

MODIFICACIONES HIDROFÍLICAS DE LOS POLIÉSTERES MICROBIANOS

HYDROPHILIC MODIFICATION OF MICROBIOLOGICAL POLYESTERS

Norma Galego Fernández, Chavati Rozsa Galego, Beatriz Santos Carballal, Maykel González Torres, Mayté Paredes Zaldívar, Alexander F. Michels, y Moni Behar

Resumen:

El presente artículo constituye una compilación de los trabajos, que en el área de modificaciones hidrofílicas de β polihidroxicanoatos se han realizado en el Laboratorio de Polímeros del IMRE-UH en los últimos 7 años. Los β polihidroxicanoatos son poliésteres microbianos con propiedades únicas pero moderadamente hidrófobos. Son excelentes candidatos para aplicaciones biomédicas en el desarrollo de biomateriales de segunda y tercera generación. En el presente estudio se incluyen reacciones de copolimerización por injerto, inducidas por radiaciones γ con la obtención del copolímero β polihidroxicbutirato con injertos de poliácetato de vinilo (PHB – graft – PAcV). Obtención de redes semi interpenetradas del poliácido acrílico y β polihidroxicbutirato (s-IPN/PAA-PHB) hidrogeles superabsorbentes, utilizando también radiaciones ionizantes. Reacciones de transesterificación entre β polihidroxicbutirato y una familia de propilenglicoles condujeron a la obtención de β polihidroxicbutirato hidroxilado utilizando energía de microondas. También se estudiaron modificaciones superficiales de diferentes β polihidroxicanoatos con haces de iones. En todos los casos la hidrofiliidad se ha estudiado por la medida del ángulo de contacto de una gota de agua en la superficie de una película del material, la fotografía de la gota y la aplicación de programas de cómputo adecuados. Los resultados son todos satisfactorios.

Palabras clave: modificaciones hidrofílicas, β polihidroxicbutirato, β polihidroxicanoatos,

Abstract:

This paper is formed by some works about hydrophilic modifications of β polyhydroxyalkanoates. The works were carried out in the Polymer Laboratory, IMRE-UH in the past 7 years. The β polyhydroxyalkanoates are microbiological polyesters. They have unique properties but they are moderate hydrophobic materials. They are excellent candidates for medical applications in the development of second and third generation biomaterials. In the present study radical graft polymerization by γ irradiation of β polyhydroxybutyrate and vinyl acetate obtaining a graft copolymer (PHB – graft – PAcV) is included. Also, semi interpenetrating polymer networks of polyacrylic acid and β polyhydroxybutyrate (s-IPN/PAA-PHB) were obtained using γ irradiation and the

product behaves like a superabsorbent hydrogel. Transesterification reaction between β polyhydroxybutyrate and some propilenglycol families were studied and hydroxylated β polyhydroxybutyrate were obtained using micro wave energy. Surface modifications of some β polyhydroxyalkanoates using ion beam irradiation were studied too. In all cases, the water wettability or hydrophilic character of materials was analyzed by the contact angle measurement. A water drop onto polymer surface was photographed and this photo was analyzed with the appropriate software. In all cases, the materials obtained were more hydrophilic.

Keywords: hydrophilic modification, β polyhydroxybutyrate, β polyhydroxyalkanoates,

Introducción.

Los polímeros son probablemente una de las creaciones más indispensables de la naturaleza y son tan antiguos como la vida misma.

Recientemente con el desarrollo de los conceptos ambientalistas una gran cantidad de esfuerzos han sido dirigidos hacia el desarrollo de polímeros "Amigables con el Medioambiente". [1]

Los poliésteres microbianos conocidos con el nombre de β Polihidroxialcanoatos (PHAs) son una familia de materiales interesantes para estos propósitos. Además de ser producidos por una amplia variedad de microorganismos, como materiales para almacenar carbono y energía a nivel intracelular, son poliésteres termoplásticos con propiedades biodegradables y biocompatibles. Hoy en día se conocen más de 150 especies capaces de producirlos a través de múltiples diseños moleculares [2-3].

El β polihidroxibutirato (PHB) fue el primer miembro de esta familia descubierto en 1926 por M. Lemoigne como un constituyente de la bacteria *Bacillus megaterium*. Ha sido el más utilizado y más caracterizado de los miembros de esta familia. La incorporación de otros monómeros hidroxialcanoatos ha dado lugar a la familia de los β polihidroxialcanoatos (PHAs). Dependiendo del tipo y composición del monómero incorporado se han obtenido una gran variedad de materiales con diversas propiedades físicas desde polímeros semicristalinos hasta elastómeros.[1-2]

Una clasificación de estos polímeros se basa en considerar el número de átomos de carbono presentes en la unidad monomérica. En este caso los de cadena corta son los de menos de 6 átomos de carbono en su unidad monomérica y de 6 hasta 14 átomos de carbono se nombran de cadena media. Mayor de 14 son los PHAs de cadena larga. [1-4]

Los PHAs de cadena corta y sus copolímeros entre sus ventajas fundamentales están: la conjugación de sus propiedades físicas como termoplásticos (semejantes al polipropileno) y su condición de ser polímeros

“Amigables con el Medioambiente”, o sea, se obtienen de fuentes renovables y a su vez son materiales biodegradables. [3]

Ellos tienen propiedades únicas y son buenos para aplicaciones biomédicas. Desempeñan un rol importante en el desarrollo de biomateriales de segunda y tercera generación. [4-7]

El presente trabajo tiene como objetivo mostrar el estudio de algunas “*Modificaciones hidrofílicas de los poliésteres microbianos*”, fundamentalmente del PHB realizadas en nuestro grupo de trabajo.

