



Centro de Investigación Científica de Yucatán A. C.
Posgrado en Ciencias de Materiales Poliméricos

**“EFICIENCIA DE DIÁLISIS EN MEMBRANAS DE MEZCLAS POLIMÉRICAS CON
IMPREGNACIÓN SUPERFICIAL DE COPOLÍMEROS FUNCIONALIZADOS”**

Tesis que presenta:

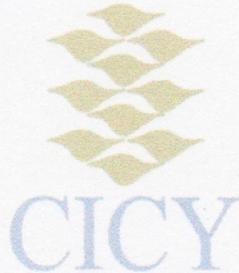
I.B. CYNTHIA CAROLINA XIX RODRÍGUEZ

En opción al título de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN MATERIALES POLIMÉRICOS

Mérida, Yucatán, México, noviembre 2019

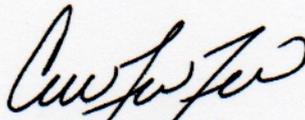
CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DE YUCATÁN, A. C.
POSGRADO EN CIENCIAS MATERIALES POLIMÉRICOS



RECONOCIMIENTO

Por medio de la presente, hago constar que el trabajo de tesis de **Cynthia Carolina Xix Rodríguez** titulado **"Eficiencia De Diálisis En Membranas De Mezclas Poliméricas Con Impregnación Superficial De Copolímeros Funcionalizados"** fue realizado en la Unidad de Materiales, dentro de la línea de investigación "Materiales para Aplicaciones especializadas" en el Laboratorio de Membranas del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. bajo la dirección de la Dra. María Ortencia González Díaz y la codirección del Dr. Manuel de Jesús Aguilar Vega, perteneciente al Programa de Posgrado en Materiales Poliméricos de este Centro.

Atentamente



Dra. Cecilia Hernández Zepeda
Directora de Docencia

Mérida, Yucatán, México, a 13 de noviembre de 2019.

AGRADECIMIENTOS

Al Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C. (CICY), por permitirme realizar mis estudios de posgrado en la Unidad de Materiales Poliméricos, en específico en el laboratorio de membranas.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el financiamiento de la beca otorgada No. 634826 para realizar mis estudios de posgrado y al proyecto de Ciencia Básica No. 286973 por el financiamiento parcial del proyecto.

A mi directora de tesis, la Dra. María Ortencia González Díaz y codirector de tesis, Dr. Manuel de Jesús Aguilar Vega, por permitirme ser parte de su equipo de trabajo y brindarme su apoyo profesional durante la realización de mi proyecto de tesis.

A mis revisores de tesis Dra. Yamile Pérez Padilla, Dr. José Manuel Cervantes Uc, Dr. Humberto Vázquez Torres y Dra. Nayeli Rodríguez Fuentes por su tiempo para la revisión de la tesis.

A la Dra. Vanessa Martínez Cornejo, por su apoyo en la síntesis del copolímero PAMPS-*b*-PMMA.

A los técnicos M.C. María Isabel de los Dolores Loría Bastarrachea, por su apoyo en algunas actividades realizadas en el laboratorio de membranas, al Q.I. Santiago Duarte Aranda y a Felipe Barredo Pool, por su apoyo técnico en el análisis en SEM. A la Q.I. Rossana Faride Vargas Coronado, por su apoyo en el uso del equipo de UV en el laboratorio de Química Macromolecular. A la Dra. Nayeli Rodríguez Fuentes y la Dra. Teresa Hernández Sotomayor por su apoyo en la utilización de los equipos UV para la determinación de proteínas y lisozima. Se agradece al Laboratorio Nacional de Nano y Biomateriales, Cinvestav-IPN; financiado por los proyectos FOMIX-Yucatán 2008-108160, CONACYT LAB-2009-01-123913, 292692, 294643, 188345 y 204822, por los análisis de ¹H-RMN.

Al Dr. Jorge Uribe Calderón por el acceso al uso del equipo de medición de ángulo de contacto.

Al Dr. Ángel de Jesús Montes Luna, por su apoyo en la determinación de las pruebas de diálisis.

A mis compañeros del laboratorio y de generación, por brindarme sus conocimientos y apoyo profesional y moral durante la realización de mi proyecto de tesis.

