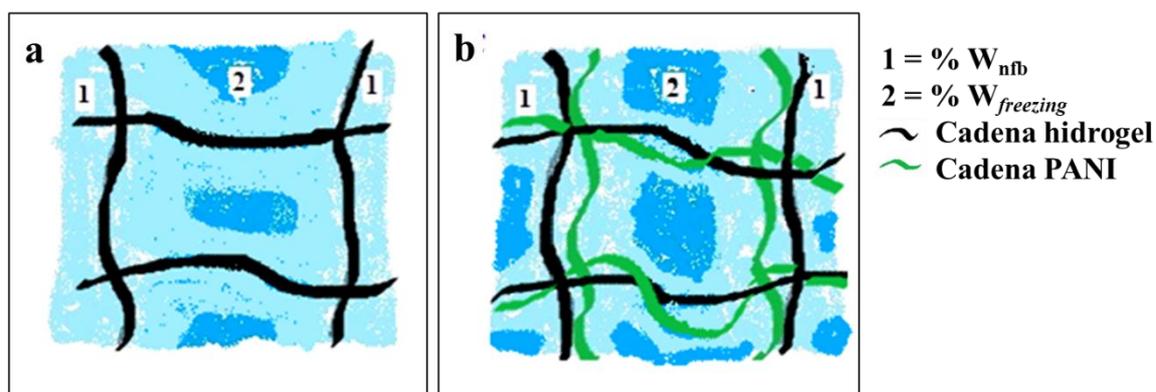
Figura 26. Termogramas obtenidos en la medición de DSC: a) semi-IPN y b) PNIPAM-co-2% AMPS.

Tabla 10. Estados de agua para un hidrogel PNIPAM-co-2% AMPS sin interpenetrar y semi-IPN con PANI.

Hidrogel	Q_{endo} (J/g)	EWC	% W_{freezing}	% W_{nfb}
PNIPAM-co-2% AMPS	11,50	99,04	3,45	95,60
PNIPAM-co-2% AMPS/PANI (semi-IPN, 0,4 g /LPANI/NMP)	96,20	98,99	28,9	69,90

De los datos obtenidos, en una primera instancia se deduce que el contenido de agua en equilibrio (EWC) es similar en ambos materiales, aunque no sea el mismo tipo de agua. Cuando la PANI está presente dentro de la matriz, la distribución de los estados de agua es muy diferente a la observada para la matriz termosensible sola. En el caso del hidrogel sin interpenetrar, la cantidad de agua presente es mayormente agua congelada no enlazada (W_{nfb}), siendo más del 95 % del agua la que se encuentra interactuando con el gel por uniones tipo puente hidrógeno. Al mismo tiempo, el Q_{endo} es proporcional al % W_f de acuerdo a la **Ecuación 8**. Cuando el % W_{freezing} es alto, mayor energía o calor de fusión es requerida. En el **Esquema 32** se representa la distribución de los estados de agua en la

matriz donde % W_{nfb} ocupa mayor área en la matriz de PNIPAM-co-2% AMPS, mientras el área que ocupa % $W_{freezing}$ es mayor en la matriz semi-IPN.



Esquema 32. Distribución del agua dentro de los hidrogeles: a) PNIPAM-co-2% AMPS y b) PNIPAM-co-2% AMPS semi-IPN.

IV.1.2.7 Propiedades mecánicas: módulo de elasticidad

Al incorporar PANI dentro del hidrogel se espera que las propiedades mecánicas del nuevo sistema sean también diferentes a las del hidrogel termosensible. El módulo de elasticidad fue determinado por compresión uniaxial de cilindros de hidrogel PNIPAM-co-2% AMPS y también para el sistema semi-IPN. Los resultados obtenidos para la determinación de esta propiedad mecánica se resumen en la **Tabla 11**.

Tabla 11. Módulo de elasticidad determinado por compresión uniaxial sobre los diferentes materiales.

Sistema	Módulo de elasticidad (Pa)
PNIPAM-co-2% AMPS (agua)	6500 ± 500
PNIPAM-co-2% AMPS semi-IPN PANI (carga 0,4 g/L PANI/NMP durante 7 días)	9142 ± 500
PNIPAM-co-2% AMPS semi-IPN PANI (carga 1 g/L PANI/NMP durante 7 días)	17756 ± 500

El módulo de elasticidad de los materiales compuestos por la matriz termosensible combinada con PANI muestra un incremento respecto al hidrogel sin semi-interpenetrar. Esto está en concordancia con la capacidad de hinchamiento que se ha descrito anteriormente. Sin embargo, el incremento del valor de dicha propiedad en el material

muestra una dependencia respecto de la cantidad de PANI incorporada en la matriz. En la **Figura 27** se muestran evidencias del incremento del módulo de elasticidad hasta aproximadamente 18000 Pa durante un tiempo de impregnación de 14 días, llegando a un valor máximo y luego varía en un valor de módulo de elasticidad alrededor de 14000 Pa. Cabe destacar que mientras el módulo de elasticidad del sistema semi-IPN aumenta con el incremento del tiempo de impregnación del hidrogel en PANI/NMP, la LCST no se vio alterada.

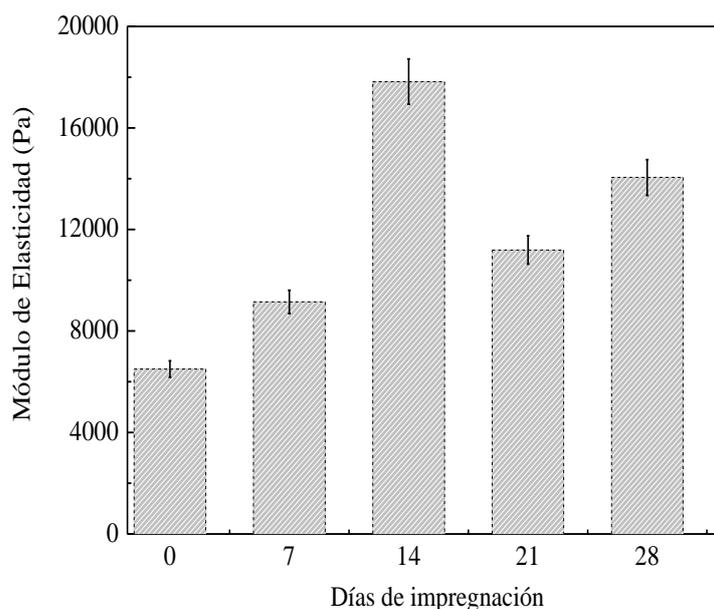


Figura 27. Módulo de elasticidad del hidrogel cargado con PANI a partir de una solución 0,4 g/L PANI/NMP a diferentes tiempos de impregnación.

IV.1.2.8 Efecto fototérmico: irradiación con radiofrecuencias

Para evaluar la capacidad fototérmica del hidrogel semi-IPN con el polímero conductor, en este caso se escogieron radiofrecuencias como fuente de energía. Las mismas, procedentes del aparato mostrado en la sección experimental, se aplicaron sobre una muestra del material. La temperatura fue evaluada tras cinco disparos de 5,9 segundos de irradiación. Como puede apreciarse en la **Figura 28**, la misma se incrementa considerablemente en relativamente poco tiempo de exposición a las radiofrecuencias. En tan solo 3 minutos de irradiación, el material aumenta su temperatura en aproximadamente 20 °C. Luego, el incremento continúa hasta el final del experimento, aunque la tendencia no es tan abrupta como en el comienzo, llegando a estabilizarse la temperatura alrededor de los 45 °C luego de los 5 minutos de irradiación. De esta forma, se confirma nuevamente

que la PANI es capaz de otorgarle al material una característica distintiva del hidrogel termosensible sin interpenetrar: la posibilidad de absorción de radiofrecuencias para incrementar su temperatura. El fenómeno es muy interesante y hace que el nuevo tipo de material obtenido posea propiedades promisorias para aplicaciones tecnológicas relacionadas con el efecto fototérmico inducido por radiofrecuencias.

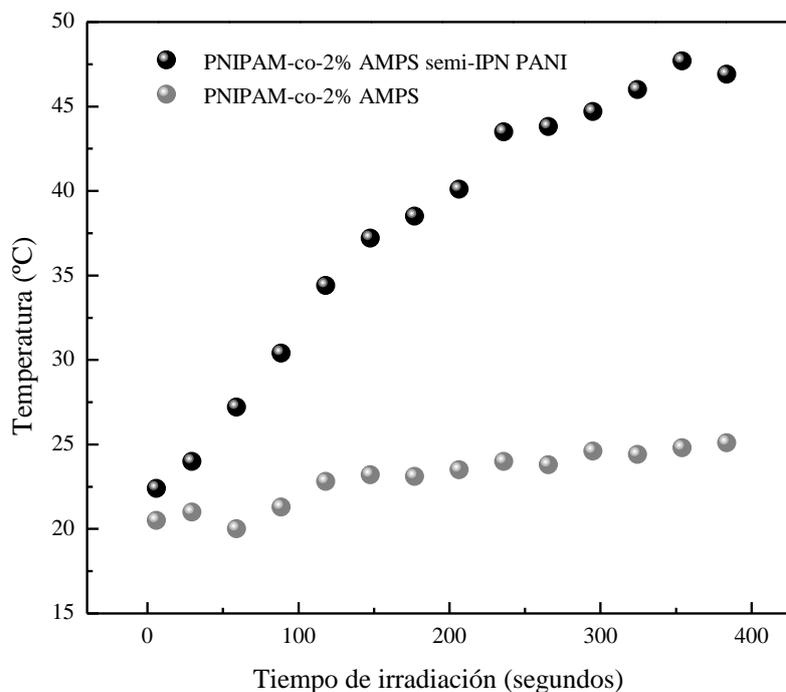


Figura 28. Cambio de temperatura en el hidrogel semi-IPN generado por irradiación con radiofrecuencias.

IV.1.3 Hidrogeles basados en HPC

En esta sección se estudian materiales en base a un polímero biocompatible que posee la característica de ser termosensible: hidroxipropilcelulosa (HPC). El mismo se utilizó para preparar hidrogeles y luego se incorporó un polímero conductor (PANI) para obtener un material que posea tanto termosensibilidad como propiedades conductoras.

IV.1.3.1 Obtención del material

Los hidrogeles de HPC se sintetizaron tal cual se detalló en el capítulo de **Metodología (sección III.1.2.3)**. Se partió del polisacárido disuelto en agua para entrecruzarlo en forma química a través de la reacción entre los grupos hidroxilos (-OH) de la HPC con el agente glioxal, un dialdehído. La formación de este tipo de hidrogeles es totalmente diferente a la naturaleza del proceso utilizado para obtener materiales como los

hidrogeles basados en derivados de acrilamida que se estudiaron en la sección previa, presentando la ventaja de que al sintetizarse por curado permite la manipulación de la mezcla, otorgándole versatilidad.

IV.1.3.2 Estudios de hinchamiento en agua

Una vez obtenidos los hidrogeles, se llevó a cabo el experimento de cinética de hinchamiento en agua bidestilada con el fin de cuantificar la capacidad de absorber dicho solvente. El porcentaje de hinchamiento se calcula utilizando nuevamente la **Ecuación 3**. Los resultados en función del tiempo de contacto con el solvente se muestran en la **Figura 29**.

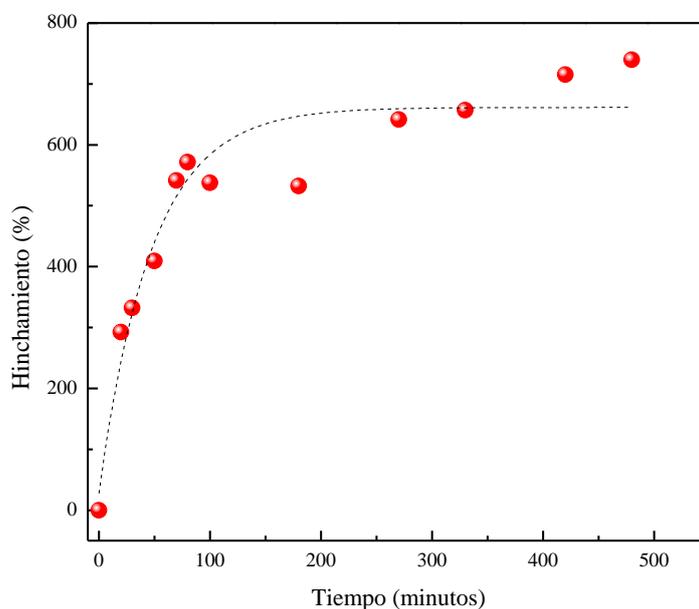


Figura 29. Cinética de hinchamiento en agua del hidrogel basado en HPC.

Del gráfico se deduce que el material es capaz de hincharse un 740 % respecto a su estado inicial, siendo mucho menor al porcentaje de hinchamiento en el equilibrio para los hidrogeles en base a PNIPAM y materiales semi-interpenetrados ya mostrados. Este hecho se debe probablemente a que la naturaleza de los polímeros utilizados en cada caso es totalmente diferente. Sin embargo, a través de un ajuste de tipo exponencial según una ecuación cinética de primer orden, se pudo estimar que la velocidad de hinchamiento para este tipo de hidrogeles es levemente mayor que para los hidrogeles basados en PNIPAM y AMPS, arribando a una constante de velocidad (k) del orden de $2 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$. El fenómeno estaría asociado al tipo de entrecruzamiento utilizado en los geles de HPC, el cual es difiere

al empleado con los materiales basados en derivados de acrilamida donde se utilizaban enlaces vinílicos para entrecruzar las cadenas poliméricas. En el primer caso, el punto de entrecruzamiento no es una molécula sino una cadena que se origina en una rama debido a la presencia del monómero vinílico bifuncional (BIS). Para los hidrogeles de hidroxipropilcelulosa, el glicoxal es el encargado de entrecruzar cadenas vecinas uniéndose a ambas y formando un punto de entrecruzamiento molecular. El hecho de que la velocidad de hinchamiento aumente se relaciona, justamente, con el entrecruzamiento. Posiblemente, el efecto de utilizar glicoxal y generar otro tipo de entrecruzamiento se ve reflejado en la capacidad de absorber agua que posee el hidrogel en el inicio del experimento cinético.

IV.1.3.4 Caracterización espectroscópica

El material sintetizado en base a HPC como hidrogel fue caracterizado por espectroscopia infrarroja para poder obtener información acerca de su estructura. El espectro resultante se muestra en la **Figura 30**. El mismo es consistente con materiales basados en celulosa que se reportan en la literatura.^{300, 301}

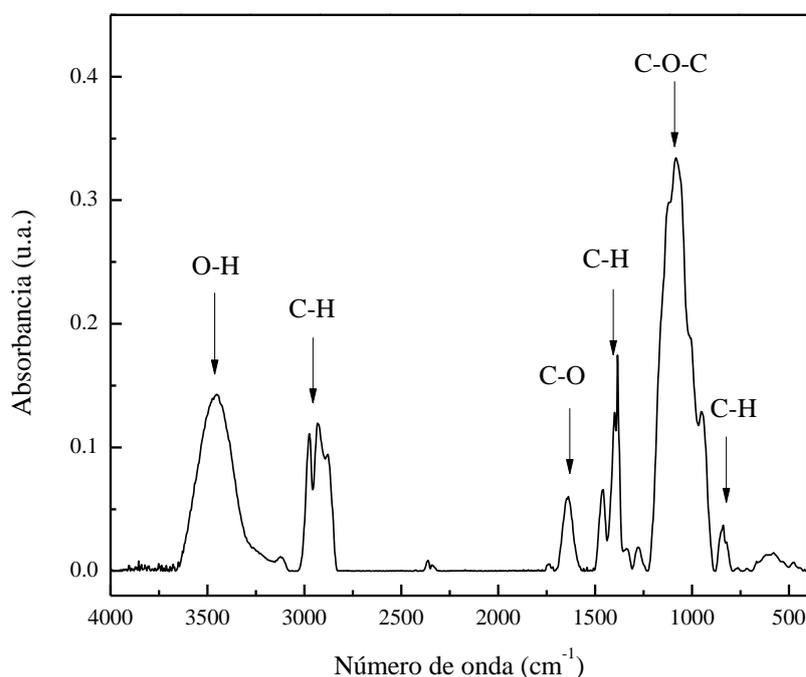


Figura 30. Espectro infrarrojo de una muestra de hidrogel de HPC.

Del análisis del espectro mostrado en la figura anterior, se realizó la asignación de las principales bandas. En la región de mayores frecuencias puede distinguirse el estiramiento O-H ($\sim 3400\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$), lo cual indica que si bien el entrecruzamiento ocurre

por la reacción de este grupo funcional, no se da en todas los puntos del polímero que contienen -OH. El estiramiento asimétrico C-O de la HPC puede observarse a números de onda cercanos a 1633 cm^{-1} , así como también la banda de C-O-C en 1075 cm^{-1} . Los estiramientos relacionados a las vibraciones C-H pueden también ser identificados en el espectro: 2968 cm^{-1} (vibración asimétrica), 2914 cm^{-1} (vibración simétrica) y también en 1465 cm^{-1} y 865 cm^{-1} . Además, es importante destacar que la reacción se corrobora debido a la ausencia de la característica banda del grupo carbonilo ($>\text{C}=\text{O}$) del glioxal, confirmando que ha reaccionado con el -OH del biopolímero.

IV.1.3.5 Termosensibilidad de la matriz

Se conoce de bibliografía que la HPC posee la propiedad de ser termosensible.^{302, 303} Tras haber sintetizado el hidrogel por entrecruzamiento con glioxal, se procedió al estudio de dicho comportamiento mediante la técnica de calorimetría diferencial de barrido. En la **Figura 31** se muestra el termograma obtenido para el material en cuestión.

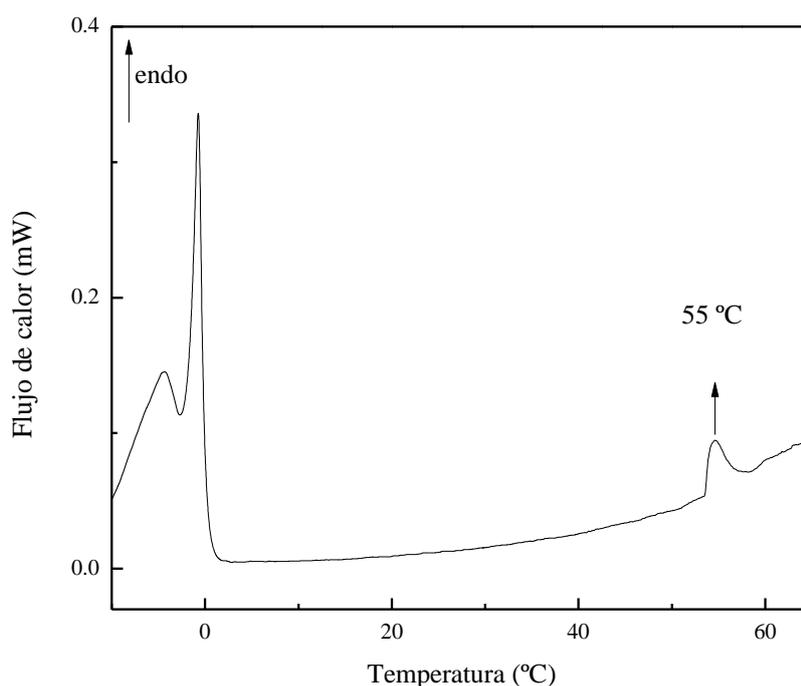


Figura 31. Calorimetría diferencial de barrido de una muestra de hidrogel HPC.

Observando el gráfico, se puede identificar con claridad la temperatura de transición de fase inferior (LCST) del polisacárido HPC cuando se encuentra entrecruzado formando la red como hidrogel. Dicha temperatura se cuantificó en 55 °C , indicando que en ese valor de temperatura el polímero se vuelve más hidrofóbico debido a la transición de fase

(colapso del material). Evidentemente, la LCST cuando el polímero se encuentra reticulado difiere de la que se reporta cuando HPC se encuentra sin entrecruzar. Este no es el único caso en que se observa este fenómeno; otros autores han reportado también cambios en la temperatura de transición de fase de este biopolímero al variar concentraciones o combinarlos con otros componentes.³⁰⁴⁻³⁰⁶ Además, es posible observar cómo el gel muestra un efecto sobre la fusión del agua congelada al interactuar con los grupos hidroxilos del polisacárido (pico a ~ 0 °C en el termograma).

IV.1.3.6 Generación de PANI dentro de la matriz termosensible

Una vez obtenida y caracterizada la matriz termosensible basada en HPC, se procedió a la incorporación de PANI para generar así un nuevo material con propiedades conductoras, capaz de responder a estímulos de temperatura (hidrogel inteligente). En este caso en particular, la PANI se generó por polimerización *in situ* a partir del monómero ANI, según la metodología descrita en la **sección III.1.2.4** de esta Tesis. En la **Figura 32** se muestran imágenes del material original y tras la incorporación del polímero conductor, donde el cambio es visible macroscópicamente: el aspecto y la coloración del hidrogel cambia radicalmente de transparente a verde oscuro (color característico de la PANI al encontrarse dopada, en estado conductor esmeraldina).

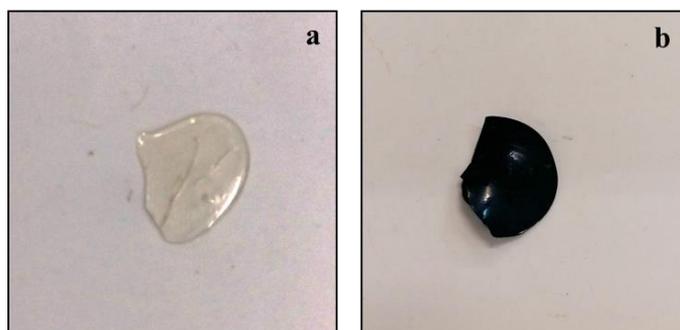


Figura 32. Hidrogel de HPC: a) antes de la incorporación de PANI y b) con PANI incorporada por polimerización *in situ*.

Una vez que el hidrogel semi-IPN fue lavado y secado, se llevaron a cabo nuevamente los estudios de hinchamiento en agua. En el gráfico de la **Figura 33** se muestra el porcentaje de hinchamiento respecto al tiempo de contacto con agua bidestilada. Puede observarse que el mismo aumenta conforme transcurren las horas de inmersión en el solvente: a las ocho horas es capaz de hincharse más de un 250 % respecto de su condición inicial, mientras que al transcurrir un día llega al 350 %. Si se compara con el material sin PANI incorporada, la

proporción en que se hincha el nuevo material es menor a la mitad del porcentaje (740 % para el hidrogel de HPC). Este comportamiento es razonable ya que se está incorporando un polímero de características más hidrofóbicas (PANI) que la HPC, por lo que la cantidad de agua que ingresa a la red es menor. Cabe destacar que se evaluó también el hinchamiento tras un día de contacto con el solvente, no superando nunca el 350 %, por lo que se puede decir que dicho valor es el porcentaje de hinchamiento en el estado de equilibrio.

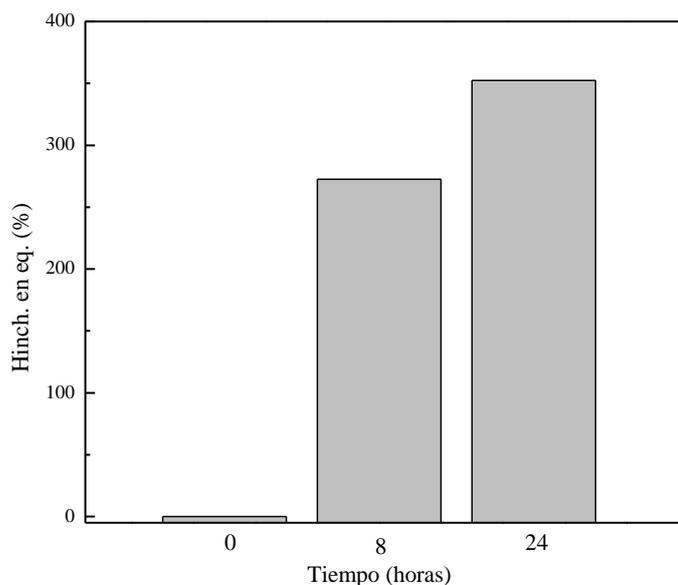


Figura 33. Hinchamiento en agua del material basado en HPC con PANI incorporada a distintos tiempos: 0, 8 y 24 horas.

La incorporación de PANI en medio ácido vuelve al hidrogel conductor. Sin embargo, teniendo en cuenta el objetivo de esta Tesis Doctoral, es necesario corroborar que la termosensibilidad del material se mantiene una vez que el polímero conductor ha ingresado en la matriz de HPC. Es por ello que se realizó una nueva corrida calorimétrica, esta vez usando la muestra de hidrogel de HPC conteniendo PANI en estado esmeraldina, incorporada por polimerización *in situ*. En la **Tabla 12** se muestran las temperaturas de transición de fase (LCST) de ambos materiales obtenidos por DSC. Si bien la medición arroja una diferencia de 3 °C respecto a la matriz de HPC, puede considerarse que la LCST es prácticamente similar en ambos casos. De todos modos, el pequeño incremento se justifica si tenemos en cuenta que el material ahora contiene otro polímero de naturaleza menos hidrofílica que la HPC.

Tabla 12. Temperatura de transición de fase medida por la técnica de DSC para un hidrogel de HPC.

Material	LCST (°C)
Hidrogel HPC	55 ± 0,5
Hidrogel HPC/PANI	58 ± 0,5

Como se ha descrito en el capítulo de **Antecedentes** de esta Tesis Doctoral, la PANI es un material capaz de absorber energía, pudiendo luego convertir esa energía en calor. Nuevamente, se aplicaron radiofrecuencias al material semi-IPN con PANI para observar si existe absorción de energía por parte del polímero conductor semi-IPN en el hidrogel de HPC. Se realizaron los experimentos utilizando como fuente de radiofrecuencias el dispositivo para sellado de vacío mostrado en la **Figura 10** de la sección experimental a bajas frecuencias. Los resultados del ensayo se muestran en la **Figura 34**.

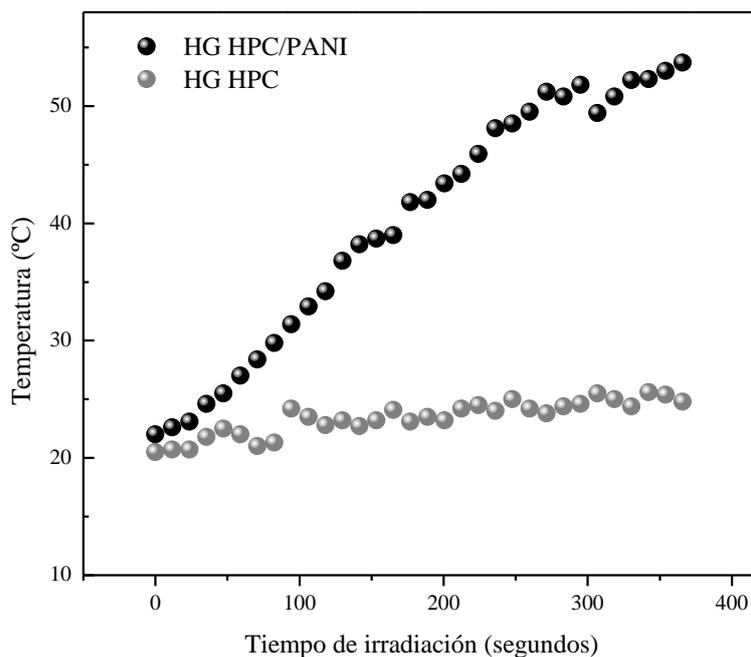


Figura 34. Incremento de temperatura por acción de radiofrecuencias sobre el material de HPC con PANI incorporada.

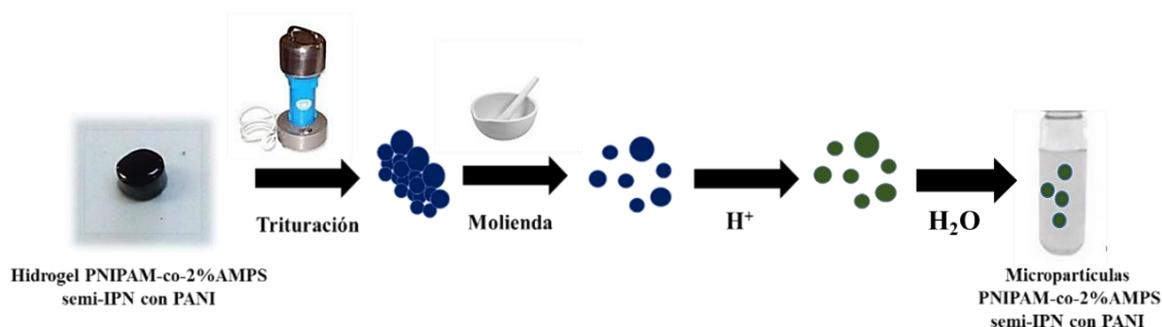
Analizando los resultados, se manifiesta claramente que el hidrogel de HPC al tener PANI incorporada en su matriz es capaz de absorber las radiofrecuencias. Nótese que la temperatura inicial a la que se comenzó el experimento con el hidrogel hinchado en agua

fue de 22 °C, por lo que es posible calcular un incremento de temperatura (ΔT) aproximado de 30 °C en sólo 6 minutos de irradiación. Por su parte, el gel sin polímero conductor no aumenta su temperatura ya que no es capaz de absorber radiofrecuencias. De esta forma, fue obtenido un material inteligente en base a un polímero conductor incorporado en una matriz de biopolímero termosensible.

IV.2 NIVEL MICROSCÓPICO

IV.2.1 Obtención del material: MP PNIPAM-co-2%AMPS semi-IPN con PANI

Las micropartículas se obtuvieron a partir de los hidrogeles de PNIPAM-co-2%AMPS semi-interpenetrados con PANI estudiados en la sección correspondiente a materiales de nivel macroscópico. Esto se logró a partir de la trituración y molienda de los materiales iniciales congelados, es decir, se utilizó un método de tipo “*top down*” para obtener a las partículas en la escala de tamaño microscópico. El material microparticulado fue dispersado en agua. Cabe destacar que fue previamente necesario agregar gotas de una solución ácida con el objetivo de que la PANI en las micropartículas formadas se encuentre en estado conductor para luego poder evaluar las propiedades fototérmicas. En el **Esquema 33** se detalla el proceso mencionado.



Esquema 33. Diagrama de obtención de las micropartículas PNIPAM-co-2%AMPS semi-IPN con PANI a partir de un hidrogel macroscópico.

IV.2.2 Morfología y tamaño de las micropartículas

Una vez obtenidas las micropartículas se procedió a observar las mismas utilizando la técnica de microscopía óptica. En la **Figura 35** se muestra una imagen obtenida por dicho procedimiento. En la misma puede apreciarse que la morfología no es perfectamente esférica, lo cual es esperable por el tipo de método utilizado para la obtención, a diferencia de lo que ocurre cuando se hace uso de un método del tipo “*bottom up*”. A partir de la micrografía puede estimarse que el tamaño de las estructuras microparticuladas es de aproximadamente 2-4 μm . Es también notable que en algunos casos se presentan aglomerados de micropartículas, los cuales se señalan en la imagen.

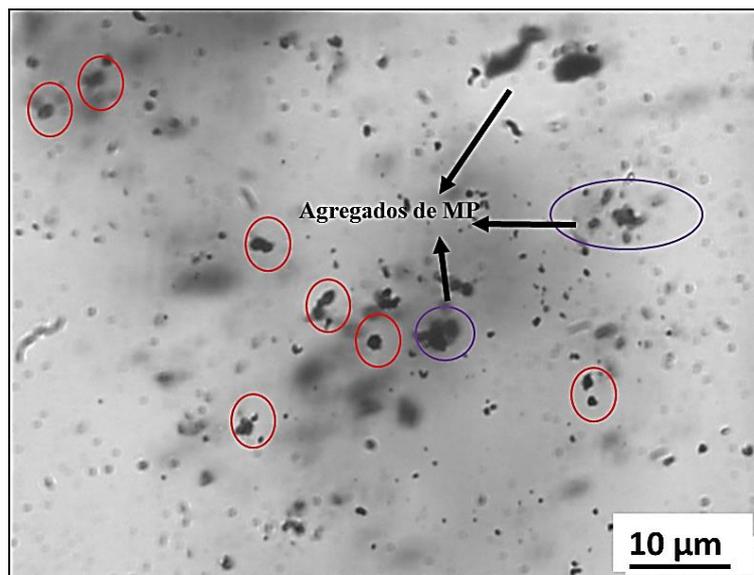


Figura 35. Micropartículas termosensibles semi-IPN dispersas en agua observadas por microscopía óptica.

IV.2.3 Efecto fototérmico

El efecto fototérmico en las micropartículas de PNIPAM-co-2%AMPS semi-IPN con PANI fue evaluado utilizando diferentes radiaciones de baja energía comprendidas en el espectro electromagnético. Se irradió con luz NIR a las partículas dispersas en agua. Adicionalmente, se expuso al material, utilizando también agua como solvente, a la acción de radiofrecuencias, haciendo uso de un procedimiento similar al mostrado en la sección referida a hidrogeles macroscópicos. Finalmente, se estudió la capacidad de las partículas de absorber energía proveniente de las microondas. De esta forma, se utilizan las matrices poliméricas semi-IPN de tamaño microscópico como modelo de estudio para efectuar una comparación del efecto fototérmico generado a partir de distintas fuentes de energía.

IV.2.3.1 Respuesta frente a radiación NIR

Con el objetivo de evaluar el efecto fototérmico sobre la dispersión de micropartículas al irradiar con luz NIR, se hizo uso de un láser con una potencia de 100 mW y una longitud de onda de emisión de 780 nm, registrando la temperatura de la dispersión mediante una termocupla. El montaje del sistema fue realizado tal como se mostró en el **Esquema 28** del capítulo **Materiales y Metodología**. En la **Figura 36** se puede apreciar el gráfico de variación de temperatura en función del tiempo de irradiación con luz NIR para las micropartículas PNIPAM-co-2%AMPS semi-interpenetradas con PANI dispersas en agua.

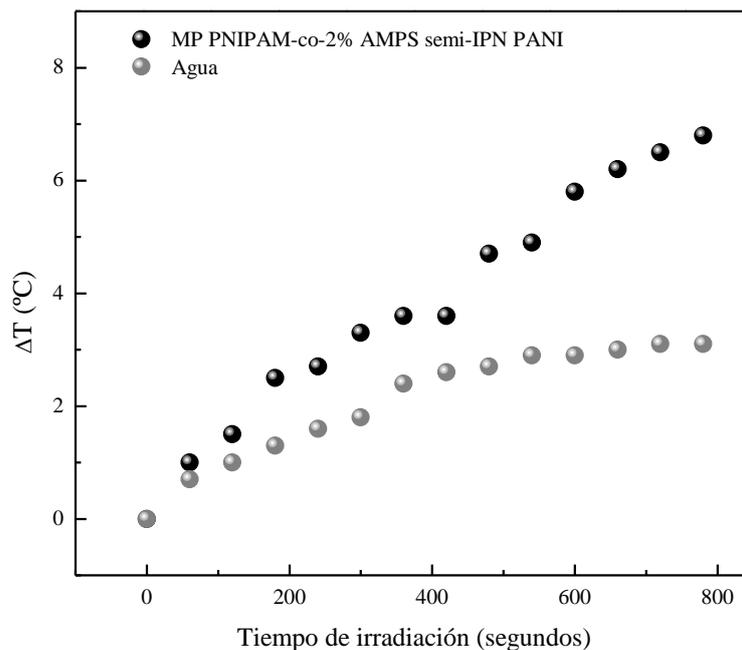


Figura 36. Curva de incremento de temperatura en función del tiempo de irradiación con luz NIR para las MP PNIPAM-co-2%AMPS semi-interpenetradas con PANI dispersas en agua. Temperatura inicial: 20 °C.

De la figura anterior se deduce que existe un aumento de la temperatura local en la dispersión de micropartículas. Queda en evidencia que se logra incrementar la temperatura en aproximadamente 6,5 °C. La tendencia del gráfico se aproxima al tipo exponencial, logrando alcanzar la temperatura final tras aproximadamente 600 segundos de irradiación con luz NIR, manteniéndose relativamente constante hasta los 780 segundos. Si se compara la curva de incremento de temperatura del agua sola (solvente utilizado para obtener la dispersión), puede observarse que esta apenas logra superar los 2 °C al ser irradiada durante el tiempo que transcurre el experimento. Esto permite asegurar que el efecto fototérmico es atribuible a las partículas termosensibles que contienen la PANI semi-interpenetrada, la cual es la responsable de la absorción de la energía proveniente de la fuente láser NIR.

IV.1.3.2 Respuesta frente a radiofrecuencias

Otro experimento se basó en la irradiación con radiofrecuencias a partir del dispositivo para sellado por inducción YNB Xiamen (1200 W). Los pulsos fueron un total de 75, con una duración de 5,9 segundos cada uno. En la **Figura 37** se muestran los resultados de este experimento para las micropartículas PNIPAM-co-2%AMPS

semi-interpenetradas con PANI comparando nuevamente con el agua, comprobando así que la misma no es capaz de absorber cantidades apreciables de radiofrecuencias.

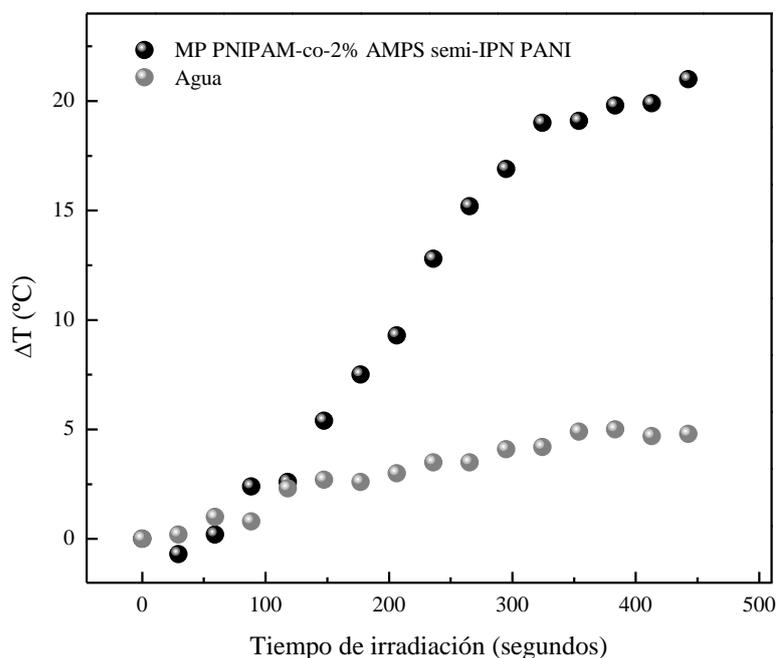


Figura 37. Cambio de temperatura en función de la irradiación con radiofrecuencias para las micropartículas termosensibles conteniendo el polímero conductor PANI. Temperatura inicial: 20 °C.

Al ser expuesta la dispersión del material a radiofrecuencias, se logra incrementar la temperatura (ΔT) en aproximadamente 20 °C. Haciendo foco en los resultados mostrados en la figura anterior, puede observarse que la temperatura máxima se alcanza tras aproximadamente 300 segundos de irradiación, manteniéndose estable hasta el final de la experiencia (450 segundos).

Si se compara la capacidad de aumentar la temperatura por parte de las micropartículas al ser irradiadas con radiofrecuencias con los resultados obtenidos por irradiación con luz NIR, el efecto es más marcado. La potencia total de las radiofrecuencias (1200 W) es significativamente mayor que para el láser (0,5 W) en una relación de 2400. Sin embargo, al ser las radiofrecuencias emitidas a partir de una bobina de aproximadamente 150 cm², mientras que el láser NIR posee un foco de aproximadamente 0,12 cm², se calcula la relación entre ambas en 1250. Por lo tanto, la relación de fluencia (W/cm²) es de sólo 2. Sin embargo, debe aclararse y tener presente que el fenómeno es diferente. Mientras que la radiación proveniente del láser NIR se absorbe en los cromóforos de la polianilina, las radiofrecuencias generan corrientes en el material conductor que

resultan parásitas al no existir sumidero. Es así que por efecto Joule estas corrientes generan energía térmica (calor), el cual es el responsable del aumento de la temperatura.

IV.1.3.4 Respuesta frente a microondas

Otra alternativa como fuente de irradiación para lograr el efecto fototérmico sobre las micropartículas semi-IPN es la utilización de microondas. En este caso, la idea se basa en que la energía liberada después de la absorción de la radiación sea capaz de inducir un calentamiento localizado en el microentorno del material.²⁹⁶ Por dicho motivo, a una dispersión de micropartículas PNIPAM-co-2%AMPS semi-interpenetradas en agua se la expuso a la radiación proveniente de un aparato microondas. En la **Figura 38** se muestra la variación de la temperatura de la dispersión en función del tiempo de aplicación de microondas.

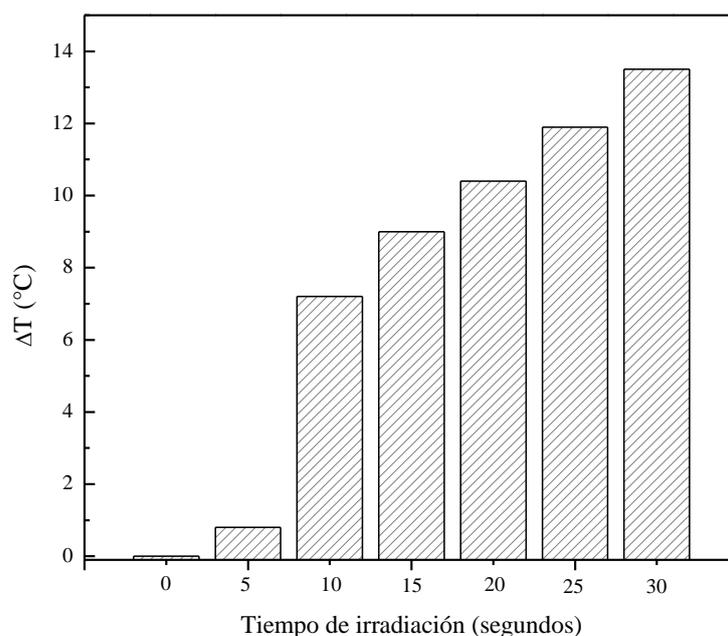


Figura 38. Cambios de temperatura para micropartículas dispersas en agua tras ser irradiadas con microondas. Temperatura inicial: 20 °C.

Claramente las micropartículas absorben la energía proveniente de las microondas para convertirla en energía térmica. Esto se ve reflejado en el aumento de temperatura, el cual es muy notable con tan solo pocos segundos de exposición a la radiación: a sólo 10 segundos de someter las partículas a microondas, la temperatura local se incrementó en ~7 °C; aumentando progresivamente la misma hasta llegar a 13 °C, si se considera respecto a la temperatura inicial, tras tan sólo 30 segundos de irradiación.

Si se comparan los resultados obtenidos en el experimento fototérmico con irradiación por microondas frente a los experimentos detallados anteriormente (NIR y radiofrecuencias) podría decirse que, si bien al utilizar esta fuente de irradiación, el aumento en la temperatura local se logra en un tiempo menor (30 segundos frente a cientos de segundos en los otros ensayos), no se logra alcanzar el incremento térmico logrado por radiofrecuencias. Esto es nuevamente concordante con lo ya discutido: los mecanismos de generación de calor sobre el material conductor son diferentes en caso de utilizar microondas y luz NIR que al utilizar radiofrecuencias como fuente de energía. Sin embargo, los tres experimentos en conjunto, son útiles para demostrar que las micropartículas basadas en un polímero termosensible (PNIPAM) semi-interpenetradas con un polímero conductor (PANI) son capaces absorber radiación y aumentar su temperatura (efecto fototérmico) utilizando radiaciones de diferentes tipos: luz en el infrarrojo cercano, radiofrecuencias y microondas. Esto abre la posibilidad de que el material en cuestión pueda ser utilizado para diferentes aplicaciones en las que se requiera un marcado aumento de temperatura en un tiempo relativamente corto, pudiendo escoger entre las diferentes alternativas según el requerimiento que sea necesario en cada caso (potencia, fluencia, tiempo de exposición, etc.).

IV.3 NIVEL NANOMÉTRICO

IV.3.1 Nanopartículas de gel PNIPAM-co-2%AMPS

IV.3.1.1 Morfología, composición y tamaño

Las nanopartículas de gel PNIPAM-co-2%AMPS se obtuvieron a través de la técnica de copolimerización por precipitación. El procedimiento es similar al realizado para obtener hidrogeles masivos o macroscópicos pero se manejan otras variables: alta concentración de catalizador con el objetivo de generar gran cantidad de núcleos y baja concentración de monómero para que el proceso de crecimiento sea lento. La dispersión de las mismas fue sometida a sucesivos ciclos de calentamiento-enfriamiento con el objetivo de inducir el colapso térmico de las mismas para eliminar así impurezas y residuos de la reacción de polimerización, aprovechando la naturaleza termosensible de la PNIPAM.

La dispersión de nano-objetos termosensibles fue caracterizada utilizando la técnica de DLS para poder tener así una noción del tamaño de las estructuras resultantes tras el proceso sintético. La medida experimental fue llevada a cabo a una temperatura controlada de 25 °C y a pH 7. En la **Figura 39** se muestra la distribución monomodal obtenida tras el análisis. El diámetro hidrodinámico promedio de las nanopartículas de gel fue de 360 nm a la temperatura del experimento. En lo que respecta a la dispersión de tamaños, se obtuvo un índice de polidispersidad de 0,112 siendo el mismo aceptable al trabajar con este tipo de polímeros.

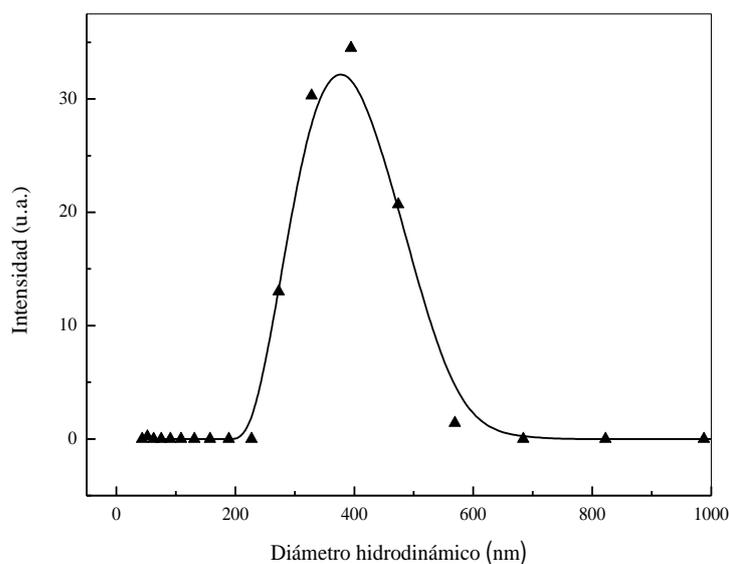


Figura 39. Distribución de tamaños de las nanopartículas de gel PNIPAM-co-2%AMPS.

Luego, se procedió a caracterizar el material desde el punto de vista de su morfología. Para ello, se hizo uso de diversas técnicas microscópicas: SEM, TEM y AFM. En la **Figura 40** se pueden apreciar las imágenes obtenidas por microscopía electrónica de barrido a dos magnificaciones diferentes. En las mismas es posible observar que la morfología se asemeja a ser de tipo esférica, con un tamaño promedio de aproximadamente 170 nm. Este tamaño es inferior al observado por DLS, lo cual puede deberse a diferentes factores. Por un lado, para la realización de la microscopía SEM, las nanopartículas fueron depositadas en estado seco (sin contenido acuoso) sobre el portamuestras. Por otro lado, debe considerarse que en la técnica de dispersión de luz dinámica el valor que se informa corresponde no sólo al tamaño de la partícula sino que involucra además a la esfera de solvatación de la misma (moléculas de solvente, en este caso agua, que se mueven junto al nano-objeto).

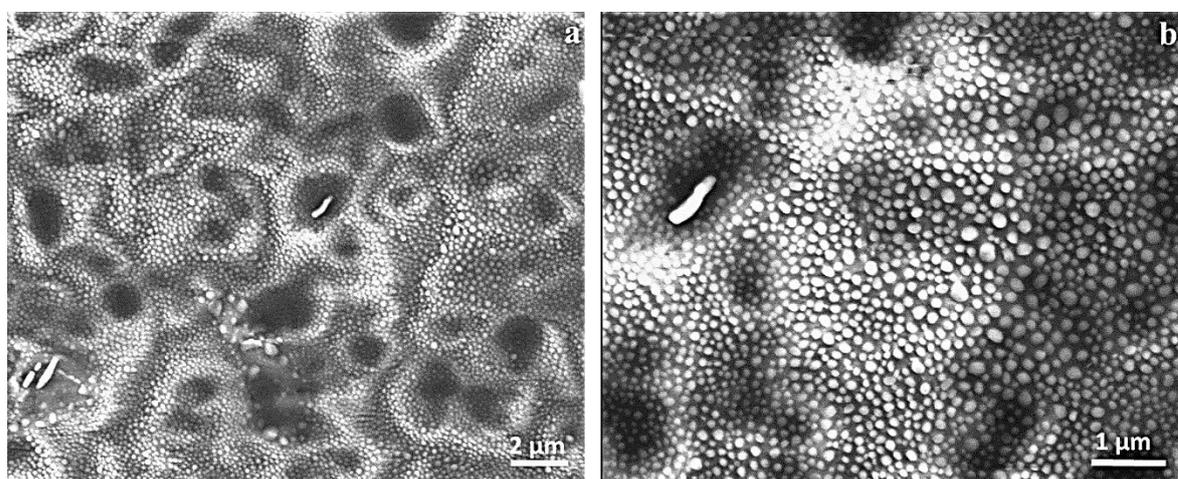


Figura 40. Imágenes de las nanopartículas de gel tomadas por microscopía electrónica de barrido. Barra de escala: a) 2 µm, b) 1 µm.

Tal como se mencionó anteriormente, un análisis por microscopía electrónica de transmisión de la dispersión resultante fue llevado a cabo. En la **Figura 41** se muestra una fotografía obtenida mediante esta técnica. Puede apreciarse en la imagen que la partícula no parece ser una esfera casi perfecta como se vio por SEM. Si bien el tamaño se aproxima al que se arribó por la otra técnica microscópica, la morfología de la nanopartícula de gel se observa como un ovoide.

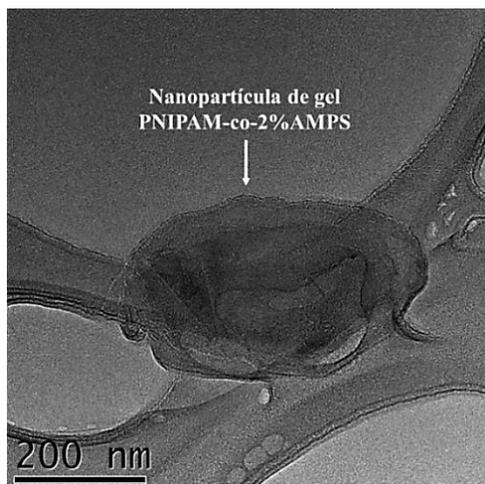


Figura 41. Microscopia TEM que muestra la morfología de una nanopartícula de gel PNIPAM-co-2%AMPS.

Por otra parte, se analizó la morfología por microscopía de fuerza atómica al realizar un depósito de la dispersión de nanopartículas sobre una superficie de mica. En la **Figura 42** se muestra una imagen bidimensional de los nanogeles junto a un perfil en tres dimensiones del mismo. Puede apreciarse que la muestra es monodispersa, coincidiendo el tamaño con el estimado por las demás técnicas microscópicas.