Este interés se debe a que una aplicación importante de estos materiales poliméricos es en el campo de los biomateriales y una desventaja que presentan para esta aplicación es su moderado carácter hidrofóbico. [8-10]

En la aplicación de los biomateriales se debe tener en cuenta la constitución química y el estado físico del material, así como las características estructurales y morfológicas de la superficie de contacto con el organismo vivo. La constitución química esta dada por los grupos funcionales característicos de la sustancia que forma el biomaterial. Obviamente los grupos más polares favorecen las interacciones entre el biomaterial y la proteína. Y las características morfológicas van a determinar la superficie de contacto con el organismo vivo. [11-12]

Esa superficie de contacto es la frontera biomaterial-tejido, o sea, es la interfase biomaterial-tejido que conlleva a la interfase biomaterial-flujo sanguíneo. Y aquí pueden ocurrir los fenómenos, no deseados, de deposición de las proteínas de la sangre en la superficie del implante. Obviamente, el tipo de unión que se establece entre las proteínas y la superficie del biomaterial dependerá de la propia superficie. El carácter hidrofílico de la superficie favorece la interacción biomaterial-tejido ó biomaterial-flujo sanguíneo.

La interacción en la interfase entre la proteína y el biomaterial debe ser de carácter no covalente, con enlaces secundarios, como puentes de hidrógeno ó enlaces tipo van der Waals.

La medida de la hidrofiliidad de una sustancia se realiza por la medida del ángulo interfacial de equilibrio ó ángulo de contacto (θ), de una gota de agua añadida sobre la superficie de la sustancia que se quiere evaluar. [13-14] Cuando $\theta < 90^\circ$, hay humectación en la superficie y la sustancia es hidrofílica. Así, la medida del ángulo de contacto (θ) da un criterio del carácter hidrofílico de la sustancia y por lo tanto de la humectación de la interfase biomaterial→tejido. Esta medida se basa en la fotografía de la gota de agua en la superficie de la sustancia, teniendo en cuenta la pureza del agua utilizada y la limpieza de la superficie.

Otro criterio de hidrofiliidad puede obtenerse por experimentos donde una muestra de masa conocida de la sustancia se coloca en el agua y se mide la

variación de la masa de la muestra en el tiempo, hasta que se obtiene un valor invariante [15] .Así se define:

Porcentaje de hinchamiento (H):

$$H = \frac{(\text{peso húmedo} - \text{peso seco})}{\text{peso seco}} * 100$$

En este trabajo trataremos de modificaciones del PHB y algunos otros PHAs de cadena corta.

Copolimerización por injerto

Se estudió la copolimerización por injerto del acetato de vinilo en el PHB en ausencia de O₂ por irradiación simultánea con ⁶⁰Co en una Instalación de irradiación autoblandada PX-γ-30 (Mayak, URSS) con una dosis de irradiación de 10 kGy y se obtuvo el copolímero por injerto, según se ilustra en la Figura 1 a) [16-20]

El producto fue caracterizado por espectroscopias RMN ¹H, ¹³C y FTIR y por técnicas de análisis térmico (ATG y CDB) [16 -17] .El experimento anterior se realizó en presencia de diferentes solventes [18] y se obtuvieron diferentes grados de injerto. Los ángulos de contacto de una gota de agua en la superficie para los diferentes copolímeros obtenidos con diferentes grados de injerto en cada solvente utilizado fueron hallados y la reacción fue estudiada atendiendo a aspectos cinéticos y de la radiólisis del solvente [19-20]. En el gráfico de la Figura 1 b) se muestran los resultados.

El aumento del grado de injerto provoca una disminución del ángulo de contacto y con ello un aumento de la hidrofiliidad del material. O sea, un aumento de cadenas de poliacetato de vinilo (PACV) en el copolímero llevan a un aumento de la hidrofiliidad del material.

Este aumento en la hidrofiliidad puede deberse a que en el PHB hay átomos de hidrógeno unidos a carbonos terciarios que son sustituidos por PACV en el polímero injertado, lo que da lugar a un material con un mayor número de grupos éster en la cadena injertada, que además tienen la ventaja de estar más libres para una posible interacción con moléculas de agua ya que se encuentran en las cadenas laterales (ver Figura 1 a).

