

ANÁLISIS MORFOLÓGICO COMPARATIVO DE HIDROGELES COPOLÍMEROS POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

C. Urbina de Navarro^a, M. Ramírez^b, G. Bolívar^b, R. Rodríguez^c, D. Contreras^c, A. Ramírez^c, J .L. Prin^c, B. Rojas de Gáscue^{c*}

^aUniversidad Central de Venezuela. Centro de Microscopía Electrónica “Dr. Mitsuo Ogura” Facultad de Ciencias-UCV

^bUniversidad de los Andes. Grupo de Polímeros, La Hechicera, Mérida.

^cUniversidad de Oriente. Instituto de Investigaciones en Biomedicina y Ciencias Aplicadas, IIBCA-UDO, Apdo. Postal 245, Cerro del Medio, Av. Universidad. Cumaná, Estado Sucre, Venezuela.

*Autor de correspondencia, E-mail: blanca gascue@yahoo.com. telefax.: +58 (0293)4521297

Recibido: Julio 2010. Aprobado: Febrero 2016.

Publicado: Junio 2016.

RESUMEN

En este trabajo se estudió la morfología de hidrogeles obtenidos a partir de copolímeros de poli(acrilamida-co-ácido acrílico), poli(AAm-co-AAc) y de poli(acrilamida-co-ácido itacónico), poli (AAm-co-AI) por Microscopía Electrónica de Barrido (MEB). Para su caracterización se emplearon tres métodos diferentes: liofilización, secado por punto crítico (SPC) e hidrogeles hidratados en un MEB de presión variable. Los hidrogeles liofilizados revelaron un mayor tamaño para los copolímeros de poli(AAm-co-AI), (1-36 μm) en comparación con los de poli (AAm-co-AAc), (0,5-7 μm). Por su parte, mediante SPC el hidrogel de poli(AAm-co-AAc) presentó una alta frecuencia de tamaños de poro de 2,5 μm (23%), seguido de tamaños entre 1,7 μm y 3,33 μm ; mientras que el hidrogel de poli (AAm-co-AI) alcanzaba tamaños de poros comprendidos entre 17 y 37 μm . Finalmente, la caracterización en un MEB de presión variable de los hidrogeles, luego de permanecer 24 h en agua destilada, evidenció poros de tamaño heterogéneo. Cuando los copolímeros de poli (AAm-co-AAc), se sometieron a un ambiente 100% de humedad, dentro del mismo MEB, se observó que a medida que se sublima el agua de la superficie del hidrogel (-10°C) se desarrolla una morfología de vesículas o ampollas, que terminan rompiéndose formando grandes poros que oscilan entre 30 y 60 μm . Los resultados obtenidos demostraron que la cinética de absorción del fluido por parte de los hidrogeles no solo depende de la estructura química del hidrogel, sino que el ambiente y el nivel de humedad al que sea sometido son determinantes.

Palabras claves: Copolímeros hidrogeles, morfología, MEB de presión variable

COMPARATIVE MORPHOLOGICAL ANALYSIS OF COPOLYMERS HYDROGELS BY SCANNING ELECTRON MICROSCOPY

ABSTRACT

In this work the morphology of hydrogels obtained from poly (acrylamide-co-acrylic acid), poly (AAm-co-AAc) and poly (acrylamide-co-itaconic acid), poly (AAm-co-AI) was studied by Scanning Electron Microscopy (SEM). For characterization three different methods were used: Freeze drying, critical point (SPC) and variable pressure SEM in hydrated hydrogels. Lyophilized hydrogels revealed a larger size for poly (AAm-co-AI) copolymers, (1-36 microns) compared to the poly(AAm-co-AAc) (0,5-7 microns). Moreover, through SPC the poly(AAm-co-AAc) hydrogel showed high frequency pore size of 2.5 microns (23%), followed by size between 1.67 microns and 3.33 microns; while the poly (AAm-co-AI) hydrogel reached pore sizes between 14 and 38 microns. Last, characterization by variable pressure SEM of hydrogels, after remaining 24 h in distilled water, showed heterogeneous pore size. When poly (AAm-co-AAc) copolymer were subjected to 100% humidity atmosphere “in situ” (in the SEM), it was found that, as the water of the hydrogel surface is sublimated, vesicle or blister morphology was develops, breaking ending, forming large pores ranging from 30 and 60 microns. The results obtained showed that the kinetics of absorption of fluid by the hydrogel depends, not only on the chemical structure of the hydrogel, but the atmosphere and the humidity level which is subjected are decisive.

Keywords: Copolymers, hydrogels, morphology, variable pressure SEM.

INTRODUCCIÓN

La observación de una muestra mediante Microscopía Electrónica de Barrido convencional (MEB) exige que la misma cumpla con ciertas propiedades, entre ellas, la de ser conductora y deshidratada [1,2].