ÍNDICE

LISTADO DE TABLAS	vii
LISTADO DE FIGURAS	viii
RESUMEN	x
ABSTRACT	xii
INTRODUCCIÓN	1
HIPÓTESIS	3
OBJETIVOS	4
Objetivo general	4
Objetivos específicos	4
CAPITULO I. ANTECEDENTES	5
1.1. Membranas en el área médica	5
1.2. Membranas para diálisis	5
1.2.1. Principios físicos	6
1.2.2. Características de las membranas de diálisis	8
1.2.3. Tipos de membranas usadas en diálisis	11
1.3. Poli(ácido láctico) (PLA)	16
1.5. Justificación	20
CAPITULO II. MATERIALES Y METODOLOGÍA	22
2.1. MATERIALES	23
2.2. ETAPA 1: SÍNTESIS DE COPOLÍMEROS	23
2.2.1. Síntesis del macroiniciador PMMA-Br	23
2.2.2. Síntesis de PMMA- <i>b</i> -PHEMA	24
2.2.3. Síntesis de PMMA- <i>b</i> -PDMAEMA	25

2.2.4. Síntesis de PAMPS- <i>b</i> -PMMA	26
2.2.5. Caracterización de copolímeros	26
2.3. ETAPA II: ELABORACIÓN DE MEMBRANAS	27
2.3.1. Elaboración de membrana de PLA	27
2.3.2. Elaboración de las membranas PLA/copolímero.....	28
2.3.3. Incorporación superficial de copolímeros funcionalizados en las membranas ..	28
2.3.4. Caracterización de membranas	29
2.4. ETAPA III: PRUEBAS DE EFICIENCIA DE DIÁLISIS	30
2.4.1. Prueba estática de proteínas	30
2.4.2. Prueba de flujo y retención de proteínas	31
2.4.3. Prueba de diálisis	32
CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
3.1. ETAPA I. SÍNTESIS DE COPOLÍMEROS	35
3.1.1. Caracterización por resonancia Magnética Nuclear de protón (¹ H-RMN).....	35
3.1.2. Determinación de masa molecular (Mn) y dispersidad (D) por GPC	40
3.2. ETAPA II. ELABORACIÓN DE MEMBRANAS	42
3.2.1. Microscopía electrónica de barrido (SEM) de membranas	42
3.3.2. Hidrofilicidad de las membranas	59
3.3. ETAPA III. PRUEBAS DE FUNCIONALIDAD	61
3.3.1. Prueba estática de proteínas	61
3.3.2. Prueba de flujo y retención de proteínas	64
3.3.3. Prueba de diálisis: eliminación de urea, lisozima y retención de BSA.....	68
CAPÍTULO IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	75
4.1. CONCLUSIONES	75

4.2. RECOMENDACIONES.....	77
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1.1. Clasificación del tamaño de moléculas en sangre	9
Tabla 1.2. Ventajas y desventajas de membranas para hemodiálisis.....	15
Tabla 2.1. Cantidades utilizadas para la síntesis del macroiniciador.....	23
Tabla 2.2. Parámetros utilizados para pruebas de flujo	32
Tabla 3.1. Masa molecular (Mn) y polidispersidad (PDI) de los copolímeros sintetizados	41
Tabla 3.2. Tamaño de poro en la superficie y espesor de membranas en el baño de agua..	45
Tabla 3.3. Tamaño de poro en la superficie y espesor de membranas realizadas en DMAC/agua	50
Tabla 3.4. Tamaño de poro en la sección superficial y espesor de membranas realizadas en I/A/A	55
Tabla 3.5. Resultados de la prueba estática de proteínas en membranas realizadas con el baño de agua. *P= pulverizado	62
Tabla 3.6. Prueba estática de membranas en baño I/A/A. P = pulverizado	63
Tabla 3.7. Prueba de adsorción estática de proteínas en membranas de baño DMAC/Agua	64
Tabla 3.8. Resultados prueba de flujo para membranas realizadas en baño de agua	65
Tabla 3.9. Flujos obtenidos para las membranas realizadas en baño DMAC/agua.....	67
Tabla 3.10. Flujos de membranas elaboradas con el baño I/A/A	67
Tabla 3.11. Eliminación de urea para membranas realizadas en DMAC/agua.	69
Tabla 3.12. Eliminación de urea para membranas realizadas en I/A/A	70
Tabla 3.13. Eliminación de lisozima en membranas realizadas en baño DMAC/agua	71
Tabla 3.14. Eliminación de lisozima en membranas realizadas en baño I/A/A	72
Tabla 3.15. Retención de proteínas (BSA) en el medio usando membranas elaboradas en baño de DMAC/Agua.....	73
Tabla 3.16. Retención de proteínas (BSA) en el medio usando membranas elaboradas en baño de I/A/A.....	74