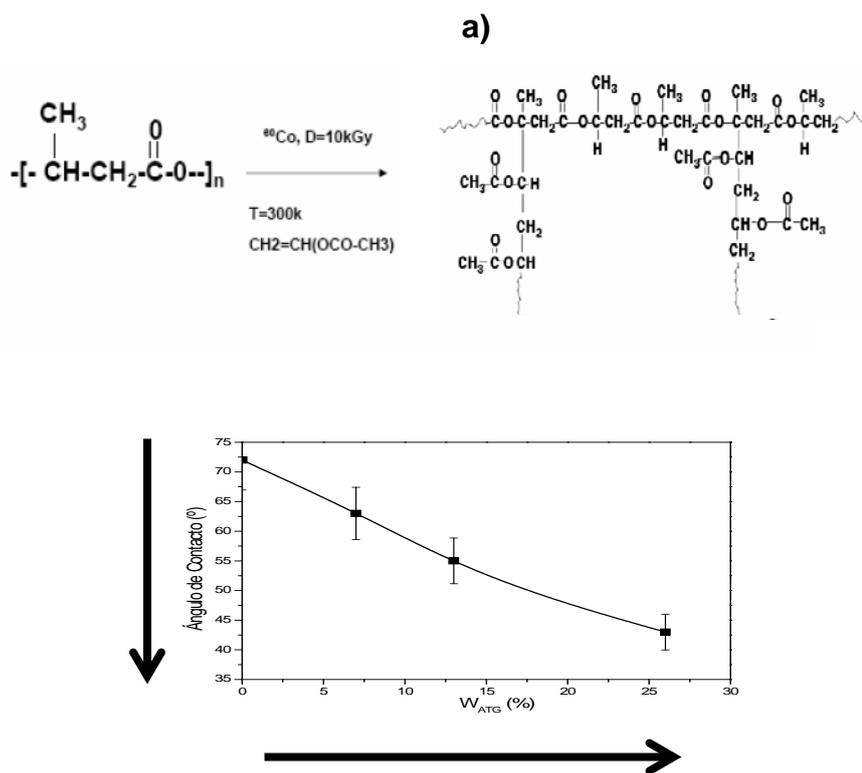
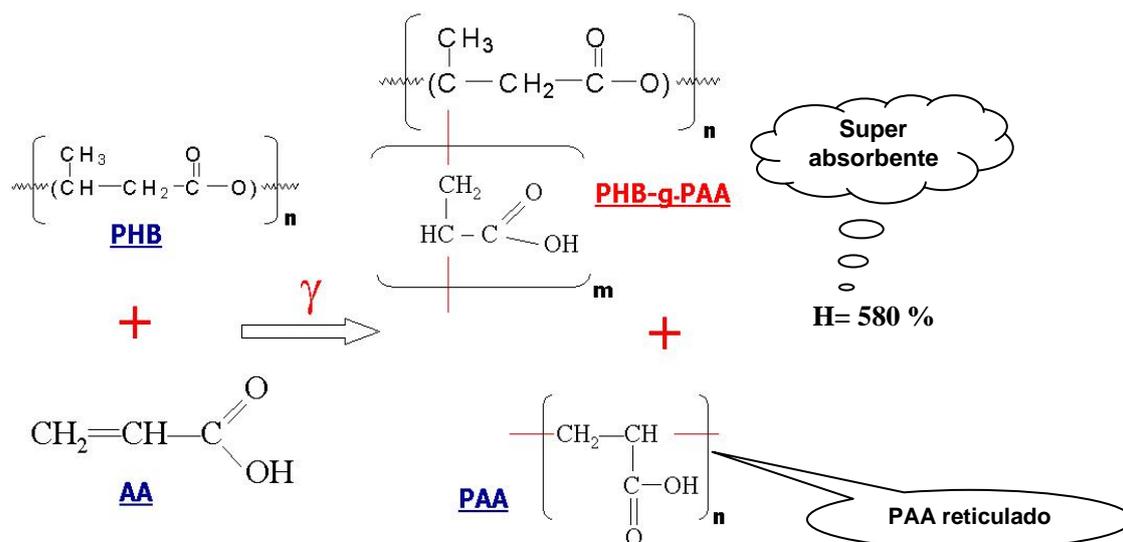


Figura 1 a) Esquema de la reacción de obtención del copolímero PHB – g – PAcV [16-17] b) Variación del ángulo de contacto con respecto al grado de injerto. [19-20]

Obtención de un hidrogel

Los hidrogeles son definidos como materiales poliméricos entrecruzados en forma de redes tridimensionales. Redes poliméricas que tienen la propiedad de retener grandes cantidades de agua en su estructura hinchada sin disolverse o perder su estructura tridimensional. [21-23]

En este trabajo se destaca la obtención de una red polimérica semi-interpenetrada del poliácido acrílico (PAA) y el PHB: (s-IPN/PAA-PHB). [24-26] Se polimerizó el ácido acrílico (AA) en presencia de PHB (relación en masa de AA / PHB = 6) bajo la acción de las radiaciones ^{60}Co en una Instalación de irradiación autoblandada PX- γ -30 (Mayak, URSS) con una dosis de irradiación de 10 kGy, en ausencia de oxígeno y sin ningún otro aditivo. En la Figura 2 a) se muestra el esquema de la obtención de la red. La red (s-IPN/PAA-PHB), es evaluada como un hidrogel superabsorbente, por lo que tiene características altamente hidrofílicas



a)

	H_{∞}	Velocidad inicial de hinchamiento
Experimental	580	102 ± 11
Modelo de Schott	599	111

b)