En el caso de muestras como los polímeros hidrogeles además de ser inestables frente a la irradiación con el haz de electrones, ellas contienen una cantidad importante de agua, lo cual aumenta su inestabilidad estructural para ser observada en la cámara de alto vacío del MEB. Se han reportado diferentes métodos para secar una muestra a ser observada en el microscopio electrónico de barrido [1-3], entre ellas están la de secado mediante punto crítico y secado por congelamiento. Una tercera opción es estudiar la muestra en un Microscopio electrónico de barrido en el cual la cámara de la muestra esté en un vacío bajo impidiendo, de esta manera, la deshidratación de la misma [4]. En el presente trabajo se estudiaron redes expandibles de polímeros utilizando dos métodos diferentes de preparación para su observación en el MEB convencional y, además, se observaron las muestras en un MEB de presión variable.

Los polímeros hidrogeles o, de redes expandibles en agua, se pueden definir como materiales poliméricos entrecruzados que forman una red tridimensional de origen natural o sintético la cual en contacto con el agua aumenta considerablemente su volumen, formando materiales blandos y elásticos. Los hidrogeles se han venido obteniendo a partir de copolímeros que poseen una gran elasticidad al entrar en contacto con el agua y una alta capacidad de hidratarse, lo que se evidencia por el hinchamiento que se genera en el polímero al ser solvatado por el líquido [5,6].

El grado de hinchamiento indica la capacidad de almacenar líquido del hidrogel, y esta característica es muy importante ya que le confiere a estos materiales la propiedad de ser superabsorbentes permitiéndoles retener una mayor y diversa cantidad de líquidos, y ser utilizados

en aplicaciones tales como pañales, fármacos y dispositivos de liberación controlada [7].

El promedio de tamaño de poro, la distribución de su tamaño y las interconexiones son factores importantes en el área de la liberación de fármacos. Se ha reportado que la liberación es controlada por la relación entre el tamaño de poro y el tamaño de la molécula del fármaco, así como el tipo y la fuerza de las interacciones entre éste y las cadenas que componen la red del hidrogel [8], de allí la importancia de estudiar y comparar parámetros como el diámetro de poro en estos materiales. En trabajos previos [9-12] se ha estudiado el efecto de las condiciones de síntesis en esos parámetros, pero, el aporte del presente trabajo consiste en el estudio comparativo de la porosidad que se desarrolla en polímeros hidrogeles, en función del método de preparación de muestras que se aplique para su observación por MEB.

MATERIALES Y MÉTODOS

Síntesis de los hidrogeles

Se sintetizaron geles a partir de copolímeros de poli(acrilamida-co-ácido acrílico), poli(AAm-co-AAc), y de poli(acrilamida-co-ácido itacónico), poli(AAm-co-AI). Para la obtención de los copolímeros se pesaron las cantidades necesarias de los monómeros para ser mezclados en las proporciones 100/0, 90/10, 65/35 y 60/40. Se utilizó 1% del agente entrecruzante (N,N'-metilenbisacrilamida) y 0,5% del iniciador. La síntesis se llevó a cabo en medio acuoso a 60°C, adicionando inicialmente los monómeros y el agente entrecruzante al medio de reacción. Posteriormente, bajo una purga de N₂ se adicionó el iniciador.

Los hidrogeles obtenidos se cortaron en forma de discos los cuales se colocaron en agua desionizada para su purificación. Luego fueron deshidratados a temperatura ambiente hasta que alcanzaran su estado seco (de xerogel) (Figura 1).



Fig. 1. Hidrogeles de poliAAm en forma de discos en estado seco e hidratado

Estudio de los Hidrogeles por MEB

Para la caracterización de los polímeros hidrogeles se emplearon tres métodos diferentes, los cuales se describen brevemente a continuación.

1. Estudio morfológico de hidrogeles mediante Liofilización

Esta técnica consiste en deshidratar un material convirtiendo primero el agua en hielo para luego sublimarla a baja temperatura y alto vacío [13, 14]. Después de su purificación los hidrogeles sintetizados fueron deshidratados hasta que alcanzaron su estado de xerogeles, dejándolos secar a temperatura ambiente durante una semana. Posteriormente, se introdujeron en nitrógeno líquido por espacio de 5 minutos. Luego fueron fracturados con una cuchilla previamente enfriada a la misma temperatura; obteniéndose diferentes porciones del xerogel inicial (ahora en estado criogénico se le denomina criogel), las cuales fueron separadas en dos grupos: a) Los que serían estudiados en su estado inicial de xerogel y b) los que serían estudiados en su estado de hinchamiento en equilibrio (W_{∞}) [15-17]. Para los hidrogeles hinchados, el tratamiento de las muestras implicó un liofilizado mediante un equipo marca *Labco*, para eliminar el agua contentiva en los retículos de la red polimérica.

2. Estudio morfológico de hidrogeles mediante secado por punto crítico

Esta técnica consiste en deshidratar un material basado en el concepto de que para un gran número de líquidos, dos de sus fases están en equilibrio y no existe interfase entre ellas, por lo que no hay tensión superficial: esto ocurre a

ciertos valores de presión y temperatura y es conocido como el punto crítico [13, 14].