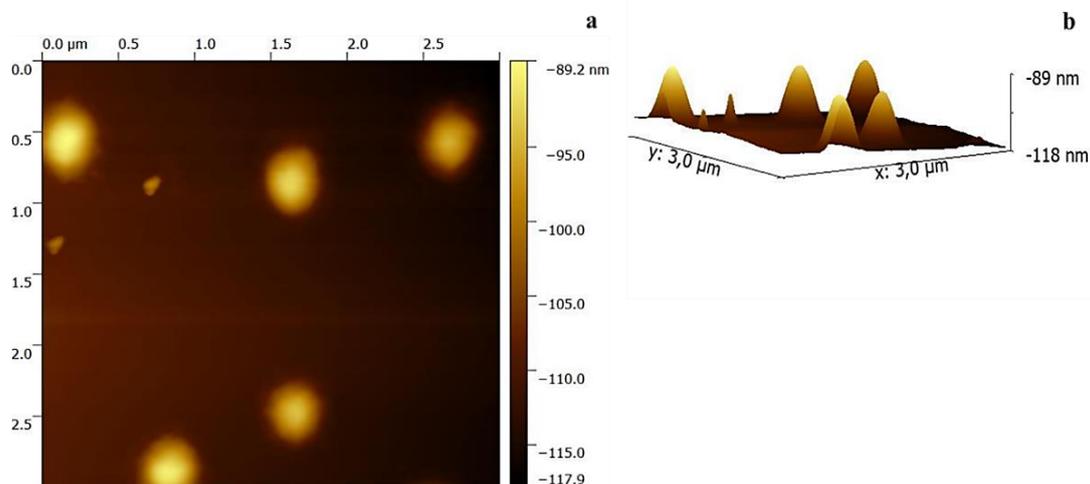


Figura 42. Medidas de AFM de una dispersión de nanogeles PNIPAM-co-2%AMPS: a) imagen bidimensional y b) perfil en tres dimensiones de a).

Adicionalmente se caracterizaron las nanopartículas PNIPAM-co-2%AMPS por espectroscopia infrarroja. El espectro resultante es mostrado en la **Figura 43**. El estiramiento correspondiente al grupo amino de la PNIPAM es identificado a una frecuencia entre 3100 y 3650 cm^{-1} . Las bandas correspondientes a vibraciones C-H pueden

ser observadas alrededor de 2900 cm^{-1} . El hecho de que el nanogel sea un copolímero que contiene AMPS es evidenciado por la aparición de una banda a 1041 cm^{-1} característica del grupo $-\text{SO}_3$ y otra a 620 cm^{-1} correspondiente al estiramiento C-S.

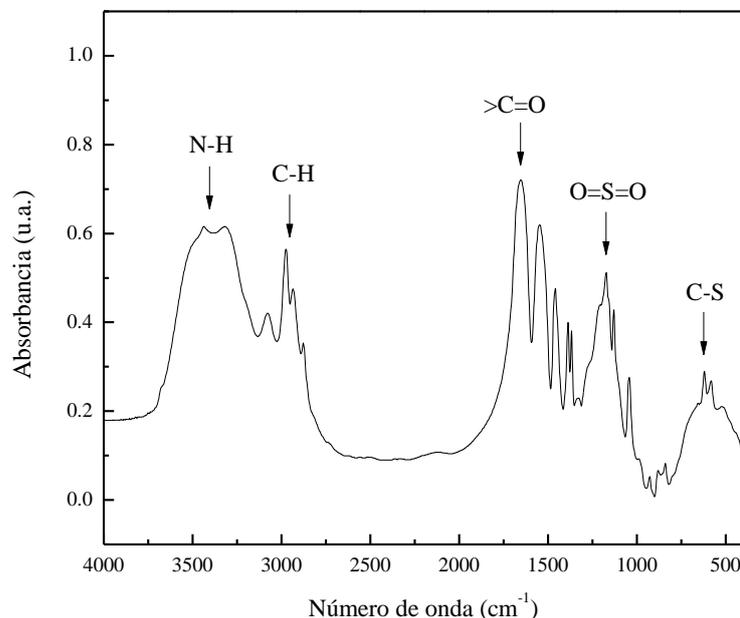


Figura 43. Espectro infrarrojo correspondiente a nanopartículas de gel PNIPAM-co-2% AMPS.

IV.3.1.2 Termosensibilidad de las estructuras

Como se ha mencionado anteriormente, las nanopartículas de gel están formadas por un copolímero que contiene NIPAM y AMPS, estando este último en una proporción de 2% respecto a los moles totales. Se sabe que el primero de los mencionados es termosensible cuando se encuentra como polímero, por lo que se espera que los nanogeles posean esta característica distintiva.

Con el objetivo de evaluar la termosensibilidad de las partículas obtenidas, se midió el diámetro hidrodinámico de los nanogeles que forman la dispersión en función de un aumento gradual de temperatura a través de la técnica de DLS. El resultado del experimento es mostrado en la **Figura 44**. A 25 °C , el diámetro hidrodinámico de las partículas es de 360 nm . Sin embargo, cuando la temperatura se incrementa a 30 °C , el tamaño decrece a 300 nm ; llegando a ser 120 nm cuando la temperatura supera los 40 °C . En el gráfico es posible observar un punto de inflexión alrededor de los $31\text{-}32\text{ °C}$, lo cual sería indicio de que allí se produce la transición de fase del polímero termosensible, es decir: esa es la temperatura crítica inferior (LCST).

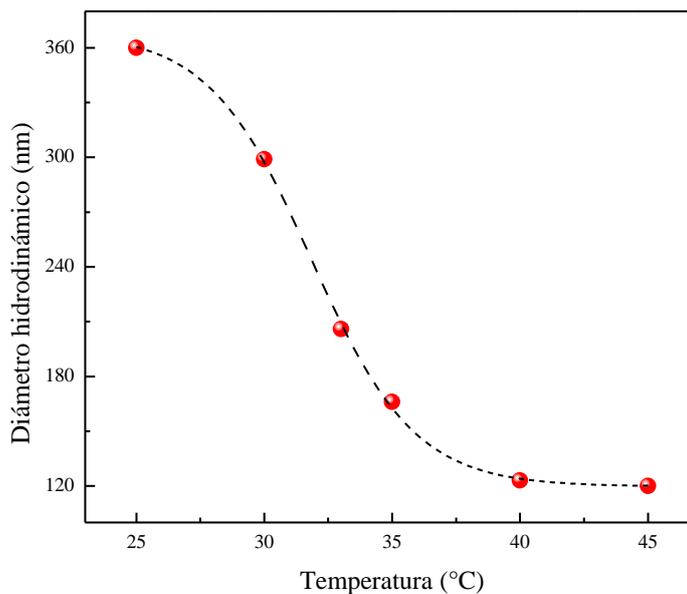


Figura 44. Variación de diámetro hidrodinámico en función de la temperatura para nanogeles de PNIPAM-co-2% AMPS en agua.

Si bien el estudio realizado por la técnica de dispersión de luz dinámica permite conocer aproximadamente la LCST de las nanopartículas PNIPAM-co-2%AMPS, la misma puede cuantificarse también por calorimetría diferencial de barrido. En la **Figura 45** se muestra el termograma resultante para las nanopartículas de gel donde se puede observar el pico correspondiente al cambio de fase del agua que forma parte del gel y el hombro que muestra la temperatura de transición de fase en 30,1 °C. Aunque la temperatura no coincide exactamente con la determinada a partir de los ensayos de DLS, el error puede ser adjudicado debido a las condiciones en las que se lleva a cabo el experimento. Teniendo en cuenta los resultados arribados en el nivel macroscópico (hidrogeles PNIPAM-co-2% AMPS) se podría esperar que la LCST de los nanogeles fuera similar a dichos materiales (~ 37 °C). Sin embargo, pese a que el polímero obtenido contiene los monómeros en iguales proporciones, la LCST no se ve modificada y se aproxima a la de PNIPAM: ~31-32 °C. Esto es un indicio de que los nanogeles estarían formados por un núcleo de polímero termosensible (PNIPAM), rodeado por una coraza de PAMPS que actúa como estabilizante al poseer carga negativa y por repulsión coulombica y de exclusión de doble capas eléctricas evita la aglomeración y posterior precipitación de las nanoestructuras. De esta manera, es visible que según las condiciones de síntesis (macrogeles o nanogeles) puede modificarse la LCST del polímero termosensible y por consecuencia del material obtenido.

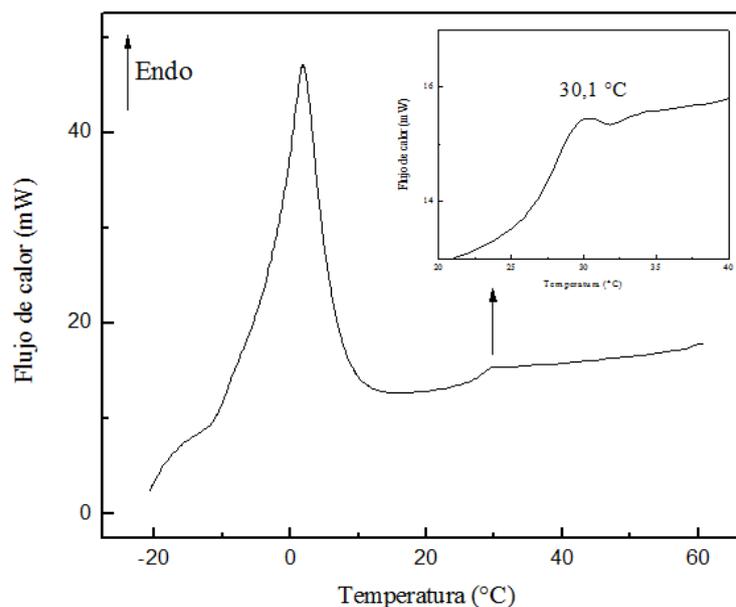


Figura 45. Termograma correspondiente a nanogeles PNIPAM-co-2% AMPS.

IV.3.2 Nanopartículas de polipirrol (NP PPy)

IV.3.2.1 Tamaño y morfología de las estructuras

Las nanopartículas de polipirrol (NP PPy) fueron sintetizadas por polimerización oxidativa a partir del monómero (Py), tal como se detalló en la sección experimental. Las nanoesferas de polímero conductor deben ser estabilizadas por algún agente que interactúe con el medio acuoso evitando la aglomeración y precipitación de las mismas. En este caso se escogieron como estabilizantes los siguientes polímeros: polivinilpirrolidona (PVP) y poli-N-isopropilacrilamida (PNIPAM). Es importante destacar que el peso molecular de PVP escogido corresponde a 360000 g/mol ya que previamente se ha corroborado que pesos moleculares menores no son útiles para las aplicaciones en sistemas biológicos que se persiguen en esta Tesis Doctoral.^{268, 307}

Tras el proceso sintético se procedió a realizar la medición de distribución de tamaños para las partículas obtenidas utilizando la técnica de dispersión de luz dinámica. En la **Tabla 13** se muestran los resultados arrojados en dicho experimento para cada uno de los tipos de partículas y su correspondiente índice de polidispersidad. Durante el experimento la temperatura fue mantenida constante a 25 °C y la dispersión se encontraba a pH 4, tal como resulta del proceso de síntesis del material.

Tabla 13. Resultados de diámetros hidrodinámicos y polidispersidad de las NP PPy medidos por dispersión de luz dinámica.

Estabilizante/s	Diámetro hidrodinámico (nm)	Índice de polidispersidad
PVP	242	0,327
50 % PVP – 50 % PNIPAM	254	0,236
PNIPAM	>1000	1

Se puede observar que en presencia de PVP como agente estabilizante es posible obtener nanopartículas de tamaño controlado con un aceptable índice de polidispersidad. Sin embargo, cuando se estabiliza haciendo solamente uso de PNIPAM, se obtiene una dispersión de micropartículas de tamaño mucho mayor, donde la monodispersidad es imposible de controlar. Es evidente que la variación del diámetro hidrodinámico medio de las partículas está relacionada con la naturaleza del agente estabilizante, su adsorción sobre la superficie de la partícula, así como también depende de la interacción con el polímero conductor y el seno de la dispersión. Para el caso de la mezcla de estabilizantes PVP-PNIPAM (50 % de cada estabilizante) el tamaño arrojado es muy similar al de las NP PPy estabilizadas con PVP, obteniendo también un índice de polidispersidad aceptable.

La morfología esférica de las nanopartículas y su tamaño fueron corroborados utilizando la técnica de microscopía electrónica de barrido. En la **Figura 46** es visible que las partículas poseen una monodispersidad aceptable. En **(a)** y **(b)** se muestran imágenes correspondientes a las nanopartículas estabilizadas con PVP, mientras que en **(c)** y **(d)** a las estabilizadas con la mezcla PVP-PNIPAM.

La estructura propuesta para las nanopartículas se representa en el **Esquema 34**. En las mismas, el polímero estabilizante puede considerarse adsorbido sobre el polímero conductor, el cual forma una especie de núcleo. Al ser el agente estabilizante de naturaleza hidrosoluble, se encuentran sus cadenas extendidas interaccionando con el seno de la solución y evitando la aglomeración.

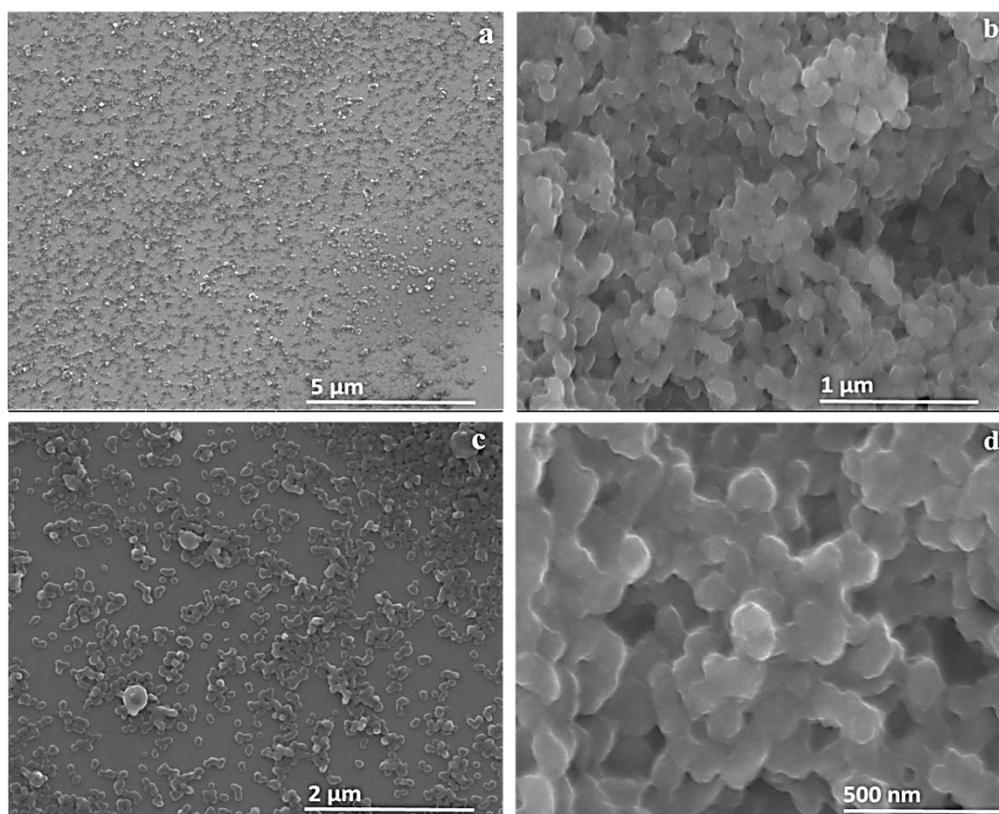
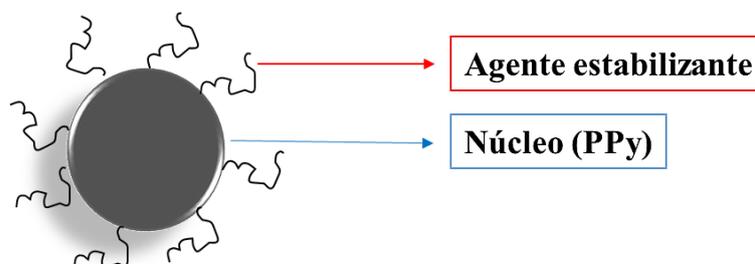


Figura 46. Imágenes SEM de NP PPy: a y b) estabilizadas con PVP, c y d) estabilizadas con PVP-PNIPAM.



Esquema 34. Diagrama ilustrativo de la estructura sugerida para las NP PPy.

IV.3.2.2 Propiedades electrónicas y capacidad de absorción de radiofrecuencias

Es bien sabido que el PPy es un polímero de tipo conductor que está formado por anillos heterocíclicos y posee un extenso sistema π conjugado con cargas móviles que le proporcionan conductividad eléctrica.³⁰⁸ En la **Figura 47** se muestra el espectro de

absorción UV-Visible para la dispersión de las nanopartículas sintetizadas haciendo uso de PVP como estabilizante.

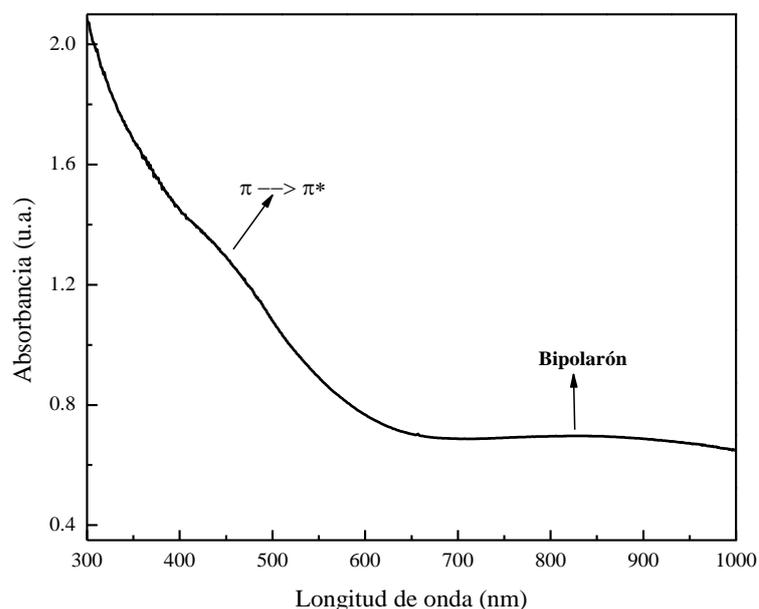


Figura 47. Espectro de absorción UV-Visible de NP PPy estabilizadas con PVP.

El espectro de las NP PPy muestra que a 430 nm existe una banda, la cual se atribuye a la transición $\pi \rightarrow \pi^*$. La banda correspondiente al bipolarón del polímero conductor puede observarse hacia longitudes de onda que se aproximan al rojo (650-1000 nm). Este espectro del polímero nanoestructurado en forma esférica difieren en algún aspecto respecto al del PPy masivo aunque las bandas de igual manera pueden ser atribuidas.³⁰⁹

Dada sus propiedades electrónicas, se ensayó la capacidad de las mismas de absorber radiofrecuencias. Una gota de NP PPy estabilizadas con PVP fue depositada sobre una superficie de vidrio y se irradió a baja potencia con pulsos de 5,9 segundos de duración. En la **Figura 48** se muestra el gráfico obtenido de dicha experiencia, pudiendo apreciarse que se produce un incremento de la temperatura debido a la capacidad de absorber radiofrecuencias que tienen las nanoestructuras. Puede estimarse una diferencia de temperatura (ΔT) aproximado de 15 °C entre el comienzo y el final de la medición. Nótese que la cantidad de pulsos es relativamente baja (50 pulsos), lo cual permite concluir que la absorción por parte de las partículas es importante. A su vez, en el gráfico puede evidenciarse un cambio de pendiente cuando las NP PPy comienzan a calentarse: al llegar a los 200 segundos de irradiación aproximadamente, se mantiene a una temperatura que podría considerarse constante (alrededor de 30 °C), es decir, ha saturado su capacidad de

absorber radiofrecuencias en las condiciones en que se llevó a cabo el experimento. Es importante destacar que las NP PPy están dispersas en agua y, como ya se ha corroborado en secciones previas, la aplicación de radiofrecuencias al agua no aumenta la temperatura en más de ~ 4 °C.

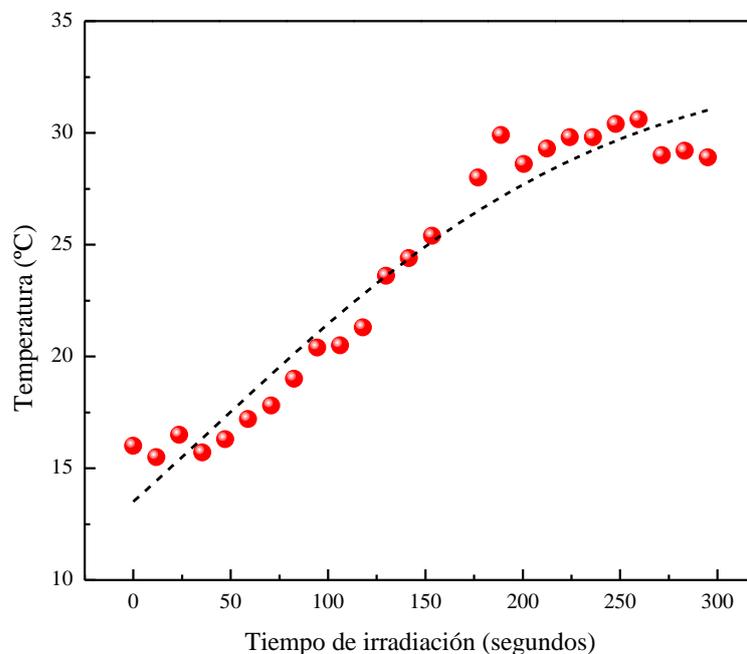


Figura 48. Incremento de temperatura para NP PPy en agua tras ser irradiadas con radiofrecuencias.

IV.3.3 Nanofibras de polianilina (NF PANI)

IV.3.3.1 Morfología de las estructuras

Tras haber obtenido las nanofibras mediante el método de Kaner,²⁷⁷ se procedió a su análisis morfológico por microscopía electrónica de barrido. En la **Figura 49** se muestran las micrografías obtenidas a distintas magnificaciones. En las imágenes es posible observar que el polímero presenta una estructura fibrilar, donde cada una de estas fibras posee una longitud de más de 100 micrometros y un ancho que varía entre 5 y 10 micrometros. Sin embargo, estos agregados parecen estar formados por varias nanofibras de PANI que poseen tamaño en el rango nanométrico. En este caso no es posible aplicar la técnica de dispersión de luz dinámica para obtener información acerca de tamaño o diámetro hidrodinámico de las estructuras sintetizadas. Esto se debe a la relación de aspecto que poseen las nanofibras (es decir, mayor longitud que ancho) siendo muy diferente a una esfera, por lo que aproximar su tamaño por medidas de dispersión sería erróneo.

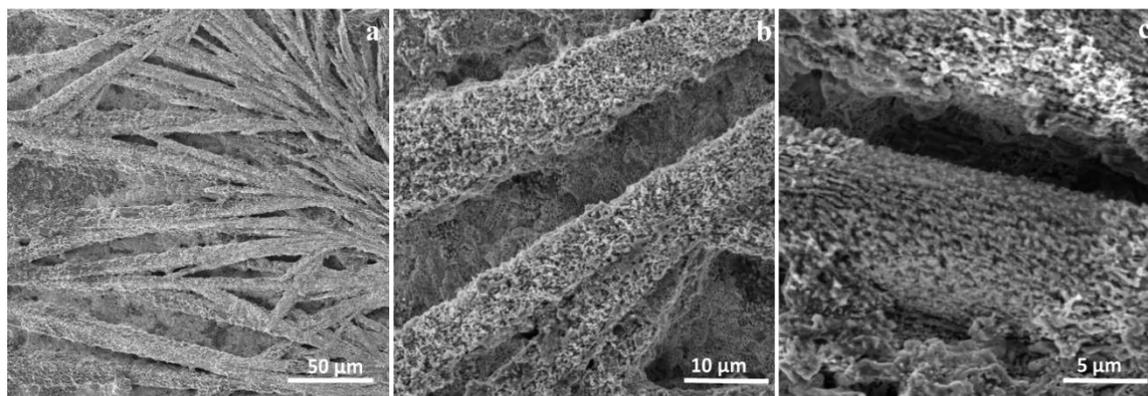


Figura 49. Microscopia electrónica de barrido de las NF PANI a distintas magnificaciones. Barra de escala: a) 50 μm , b) 10 μm y c) 5 μm .

IV.3.3.2 Propiedades electrónicas

Debido a que la presente Tesis Doctoral se basa en el estudio de polímeros conductores, el uso de técnicas espectroscópicas permite obtener información importante de los materiales sintetizados. Es por ello que la espectroscopia UV-Visible es una herramienta útil para identificar el polímero conductor (PANI en este caso) y poder estudiar su comportamiento. En la **Figura 50** se muestra el espectro UV-Visible de una dispersión de nanofibras de polianilina en estado sal esmeraldina (conductoras) al pH ácido resultante del proceso sintético. Cabe destacar que este tipo de NF PANI son estables y se mantienen en solución dispersas sólo en medio ácido por repulsión coulombica de las cargas positivas de las cadenas de leucoesmeraldina sal. Si se aumenta el pH, la PANI se deprotona y las nanofibras pierden su carga. Se necesita utilizar un agente estabilizante para evitar su aglomeración y posterior precipitación. Se observa claramente que a pH bajos, las bandas características de la PANI se encuentran presentes. Alrededor de los 420 nm, se puede apreciar la banda atribuida a los grupos bencenoides protonados presentes en la PANI en estado de sal esmeraldina. La otra banda, hacia las longitudes de onda correspondientes al rojo, comienza alrededor de los 640 nm y se extiende hacia más allá de los 800 nm. La misma es la atribuida al polarón del polímero conductor. Esto ha sido identificado en PANI masiva y nanoparticulada, confirmando que el polímero se encuentra en su estado conductor.³¹⁰

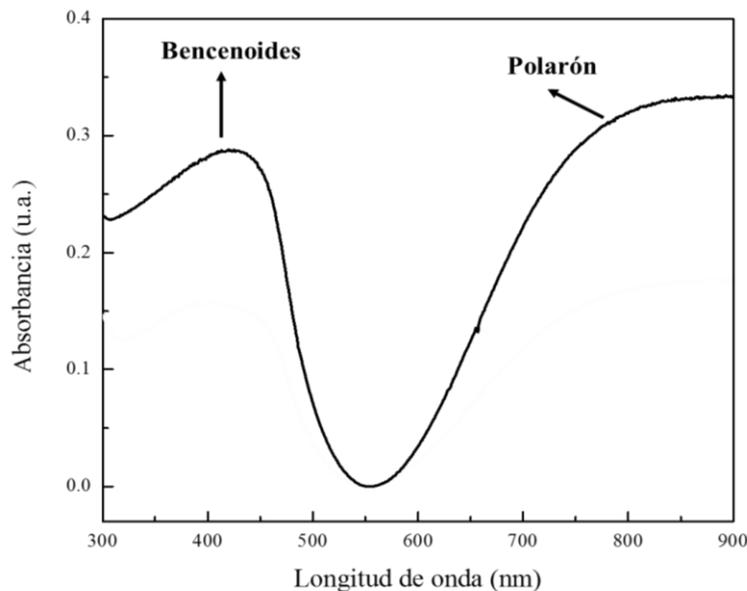


Figura 50. Espectro UV-Visible de NF PANI en agua a pH ácido.

Adicionalmente, se caracterizó por espectroscopia infrarroja a las nanofibras obtenidas. El espectro resultante se muestra en la **Figura 51**.

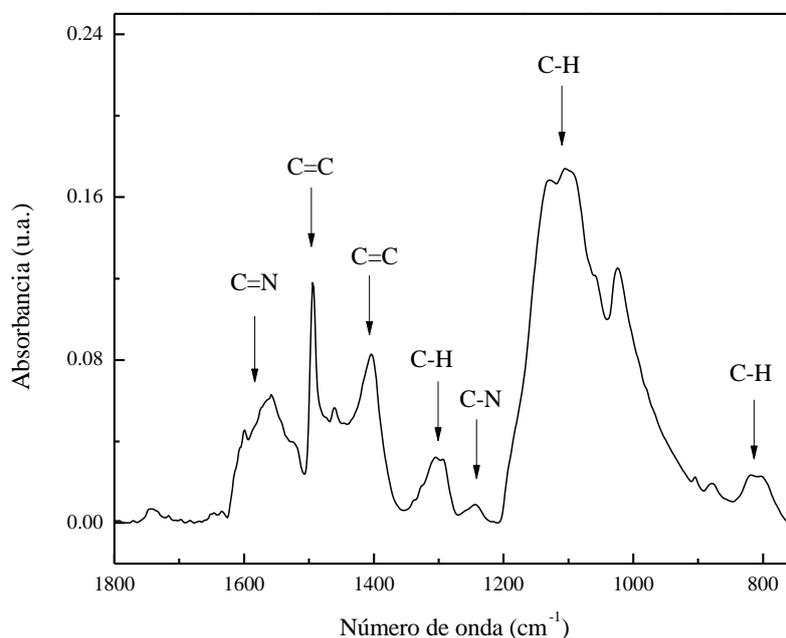


Figura 51. Espectro infrarrojo de las nanofibras de polianilina en estado sal esmeraldina.

Haciendo un análisis de la figura anterior, se puede apreciar que en el espectro infrarrojo de la PANI en forma de nanofibras se encuentran presentes los estiramientos característicos del polímero conductor de C=C aromáticos alrededor de 1600 cm^{-1} y

también en 1403 cm^{-1} y 1492 cm^{-1} . A 1560 cm^{-1} es posible detectar estiramientos C=N, mientras que a 1241 cm^{-1} corresponde a C-N. También se detectan bandas de estiramiento C-H de distinta naturaleza (1297 cm^{-1} , $1106\text{-}1124\text{ cm}^{-1}$) y C-H (aromáticos) a números de onda menores (entre 800 y 806 cm^{-1}).

IV.3.3.3 Modificaciones químicas post-síntesis

Hasta aquí se han estudiado las características y propiedades típicas de NF PANI sintetizadas por el conocido método reportado por Kaner y colaboradores. Sin embargo, es posible realizar modificaciones químicas y funcionalizar las mismas por reacciones conocidas de química orgánica. La finalidad de estas funcionalizaciones es poder luego utilizarlas como materiales para el sensado de cambios de resistividad. Las modificaciones que se llevaron a cabo fueron las mismas que para las películas de PANI mostradas en la sección correspondiente a nivel macroscópico de este capítulo (**sección IV.1.1.1**) Tras ello, se obtuvieron cinco nuevos materiales. Los mismos se enlistan a continuación:

Modificación por adición nucleofílica

- NF PANI-TIO
- NF PANI-CIA
- NF PANI-DOT
- NF PANI-ATF

Modificación con sal de diazonio

- NF PANI-2-CI-ANI

Los materiales fueron caracterizados por microscopía electrónica de barrido. En la **Figura 52** se muestran las fotografías a una magnificación de $5\text{ }\mu\text{m}$. En las mismas se puede apreciar que al formar capas los depósitos de las nanofibras y estar en estado seco, la morfología original de las NF PANI (**Figura 49**) desaparece tras la funcionalización. Sin embargo, como el objetivo de estos materiales será su potencial aplicación en sensores de resistividad, los mismos serán evaluados para realizar un estudio desde el punto de vista de la modificación morfológica, superficial y de tamaño en el sensado de volátiles, tal como se muestra en la sección correspondiente a **Aplicaciones** de este capítulo.

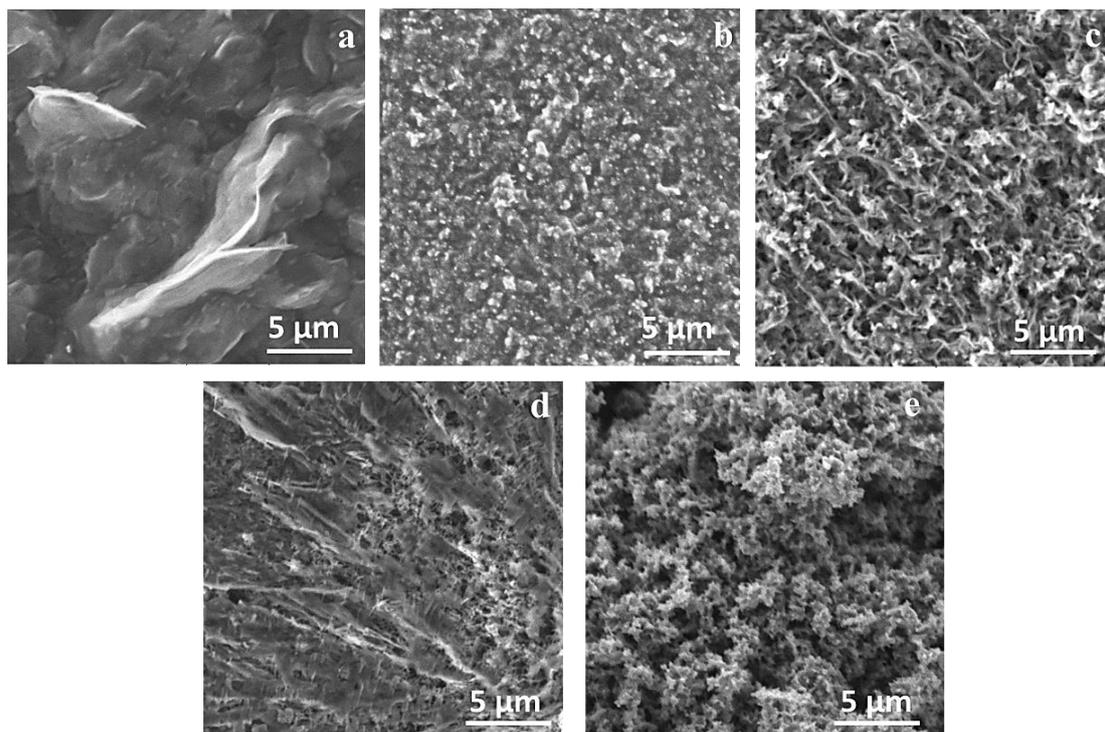


Figura 52. Imágenes SEM de NF PANI luego del proceso de funcionalización: a) PANI-TIO, b) PANI-DOT, c) PANI-ATF, d) PANI-CIA y e) PANI-2-Cl-ANI.

Como parte de la caracterización de las mismas, se tomaron además espectros UV-Visible a cada uno de los productos, los cuales se reportan en la **Figura 53**. Puede apreciarse que la PANI en forma de nanofibras modificada muestra cambios en su absorción en el espectro UV-Visible. Por un lado, aquellas nanofibras en las que se incorpora un anillo aromático (NF PANI-ATF y NF PANI-2-Cl-ANI) muestran un aumento significativo de la absorción en la región del UV cercano. Por otra parte, excepto el caso de PANI-TIO, la banda del polarón (> 600 nm) presenta corrimientos hacia valores de mayor energía y/o disminuye en absorbancia. Este corrimiento indicaría un aumento de la conjugación con un aumento de la conductividad. La banda a ~ 450 nm asignada al catión radical localizado permanece en posición en la mayoría de los espectros a excepción de PANI-2Cl-ANI que sufre un corrimiento hasta ~ 520 nm. Esto indica una disminución de la energía de la transición probablemente relacionada con la conjugación extendida involucrando el grupo azo ($-N=N$).

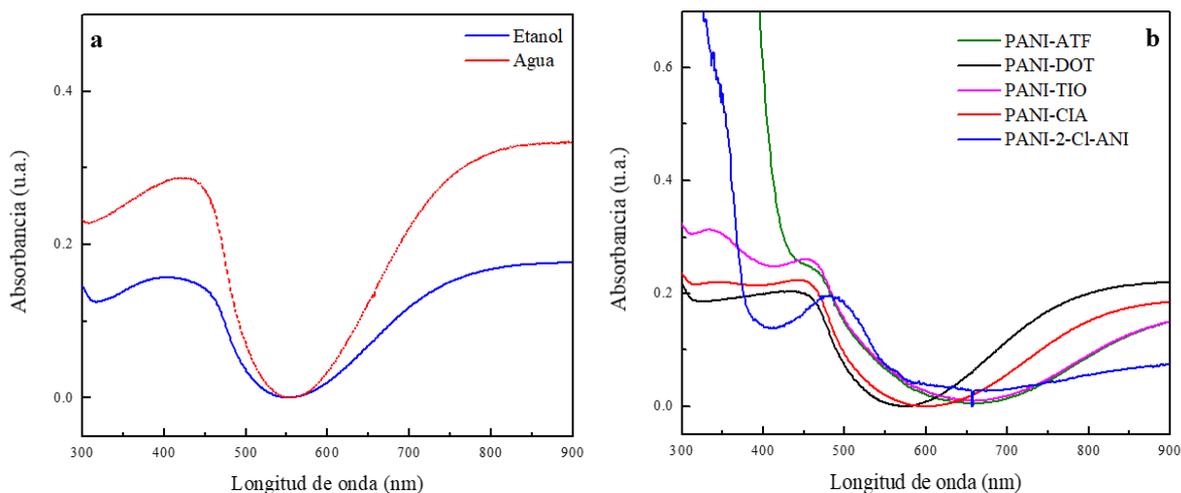


Figura 53. Espectros de absorción UV-Visible para NF PANI: a) comparación en agua y en medio de reacción para la modificación (etanol) y b) tras modificación por reacciones de química orgánica.

IV.3.4 Nanopartículas de polianilina (NP PANI)

IV.3.4.1 Método de obtención por polimerización oxidativa

IV.3.4.1.1 Distribución de tamaños en función del estabilizante

En una primera instancia se sintetizaron las nanopartículas estabilizadas con PVP, PNIPAM y HPC tal como se detalló en el capítulo correspondiente a la parte experimental y se realizó luego la medición de distribución de tamaños mediante la técnica de DLS. En la **Tabla 14** se muestran los valores de diámetros hidrodinámicos obtenidos para las nanopartículas según el tipo de estabilizante utilizado. El pH al que se tomó cada medición es el mismo que se obtiene tras el proceso sintético (aproximadamente 3,5) y la temperatura se mantuvo constante en 25 °C durante este experimento.

Tabla 14. Diámetro hidrodinámico y su correspondiente índice de polidispersidad para NP PANI haciendo uso de diferentes estabilizantes.

Estabilizante	Diámetro hidrodinámico (nm)	Índice de polidispersidad
PVP	220	0,318
PNIPAM	460	0,201
HPC	350	0,440

En la **Figura 54** pueden observarse las distribuciones de poblaciones correspondientes a cada una de ellas medidas por la técnica de dispersión de luz.

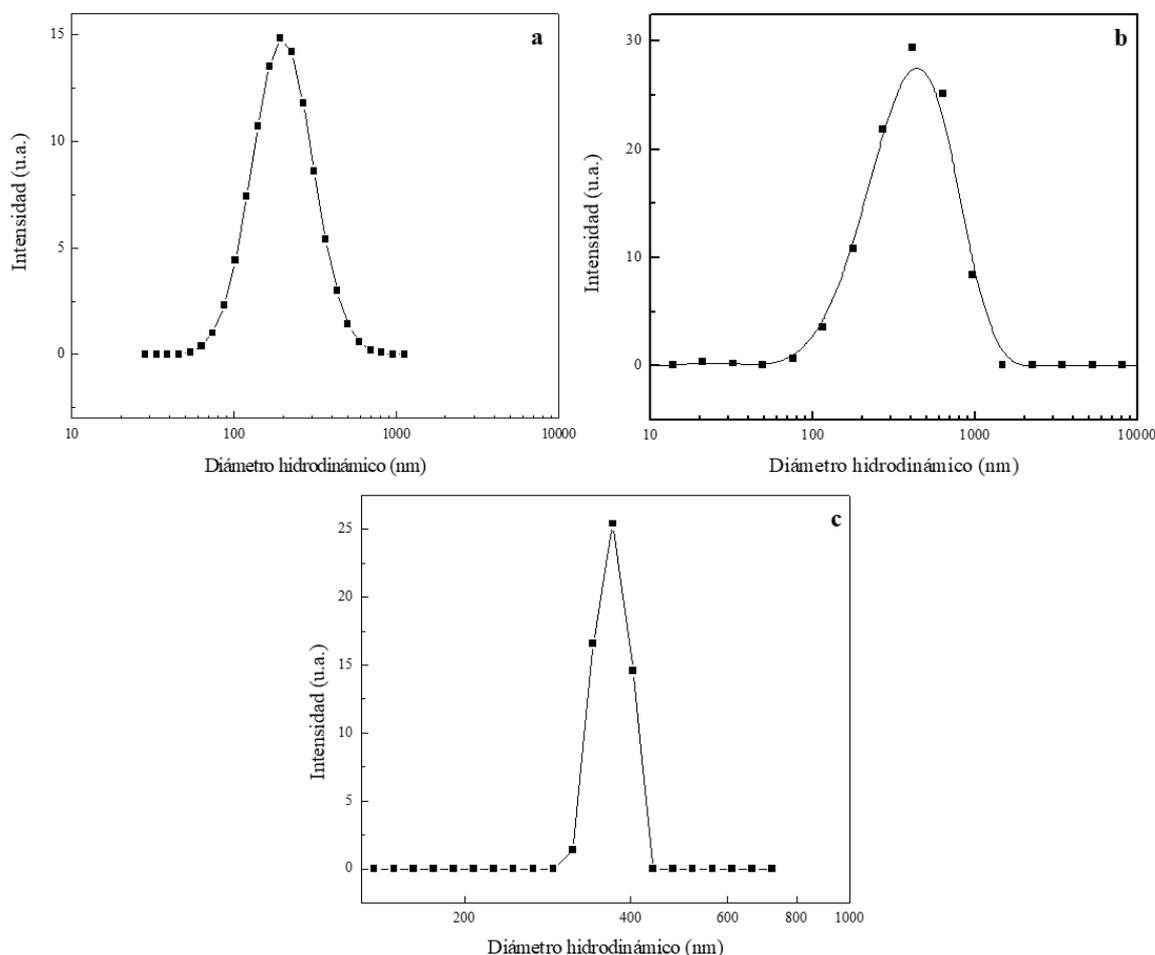


Figura 54. Distribución de tamaños para NP PANI utilizando diferentes estabilizantes poliméricos: a) PVP, b) PNIPAM y c) HPC. Temperatura de medición: 25 °C.

Dado que los parámetros que controlan la cinética de polimerización de la anilina³¹¹ son los mismos en sendos casos, se observa que la variación en el tamaño medio de las nanopartículas depende de la naturaleza del estabilizador utilizado en cada ocasión. Las cadenas de PANI se agregan en solución para formar partículas y el estabilizador polimérico se adsorbe en la superficie de la partícula. Debido a la naturaleza hidrofílica del agente estabilizante alrededor de la partícula, se produce una inhibición de la agregación. De esa manera, es factible la preparación de dispersiones estables de nanopartículas. En ausencia de estabilizador polimérico, las mismas se agregan en partículas de tamaño micrométrico que finalmente precipitan. Sin embargo, de igual manera que sucede con las NP PPy, cada estabilizador polimérico posee una interacción diferente con el polímero

conductor y también con el seno de la solución. Este efecto explica los diferentes tamaños medios (diámetros hidrodinámicos) de las nanopartículas descritas en la **Tabla 14**. El hecho de que el mismo procedimiento produce tamaños de nanopartículas más pequeñas cuando se utiliza PVP como estabilizador en lugar de la PNIPAM sugiere que el primero es más eficaz como estabilizador polimérico. La causa puede adjudicarse a que el grupo pirrolidona de la PVP es capaz de interactuar fuertemente con las cadenas de PANI mediante enlaces a través del hidrógeno.³¹²

Suponiendo que el efecto estabilizador ocurre por adsorción del polímero hidrofílico sobre la nanopartícula en crecimiento, debería ser posible utilizar mezclas de dos estabilizadores para preparar dispersiones de nanopartículas multifuncionales. Es así que se sintetizaron NP PANI con diferentes proporciones de PNIPAM y PVP como agentes estabilizantes, a la misma concentración total que las descritas. En la **Tabla 15** se muestran las diferentes variantes empleadas y los resultados arrojados para la medición de tamaño por la técnica de DLS. En este caso el pH al que se llevó a cabo la medición es también el resultante de la síntesis y la temperatura se mantuvo en 25 °C.

Tabla 15. Diámetro hidrodinámico de las nanopartículas estabilizadas por mezclas de polímeros y su correspondiente índice de polidispersidad.

Relación entre estabilizantes	Diámetro hidrodinámico (nm)	Índice de polidispersidad
100 % PVP	220	0,318
75 % PVP / 25 % PNIPAM	291	0,397
50 % PVP / 50 % PNIPAM	371	0,305
25 % PVP / 75 % PNIPAM	447	0,300
100 % PNIPAM	462	0,201

Se puede apreciar que el diámetro hidrodinámico de las NP PANI aumenta con la cantidad relativa de PNIPAM en la mezcla. Los resultados sugieren que la naturaleza del estabilizador polimérico es realmente determinante en el tamaño final de las nanoesferas.

De esta manera, es posible ajustar el tamaño de la NP PANI modificando la relación de PVP/PNIPAM presente durante la polimerización que da lugar a las partículas.

IV.3.4.1.2 Morfología de las partículas

Las dispersiones de nanopartículas en base a PANI se analizaron por microscopía de fuerza atómica (AFM) y por microscopía electrónica (SEM y TEM) con el objetivo de conocer acerca de su morfología. En la **Figura 55** se muestra una imagen obtenida por AFM para las NP PANI estabilizadas con PVP donde es evidente la morfología esférica de las mismas, con un tamaño acorde a lo estimado por DLS.

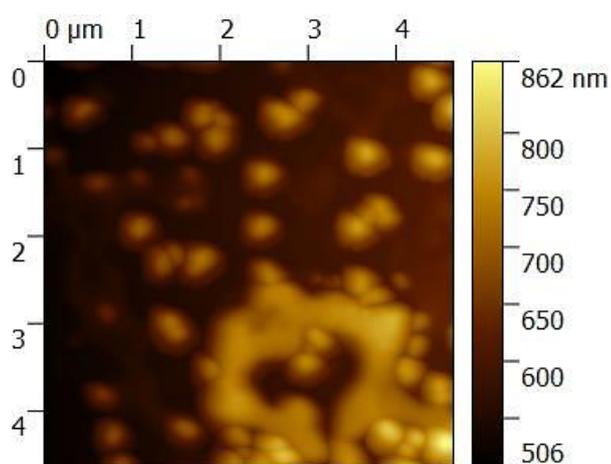


Figura 55. Imagen de NP PANI estabilizadas con PVP obtenida por AFM.

Las imágenes que se obtuvieron por microscopía electrónica de barrido se muestran en la **Figura 56**. El procedimiento se llevó a cabo con las NP PANI estabilizadas con PVP, PNIPAM y HPC. Un aspecto importante de mencionar es el hecho de que suelen observarse diferencias de tamaño al estimar por la técnica de DLS respecto a lo que se aprecia en una imagen SEM, adjudicando este hecho a que la primera técnica es capaz de estimar un diámetro hidrodinámico de partículas totalmente esféricas y es posible que la medición se refiera no sólo a la nanopartícula sino que ésta lleva consigo la capa de estabilizante desplegado en solución que afecta la esfera hidrodinámica cuantificada por dispersión de luz.

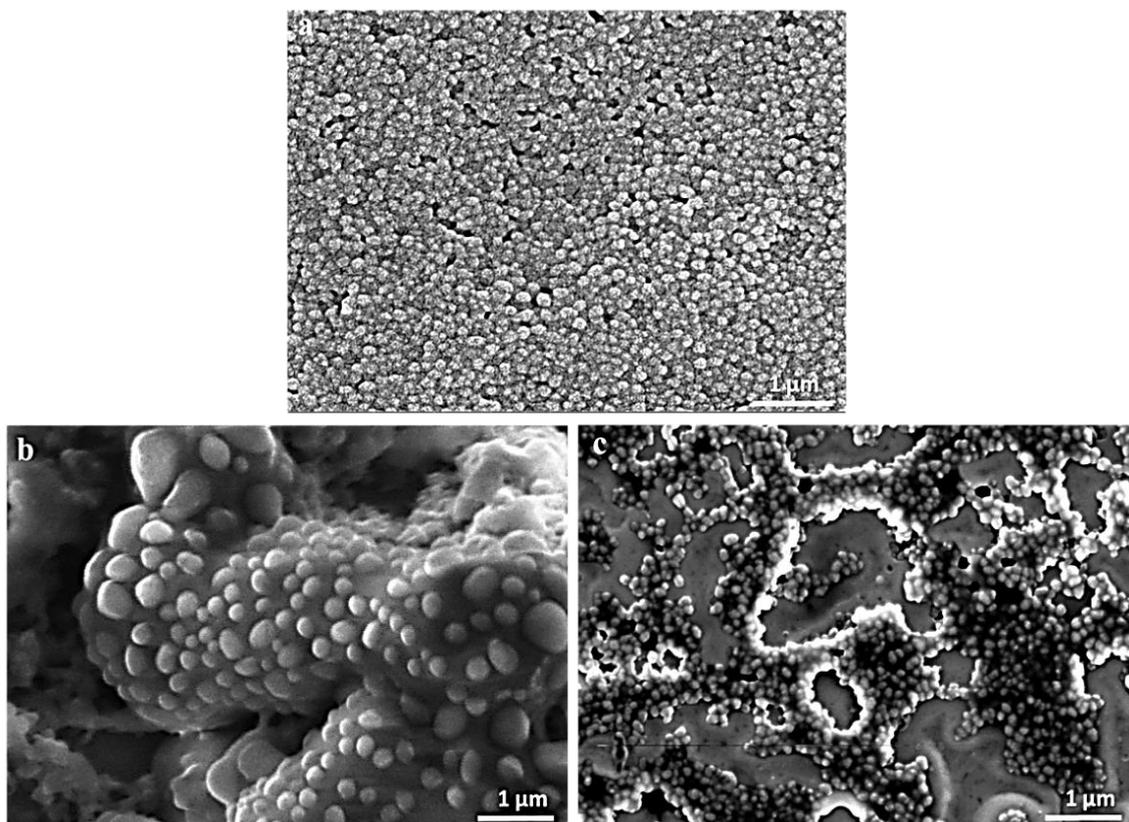


Figura 56. Imágenes tomadas por microscopía SEM para NP PANI utilizando diferentes estabilizantes: a) PVP, b) PNIPAM y c) HPC.

Adicionalmente, se analizaron las NP PANI por microscopía electrónica de transmisión. El estudio se llevó a cabo para comparar las nanopartículas estabilizadas con un agente de características no termosensibles como lo es el PVP respecto del estabilizador termorresponsivo (PNIPAM). Los resultados son mostrados en la **Figura 57**, donde se puede observar que en el caso de las nanopartículas termosensibles la morfología no parece ser perfectamente esférica como se apreció por microscopía SEM.

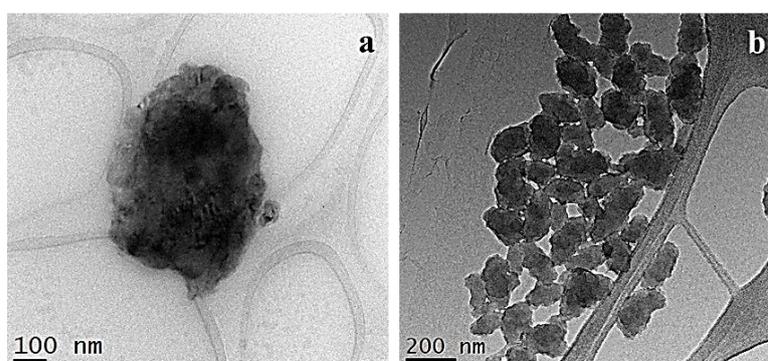


Figura 57. Imágenes obtenidas por microscopía electrónica de transmisión para: a) NP PANI estabilizadas con PVP y b) NP PANI estabilizadas con PNIPAM.

IV.3.4.1.3 Efecto térmico sobre el tamaño de nanopartículas

El efecto de la temperatura sobre la estabilidad de las dispersiones de NP PANI que contienen polímeros termosensibles ha sido estudiado cualitativamente haciendo un seguimiento de la apariencia de las dispersiones al efectuar una variación de la temperatura por DLS. En la **Figura 58** se puede observar el aspecto de las dispersiones preparadas con diferentes agentes estabilizantes a dos temperaturas diferentes: 25 °C (**a**) y 50 °C (**b**). En caso de las nanopartículas estabilizadas con PVP, no muestran un cambio notable con la temperatura, lo cual confirma el hecho de que el mismo no es termosensible. En cambio, las dispersiones con PNIPAM y HPC muestran la agregación cuando se aumenta la temperatura a 50 °C, por encima de la temperatura de transición de fase de PNIPAM (32 °C) y HPC (42 °C). La agregación producida es completamente reversible cuando las dispersiones son sometidas a enfriamiento, llevándolas a temperatura por debajo de 20 °C. Este proceso ha sido repetido varias oportunidades (ciclos calentamiento-enfriamiento) comprobando así dicha reversibilidad.