Figura 2 a) Esquema de la obtención de un hidrogel superabsorbente [24]
b) Tabla I Parámetros cinéticos del proceso de hinchamiento [24-26]

Las evidencias de la reacción de injerto observadas en el esquema de la Figura 2 a) (PHB-g-PAA) se estudiaron en experimentos independientes [24] donde se utilizó 2.5 % de sal de Mohr para prevenir la homopolimerización del AA y los productos fueron caracterizados por espectroscopías RMN ^1H y ^{13}C . En ausencia de la sal de Mohr se obtuvo la red s-IPN/PAA-PHB superabsorbente. El AA polimerizó y reticuló por la acción de las radiaciones γ y en presencia del PHB se formó la red semi interpenetrada. Por análisis gravimétrico y termogravimétrico se determinó la composición de la red: 10% PHB-90% PAA. Es evidente que en esta red las características hidrofílicas se deben fundamentalmente a la participación del PAA y las propiedades mecánicas están determinadas en gran medida por el PHB.

El estudio cinético del hinchamiento en agua del hidrogel obtenido se realizó aplicando el Modelo de Schott, o sea, se considera que en el caso de las matrices poliméricas que poseen grandes valores de hinchamiento, este es gobernado por el estrés de la relajación de las cadenas macromoleculares y se aplica la cinética de hinchamiento de 2do orden. En la Tabla I de la Figura 2 b) se observa la satisfactoria coincidencia de los valores experimentales con los correspondientes al Modelo de Schott. [24-26]

Reacción de transesterificación

En general estas reacciones corresponden a las reacciones de un éster con un alcohol, con un ácido o con otro éster, formando un nuevo ligando éster y eliminando el correspondiente alcohol, ácido o éster. [27-28] En este trabajo nos referiremos a la reacción de transesterificación del PHB con la familia de propilenglicoles: propilenglicol (PG), dipropilenglicol (DPG) y polipropilenglicol de $\overline{Mn}=400$ (PPG). En todos los casos se busca obtener el PHB hidroxilado, o sea, con grupos finales hidroxilo que harán al material más hidrofílico. En la Figura 3 a) se muestra el esquema del PHB hidroxilado con PG. [29]

La reacción se estudió con la relación de masa: $m(\text{PHB/glicol}) = 0,28$ y en presencia y ausencia del catalizador (ácido p-toluensulfónico 0,25 % en masa). El sistema es homogéneo. La utilización de calentamiento en equipos de microondas (MW) [30] es muy conveniente en el trabajo con el PHB, pues a temperaturas ligeramente superiores a su temperatura de fusión ($T_m=178\text{ }^\circ\text{C}$) es conocido que el PHB comienza a degradarse [31] y esta reacción de transesterificación necesita temperaturas de ese rango. La radiación de MW interactúa directamente con las moléculas presentes en la mezcla de reacción y como consecuencia se produce un supercalentamiento localizado y a diferencia del calentamiento convencional, el gradiente térmico durante el calentamiento por microondas es en sentido opuesto al provocado por conducción/convección, detectándose la mayor temperatura en el interior de la muestra. Así, se necesita menos tiempo para lograr el mismo objetivo con el calentamiento por MW que con el convencional por conducción/convección. Por esta razón se utilizó calentamiento por MW (750 W de potencia) durante 30 minutos y calentamiento tradicional con baño de silicona a $180\text{ }^\circ\text{C}$ durante 3 horas, como comparación [30].

Se probó que los mejores resultados se obtienen con la utilización de MW como fuente de energía y en presencia del catalizador, pues fue caracterizado por técnicas espectroscópicas en esa reacción con el PG, una mezcla de 70 % de PHB hidroxilado/30% PHB y un ángulo θ de 50 ° . Con el calentamiento convencional no se logró el PHB hidroxilado en ese tiempo de reacción.

En la Figura 3 b) se muestra un gráfico del comportamiento de esta familia, donde se observa una disminución de los ángulos de contacto o sea, aumento de la hidrofiliidad, así como un comportamiento semejante de los glicoles estudiados.

Modificaciones hidrofílicas en la superficie

➤ Implantación de iones por irradiación con haces de iones

La implantación de iones es un método físico utilizado para modificar superficies sólidas, el cual tiene como ventaja que puede modificar los materiales solo superficialmente, sin causar daños ni variaciones en las propiedades del material en su interior [32]. Los iones son acelerados por una

diferencia de potencial y proyectados hacia la superficie del material donde se produce la interacción de dos partículas, una de ellas con un exceso de energía, dando lugar a dos nuevas partículas, con una respectiva liberación de energía producto de la interacción. Entre los efectos de la irradiación sobre los materiales implantados se tiene un aumento del número de grupos polares en la superficie, ya que al irradiar se crean especies excitadas, las cuales se combinan con el oxígeno atmosférico formando enlaces polares en la superficie que permiten la existencia de interacciones por puente de hidrógeno con el agua. También la presencia de los iones implantados cercanos a la superficie, aumenta la hidrofiliidad del material irradiado.