A fin de estudiar mediante MEB los cambios estructurales del hidrogel generados después de la hidratación, se procedió de la siguiente manera: el hidrogel purificado y secado se sometió a hinchamiento en agua destilada durante 24 h, hasta su equilibrio fisicoquímico, luego fue deshidratado lentamente en soluciones agua/etanol 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60% y 70% dejándolo 25 min. en cada solución [18, 19]. Estas condiciones han sido optimizadas en función de la composición del hidrogel [19].

Una vez culminado este proceso, la muestra fue procesada, con la finalidad de deshidratar la muestra sin modificar su estructura, en un secador de punto crítico marca Hitachi, donde se hicieron lavados sucesivos con CO_2 . Luego fue adherida a un portamuestras de aluminio mediante una cinta conductora y cubierta al vacío con cromo en un evaporador de alto vacío marca Hitachi. Finalmente, la muestra así preparada fue analizada en un Microscopio Electrónico de Barrido marca Hitachi, con filamento de emisión de campo. La estimación del tamaño de los poros se realizó con base a 100 medidas.

3. Estudio morfológico de hidrogeles hidratados en un MEB de presión variable

En este caso los hidrogeles se estudiaron en un MEB de presión variable marca FEI. Este equipo permite variar la presión en la cámara de la muestra y además es posible introducir, de manera controlada, presión de vapor de agua.

Para el estudio de los polímeros hidrogeles utilizando un MEB de presión variable se trabajó de dos maneras: una porción de la muestra se observó después de someterla a inmersión acuosa por 24 h. Y otra porción del hidrogel seco se colocó en el MEB y la cámara de muestra se llevó a 100% de humedad durante 30 min.

Para el estudio de los polímeros hidrogeles utilizando un

MEB de presión variable se trabajó de dos maneras: una porción de la muestra se observó después de someterla a inmersión acuosa por 24 h.

Otra porción del hidrogel seco se colocó en el MEB y la cámara de muestra se llevó a 100% de humedad durante treinta minutos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudio por MEB a partir de hidrogeles liofilizados

El estudio morfológico de los copolímeros hidrogeles mediante este tratamiento implicó ciclos de congelación- evaporación, para eliminar la totalidad del agua libre contenida en el sistema. En la Figura 2 se muestran las imágenes obtenidas para los hidrogeles de poli(AAm-co-AAc) (Figura 2a) y de poli(AAm-co-AI) (Figura 2b).

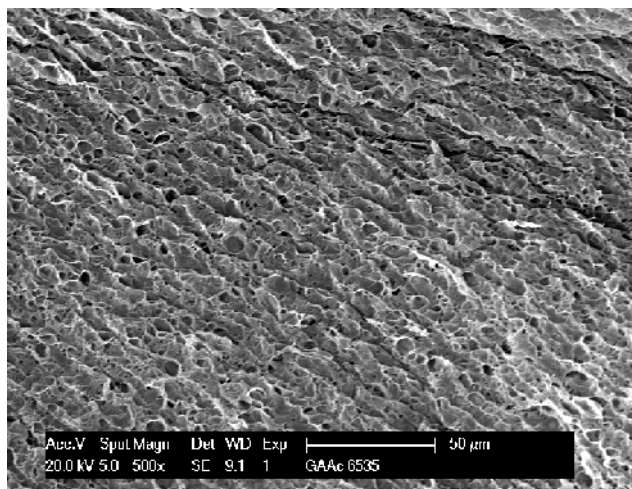
Los resultados demostraron un mayor tamaño en el reticulado de los hidrogeles de poli(AAm-co-AI) (1-36 μm) en comparación con los geles de poli(AAm-co-AAc) (0,5-7 μm), tal como lo revelan los histogramas de frecuencia obtenidos a partir de las micrografías MEB. (Figura 3) Los histogramas reflejaron también que la distribución del tamaño de los poros es más homogéneo para los hidrogeles de poli(AAm-co-AAc); con el comonomero AI, se generó una amplia distribución en el tamaño de poro (Ver histograma de la Figura 3b). Esta diferencia en el tamaño del reticulado final, puede justificarse por la estructura molecular del ácido itacónico empleado, donde la flexibilidad generada por el grupo CH_2 vecino al grupo ácido favorece su capacidad de interacción [5,7].

Estudio por MEB de un hidrogel secado por punto crítico (SPC).

El secado mediante punto crítico de los hidrogeles permitió observar una estructura definida en forma de malla en el hidrogel de poli (AAm-co-AAc) (Figura 4a). Mientras que en el hidrogel de Poli (AAm-co-AI) se volvieron a revelar los grandes poros que posee (comparar en la Figura 4 las magnitudes de las micromarcas).

El análisis morfológico reveló también que en el copolímero con AI los poros están interconectados, aspecto que revelaron ambas técnicas (liofilizado y SPC). Esta característica le confiere al material la propiedad de capilaridad que le permite recibir una mayor cantidad de líquido; esta es una de las características particulares de los polímeros superabsorbentes [8].