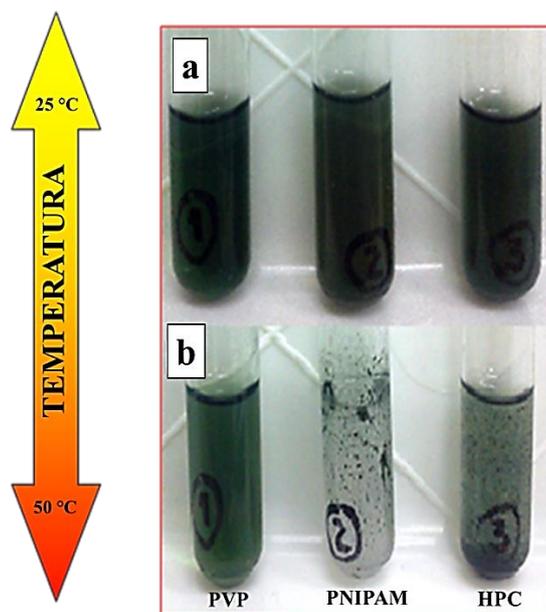


Figura 58. Fotografías de las dispersiones de NP PANI estabilizadas con PVP, PNIPAM y HPC, a diferentes temperaturas: a) 25 °C y b) 50 °C.

Además, una medida cuantitativa del efecto descrito fue realizada utilizando la técnica turbidimétrica. La transmisión de la luz por parte de las dispersiones de NP PANI fue medida a diferentes temperaturas. En la **Figura 59** se observa la transmitancia (en porcentaje) como una función de la temperatura para las distintas NP PANI. Es notorio que

la transmitancia disminuye a temperaturas superiores a 32 °C (NP PANI estabilizadas con PNIPAM) y 45 °C (NP PANI estabilizadas con HPC). En el caso de PNIPAM, la transmitancia disminuye aproximadamente en 45 % respecto al total al calentarse por encima de 32 °C, mientras que para HPC disminuye en un 20 %. En ambos tipos de nanopartículas, el efecto de la temperatura se observa en proximidades de la temperatura de transición de fase del polímero termosensible. Respecto a la dispersión de nanopartículas estabilizadas con PVP, no se evidencian cambios significativos en la transmitancia de la luz que llega a las mismas.

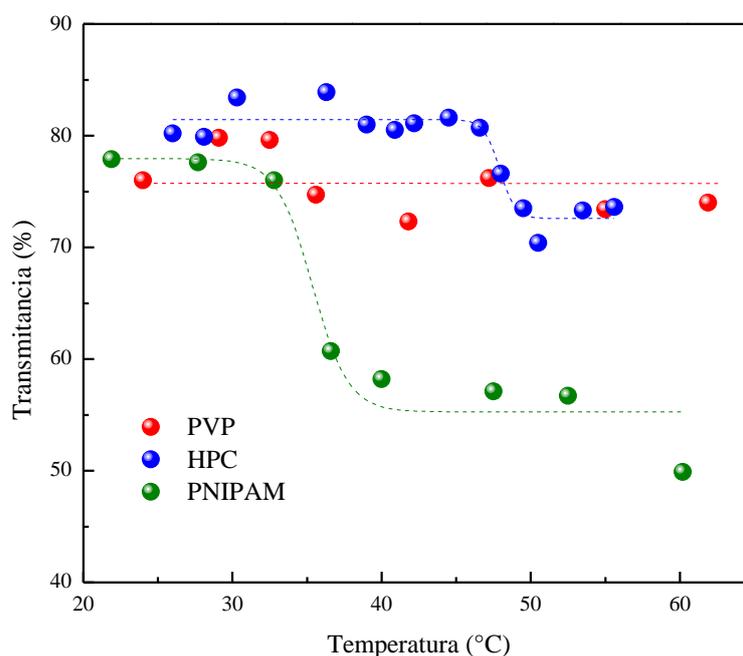


Figura 59. Variación de transmitancia en función de la temperatura para NP PANI estabilizadas con diferentes agentes poliméricos.

Otra manera de detectar el efecto de la temperatura consiste en determinar el tamaño medio de las NP PANI estabilizadas con un polímero termosensible a temperaturas por debajo y por encima de la temperatura de transición de fase (LCST). Para las NP PANI estabilizadas con PNIPAM, se puede observar en la **Figura 60** que varían su diámetro hidrodinámico en función de la temperatura. El mismo disminuye desde 460 a 350 nm cuando el cambio de temperatura se produce desde 25 a 30 °C, mientras que por encima de la LCST (32 °C) el aumento de tamaño ocurre hasta aproximadamente 800 nm. Este resultado confirma el comportamiento observado cualitativamente en las fotografías de la **Figura 58**. Es notable que el tamaño de las partículas disminuye al arribar a la LCST del

estabilizador PNIPAM ya que se produce un cambio desde estado extendido a ovillado de dicho polímero. Luego, a una temperatura superior, el colapso del estabilizador polimérico aumenta la hidrofobicidad de la superficie de las nanopartículas y favorece así la agregación. Las fuerzas de dispersión entre las partículas inducen la formación de agregados de mayor tamaño, tal como se evidencia en el gráfico.

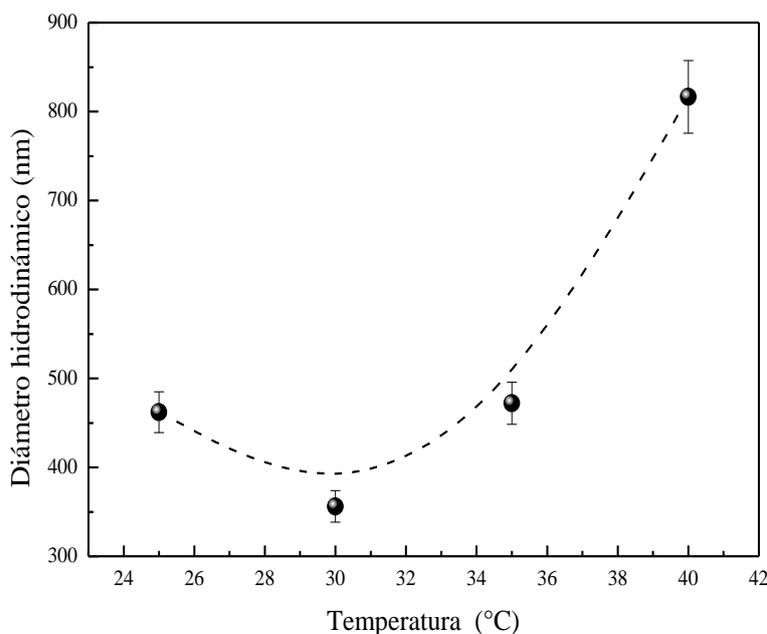
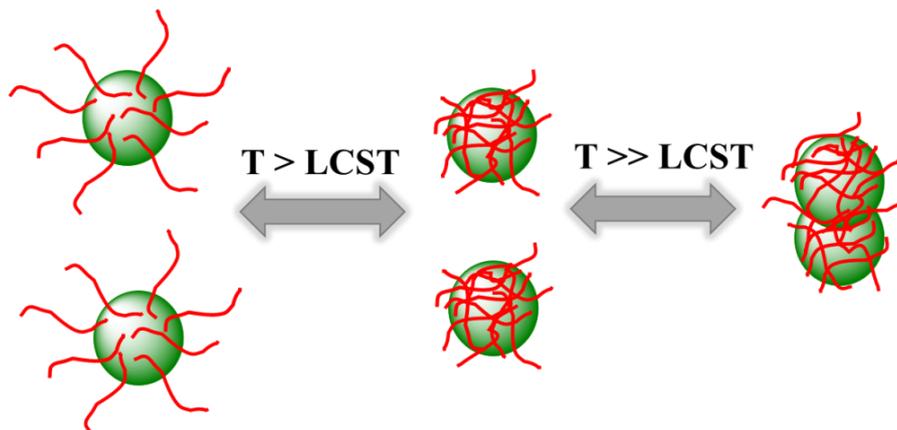


Figura 60. Diámetro hidrodinámico frente a variaciones de temperatura de NP PANI estabilizadas con PNIPAM obtenida mediante estudios de dispersión de luz.

El efecto térmico de las nanopartículas termosensibles se representa en el **Esquema 35**. Cuando la dispersión de nanopartículas se encuentra a una temperatura menor a la LCST del polímero estabilizante, las mismas se encuentran homogéneamente dispersas en solución. Luego, la temperatura del sistema supera la LCST del polímero, puede observarse que las nanopartículas pierden su capacidad de encontrarse dispersas y colapsan. Como las flechas lo indican en el esquema, si la temperatura decrece ocurre el proceso inverso ya que la naturaleza del mismo es totalmente reversible.



Esquema 35. Diagrama ilustrativo de los fenómenos ocurridos en el proceso reversible de estabilización de NP PANI termosensibles.

También se analizó el efecto térmico sobre las dispersiones de nanopartículas según el pH del medio. El calentamiento local de las partículas ocurre en forma diferente, dependiendo del pH al que se encuentra la dispersión. Tal como se puede apreciar en la **Figura 61**, a pH 3 el cambio en el porcentaje de luz transmitida a través de la dispersión es significativo pero mucho menor si se lo compara con el observado cuando se encuentra a pH 7. Seguramente, este efecto está asociado a la capacidad de absorción de luz de las partículas, el cual no es similar en los diferentes valores de pH, indicando tal vez que el acceso a los núcleos de polímero conductor también difiere.

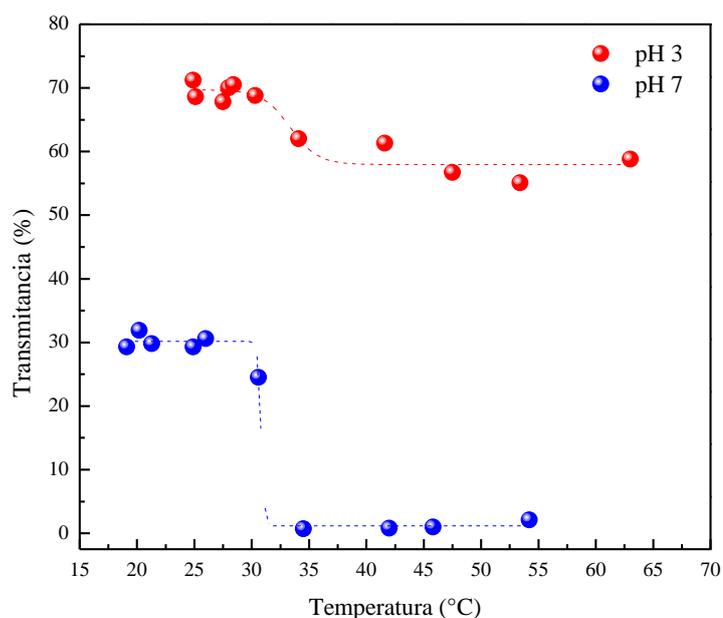


Figura 61. Transmitancia de NP PANI termosensibles frente a variación de temperatura a diferentes pH.

IV.3.4.1.4 Efecto del cambio de pH sobre la absorción UV-Visible

Los estados de oxidación de la PANI (leucoesmeraldina, pernigranilina y esmeraldina) se pueden interconvertir entre ellos por medio de reacciones redox y permite así el estudio del fenómeno utilizando la técnica de espectroscopia UV-Visible.³¹³ La interconversión entre la forma más reducida (leucoesmeraldina) y la media oxidada (base esmeraldina), la cual es semiconductor, o en la forma completamente oxidada (base pernigranilina) provoca también un fuerte cambio de color entre incoloro a azul o a violeta, respectivamente. Además, la forma de base esmeraldina puede ser fácilmente dopada por medio de un tratamiento ácido para obtener esmeraldina protonada que es de color verde intenso y eléctricamente conductora (**Figura 62**).

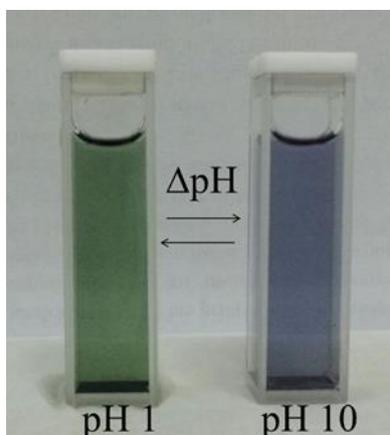


Figura 62. Fotografía de una dispersión de NP PANI a distintos pH donde se evidencia el cambio de estado conductor de la PANI.

El método utilizado para la síntesis de nanopartículas genera las mismas en estado esmeraldina oxidado y se presentan en un estado conductor por ser protonadas. Para probar esto, se muestran los espectros UV-Visible a diferentes pH registrados para las NP PANI estabilizadas con PVP. En la **Figura 63** se pueden observar los cambios en el espectro UV-Visible, estando la variación de pH que de acuerdo con resultados previamente reportados para las películas de PANI en el estado de esmeraldina.³¹⁴

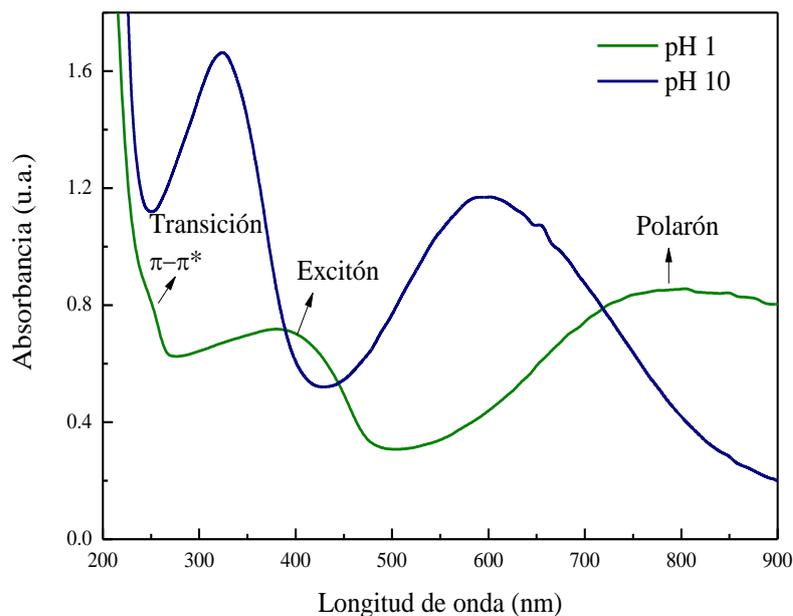


Figura 63. Espectro UV-Visible de las NP PANI a diferentes pH.

Los espectros UV-Visible de la PANI muestran bandas de absorción en la región comprendida entre 300 y 340 nm, así como también en la región entre 550-800 nm. Las NP PANI dopadas en la dispersión a pH 1 muestran las bandas de absorción características a longitudes de onda en la región que corresponde a 320-340 nm y en longitudes de onda a partir de 700 nm debido a la transición $\pi - \pi^*$ de los anillos bencenoides y la formación del polarón, respectivamente. También el espectro muestra una banda adicional a 400-420 nm debido a la transición de los excitones, causada por la transferencia de carga interbanda desde la estructura bencenoide a los restos quinoides de la PANI protonada (transición polarón-bipolarón). La deprotonación de la PANI a pH 10 produce un cambio gradual hacia coloración azul de las bandas de absorción y, especialmente, en la región comprendida entre 800-550 nm para la excitación de nitrógeno de los segmentos quinoides presente en la pernigranilina, forma base. El corrimiento de las bandas es un proceso reversible, mostrando que los iones de la solución externa son accesibles a la cadena polimérica. Además, la amplia banda conductora del PANI se desplaza hacia el rojo en el espectro al ser el pH ácido, dando indicio de la capacidad de absorción de la radiación infrarroja cercana (> 800 nm). Esta propiedad es relevante para la aplicación de las NP PANI en la terapia fototérmica, ya que el pH es un factor clave en los procesos de tipo biológico.^{307, 315} Es importante destacar que los cambios de pH no alteran la dispersabilidad de las nanopartículas tal como se puede apreciar en la fotografía mostrada (**Figura 62**).

IV.3.4.1.5 Efecto fototérmico

IV.3.4.1.5.1 Respuesta frente a irradiación con microondas

Se estudió la variación de transmitancia de la solución de nanopartículas en función del tiempo de irradiación con microondas, manteniendo el tubo en un baño de hielo y agua dentro del horno microondas. En la **Figura 64** se puede observar y estimar que el tiempo necesario para que ocurra la transición de fase de partículas sometidas a microondas es aproximadamente de 5 minutos. Tras este tiempo de irradiación, la transmitancia cae abruptamente (punto de inflexión en el gráfico). Esto indica que ese es el tiempo que tarda en producirse el colapso al alcanzar la LCST de la PNIPAM que estabiliza las partículas.

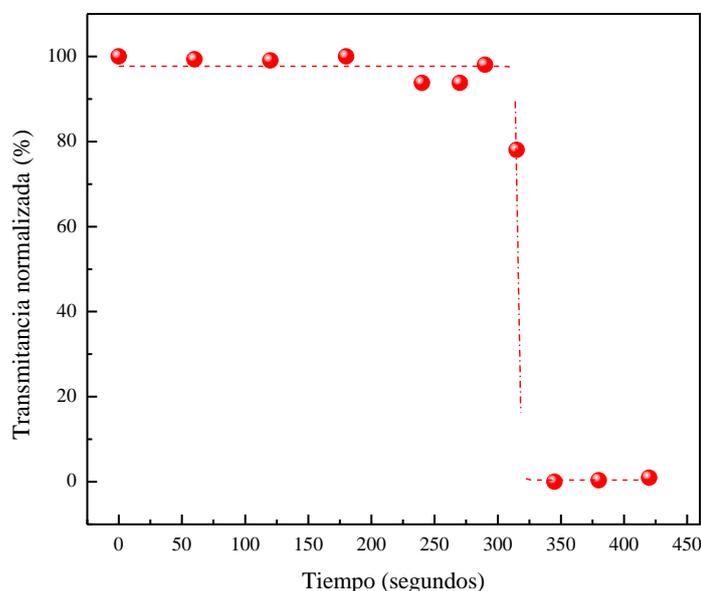


Figura 64. Variación de la transmitancia de NP PANI termosensibles en función del tiempo de irradiación con microondas.

A su vez, tomando una dispersión de NP PANI estabilizadas con PNIPAM se ha medido la transmitancia en función de la temperatura (**Figura 65**). Esto permitió estimar la temperatura de transición de fase de las partículas sintetizadas utilizando PNIPAM como agente estabilizador a través de la irradiación con microondas. Si bien la medición arrojó un valor cercano al conocido, se cree que la diferencia puede deberse a algún tipo de error experimental al operar con la dispersión en el horno microondas, ya que es algo difícil poder medir temperaturas y transmitancia utilizando el sistema de calentamiento por microondas.

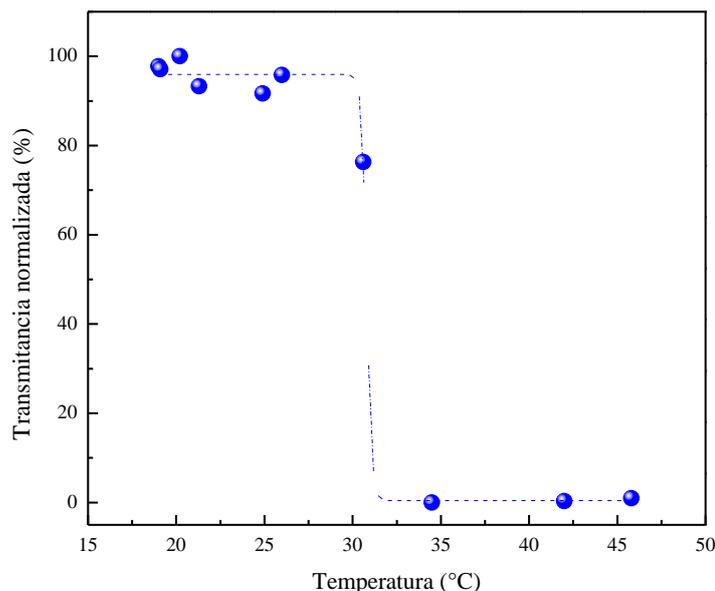


Figura 65. Transmitancia en función de variación de temperatura a partir de medidas turbidimétricas tras irradiación con microondas de la dispersión de NP PANI estabilizadas con PNIPAM.

IV.3.4.1.5.2 Respuesta frente a irradiación con luz NIR

En una primera instancia, utilizando el sistema que se mostró en el **Esquema 28** (**Capítulo III**) se irradiaron dispersiones de NP PANI estabilizadas con 50 % PVP - 50 % PNIPAM a diferentes concentraciones: desde 1,41 mg de NP/mL de solución hasta 3,36 mg de NP/mL. Como puede apreciarse en la **Figura 66**, la dispersión de NP PANI aumenta su temperatura localmente tras ser expuestas a irradiación NIR. El aumento de temperatura es progresivo con el tiempo de irradiación del láser hasta llegar a un momento en el cual existe una tendencia a estabilizarse la temperatura que se mide. Se deduce que a mayor concentración de nanopartículas, el incremento de temperatura es mayor. Esto es muy útil con vistas a la aplicación de la terapia fototérmica, ya que en todos los casos se logra una diferencia de temperaturas (entre la inicial y la final) que es mayor a 4° C, siendo esta diferencia suficiente para poder producir la muerte celular.³¹⁶ El incremento de temperatura no puede atribuirse al calentamiento de agua presente en la solución ya que a un mismo tiempo de irradiación sólo aumenta en ~2 °C. De este modo, se confirma que existe un efecto fototérmico únicamente en presencia del polímero conductor nanoparticulado que es capaz de absorber esa energía NIR y transformarla en calor, calentando el entorno íntimo (calentamiento localizado) de la nanopartícula.

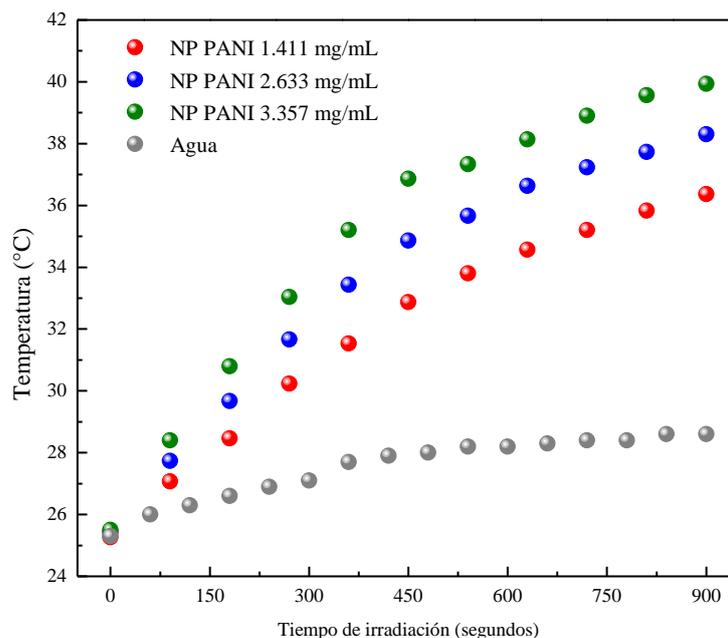


Figura 66. Incremento de temperatura respecto al tiempo de irradiación con luz NIR sobre dispersiones de NP PANI a diferentes concentraciones.

A partir de un estudio turbidimétrico, en la **Figura 67** se demuestra que la dispersión de NP PANI (estabilizada con una mezcla en iguales proporciones de PVP y PNIPAM) a una concentración 2,63 mg/mL presenta una marcada disminución de la transmitancia original al ser irradiada con luz NIR, tras alcanzar la LCST de PNIPAM.

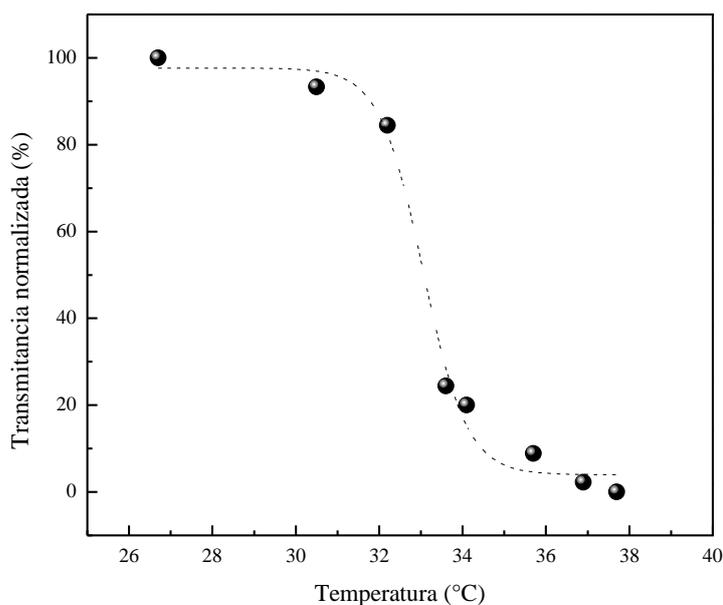


Figura 67. Transmitancia en función de la temperatura para una dispersión de NP PANI estabilizada con PVP-PNIPAM en iguales proporciones al irradiar con NIR.

Por último, se muestra el efecto fototérmico por irradiación con luz NIR evaluado a partir de cambios en la topografía de un depósito de nanopartículas sobre una superficie de mica, observando el fenómeno mediante microscopia de fuerza atómica. En la **Figura 68**, puede apreciarse el cambio que se produce tras 2 minutos de irradiación. Si se compara la imagen (a) respecto a (b), es evidente que las partículas colapsan por su característica de ser termosensibles, generando agregados formados por varias partículas, llegando estos al rango de la escala micrométrica. De esta forma, se comprueba nuevamente la capacidad de las NP PANI de generar efecto fototérmico.

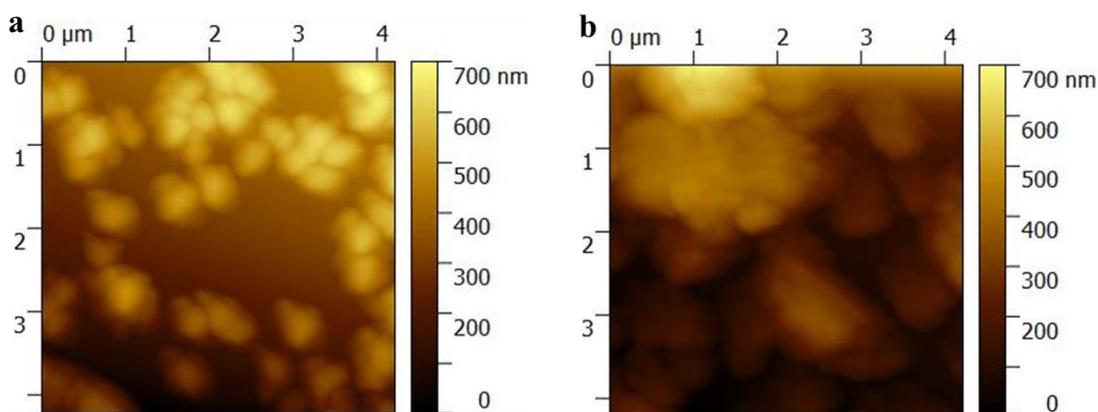
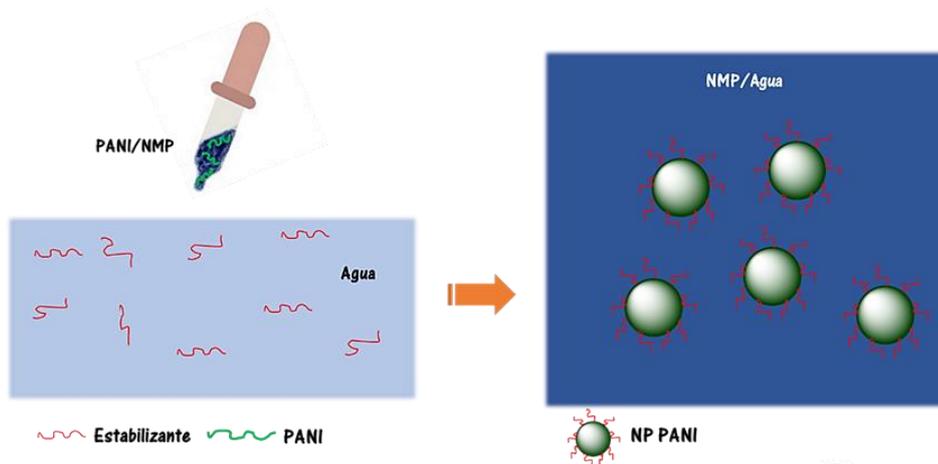


Figura 68. Cambios topográficos inducidos por radiación NIR en una superficie cubierta por NP PANI estabilizadas con PNIPAM: a) antes de irradiar y b) tras 2 minutos de irradiación.

IV.3.5.2 Síntesis por desplazamiento de solvente

IV.3.5.2.1 Obtención de nanopartículas

En este caso, la dispersión de NP PANI se sintetizó mediante el método de desplazamiento de solvente (**sección III.1.4.5**, capítulo de **Materiales y Metodología**) usando agua y NMP como buen solvente y solvente pobre, respectivamente. Se ensayaron diferentes tipos de estabilizadores hidrosolubles, cargados y neutros, para inhibir la aglomeración: polivinilpirrolidona (PVP), sulfato de condroitina (ChS), dodecilsulfato de sodio (SDS), ácido poliacrílico (PAAc), poli(cloruro de vinilo) (PVC) y alcohol polivinílico (PVA). La formación de las nanopartículas por el nuevo método desarrollado se resume en el **Esquema 36**.



Esquema 36. Representación del método de desplazamiento de solvente en la generación de NP PANI.

IV.3.5.2.2 Caracterización morfológica y tamaño

Como ya se ha descrito para los demás tipos de nanopartículas, la PVP es un muy buen agente estabilizante. Sin embargo, en la literatura no se han encontrado reportes que indiquen su utilización en la síntesis de nanopartículas de polianilina usando el método que se propone en esta Tesis Doctoral. Tal como se observa en la **Figura 69**, el gráfico resultante de la medición de DLS muestra una dispersión monomodal típica cuando las partículas se estabilizan con PVP. El análisis de los datos indica la formación de nanopartículas con un diámetro hidrodinámico promedio de 75 ± 35 nm (índice de polidispersidad $< 0,5$).

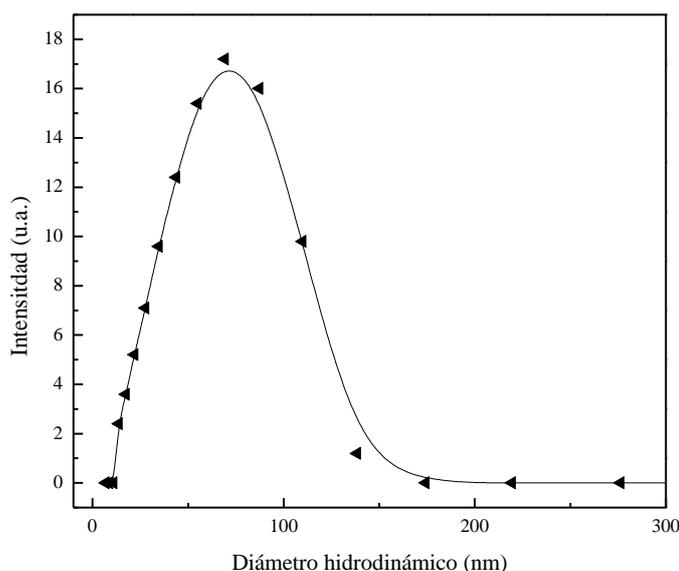


Figura 69. Medida de DLS para NP PANI usando PVP como agente estabilizador.

El material nanoparticulado obtenido también fue analizado utilizando la técnica microscópica SEM. En la **Figura 70** se puede observar las nanopartículas formadas por desplazamiento de solvente utilizando PVP como agente estabilizador. La morfología es totalmente esférica para las NP PANI, siendo además uniforme el tamaño de las mismas.

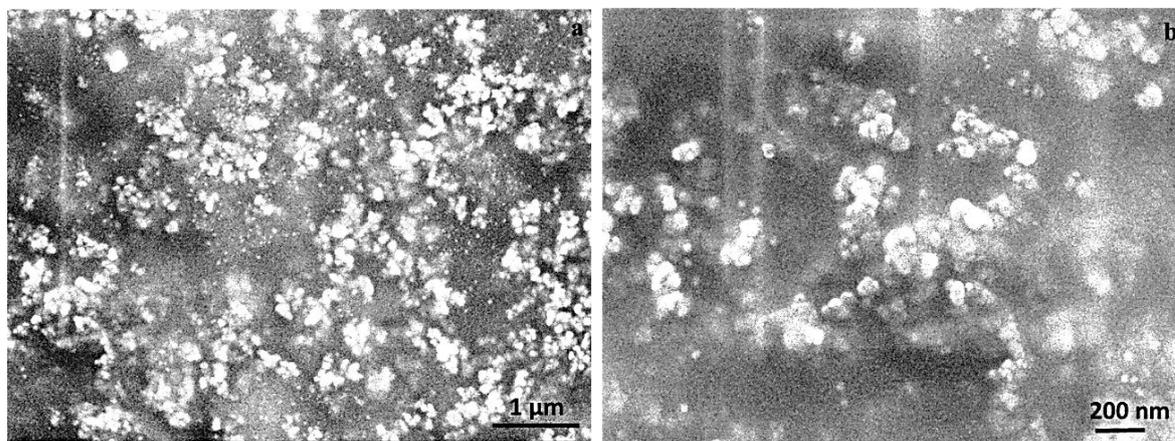


Figura 70. Micrográficas SEM de NP PANI sintetizadas por el método de desplazamiento de solvente sin funcionalización previa. En ambos casos se utilizó PVP como estabilizador. a) Barra de escala: 1 µm. b) Barra de escala: 200 nm.

Utilizando el método de desplazamiento de solvente, se ensayó la capacidad de otros agentes diferentes a las PVP como estabilizantes: ChS, PVA, PAAc, SDS y PVC. En la **Tabla 16**, se reporta el diámetro hidrodinámico obtenido para los diferentes tipos de partículas sintetizadas. Diámetros inferiores a 200 nm sólo se obtuvieron utilizando PVC. En el caso de los otros agentes (ChS, PVA, PAAc y SDS), el tamaño se incrementa pero en ninguno de los casos supera los 300 nm. Los resultados sugieren que trabajando con la misma proporción de estabilizador (2 % p/v) y PANI en NMP (1 % p/v), el tamaño de las partículas sintetizadas queda determinado por la naturaleza del agente estabilizante utilizado en el proceso de síntesis.

Tabla 16. Diámetro hidrodinámico medido por la técnica DLS para NP PANI utilizando diferentes estabilizadores.

Agente estabilizante	Diámetro hidrodinámico (nm)
PVP	100 ± 35
ChS	273 ± 60
SDS	254 ± 26
PAAc	270 ± 90
PVC	173 ± 51
PVA	303 ± 50

IV.3.5.2.3 Efecto de la relación PANI/NMP sobre el tamaño de partícula

Con el objetivo de obtener partículas de diferentes tamaños, se utilizaron métodos alternativos para poder tener así un control sobre esta propiedad. En este sentido, se buscó regular la concentración de PANI y solventes (tanto del bueno como del pobre), manteniendo constante la proporción del agente estabilizante PVP al 2% p/v en todos los casos. Se trabajó con dos métodos diferentes: el Método A implicó una variación de las cantidades relativas de NMP y agua (buen y mal solvente para la PANI, respectivamente) a una concentración constante de PANI (PANI/NMP 1 % p/v); mientras que el Método B se basó en la variación de las cantidades de PANI/NMP, diluyendo a partir de una concentración 1% p/v de PANI en NMP.

Los diámetros hidrodinámicos obtenidos para las NP PANI utilizando ambos métodos se muestran en la **Figura 71**, siendo las dos concentraciones finales de PANI/NMP 0,01 y 0,05 % p/v. Analizando estos resultados, es notable que cuando se hace uso del Método A, el diámetro hidrodinámico de las partículas se reduce desde 104 nm hasta ~70 nm al aumentar la proporción de PANI/NMP. Sin embargo, cuando se utiliza el Método B, los diámetros hidrodinámicos son similares en ambos casos, obteniendo partículas de ~ 50 nm. Por lo tanto, el cambio de la proporción entre el buen y el mal solvente (NMP y agua, respectivamente) permiten regular el tamaño de la partícula dependiendo del método utilizado, resultando en un procedimiento muy simple. Esta es una de las principales ventajas que presenta el método de desplazamiento de solvente (nanoprecipitación), ya que permite controlar otras variables experimentales como concentraciones de los

estabilizantes y las proporciones de los solventes para establecer un tamaño de partículas específico. En cambio, las NP PANI obtenidas por polimerización oxidativa partiendo del monómero ANI en un medio acuoso no admiten esta posibilidad de control de tamaño sin variación del agente estabilizante.

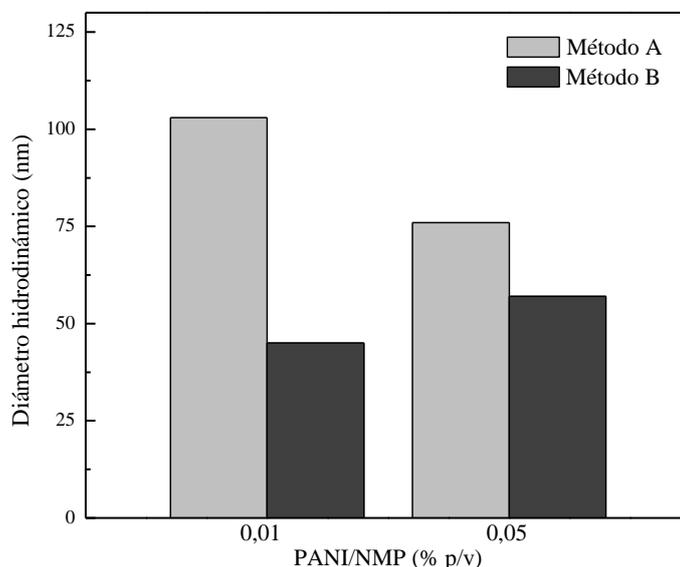


Figura 71. Comparación de diámetros hidrodinámicos de las NP PANI obtenidas por dos métodos diferentes.

IV.3.5.2.4 Funcionalización y conjugación

Como se mencionó en la sección experimental, la PANI puede ser funcionalizada y conjugada con DNS-Cl previo a la generación de nanopartículas mediante el método de desplazamiento de solvente. De esta manera, se añade a las nanopartículas conductoras una nueva propiedad como lo es la capacidad de presentar fluorescencia. De acuerdo con el **Esquema 25**, la primera etapa fue la funcionalización de PANI para generar el enlace químico entre los grupos amino del anillo aromático de PANI y el grupo tiol de la cisteamina. En la siguiente etapa, la PANI modificada es capaz de reaccionar con el grupo -Cl del cloruro de dansilo mediante una reacción de sustitución sobre el grupo amino terminal. Tras esto, se obtuvieron nanopartículas conjugadas (NP PANI/DNS-Cl) por el método de desplazamiento de solvente usando PVP como agente estabilizante tal como se representó en el **Esquema 24**.

La técnica espectroscópica FT-IR se utiliza normalmente para identificar cambios en los enlaces tras haber realizado modificaciones químicas. Los espectros infrarrojos de PANI, DNS-Cl y PANI modificada con DNS-Cl se muestran en la **Figura 72**. Las bandas

de absorción en infrarrojo típicas de la PANI masiva son visibles en el espectro. A 1570 cm^{-1} ; se puede apreciar también la vibración de estiramiento C=N de los anillos de quinonaimina; se observó una vibración de estiramiento C = C correspondiente a los anillos aromáticos a 1490 cm^{-1} ; y la banda C-N se asignó a 1242 cm^{-1} . También se observaron vibraciones de C-H aromáticos: 1298 cm^{-1} (estiramiento), 1135 cm^{-1} (flexión en el plano) y 800 cm^{-1} (flexión fuera del plano). El espectro del fluoróforo muestra la banda de vibración más distintiva de la molécula localizada a 1367 cm^{-1} (vibración asimétrica) y además a 1180 cm^{-1} (vibración simétrica) correspondiente a los grupos $-\text{SO}_2\text{Cl}$. Con el fin de corroborar la modificación sintética de PANI, se muestra el espectro de PANI modificada con DNS-Cl. Es notable la persistencia de diferentes picos correspondientes a las vibraciones correspondientes a la PANI. Sin embargo, una banda muy intensa a 1367 cm^{-1} permite verificar la presencia del grupo sulfonilo ($-\text{SO}_2$) y una banda ancha en el rango entre $900\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ debido al solapamiento o superposición de bandas.

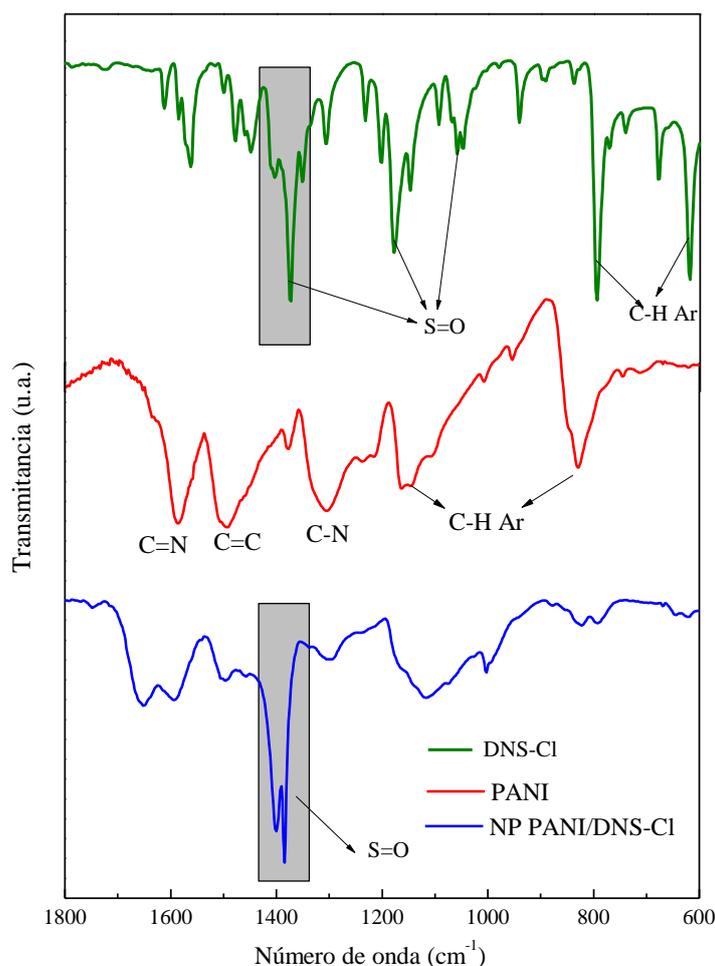


Figura 72. Espectro infrarrojo para DNS-Cl, PANI masiva y NP PANI/ DNS-Cl.

IV.3.5.2.4.1 Morfología de las NP PANI funcionalizadas

Tras la funcionalización y conjugación de la PANI lineal, se sintetizaron las nanopartículas fluorescentes mediante el método de desplazamiento de solvente utilizando PVP como agente estabilizante. Haciendo nuevamente uso de la técnica de dispersión de luz dinámica fue posible corroborar el diámetro hidrodinámico de las nanopartículas funcionalizadas. En este caso, para las NP PANI/DNS-Cl se obtuvo un diámetro medio de 104 nm y un índice de polidispersidad de 0,323 tal como puede observarse en la **Figura 73**. Es importante destacar que el tamaño es similar que el de las nanopartículas sin fluoróforo cuando se estabiliza con PVP en una relación 0,01 % p/v PANI/NMP utilizando el Método A descrito anteriormente. Evidentemente, la conjugación con el fluoróforo extrínseco previo a la generación de las partículas no afecta al diámetro hidrodinámico final.

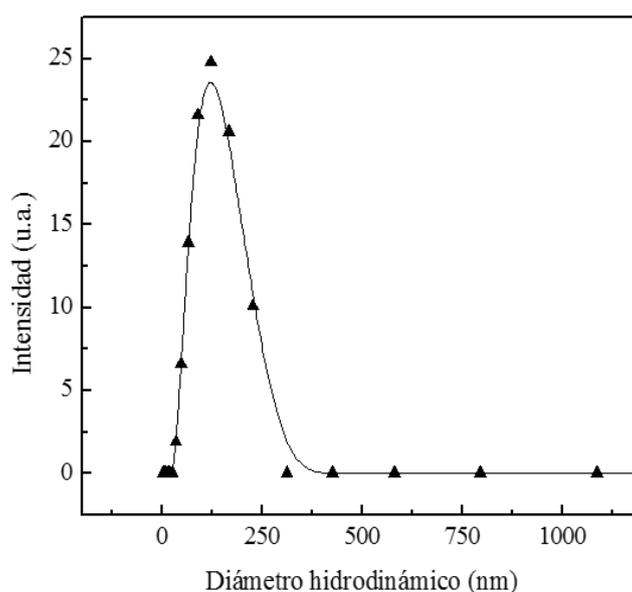


Figura 73. Gráfico obtenido por la técnica de dispersión de luz dinámica para NP PANI funcionalizadas con el fluoróforo extrínseco DNS-Cl.

Por otra parte, las imágenes SEM (**Figura 74**) muestran como la morfología esférica y el tamaño de las partículas está en concordancia con la medición arrojada por DLS.

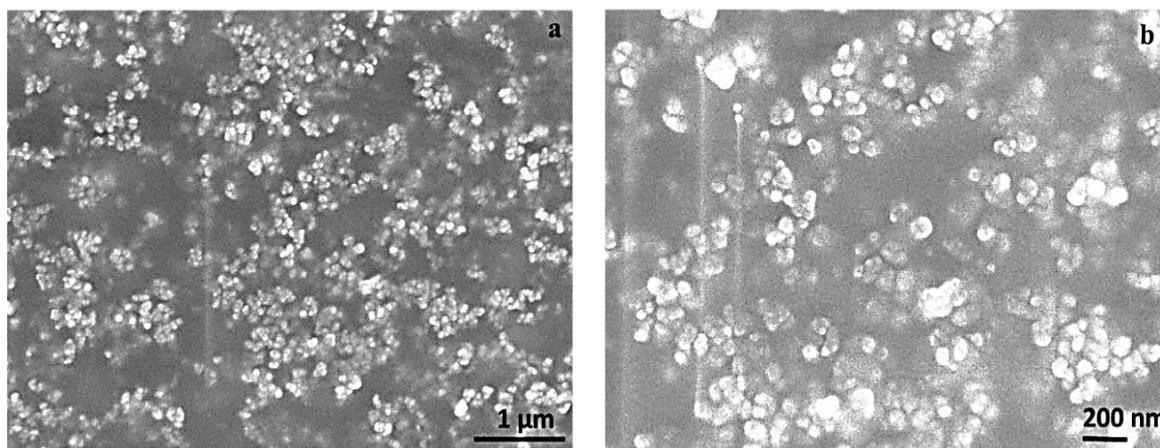


Figura 74. Imágenes tomadas por microscopía electrónica de barrido correspondientes a NP PANI/DNS-Cl sintetizadas por el método de desplazamiento de solvente. En ambos casos se utilizó PVP 2 % p/v como estabilizante. Barra de escala: 1 μm (a) y 200 nm (b).

IV.3.5.2.4.2 Caracterización fisicoquímica de NP PANI/DNS-Cl

Ya se ha estudiado que, al igual que la PANI masiva, las nanopartículas presentan también propiedades conductoras en medio ácido cuando se sintetizan por polimerización oxidativa a partir del monómero, presentando además sensibilidad a variaciones de pH del entorno. Para las nanopartículas que se sintetizaron por desplazamiento de solvente, se realizó también el estudio de las propiedades electrónicas por la técnica UV-Visible.

En la **Figura 75** es posible apreciar las bandas de absorción típicas del polímero conductor nanoparticulado (NP PANI) a 300-350 nm correspondientes a la transición $\pi-\pi^*$ de los anillos bencenoides y la fuerte absorción de la banda del polarón (desde 700 nm a la región NIR) al encontrarse la PANI en forma de sal esmeraldina. Se muestran junto a los espectros UV-Visible de las NP PANI, los correspondientes a las NP PANI/DNS-Cl y al DNS-Cl, a pH 7 y pH 2. La solución de DNS-Cl presenta una banda típica a 320 nm cuando el pH es 7, desplazándose a 400 nm cuando el pH del medio se vuelve ácido. La banda no conductora de NP PANI se observa a pH 7 (**a**) con un máximo de alrededor de 650 nm, mientras que en el otro caso la banda conductora aparece a partir de 700 nm a pH 2 (**b**). En el caso de NP PANI/ DNS-Cl, la banda a 330 nm es más ancha por superposición entre NP PANI y bandas del DSN-Cl a pH 7, mostrando un comportamiento similar a pH 2. Las bandas no conductoras y conductoras de NP PANI son claramente observadas en la región correspondiente según el pH de la solución. Este hecho confirma que la estructura y las propiedades electrónicas de la PANI se mantienen después de la funcionalización con

DNS-Cl y el método de desplazamiento de solvente utilizado para obtener NP PANI/DNS-Cl. Lo expuesto es muy importante con vistas a la irradiación del nanomaterial usando NIR para generar efecto fototérmico.

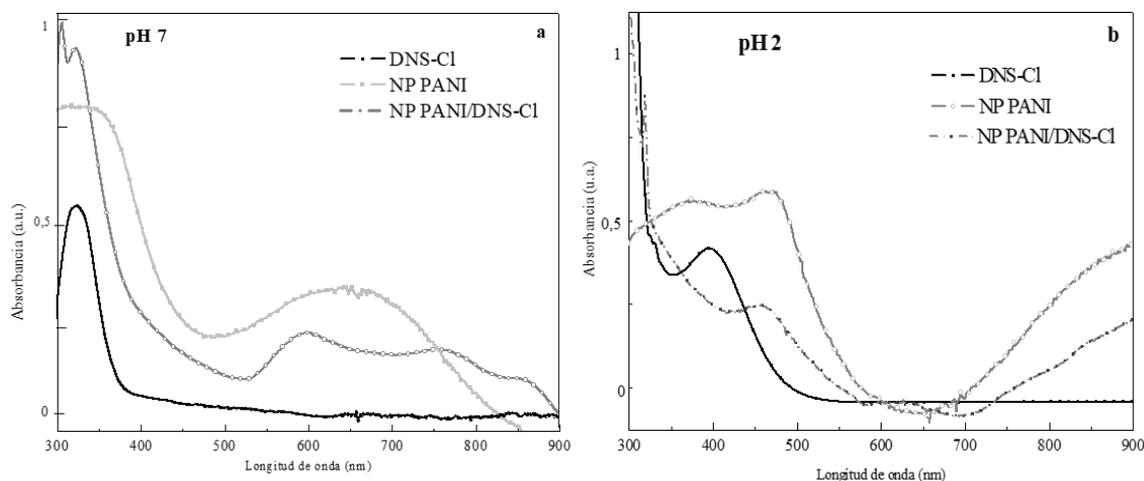


Figura 75. Espectros UV-Visible para DNS-Cl, NP PANI y NP PANI/DNS-Cl: a) pH 7 (20 °C) y b) pH 2 (20 °C).

Luego de haber realizado los estudios de absorción UV-Visible, se verificaron las propiedades fluorescentes de las nanopartículas funcionalizadas con el fluoróforo extrínseco DNS-Cl. En la **Figura 76** se muestra una fotografía de una dispersión de NP PANI/DNS-Cl y se la compara con las nanopartículas sin modificar, al ser irradiadas con luz UV.

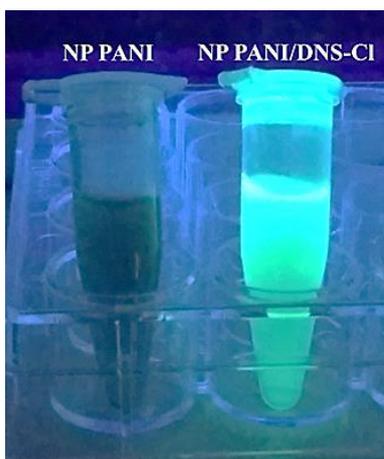


Figura 76. Comparación del aspecto de dispersiones de NP PANI sin funcionalizar y funcionalizadas con DNS-Cl al ser irradiadas con luz UV.

El comportamiento de DNS-Cl utilizando mezcla agua y NMP como solvente fue explorado al excitar en el máximo del espectro de absorción ($\lambda_{exc} = 320$ nm). Como puede observarse en la **Figura 77a**, la intensidad máxima de la banda de emisión del DNS-Cl se desplaza dependiendo del pH de la solución desde 431 nm a 503 nm (70 nm) cuando el pH disminuye desde un valor 10 a 2 unidades. Es claramente un efecto de desplazamiento batocrómico debido a la influencia del cambio en el entorno del compuesto fluorescente.³¹⁷

Se llevó a cabo un estudio similar utilizando las nanopartículas modificadas con el fluoróforo (**Figura 77b**). En este caso no se detecta un desplazamiento en la banda de emisión de fluorescencia al variar el pH. Este fenómeno podría explicarse teniendo en cuenta que el DNS permanece unido a la PANI conformando el núcleo de la nanopartícula, actuando el polímero conductor como una especie de pantalla o escudo. Por lo tanto, sólo las partículas sin funcionalizar (NP PANI) son capaces de detectar los cambios de pH en el medio ambiente.