Las modificaciones superficiales de materiales poliméricos para aplicaciones biomédicas son también importantes [11]. Estas transformaciones cobran importancia cuando el polímero se pone en contacto con componentes fisiológicos tales como la sangre y los tejidos vivos [12].

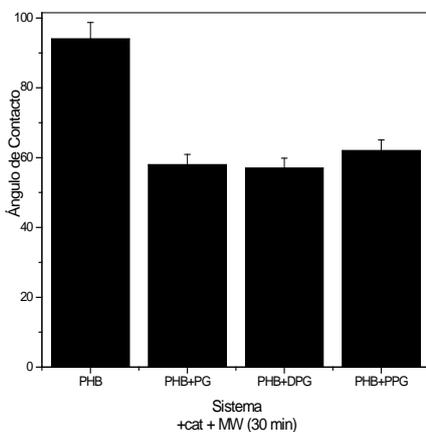
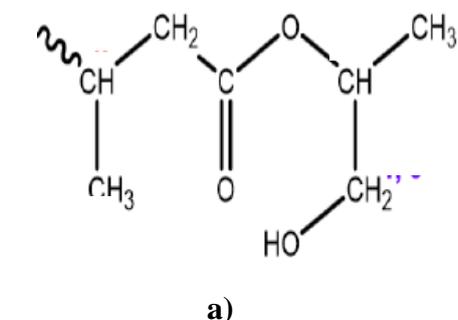


Figura 3 a) Esquema de PHB hidroxilado con PG [29] b) Disminución de θ del PHB hidroxilado [29]

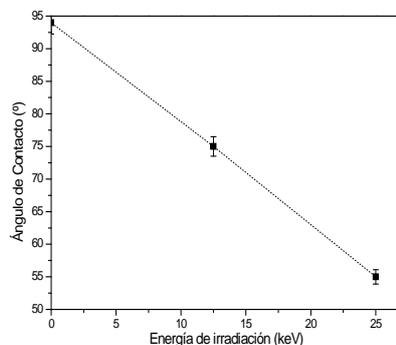
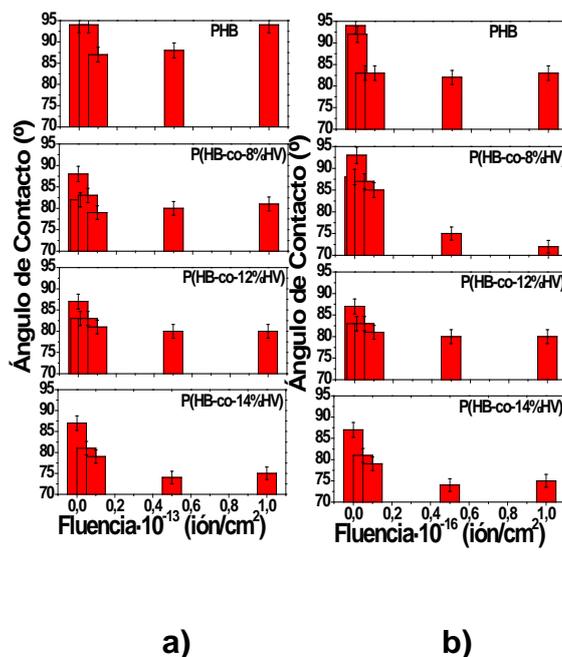
En los últimos años, la implantación de iones ha sido satisfactoriamente empleada en polímeros para mejorar su compatibilidad con la sangre y con los tejidos del organismo [33-34].

En el presente trabajo se reportan resultados en una familia de PHAs de cadena corta, el PHB y algunos copolímeros con el hidroxivalerato (HV). [19] Fueron irradiados filmes de 1cm^2 ($30\text{-}80\ \mu\text{m}$) de PHAs, dispuestos de forma perpendicular respecto al haz de iones a implantar. Las energías de bombardeo de las superficies y las fluencias fueron:

- a) H^+ , fue irradiado con una energía de $300\ \text{keV}$, las fluencias oscilaron entre 10^{11} y $5 \cdot 10^{13}$ iones/ cm^2 .
- b) Ag^+ , fue irradiado con una energía de $20\ \text{keV}$, las fluencias oscilaron entre 10^{14} y 10^{16} iones/ cm^2 .
- c) Na^+ , las energías de irradiación fueron $12,5\ \text{keV}$ y $25\ \text{keV}$ a una fluencia de $5 \cdot 10^{15}$ iones/ cm^2 .

Se utilizó el equipo Implantador de $500\ \text{keV}$ de la Universidad Federal de Río Grande del Sur (UFRGS), Brasil y el rango de intensidades utilizado fue de $50\text{-}70\ \text{nA/cm}^2$.

En la Figura 4 a) y b) se observan los resultados obtenidos con la irradiación de haces de H^+ y Ag^+ .