(a)Poli(AAm-co-AAc)



(b) Poli (AAm-co-AI)

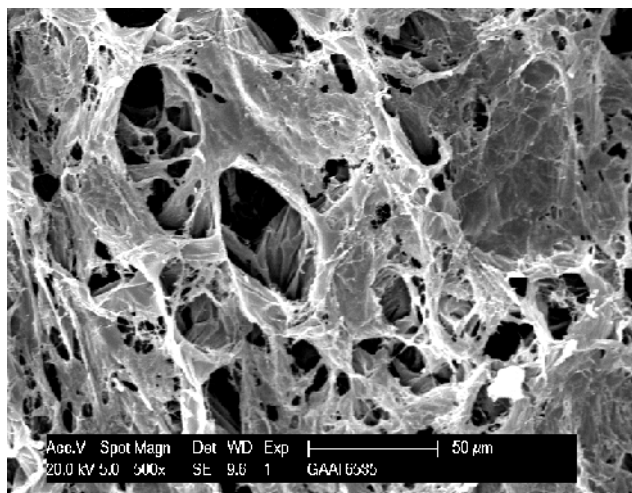


Fig. 2. Micrografías MEB de hidrogeles de: (a) poli(acrilamida-co-ácido acrílico) y (b) poli(acrilamida-co-ácido itacónico), preparados por liofilización.

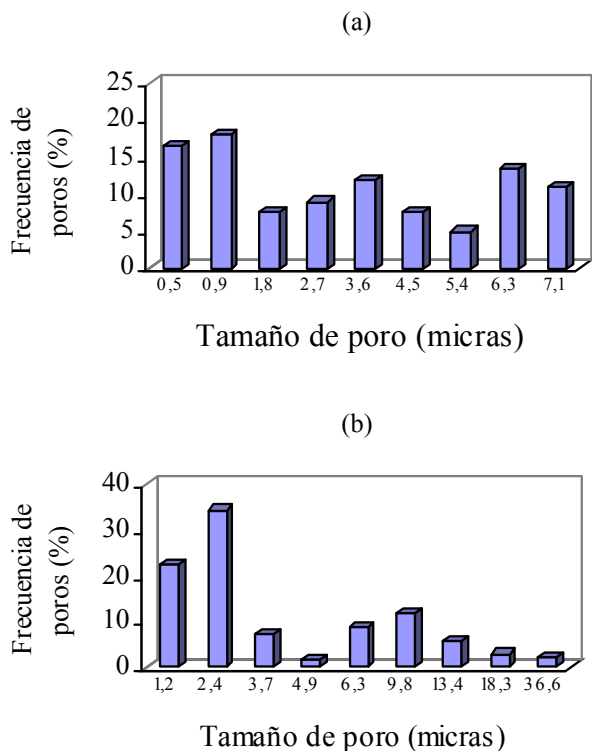


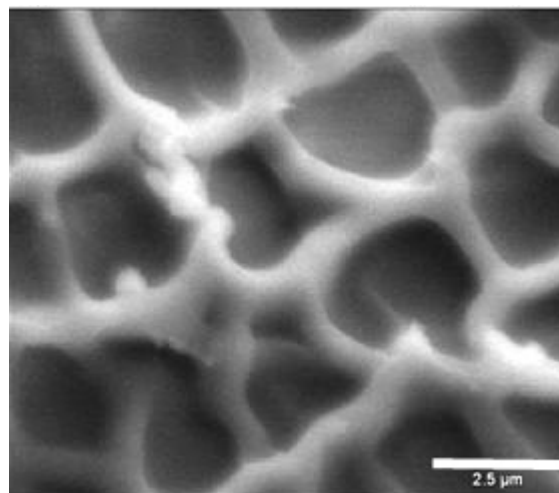
Fig. 3. Histogramas de hidrogeles de: (a) poli(acrilamida-co-ácido acrílico) y (b) poli(acrilamida-co-ácido itacónico), preparados por liofilización.

De acuerdo a las medidas realizadas en las micrografías MEB, se pudieron estimar tamaños entre (0,8-5 μm) para el hidrogel de poli (AAM-co-AAc), (Figura 5a). Se apreció por el método de SPC, la misma tendencia que para las muestras liofilizadas, ya que también por esta técnica de preparación, los hidrogeles de poli (AAM-co-AAc), poseen poros más pequeños respecto a los hidrogeles de poli(AAM-co-AI) (Figura 5). El hidrogel de poli(AAM-co-AAc) presentó una alta frecuencia de tamaños de poro de 2,5 μm (23%), seguido de tamaños entre 1,7 μm y 3,3 μm (con un 18% y 15%, respectivamente); mientras que el hidrogel de poli (AAM-co-AI) alcanzó tamaños de poros comprendidos entre los 17 y los 37 μm , siendo el tamaño de mayor frecuencia (37%) entre 26 y 30 μm .