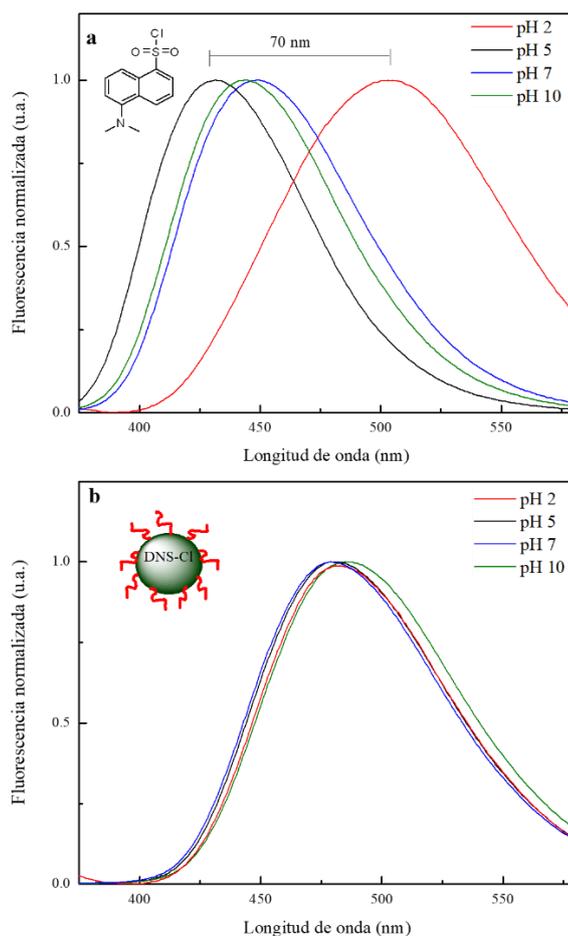


Figura 77. Espectros de emisión de fluorescencia normalizados a diferentes pH: a) DNS-Cl en NMP y b) NP PANI/DNS-Cl en NMP/agua. Temperatura: 20 °C.

A su vez, al analizar el desplazamiento de la intensidad máxima del DNS-Cl (en NMP/agua) frente a la variación del pH (**Figura 78**), el pH interno de las NP PANI podría estimarse considerando el máximo de emisión de NP PANI/DNS-Cl determinado alrededor de 480-490 nm. Por lo tanto, resulta que el pH interno de las NP PANI es $9,6 \pm 0,2$ cuando se sintetizan por el método de desplazamiento de solvente. Considerando las propiedades fluorescentes de este tipo de NP PANI, las mismas podrían llegar a ser utilizadas como sonda para seguir la movilidad dentro de un sistema biológico o como agentes de maracado en imágenes para aplicaciones biológicas, independiente del pH del medio. Además, si se consideran las propiedades conductoras podría ser útil para inducir la terapia fototérmica.

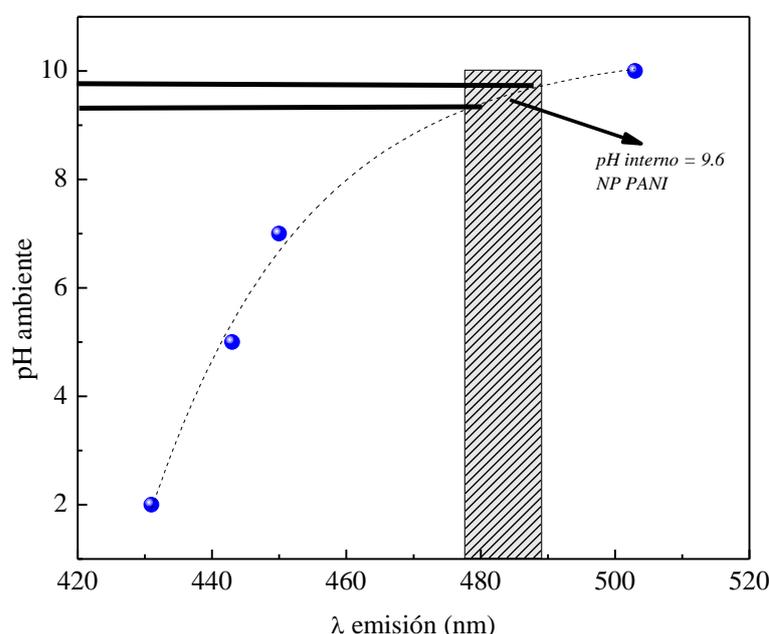


Figura 78. Gráfico de pH del ambiente respecto a la longitud de onda de emisión de DNS-Cl. Identificación del pH interno de NP PANI.

IV.3.5.2.4.3 Efecto fototérmico por absorción de NIR y de radiofrecuencias

Tal como se llevó a cabo con los nanomateriales estudiados en secciones previas, se ensayó la capacidad de las NP PANI/DNS-Cl para generar calor localizado a partir de la absorción de energía.

En una primera instancia, se estudió la aplicación de irradiación NIR sobre la dispersión acuosa de nanopartículas a pH ácido. Los cambios observados se comparan con el agua como control del sistema. Los resultados obtenidos (**Figura 79**) revelan que bajo la irradiación NIR las nanopartículas en cuestión incrementan su temperatura local en $8\text{ }^{\circ}\text{C}$,

mientras que en el agua se observa un aumento de sólo 3 °C. Este hecho permite corroborar que el polímero conductor en forma de nanopartículas es capaz de producir efecto fototérmico. Obsérvese que la curva es un gráfico típico observado en este tipo de experimentos aplicados a nanomateriales.³¹⁸ Tras sólo 10 minutos de irradiación a baja potencia, la temperatura alcanza el valor máximo (~8 °C) y se mantiene estable durante el tiempo hasta finalizar la medición.

Por otro lado, se estudió la variación de temperatura de las NP PANI/DNS-Cl expuestas a la acción de radiofrecuencias. Como se evidencia en la **Figura 80**, la temperatura se incrementa aproximadamente 40 °C hasta llegar a un valor estable, demostrando que efectivamente existe un marcado efecto fototérmico por irradiación con radiofrecuencias, siendo mucho mayor que el logrado en el caso de las micropartículas PNIPAM-co-2%AMPS, conteniendo el polímero conductor semi-interpenetrado.

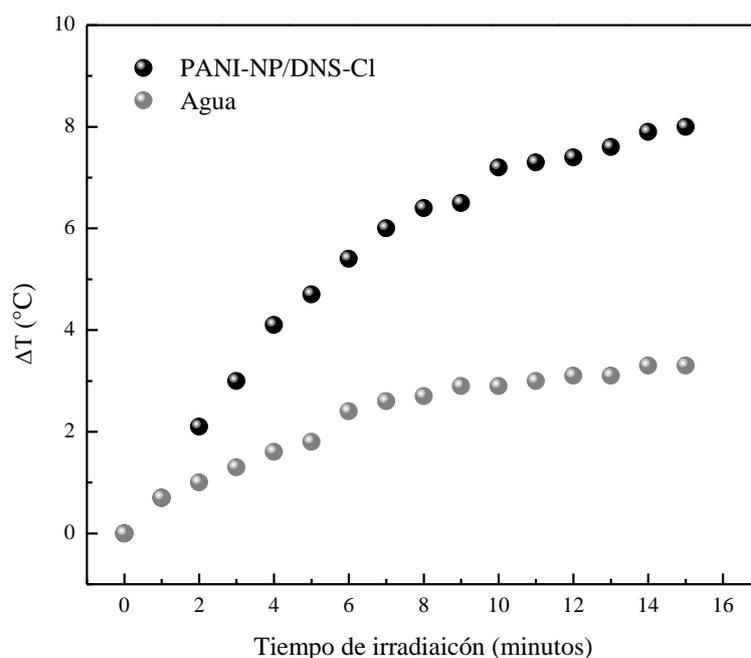


Figura 79. Incremento de temperatura por irradiación NIR de NP PANI/DNS-Cl. Temperatura inicial: 20 °C.

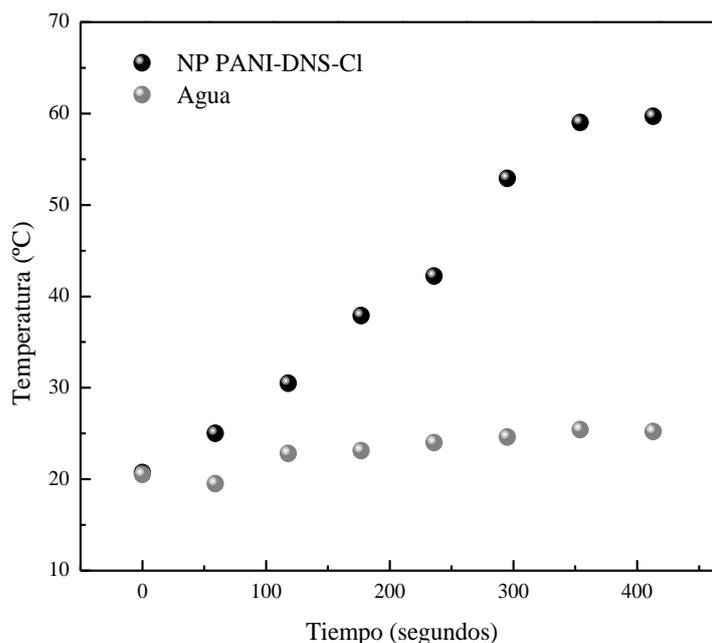


Figura 80. Incremento de temperatura por irradiación con radiofrecuencias de NP PANI/DNS-Cl.

IV.3.5 Generación de materiales nanocompuestos

En secciones previas se demostró que es posible incorporar un polímero conductor a una matriz de hidrogel termosensible. Dichos materiales se obtuvieron a partir de la incorporación del PANI lineal disuelta en un solvente adecuado y luego hinchando el hidrogel termosensible PNIPAM-co-2%AMPS en la solución, y en otro caso a partir de la polimerización *in situ* para dar lugar a PANI dentro de una matriz de hidroxipropilcelulosa. A su vez, se han sintetizado y caracterizado nano-objetos conductores en base a PANI y PPy.

Para generar materiales nanocompuestos se propone ahora un nuevo procedimiento que consta en el crecimiento del hidrogel termosensible PNIPAM-co-2%AMPS alrededor de diferentes nano-objetos, utilizando dispersiones diluidas de NF PANI, NP PANI y NP PPy, estabilizando las partículas esféricas con PVP. Es decir, el medio de reacción para que ocurra la polimerización y de lugar al hidrogel (comúnmente en agua) se reemplaza por las dispersiones de nano-objetos conductores. En la **Figura 81** se muestran fotografías de los nuevos materiales nanocompuestos generados: HG-NF PANI, HG-NP PANI e HG-NP PPy.

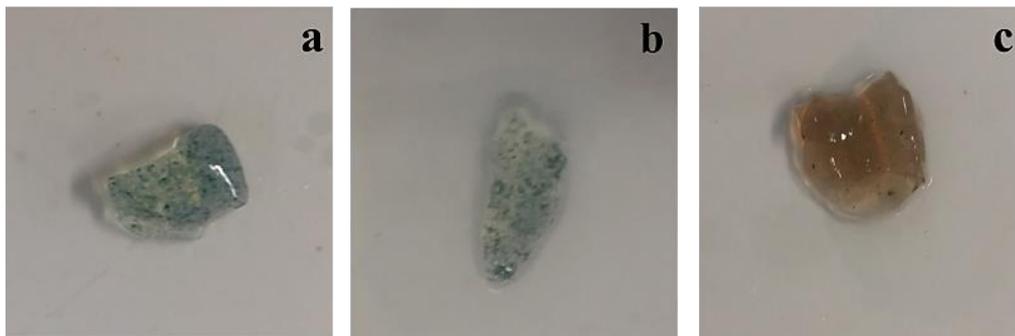


Figura 81. Fotografías correspondientes a piezas de los diferentes materiales nanocompuestos sintetizados: a) HG-NF PANI, b) HG-NP PANI y c) HG-NP PPy.

IV.3.5.1 Morfología y composición

Como primera caracterización de los materiales nanocompuestos generados, se procedió a analizar los mismos mediante la técnica de microscopía electrónica de barrido. Debido a que las muestras son conductoras se pudo observarlas sin necesidad de metalizar las secciones delgadas de material, solo depositándola sobre la cinta conductora.

En la **Figura 82** se muestran las imágenes SEM de los tres tipos de nanocompuestos sintetizados. Nótese que tanto en **(a)** como en **(b)**, se puede dilucidar la existencia de morfología fibrilar aunque están agregadas formando estructuras de tamaño micrométrico. En tanto que en **(c)**, **(d)**, **(e)** y **(f)** pueden detectarse esferas, las cuales se asume que son nanopartículas formando agregados de mayor tamaño.

El análisis termogravimétrico es útil para poder dilucidar cómo se descomponen los polímeros o las pérdidas de masa que sufren a medida que se someten a un calentamiento controlado. La rampa de calentamiento utilizada para poder analizar los cambios o pérdidas de masa de los nanocompuestos fue de 10 °C/min hasta llegar a los 600 °C, donde se asume que ya no habría más descomposición o pérdidas. En la **Figura 83** se muestran los gráficos de pérdida de masa en función del aumento de temperatura y la derivada de la masa respecto a la temperatura para los tres materiales nanocompuestos en cuestión.

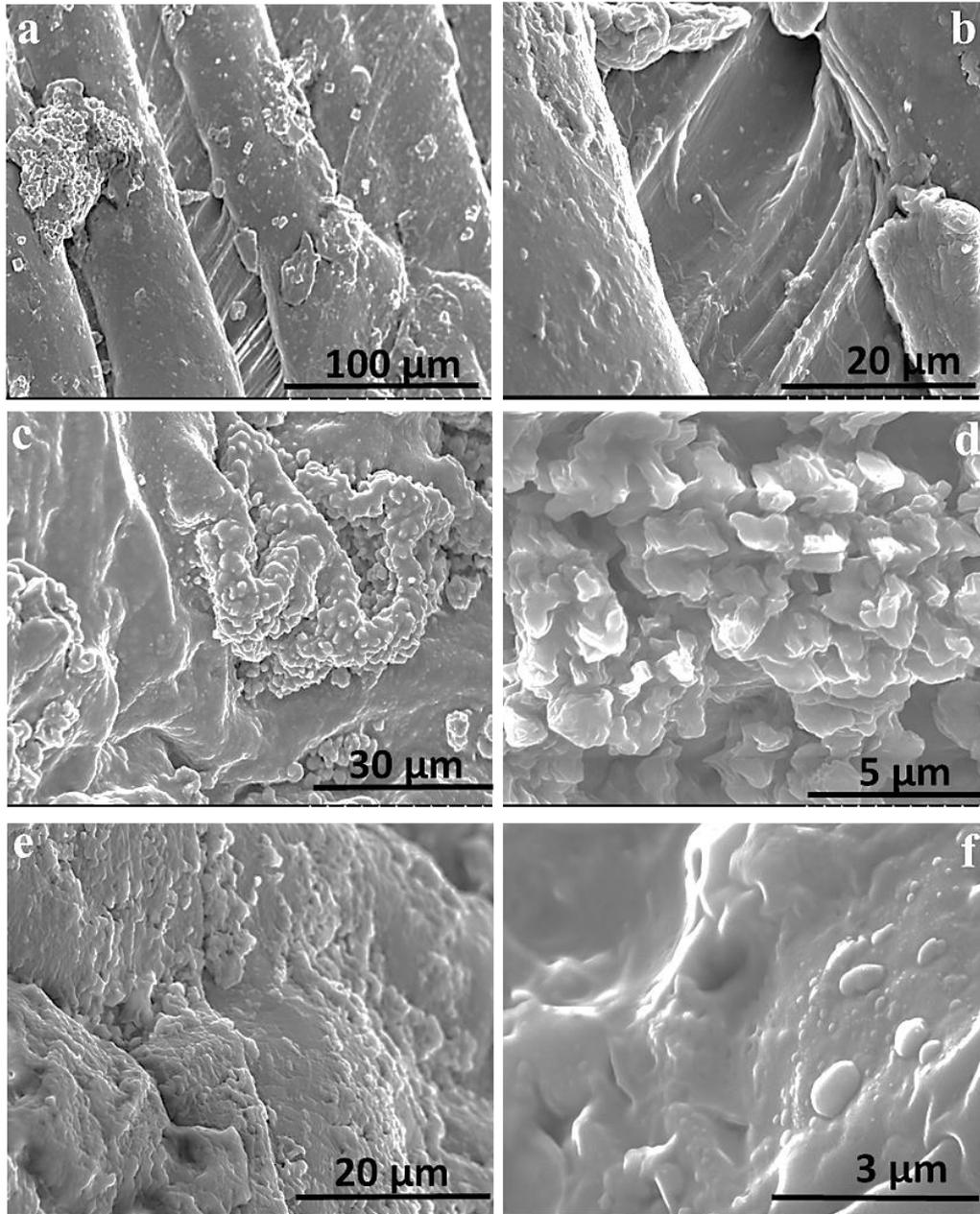


Figura 82. Micrografías SEM de los materiales nanocompuestos sintetizados: a y b) HG-NF PANI, c y d) HG-NP PANI, e y f) HG-NP PPy.

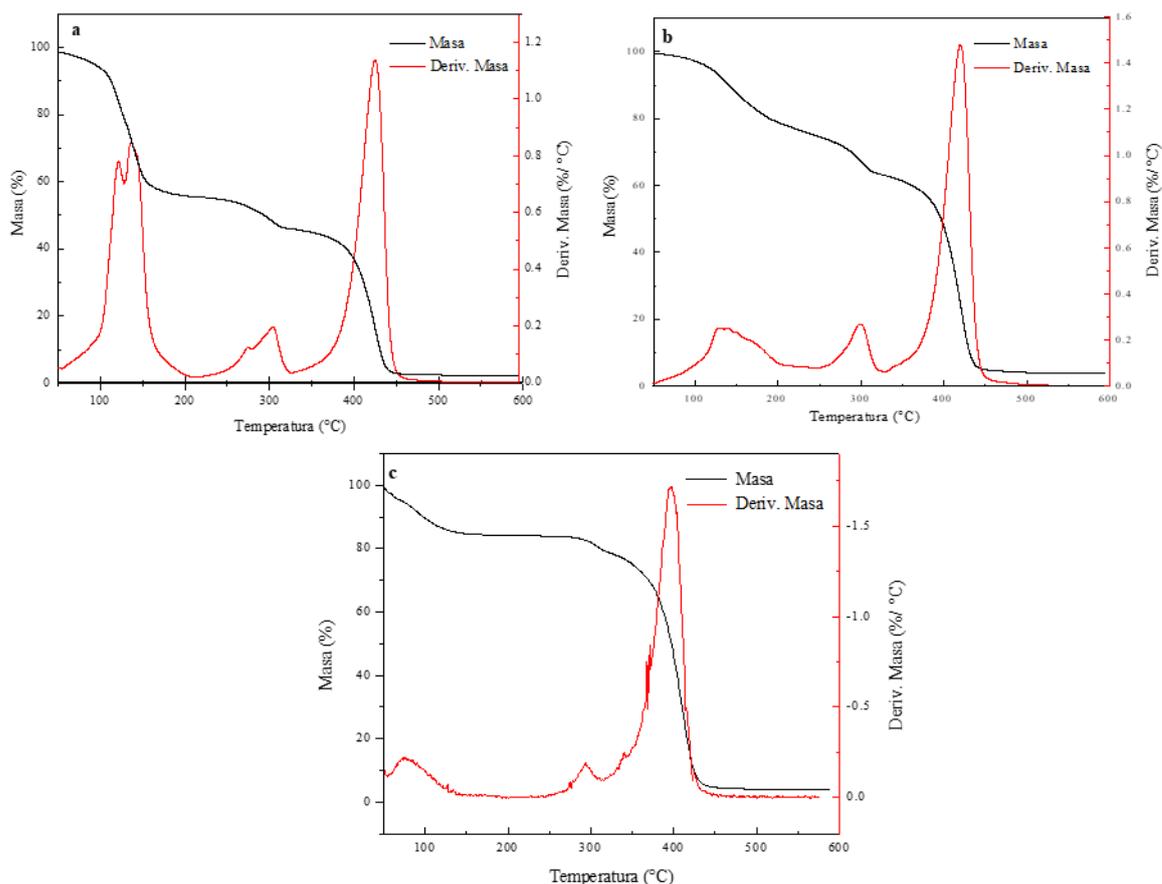


Figura 83. Pérdida de masa y sus respectivas derivadas para cada uno de los nanocompuestos: a) HG-NF PANI, b) HG-NP PANI y c) HG-NP PPy.

Analizando los gráficos de la figura anterior se observa que, si bien los nanocompuestos estaban secos (sin hinchar) al momento de la medición termogravimétrica, aún queda agua retenida dentro de la estructura del material, por lo que en los tres nanocompuestos se ve una pérdida de masa relacionada con el agua (alrededor de los 90-100 °C). Esta pérdida es de aproximadamente un 20 % para los materiales que están formados por nanopartículas, mientras que se duplica para el material formado por NF PANI. Al aumentar la temperatura, en los tres casos se ven pérdidas de masa alrededor de los 300 °C, que podría ser atribuida a PNIPAM-co- 2%AMPS (matriz termosensible) al ocurrir una reacción de formación de la imina por parte un pequeño número de los grupos amida y la descomposición térmica de las cadenas laterales hidrófobas.³¹⁹ En el caso del PPy, entre 300 °C y 400 °C se puede observar otra pérdida de masa atribuible al polímero conductor, la cual es similar a la reportada por otros autores.³²⁰ Para PANI, la pérdida alrededor de los 400 °C es similar

en ambos nanocompuestos y coincide con la ya reportada.³²¹ Además, en el mismo rango de temperaturas puede atribuirse una pérdida de masa debido a la descomposición de los grupos amida y la degradación de la cadena principal de la acrilamida,³²² observándose esta disminución en los tres tipos de nanocompuestos que se estudiaron.

IV.3.5.2 Estudios de hinchamiento en agua

Por la naturaleza del material se sabe que los nanocompuestos sintetizados serían capaces de absorber agua, hinchándose. Es por ello que se llevaron a cabo los experimentos cinéticos correspondientes para las pastillas de los materiales nanocompuestos utilizando agua bidestilada como solvente. Como puede observarse en la **Figura 84**, donde se grafica el porcentaje de hinchamiento en función del tiempo, los tres materiales son capaces de absorber grandes cantidades de agua. Sin embargo, queda claro en el gráfico que la velocidad a las que se hinchan los nanocompuestos es diferente.

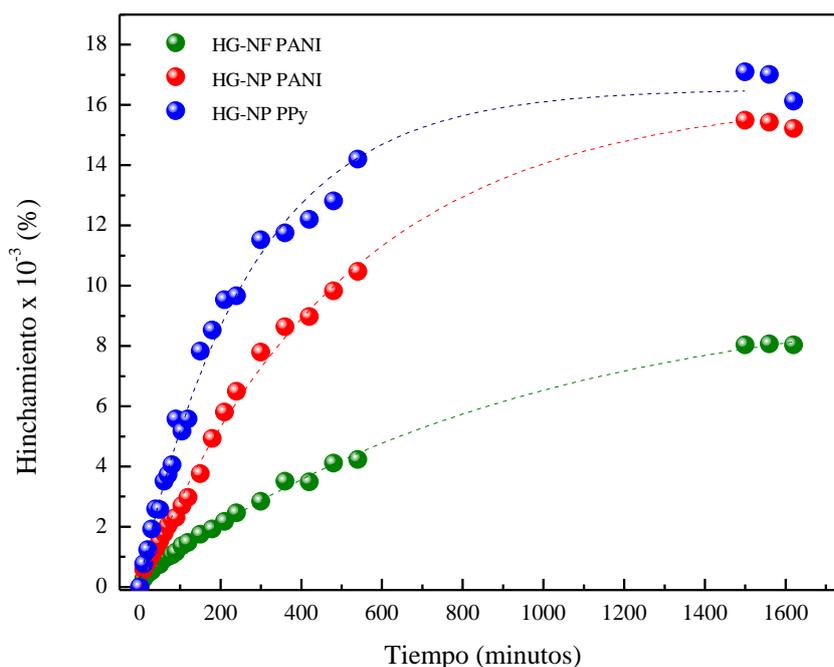


Figura 84 . Cinética de hinchamiento en agua de los tres materiales nanocompuestos.

Ajustando las curvas mediante una ecuación cinética de primer orden es posible calcular las constantes referidas a la velocidad de hinchamiento, las cuales se resumen en la **Tabla 17**.

Tabla 17. Constantes de velocidad medidas para cada uno de los materiales nanocompuestos sintetizados.

Nanocompuesto	Constantes de velocidad (s ⁻¹) x 10 ³
HG-NP PPy	3,64
HG-NP PANI	1,97
HG-NF PANI	1,05

Puede observarse que coincide el hecho de que el nanocompuesto con mayor velocidad de hinchamiento es el que llega a mayor porcentaje (utilizando las NP PPy), manteniéndose el orden en los otros nanocompuestos. La menor capacidad y velocidad de hinchamiento de los nanocompuestos con nanofibras comparadas con nanoesferas sugiere que las primeras producen un efecto de entrecruzamiento de rango largo. Por otra parte, se observa que el efecto de los generados a partir de NP PPy y NP PANI es similar en hinchamiento pero difieren significativamente en el caso de la velocidad de hinchamiento.

A partir de la misma experiencia, puede conocerse el valor máximo de hinchamiento de los nanocompuestos, es decir: el porcentaje de hinchamiento una vez que se alcanza el equilibrio. Los valores se resumen en el gráfico de la **Figura 85**. Para el material que contiene NP PPy, el hinchamiento en el equilibrio pudo cuantificarse en alrededor de 16000 %, siendo del mismo orden para el material que contiene NP PANI (~15000 %). En el caso de los hidrogeles compuestos por NF PANI el hinchamiento en el equilibrio es apenas mayor a la mitad de los porcentajes mencionados para los otros casos (8900 %). Debido a que el material es químicamente similar en el caso de los nano-objetos de PANI, es sorprendente el hecho de que las nanofibras se hinchen considerablemente en menor medida que los que contienen nanoesferas. La causa de este comportamiento podría llegar a explicarse por la morfología de las primeras, las cuales pueden interferir en el entrecruzamiento de la red polimérica termosensible, dejando menor espacio disponible para que el agua ingrese a la matriz y pueda expandirse.

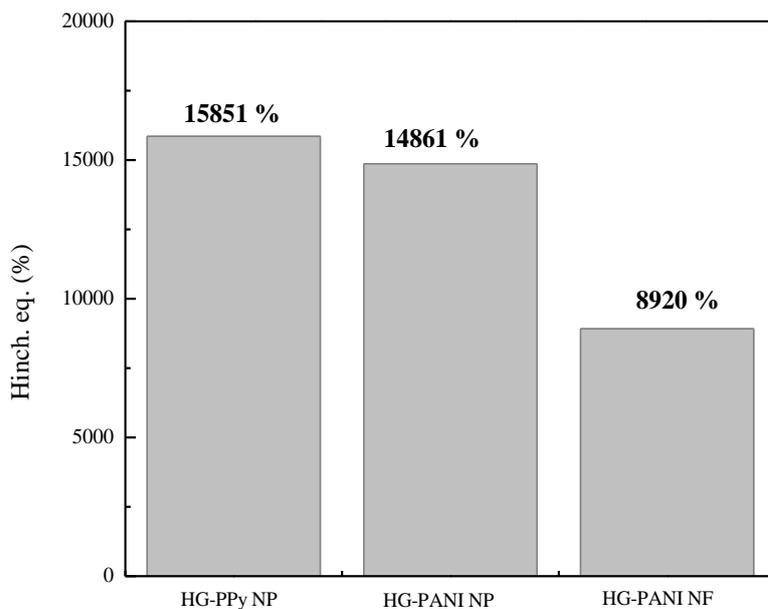


Figura 85. Valores de hinchamiento en el equilibrio de los tres materiales nanocompuestos en cuestión.

IV.3.5.3 Termosensibilidad de los materiales

Teniendo en cuenta que el objetivo de sintetizar estos materiales es que posean conductividad y termosensibilidad en un mismo nanocompuesto, se realizaron estudios de calorimetría diferencial de barrido para evaluar esta última característica mencionada. Para la matriz termosensible (es decir, en ausencia de cualquier polímero conductor) ya se ha evaluado y reportado previamente que la LCST es de alrededor de 36,5 °C. La relación de alimentación de los copolímeros es de 98 NIPAM / 2 AMPS. Dado que la reactividad es similar, la cantidad de unidades monoméricas AMPS será 2% y el efecto sobre la transición térmica provocará este aumento de la LCST. En la **Tabla 18** se informan los valores resultantes de los experimentos de calorimetría obtenidos para los tres materiales en cuestión. Resulta una temperatura de 35,4 °C para el nanocompuesto que contiene NF PANI; siendo 37,5 °C para el que contiene las NP PANI y 36,4 °C en el caso del formado a partir de NP PPy. Dichos resultados son concordantes con el valor de la temperatura a la que transiciona el polímero termosensible en ausencia de los nano-objetos conductores y también a hidrogeles macroporosos con NP PANI reportados en literatura previamente.^{296, 298} Es importante destacar que al incorporar PANI o PPy en forma de nano-objetos no se observan cambios significativos sobre la LCST.

Tabla 18. LCST medidas mediante la técnica de calorimetría diferencial de barrido para los tres tipos de materiales nanocompuestos sintetizados.

Nanocompuesto	LCST (°C)
HG-NF PANI	35,4 ± 0,5
HG-NP PANI	37,5 ± 0,5
HG-NP PPy	36,4 ± 0,5

IV.3.5.4 Efecto fototérmico: absorción de radiofrecuencias

Con el objetivo de evaluar el efecto fototérmico de los nanocompuestos, se aplicó radiofrecuencias sobre los mismos para analizar su capacidad de absorción de energía y aumentar la temperatura de su entorno. Se utilizaron pequeños cortes de los materiales en forma de discos, hinchados en agua bidestilada y colocados sobre placas de Petri, donde fueron irradiados utilizando la máxima frecuencia permitida por el dispositivo (1200 W). Los resultados del experimento se muestran en la **Figura 86**.

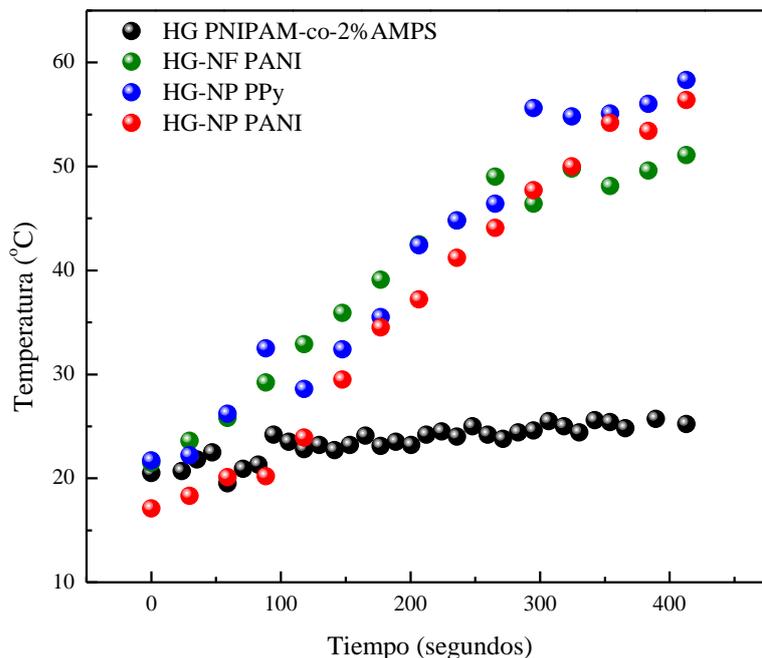


Figura 86. Incremento de temperatura de materiales nanocompuestos y un hidrogel PNIPAM-co-2%AMPS inducido por irradiación con radiofrecuencias

De la figura anterior se deduce que sólo los materiales sintetizados conteniendo polímeros conductores son capaces de absorber radiofrecuencias, lo cual es totalmente

esperable. Por su parte, el blanco fue realizado con una pequeña pieza de hidrogel sin contener ningún polímero conductor y se ve claramente que en ausencia de algún material de este tipo el incremento de la temperatura es insignificante respecto a los otros tres materiales. Comparando los nanocompuestos entre sí, se detecta que todos muestran un aumento de temperatura importante (más de 40 °C) al ser expuestos a las radiofrecuencias. En los tres casos se observa una tendencia similar en el aumento de la temperatura hasta los 300 segundos de irradiación aproximadamente. Tras ello, la temperatura tiende a estabilizarse en todos los materiales, siendo algo menor la temperatura para el material que contiene las nanofibras (49 °C-50 °C), mientras que para los que están formados ambos tipos de nanopartículas (tanto de PANI como de PPy) la misma llega a aproximadamente 55 °C. En la **Figura 87** se muestra la diferencia en la apariencia de los materiales nanocompuestos antes y después de la irradiación con radiofrecuencias. Este experimento es útil con vistas a la utilización de estos materiales como matrices para el cargado con alguna droga modelo, la cual luego podría ser expulsada por acción de las radiofrecuencias logrando así una liberación controlada en el tiempo.

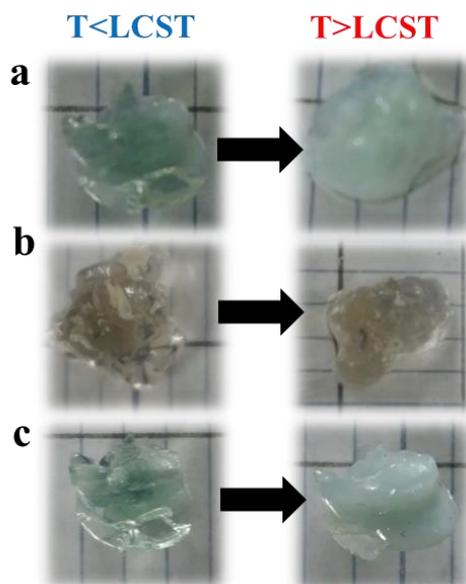


Figura 87. Materiales nanocompuestos antes y después de ser irradiados con radiofrecuencias: a) HG-NF PANI, b) HG-NP PPy y c) HG-NP PANI.

IV.4 NIVEL SUPRAMOLECULAR

IV.4.1 Coloidosomas estabilizados con NP PANI

IV.4.1.1 Morfología y tamaño

De acuerdo a la identificación asignada en el capítulo de **Materiales y Metodología**, los coloidosomas numerados como C_1 y C_2 contienen NP PANI estabilizadas con PVP, mientras que los numerados como C_3 y C_4 están formados por NP PANI termosensibles (estabilizadas con PNIPAM). A su vez, debe recordarse que tanto C_1 como C_3 son emulsiones formadas en ciclohexano, mientras que C_2 y C_4 se llevaron a cabo en 1-octanol.

Para analizar la morfología y tamaño de los coloidosomas formados en la emulsión solvente orgánico - agua (NP PANI) se hizo uso de la técnica de microscopía óptica, acoplado una cámara y utilizando el programa computacional Motic Images 2.0 para poder observar y cuantificar las dimensiones de las estructuras formadas.

En la **Figura 88**, (a) y (c) se muestran las imágenes para los coloidosomas formados utilizando PVP como agente estabilizante de las NP PANI, en ciclohexano y 1-octanol (C_1 y C_2 , respectivamente). En tanto que en (b) y (d) puede observarse el tamaño de los coloidosomas de NP PANI estabilizadas con PNIPAM en los dos tipos de solvente orgánico (C_3 y C_4). Analizando las imágenes correspondientes para los coloidosomas formados por NP PANI estabilizadas con PVP en ciclohexano, puede afirmarse que el tamaño de las estructuras supramoleculares formadas es menor a 100 μm , habiendo logrado incluso detectar coloidosomas menores a 20 μm . Sin embargo, cuando las mismas nanopartículas son utilizadas para formar la emulsión con 1-octanol el tamaño se incrementa, llegando a observar estructuras entre los 160 y 200 μm . Nótese que siempre mantienen una forma de esfera regular, pese a que se dificulte obtener muestras de coloidosomas monodispersos por el método utilizado para su formación. En el caso de las estructuras formadas a partir de la combinación de dispersiones de NP PANI estabilizadas con PNIPAM y solventes de naturaleza orgánica se puede realizar el mismo análisis que el anterior. En ciclohexano, se pudo medir un diámetro de las esferas formadas cercano a los 170-190 μm , aunque también se han encontrado coloidosomas de menor tamaño. Al utilizar 1-octanol el tamaño es superior a los 200 μm , detectando además la presencia de coloidosomas bien definidos de

70 μm de tamaño, pudiendo entenderse que los primeros mencionados están formados por aglomeración de distintas estructuras de menor tamaño.

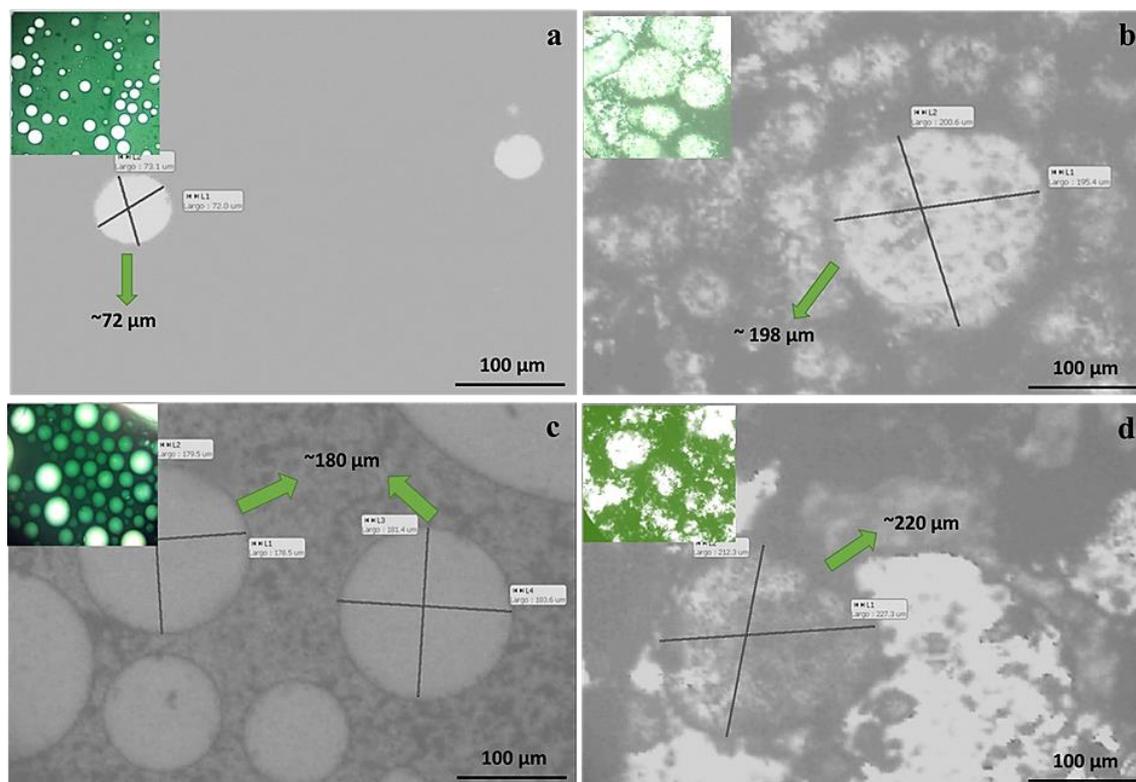


Figura 88. Medición de tamaño de coloidosomas utilizando la cámara acoplada al microscopio óptico: a) C_1 , b) C_3 , c) C_2 y d) C_4 .

Haciendo un análisis global de las fotografías expuestas puede decirse que al utilizar las NP PANI con PVP como estabilizante (C_1 y C_2) los coloidosomas poseen una forma esférica perfecta en ambos casos. Las que son estabilizadas con PNIPAM (C_3 y C_4) aunque mantienen una forma esférica es menos definida, siendo esto mayormente notorio en 1-octanol. Además, al utilizar el polímero termosensible, el tamaño de la estructura es generalmente mayor y más polidisperso.

Tras la observación por microscopía óptica se procedió (en la medida que la naturaleza de la muestra lo permitió) al análisis de las estructuras por microscopía electrónica de barrido. Las muestras escogidas fueron aquellas en las que se utilizó 1- octanol como solvente (C_2 y C_4) para formar la emulsión debido a que el ciclohexano dificultaba el proceso experimental de medida por la presión de vapor que presenta. En la **Figura 89** se muestra una imagen tomada mediante la técnica SEM de un coloidosoma del tipo C_2 . Puede apreciarse que si bien aún mantiene la morfología esférica que se vio por

microscopía óptica, se produce un colapso de la estructura organizada debido al alto vacío que se aplica durante la medición experimental. Sin embargo, el tamaño es concordante con el obtenido anteriormente (entre 160 y 200 μm).

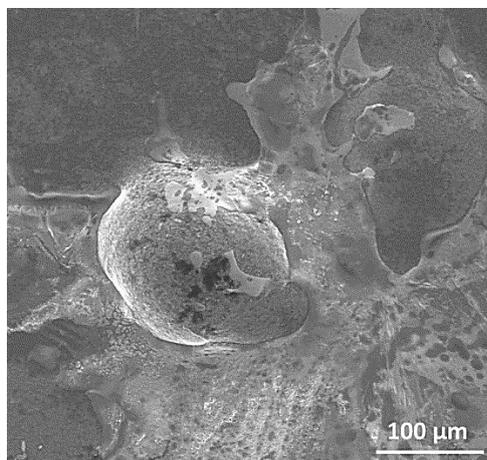


Figura 89. Imagen de un coloidosoma C_2 tomada por microscopía electrónica de barrido. Barra de escala: 100 μm .

Los coloidosomas formados en 1-octanol estabilizados con NP PANI termosensibles (C_4) fueron también observados por microscopía SEM. Las imágenes de la **Figura 90** muestran que, tal como se observó por microscopía óptica, existen diferentes tamaños de coloidosomas: algunos que superan los 250 μm y otros que se aproximan a un tamaño de 70 μm . Puede observarse el colapso de las nanopartículas que estabilizan la estructura debido a la naturaleza termosensible de PNIPAM, siendo la morfología del coloidosoma es muy similar a la ya observada por la otra técnica.

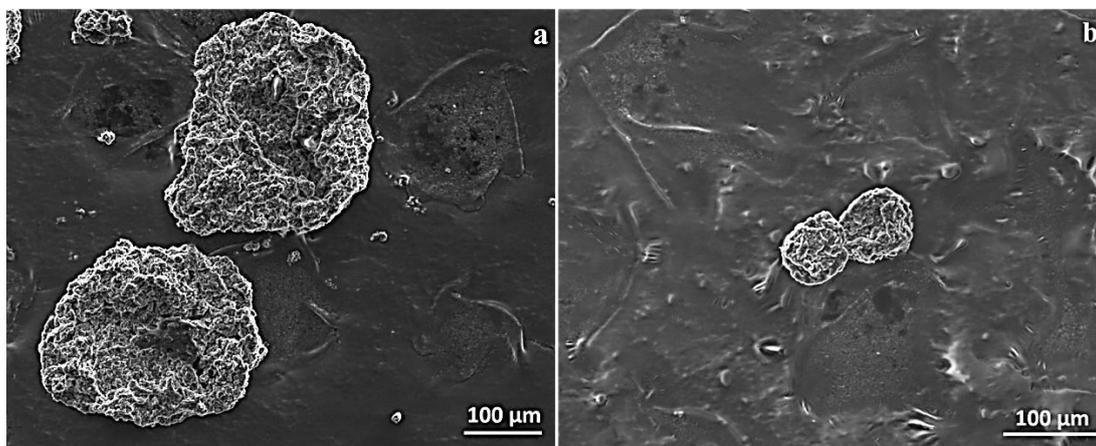
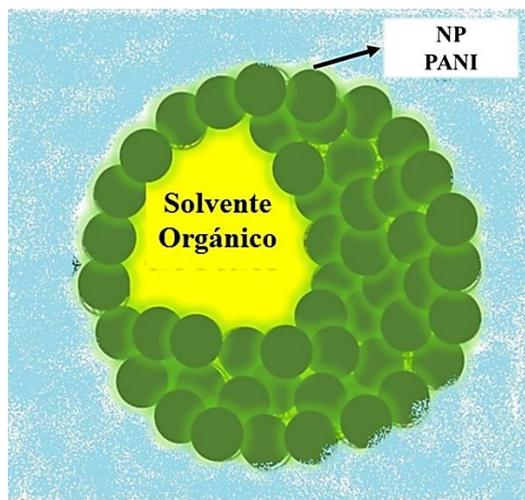


Figura 90. Imágenes de coloidosomas C_4 tomadas por microscopía electrónica de barrido. Barras de escala: 100 μm .

En el **Esquema 37** se diagrama a modo ilustrativo un ejemplo de la estructura supramolecular obtenida en forma de coloidosoma, donde se puede apreciar que la emulsión tipo Pickering se forma a partir del solvente orgánico que se encuentra rodeado de la fase acuosa. Las partículas sólidas de PANI, independientemente de sus características, actúan estabilizando la emulsión.



Esquema 37. Diagrama ilustrativo de la estructura que poseen los coloidosomas obtenidos a partir de NP PANI y un solvente orgánico.

IV.4.1.2 Propiedades electrónicas

Se ha mostrado ya el espectro UV-Visible de las NP PANI dispersas en agua (**sección IV.3.4.1.4**). Con esto en vista, es posible confirmar que la PANI nanoparticulada se encuentra en los coloidosomas mediante mediciones de espectroscopia de absorción. Para ello, cuidadosamente se tomó una alícuota de la emulsión formada por cada tipo de nanopartícula en estado conductor y el solvente orgánico, midiendo luego los espectros correspondientes. En la **Figura 91** se muestran los resultados obtenidos en dichos experimentos.

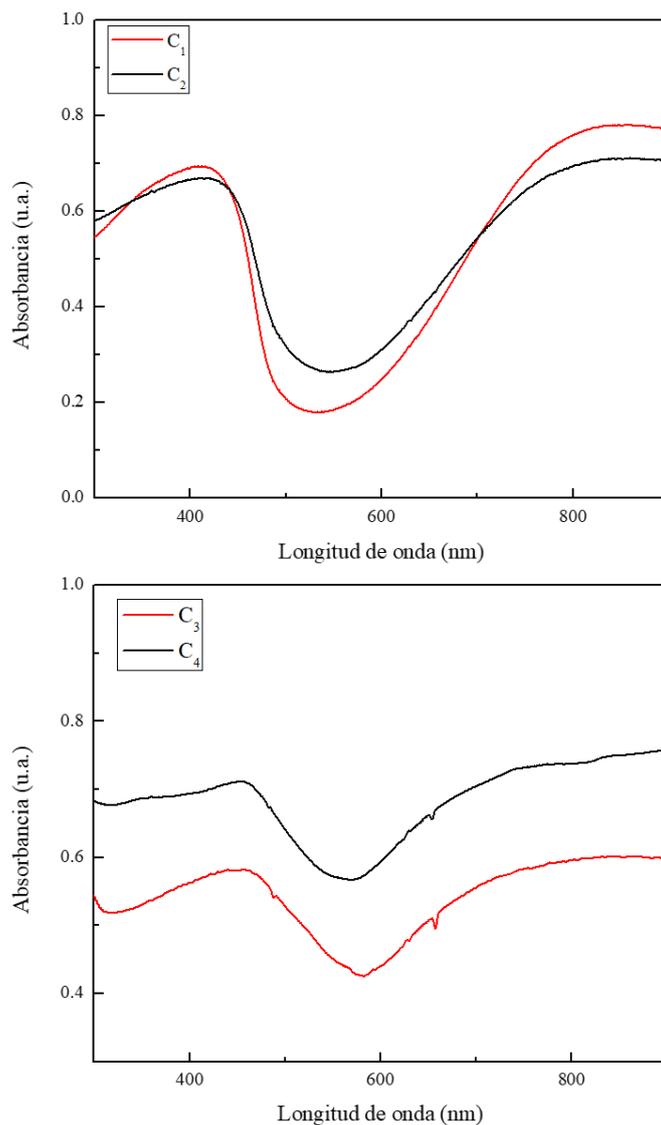


Figura 91. Espectros UV-Visible de los diferentes coloidosomas: a) C₁ y C₂, b) C₃ y C₄.

Puede apreciarse que en todos los sistemas la banda conductora de la PANI se mantiene presente (a partir de los 650 nm y se extiende hasta el infrarrojo cercano). La banda de la transición $\pi \rightarrow \pi^*$ de los bencenoides entre los 300 y 400 nm también se puede observar. Otro aspecto a destacar es el hecho de que la banda pierde la forma o se desdibuja en el caso de utilizar 1-octanol para generar la emulsión utilizando PNIPAM como estabilizante de las NP PANI, concluyendo que el solvente es un factor importante al momento de analizar las propiedades electrónicas de las estructuras organizadas.

Se ha estudiado también el efecto de pH sobre los coloidosomas generados. Esto se realizó añadiendo pequeñas cantidades de una solución de NaOH 0,1 M a las estructuras en la emulsión. En estado sal esmeraldina (pH ácido), el espectro UV-Visible de los

coloidosomas muestra las bandas de absorción características a longitudes de onda cortas, atribuyéndose el corrimiento hacia longitudes de onda mayores debido al en longitudes de onda entre 740 y 800 nm debido a la transición $\pi \rightarrow \pi^*$ por la formación del polarón. La deprotonación de la PANI por el cambio a pH 10 produce un cambio gradual de las bandas de absorción, y especialmente en la región comprendida entre 800 -550 nm. Esto ocurre en los cuatro tipos de sistemas generados en esta Tesis (C₁, C₂, C₃ y C₄). En la **Figura 92** queda demostrado, a modo de ejemplo, el efecto de pH en el caso de coloidosomas C₁ en ciclohexano.

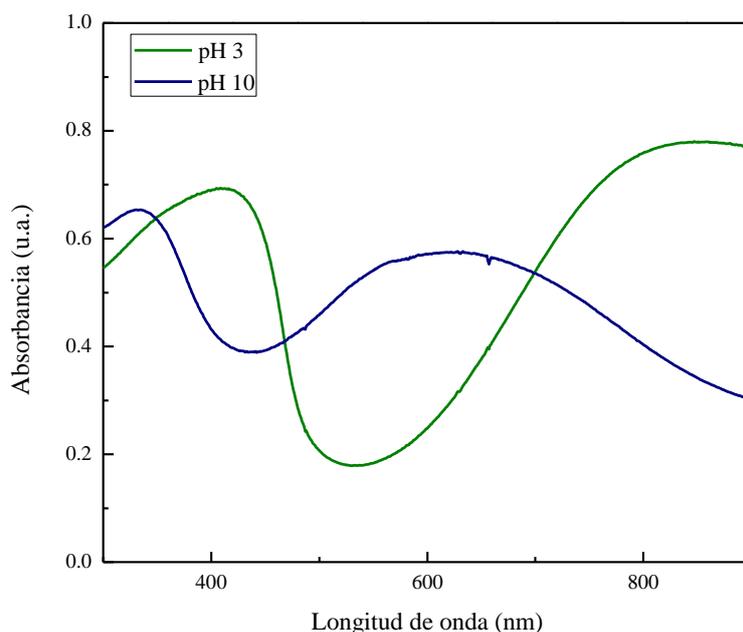


Figura 92. Efecto de pH sobre el espectro UV-Visible de los coloidosomas C₁.

IV.4.1.3 Termosensibilidad de las estructuras

Como se ha ensayado para las nanoestructuras presentadas con anterioridad, puede utilizarse la técnica turbidimétrica para estudiar la termosensibilidad de los nuevos sistemas generados. Para ello se escogió una longitud de onda en la que el material absorbe (600 nm) y se midió la transmitancia en función del cambio de temperatura inducido por calentamientos en baños de agua. Este estudio se llevó a cabo para los coloidosomas que contienen estabilizantes termosensibles (NP PANI estabilizadas con PNIPAM) en los dos solventes: ciclohexano y 1-octanol (C₂ y C₄, respectivamente). En la **Figura 93** se muestran los gráficos correspondientes a la variación de transmitancia en función de la temperatura.