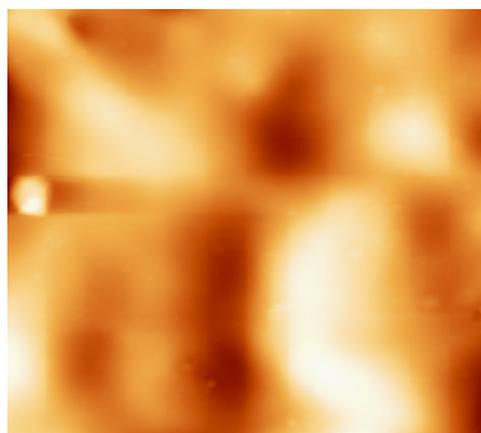
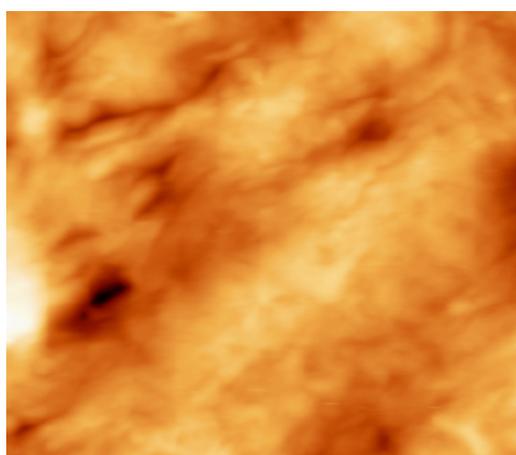


c)

Figura 4 Variación del ángulo de contacto con el PHA y con la fluencia a) Muestras irradiadas con H⁺ 300 keV b) Muestras irradiadas con Ag⁺ 20 keV c) Variación del ángulo de contacto en el PHB al ser irradiado con Na⁺ de diferente energía [19]

Se logra en todos los casos una disminución del ángulo de contacto y con ello un aumento de la hidrofiliidad con el aumento de la fluencia y este efecto es más marcado en los copolímeros que en el PHB, así como con la implantación de iones Ag⁺. Las muestras irradiadas fueron caracterizadas por diferentes técnicas: Microscopía de Fuerza Atómica (MFA), Difracción de Rayos X (DRX) e Infrarrojo (FTIR). En los análisis por MFA se observaron las topografías de las muestras, las imágenes superficiales tridimensionales y las líneas del perfil de la superficie (Figura 5). En el caso de la topografía de la muestra sin irradiar se observaron estructuras laminares, características de polímeros semicristalinos, como son los PHAs y éstas desaparecieron en las muestras irradiadas. Los análisis de DRX corroboraron la disminución de la cristalinidad. El grado de cristalinidad, X_c, determinado por DRX para la muestra de P(HB-co-8%HV) irradiada con iones H⁺ variaron de $33,9 \pm 0,6$ a $29,1 \pm 0,2$ % y también los análisis de los índices de cristalinidad determinados por FTIR permiten corroborar la disminución de la cristalinidad en las muestras irradiadas. Es de destacar también que estos resultados son reportados para otros materiales poliméricos irradiados [32]. Otro efecto que muestra que las superficies fueron dañadas por la implantación que se observa en la MFA es el aumento de la rugosidad de las superficies después de irradiadas. Las líneas del perfil muestran de una forma más explícita la variación en la superficie del polímero, se observa cómo en el material sin irradiar el valor de la altura superficial oscila entre 0 y 50 nm y en el irradiado entre 0 y 120 nm, mostrando una mayor rugosidad en el material tratado (Figura 5).

Esta mayor rugosidad, se traduce en una mayor área superficial, lo cual explica la disminución en el ángulo de contacto y como resultado el aumento de la hidrofiliidad.



b)



Figura 5:[19] Imágenes por MFA y líneas del perfil del experimento de irradiación con iones Ag^+ :

a) P(HB-co-12%HV) sin irradiar

b) P(HB-co-12%HV) irradiado

En la Figura 4 c) se observa el efecto de la irradiación con Na^+ a diferentes energías de muestras de PHB. Es de destacar la notable disminución en el ángulo de contacto del PHB, material que prácticamente no experimentaba variación en los casos anteriores. Debe esperarse entonces un mayor descenso del ángulo de contacto de los copolímeros al ser irradiados con Na^+ . Si se comparan los experimentos de implantación por irradiación con haces de iones podemos notar que la mayor disminución en el ángulo de contacto se obtiene al irradiar con Na^+ , seguido del experimento con Ag^+ y por último con H^+ , en el que se observa una disminución muy pequeña de los ángulos de contacto. En todos los casos los materiales obtenidos son más hidrofílicos.

Conclusiones

Los poliésteres microbianos estudiados en este trabajo son biocompatibles biodegradables y moderadamente hidrofóbicos. Tienen propiedades únicas y son muy buenos candidatos para aplicaciones biomédicas. Sin lugar a dudas, juegan un importante papel en el desarrollo de biomateriales de segunda y tercera generación, especialmente en áreas biomédicas.

En el presente trabajo se han recopilados los estudios de modificaciones hidrofílicas de estos materiales, desarrollados por un grupo del laboratorio de Polímeros del IMRE con colaboración internacional, enmarcado en los últimos 7 años.

Como se ha mostrado, diferentes técnicas se han aplicado, desde reacciones químicas de copolimerización por injerto y obtención de redes interpenetradas con propiedades superabsorbentes, utilizando radiaciones ionizantes, y también, reacciones de transesterificación para obtener PHAs hidroxilados utilizando entonces energía de microondas. En todos los casos las transformaciones hidrofílicas fueron exitosas, modificando esta propiedad que puede constituir una dificultad para su aplicación biomédica.