Al comparar los histogramas generados por las medidas en las micrografías MEB de los hidrogeles tratados por ambas técnicas, (Figura 3 y Figura 5), se puede comprobar

que los rangos de tamaño encontrados coinciden, especialmente en el hidrogel de poli (AAM-co-AAc) . No obstante, la distribución de las frecuencias en las medidas difiere notablemente, pudiéndose observar que predominaron los intervalos de mayor tamaño cuando se prepararon los hidrogeles mediante SPC.

a)Poli(AAM-co-AAc)



b)Poli (AAM-co-AI)

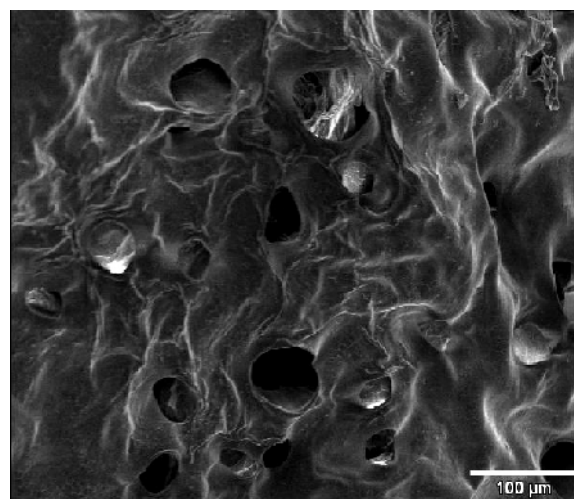


Fig. 4. Micrografías MEB del hidrogel de: (a) poli(acrilamida-co-ácido acrílico) y (b) poli(acrilamida-co-ácido itacónico) preparados con el secador de punto crítico.

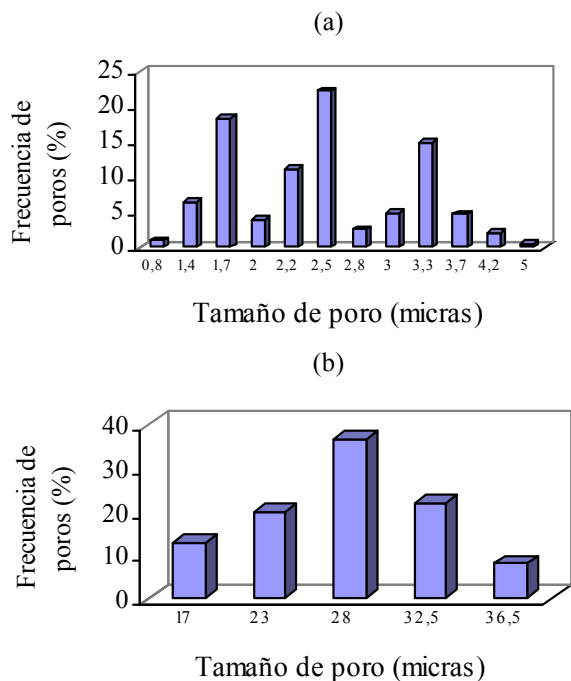


Fig. 5. Histogramas de hidrogeles de: (a) poli(acrilamida-co-ácido acrílico) y (b) poli(acrilamida-co-ácido itacónico) preparados con el secador de punto crítico.

Estudio morfológico del hidrogel hidratado en un MEB de presión variable

En las Figuras 6-9 se presentan las micrografías para hidrogeles de poli (acrilamida-co-ácido acrílico), poli(AAm-co-AAc), generadas utilizando el MEB de presión variable. Como ya se indicó, en algunos casos, el hidrogel se observó después de someterlo a inmersión acuosa por 24 h (sin ningún tipo de secado previo). Y otras imágenes corresponden al hidrogel seco que fue hidratado “in situ”, dentro de la misma cámara del MEB.

Así, en la figura 6 se muestra el hidrogel de poli (AAm-co-AAc), (obtenido a partir de una relación de alimentación AAm/AAc, 90/10), donde se puede apreciar que en estado seco prácticamente no hay ningún tipo de porosidad en su superficie, reflejando su estado de xerogel.

Por el contrario, la figura 7 corresponde al mismo hidrogel luego de estar 24 h en agua destilada; en la imagen se puede observar una serie de poros de tamaño heterogéneo (15-40 μm).

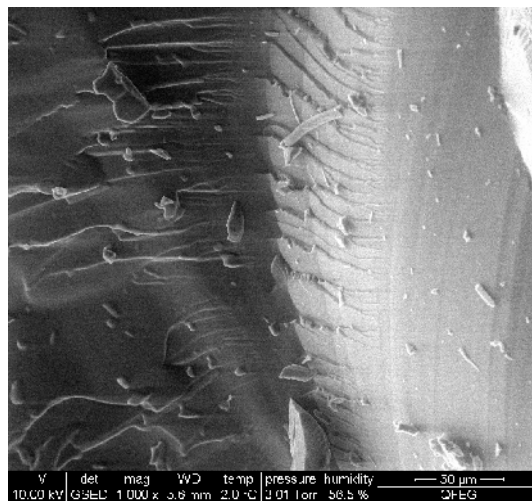


Fig. 6. Micrografía en el MEB de presión variable del xerogel (hidrogel seco) de poli(AAm-co-AAc) sintetizado con AAm/AAc, 90/10.