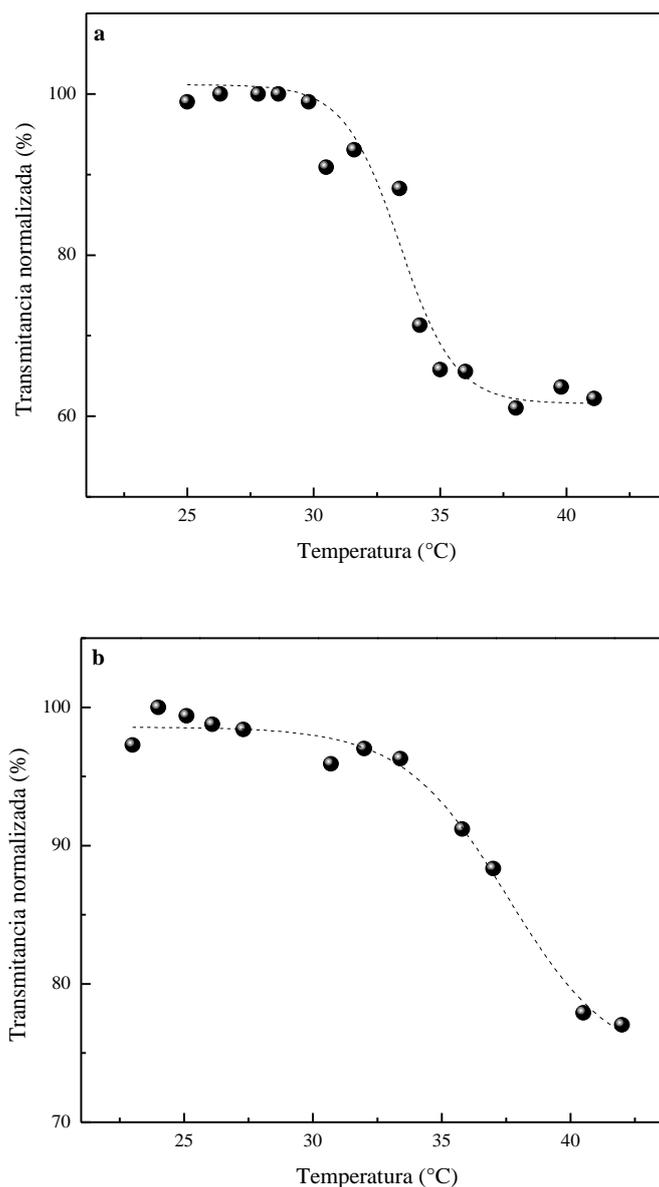


Figura 93. Ensayos turbidimétricos sobre los coloidosomas termosensibles: a) C₃ y b) C₄.

En el caso de los coloidosomas en ciclohexano (**a**) puede observarse claramente que a partir de 32 °C existe una pronunciada disminución de la transmitancia de la dispersión, llegando a cuantificarse en más de un 40 % respecto a la transmitancia original. Tras esa marcada inflexión en el gráfico, a temperaturas superiores se mantiene relativamente constante el nuevo porcentaje de transmitancia. Para los coloidosomas en 1-octanol el efecto es similar (**b**), aunque la disminución es progresiva y se extiende en un rango de temperaturas que comienza a los 32 °C y finaliza cerca de los 38 °C. La disminución porcentual es de aproximadamente el 25 % en unidades de transmitancia. Se puede inferir que, en ambos casos, los coloidosomas sufren un cambio morfológico por efecto térmico

de acuerdo a la naturaleza del estabilizador termosensibles de las NP PANI. Este fenómeno es totalmente esperable ya que la temperatura a la que se aprecia el cambio de turbidez de la dispersión es la misma que la que se registró al realizar los experimentos para las nanopartículas conductoras y termosensibles, las cuales poseen una LCST ~ 32 °C.¹³⁸

Adicionalmente, el efecto térmico de las estructuras organizadas fue estudiado por microscopía óptica, a medida que se generó un aumento gradual de la temperatura de la muestra utilizando una platina calefactora en el microscopio. En la **Figura 94** se puede visualizar como debido al colapso de las nanopartículas termosensibles, los coloidosomas del tipo C₃ comienzan a sufrir variaciones en su morfología y a fusionarse entre ellos. Si bien el efecto comienza a ser visible al superar la LCST del polímero termosensible (**b**), se agudiza cuando dicha temperatura es ampliamente superada (**c** y **d**).

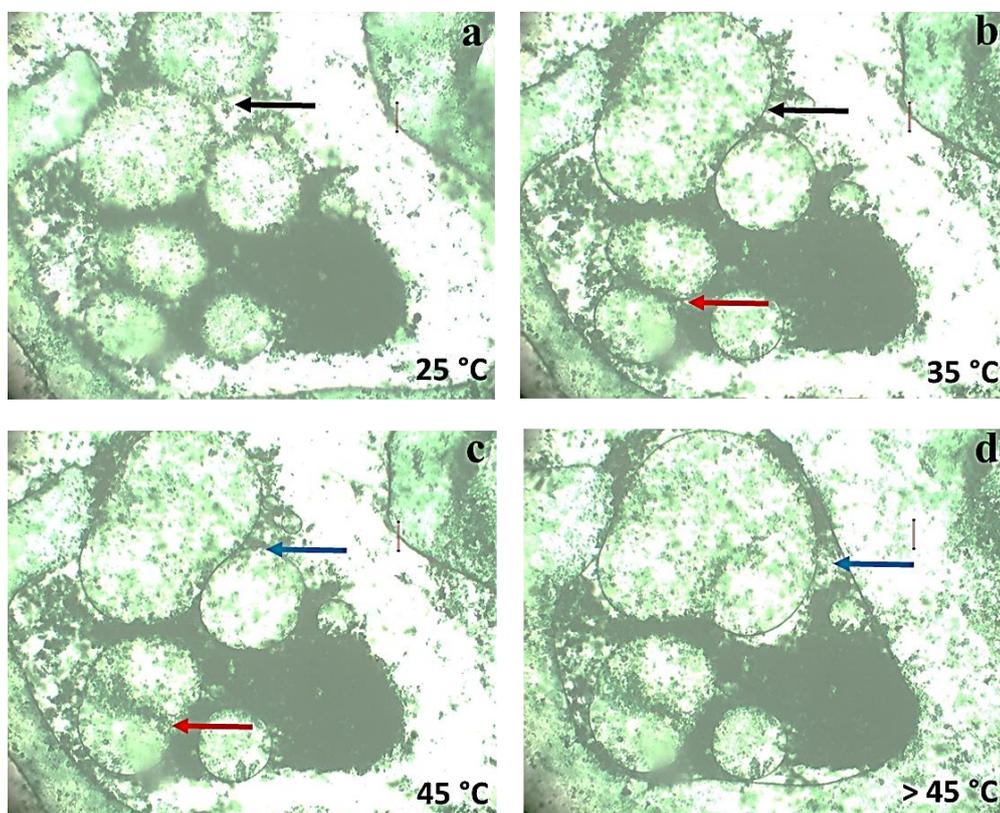


Figura 94. Efecto térmico sobre coloidosomas C₃ observado por microscopía óptica.

Un estudio similar se realizó con los coloidosomas termosensibles identificados como C₄. El resultado que se muestra en la **Figura 95** indica que el fenómeno es idéntico al recientemente descrito para los coloidosomas C₃. De esta manera se puede concluir que los coloidosomas que se estabilizan con NP PANI (PNIPAM) son sensibles a la

temperatura, generándose cambios significativos en la estructura y morfología, y por consiguiente en el tamaño (fusión de varias estructuras) como consecuencia de que las nanopartículas utilizadas para estabilizar poseen la característica de ser sensibles a un estímulo externo como lo es la temperatura.

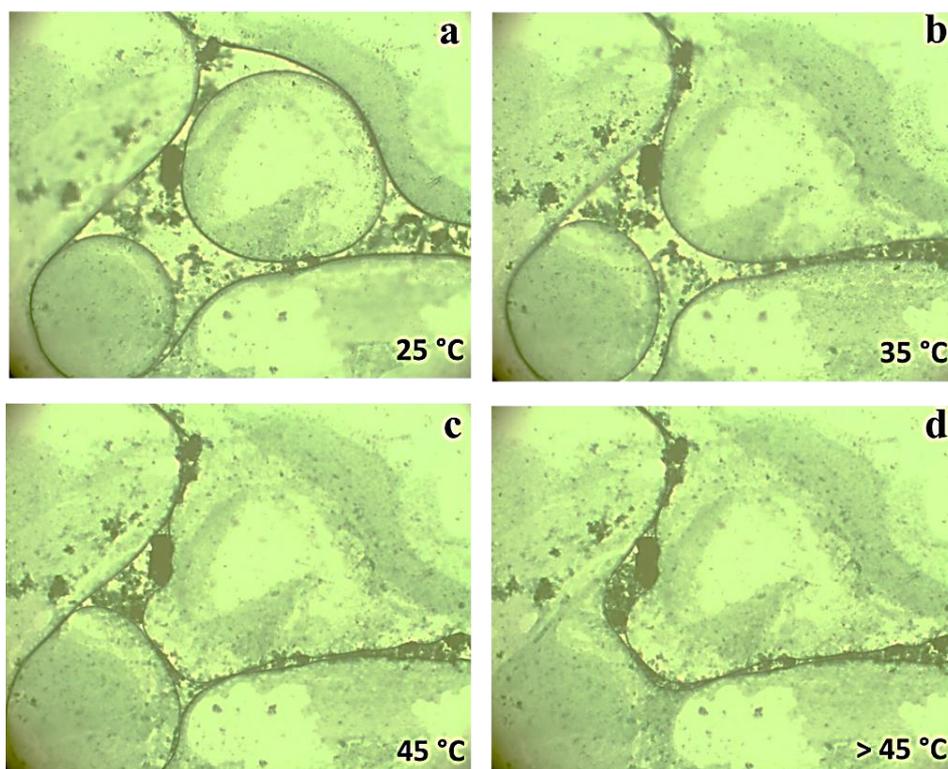


Figura 95. Efecto térmico sobre coloidosomas C₄ observado por microscopía óptica.

IV.4.1.4 Efecto fototérmico: irradiación con radiofrecuencias

De igual manera que con los estudios realizados para materiales en otros niveles de tamaño, se ensayó el efecto fototérmico sobre las estructuras supramoleculares en cuestión. En este caso en particular, por la naturaleza del material y la optimización de las condiciones de trabajo experimental se escogió radiofrecuencias como fuente de irradiación para generar el efecto a estudiar. La potencia elegida fue la máxima permitida por el dispositivo (1200 W) y los pulsos fueron de 5,9 segundos de duración.

La irradiación con radiofrecuencias es capaz de causar incremento de la temperatura en los coloidosomas (efecto Joule). Los resultados se muestran en la **Figura 96** para los sistemas C₃ y C₄. En el caso de las estructuras generadas en ciclohexano, estabilizando con NP PANI (PNIPAM) se logra alcanzar una variación de temperatura entre el comienzo del

experimento y su finalización de aproximadamente 13 °C en tan solo 180 segundos (3 minutos) de irradiación. El incremento térmico puede considerarse muy notorio especialmente durante los primeros 2 minutos. Cuando las mismas nanopartículas se utilizan para la formación de los coloidosomas en 1-octanol y se lleva a cabo el estudio fototérmico, se observa que el incremento de temperatura sigue una tendencia más lineal que en el caso anterior. Sin embargo, se logra una diferencia térmica un poco mayor: $\Delta T \sim 16$ °C. El hecho de utilizar uno u otro solvente orgánico con el mismo tipo de nanopartículas para la formación y estabilización de las estructuras puede llegar a considerarse la causa del comportamiento observado.

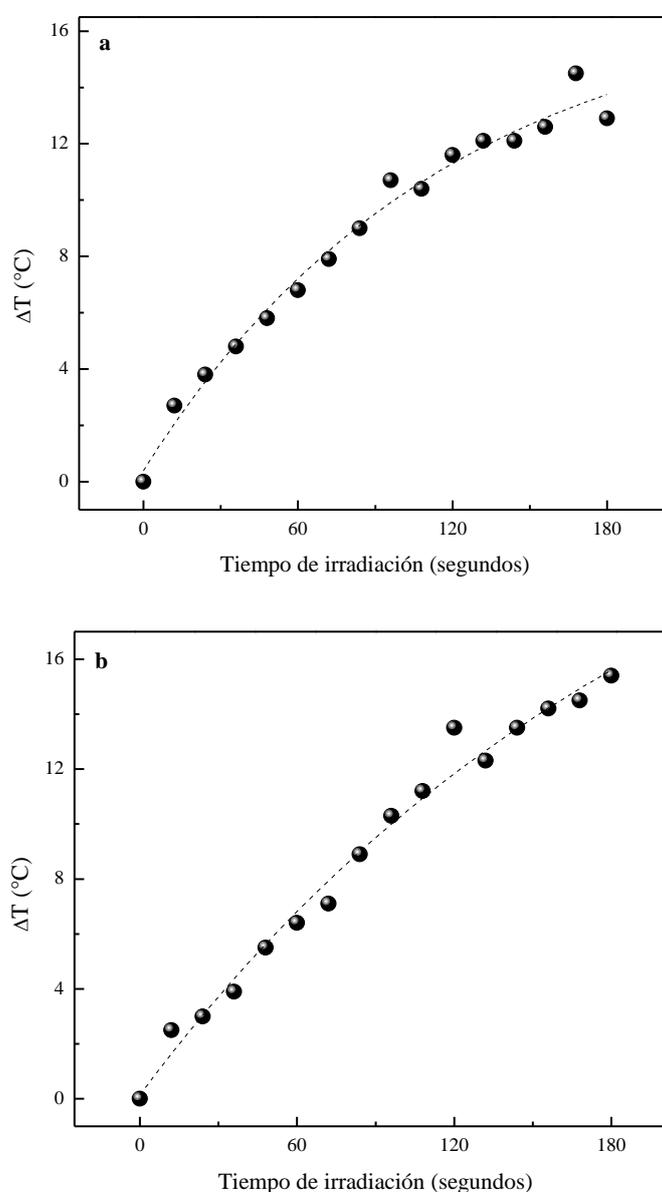


Figura 96. Variación de temperatura en función del tiempo de irradiación con radiofrecuencias para los coloidosomas termosensibles: a) C₃ y b) C₄. Temperatura inicial: 16 °C.

Los experimentos recientemente discutidos fueron realizados junto a un seguimiento secuencial de imágenes obtenidas mediante cámara termográfica infrarroja. De esta manera se obtienen mapeos con información térmica del proceso que ocurre, los cuales se muestran en la **Figura 97**. Se puede apreciar la diferencia de temperatura en las distintas zonas, siendo mayor en la zona donde se irradia (centro de la gota depositada) y disminuyendo a medida que se aleja de la posición central.

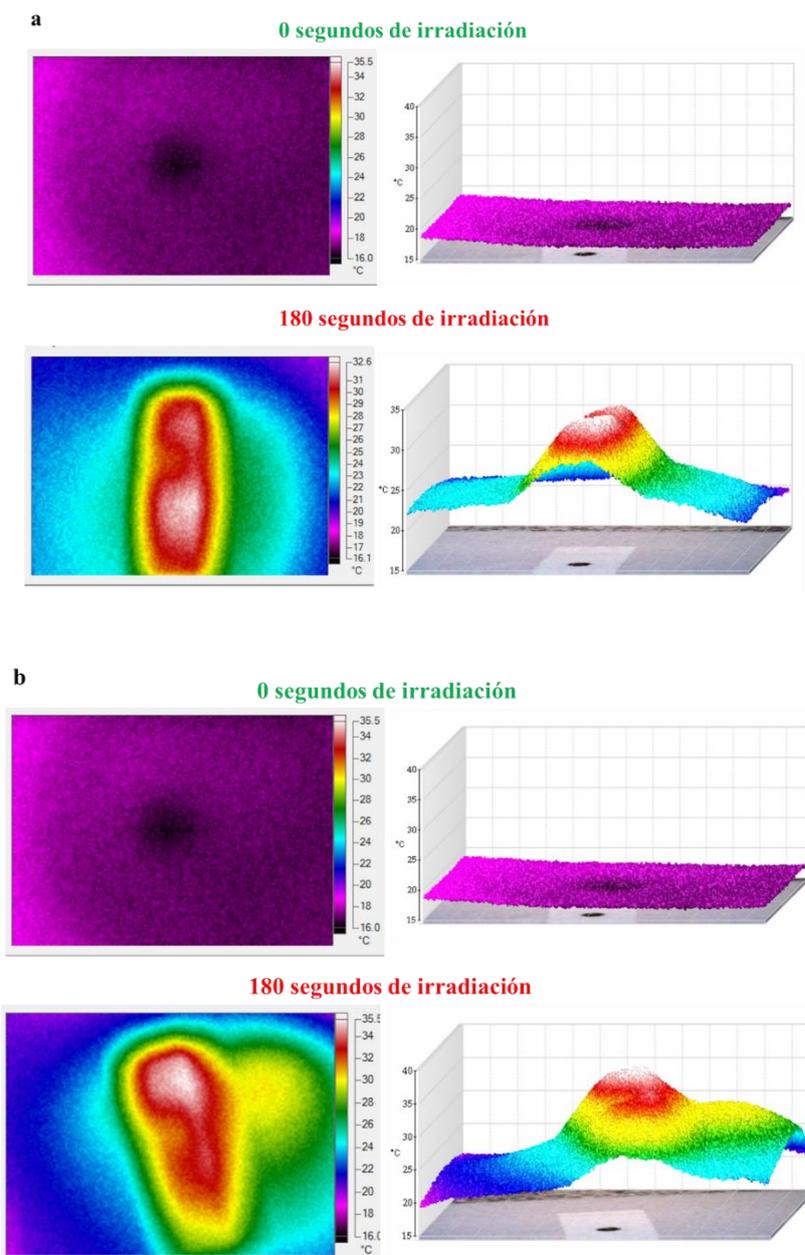


Figura 97. Efecto fototérmico producido por irradiación con radiofrecuencias a distintos tiempos: a) C₃ y b) C₄.

En las imágenes reportadas es notable el hecho de que al ser los coloidosomas expuestos a la acción de las radiofrecuencias se produce una aglomeración de los mismos debido a que se desestabilizan las estructuras organizadas. Esto se comprueba al observar que la temperatura se incrementa más en una parte de la gota que en otras (la sección donde se han aglomerado los coloidosomas tras el cambio conformacional del polímero termosensible al arribar a su LCST).

IV.5 NIVEL MOLECULAR

IV.5.1 Obtención del copolímero PNIPAM-*b*-PANI

Tras el procedimiento sintético detallado en la **sección III.1.6** del capítulo **Materiales y Metodología**, se obtuvo el copolímero bloque PNIPAM-*b*-PANI. En la **Figura 98** se propone la estructura final de la molécula resultante. El bloque m contiene al polímero conductor (PANI), estando el mismo unido al bloque n (polímero termosensible, PNIPAM) mediante el enlace tiol.

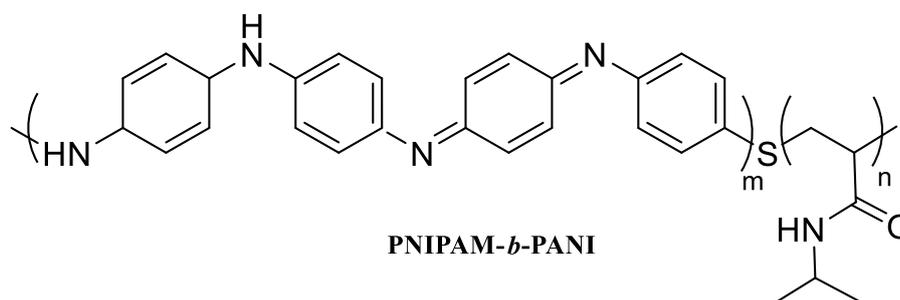


Figura 98. Estructura química de PNIPAM-*b*-PANI.

IV.5.2 Propiedades de solubilidad

Una vez sintetizado y purificado el copolímero PNIPAM-*b*-PANI, se procedió a analizar la solubilidad del mismo en diferentes solventes. Como ya se mencionó, la PANI es insoluble en agua y es relativamente soluble en muy pocos solventes.¹³⁸ En la **Figura 99** se muestra la comparación de los dos polímeros (PNIPAM y PANI) con la macromolécula sintetizada utilizando agua como solvente. Debido a que la molécula de PNIPAM posee grupos de características hidrofílicas, es posible solubilizar la misma en agua (**a**). En cambio, es visible que la PANI es insoluble en agua antes de obtener el copolímero, precipitándose completamente (**b**). Sin embargo, PNIPAM-*b*-PANI se obtiene como un copolímero que se mantiene soluble en solución acuosa, tal como se aprecia en (**c**). El nuevo copolímero obtenido presenta alta solubilidad en agua (8 g/100 mL) favorecida por el bloque de PNIPAM.

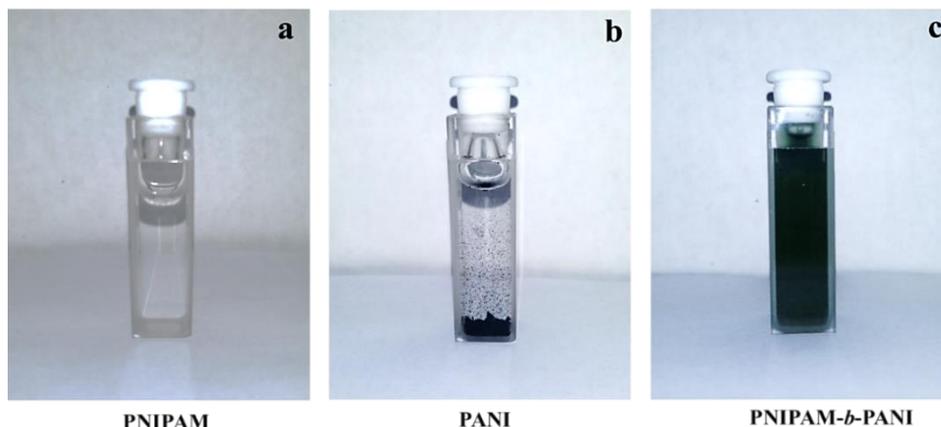


Figura 99. Comparación de las diferentes dispersiones de los polímeros en agua: a) PNIPAM, b) PANI y c) PNIPAM-*b*-PANI

Tras este primer ensayo, se procedió a evaluar la solubilidad de la macromolécula sintetizada en una variedad de solventes orgánicos de distinta naturaleza. En la **Tabla 19** se enlistan los solventes utilizados para el ensayo y se marca con una cruz (X) el resultado de la experiencia (soluble, poco soluble o insoluble), según corresponda. Se detecta insolubilidad del copolímero en el caso de 1-octanol, tetracloruro de carbono, cloroformo, diclorometano y ciclohexano. Sin embargo, el nuevo polímero puede ser solubilizado en varios solventes, tales como: acetona, acetonitrilo, ciclohexanol, dimetilsulfóxido, etanol, NMP, piridina, entre otros más. En los resultados se observa además que la estructura generada como PNIPAM-*b*-PANI es soluble en solventes en los que la PANI no lo es (ej. etanol, isopropanol, tetrahidrofurano), por lo que evidentemente es el bloque correspondiente al polímero termosensible quien le otorga la solubilidad a la macromolécula debido a sus propiedades que difieren del polímero conductor. Sin embargo, esto no significa que el copolímero es soluble en todos los solventes donde lo es la PNIPAM, ya que por ejemplo esta última es capaz de disolverse en cloroformo, mientras que PNIPAM-*b*-PANI es insoluble en este solvente. Este fenómeno puede deberse a que el bloque conductor tiene baja solubilidad o mojabilidad, afectando la estructura final. De esta manera, queda demostrado que el comportamiento de solubilidad de la macromolécula no es trivial y no puede predecirse a partir de la solubilidad de cada uno de los bloques por separado en los diferentes solventes. Este factor es muy importante ya que le otorga cierta versatilidad desde el punto de vista de las potenciales aplicaciones prácticas al nuevo material generado.

Tabla 19. Ensayo de solubilidad para PNIPAM-*b*-PANI en diferentes solventes a 20 °C.

Solvente	Solubilidad		
	Insoluble	Poco soluble	Soluble
1-octanol	X		
Acetona			X
Acetonitrilo			X
Ácido fórmico			X
Agua			X
Ciclohexano	X		
Ciclohexanol		X	
Cloroformo	X		
Diclorometano	X		
Dimetilsulfóxido			X
Etanol			X
Isopropanol			X
N-metilpirrolidona			X
Piridina			X
Tetracloruro de carbono	X		
Tetrahidrofurano			X

IV.5.3 Caracterización espectroscópica: ¹H NMR y FT-IR

Con el objetivo de corroborar la modificación sintética realizada sobre la PNIPAM para obtener el copolímero bloque termosensible y conductor se realizaron estudios de espectroscopia NMR. Los resultados se muestran en la **Figura 100**, donde se compara a la molécula de PNIPAM modificada con 4-ATF (**a**) con el del producto final obtenido: PNIPAM-*b*-PANI (**b**). Puede apreciarse que ambas estructuras (a y b) presentan picos similares: $\delta = 1,13$ (H_a, s, 6H, grupos isopropilo de la PNIPAM), $\delta = 1,57$ (H_d, 2H, cadena polimérica), $\delta = 2,00$ (H_c, 1H, cadena polimérica), $\delta = 3,70 - 4,00$ (H_b, 1H de NIPAM). Sin embargo, en el espectro de PNIPAM-*b*-PANI puede observarse un nuevo pico a $\delta = 7,50 - 8,00$ (H_e, correspondiente a los protones aromáticos de la PANI), evidenciando que el polímero conductor creció a partir de la unidad terminal de 4-ATF en la PNIPAM modificada.

Otra técnica espectroscópica (FT-IR) permitió corroborar la presencia efectiva de PANI en el copolímero bloque. En la **Figura 101** se muestra el espectro infrarrojo del material sintetizado. En el espectro se pueden visualizar las bandas características del polímero conductor: 1500 cm^{-1} y 1600 cm^{-1} (estiramiento C = C y C = N, respectivamente). Además, la aparición de un nuevo pico a 1730 cm^{-1} revela la presencia del polímero termosensible, ya que corresponde al estiramiento C=O que forma parte del grupo amida de la NIPAM.

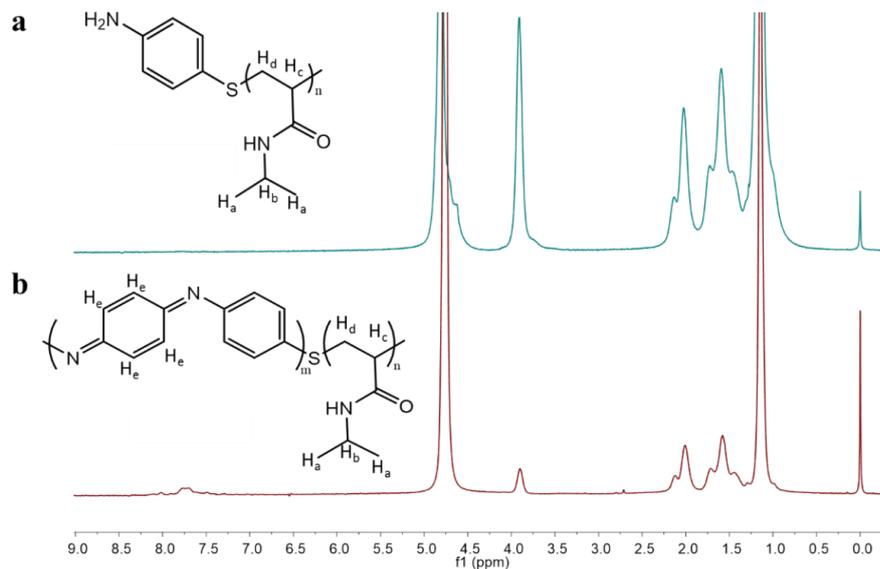


Figura 100. Espectros de ^1H NMR: a) PNIPAM modificado con 4-ATF y b) copolímero bloque PNIPAM-*b*-PANI.

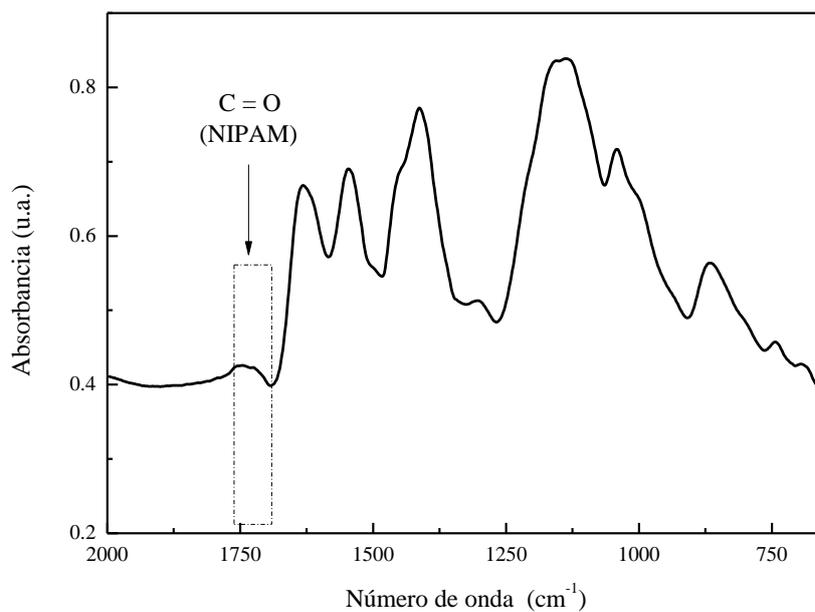


Figura 101. Espectro infrarrojo de la macromolécula PNIPAM-*b*-PANI.

IV.5.4 Propiedades electrónicas y conductoras

De la misma forma que se llevó a cabo para los otros niveles de tamaño estudiados en esta Tesis Doctoral, la presencia de PANI pudo ser evaluada utilizando espectroscopia UV-Visible. Las propiedades electrónicas otorgadas al material por la presencia del bloque PANI se muestran en la **Figura 102**. Como era esperable, se visualiza la banda

correspondiente a la transición $\pi \rightarrow \pi^*$ en cercanías de los 350 nm. Sin embargo, es aún más importante y reveladora de las propiedades electrónicas del material la aparición del polarón como una banda en longitudes de onda mayores a 750 nm, en la zona en que comienza la región del infrarrojo cercano del espectro electromagnético. El cambio de las bandas de absorción UV-Visible de la solución en medio ácido y básico fue también corroborado, estando en concordancia con el efecto de pH estudiado en secciones anteriores cuando la PANI cambia de estado sal esmeraldina (medio ácido) a un estado no conductor (medio básico), ocurriendo el corrimiento hipsocrómico de las bandas descritas anteriormente.

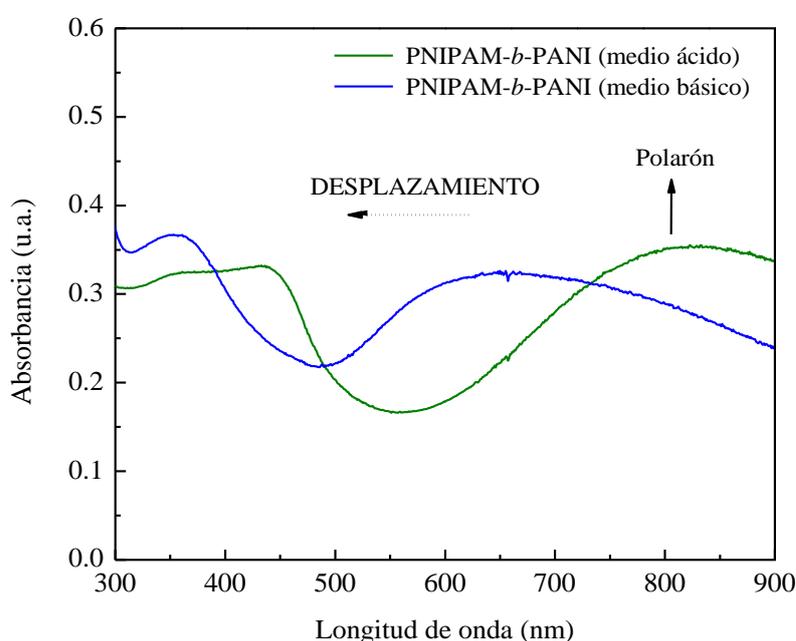


Figura 102. Espectro UV-Visible para la macromolécula en medio ácido y básico.

Adicionalmente, se evaluaron las propiedades conductoras del nuevo material utilizando un electrodo interdigitado con dimensiones de 0,9 cm x 1,5 cm con un *gap* de 250 μm sobre el que se depositó la molécula de PNIPAM-*b*-PANI, controlando el volumen de la gota. Tras ello, se procedió a medir la resistencia eléctrica utilizando un voltímetro, arrojando ésta un valor promedio de $3,14 \times 10^6 \Omega$.

Con el dato de resistencia, fue posible el cálculo de la resistividad del material, arribando a la misma por medio de la **Ecuación 11**.

$$\rho = \frac{l}{w} R \quad \text{Ecuación 11}$$

Donde R es la resistencia, l y d se relacionan con la sección transversal (obtenidas a partir del volumen de la gota medido y su diámetro) y w es la dimensión del gap en el electrodo.

Tomando el valor de $2,16 \times 10^{-5}$ cm, $d = 0,7$ cm y siendo $w = 250 \times 10^{-4}$ cm y $R = 3,14 \times 10^6 \Omega$, el valor de ρ resulta $1899,07 \Omega$ cm. Luego, es posible conocer el valor de conductividad (σ) del depósito de copolímero sobre el electrodo tomando la inversa de la resistividad, según la **Ecuación 12**.

$$\sigma = 1/\rho \quad \text{Ecuación 12}$$

$$\sigma = 5,27 \times 10^{-4} (\Omega \text{ cm})^{-1}$$

Si bien el valor de conductividad medido experimentalmente puede llegar a parecer relativamente bajo comparado con la PANI masiva, debe recordarse que en este caso la PANI se encuentra formando únicamente un solo bloque del copolímero, estando el otro bloque constituido por el polímero de naturaleza termosensible (PNIPAM), el cual no es conductor. Teniendo en cuenta las condiciones de síntesis y los pesos moleculares de ambos polímeros, la proporción de PANI en la macromolécula es relativamente baja, por lo que es razonable dicho valor de conductividad ($\sim 10^{-4} (\Omega \text{ cm})^{-1}$). Además, se han encontrado antecedentes de modificaciones sobre la molécula del mismo polímero conductor para obtener copolímeros donde la conductividad que se mide concuerda con el valor al que se arribó en esta Tesis.²⁰⁴

Posteriormente, el depósito fue expuesto a vapores de propanol en ciclos de 6 minutos de contacto-remoción del vapor con la muestra. El resultado de la experiencia se muestra en la **Figura 103**. Puede observarse claramente que, al contener el copolímero el bloque conductor de PANI, es capaz de sensar el vapor de propanol en el ambiente. Inicialmente, la resistividad se cuantificó en $2 \times 10^6 \Omega$, aumentando su valor (disminución en conductividad) cuando la molécula es puesta en contacto con los vapores del alcohol hasta llegar a $1,4 \times 10^7 \Omega$. Después de la eliminación de los vapores, la señal retorna a los valores de resistividad original en pocos segundos. Este comportamiento es reversible y está en acuerdo con los reportes de otras estructuras que contienen PANI existentes en la bibliografía.³²³ La capacidad de sensado frente a los cambios del entorno (en este caso a los volátiles de los vapores de propanol) hace que el material sea un potencial candidato para ser aplicado en dispositivos del tipo narices electrónicas.³²⁴

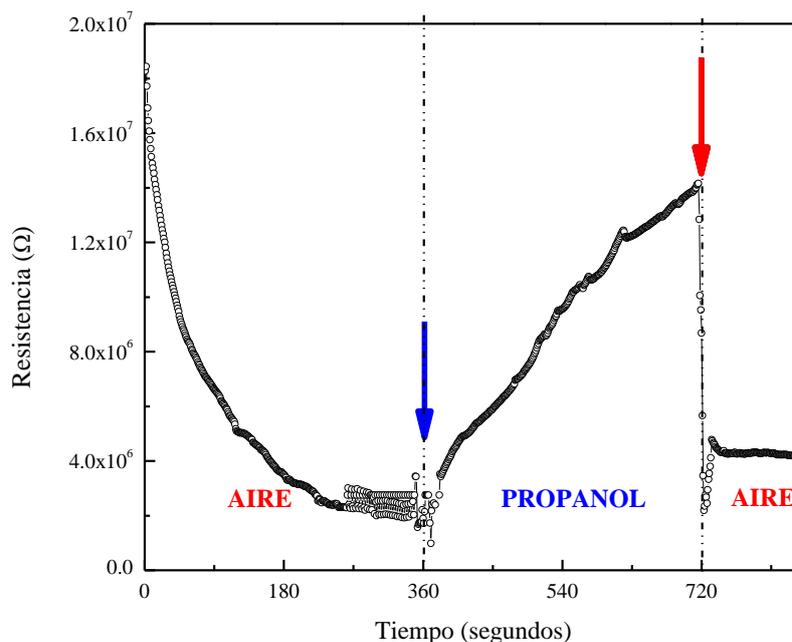


Figura 103. Comportamiento de PNIPAM-*b*-PANI como sensor al ser expuesto a vapores de propanol.

IV.5.5 Propiedades termosensibles

Como se mencionó en la sección anterior, la PANI es la responsable de otorgarle conductividad y propiedades electrónicas al copolímero sintetizado. Por otra parte, el bloque de PNIPAM será quien le suministre la termosensibilidad a la estructura macromolecular.

En este sentido, se ensayó cualitativamente el efecto de aumento de la temperatura de una dispersión de la macromolécula desde 25 °C hasta 42 °C, controlada por un termostato. Como puede apreciarse en la fotografía de la **Figura 104** se produce el colapso del material, siendo evidente el fenómeno de aglomeración en forma macroscópica. La dispersión retorna a su estado original al enfriarse, demostrando un efecto térmico reversible.

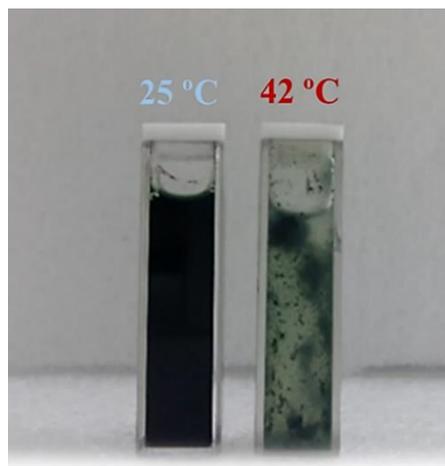


Figura 104. Solución de PNIPAM-*b*-PANI a 25 °C y 42 °C.

Es posible hacer también en el caso de PNIPAM-*b*-PANI un estudio cuantitativo del comportamiento termosensible al utilizar la técnica turbidimétrica, tal como se realizó en otros niveles de tamaño estudiados. La termosensibilidad a nivel de la macromolécula muestra un colapso al arribar a la temperatura comprendida entre 32 y 33 °C tal como puede apreciarse en la **Figura 105** por una marcada disminución de la transmitancia que ocurre a esa temperatura (inflexión en el gráfico), llegando a valores ínfimos tras superar los 35 °C. Esto es indicativo de que la LCST del polímero termosensible se mantiene en cercanías de los 32 °C, pese a que ahora la PNIPAM se encuentra en forma de un copolímero bloque junto a la PANI.

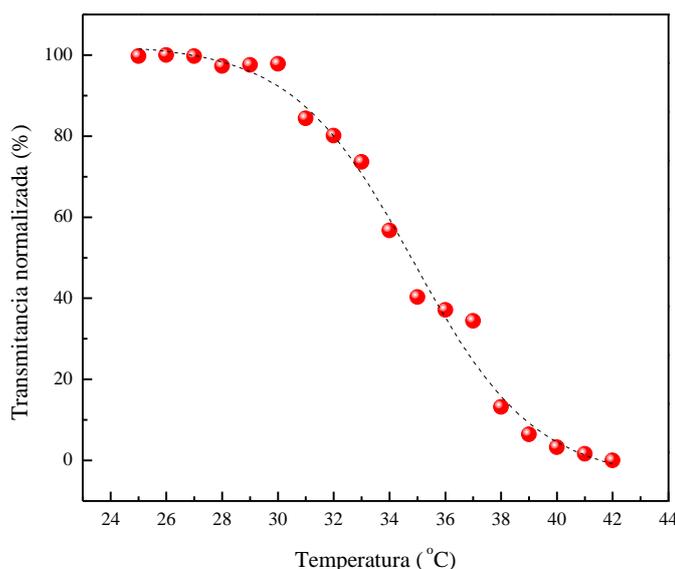


Figura 105. Ensayo turbidimétrico de PNIPAM-*b*-PANI al variar la temperatura.

IV.5.6 Efecto sinérgico en el copolímero

Si bien se ha estudiado en forma independiente el comportamiento electrónico-conductor y termosensible de la macromolécula PNIPAM-*b*-PANI, en este apartado se demostrará el efecto sinérgico de ambas propiedades en un mismo material. Es decir, se ensaya cómo la absorción de radiación por parte del polímero conductor en un bloque es capaz de provocar un cambio en el otro bloque (termosensible) de la molécula.

En la **Figura 106** es posible apreciar fotografías ópticas del cambio de aspecto de una gota de PNIPAM-*b*-PANI tras ser irradiada con luz NIR, en las mismas condiciones que se realizó con las nano/micropartículas anteriormente. Nótese que el colapso se evidencia por la formación de agregados a partir de los 5 minutos de irradiación, haciéndose esto más notable a medida que transcurre el tiempo hasta llegar a los 15 minutos de irradiación.

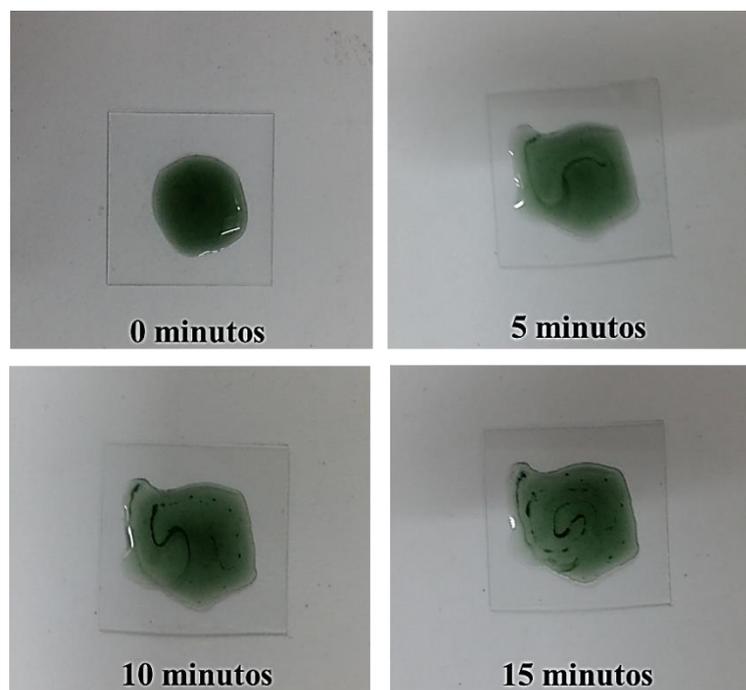


Figura 106. Fotografías de una gota de PNIPAM-*b*-PANI en función del tiempo de irradiación con luz NIR.

Este fenómeno también fue monitoreado mediante la cámara termográfica infrarroja. El resultado se expone en la **Figura 107** y da indicio de la distribución de temperaturas, mostrando que el calentamiento producido ocurre en forma localizada tras 5 minutos de irradiación. Las imágenes que comparan el inicio con el final del experimento se muestran como perfiles de temperatura en 3D en la **Figura 108**.

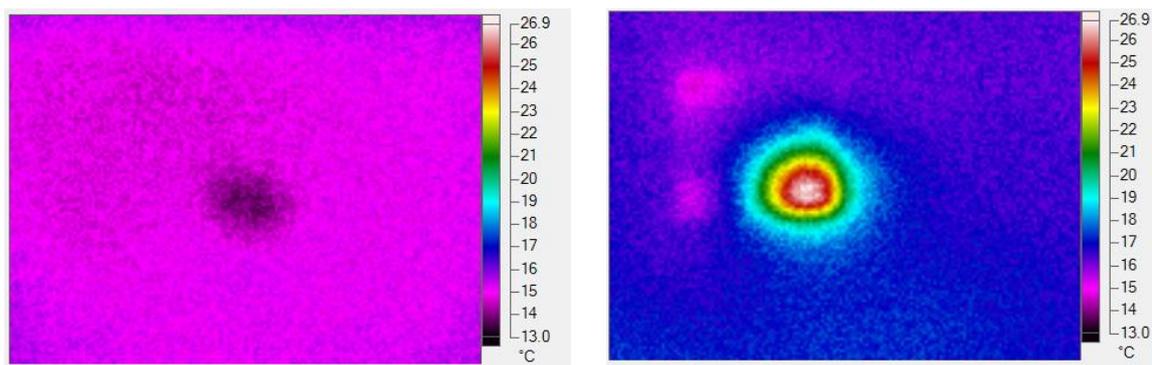


Figura 107. Imágenes obtenidas con cámara infrarroja tras irradiación de luz NIR (5 minutos).

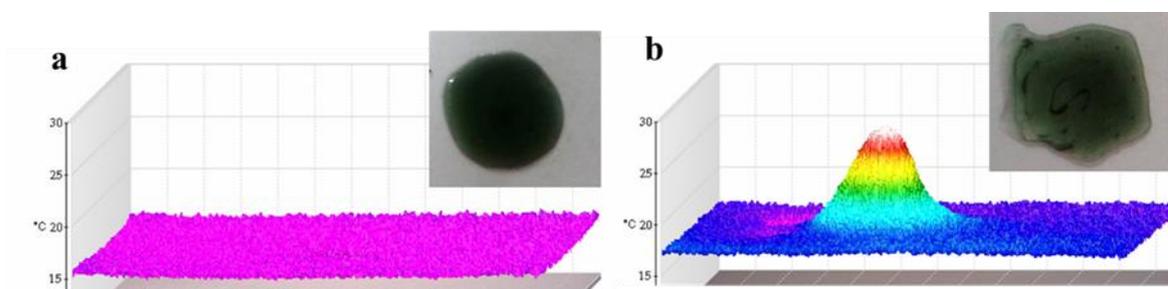


Figura 108. Perfiles 3D construidos durante la medición con cámara infrarroja tras 5 minutos de irradiación de la gota correspondiente a la macromolécula PNIPAM-*b*-PANI: a) antes de irradiar y b) tras irradiación NIR (15 minutos).

Adicionalmente, haciendo uso de microscopia de fuerza atómica, se evaluó el cambio que ocurre por la formación de los agregados mencionados y observados en las fotografías ópticas. Para ello, se depositó una gota sobre una superficie de mica y se tomaron las imágenes de AFM antes de irradiar y tras 2 minutos de irradiación con luz NIR. Los resultados se muestran en la **Figura 109**. Es evidente el colapso de la macromolécula dado por el efecto sinérgico: el bloque conductor absorbe la energía proveniente de la luz NIR, lo cual se traduce en un incremento de la temperatura local, induciendo así al colapso del polímero termosensible al alcanzar la LCST correspondiente. Es por ello que tras la irradiación, la morfología de la superficie cambia completamente: se forman glóbulos o agregados de unos pocos nanómetros, mientras que en el estado inicial la superficie presenta homogeneidad en su totalidad. Este comportamiento es similar al que fue observado para superficies generadas a partir de hidrogeles basados en PNIPAM.¹¹⁷ El fenómeno recientemente descrito es interesante ya que permitiría la aplicación de este tipo de compuestos como superficies sensibles a cambios inducidos fototérmicamente o

recubrimientos con un control de las propiedades hidrofílicas-hidrofóbicas por irradiación a distancia.

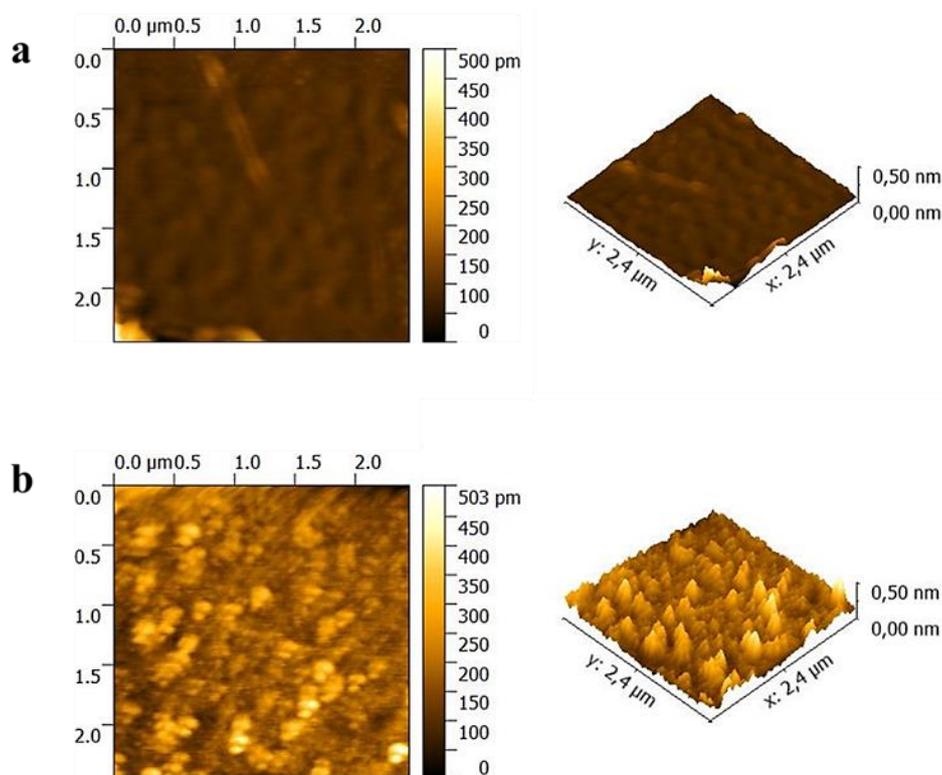


Figura 109. Imágenes tomadas por microscopia AFM: a) antes de irradiar y b) tras 2 minutos de irradiación con luz NIR.

A su vez, se construyó un perfil de variación de temperatura de la solución del copolímero bloque en función de tiempo de irradiación con luz NIR, evaluando el efecto fototérmico. En la **Figura 110** se muestra el gráfico obtenido para dicha experiencia. Se observa un incremento de temperatura de más de 8 °C, lo cual es alentador para su utilización en terapia fototérmica. Puede compararse el aumento de temperatura del medio (agua), el cual no supera los 3 °C en los 15 minutos de irradiación, permitiendo atribuir a la presencia del polímero conductor en la macromolécula la causa del efecto fototérmico.

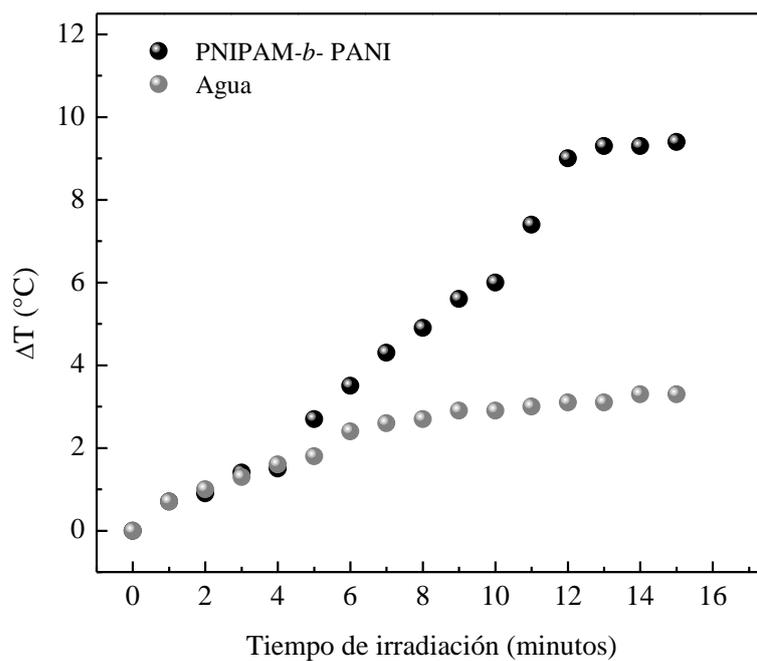


Figura 110. Incremento de temperatura de PNIPAM-*b*-PANI generado por irradiación con luz NIR. Temperatura inicial: 20 °C.