También se han estudiado transformaciones hidrofílicas superficiales que presentan gran importancia para no modificar las características fundamentales de los materiales y sin embargo mejorar su interacción con el organismo vivo. Se han utilizado haces de iones. Los resultados son satisfactorios fundamentalmente con haces de iones Na^+ .

Estudios futuros deben enfocar como el incremento de la hidrofiliidad de estos materiales incrementan sus propiedades de biodegradación y biocompatibilidad en vivo. Es también una propuesta desarrollar transformaciones hidrofílicas superficiales en estos poliésteres microbianos utilizando radiaciones UV.

Agradecimientos:

Agradecemos al Proyecto “Modificaciones hidrofílicas del polihidroxitirato” Proyecto Básico del IMRE-UH, al Proyecto “Modificación y Análisis de Materiales novedosos con Haces de Iones” CNPq-MES y al Proyecto “Injertos Radioinducidos de polímeros hidrofílicos en el polihidroxitirato” CEADEN (AEN)-IMRE, por hacer posible la realización de este trabajo.

Referencias bibliográficas

- [1] Doi Y., Sudes, k., Molecular Design and Biosynthesis of Biodegradable Polyesters. *Polymers for Advanced Technologies* 2000; 11:865-72
- [2] Lenz, R., Marchessault, R., Bacterial Polyesters: Biosíntesis, Biodegradable Plastics and Biotechnology. *Biomacromolecules REVIEWS* 2005; 6(1):1-8
- [3] Rozsa, Ch., Estudios en una familia de poliésteres microbianos: Polihidroxicanoatos. Tesis Dr. en Ciencias Químicas, UH, 2009; 7-9
- [4] Burcu H., D., Kiliçay, E., Hazer, B., Poly(3-hydroxyalkanoate)s: Diversification and biomedical applications. A state of the art review. *Materials Science and Engineering C* 2012; 32: 637-47
- [5] Kim, D. Y., Kim, H. W., Chung, M. G., Rhee, Y. H. , Biosynthesis, Modification and Biodegradation of Bacterial Medium-Chain-Length Polyhydroxyalkanoates. *The Journal of Microbiology, REVIEWS* 2007; 45(2): 87-9
- [6] Gursel. I, Yagmurlut. F, Korkusuz. F, y Hasirci. V. In vitro antibiotic release from poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) rods. *J Microencapsulation*, 2002; 19(2):153–64
- [7] Chen. G, Wu. Q. The application of polyhydroxyalkanoates as tissue engineering materials *REVIEW, Biomaterials* 2005; 26: 6565–78
- [8] Asrar, J., Valentin, H. E., Berger, P.A., Tran, M., Padgette, S. R., Garbow, J. R. Biosynthesis and Properties of Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) Polymers. *Biomacromolecules* 2002; 3: 1006-12
- [9] Torun, G., Osea, K., Kenar, H., Hasirc, N., Hasirci, V. Macroporous poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)matrices for bone tissue engineering. *Biomaterials* 2003; 24: 1949-58

- [10] Tesema, Y, Raghavan, D., Stubbs, J. Bone Cell Viability on Collagen Immobilized Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) Membrane: Effect of Surface Chemistry. *Journal of Applied Polymer Science* 2004; 93: 2445-53
- [11] Grøndahl, L., Chandler-Temple, A., Trau, M. Polymeric Grafting of Acrylic Acid onto Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate): Surface Functionalization for Tissue Engineering Applications. *Biomacromolecules* 2005; 6:2197-203
- [12] Hu, S.-G., Jou, C.-H., Yang, M.-C. Antibacterial and Biodegradable Properties of Polyhydroxybutyrate Grafted with Chitosan and Chitooligosaccharides via Ozone Treatment. *Journal of Applied Polymer Science* 2003; 88: 2797-803
- [13] Schukin, E.D., Pertsov, A.V., Amiélina, E.A. *Química Coloidal*. Ed. Mir, Moscú, URSS 1988:107-117
- [14] Atkins, P., Paula, J. *Atkins' Physical Chemistry*. W. H. Freeman and Company, New York, E. U. 2006:153 - 4
- [15] Sáez V., Hernández E. y Sanz L. Liberación controlada de fármacos. Hidrogeles. *Revista Iberoamericana de Polímeros*. 2003; 4 (1): 21-91
- [16] González, M., Síntesis y caracterización química-física del poli(3-hidroxybutirato-g-acetato de vinilo), obtenido por copolimerización de injerto inducida por radiaciones. Tesis de Maestría en Ciencias y Tecnología de Materiales, IMRE-UH, 2006
- [17] González, M., Ortíz, P., Galego, N., Rapado M. Radiation-induced graft polymerization of vinyl-acetate onto poly (3-hydroxybutyrate). *International Journal of Polymer Analysis and Characterization*. 2008; 13(5): 376 –92
- [18] González, M., Ortíz, P., Rapado, M., Galego, N. Effect of Solvents on Gamma Radiation Induced Graft Copolymerization of Vinyl Acetate onto Poly (3-hydroxybutyrate) *International Journal of Polymer Analysis and Characterization*. 2009; 14(3): 231-45
- [19] Santos, B., Rozsa, Ch., Galego, N., Michels, A. F., Behar, M., F. C. Zawislak Hydrophilic transformations into Polyhydroxyalkanoates. *International Journal of Polymer Analysis and Characterization*. 2011; 16: 431-44
- [20] Santos, B., Rozsa, Ch., Galego, N. Algunos aspectos que influyen sobre la reacción de copolimerización por injerto radioinducida del PAcV en el PHB. *Revista Iberoamericana de Polímeros*. 2013; 14(2): 92-100
- [21] Jabbari E. and Nozari S. Swelling behavior of acrylic acid hydrogels prepared by γ -radiation crosslinking of polyacrylic acid in aqueous solution. *European Polymer Journal*. 2000; 36: 2685-92
- [22] Escobar J., García D., Valerino A. y cols. Influencia de la temperatura y la composición de los copolímeros sobre el proceso de hinchamiento en hidrogeles de poli-(N-isopropilacrilamida-co-N,N,dimetilacrilamida). *Revista Iberoamericana de Polímeros*. 2003; 4 (4): 1-13