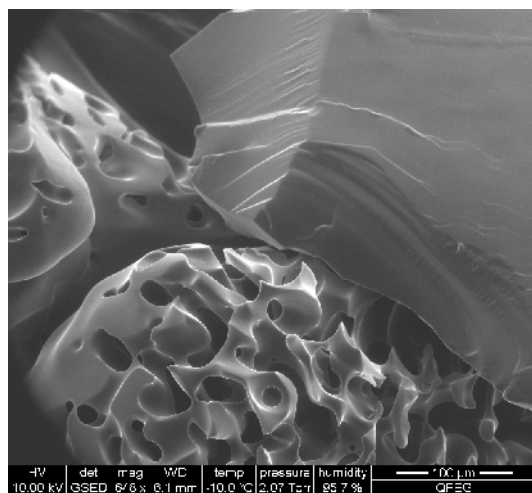


Fig. 7. Micrografía en el MEB de presión variable del hidrogel de poli(AAm-co-AAc), sintetizado con AAm/AAc, 90/10, después de permanecer sumergido en agua durante 24 h.

Cuando este mismo hidrogel de poli (AAm-co-AAc), se colocó seco en la cámara del MEB y allí se sometió durante media hora a un ambiente de 100% de humedad, se observó que a medida que se sublimaba el agua de la superficie del hidrogel (-10°C) se desarrollaba una morfología como de vesículas o ampollas (Figura 8), algunas de las cuales se rompían para formar grandes poros de tamaños que oscilan entre 30 y 60 μm .

No obstante, aunque los poros que se formaron en el MEB de presión variable son más grandes, estos se presentaron en menor cantidad que cuando la muestra fue colocada en contacto con el agua previamente. Estos resultados evidenciaron que en 30 min. no se alcanza aun el estado de hinchamiento en equilibrio de los hidrogeles. No obstante, hay que destacar que en estas condiciones se desarrolló el mayor tamaño medido en las micrografías (hasta de 60 μm), poros que se desarrollaron “in situ” en estos hidrogeles, y que son mayores que los poros medidos cuando se alcanza el equilibrio. Las magnitudes sugieren que la estructura después de 24 h en agua tiende a compactarse o reordenarse.

Para el hidrogel sintetizado con mayor cantidad de ácido acrílico, poli(AAm-co-AAc), (a partir de una relación AAm/AAc, 60/40 y conservando la proporción de 1% del entrecruzante), sumergido previamente por 24 h (Figura 9), se pudo observar la ausencia de zonas lisas como las que estaban presentes en el hidrogel análogo sintetizado sólo con 10% de AAc (Figura 7), evidenciando un mayor carácter poroso. Fue obvia también la cantidad significativamente mayor de vesículas (ya abiertas y convertidas en poros), con tamaños que oscilaban entre 15-40 μm .

Los resultados obtenidos en el MEB de presión variable, evidenciaron como la porosidad desarrollada en estos materiales no sólo se puede diseñar a partir de la relación de monómeros y de agente entrecruzante que se agregue, tal como ha sido ampliamente reportado [8-12]; aspectos como la cinética de absorción del líquido también dependen determinantemente del ambiente y el nivel de humedad al que sea sometido el material. En cada caso se observó diferente tamaño, ordenamiento y tipo de poro (formación de vesículas) así como diferencias en la velocidad de expansión de los mismos.

Por otra parte, poder relacionar las variables cinéticas de absorción ampliamente reportados en los hidrogeles [5-12, 15-18], con la morfología que se desarrolla durante la

difusión del fluido, constituye un vasto campo de investigación, y, en esta vía, estos resultados en el MEB de presión variable establecen un valioso aporte. En este sentido, la formación de las vesículas y su ruptura generando poros podrían relacionarse con esquemas como el de la Figura 10 que ha sido reportado previamente para explicar el proceso de absorción y difusión de fluidos [20].

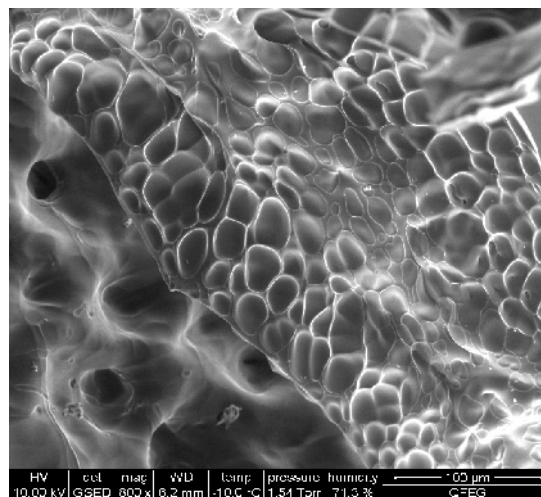


Fig. 8. Micrografía en el MEB de presión variable del hidrogel de poli(AAm-co-AAc), sintetizado con AAm/AAc, 90/10, humedecido en la cámara del MEB.