IV.6 INTERACCIÓN DE LOS MATERIALES CON SISTEMAS BIOLÓGICOS

En esta sección se muestran estudios referidos a viabilidad celular, toxicidad y teratogenicidad de algunos de los materiales con los que se trabajó en el transcurso de la Tesis Doctoral. Los mismos fueron realizados en colaboración con integrantes del Departamento de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Exactas Físico-Químicas y Naturales de la UNRC (grupos de investigación de la Dra. E. Inés Yslas y el Dr. Pablo Bosch) y con investigadores de la Universidad de Chile (grupo de investigación del Dr. Marcelo J. Kogan).

VI.6.1 Viabilidad y citotoxicidad

VI.6.1.1 Comportamiento celular de T3T-L1 frente a hidrogeles termosensibles y semi-IPN con PANI

Haciendo ensayos de viabilidad celular es posible conocer acerca de la toxicidad del material. En una primera instancia se determinó la viabilidad para soluciones del polímero conductor (PANI) en el solvente que se utilizó para la impregnación de los hidrogeles (NMP) haciendo uso de las técnicas MTT y cristal violeta. Además de comparar respecto al control celular, se comparó con NMP pura. En la **Figura 111** se muestran los resultados obtenidos por el método de MTT (**a**) y utilizando cristal violeta (**b**). En ambos casos se puede observar que la viabilidad celular disminuye a medida que se realizan diluciones del polímero conductor en la NMP, obteniendo a partir de la dilución 1:1000 una viabilidad similar a la del control. Otro dato importante es que la NMP por si sola como solvente disminuye la cantidad de células viables, independientemente del método utilizado para medir la viabilidad.

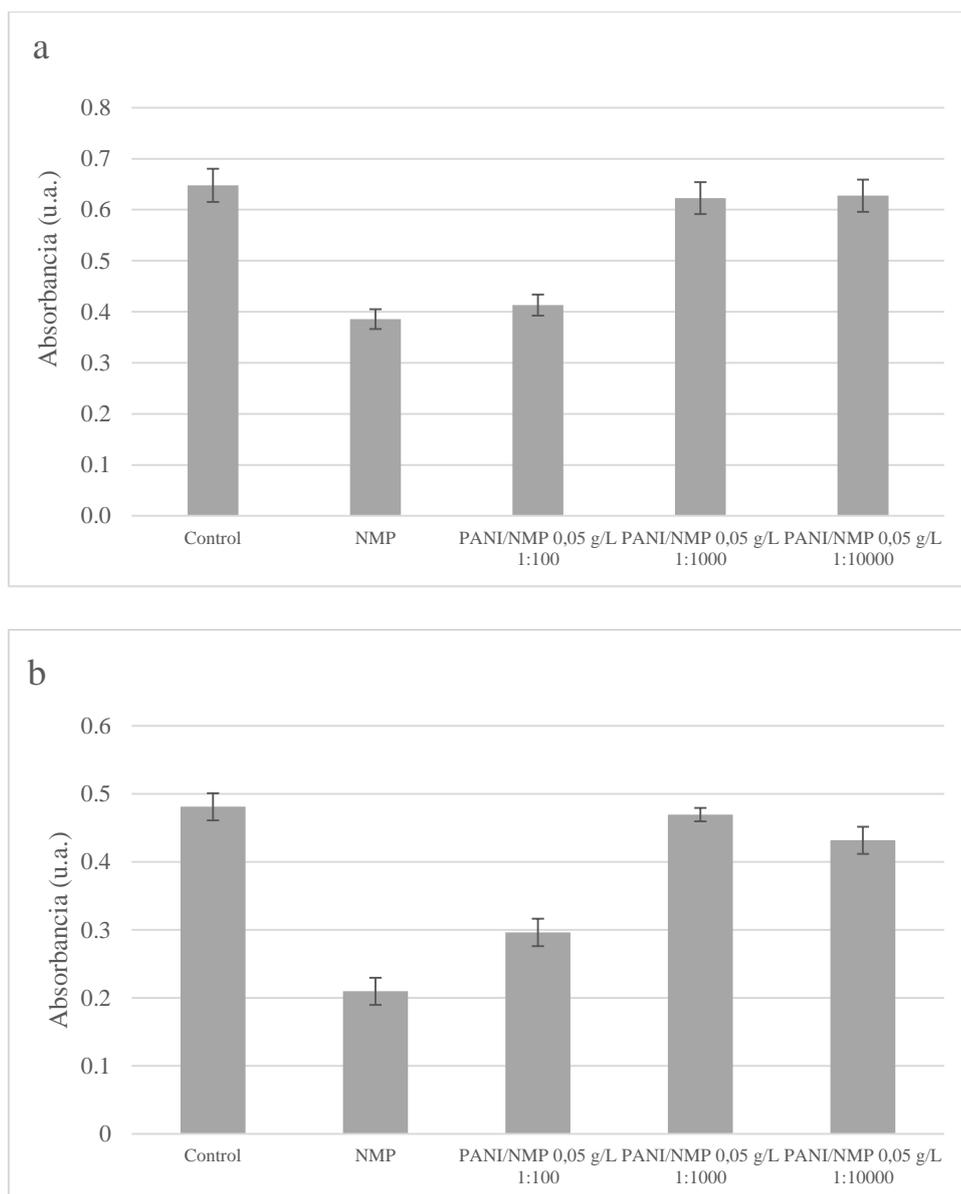


Figura 111. Ensayos de viabilidad celular sobre T3T-L1 realizado mediante: a) técnica MTT y b) tinción con cristal violeta.

Posteriormente, se realizó el ensayo para conocer viabilidad utilizando la técnica de cristal violeta para los distintos tipos de hidrogeles sintetizados: PNIPAM-co-2%AMPS y el semi-IPN, comparándolos con un hidrogel con PANI sintetizada *in situ*. En la **Figura 112** se puede observar que la toxicidad es relativamente baja, resultando ser un porcentaje menor para los semi-IPN sintetizados por la absorción de la solución de polímero lineal dentro de la matriz de hidrogel termosensible respecto a los otros dos materiales. Sin embargo, puede decirse que en general la viabilidad celular no sufre una disminución abrupta o apreciable.

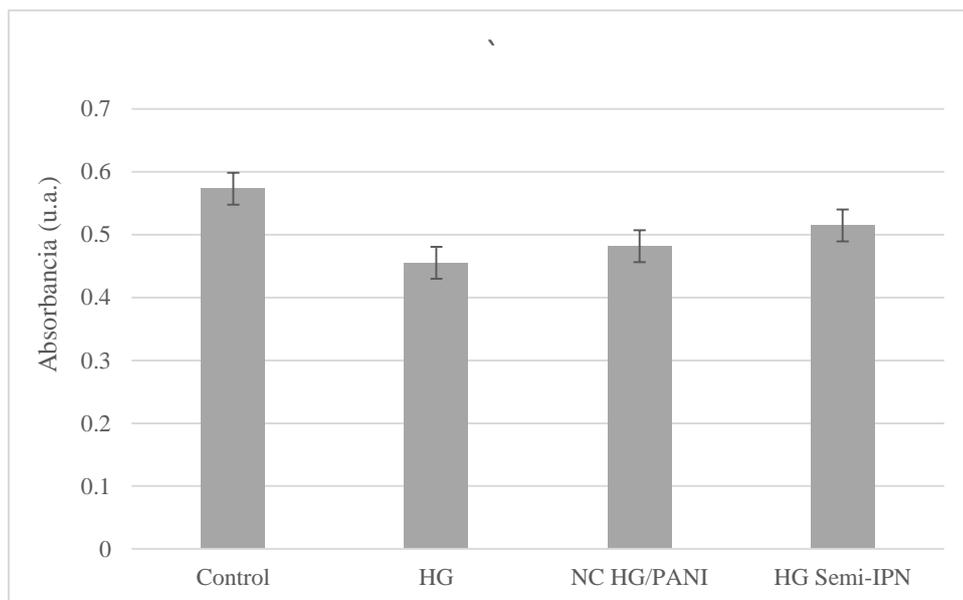


Figura 112. Ensayo de cristal violeta para los hidrogeles sin modificar, nanocompuestos e interpenetrados con PANI.

VI.6.1.2 Comportamiento celular de T3T-L1 frente a nanogeles PNIPAM-co-2%AMPS

Para comprobar que los nanogeles no afectan por toxicidad la línea celular de estudio (3T3-L1) se realizaron con ellos los ensayos de viabilidad celular por MTT y cristal violeta, en un procedimiento análogo a lo mostrado para los materiales macroscópicos. En ambos experimentos, se midió para diferentes diluciones en el medio DMEM de la dispersión de nanogeles obtenidas tras el proceso de síntesis: 1:10, 1:100, 1:1000 y 1:10000. En la **Figura 113** puede apreciarse que como los nanogeles no causan disminución de viabilidad en dicha línea celular e incluso las absorbancias son en algunos casos ser mayores que para el control, lo cual estaría indicando que hay un aumento del número de células que están uniéndose al compuesto coloreado debido a procesos de proliferación celular, especialmente cuando se evalúa la toxicidad por el método de cristal violeta.

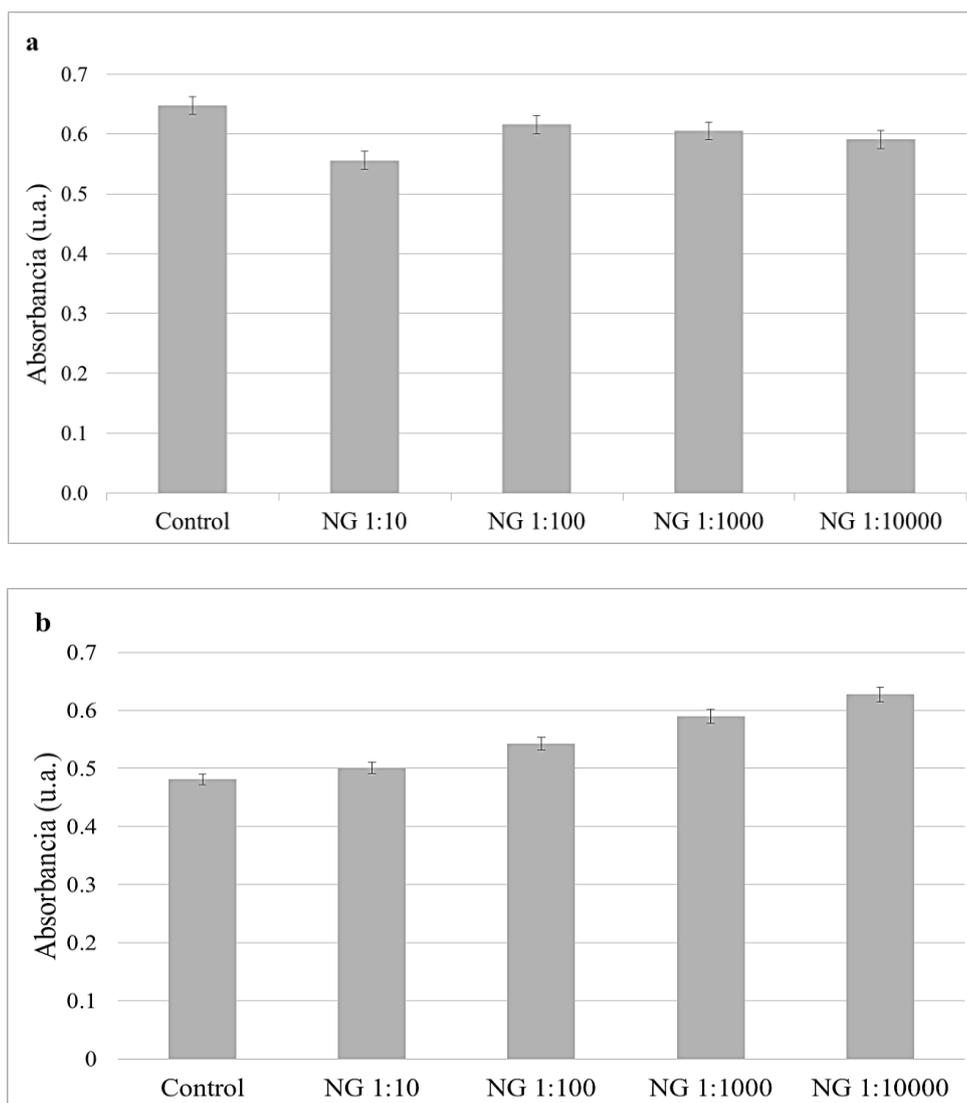


Figura 113. Viabilidad celular de nanopartículas de gel medida por distintas técnicas: a) MTT y b) ensayo de cristal violeta.

VI.6.1.3 Comportamiento de la línea celular de neuroblastoma humano SHSY-5Y frente a NP PANI

Se han estudiado los efectos citotóxicos de las nanopartículas sintetizadas por el método de IUPAC modificado según se explicó en la **sección III.1.4.4**. Al utilizar distintas proporciones de agentes estabilizantes (PVP y PNIPAM) se obtuvieron dos tamaños de partículas diferentes como se vio por DLS. También se realizó el mismo ensayo utilizando las nanopartículas de PANI sintetizadas por el método de desplazamiento de solvente, las cuales poseen un tamaño menor a los 100 nm. Los estudios se llevaron a cabo en la línea celular de neuroblastoma humano SHSY-5Y. Se evaluó dicha toxicidad a dos tiempos diferentes: 24 y 48 horas (**Figura 114**).

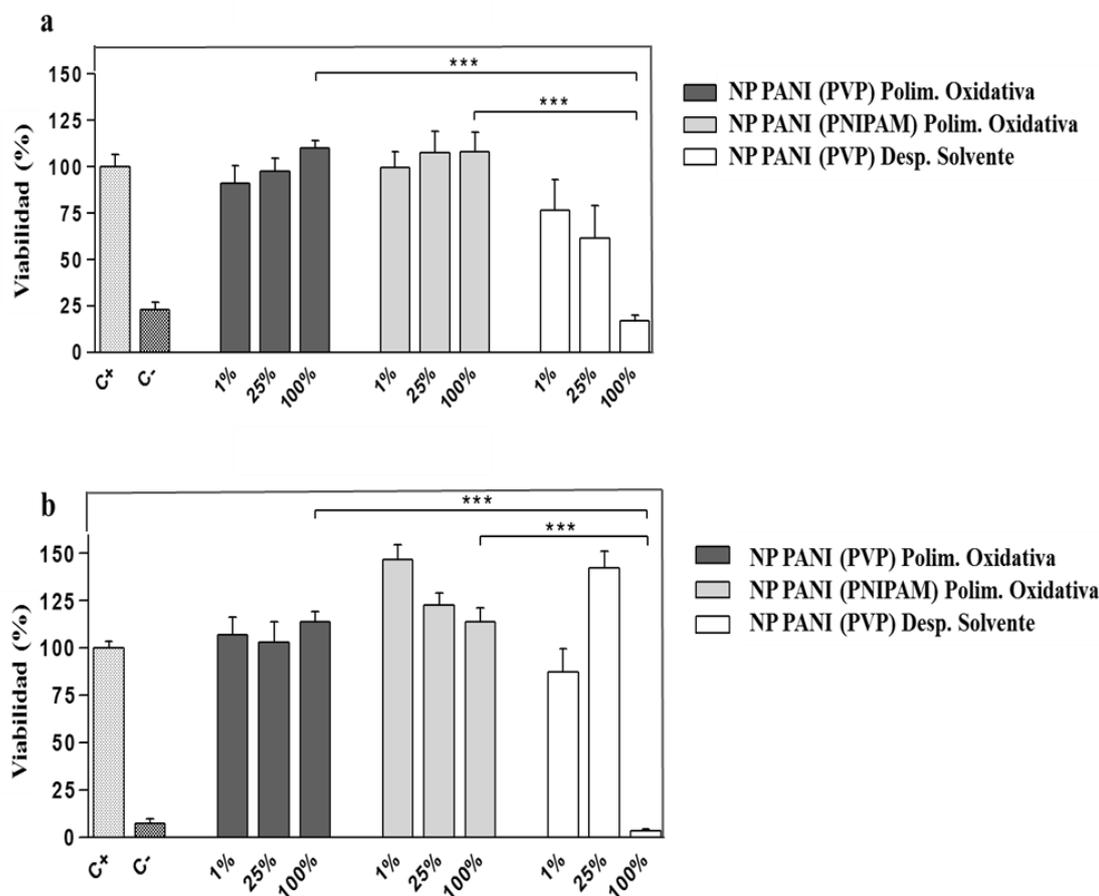


Figura 114. Efectos citotóxicos de NP PANI sobre la línea celular SH-SY5Y: a) citotoxicidad a 48 horas y b) citotoxicidad a 48 horas. C+: control de vida C-: control de muerte. Se trabajó con un grupo de datos n = 15 y un error P < 0.0001.

A partir de los resultados obtenidos, puede inferirse que las NP PANI sintetizadas por polimerización oxidativa, utilizando tanto PVP como PNIPAM como agentes estabilizantes, no ejercen efectos tóxicos significativos en el modelo celular estudiado, detectando incluso en bajas concentraciones fenómenos de proliferación celular. En el caso de las NP PANI sintetizadas por desplazamiento de solvente haciendo uso de PVP como agente polimérico estabilizante se observan efectos letales significativos sobre la línea SHSY-5Y, especialmente cuando se trabaja a altas concentraciones de nanomaterial. Probablemente la causa de la disminución en la viabilidad celular se deba a la presencia del solvente NMP, aunque el tamaño de las nanoestructuras puede también ser una causa del fenómeno observado.

VI.6.2 Morfología celular

VI.6.2.1 Efecto de hidrogeles sobre la morfología y densidad celular de T3T-L1

Utilizando la línea celular T3T-L1, se pusieron en contacto las células con las superficies de los materiales. De esta manera es posible observar si las mismas se ven alteradas por la presencia de los diferentes tipos de hidrogeles: sin interpenetrar, semi-interpenetrados y con PANI incorporada por polimerización *in situ*. En la **Figura 115** se muestran las fotografías tomadas por microscopía óptica para dos aumentos diferentes: 10X y 20X. Puede observarse que en el hidrogel PNIPAM-co-2%AMPS no hay cambio morfológico ni en la densidad celular (**c** y **d**) respecto al control de las células en el medio de cultivo DMEM. Para los hidrogeles con PANI polimerizada en su interior (**e** y **f**) se observa que existe una diferencia significativa respecto al control (**a** y **b**) y al hidrogel termosensible que no se puso en contacto con la PANI. En este caso al ponerse en contacto con las células, el material desprende partículas o partes del polímero, mostrando además un cambio morfológico en las células y disminuyendo la densidad de las mismas sobre el gel y sus cercanías. Esto permitiría inferir que puede existir algún efecto citotóxico. Por último, en los hidrogeles semi-interpenetrados con PANI desde NMP (**g** y **h**) no se ven alteraciones de ningún tipo en las células ni en el material si se compara con el control y la matriz de PNIPAM-co-2%AMPS.

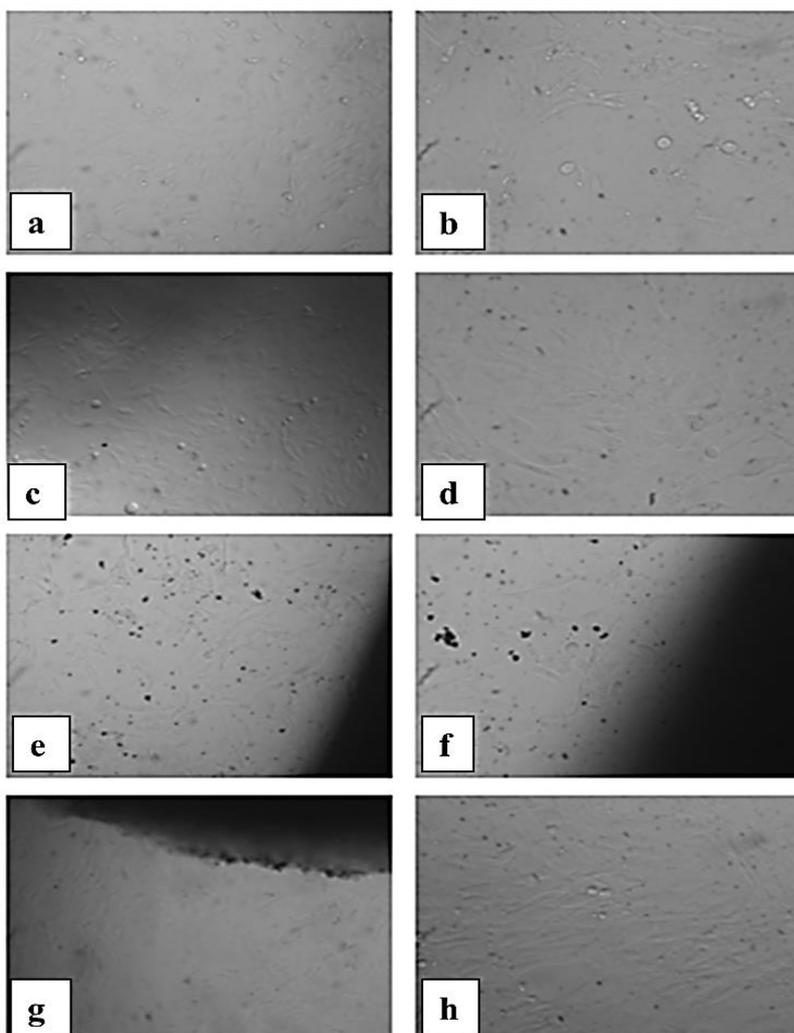


Figura 115. Células T3T-L1 sobre superficies de hidrogeles: a) control 10X, b) control 20X, c) hidrogel PNIPAM-co-2% AMPS 10X, d) hidrogel PNIPAM-co-2% AMPS 20X, e) hidrogel con PANI polimerizada *in situ* 10X, f) hidrogel con PANI polimerizada *in situ* HG NC 20X, g) hidrogel semi-IPN con PANI 10X y h) hidrogel semi-IPN con PANI 20X.

VI.6.2.2 Células 3T3-L1 en presencia de nanogeles PNIPAM-co-2%AMPS

Al exponer la células 3T3-L1 al contacto con los nanogeles sintetizados según se mostró en la **sección III.1.4.1** se observa que la morfología celular típica de los fibroblastos (tipo ahusada) no se modifica (**Figura 116**). El experimento se realizó observando en un aumento 30X, comparando el control correspondiente al medio DMEM (**a**) con tres concentraciones diferentes de nanogeles: 1/10 (**b**), 1/100 (**c**) y 1/1000 (**d**). El resultado del estudio revela que la morfología celular se mantiene, independientemente de la concentración de nanogeles utilizada.

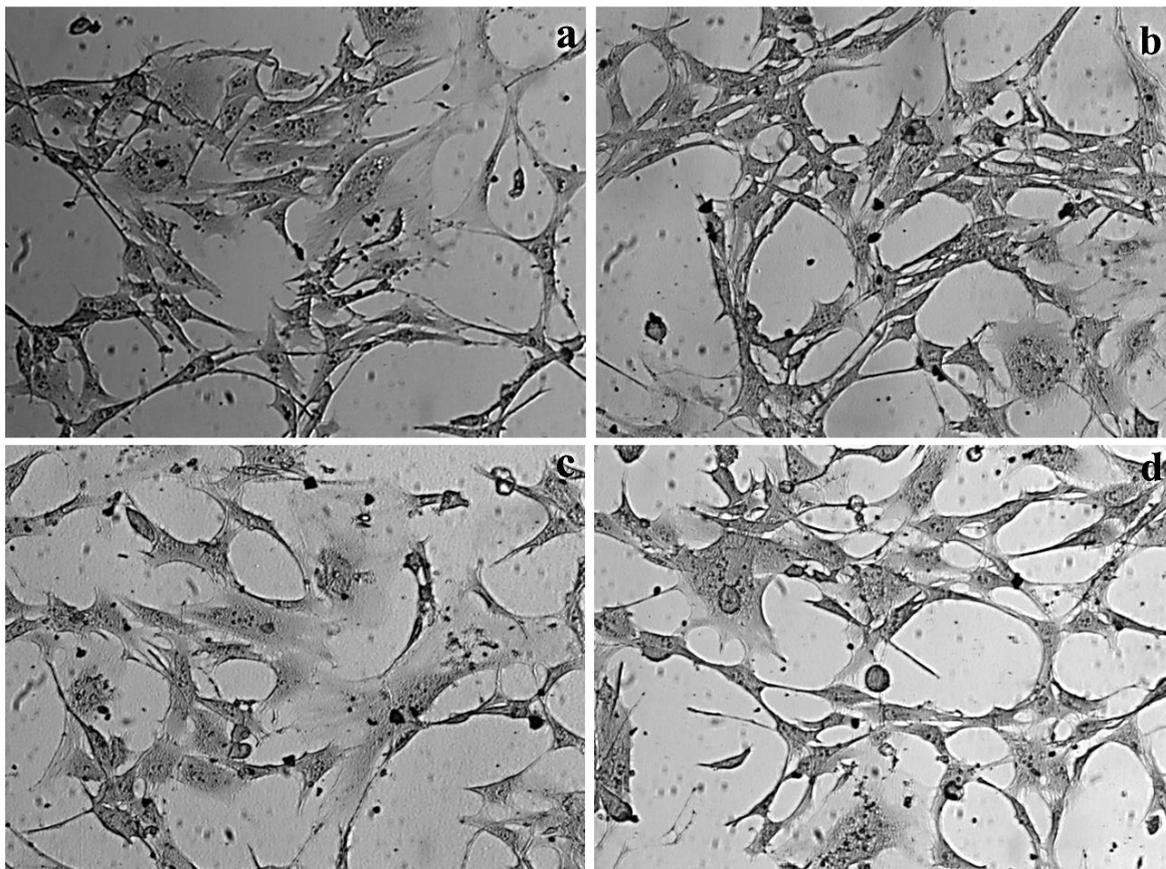


Figura 116. Imágenes tomadas por microscopía óptica (aumento 30X) para la observación de la morfología celular al exponer a diferentes concentraciones de nanogeles: a) control, b) dilución 1/10, c) dilución 1/100 y d) dilución 1/1000.

VI.6.3 Toxicidad y teratogenicidad en modelo anuro *Rhinella arenarum*

En los últimos años existe una creciente utilización de nanomateriales, por lo que se considera necesaria la evaluación de los posibles efectos adversos en los seres humanos y en el medio ambiente en caso de que los mismos sean producidos en gran escala. Es por ello que determinar el peligro asociado a las NP PANI en el medio ambiente (en términos de toxicidad aguda y teratogenicidad en *Rhinella arenarum*) es una cuestión de considerable importancia.

VI.6.3.1 Toxicidad aguda: efectos letales en estado de larva S.25

La susceptibilidad de las larvas de *R. arenarum* frente a las NP PANI durante la etapa S.25a de desarrollo se evaluó mediante la exposición de las larvas a diferentes concentraciones de nanopartículas durante 96 horas, corroborando luego el porcentaje de supervivencia. Dicho ensayo corresponde a una prueba estandarizada empleando larvas de

anfibios para evaluar la toxicidad aguda. En la **Figura 117** puede observarse el porcentaje de supervivencia de las mismas frente a la exposición de NP PANI estabilizadas con PVP (a) y PNIPAM 1%-PVP 1% (b).

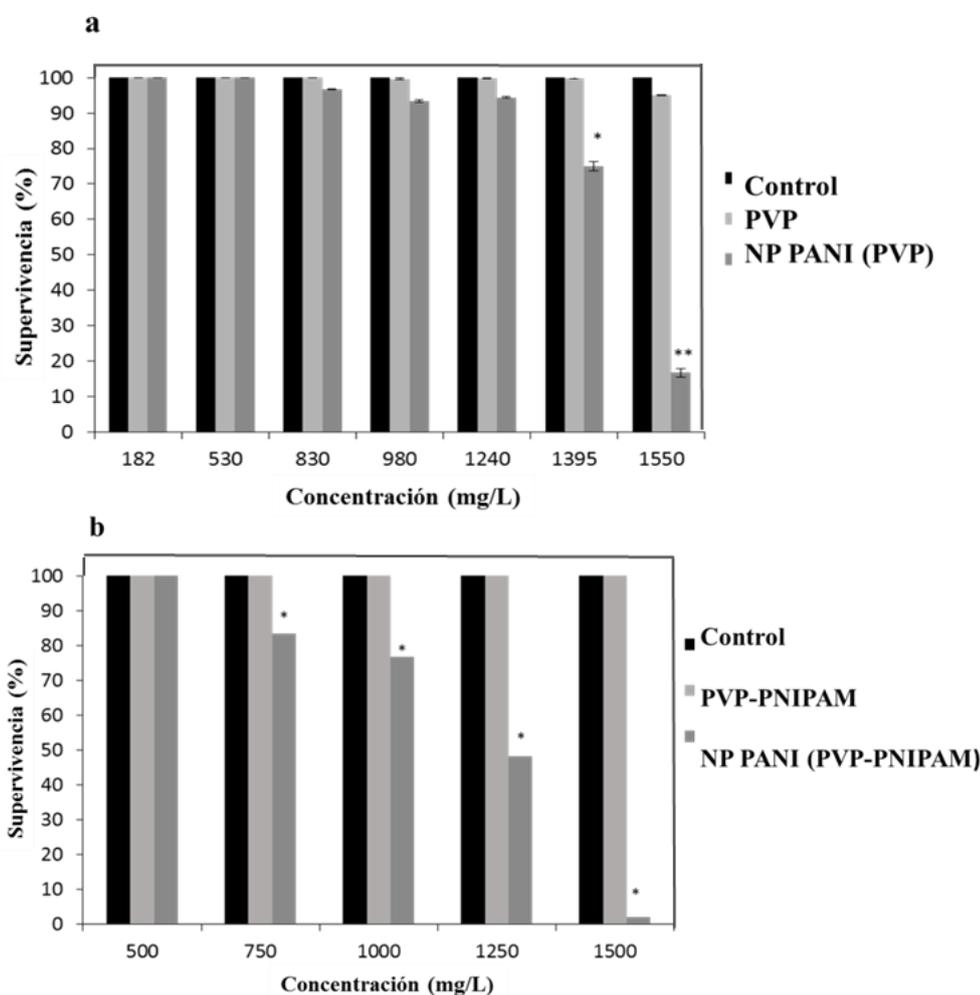


Figura 117. Porcentaje de supervivencia de las larvas de *Rhinella arenarum* en un tiempo de 96 horas de exposición frente a: a) NP PANI estabilizadas con PVP y b) NP PANI estabilizadas con PVP 1% - PNIPAM 1%.

Tras el análisis de los resultados expuestos puede inferirse que la supervivencia de las larvas no se vio afectada por NP PANI estabilizadas con PVP a concentraciones entre 182-1240 mg/L. Los resultados arrojan que no hay diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de viabilidad respecto al control. Sin embargo, a una concentración de 1395 mg/L se observó una disminución estadísticamente significativa en el alcance de la supervivencia, llegando a un valor del 70 ± 2 %. En concordancia con lo anterior, a mayor concentración de estas nanopartículas (1550 mg/L), la tasa de supervivencia se redujo a 16 ± 2 %. Cabe destacar que el ensayo con el estabilizante en

ausencia de PANI no disminuyó la viabilidad. En resumen, los resultados indican que hay una tolerancia a la exposición de NP PANI (PVP) en la fase larvaria S.25a una concentración de 1240 mg/L. Por otra parte, al evaluar la toxicidad de las NP PANI con PNIPAM como agente estabilizante se registraron diferencias en comparación con las estabilizadas con PVP. Como se deduce de la **Figura 117**, el efecto letal se registró a una concentración menor que para las NP PANI (PVP): 750 mg/L. La toxicidad de las dispersiones de ambos tipos de nanopartículas fue dependiente de la dosis, registrándose una tolerancia casi dos veces mayor para las estabilizadas con PVP (efecto letal a partir de las concentraciones 1395 mg/L) en comparación con las termosensibles (efecto letal a partir de las concentraciones 750 mg/L). También puede observarse en el mismo gráfico que la mezcla de estabilizantes (al 1% cada uno) tampoco causó ningún efecto letal. Adicionalmente, se estudió la toxicidad haciendo uso de análisis probabilístico. Las concentraciones detectadas se detallan en la **Tabla 20**.

Tabla 20. Resultados arrojados por el análisis probabilístico de la exposición a NP PANI de larvas en estadio S.25.

Análisis	NP PANI (PVP)	NP PANI (PVP-PNIPAM)
Concentración sin efecto observado (NOEC)	936,20 mg/L	484,82 mg/L
Concentración letal media (LC ₅₀)	1170,47 mg/L	1501,50 mg/L
Concentración letal 99% (LC ₉₉)	2408,20 mg/L	2778,69 mg/L

Según los datos mostrados de la tabla, tanto LC₅₀, LC₉₉ y NOEC se obtuvieron a valores menores para las nanopartículas estabilizadas con ambos polímeros que para las que solo están estabilizadas por PVP. Teniendo en cuenta que hay una diferencia de tamaño entre ambos tipos de nanoestructuras, podría inferirse que existe un efecto tóxico dependiente del tamaño de las NP PANI. Sin embargo, considerando el LC de ambas dispersiones, pueden ser clasificados como materiales no tóxicos para los organismos acuáticos, de acuerdo con lo reportado por Sanderson y Blaise para la evaluación del potencial peligro ecotoxicológico.^{325, 326}

VI.6.3.2 Ensayos de teratogenicidad: efecto de desarrollo en las primeras fases de vida

El ensayo teratogénico de ambos tipos de NP PANI en embriones de *R. arenarum* se llevó a cabo mediante la observación de los efectos embriotóxicos en la exposición continua a partir de principios de blástula (S.2-S.4) durante un período de 96 horas. La susceptibilidad de los embriones se evaluó a diferentes concentraciones de NP PANI estabilizadas con PVP y PVP 1%-PNIPAM 1%. Se expresaron efectos subletales como anomalías morfológicas que involucran a la teratogénesis y la reducción de tamaño del cuerpo. Durante la prueba, la tasa de embrión teratogénico aumentó con el incremento de la concentración de exposición en ambos tipos de dispersión de nanopartículas como se observa en la **Figura 118**. Analizando los resultados correspondientes a las nanoesferas estabilizadas con PVP (**a**), se observaron diferencias estadísticamente significativas por los efectos subletales entre las diferentes concentraciones del nano-objeto y la evaluación de su estabilizante polimérico (PVP 2% en PBS en distinta proporción según la solución de prueba). Estos resultados sugieren un efecto subletal de ambos (NP y estabilizante) por lo que puede atribuirse al estabilizante el efecto mencionado. Además, en la **Figura 119** se observa que el efecto letal de NP PANI estabilizadas con PVP en los embriones expuestos se vio aumentado gradualmente a medida que las concentraciones fueron mayores.

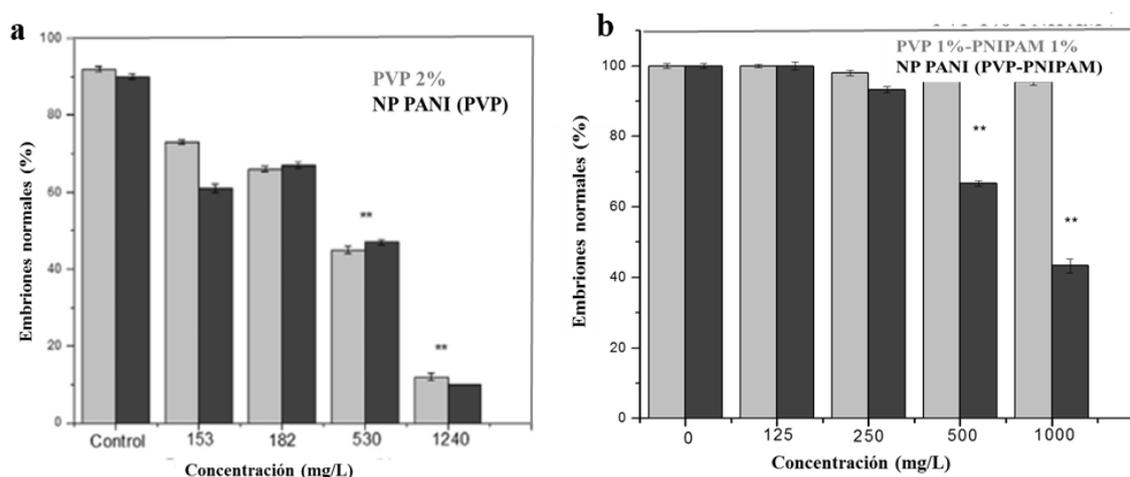


Figura 118. Porcentaje de embriones con morfología normal tras 96 horas de exposición a: a) NP PANI estabilizadas con PVP y b) NP PANI estabilizadas con una mezcla de PVP y PNIPAM en idénticas proporciones. Controles: PBS y RS.

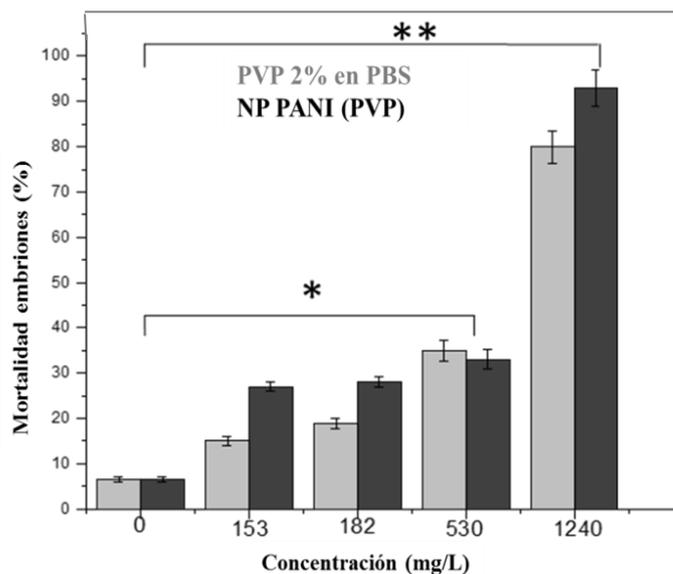


Figura 119. Porcentaje de mortalidad de embriones tras 96 horas de exposición a diferentes concentraciones de NP PANI (estabilizadas con PVP) y PVP 2% en PBS, comparados con el control.

Los porcentajes de mortalidad (efectos letales) así como los porcentajes de malformaciones (efectos subletales) en embriones prematuros también se sometieron a análisis probabilístico. Para las NP PANI (PVP), resultó el NOEC en 26,9 mg/L, la concentración teratogénica media (TC₅₀) fue 299,5 mg/L y la concentración teratogénica (TC₉₉) se estimó en 3327,6 mg/L. Por otro lado, para las concentraciones de PVP subletales, NOEC fue estimado en 44,7 mg/L, TC₅₀ en 426,6 mg/L y TC₉₉ 4073,6 mg/L. En cuanto a las nanopartículas termosensibles, el efecto subletal fue menos grave que para las otras: la combinación de dos estabilizantes no produjo efectos subletales ni efecto letal en las concentraciones ensayadas. Este resultado sugiere que los dos polímeros estabilizantes (un porcentaje de 1% de PVP más la adición de PNIPAM 1%) logra disminuir el efecto teratogénico del NP PANI estabilizadas con PVP. Sin embargo, malformaciones producto de la exposición de NP PANI (PVP-PNIPAM) también se observaron (a partir de la concentración de 500 mg/L), como mostró la **Figura 118b**. De acuerdo con el análisis de probabilidad, las concentraciones subletales para estas nanopartículas fueron las siguientes: NOEC estimado en 142,8 mg/L, TC₅₀ fue 868,3 mg/L y TC₉₉ fue igual a 5279,1 mg/L. Como se puede apreciar en la **Tabla 21**, todas las estimaciones son mayores para NP PANI que contienen la mezcla PVP-PNIPAM como agente estabilizante.

Tabla 21. Resultados arrojados por el análisis probabilístico para larvas en estadio S.2-S.4 al ser expuestas a NP PANI.

Análisis	PVP 2%	NP PANI (PVP)	NP PANI (PVP-PNIPAM)
Concentración sin efecto observado (NOEC)	44,7 mg/L	26,90 mg/L	142,8 mg/L
Concentración teratogénica media (TC ₅₀)	426,6 mg/L	299,5 mg/L	868,3 mg/L
Concentración teratogénica 99% (TC ₉₉)	4073,4 mg/L	3327,6 mg/L	5279,1 mg/L

El Índice Teratogénico (IT) es una medida del riesgo de un xenobiótico determinado sobre el desarrollo temprano de una especie. Si el valor es significativamente superior a 1,5 significa que existe un mayor potencial para que los embriones se encuentren malformados, en ausencia de significativa mortalidad. El mismo puede conocerse a partir de la **Ecuación 13.**³²⁷

$$IT = \frac{LC_{50}}{TC_{50}} \quad \text{Ecuación 13}$$

Este índice fue calculado para las NP PANI termosensibles resultando ser 1,35; mientras que para el NP PANI (PVP) arrojó un valor de 5,01. Para este último caso indica un gran potencial para ejercer malformación en embriones en ausencia de significativa mortalidad embrionaria. Según los resultados expuestos anteriormente, las NP PANI estabilizadas con PVP son más teratogénicas que las estabilizadas con PVP-PNIPAM, pudiendo atribuirse esto a la toxicidad que es agregada por el PVP que se utiliza como agente estabilizante al 2% p/v.

IV.7 APLICACIONES DE LOS MATERIALES SINTETIZADOS

IV.7.1 Sensores de presión

Debido a que la PANI a pH ácido se encuentra en su forma conductora y teniendo en cuenta los resultados obtenidos en los experimentos de compresión uniaxial para determinar el módulo de elasticidad de los hidrogeles PNIPAM-co-2%AMPS semi-interpenetrados con PANI, puede estudiarse el comportamiento del material en cuanto a la conducción de la corriente eléctrica a través de él. Experimentos similares se realizaron previamente para los materiales nanocompuestos con polianilina polimerizada *in situ*.²²⁰ En la **Figura 120** puede observarse claramente el efecto de la presión sobre la conductividad del material semi-IPN, donde se mide la resistencia eléctrica como una función de la compresión de un cilindro de hidrogel tras 14 días de impregnación con PANI y luego llevado a un pH 2 (dopado). La resistencia eléctrica en el hidrogel disminuye en forma lineal a medida que aumenta la presión efectuada (mayor compresión). Se logra así una disminución de 8 k Ω para un ~25 % de compresión.

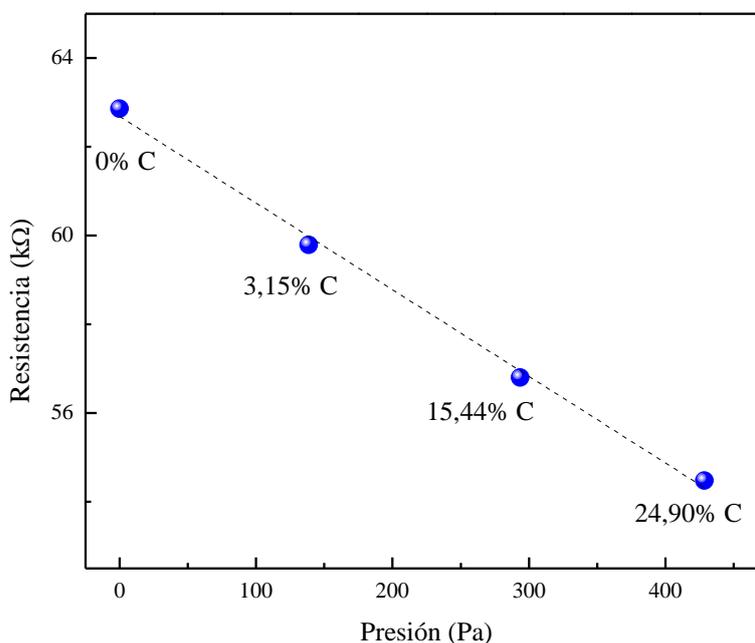


Figura 120. Resistencia eléctrica en función del estrés de un material semi-IPN basado en PNIPAM-co- 2%AMPS con 14 días de carga de PANI estabilizada a pH 2 a 20°C.

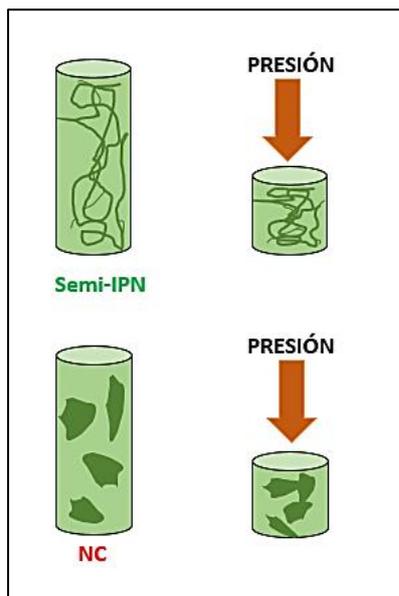
El cambio de resistencia relativa al realizar una compresión puede cuantificarse a través del factor Gauge (G), y es dependiente del esfuerzo (ε) como se muestra en la **Ecuación 14**:

$$\frac{R}{R_0} = G * \varepsilon \quad \text{Ecuación 14}$$

Generalmente, dicha ecuación se utiliza en medidas de deformación de metales y el valor de G se aproxima a 2 cuando los esfuerzos son bajos.³²⁸ Para otros materiales como son los materiales compuestos, la conductividad es dependiente del esfuerzo. En un nanocompuesto o material interpenetrado, la aplicación del esfuerzo es capaz de producir cambios en el espaciado de las partículas o aglomerados de polímero conductor. Esto se traduce en grandes cambios de resistividad. Un aumento de G implica una mayor sensibilidad del material a los cambios de resistividad.

A partir de los resultados mostrados en la **Figura 120**, se ha calculado los valores de G para el hidrogel semi-IPN. Existiendo una relación $\Delta R/R_0 = 0,067$ se obtuvo un factor Gauge igual a 0,950. Comparando este valor con el de un hidrogel con PANI crecida *in situ*, es cinco veces menor ($\Delta R/R_0 = 0,395$; factor Gauge igual a 5,640).²⁷⁵

Teniendo en cuenta estos resultados y los referidos a propiedades mecánicas de los hidrogeles semi-IPN generados en esta Tesis, es posible representar el mecanismo que muestra la sensibilidad del material frente a variaciones de presión (**Esquema 38**). En el material semi-IPN la cadena conductora de PANI tiene mayor interacción con las cadenas de PNIPAM cuando se encuentra en estado hinchado y existen así puntos de contacto de acuerdo a la distribución espacial del polímero conductor, siendo la presión aplicada suficiente para alterar la resistencia eléctrica del material. En el caso de materiales nanocompuestos reportados con anterioridad, es probable que algunos nanodominios de PANI se aíslen en el polímero hinchado y se pongan en contacto cuando el material es deformado, generando trayectorias que son capaces de conducir la corriente eléctrica, traduciéndose en una disminución de la resistencia.



Esquema 38. Representación de la distribución de PANI dentro de una matriz de hidrogel, antes y después de aplicar presión externa. Comparación del material semi-IPN con un nanocompuesto.

IV.7.2 Actuadores termoactivados

El aumento de los puntos de contacto por la presión aplicada en el material PNIPAM-co-2%AMPS semi-IPN con PANI es significativo y permite así proponer su uso en un dispositivo tecnológico como interruptor térmico. Esto se debe a la capacidad que posee el material para colapsar, otorgada por el polímero termosensible. El interruptor térmico se puede construir colocando una muestra cilíndrica de gel entre dos placas de aluminio conectadas a un multímetro. El sistema se encuentra termostatzado (20 °C) en una placa. En estas condiciones se mide la resistencia eléctrica, la cual resulta 540 kΩ aproximadamente. Durante el aumento de temperatura del sistema, se alcanza la temperatura de transición de fase (47 °C) y se observa una disminución de la resistencia eléctrica a 350 kΩ. Es decir, hay colapsos radiales del cilindro, los puntos de contacto entre las cadenas de PANI se incrementan y se traduce en un aumento de la conductividad eléctrica. Cuando se supera la LCST (> 47 °C) el volumen de material compuesto disminuye y el punto de contacto entre el compuesto y el electrodo se pierde (~ 11000 kΩ). De esta manera, la señal eléctrica se interrumpe. Al disminuir la LCST, el hidrogel semi-interpenetrado vuelve a hincharse y la señal eléctrica se recupera. En la **Figura 121** se muestran imágenes del proceso detallado anteriormente.

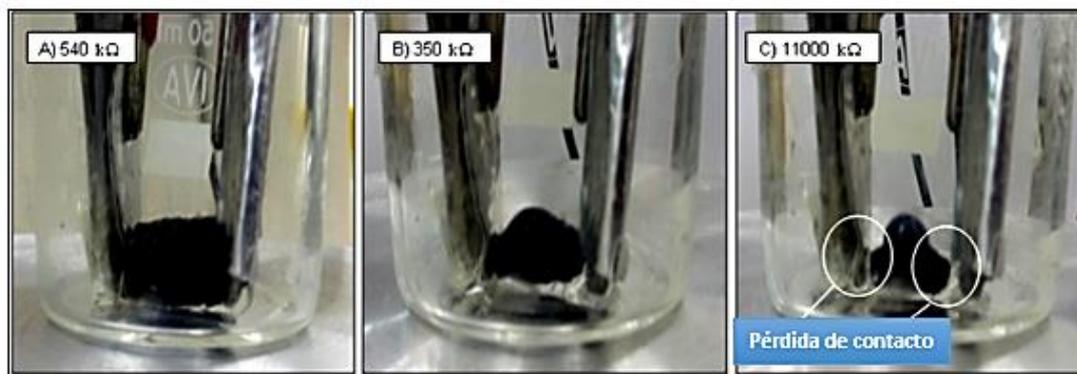


Figura 121. Fotografías y lectura de la resistividad eléctrica del material semi-IPN entre dos placas de aluminio conectados a un multímetro a diferentes temperaturas: a) 20 °C, b) 48 °C y c) 55 °C.

IV.7.3 Sensores resistivos

En esta sección se aborda la aplicación de las películas delgadas de PANI y las NF PANI (sin modificar y modificadas, tanto por adición nucleofílica como sustitución electrofílica aromática) como sensores a cambios de resistencia. Para ello, los sensores construidos fueron expuestos a vapores de diferentes compuestos orgánicos: metanol (MeOH), etanol (EtOH), propanol (PropOH), butanol (ButOH), pentanol (PentOH) y heptano (Hept). Todos los datos obtenidos son comparados con aire, teniendo control de la humedad relativa (HR).

IV.7.3.1 Obtención de la señal generada por cambios de resistencia

Haciendo uso de la **Ecuación 15** es posible cuantificar los cambios de resistencia, expresada como S (Señal) al normalizarse:

$$\text{Señal } (S) = \frac{R_g}{R_0} \quad \text{Ecuación 15}$$

donde R_0 es la resistencia inicial y R_g es la diferencia entre la resistencia inicial (R_0) y el valor final del ciclo para cada gas (vapor de compuesto orgánico).

A modo de ejemplo, en la **Figura 122** se pueden apreciar los cambios de resistencia en el tiempo en el caso de exposición a los vapores de propanol y butanol para sensores en base a PANI con diferente morfología.