- [23] Satish CS. and Shivakumar HG. Dynamic swelling and in Vitro release of insulin from semiinterpenetrating polymer networks of poly(vinyl alcohol) and poly(methacrylic acid). *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2007; 1: 58-63
- [24] Paredes M. Modificación del sistema polihidroxitirato/ácido acrílico (PHB/AA) mediante radiaciones gamma. Tesis de Maestría en Química. Facultad de Química-UH, 2009.
- [25] Paredes M., Galego N., Rapado, M. Gastón, C. Altanés, S. Barreras, G. Evaluación de las características térmicas y de la cinética de hinchamiento de una red polimérica semi-interpenetrada obtenida mediante radiaciones gamma. *Revista Cubana de Química*, 2009; 21(3): 76-81
- [26] Paredes M., Galego N., Rapado, M. Gastón, C. Altanés, S. Synthesis and characterization of a new semi-interpenetrating polymer network hydrogel obtained by gamma radiations. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 2011;106:725-730
- [27] Smith, M.B., March, J., *March's Advanced Organic Chemistry, Reactions, Mechanisms and Structure*. Wiley-Interscience A John Wiley & Sons. 2007: 1419-21
- [28] Otera, J. and Nishikido, J., *Esterification. Methods, Reactions and Applications*. Wiley-VCH Verlag GMBH&Co. 2010: 67, 86, 95
- [29] Santos, B. Modificaciones hidrofílicas en los polihidroxicanoatos. Tesis de Diploma. Facultad de Química-UH, 2010
- [30] Lidström, P., Tierney, J., Wathey, B. and Westman, J. Microwave assisted organic synthesis – a review. *Tetrahedron report number 589*. *Tetrahedron*, 2001; 57:9225-83
- [31] N. Galego, Ch. Rozsa, Thermal decomposition of some poly (β -hydroxyalkanoates). *Polymer International* 1999; 48:1202-1204
- [32] Fink, D., *Fundamentals of Ion-Irradiated Polymers*. Springer-Verlag 2004:11, 25-26, 35-37
- [33] Zhang, D. M., Cui, F.Z., Luo. Z. S, Lin, Y. B., Zhao, K., Chen, G.Q., Wettability improvement of bacterial polyhydroxyalkanoates via ion implantation. *Surface and Coatings Technology*. 2000; 131:350-54
- [34] Nakao, A., Suzuki, Y., Iwaki, M. Water Wettability and Zeta-Potential of Polystyrene Surface Modified by Ne or Na implantation. *Journal of colloid and interface science*. 1998; 197: 257-62

Autores:

Dra.C. Norma Galego Fernández

Dra. Profesora Titular
Profesora Consultante
Facultad de Química-IMRE-UH, Cuba
e-mail: norma@imre.oc.uh.cu, norma@fq.uh.cu

Dra.C. Chavati Rozsa Galego

Dra. Profesor Titular,
Facultad de Química-IMRE-UH, Cuba
e-mail: chavati@imre.oc.uh.cu, chavati@fq.uh.cu

Beatriz Santos Carballal

Estudiante de Dr. Departamento de Biología, Biotecnología y Nanobiotecnología,
Universidad de Münster Alemania
e-mail: betty3sca@gmail.com

Dr.C. Maykel González Torres

Doctor Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) México
e-mail: mikegcu@gmail.com

MsC. Mayté Paredes Zaldívar,

Investigadora. Departamento de Química Física
Universidad del Estado de São Paulo, Brasil
e-mail: mayte.paredeszaldivar@gmail.com

Dr.C. Alexander F. Michels,

Profesor Instituto de Física,
Universidad Federal de Río Grande del Sur (UFRGS), Porto Alegre, Brasil
e-mail: michels@if.ufrgs.br

Dr.C. Moni Behar

Profesor Instituto de Física,
Universidad Federal de Río Grande del Sur (UFRGS), Porto Alegre, Brasil

*Presentado: 11 de diciembre de 2013
Aprobado para publicación: 29 de mayo de 2014*