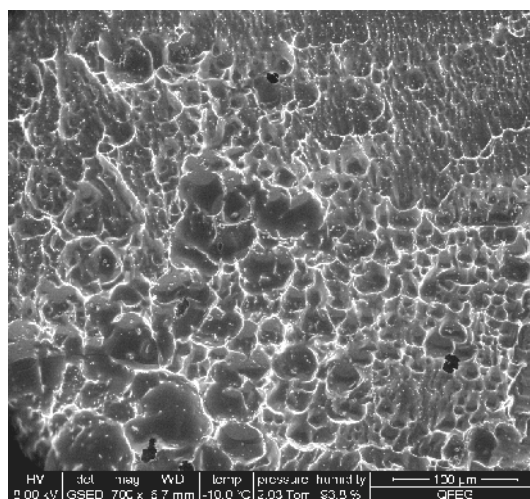


Fig. 9. Micrografía en el MEB de presión variable del hidrogel de poli(AAm-co-AAc), sintetizado con AAm/AAc, 60/40, después de permanecer sumergido en agua durante 24 h.

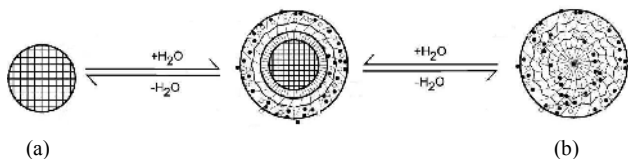


Fig. 10. Esquema propuesto para la difusión desde: (a) el estado vítreo del xerogel al (b) estado hinchado del hidrogel. Los círculos blancos representan las moléculas de agua y, los círculos negros, de un fármaco u otra sustancia a difundir (inspirado en la referencia [20]).

CONCLUSIONES

La aplicación de las diferentes técnicas de preparación de los hidrogeles, para su análisis por microscopía electrónica de barrido, permitió establecer tamaño de los poros que oscilaban entre 0,5 y 60 μm , para esta familia de copolímeros. Determinándose que estos hidrogeles poseen poros en el rango de tamaños previamente reportado por otros autores [21-26]. Aun cuando se encontraron diferencias significativas de tamaño entre un método y otro, las comparaciones relativas fueron posibles. La aplicación simultánea de la técnica en MEB convencional junto a la MEB de presión variable permitió evaluar el tipo de porosidad que se desarrolla así como la forma de expansión de los hidrogeles, en función del modo de hidratación de los mismos.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo de Investigación de la UDO, al POA-UDO PN 2.7/2010, al Proyecto Lab-2001001442 de FONACIT y al Proyecto FONACIT F-2013000395, por el financiamiento de este trabajo.

REFERENCIAS

[1] Goldstein J., Newbury D., Echlin P., Joy D., Romig, A.D., Lyman C., Fiori Ch., Sawyer L., Michael J., Lifshin E. (2003) *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis*, Third Edition. New York, NY. Plenum Press.

- [2] Postek M., Howard K., Johnson A., McMichael K. (1980) *Scanning Electron Microscopy*. Ladd Research Industries, Inc.
- [3] Urbina de Navarro C. (2008) “¿Qué información puede obtenerse de los polímeros utilizando la microscopía electrónica?” *Revista Iberoamericana de Polímeros* 9: 191-196.
- [4] Yamada M., (1993) “Development of Natural SEM and some applications” *Acta Microscópica* 2: 1-13
- [5] Katime I., (2001) “Hidrogeles Inteligentes” *Revista Iberoamericana de Polímeros* 5: 5-29.
- [6] Rojas de Gáscue B., Ramírez M., Aguilera R., García A., Prin J.L., Lias J., Torres C., Katime I., (2007) “Hidrogeles obtenidos a partir de Acrilamida, Ácido Maleico, Ácido Acrílico y Monoitaconato de Octilo: Síntesis, Capacidad Absorbente y variaciones de pH en soluciones de Sulfato de Cobre” *Revista Técnica Ingeniería Universidad del Zulia* 30: 74-84.
- [7] Katime I., Katime O., Katime D. (2004) *Los materiales inteligentes de este milenio: Los hidrogeles macromoleculares. Síntesis, propiedades y aplicaciones*. Bilbao, España. Servicio Editorial de la Universidad del País Vasco.
- [8] Hoffman A., (2002) “Hydrogels for biomedical applications” *Advanced Drug Delivery Review* 43: 3-12.
- [9] Ramírez A., Contreras D., Prin J.L., Rojas de Gáscue B., (2013) “Entrecruzamientos iónicos en hidrogeles de poli(acrilamida-co-ácido itacónico) postulados a partir del análisis de su morfología y de su cinética de absorción” *Acta Microscópica* 22 (2): 205 – 209.
- [10] Bucarito J., Fuentes M.V., Prin J.L., García A., Rojas de Astudillo L., Esteban Barrios E., Rojas de Gáscue B., (2014) “Síntesis y uso de hidrogeles de poliacrilamida para la evaluación de metales biodisponibles en aguas intersticiales de los sedimentos del Golfo de Cariaco (Venezuela)” *Revista Iberoamericana de Polímeros* 15 (1): 7-20.