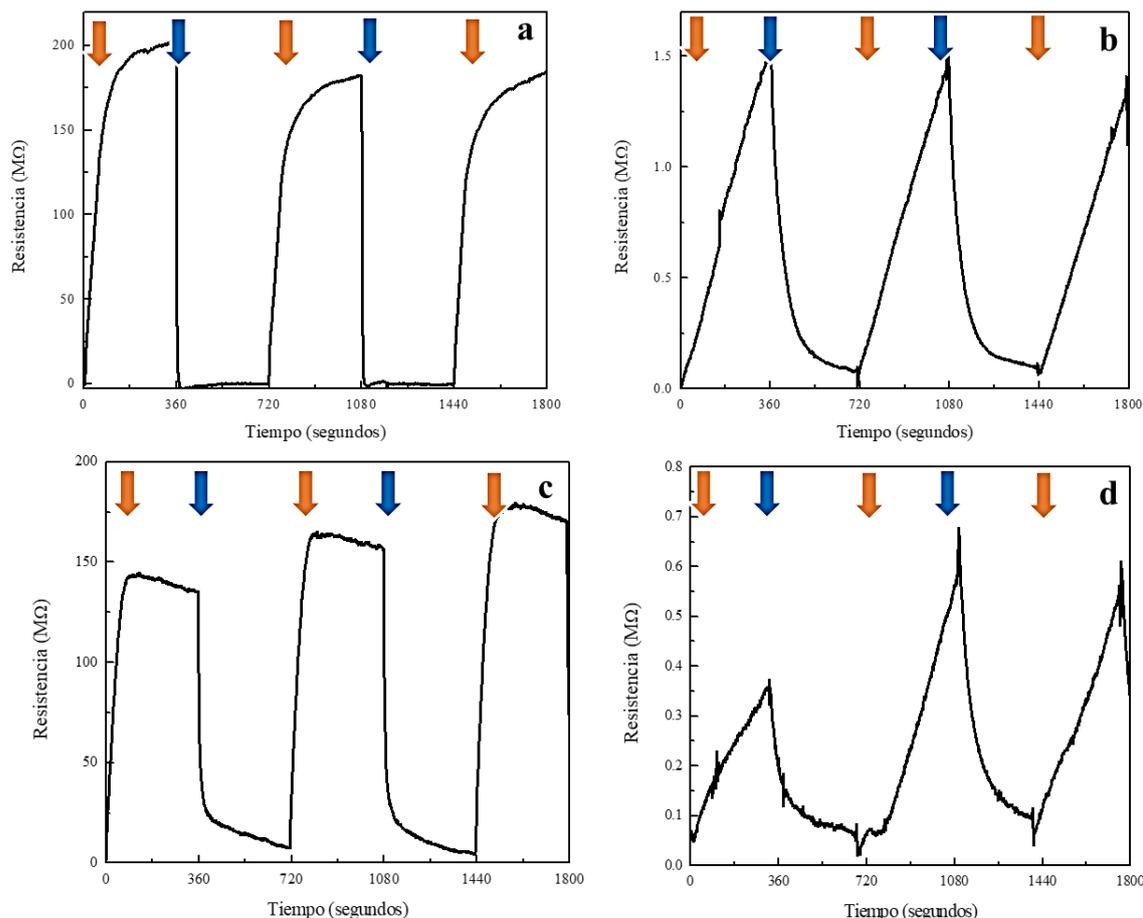


Figura 122. Respuesta típica de los sensores: a) NF PANI expuesta a propanol, b) película PANI expuesta a propanol, c) NF PANI expuesta a butanol y d) película PANI expuesta a butanol. Las flechas indican exposición (naranja) y remoción (azul) al vapor.

En la **Figura 123** se muestran los valores de señal de cada uno de los sensores calculados a partir de la **Ecuación 15**. Como puede observarse, tanto para PANI como para PANI funcionalizadas, las señales frente a un mismo vapor son diferentes (en cuanto a magnitud e incluso muchas veces el signo) cuando varía la morfología del polímero conductor. Dado que las interacciones químicas dependen de la naturaleza química de los grupos presentes, tal comportamiento sugiere que el efecto del vapor sobre la respuesta de la señal obedece a un mecanismo más complejo. Anteriormente,²⁴⁸ se ha reportado que los cambios en la resistencia (ΔR_T) poseen una contribución dada por varios factores, tales como: i) los efectos electrónicos intrínsecos (ΔR_{ele}) debido a las interacciones químicas, ii) las variaciones en el proceso de salto electrónico (ΔR_{hop}) debido al hinchamiento y iii) las modificaciones en el medio dieléctrico entre las cadenas (ΔR_{med}) (**Ecuación 16**).

$$\Delta R_T = \Delta R_{ele} + \Delta R_{hop} + \Delta R_{med} \quad \text{Ecuación 16}$$

La conductividad iónica de un electrolito está directamente relacionada con la constante dieléctrica del compuesto que se desea sensar debido a los cambios en la estabilización iónica y la movilidad iónica. Por lo tanto, la contribución de conductividad iónica (importante en la polianilina dopada) aumenta conforme se incrementa la constante dieléctrica (ΔR_{med}). Por un lado, R_{ele} es similar para la PANI, ya sea que se encuentre como película delgada o en forma de nanofibras, debido a que la naturaleza química es la misma. Por otro lado, los efectos de hinchamiento y dieléctricos dependen fuertemente de la morfología de las estructuras conductoras. Como se pudo observar, existen pequeños cambios en los espectros electrónicos de la PANI dispersos en agua y en etanol. Cabe destacar que una capa construida utilizando nanofibras modificadas con dodecanotiol (NF PANI-DOT) no muestra resistencia medible mientras que una película delgada modificada con el mismo reactivo es conductora y la resistencia se ve afectada por la naturaleza del vapor a sensar. Es probable que la funcionalización por adición nucleofílica de la superficie externa de las nanofibras PANI con el tiol de cadena larga haga que el contacto interfibra sea deficiente, resultando así que el depósito no sea conductor mientras que la misma reacción en la película sólo altera la interacción con los vapores.

Debe tenerse en cuenta que las interacciones químicas también modulan el efecto de hinchamiento y dieléctrico, ya que la cantidad de vapor adsorbido depende de la fuerza de las interacciones. Esto implica que el efecto de la funcionalización química y la morfología se combinan dando diferentes perfiles de señal para cada analito. Es decir, la diferencia de morfología no sólo modifica la intensidad de las señales sino que también influye en cada respuesta (signo de la señal). Por lo tanto, el grupo funcional añadido a la estructura conductora permite generar nuevos materiales de detección aunque debe dejarse claro que un simple mecanismo de interacción química no podría ser utilizado para explicar la señal observada. Sin embargo, queda claro que la magnitud y el signo de los cambios de la respuesta de señal de los sensores expuestos a diferentes vapores dependen no sólo de las funcionalidades químicas sino también de la morfología del depósito.

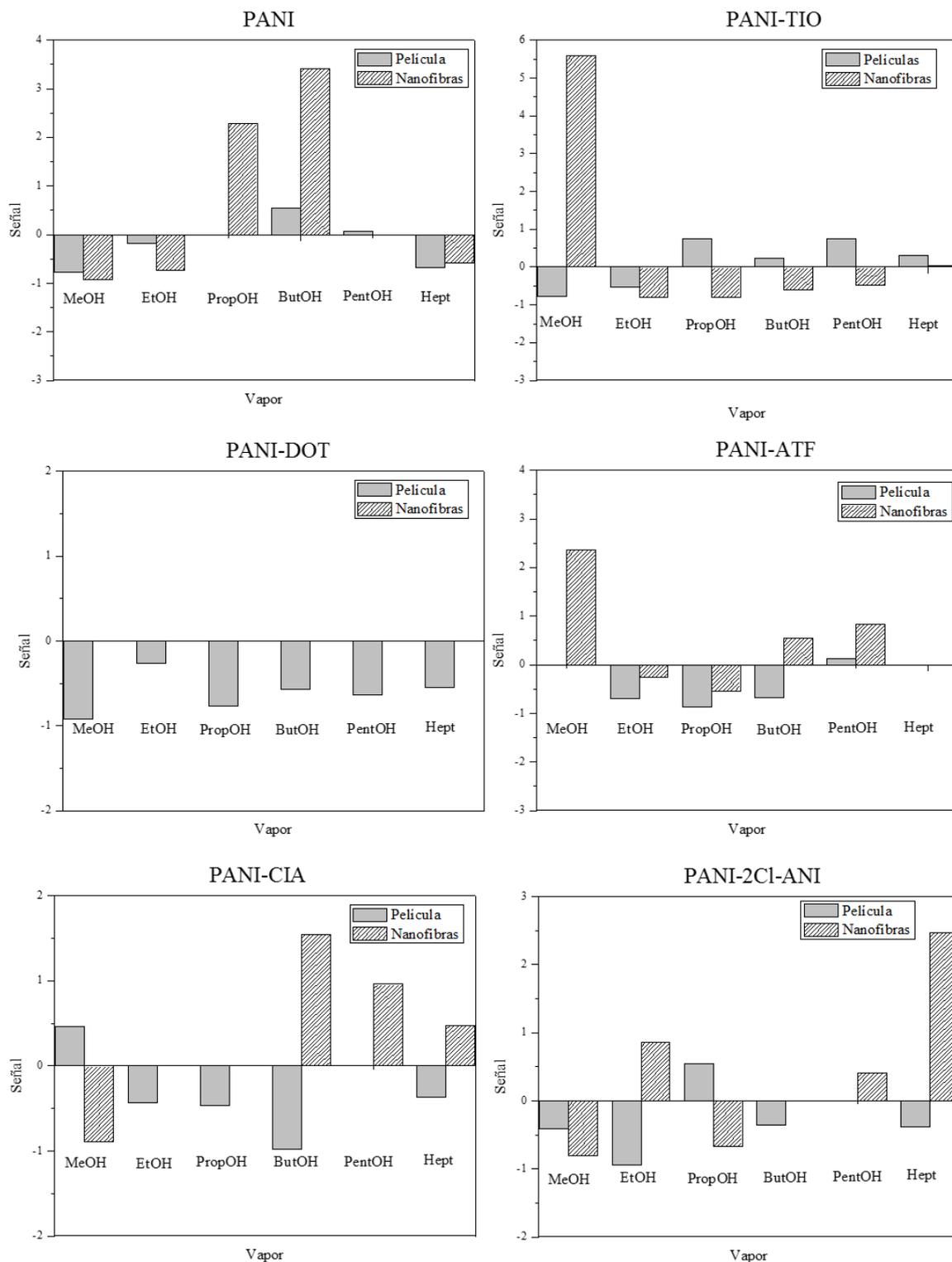


Figura 123. Respuesta de los diferentes sensores construidos a partir de nanofibras y películas de PANI sin modificar y tras ser modificadas. Medidas realizadas a 25 °C, HR 30 %.

Analizando los resultados, en varios casos la señal de sensado es más intensa cuando se trabaja con NF PANI en lugar de películas del mismo material. Por ejemplo, en metanol usando PANI-TIO o PANI-ATF, en propanol en el caso de PANI sin modificar, en butanol y propanol usando PANI-CIA o en heptano cuando se utiliza PANI-2-Cl-ANI.

IV.7.3.2 Velocidad de respuesta de los sensores

Es posible realizar una comparación en la velocidad de respuesta de los sensores construidos en base a PANI sin modificar y químicamente modificada en las dos morfologías diferentes: nanofibras y películas delgadas. El valor de la velocidad de respuesta se estima a partir de la derivada matemática de la parte lineal de la señal (desde el momento en que se pone en contacto con el analito hasta que la señal pierde la linealidad) siguiendo la **Ecuación 17**.

$$\text{Velocidad de respuesta} = \frac{d(\text{Respuesta del sensor})_{\text{lineal}}}{dt} \quad \text{Ecuación 17}$$

En la **Figura 124** se pueden observar las velocidades de respuesta cuando los sensores se construyen con nanofibras depositadas sobre el electrodo interdigitado y cuando se forman a partir de una película delgada de PANI. Todos los sensores construidos se analizaron utilizando el mismo procedimiento, calculando el valor a partir de los ciclos típicos como los mostrados en la **Figura 123**.

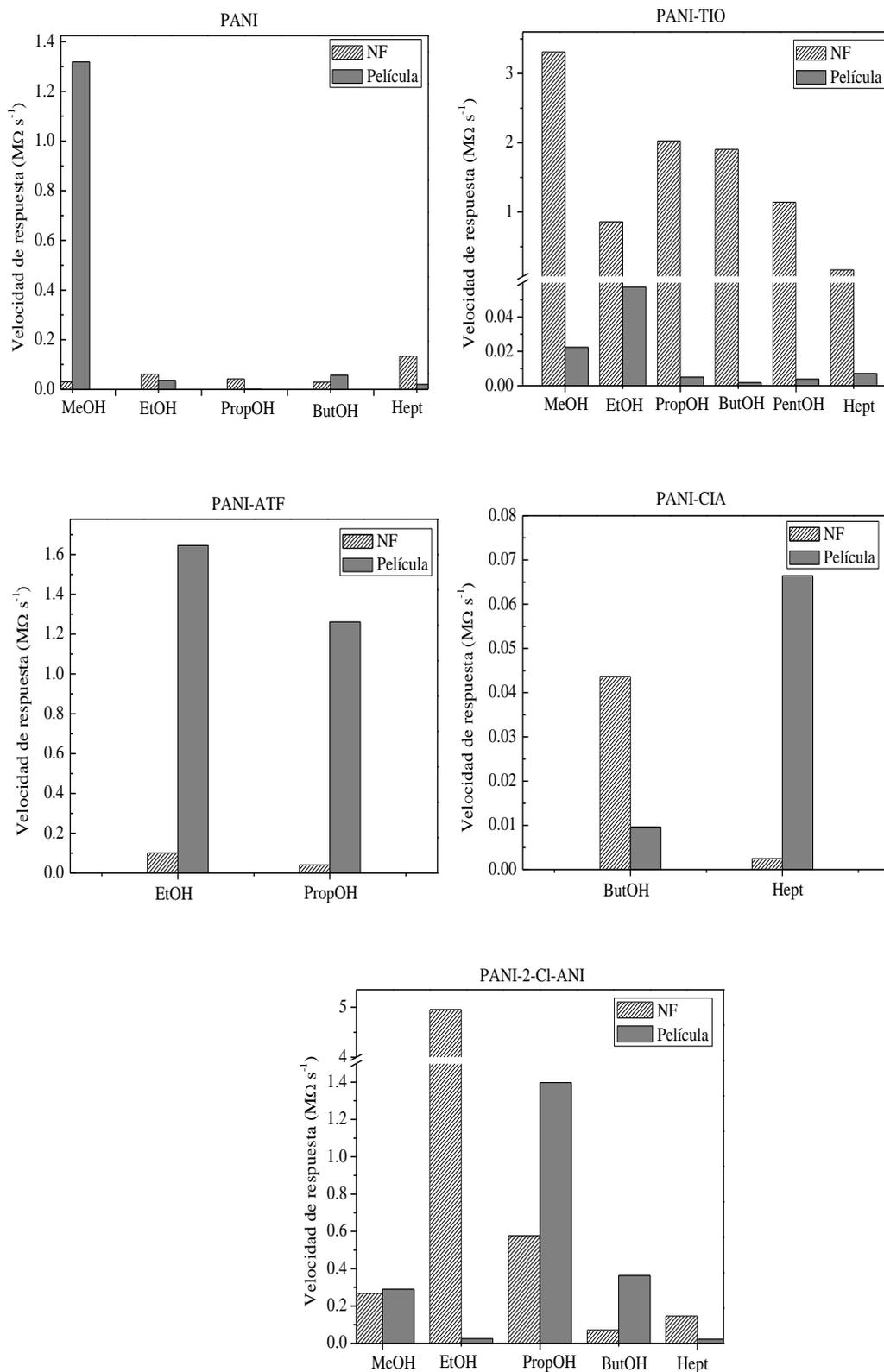


Figura 124. Velocidad de respuesta para todos los sensores construidos. Medidas realizadas a 25 °C, HR 30 %.

Un análisis comparativo entre la velocidad de respuesta de los sensores revela que los materiales, según se encuentren como películas o nanofibras, presentan un comportamiento diferente cuando se exponen a una variedad de vapores de compuestos orgánicos. En el caso de que la PANI no esté modificada, se destaca una mayor velocidad en morfología de películas cuando los vapores corresponden a analitos con cadena carbonada corta (ej. metanol). Tras la modificación del polímero con TIO, en general los sensores construidos con NF PANI presentan una respuesta más rápida que cuando se emplean las películas delgadas. Lo contrario ocurre para los sensores en base a PANI-ATF, respondiendo más rápidamente las películas frente a vapores de etanol y propanol. Cuando la modificación es llevada a cabo utilizando CIA, la velocidad es similar en ambas morfologías. Finalmente, en el caso de PANI modificada con 2-Cl-ANI, se destaca una velocidad de respuesta significativamente más rápida al utilizar el sensor con nanofibras depositadas y exponerlo a etanol.

IV.7.3.3 Tiempo de recuperación de la señal original

Otro factor estudiado con los sensores construidos fue el tiempo de recuperación tras la operación de sensado. El mismo fue cuantificado como el tiempo necesario para que el sensor alcance nuevamente el valor de señal inicial al ser retirado del vapor de compuesto orgánico y expuesto a aire puro. Los resultados se reportan en la **Figura 125** donde la identificación de cada sensor está detallada en la **Tabla 22**. En general, para la mayoría de los sensores, el tiempo de recuperación es menor en el caso que se utilizan nanofibras como material conductor, destacándose principalmente por su corto tiempo de recuperación los sensores de PANI frente a propanol y PANI-TIO frente a metanol y propanol. Queda en evidencia que en todos los sensores el tiempo de recuperación es menor a 360 segundos, el cual corresponde a la duración del intervalo de medición de cada ciclo. De esta forma, se asegura que cada ciclo comienza en el mismo valor de R_0 .

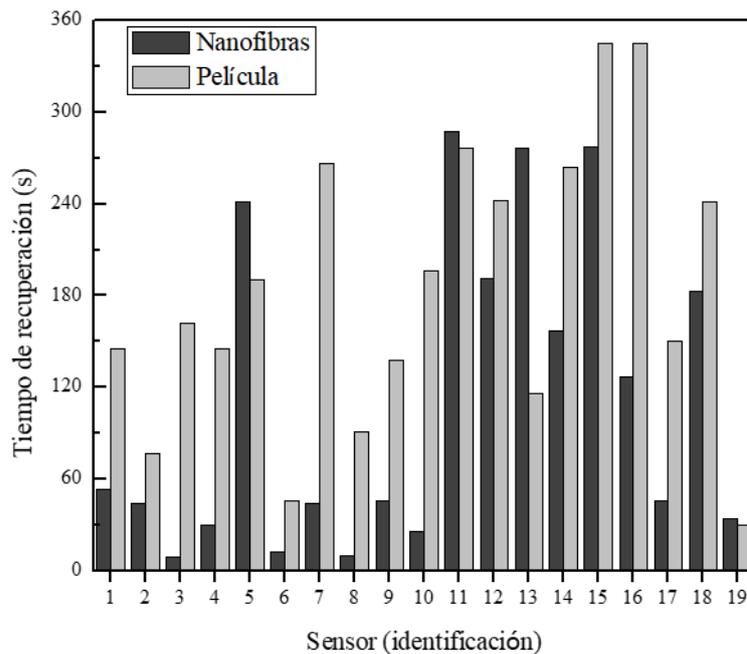


Figura 125. Tiempos de recuperación para la operación de los sensores basados en nanofibras y películas de PANI. (Véase identificación en **Tabla 22**).

Tabla 22. Identificación de cada uno de los sensores y su correspondiente tiempo de recuperación para cada morfología.

Sensor	Analito	NF Tiempo de recuperación (s)	Película Tiempo de recuperación (s)
PANI	MeOH (#1)	53	145
	EtOH (#2)	44	77
	PropOH (#3)	9	162
	ButOH (#4)	30	145
	Hept (#5)	241	190
PANI-TIO	MeOH (#6)	12	46
	EtOH (#7)	44	266
	PropOH (#8)	10	91
	ButOH (#9)	46	138
	PentOH (#10)	26	196
	Hept (#11)	287	276
PANI-ATF	EtOH (#12)	191	242
	PropOH (#13)	276	116
PANI-CIA	ButOH (#14)	157	264
	Hept (#15)	277	345
PANI-2-CI-ANI	MeOH (#16)	127	345
	EtOH (#17)	46	150
	PropOH (#18)	183	241
	Hept (#19)	34	30

IV.7.3.4 Efecto de la humedad relativa ambiente en la detección de vapores orgánicos

Existen reportes que indican que las películas en base a PANI son altamente sensibles a la humedad del ambiente debido a la interacción de las moléculas de agua con las cadenas de polímero.^{329, 330} De hecho, películas similares a las que se muestran en esta Tesis han sido propuestas como sensores de humedad basados en el claro efecto de la humedad ambiental sobre la resistencia de la película.^{229, 331, 332} De la misma manera, se ha demostrado que la resistencia de las NF PANI se ve afectada por la humedad ambiental, lo que hace que su uso sea promisorio en sensores de humedad.^{239, 333} En bibliografía se reporta un estudio de la interacción del vapor de agua con películas delgadas de PANI usando diferentes técnicas y se propuso un mecanismo que explica el efecto del agua sobre la resistencia eléctrica.²⁴⁸ Además, es sabido que el contenido de agua también afecta a la respuesta del sensor de PANI frente a vapores orgánicos ya que una competencia de las moléculas orgánicas para los sitios de adsorción parece estar presente. Por lo tanto, la detección de vapores de compuestos volátiles orgánicos utilizando PANI debe hacerse a niveles de humedad constante y fija para obtener resultados reproducibles. Como consecuencia de las modificaciones llevadas a cabo sobre la PANI, la presencia de grupos funcionales puede modificar la hidrofobicidad de la matriz polimérica. De hecho, las mediciones del ángulo de contacto mostradas anteriormente en este capítulo sugieren que la interacción con el agua se ve fuertemente afectada por la funcionalización química. Es así que resulta relevante explorar el efecto de la humedad en los nuevos materiales planteados como sensores. Por lo tanto, se estudian dos casos extremos de materiales para el sensado: PANI-TIO (alta hidrofiliidad) y PANI-DOT (baja hidrofiliidad). Los estudios con estos materiales fueron realizados al ser expuestos a vapores de propanol y butanol, a dos niveles de humedad del aire: 30 % HR (baja humedad utilizada en todas las demás medidas informadas) y 80 % HR (alta humedad).

Como se muestra en la **Figura 126**, en todos los casos la variación de humedad relativa afecta fuertemente la respuesta de los sensores. Los resultados respaldan la hipótesis de que las mediciones deben realizarse a humedad constante y fija. Además, los mismos sugieren que el contenido de agua del polímero juega un papel importante en la respuesta observada a los vapores orgánicos ya que las mismas son usualmente mayores al 80 % HR. Esto significa que es posible generar un sensor más sensible usando valores de humedad relativa más altos. Otro hecho que se observa en los experimentos es que las

señales de los sensores son también mayores para los materiales de detección que poseen características más hidrofílicas (PANI-TIO) que para los de naturaleza más hidrofóbica (PANI-DOT). Cuando se usan nanofibras (a cualquier % HR) no se registra señal del sensor para el propanol mientras que como película delgada se observa señal de sensor a 80% HR. Tal comportamiento apoya un mecanismo de reemplazo de agua subyacente al efecto de la adsorción de vapor orgánico sobre la resistencia, como se ha propuesto en la literatura.²⁴⁸ Por otro lado, la respuesta diferente de los sensores basados en nanofibras y películas delgadas se mantiene a diferentes humedades relativas, lo que sugiere un efecto intrínseco de la morfología de los materiales sensores que persisten a diferentes valores de humedad ambiente. Al ser este efecto cualitativamente diferente para cada morfología, la medición a una humedad diferente produce un nuevo conjunto de señales no correlacionadas que podrían utilizarse en dispositivos multisensores.

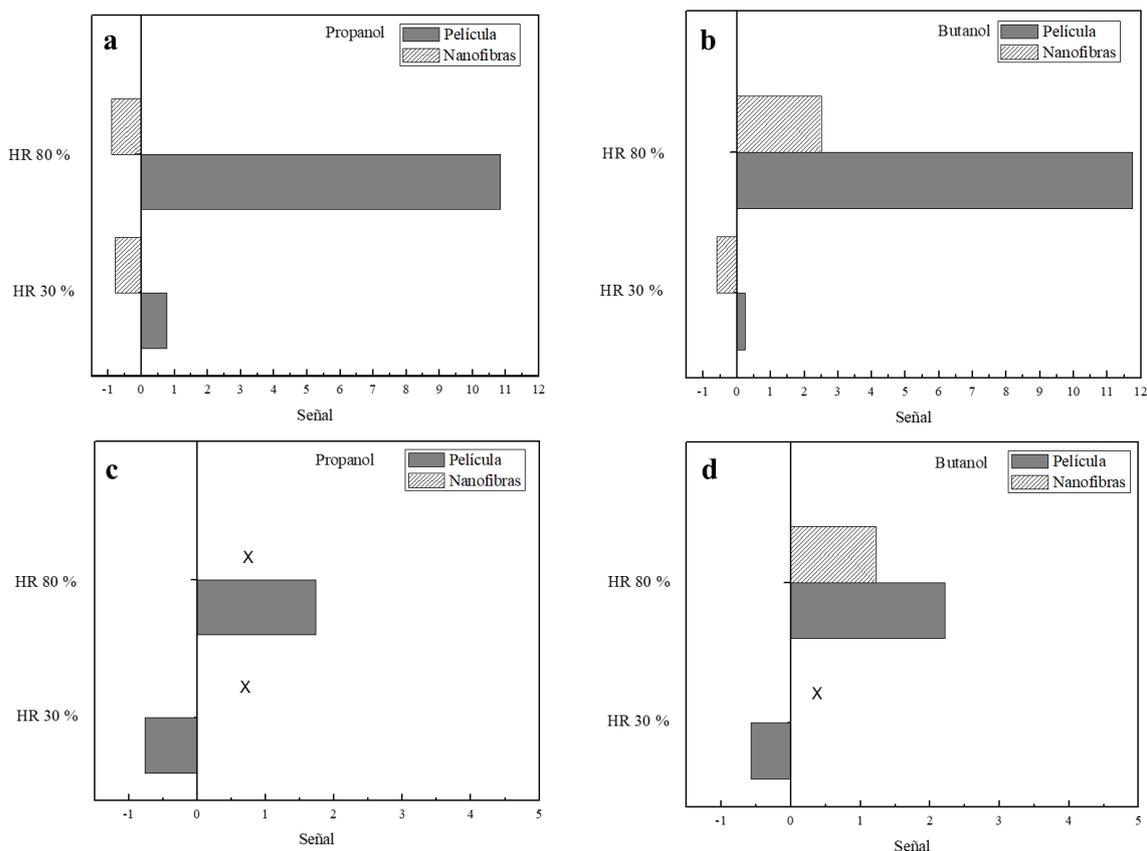


Figura 126. Efecto del % HR en la respuesta de los sensores frente a vapores de compuestos orgánicos: a) PANI-TIO expuesto a propanol, b) PANI-TIO expuesto a butanol, c) PANI-DOT expuesto a propanol y d) PANI-DOT expuesto a butanol.

IV.7.3.5 Comportamiento diferencial de los materiales modificados frente al sensado

Además de la generación en sí de los sensores, la capacidad de producir diferentes materiales de detección basados en una misma estructura polimérica y el uso de reacciones químicas simples para modificarla es muy útil en vistas a la fabricación de sensores múltiples que puedan actuar como narices o lenguas electrónicas.³³⁴ En este sentido, se construyeron gráficos multicomponentes donde es posible visualizar la sensibilidad de cada sensor hacia diferentes analitos (vapor de compuesto orgánico), comparando una morfología con otra. Los resultados se pueden observar en la **Figura 127**.

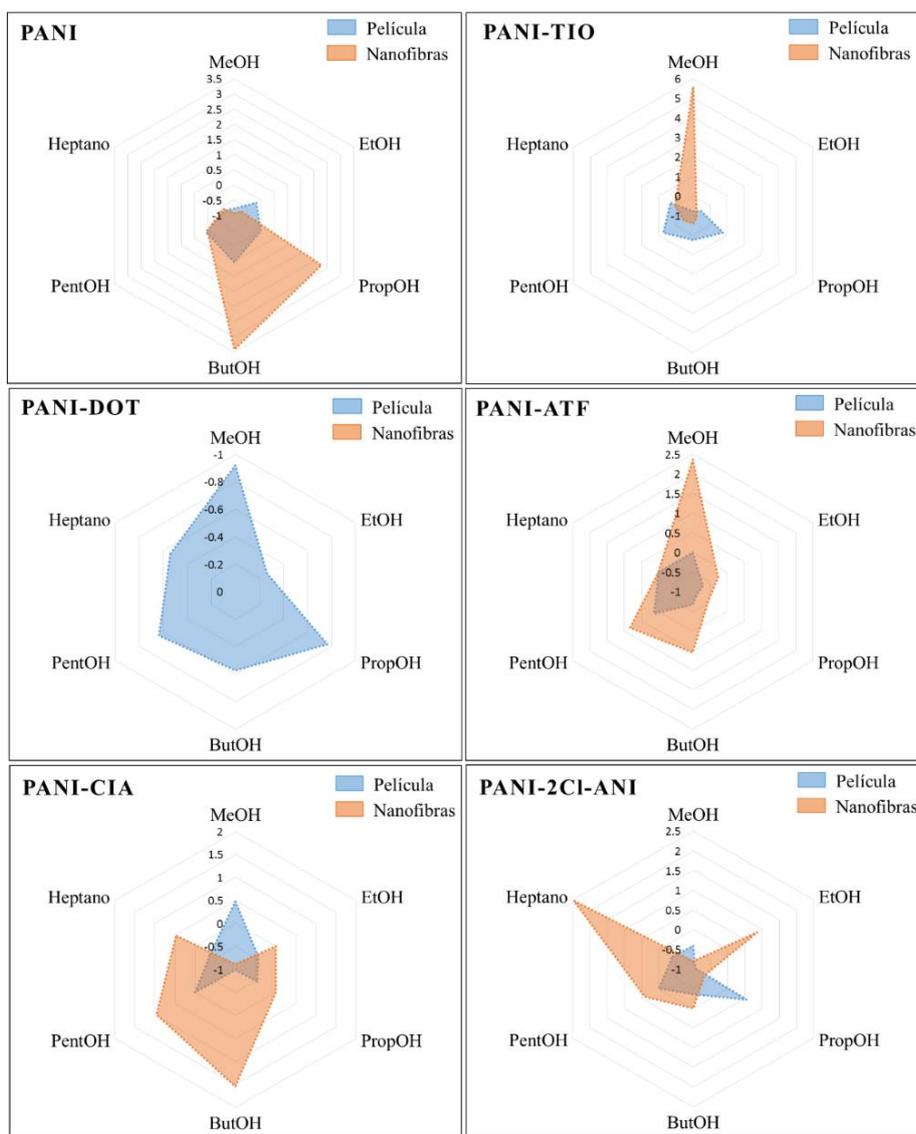


Figura 127. Gráficos multicomponentes para comparación de la respuesta de sensores entre las distintas morfologías previo y post-modificación química.

La intensidad de la señal frente a un solvente varía de -1 a 6, donde el máximo valor indica la mayor sensibilidad del material a un vapor definido. De este modo, se puede apreciar claramente que las señales son diferentes en cada caso. Los sensores construidos con nanofibras en el caso de PANI-ATF y PANI-TIO resultan ser adecuados para detectar metanol ya que el patrón muestra una alta respuesta a este analito y prácticamente ninguna respuesta a los otros vapores. Para detectar etanol, las NF PANI-2-Cl-ANI resultan ser el material más adecuado, siendo también útiles para sensor vapores de compuestos no polares como heptano. Si se desea sensor propanol, podría escogerse la PANI sin modificación alguna en morfología nanofibrilar, o bien, la película de PANI-DOT. Respecto a este último material, debe aclararse que no se logró respuesta al sensado cuando se trabajó con nanofibras. El gráfico además indica que para distinguir alcoholes con una cadena alquílica más larga (butanol o pentanol) podrían ser útiles PANI-ATF y PANI-CIA frente a los demás sensores.

Se compararon también los gráficos multicomponentes para cada analito respecto a cada uno de los materiales modificados en forma de nanofibras (**Figura 128**). Se pueden observar patrones definidos para cada vapor orgánico, permitiendo una rápida identificación del material sensor adecuado a partir del patrón de respuesta. Además, a partir de la amplitud de las señales del sensor podría llevarse a cabo una determinación cuantitativa de la concentración del analito.³³⁵

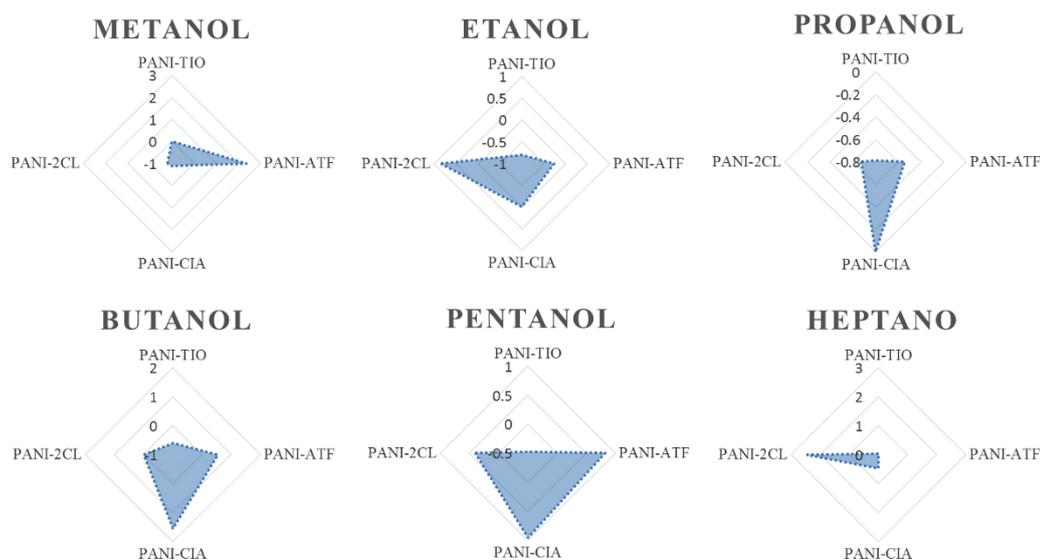
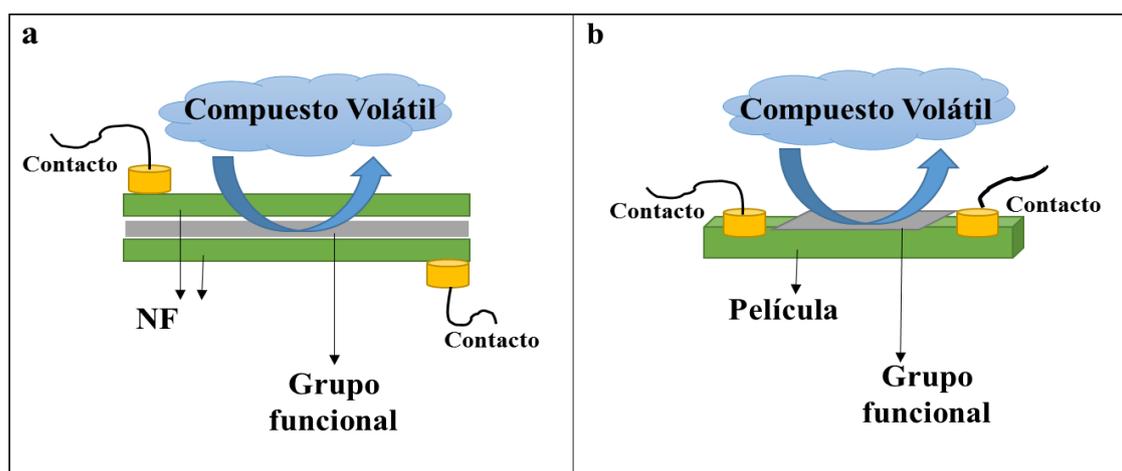


Figura 128. Análisis de los diferentes sensores construidos a partir de NF PANI frente un mismo vapor de compuesto orgánico.

IV.7.3.6 Modelado del efecto de los compuestos volátiles sobre el material de detección

Tanto las nanofibras como las películas funcionalizadas de PANI presentan la misma estructura química y una interacción similar con las moléculas volátiles. Sin embargo, las señales observadas de los sensores son muy diferentes. Además, aunque parece razonable que las nanofibras (aproximadamente 50 nm de diámetro) muestren una velocidad de respuesta más rápida, debe tenerse en cuenta que las películas son también delgadas (aproximadamente 200 nm de grosor). Por lo tanto, la velocidad de respuesta diferente no podría ser sólo debido a una mayor longitud de la trayectoria de difusión. Un factor clave es el hecho de que la funcionalización química se produce desde la capa exterior hacia la parte interior de la película y desde la capa externa hasta la parte central de la nanofibra. Por lo tanto, las moléculas de compuestos volátiles que interactúan con los grupos funcionales producen un efecto diferente (**Esquema 39**). En el caso de las nanofibras depositadas, la interacción del vapor con el material afecta significativamente a la señal de resistencia y velocidad en la respuesta del sensor. En cambio, en el caso de las películas, la interacción de las moléculas volátiles se da con la mayor parte del material expuesto (parte superior), provocando un efecto menos significativo de cambios de resistencia y menor velocidad de respuesta.



Esquema 39. Modelo propuesto para sensores de volátiles contruidos: a) basados en nanofibras de polianilina y b) basados en películas de polianilina.

VI.7.4 Actividad antimicrobiana de NP PANI

VI.7.4.1 Efecto antibacteriano frente a *Pseudomonas aeruginosa*

Algunos autores informaron efecto antibacteriano de los materiales basados en PANI. Sin embargo, en la mayoría de los reportes se ha utilizado el polímero conductor combinado con otros materiales (níquel-hierro,³³⁶ plata,³³⁷ platino-paladio,³³⁸ oro³³⁹ o drogas antibacterianas³⁴⁰) en diferentes formas tales como películas, superficies o materiales compuestos en general.^{336, 341} Por lo tanto, en esta Tesis se propone la aplicación de las NP PANI como un material antibacteriano. La diferencia respecto a la literatura existente se basa en el hecho de que en este caso las nanopartículas no poseen otros componentes o funcionalizaciones que le otorguen la propiedad de poseer actividad bactericida.

Se estudió la exposición de *Pseudomonas aeruginosa* a las NP PANI estabilizadas con PVP. Los resultados se muestran en la **Figura 129** donde se demuestra que el nanomaterial en cuestión es capaz de generar la inhibición de la bacteria por sí mismo, sin que sea necesario combinarla con radiación de ninguna naturaleza. En el ensayo control, se cuantificaron aproximadamente 10×10^8 UFC/mL. Por otro lado, cuando se pone en contacto a la bacteria con las NP PANI se puede observar claramente que existe una disminución en el número de UFC tras 24 horas de exposición, la cual es dependiente de la concentración de nanomaterial con la que se trabaja. Es así que a una concentración de 0,404 mg/mL de NP PANI, el número de UFC disminuye a $9,61 \times 10^8$ UFC/mL; mientras que a 0,606 mg/mL y a 0,830 mg/mL el resultado es menor a 8×10^8 y $6,65 \times 10^8$ UFC/mL respectivamente. El efecto es más notable aún a concentraciones que superan 1 mg/mL de nanopartículas, donde el conteo arroja $5,16 \times 10^8$ UFC/mL.

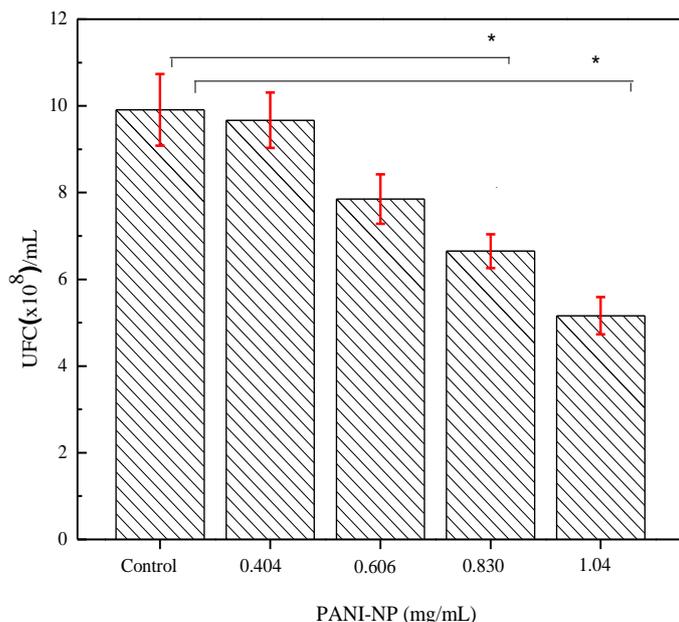


Figura 129. Efecto antimicrobiano de NP PANI sobre *P. aeruginosa* a diferentes concentraciones tras 24 horas de exposición.

IV.7.4.2 Terapia fototérmica antibacteriana

Si bien la actividad antibacteriana de las NP PANI sobre *P. aeruginosa* resultó exitosa, se evaluó adicionalmente la capacidad del nanomaterial como agente útil en terapia fototérmica al irradiar con luz NIR sobre el mismo microorganismo durante 15 minutos. Los resultados obtenidos se muestran en la **Figura 130**. En la misma se puede observar el porcentaje de viabilidad de las bacterias tras un tiempo de irradiación de 15 minutos con luz NIR. A su vez, se comparan con el control (bacterias en el medio de cultivo), las bacterias irradiadas y las mismas puestas en contacto con NP PANI sintetizadas por polimerización oxidativa (concentración 0,404 mg/mL) sin ser expuestas a radiación. El efecto fototérmico logra disminuir más del 80% de la viabilidad de *P. aureuginosa*, sin que exista disminución de viabilidad en las demás condiciones mencionadas.

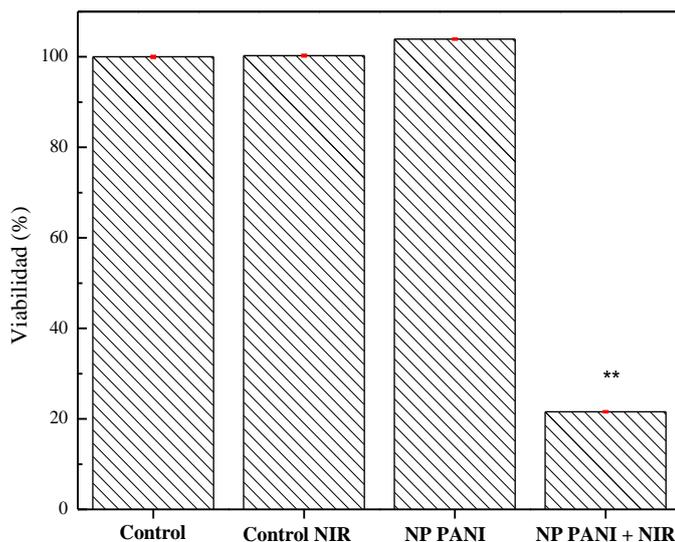


Figura 130. Efecto fototérmico frente a *P. aeruginosa* por irradiación con luz NIR (15 minutos) sobre las NP PANI.

El fenómeno mencionado fue evaluado tomando imágenes por microscopía de fluorescencia usando el kit de viabilidad Live/Dead tras los 15 minutos de terapia fototérmica. En la **Figura 131** se reportan los resultados del experimento, siendo (a) el control, (b) el control de irradiación con luz NIR, (c) el contacto de NP PANI con las bacterias y (d) el efecto fototérmico por combinación del nanomaterial y la luz NIR.

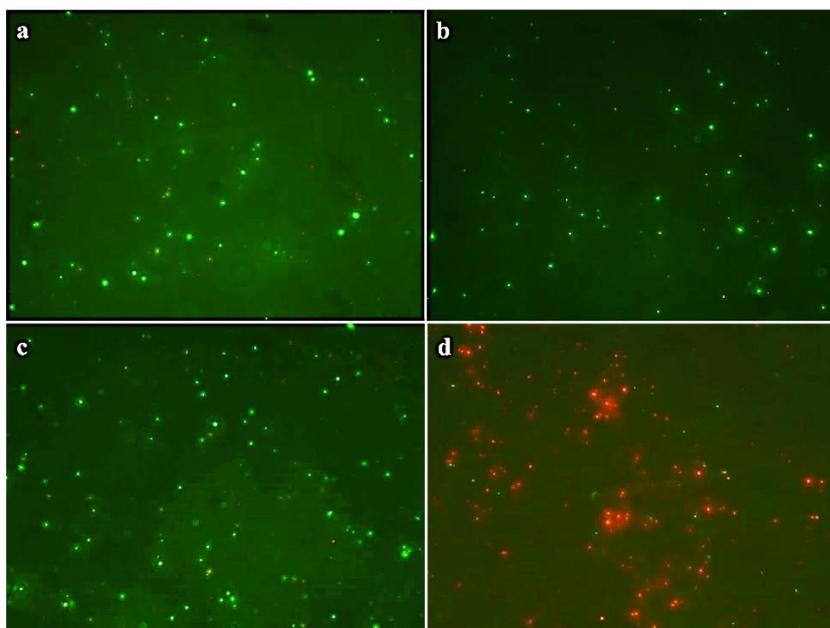


Figura 131. Imágenes tomadas por microscopía de fluorescencia para el control de viabilidad *P. aeruginosa*: a) control, b) células expuestas a NIR, c) células expuestas a NP PANI, d) células expuestas a NP PANI y luz NIR.

De la figura anterior se deduce que solo en el caso (d), cuando las bacterias son irradiadas al combinarse con el agente fototérmico (NP PANI), la coloración observada en el microscopio de fluorescencia es rojo, siendo esto indicativo de que las células se encuentran muertas (**d**). En tanto en (**a**), (**b**) y (**c**) se observa la fluorescencia color verde en *P. aeruginosa*, lo cual indica que son células viables. Esto demuestra que la combinación de NP PANI y luz NIR es capaz de generar efecto fototérmico sobre las bacterias, siendo la misma mucho más eficiente que la actividad antibacteriana de las nanopartículas mostrada en la sección anterior.

Los resultados mostrados en las figuras anteriores correspondían a las NP PANI sintetizadas por polimerización oxidativa. Sin embargo, el experimento con *P. aureoginosa* fue también llevado a cabo para las NP PANI/DNS-Cl obtenidas tras la modificación de la PANI masiva con el fluoróforo y luego generando las nanopartículas por el método de desplazamiento de solvente. Los resultados obtenidos son reportados en la **Figura 132**.

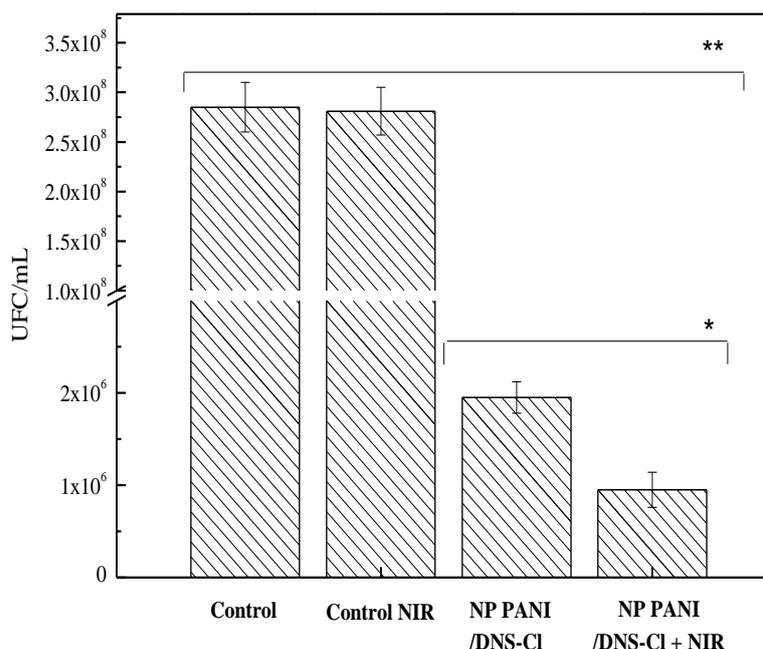


Figura 132. Variación de UFC por efecto antibacteriano de NP PANI/DNS-Cl y por efecto sinérgico del nanomaterial y luz NIR. Tiempo de exposición: 15 minutos.

Para las NP PANI/DNS-Cl, en el caso de exposición a *P. aeruginosa* en ausencia de luz son capaces de inducir la muerte celular, disminuyendo la cantidad de UFC/mL desde $2,75 \times 10^8$ a 2×10^6 . Pese a que la actividad antibacteriana para el nanomaterial es notable, el efecto fototérmico logra disminuir aún más la viabilidad bacteriana: se reduce a

1×10^6 UFC/mL. Esto demuestra que existe un efecto sinérgico entre la NP PANI/DNS-Cl y la radiación NIR en lo que respecta a la capacidad de causar muerte bacteriana sobre *P. aeruginosa*. Cabe destacar que en los experimentos de control y de irradiación con luz NIR en ausencia del material, la cantidad de UFC/mL no se ve modificada.

Queda así demostrado como dos tipos diferentes de nanomateriales (NP PANI y NP PANI/DNS-Cl) son útiles como agentes para la terapia fototérmica bacteriana por irradiación con luz NIR, aunque exista efecto antimicrobiano propio de los nanomateriales. Este hecho abre la posibilidad de que se pueda utilizar las NP PANI para el tratamiento de diferentes enfermedades causadas por microorganismos patógenos resistentes a sustancias y fármacos como los antibióticos.



CAPÍTULO V
CONCLUSIONES GENERALES

◆—————◆



V CONCLUSIONES GENERALES

En esta Tesis se generaron películas delgadas de polímero conductor (PANI), las cuales fueron funcionalizadas químicamente haciendo uso de diferentes reacciones para obtener nuevos materiales. Se utilizaron las mismas para el sensado de cambios de resistividad frente a vapores de compuestos orgánicos, evaluando parámetros como la velocidad de respuesta, tiempo de recuperación del sensor, efecto de la humedad ambiente, entre otros. Por otro lado, se han logrado generar hidrogeles termosensibles en base a PNIPAM y HPC por diferentes métodos de entrecruzamiento de los polímeros lineales. Los materiales poliméricos se utilizaron como matrices para incorporar PANI dentro de las mismas, ya sea por polimerización *in situ* o por incorporación del polímero disuelto en un solvente de características adecuadas (generación de redes semi-IPN). Se evaluó el efecto fototérmico de los materiales generados y el último sistema mencionado además como sensor de presión y dispositivo actuador termoactivado. Estudios sobre la línea celular T3T- L1 permiten asegurar que no hay disminución apreciable de la viabilidad, permitiendo el crecimiento de células sobre superficies sin afectar la morfología ni la densidad celular.

A partir de las redes semi-IPN de polímero conductor en la matriz termosensible obtenida en el nivel macroscópico, se generaron micropartículas termosensibles y conductoras usando un método de tipo “*top-down*” (de arriba hacia abajo). Se utilizaron las mismas para el estudio de efecto fototérmico a partir de irradiación con luz NIR, radiofrecuencias y microondas, observando los diferentes comportamientos según cada tipo de radiación incidente.

Diversos nanomateriales de naturaleza termosensible y/o conductora fueron sintetizados y estudiados durante esta Tesis: nanogeles, NP PPy, NF PANI, NP PANI y materiales nanocompuestos. A cada uno de los materiales se los caracterizó completamente utilizando técnicas diversas, haciendo hincapié en las propiedades de termosensibilidad y conductividad. Se exploraron variables sintéticas en los diferentes casos, especialmente en la generación de NP PANI, donde se estudiaron detalladamente la polimerización oxidativa del monómero y el desplazamiento de solvente como métodos de obtención. Para otorgar nuevas propiedades como la fluorescencia a las partículas también fueron desarrolladas modificaciones y funcionalizaciones sintéticas. El efecto fototérmico de los nano-objetos conductores se estudió por irradiación con luz NIR, radiofrecuencias y microondas, logrando aplicaciones como material antibacteriano frente a *P. aureuginosa* con resultados

alentadores. Las NF PANI modificadas fueron útiles para la generación de sensores de vapores orgánicos similares a los obtenidos con las películas delgadas, permitiendo realizar un estudio comparativo de ambos materiales. También se desarrolló un nuevo método de síntesis para obtener matrices termosensibles con nano-objetos conductores, los cuales presentaron respuesta a irradiación con radiofrecuencias. Adicionalmente, se ensayó la citotoxicidad de los diversos tipos de nanopartículas frente a la línea celular SHSY-5Y de neuroblastoma humano, concluyendo que no presentan toxicidad apreciable a bajas concentraciones. En cuanto a los resultados obtenidos en experimentos de toxicidad y teratogenicidad para NP PANI sintetizadas por polimerización oxidativa puede concluirse que las mismas se encuentran dentro de los parámetros de ecotoxicidad permitidos.

La generación de coloidosomas fue posible mediante la formación de emulsiones tipo Pickering, al poner en contacto dispersiones de nanopartículas poliméricas (NP PANI) con diferentes solventes de naturaleza orgánica. En estas estructuras de tamaño micrométrico con química de tipo supramolecular se pudieron estudiar las propiedades dadas por la conjunción de propiedades de cada tipo de polímero. Se aplicaron radiofrecuencias para el estudio del efecto fototérmico, en el cual (al igual que en el efecto térmico) se obtuvieron interesantes resultados referidos al incremento de temperatura local del sistema para lograr desestabilizar la emulsión.

Un copolímero bloque termosensible y conductor fue generado a partir de PNIPAM modificada y el posterior crecimiento de PANI en un extremo de la cadena polimérica. De esta forma, se logró obtener un nuevo material que posee en una misma molécula las propiedades otorgadas por cada uno de los bloques. Entre las características más importantes se destacan la solubilidad en agua y en varios solventes orgánicos, la termosensibilidad y las propiedades electrónicas-conductoras. Se estudiaron diversos aspectos del copolímero PNIPAM-*b*-PANI tales como: respuesta a vapores de un compuesto orgánico volátil, cambios de topografías sobre depósitos del material y efecto fototérmico inducido por radiación NIR.

Finalmente, puede concluirse que con el trabajo desarrollado en esta Tesis Doctoral se ha logrado corroborar que las propiedades de cada tipo de polímero (termosensible y conductor) por separado, e incluso ambos en una misma estructura, persisten independientemente del nivel de tamaño: macroscópico, microscópico, nanométrico, supramolecular y molecular. Esto significa que es indistinto, desde el punto de vista de las

propiedades, si ambos polímeros se conjugan en un material tipo masivo o en una estructura de pocas unidades repetitivas, abriendo un abanico de potenciales aplicaciones en cada uno de los niveles de tamaño.



CAPÍTULO VI
REFERENCIAS
BIBLIOGRÁFICAS

◆—————◆



VI REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Serena P, C. A., Nanotecnología: el motor de la próxima revolución tecnológica. *Apuntes de Ciencia y Tecnología* 2003, pp 32-42.
2. Mendoza Uribe, G.; Rodríguez-López, J. L. *Perfiles latinoamericanos* **2007**, 15, (29), 161-186.
3. <http://revistaconciencia.com/ver-articulo/ciencia/una-mirada-al-universo-nanotecnologico--parte-1-/> Última visita:: 26/11/17.
4. Gakkai, S.; Research, I. I. f. P. E., *Proceedings of the International Conference on Production Engineering, Tokyo, 1974*. Japan Society of Precision Engineering: 1974.
5. Bahaj, A. S.; James, P. A. B.; Jentsch, M. F. *Energy and Buildings* **2008**, 40, (5), 720-731.
6. Wilson, M.; Kannangara, K.; Smith, G.; Simmons, M.; Raguse, B., *Nanotechnology: Basic Science and Emerging Technologies*. Taylor & Francis: 2002.
7. Masumoto, Y.; Takagahara, T., *Semiconductor Quantum Dots: Physics, Spectroscopy and Applications*. Springer: 2002.
8. Ozin, G. A.; Arsenault, A. C.; Cademartiri, L.; Mirkin, C. A., *Nanochemistry: A Chemical Approach to Nanomaterials*. Royal Society of Chemistry: 2008.
9. Ratner, M. A.; Ratner, D., *Nanotechnology: A gentle introduction to the next big idea*. Prentice Hall Professional: 2003.
10. Acevedo, E. M., *Nanotecnología y nanocompositos*. Universidad de Chile: 2006.
11. Cao, G., *Nanostructures and nanomaterials: synthesis, properties and applications*. World Scientific: 2004.
12. Mijatovic, D.; Eijkel, J.; Van Den Berg, A. *Lab on a Chip* **2005**, 5, (5), 492-500.
13. Salim, B.; Muneeb, Q., Applications of Nanotechnology in Cement and Concrete Science. In *Handbook of Research on Diverse Applications of Nanotechnology in Biomedicine, Chemistry, and Engineering*, Shivani, S.; Amandeep, S.; Mrutyunjay, S., Eds. IGI Global: Hershey, PA, USA, 2015; pp 624-639.
14. Zanella, R. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencia y Nanotecnología* **2012**, 5, (1).
15. Wickman, B.; Seidel, Y. E.; Jusys, Z.; Kasemo, B.; Behm, R. J. r. *ACS nano* **2011**, 5, (4), 2547-2558.
16. Hornyak, G. L.; Dutta, J.; Tibbals, H. F.; Rao, A., *Introduction to nanoscience*. CRC press: 2008.
17. Sun, Y.; Gates, B.; Mayers, B.; Xia, Y. *Nano letters* **2002**, 2, (2), 165-168.
18. McGilvray, K. L.; Decan, M. R.; Wang, D.; Scaiano, J. C. *Journal of the American Chemical Society* **2006**, 128, (50), 15980-15981.
19. Sáez, V.; Mason, T. J. *Molecules* **2009**, 14, (10), 4284-4299.

20. Reetz, M. T.; Helbig, W. *Journal of the American Chemical Society* **1994**, 116, (16), 7401-7402.
21. Peterson, A. K.; Morgan, D. G.; Skrabalak, S. E. *Langmuir* **2010**, 26, (11), 8804-8809.
22. Nicewarner-Pena, S. R.; Freeman, R. G.; Reiss, B. D.; He, L.; Peña, D. J.; Walton, I. D.; Cromer, R.; Keating, C. D.; Natan, M. J. *Science* **2001**, 294, (5540), 137-141.
23. Turing, A. M. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences* **1952**, 237, (641), 37-72.
24. Chanda, M., Introduction to polymer science and chemistry : a problem-solving approach. Second edition. ed.; CRC Press, Taylor & Francis Group: Boca Raton :, 2013.
25. Sperling, L. H., *Introduction to physical polymer science*. John Wiley & Sons: 2005.
26. Sionkowska, A. *Progress in Polymer Science* **2011**, 36, (9), 1254-1276.
27. Wallace, G. G.; Teasdale, P. R.; Spinks, G. M.; Kane-Maguire, L. A., *Conductive electroactive polymers: intelligent polymer systems*. CRC press: 2008.
28. Bar-Cohen, Y.; Zhang, Q. *MRS bulletin* **2008**, 33, (03), 173-181.
29. Sanchis Bermúdez, C. *Síntesis y caracterización de polianilinas autodopadas por copolimerización de anilina y ácido 2-aminobencensulfónico*. Universidad de Alicante: 2007.
30. Coropceanu, V.; Cornil, J.; da Silva Filho, D. A.; Olivier, Y.; Silbey, R.; Brédas, J.-L. *Chemical reviews* **2007**, 107, (4), 926-952.
31. Roth, S. *Trans. Tech, Publications, Suiza* **1989**.
32. Krause, L.; Lugg, P.; Speckhard, T. *Journal of The Electrochemical Society* **1989**, 136, (5), 1379-1385.
33. Choy, M. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, <http://www.ehu.es/reviberpol/Articulos.htm/publicados/choy.pdf> **2001**.
34. Armand, M.; Sanchez, J.; Gauthier, M.; Choquette, Y. *Frontiers of Electrochemistry* **1994**, 65.
35. Skotheim, T. A., *Handbook of Conducting Polymers, Second Edition*. Taylor & Francis: 1997.
36. Mc Kenzie, J.; Cowie, G. *Nelson Thornes, Cheltenham* **1991**.
37. Guimard, N. K.; Gomez, N.; Schmidt, C. E. *Progress in polymer science* **2007**, 32, (8), 876-921.
38. Otero, T. F. *Revista Iberoamericana de polímeros* **2003**, 4, (4), 1.
39. Karg, S.; Scott, J.; Salem, J.; Angdopoulos, M. *Synthetic Metals* **1996**, 80, (2), 111-117.
40. Martins, C. R.; De Paoli, M.-A. *European polymer journal* **2005**, 41, (12), 2867-2873.
41. Roncali, J. *Chemical reviews* **1997**, 97, (1), 173-206.
42. Bredas, J. L.; Street, G. B. *Accounts of Chemical Research* **1985**, 18, (10), 309-315.
43. Fritsche, J. *Advanced Synthesis & Catalysis* **1840**, 20, (1), 453-459.

44. Letheby, H. *Journal of the Chemical Society* **1862**, 15, 161-163.
45. Green, A. G.; Woodhead, A. E. *Journal of the Chemical Society, Transactions* **1910**, 97, 2388-2403.
46. McCoy, H. N.; Moore, W. C. *Journal of the American Chemical Society* **1911**, 33, (3), 273-292.
47. Angeli, A. *Gazz. Chim. Ital* **1916**, 46, 279.
48. Syed, A. A.; Dinesan, M. K. *Talanta* **1991**, 38, (8), 815-837.
49. Inzelt, G. *Journal of Solid State Electrochemistry* **2011**, 15, (7-8), 1711.
50. Natta, G.; Mazzanti, G.; Corradini, P. *Sci. Fis., Mat. Nat., Rend* **1958**, 25, (3).
51. Armour, M.; Davies, A.; Upadhyay, J.; Wassermann, A. *Journal of Polymer Science Part A-1: Polymer Chemistry* **1967**, 5, (7), 1527-1538.
52. Joshi, R.; Joshi, S. *A5* (8) 1329.
53. Dall, O. In A.; Dascola, G.; Varacca, V.; Bocchi, V, Acad. Sci. Ser, 1968; p C267.
54. Shirakawa, H.; Louis, E. J.; MacDiarmid, A. G.; Chiang, C. K.; Heeger, A. J. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* **1977**, (16), 578-580.
55. Macdiarmid, A. G.; Chiang, J.-C.; Halpern, M.; Huang, W.-S.; Mu, S.-L.; Nanaxakkara, L.; Wu, S. W.; Yaniger, S. I. *Molecular Crystals and Liquid Crystals* **1985**, 121, (1-4), 173-180.
56. Chiang, J.-C.; MacDiarmid, A. G. *Synthetic Metals* **1986**, 13, (1-3), 193-205.
57. Heeger, A. J.; MacDiarmid, A. G.; Shirakawa, H. *Stockholm, Sweden: Royal Swedish Academy of Sciences* **2000**, 1-16.
58. Jang, J., Conducting polymer nanomaterials and their applications. In *Emissive Materials Nanomaterials*, Springer: 2006; pp 189-260.
59. Chandrasekhar, P., *Conducting polymers, fundamentals and applications: a practical approach*. Springer Science & Business Media: 2013.
60. Bhadra, S. *Saarbrücken: LAP Lambert Academic Publishing* **2010**.
61. Ray, A.; Asturias, G.; Kershner, D.; Richter, A.; MacDiarmid, A.; Epstein, A. *Synthetic Metals* **1989**, 29, (1), 141-150.
62. Arias Pardilla, J., *Síntesis y caracterización de polímeros conductores basados en anilinas sustituidas y su aplicación en electrocatálisis*. Universidad de Alicante: 2007.
63. Stejskal, J.; Kratochvíl, P.; Jenkins, A. D. *Polymer* **1996**, 37, (2), 367-369.
64. Ameen, S.; Shaheer Akhtar, M.; Husain, M. *Science of Advanced Materials* **2010**, 2, (4), 441-462.
65. Hand, R. L.; Nelson, R. F. *Journal of the American Chemical society* **1974**, 96, (3), 850-860.
66. Pouget, J.; Hsu, C.-H.; Mac Diarmid, A.; Epstein, A. *Synthetic Metals* **1995**, 69, (1-3), 119-120.

67. Travers, J.; Chroboczek, J.; Devreux, F.; Genoud, F.; Nechtschein, M.; Syed, A.; Genies, E.; Tsintavis, C. *Molecular Crystals and Liquid Crystals* **1985**, 121, (1-4), 195-199.
68. Fu, Y.; Elsenbaumer, R. L. *Chemistry of materials* **1994**, 6, (5), 671-677.
69. Stejskal, J.; Trchová, M.; Bober, P.; Humpolíček, P.; Kašpárková, V.; Sapurina, I.; Shishov, M. A.; Varga, M. *Encyclopedia of Polymer Science and Technology* **2015**.
70. Elkatlawy, A.; Mohamed, S. **2014**.
71. Vernitskaya, T. y. V.; Efimov, O. N. *Russian chemical reviews* **1997**, 66, (5), 443-457.
72. Otero, T.; Arias-Pardilla, J.; Chermak, E. *Synthetic Metals* **2010**, 160, (5), 425-431.
73. Kumar, D.; Sharma, R. *European polymer journal* **1998**, 34, (8), 1053-1060.
74. Rapi, S.; Bocchi, V.; Gardini, G. P. *Synth. Met.* **1988**, 24, (3), 217-221.
75. Machida, S.; Miyata, S.; Techagumpuch, A. *Synth. Met.* **1989**, 31, (3), 311-318.
76. Chao, T. H.; March, J. J. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **1988**, 26, (3), 743-753.
77. Roncali, J.; Garreau, R.; Yassar, A.; Marque, P.; Garnier, F.; Lemaire, M. *J. Phys. Chem.* **1987**, 91, (27), 6706-6714.
78. Vernitskaya, T. y. V.; Efimov, O. N. *Russ. Chem. Rev.* **1997**, 66, (5), 443.
79. de Sousa, H. C.; Braga, M. E.; Sosnik, A., *Biomateriais aplicados ao desenvolvimento de sistemas terapêuticos avançados*. Imprensa da Universidade de Coimbra/Coimbra University Press: 2015.
80. Ruel-Gariepy, E.; Leroux, J.-C. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **2004**, 58, (2), 409-426.
81. Schmaljohann, D. *Advanced drug delivery reviews* **2006**, 58, (15), 1655-1670.
82. Zhang, R.; Tang, M.; Bowyer, A.; Eienthal, R.; Hubble, J. *Biomaterials* **2005**, 26, (22), 4677-4683.
83. Juodkasis, S.; Mukai, N.; Wakaki, R.; Yamaguchi, A.; Matsuo, S.; Misawa, H. *Nature* **2000**, 408, (6809), 178-181.
84. Varga, Z.; Filipcsei, G.; Zrínyi, M. *Polymer* **2006**, 47, (1), 227-233.
85. Tanaka, T.; Nishio, I.; Sun, S.-T.; Ueno-Nishio, S. *Science* **1982**, 218, (4571), 467-469.
86. Hu, J.; Zhang, G.; Liu, S. *Chemical Society Reviews* **2012**, 41, (18), 5933-5949.
87. Khare, A.; Peppas, N. *Polymer News* **1991**, 16, (8), 230-236.
88. Galaev, I.; Mattiasson, B., *Smart polymers: applications in biotechnology and biomedicine*. CRC Press: 2007.
89. Yoo, M.; Sung, Y.; Lee, Y.; Cho, C. *Polymer* **2000**, 41, (15), 5713-5719.
90. Bradley, M.; Ramos, J.; Vincent, B. *Langmuir* **2005**, 21, (4), 1209-1215.
91. Kabanov, V. *Polymer science* **1994**, 36, (2), 143-156.
92. Bermudez, J. M.; Quinteros, D.; Virgili, M. V.; Allemandi, D.; Palma, S.
93. Mano, J. F. *Advanced Engineering Materials* **2008**, 10, (6), 515-527.

94. Slaughter, B. V.; Khurshid, S. S.; Fisher, O. Z.; Khademhosseini, A.; Peppas, N. A. *Advanced materials* **2009**, 21, (32-33), 3307-3329.
95. Peppas, N.; Bures, P.; Leobandung, W.; Ichikawa, H. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics* **2000**, 50, (1), 27-46.
96. Mousavi, S. R.; Rezaei, M. *J Appl Environ Biol Sci* **2011**, 1, (10), 414-419.
97. Curcio, M.; Picci, N. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences* **2008**, 3, (1), 299-314.
98. Toledano, S.; Williams, R. J.; Jayawarna, V.; Ulijn, R. V. *Journal of the American Chemical Society* **2006**, 128, (4), 1070-1071.
99. Aguilar, M. R.; Roman, J., *Smart polymers and their applications*. Elsevier: 2014.
100. Kammer, H.-W.; Inoue, T.; Ougizawa, T. *Polymer* **1989**, 30, (5), 888-892.
101. Furyk, S.; Zhang, Y.; Ortiz-Acosta, D.; Cremer, P. S.; Bergbreiter, D. E. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2006**, 44, (4), 1492-1501.
102. Deshmukh, M.; Vaidya, A.; Kulkarni, M.; Rajamohanan, P.; Ganapathy, S. *Polymer* **2000**, 41, (22), 7951-7960.
103. Ward, M. A.; Georgiou, T. K. *Polymers* **2011**, 3, (3), 1215-1242.
104. Southall, N. T.; Dill, K. A.; Haymet, A., A view of the hydrophobic effect. ACS Publications: 2002.
105. Widom, B.; Bhimalapuram, B.; Koga, K. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2003**, 15, (5), 3085.
106. Liu, R.; Fraylich, M.; Saunders, B. R. *Colloid and Polymer Science* **2009**, 287, (6), 627-643.
107. Xia, F.; Ge, H.; Hou, Y.; Sun, T.; Chen, L.; Zhang, G.; Jiang, L. *Advanced Materials* **2007**, 19, (18), 2520-2524.
108. Kopeček, J.; Yang, J. *Polymer International* **2007**, 56, (9), 1078-1098.
109. Jeong, B.; Kim, S. W.; Bae, Y. H. *Advanced drug delivery reviews* **2012**, 64, 154-162.
110. Peng, T.; Cheng, Y. L. *Journal of applied polymer science* **1998**, 70, (11), 2133-2142.
111. Lue, S. J.; Hsu, J.-J.; Chen, C.-H.; Chen, B.-C. *Journal of Membrane Science* **2007**, 301, (1), 142-150.
112. Nath, N.; Chilkoti, A. *Advanced materials* **2002**, 14, (17), 1243-1247.
113. Ward, M. G., T. *Polymers* **2011**, 3, 1215-1242.
114. Sasaki, S. O., S.; Miyahara, Y. *Journal of Physical Chemistry B* **2010**, 114, (46), 14995-15002.
115. Nakayama, M. O., T.; Winnik, F. *Material Matters* **2010**, 5, (3), 56.
116. Zhang, X. Y., Y.; Chung, T.; Ma, K. *Langmuir* **2001**, 17, (20), 6094-6099.
117. Molina, M. A.; Rivarola, C. R.; Broglia, M. F.; Acevedo, D. F.; Barbero, C. A. *Soft Matter* **2012**, 8, (2), 307-310.

118. Matsuguchi, M. H., N.; Omori, S. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2014**, 190, 446-450.
119. Chen, Q. S. K., E.; Sui, X.; Padberg, C.; Hempenius, M.; Schön, P.; Vancso, G. *Soft Matter* **2014**, 10, 3134-3142.
120. Kusolkambot, K. S.-U., P.; Niamnont, N.; Wongravee, K.; Sukwattanasinitt, M.; Hoven, V. *Langmuir* **2013**, 29, (39), 12317-12327.
121. Lue, S. J.; Chen, C.-H.; Shih, C.-M. *Journal of Macromolecular Science, Part B* **2011**, 50, (3), 563-579.
122. Harrington, W. F.; Von Hippel, P. H. *Advances in protein chemistry* **1962**, 16, 1-138.
123. Heymann, E. *Transactions of the Faraday Society* **1935**, 31, 846-864.
124. Muzzarelli, R. A. *Carbohydrate polymers* **2009**, 76, (2), 167-182.
125. Porsch, C.; Hansson, S.; Nordgren, N.; Malmström, E. *Polymer Chemistry* **2011**, 2, (5), 1114-1123.
126. Bagheri, M.; Shateri, S. *Iranian Polymer Journal* **2012**, 21, (6), 365-373.
127. Klug, E. In *Some properties of water-soluble hydroxyalkyl celluloses and their derivatives*, Journal of Polymer Science: Polymer Symposia, 1971; Wiley Online Library: pp 491-508.
128. Zhang, Z.; Chen, L.; Zhao, C.; Bai, Y.; Deng, M.; Shan, H.; Zhuang, X.; Chen, X.; Jing, X. *Polymer* **2011**, 52, (3), 676-682.
129. Bagheri, M.; Shateri, S.; Niknejad, H.; Entezami, A. A. *Journal of Polymer Research* **2014**, 21, (10), 567.
130. Pedley, D. G.; Skelly, P. J.; Tighe, B. J. *British Polymer Journal* **1980**, 12, (3), 99-110.
131. Shimizu, T.; Goda, T.; Minoura, N.; Takai, M.; Ishihara, K. *Biomaterials* **2010**, 31, (12), 3274-3280.
132. Hoffman, A. S. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2002**, 54, (1), 3-12.
133. Laftah, W. A.; Hashim, S.; Ibrahim, A. N. *Polymer-Plastics Technology and Engineering* **2011**, 50, (14), 1475-1486.
134. Gulrez, S. K.; Al-Assaf, S.; Phillips, G. O., Hydrogels: methods of preparation, characterisation and applications. In *Progress in Molecular and Environmental Bioengineering-From Analysis and Modeling to Technology Applications*, InTech: 2011.
135. Hoffman, A. S., *Intelligent Polymers* Washington DC, 1997.
136. Hamidi, M.; Azadi, A.; Rafiei, P. *Advanced drug delivery reviews* **2008**, 60, (15), 1638-1649.
137. Tanaka, T. *Physical Review A* **1978**, 17, (2), 763.
138. Abel, S. B.; Molina, M. A.; Rivarola, C. R.; Kogan, M. J.; Barbero, C. A. *Nanotechnology* **2014**, 25, (49), 495602.
139. Hirokawa, Y.; Tanaka, T. *The Journal of chemical physics* **1984**, 81, (12), 6379-6380.
140. Yim, H.; Kent, M.; Mendez, S.; Balamurugan, S.; Balamurugan, S.; Lopez, G.; Satija, S. *Macromolecules* **2004**, 37, (5), 1994-1997.

141. Sun, S.; Hu, J.; Tang, H.; Wu, P. *The Journal of Physical Chemistry B* **2010**, 114, (30), 9761-9770.
142. Soto, D.; Oliva, H. *La Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales, RLMM* **2012**, 32, (2).
143. Ahmed, E. M. *Journal of advanced research* **2015**, 6, (2), 105-121.
144. Seliktar, D. *Science* **2012**, 336, (6085), 1124-1128.
145. Stevens, M. P., *Polymer Chemistry: An Introduction*. Oxford University Press: 1999.
146. Ye, Y.-S.; Rick, J.; Hwang, B.-J. *Polymers* **2012**, 4, (2), 913-963.
147. Zhang, J.-T.; Bhat, R.; Jandt, K. D. *Acta Biomaterialia* **2009**, 5, (1), 488-497.
148. Sun, J.-Y.; Zhao, X.; Illeperuma, W. R.; Chaudhuri, O.; Oh, K. H.; Mooney, D. J.; Vlassak, J. J.; Suo, Z. *Nature* **2012**, 489, (7414), 133-136.
149. Zhang, G.; Wu, C. *Physical review letters* **2001**, 86, (5), 822.
150. Hoare, T. R.; Kohane, D. S. *Polymer* **2008**, 49, (8), 1993-2007.
151. Burillo, G.; Briones, M.; Adem, E. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* **2007**, 265, (1), 104-108.
152. Aoki, T.; Kawashima, M.; Katono, H.; Sanui, K.; Ogata, N.; Okano, T.; Sakurai, Y. *Macromolecules* **1994**, 27, (4), 947-952.
153. Varghese, J. M.; Ismail, Y. A.; Lee, C. K.; Shin, K. M.; Shin, M. K.; Kim, S. I.; So, I.; Kim, S. J. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2008**, 135, (1), 336-341.
154. Chen, J.; Liu, M.; Liu, H.; Ma, L.; Gao, C.; Zhu, S.; Zhang, S. *Chemical Engineering Journal* **2010**, 159, (1), 247-256.
155. Lu, J.; Wang, X.; Xiao, C. *Carbohydrate polymers* **2008**, 73, (3), 427-437.
156. Wei, W.; Hu, X.; Qi, X.; Yu, H.; Liu, Y.; Li, J.; Zhang, J.; Dong, W. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2015**, 125, 1-11.
157. Besednjak, A., *Materiales compuestos*. Univ. Politèc. de Catalunya: 2009; Vol. 100.
158. Balazs, A. C.; Emrick, T.; Russell, T. P. *Science* **2006**, 314, (5802), 1107-1110.
159. Vaia, R. A.; Maguire, J. F. *Chemistry of Materials* **2007**, 19, (11), 2736-2751.
160. Jeon, I.-Y.; Baek, J.-B. *Materials* **2010**, 3, (6), 3654-3674.
161. Ingrosso, C.; Panniello, A.; Comparelli, R.; Curri, M. L.; Striccoli, M. *Materials* **2010**, 3, (2), 1316-1352.
162. Oliveira, M.; Machado, A. *Nanocomposites: synthesis, characterization and applications* **2013**, 1-22.
163. Baekeland, L. H. *Industrial & Engineering Chemistry* **1909**, 1, (3), 149-161.
164. Goodyear, C. *Dinglers Polytech. J* **1856**, 139, 376.
165. Kojima, Y.; Usuki, A.; Kawasumi, M.; Okada, A.; Fukushima, Y.; Kurauchi, T.; Kamigaito, O. *Journal of Materials Research* **1993**, 8, (05), 1185-1189.
166. LeBaron, P. C.; Wang, Z.; Pinnavaia, T. J. *Applied clay science* **1999**, 15, (1), 11-29.

167. Chinè, B. *Revista Tecnología en Marcha* **2007**, 20, (2), 41.
168. Sinha Ray, S.; Okamoto, M. *Progress in Polymer Science* **2003**, 28, (11), 1539-1641.
169. Lu, X.; Zhang, W.; Wang, C.; Wen, T.-C.; Wei, Y. *Progress in Polymer Science* **2011**, 36, (5), 671-712.
170. Meenach, S. A.; Anderson, A. A.; Suthar, M.; Anderson, K. W.; Hilt, J. Z. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* **2009**, 91, (3), 903-909.
171. Budhlall, B. M.; Marquez, M.; Velev, O. D. *Langmuir* **2008**, 24, (20), 11959-11966.
172. Liang, L.; Liu, J.; Gong, X. *Langmuir* **2000**, 16, (25), 9895-9899.
173. Lin, J.; Wu, J.; Yang, Z.; Pu, M. *Macromolecular Rapid Communications* **2001**, 22, (6), 422-424.
174. Shi, Y.; Ma, C.; Peng, L.; Yu, G. *Advanced Functional Materials* **2015**, 25, (8), 1219-1225.
175. Miao, C.; Hamad, W. Y. *Cellulose* **2013**, 20, (5), 2221-2262.
176. Ghaderi, M.; Mousavi, M.; Yousefi, H.; Labbafi, M. *Carbohydrate polymers* **2014**, 104, 59-65.
177. Oksman, K.; Aitomäki, Y.; Mathew, A. P.; Siqueira, G.; Zhou, Q.; Butylina, S.; Tanpichai, S.; Zhou, X.; Hooshmand, S. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing* **2016**, 83, 2-18.
178. Schild, H. G. *Progress in polymer science* **1992**, 17, (2), 163-249.
179. Kirsh, I. U. È.; Kirsh, Y. E., *Water soluble poly-N-vinylamides: synthesis and physicochemical properties*. John Wiley & Sons: 1998.
180. Sugarman, J. H.; Prud'Homme, R. K.; Langhorst, M. A.; Stanley, F. W. *Journal of applied polymer science* **1987**, 33, (3), 693-702.
181. Sapurina, I.; Osadchev, A. Y.; Volchek, B.; Trchová, M.; Riede, A.; Stejskal, J. *Synthetic Metals* **2002**, 129, (1), 29-37.
182. Shishov, M. A.; Moshnikov, V. A.; Sapurina, I. Y. *Chemical Papers* **2013**, 67, (8), 909-918.
183. Li, D.; Huang, J.; Kaner, R. B. *Accounts of chemical research* **2008**, 42, (1), 135-145.
184. Trchová, M.; Šeděnková, I.; Konyushenko, E. N.; Stejskal, J.; Holler, P.; Ćirić-Marjanović, G. *The Journal of Physical Chemistry B* **2006**, 110, (19), 9461-9468.
185. Stejskal, J.; Sapurina, I.; Prokeš, J.; Zemek, J. *Synthetic Metals* **1999**, 105, (3), 195-202.
186. Stejskal, J. *Chemical Papers* **2013**, 67, (8), 814-848.
187. Gangopadhyay, R. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics* **2008**, 46, (22), 2443-2455.
188. Amarnath, C.; Palaniappan, S.; Rannou, P.; Pron, A. *Thin Solid Films* **2008**, 516, (10), 2928-2933.
189. Chattopadhyay, D.; Bain, M. K. *Journal of applied polymer science* **2008**, 110, (5), 2849-2853.

190. Chattopadhyay, D.; Banerjee, S.; Chakravorty, D.; Mandal, B. *Langmuir* **1998**, 14, (7), 1544-1547.
191. Mumtaz, M.; Labrugère, C.; Cloutet, E.; Cramail, H. *Langmuir* **2009**, 25, (23), 13569-13580.
192. Kuo, C.-W.; Wen, T.-C. *European Polymer Journal* **2008**, 44, (11), 3393-3401.
193. Cruz-Silva, R.; Arizmendi, L.; Del-Angel, M.; Romero-Garcia, J. *Langmuir* **2007**, 23, (1), 8-12.
194. Li, X.; Zhao, Y.; Zhuang, T.; Wang, G.; Gu, Q. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **2007**, 295, (1), 146-151.
195. Shim, G. H.; Han, M. G.; Sharp-Norton, J. C.; Creager, S. E.; Foulger, S. H. *Journal of Materials Chemistry* **2008**, 18, (5), 594-601.
196. Bhadra, S.; Khastgir, D.; Singha, N. K.; Lee, J. H. *Progress in polymer science* **2009**, 34, (8), 783-810.
197. Yslas, E. I.; Ibarra, L. E.; Molina, M. A.; Rivarola, C.; Barbero, C. A.; Bertuzzi, M. L.; Rivarola, V. A. *Journal of Nanoparticle Research* **2015**, 17, (10), 389.
198. Das, T. K.; Prusty, S. *Polymer-Plastics Technology and Engineering* **2012**, 51, (14), 1487-1500.
199. Wang, Y.; Chen, K.; Li, T.; Li, H.; Zeng, R.; Zhang, R.; Gu, Y.; Ding, J.; Liu, H. *Synthetic Metals* **2014**, 198, 293-299.
200. Pillalamarri, S. K.; Blum, F. D.; Tokuhiko, A. T.; Story, J. G.; Bertino, M. F. *Chemistry of materials* **2005**, 17, (2), 227-229.
201. Jing, X.; Wang, Y.; Wu, D.; She, L.; Guo, Y. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2006**, 44, (2), 1014-1019.
202. Huang, J.; Kaner, R. B. *Angewandte Chemie* **2004**, 116, (43), 5941-5945.
203. Tran, H. D.; Kaner, R. B. *Chemical communications* **2006**, (37), 3915-3917.
204. Salavagione, H. J.; Acevedo, D. F.; Miras, M. C.; Motheo, A. J.; Barbero, C. A. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2004**, 42, (22), 5587-5599.
205. Acevedo, D. F.; Salavagione, H. J.; Miras, M. C.; Barbero, C. A. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2005**, 16, (2), 259-269.
206. Acevedo, D. F.; Balach, J.; Rivarola, C. R.; Miras, M. C.; Barbero, C. A. *Faraday discussions* **2006**, 131, 235-252.
207. Lahiff, E.; Woods, T.; Blau, W.; Wallace, G. G.; Diamond, D. *Synthetic Metals* **2009**, 159, (7-8), 741-748.
208. Martínez, B. T. P.; Cepeda, L. F.; Aguilar, N. V. P. *Revista Iberoamericana de Polímeros* **2013**, 14, (3), 127-136.
209. Varka, E.-M.; Ampatzidis, C.; Kostoglou, M.; Karapantsios, T.; Dutschk, V. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **2010**, 365, (1), 181-188.

210. Dai, L. L., *Advanced Core-Shell Composite Nanoparticles Through Pickering Emulsion Polymerization*. INTECH Open Access Publisher: 2012.
211. Walther, A.; Müller, A. H. *Chemical reviews* **2013**, 113, (7), 5194-5261.
212. Heeres, A. S.; Picone, C. S.; van der Wielen, L. A.; Cunha, R. L.; Cuellar, M. C. *Trends in biotechnology* **2014**, 32, (4), 221-229.
213. Thompson, K. L.; Chambon, P.; Verber, R.; Armes, S. P. *Journal of the American Chemical Society* **2012**, 134, (30), 12450-12453.
214. Stephenson, G.; Parker, R. M.; Lan, Y.; Yu, Z.; Scherman, O. A.; Abell, C. *Chem. Commun.* **2014**, 50, (53), 7048-7051.
215. Brady, S.; Diamond, D.; Lau, K.-T. *Sensors and Actuators A: Physical* **2005**, 119, (2), 398-404.
216. Merlini, C.; de Oliveira Barra, G. M.; Araujo, T. M.; Pegoretti, A. *Synthetic Metals* **2014**, 196, 186-192.
217. Merlini, C.; dos Santos Almeida, R.; D'Ávila, M. A.; Schreiner, W. H.; de Oliveira Barra, G. M. *Materials Science and Engineering: B* **2014**, 179, 52-59.
218. Wang, L.; Li, Y. *IEEE transactions on instrumentation and measurement* **2013**, 62, (2), 495-502.
219. Chronakis, I. S.; Grapenson, S.; Jakob, A. *Polymer* **2006**, 47, (5), 1597-1603.
220. Rivero, R. E.; Molina, M. A.; Rivarola, C. R.; Barbero, C. A. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2014**, 190, 270-278.
221. Stejskal, J.; Bober, P.; Trchová, M.; Kovalcik, A.; Hodan, J. i.; Hromádková, J. i.; Prokeš, J. *Macromolecules* **2017**, 50, (3), 972-978.
222. Varma, S.; Jayalekshmi, S. *Journal of applied polymer science* **2010**, 117, (1), 138-142.
223. Suckeveriene, R. Y.; Zelikman, E.; Mechrez, G.; Narkis, M. *Reviews in Chemical Engineering* **2011**, 27, (1-2), 15-21.
224. Ochoteco, E.; Pomposo, J.; Grande, H.; Martinez, F.; Obieta, G.; Lezama, J.; Iriondo, J., Distributed Pressure Sensor Based on Electroactive Materials for Automotive Application. In *Advanced Microsystems for Automotive Applications 2006*, Springer: 2006; pp 249-260.
225. Dubois, P.; Rosset, S.; Koster, S.; Stauffer, J.; Mikhaïlov, S.; Dadras, M.; de Rooij, N.-F.; Shea, H. *Sensors and actuators A: Physical* **2006**, 130, 147-154.
226. Hafez, M. *FSRM (Swiss Foundation for Research in Microtechnology)* **2006**.
227. Skotheim, T. A.; Reynolds, J., *Handbook of Conducting Polymers, 2 Volume Set*. CRC press: 2007.
228. Almeida, L. C. P., *Conducting polymers: synthesis, properties and applications*. Nova Science Publishers, Inc.: 2013.
229. Fratoddi, I.; Venditti, I.; Cametti, C.; Russo, M. V. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2015**, 220, 534-548.

230. Huang, J.; Yang, T.; Kang, Y.; Wang, Y.; Wang, S. *Journal of Natural Gas Chemistry* **2011**, 20, (5), 515-519.
231. Li, P.; Li, Y.; Ying, B.; Yang, M. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2009**, 141, (2), 390-395.
232. Al-Oqla, F. M.; Sapuan, S.; Anwer, T.; Jawaid, M.; Hoque, M. *Synthetic Metals* **2015**, 206, 42-54.
233. Harsányi, G. *Sensors and Actuators A: Physical* **1995**, 46, (1-3), 85-88.
234. Lange, U.; Roznyatovskaya, N. V.; Mirsky, V. M. *Analytica chimica acta* **2008**, 614, (1), 1-26.
235. Ramanavičius, A.; Ramanavičienė, A.; Malinauskas, A. *Electrochimica acta* **2006**, 51, (27), 6025-6037.
236. Lahiff, E.; Scarmagnani, S.; Schazmann, B.; Cafolla, A.; Diamond, D. *International Journal of Nanomanufacturing* **2009**, 5, (1-2), 88-99.
237. Byrne, R.; Diamond, D. *Nature Materials* **2006**, 5, (6), 421-424.
238. Chiou, N.-R.; Lu, C.; Guan, J.; Lee, L. J.; Epstein, A. J. *Nature nanotechnology* **2007**, 2, (6), 354-357.
239. Lin, Q.; Li, Y.; Yang, M. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2012**, 161, (1), 967-972.
240. Murugan, C.; Subramanian, E.; Padiyan, D. P. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2014**, 205, 74-81.
241. Shkirskaia, S.; Kolechko, M.; Kononenko, N. *Current Applied Physics* **2015**, 15, (12), 1587-1592.
242. Wang, Y.; Jing, X. *Materials Science and Engineering: B* **2007**, 138, (1), 95-100.
243. Cavallo, P.; Frontera, E.; Acevedo, D. F.; Olejník, R.; Slobodian, P.; Sába, P.; Barbero, C. A. *Synthetic Metals* **2016**, 215, 127-133.
244. Abdulla, S.; Mathew, T. L.; Pullithadathil, B. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2015**, 221, 1523-1534.
245. Bai, H.; Zhao, L.; Lu, C.; Li, C.; Shi, G. *Polymer* **2009**, 50, (14), 3292-3301.
246. Babar, D. G.; Olejník, R.; Slobodian, P.; Matyas, J. *Measurement* **2016**, 89, 72-77.
247. Virji, S.; Huang, J.; Kaner, R. B.; Weiller, B. H. *Nano letters* **2004**, 4, (3), 491-496.
248. Cavallo, P.; Acevedo, D. F.; Fuertes, M. C.; Soler-Illia, G. J.; Barbero, C. A. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2015**, 210, 574-580.
249. Dickerson, E. B.; Dreaden, E. C.; Huang, X.; El-Sayed, I. H.; Chu, H.; Pushpanketh, S.; McDonald, J. F.; El-Sayed, M. A. *Cancer letters* **2008**, 269, (1), 57-66.
250. Jaque, D.; Maestro, L. M.; Del Rosal, B.; Haro-Gonzalez, P.; Benayas, A.; Plaza, J.; Rodriguez, E. M.; Sole, J. G. *Nanoscale* **2014**, 6, (16), 9494-9530.
251. Kampinga, H. H. *International journal of hyperthermia* **2006**, 22, (3), 191-196.
252. Weissleder, R. *Nature biotechnology* **2001**, 19, (4), 316-316.

253. Song, X.; Gong, H.; Yin, S.; Cheng, L.; Wang, C.; Li, Z.; Li, Y.; Wang, X.; Liu, G.; Liu, Z. *Advanced Functional Materials* **2014**, 24, (9), 1194-1201.
254. Yazdi, M. H.; Sepehrizadeh, Z.; Mahdavi, M.; Shahverdi, A. R.; Faramarzi, M. A. *Nano Biomed. Eng* **2016**, 8, (4), 246-267.
255. Wang, Y.; Black, K. C.; Luehmann, H.; Li, W.; Zhang, Y.; Cai, X.; Wan, D.; Liu, S.-Y.; Li, M.; Kim, P. *ACS nano* **2013**, 7, (3), 2068-2077.
256. Huang, P.; Rong, P.; Jin, A.; Yan, X.; Zhang, M. G.; Lin, J.; Hu, H.; Wang, Z.; Yue, X.; Li, W. *Advanced Materials* **2014**, 26, (37), 6401-6408.
257. Zhou, Z.; Wang, Y.; Yan, Y.; Zhang, Q.; Cheng, Y. *ACS nano* **2016**, 10, (4), 4863-4872.
258. Kojima, C.; Hirano, Y.; Yuba, E.; Harada, A.; Kono, K. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2008**, 66, (2), 246-252.
259. Chen, Y.-W.; Su, Y.-L.; Hu, S.-H.; Chen, S.-Y. *Advanced drug delivery reviews* **2016**, 105, 190-204.
260. Liang, C.; Diao, S.; Wang, C.; Gong, H.; Liu, T.; Hong, G.; Shi, X.; Dai, H.; Liu, Z. *Advanced Materials* **2014**, 26, (32), 5646-5652.
261. Sharifi, S.; Behzadi, S.; Laurent, S.; Forrest, M. L.; Stroeve, P.; Mahmoudi, M. *Chemical Society Reviews* **2012**, 41, (6), 2323-2343.
262. Chen, M.; Fang, X.; Tang, S.; Zheng, N. *Chemical communications* **2012**, 48, (71), 8934-8936.
263. Xia, B.; Wang, B.; Shi, J.; Zhang, Y.; Zhang, Q.; Chen, Z.; Li, J. *Acta Biomaterialia* **2017**.
264. Stejskal, J.; Sapurina, I. *Pure and Applied Chemistry* **2005**, 77, (5), 815-826.
265. Kašpárková, V.; Humpolíček, P.; Capáková, Z.; Bober, P.; Stejskal, J.; Trchová, M.; Rejmontová, P.; Junkar, I.; Lehocký, M.; Mozetič, M. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2017**.
266. Humpolíček, P.; Radaszkiewicz, K.; Kašpárková, V.; Stejskal, J.; Trchová, M.; Kuceková, Z.; Vičarová, H.; Pacherník, J.; Lehocký, M.; Minařík, A. *RSC Advances* **2015**, 5, (84), 68796-68805.
267. Yslas, E. I.; Ibarra, L. E.; Molina, M. A.; Rivarola, C.; Barbero, C. A.; Bertuzzi, M. L.; Rivarola, V. A. *Journal of Nanoparticle Research* **2015**, 17, (10), 1-15.
268. Ibarra, L.; Yslas, E.; Molina, M.; Rivarola, C.; Romanini, S.; Barbero, C.; Rivarola, V.; Bertuzzi, M. *Laser Physics* **2013**, 23, (6), 066004.
269. Molina, M.; Wedepohl, S.; Calderón, M. *Nanoscale* **2016**, 8, (11), 5852-5856.
270. Marta, B.; Jakab, E.; Potara, M.; Simon, T.; Imre-Lucaci, F.; Barbu-Tudoran, L.; Popescu, O.; Astilean, S. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **2014**, 441, 77-83.
271. Iwase, T.; Uehara, Y.; Shinji, H.; Tajima, A.; Seo, H.; Takada, K.; Agata, T.; Mizunoe, Y. *Nature* **2010**, 465, (7296), 346-349.

272. Jansen, K. U.; Girgenti, D. Q.; Scully, I. L.; Anderson, A. S. *Vaccine* **2013**, 31, (25), 2723-2730.
273. Barbero, C.; Salavagione, H. J.; Acevedo, D. F.; Grumelli, D. E.; Garay, F.; Planes, G. A.; Morales, G. M.; Miras, M. a. C. *Electrochimica Acta* **2004**, 49, (22), 3671-3686.
274. Acevedo, D. F.; Miras, M. C.; Barbero, C. A. *Journal of combinatorial chemistry* **2005**, 7, (4), 513-516.
275. Martínez, M.; Abel, S. B.; Rivero, R.; Miras, M.; Rivarola, C.; Barbero, C. *Polymer* **2015**, 78, 94-103.
276. Woo, H.-Y.; Jung, W.-G.; Ihm, D.-W.; Kim, J.-Y. *Synthetic Metals* **2010**, 160, (7), 588-591.
277. Huang, J.; Kaner, R. B. *Journal of the American Chemical Society* **2004**, 126, (3), 851-855.
278. Valdebenito, A.; Encinas, M. *Polymer* **2005**, 46, (24), 10658-10662.
279. Reddy, N. N.; Ravindra, S.; Reddy, N. M.; Rajinikanth, V.; Raju, K. M.; Vallabhapurapu, V. S. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* **2015**, 394, 237-244.
280. Molina, M.; Rivarola, C.; Barbero, C. *Polymer* **2012**, 53, (2), 445-453.
281. Askeland, D.; Fulay, P., *The Science & Engineering of Materials*. Cengage Learning: 2005.
282. Topuz, F.; Okay, O. *Reactive and Functional Polymers* **2009**, 69, (5), 273-280.
283. Barbero, C.; Acevedo, D.; Yslas, E.; Broglia, M.; Peralta, D.; Frontera, E.; Rivero, R.; Rivarola, C.; Bertuzzi, M.; Rivarola, V. *Molecular Crystals and Liquid Crystals* **2010**, 521, (1), 214-228.
284. Student AK, H. R., Lane MD. *J Biol Chem.* **1980** 255, (10), 4745-50.
285. Mosmann, T. *J Immunol Methods* **1983**, 16, (65), 55-63.
286. Ishiyama, M.; Tominaga, H.; Shiga, M.; Sasamoto, K.; Ohkura, Y.; Ueno, K. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* **1996**, 19, (11), 1518-1520.
287. Frost, D. *Amphibian species of the world: an online reference. Version* **2007**, 5, (0), 1.
288. Casco, V. H.; Paz, D.; Ruiz, G.; Maldonado, C.; Pisanó, A.; Aoki, A. *International Journal of Developmental Biology* **2004**, 36, (4), 537-542.
289. Ferrari, L.; De la Torre, F.; Demichelis, S.; García, M.; Salibián, A. *Chemosphere* **2005**, 59, (4), 567-575.
290. Mann, R. M.; Bidwell, J. R. *Aquatic Toxicology* **2000**, 51, (1), 19-29.
291. Del Conte, E.; Sirlin, J. L. *The Anatomical Record* **1952**, 112, (1), 125-135.
292. Herkovits, J.; Perez-Coll, C. S. *Ingeniería sanitaria y ambiental (Buenos Aires)* **1999**, 42, 24-30.
293. Yslas, E. I.; Cavallo, P.; Acevedo, D. F.; Barbero, C. A.; Rivarola, V. A. *Materials Science and Engineering: C* **2015**, 51, 51-56.
294. Shishkanova, T.; Sapurina, I.; Stejskal, J.; Král, V.; Volf, R. *Anal. Chim. Acta* **2005**, 553, (1-2), 160-168.

295. Stejskal, J.; Prokeš, J.; Trchová, M. *Reactive and Functional Polymers* **2008**, 68, (9), 1355-1361.
296. Molina, M.; Rivarola, C.; Miras, M.; Lescano, D.; Barbero, C. *Nanotechnology* **2011**, 22, (24), 245504.
297. Ponzio, E. A.; Echevarria, R.; Morales, G. M.; Barbero, C. *Polymer international* **2001**, 50, (11), 1180-1185.
298. Molina, M.; Rivarola, C.; Barbero, C. *European Polymer Journal* **2011**, 47, (10), 1977-1984.
299. Goda, T.; Watanabe, J.; Takai, M.; Ishihara, K. *Polymer* **2006**, 47, (4), 1390-1396.
300. Hussain, M. A.; Shah, A.; Jantan, I.; Shah, M. R.; Tahir, M. N.; Ahmad, R.; Bukhari, S. N. A. *International journal of nanomedicine* **2015**, 10, 2079.
301. Contreras, H. J.; Trujillo, H. A.; Arias, G.; Pérez, J. L.; Delgado, E. *e-Gnosis* **2010**, 8.
302. Fettaka, M.; Issaadi, R.; Moulai-Mostefa, N.; Dez, I.; Le Cerf, D.; Picton, L. *Journal of colloid and interface science* **2011**, 357, (2), 372-378.
303. Liao, Q.; Shao, Q.; Qiu, G.; Lu, X. *Carbohydrate polymers* **2012**, 89, (4), 1301-1304.
304. Rwei, S.-P.; Lyu, M.-S.; Wu, P.-S.; Tseng, C.-H.; Huang, H.-W. *Cellulose* **2009**, 16, (1), 9-17.
305. Uraki, Y.; Imura, T.; Kishimoto, T.; Ubukata, M. *Carbohydrate polymers* **2004**, 58, (2), 123-130.
306. Schild, H. G.; Tirrell, D. A. *Journal of Physical Chemistry* **1990**, 94, (10), 4352-4356.
307. Yslas, E. I.; Ibarra, L. E.; Peralta, D. O.; Barbero, C. A.; Rivarola, V. A.; Bertuzzi, M. L. *Chemosphere* **2012**, 87, (11), 1374-1380.
308. Smela, E. *Journal of micromechanics and microengineering* **1999**, 9, (1), 1.
309. Chougule, M. A.; Pawar, S. G.; Godse, P. R.; Mulik, R. N.; Sen, S.; Patil, V. B. *Soft Nanoscience Letters* **2011**, 1, (01), 6.
310. Stejskal, J.; Kratochvil, P.; Radhakrishnan, N. *Synthetic Metals* **1993**, 61, (3), 225-231.
311. Cavallo, P. C.; Muñoz, D. J.; Miras, M. C.; Barbero, C.; Acevedo, D. F. *Journal of Applied Polymer Science* **2014**, 131, (4), n/a-n/a.
312. Stockton, W. B.; Rubner, M. F. *Macromolecules* **1997**, 30, (9), 2717-2725.
313. de Albuquerque, J. E.; Mattoso, L. H. C.; Faria, R. M.; Masters, J. G.; MacDiarmid, A. G. *Synthetic Metals* **2004**, 146, (1), 1-10.
314. Huang, W. S.; MacDiarmid, A. G. *Polymer* **1993**, 34, (9), 1833-1845.
315. Yang, J.; Choi, J.; Bang, D.; Kim, E.; Lim, E.-K.; Park, H.; Suh, J.-S.; Lee, K.; Yoo, K.-H.; Kim, E.-K.; Huh, Y.-M.; Haam, S. *Angewandte Chemie International Edition* **2011**, 50, (2), 441-444.
316. Ibarra, L. E.; Yslas, E. I.; Molina, M. A.; Rivarola, C. R.; Romanini, S.; Barbero, C. A.; Rivarola, V. A.; Bertuzzi, M. L. *Laser Physics* **2013**, 23, (6), 066004.

317. Lakowicz, J. R., *Topics in fluorescence spectroscopy: volume 4: probe design and chemical sensing*. Springer Science & Business Media: 1994; Vol. 4.
318. Hu, Z.; Wang, C.; Zhao, F.; Xu, X.; Wang, S.; Yu, L.; Zhang, D.; Huang, Y. *Nanoscale* **2017**, 9, (25), 8825-8833.
319. Al-Sabagh, A.; Kandile, N.; El-Ghazawy, R.; El-Din, M. N.; El-Sharaky, E. *Egyptian Journal of Petroleum* **2013**, 22, (4), 531-538.
320. Maser, W.; Martinez, M. T.; Benito, A. M. *SPIE Newsroom-Nanotechnology* **2007**.
321. Mishra, A. K., *Nanocomposites in Wastewater Treatment*. CRC Press: 2014.
322. Kim, H.-S.; Yang, H.-S.; Kim, H.-J.; Park, H.-J. *Journal of thermal analysis and calorimetry* **2004**, 76, (2), 395-404.
323. Huang, J.; Virji, S.; Weiller, B. H.; Kaner, R. B. *Chemistry-A European Journal* **2004**, 10, (6), 1314-1319.
324. Yang, Y.; Li, S.; Yang, W.; Yuan, W.; Xu, J.; Jiang, Y. *ACS applied materials & interfaces* **2014**, 6, (16), 13807-13814.
325. Sanderson, H.; Johnson, D. J.; Wilson, C. J.; Brain, R. A.; Solomon, K. R. *Toxicology letters* **2003**, 144, (3), 383-395.
326. Blaise, C.; Gagné, F.; Ferard, J.; Eullaffroy, P. *Environmental toxicology* **2008**, 23, (5), 591-598.
327. Bantle, J. A.; Sabourin, T. *American Society for Testing and Materials E1439* **1991**, 91.
328. Boland, C. S.; Khan, U.; Backes, C.; O'Neill, A.; McCauley, J.; Duane, S.; Shanker, R.; Liu, Y.; Jurewicz, I.; Dalton, A. B. *ACS nano* **2014**, 8, (9), 8819-8830.
329. Romanova, J.; Petrova, J.; Tadjer, A.; Gospodinova, N. *Synthetic Metals* **2010**, 160, (9), 1050-1054.
330. Lubentsov, B.; Timofeeva, O.; Saratovskikh, S.; Krinichnyi, V.; Pelekh, A.; Dmitrenko, V.; Khidekel, M. *Synthetic metals* **1992**, 47, (2), 187-192.
331. Kulkarni, M. V.; Apte, S. K.; Naik, S. D.; Ambekar, J. D.; Kale, B. B. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2013**, 178, 140-143.
332. McGovern, S. T.; Spinks, G. M.; Wallace, G. G. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2005**, 107, (2), 657-665.
333. Zeng, F.-W.; Liu, X.-X.; Diamond, D.; Lau, K. T. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2010**, 143, (2), 530-534.
334. Patel, H. K., Sensor Circuits. In *The Electronic Nose: Artificial Olfaction Technology*, Springer: 2014; pp 181-205.
335. Cho, J. H.; Kim, Y. W.; Na, K. J.; Jeon, G. J. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2008**, 134, (1), 104-111.
336. Wu, C. S. *Polymer International* **2012**, 61, (10), 1556-1563.

337. Kucekova, Z.; Kasparkova, V.; Humpolicek, P.; Sevcikova, P.; Stejskal, J. *Chemical Papers* **2013**, 67, (8), 1103-1108.
338. Boomi, P.; Prabu, H. G.; Mathiyarasu, J. *European journal of medicinal chemistry* **2014**, 72, 18-25.
339. Boomi, P.; Prabu, H. G.; Manisankar, P.; Ravikumar, S. *Applied Surface Science* **2014**, 300, 66-72.
340. Jotiram, K. P.; Prasad, R.; Jakka, V. S.; Aparna, R.; Phani, A. *Nano Biomed Eng* **2012**, 4, (3), 144-149.
341. Hasan, J.; Crawford, R. J.; Ivanova, E. P. *Trends in biotechnology* **2013**, 31, (5), 295-304.