- [11] González N., Contreras J., López-Carrasquero F., El-Halah A., Torres C., Prin J.L., Benítez J., Rojas de Gáscue B., (2013) “Estudio de la síntesis y caracterización de hidrogeles Semi-IPN obtenidos a partir de Poli(acrilamida y el biopolímero Poli(hidroxibutirato-co-hidroxivalerato))” *Interciencia* 38(6); 430-436.
- [12] González N., Prin J.L., Benítez J., Ramírez A., García A., Ramirez M., Sabino M, Rojas de Gáscue B., (2012) “Estudio de la cinética de difusión en hidrogeles sintetizados a partir de acrilamida-co-ácido acrílico con turba y almidón vía calentamiento convencional y bajo radiación microondas” *Rev. LatinAm. Metal. Mat.* 32 (1): 136-144.
- [13] Echlin P., (1992) *Low-Temperature Microscopy and Analysis*, New York, Springer.
- [14] Humphreys W. J., Spurlock B. O., Johnson, J. S., (1970) *Principles and Techniques of Electron Microscopy*, M. A. Hayat (ed.), New York, Van Nostrand Reinhold Co. pp. 136-158.
- [15] Bejarano L., Rojas de Gáscue B., Prin J.L., Mohsin M., García A., Britt Mostue M., Rojas L., Ramírez M., Katime I., (2008) “Síntesis y estudio de hidrogeles obtenidos a partir de acrilamida, poli(ácido acrílico) y ácido maleico como potenciales remediadores de contaminantes metálicos en aguas residuales” *Revista Iberoamericana de Polímeros* 9: 307-312.
- [16] Bolívar G., Mas M., Ramírez M., Tortolero M., Cañizales E., (2011) “Estudio viscoelástico de hidrogeles de poli(acrilamida) copolimerizada con ácidos orgánicos para mejorar el factor de recuperación de petróleo”. *Rev. LatinAm. Metal. Mat.* 31 (2): 150-160.
- [17] Bolívar Genaro (2008) “Determinación de los módulos de almacenamiento y pérdida, su relación con estructuras y propiedades de geles de poli(acrilamida-co-ácido acrílico) y poli(acrilamida-co-ácido itacónico) entrecruzados con N, N'-metilbisacrilamida”, Tesis de grado. Laboratorio de Polímeros. Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- [18] Xue W., Champ S., Huglin M., Jones T., (2004) “Rapid swelling and deswelling in cryogels of crosslinked poly(N-isopropylacrylamide-co-acrylic acid)” *J. Appl. Polym. Sci.* 40: 467-476.
- [19] Prin J.L., González N., Villarroel H., Ramírez M., Rojas de Gáscue B., (2012) “El secado de punto crítico (SPC) como técnica aplicada en la preparación de geles de poli(acrilamida-co-ácido acrílico) por Microscopía Electrónica de Barrido” *Rev. LatinAm. Metal. Mat.* S5: 20-23.
- [20] Bajpai A.K., Shukla S.K., Bhanu S., Kankane S., (2008) “Responsive polymers in controlled drug delivery” *Progress in Polymer Science* 33 (11): 1088-1118.
- [21] Baek N., Park K., Park J.H., Bae Y.H. (2001) “Control of the swelling rate of superporous hydrogels” *J. Bioactive Compatible Polym.* 16: 47-57.
- [22] Caykara T, Kiper S., Demirel G., Demirci S., Çakany C. (2006) “Temperature-responsive characteristics of poly(N-isopropylacrylamide) hydrogels with macroporous structure” *Polymer International* 56: 275 -282.
- [23] Rafael Rodríguez Salazar (2010) “Estudio de Polímeros Hidrogeles sintetizados a partir de acrilamida, quitosano y diferentes ácidos”. Tesis de grado. Licenciatura en Química, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.
- [24] Daniel Contreras (2012) “Evaluación de las interacciones de los polímeros de redes expandibles de acrilamida y ácido itacónico con el suelo y la roca fosfórica”. Tesis de grado. Licenciatura en Química, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.
- [25] Omidian H., Rocca J.G., Park K. (2006) “Elastic, Superporous hydrogel hybrids of polyacrylamide and sodium alginate” *Macromolecular Bioscience* 6:

703-710.

- [26] Gemeinhart R.A., Park H., Park K. (2000) "Pore structure of superporous hydrogels" *Polym. Adv. Technol.* 11: 617-625.