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1.1. Interacción membrana-fluido.....	7
Figura 1.2. Estructura de PSf.....	13
Figura 1.3. Estructura de PES.....	14
Figura 1.4. Estructura de PMMA	14
Figura 1.5. Estructura de PAN.....	15
Figura 1.6 Rutas de síntesis del PLA	17
Figura 2.1 Metodología experimental.....	22
Figura 2.2. Síntesis del macroiniciador PMMA-Br.....	24
Figura 2.3. Síntesis del copolímero PMMA- <i>b</i> -PHEMA.....	25
Figura 2.4. Síntesis del copolímero PMMA- <i>b</i> -PDMAEMA.....	25
Figura 2.5. Síntesis del copolímero PAMPS- <i>b</i> -PMMA.....	26
Figura 2.6. Proceso de elaboración de membranas por inversión de fases	28
Figura 2.7. Aplicación de copolímeros funcionalizados, 8 ciclos	29
Figura 2.8. Celda de permeación Sterlitech HP4750.....	31
Figura 2.9. Celda de diálisis	33
Figura 3.1. Espectro de ¹ H RMN del macroiniciador PMMA-Br	36
Figura 3.2. Espectro de ¹ H RMN del copolímero PMMA- <i>b</i> -PHEMA.....	37
Figura 3.3. Espectro de ¹ H RMN del copolímero PMMA- <i>b</i> -PDMAEMA.....	39
Figura 3.4. ¹ H RMN del copolímero PAMPS- <i>b</i> -PMMA.....	40
Figura 3.5. Cromatograma de GPC del macroiniciador de PMMA-Br y PMMA- <i>b</i> - PDMAEMA.....	41
Figura 3.6. Vista superficial (a) y transversal (b) de la membrana PLA en baño de agua... 43	
Figura 3.7. Vista superficial (a) y transversal (b) de la membrana de PLA/PMMA- <i>b</i> - PHEMA en baño de agua	44
Figura 3.8. Vista superficial (a) y transversal (b) de la membrana de PLA/PMMA- <i>b</i> - PDMAEMA en baño de agua.....	45
Figura 3.9.. Vista superficial (a) y transversal (b) de la membrana de PLA.....	47

Figura 3.10. Vista superficial (a) y transversal (b) de la membrana de PLA/PMMA- <i>b</i> -PHEMA.....	48
Figura 3.11. Vista superficial (a) y transversal (b) de la membrana PLA/PMMA- <i>b</i> -PDMAEMA.....	49
Figura 3.12. Vista superficial (a) y transversal (b) de la membrana PLA/PAMPS- <i>b</i> -PMMA.....	50
Figura 3.13. Vista superficial (a) y transversal (b) de la membrana de PLA.....	52
Figura 3.14. Vista superficial (a) y transversal (b) de la membrana de PLA/PMMA- <i>b</i> -PHEMA.....	53
Figura 3.15. Vista superficial (a) y transversal (b) de la membrana de PLA/PMMA- <i>b</i> -PDMAEMA.....	54
Figura 3.16. Vista superficial (a) y transversal (b) de la membrana PLA/PAMPS- <i>b</i> -PMMA.....	55
Figura 3.17. Imágenes SEM de membranas con impregnación de superficie: PLA/PMMA- <i>b</i> -PHEMA (a), PLA/PMMA- <i>b</i> -PDMAEMA (b) y PLA/PAMPS- <i>b</i> -PMMA (c) en baño de agua (1), DMAc/agua (2) e Isopropanol/Acetona/Agua (I/A/A) (3).	58
Figura 3.18. Ángulo de contacto para las membranas de PLA y PLA con mezclas de copolímeros anfifílicos.....	60

RESUMEN

La diálisis es un tratamiento sustitutivo renal que se realiza en pacientes que sufren insuficiencia renal crónica o aguda, con el fin de evitar la uremia que pone en peligro la vida. Actualmente, alrededor del 10% de la población mundial se ve afectada y se estima que para el 2020, la enfermedad renal crónica será la tercera causa de muerte sólo después de la diabetes tipo 2 y la presión arterial sistémica. El proceso de diálisis implica la eliminación de sustancias de desechos y líquidos de la sangre que normalmente son eliminados por los riñones. Para la mejora del rendimiento del proceso de diálisis, el desarrollo de nuevas membranas es un desafío permanente. En este proyecto, se elaboraron una serie de membranas porosas a partir de un poliéster biodegradable, el poli(ácido láctico) (PLA) mezclado con 3 diferentes copolímeros en bloques anfifílicos sintetizados por la técnica de polimerización radicalica por transferencia de átomo (ATRP). Los copolímeros se seleccionaron considerando que contengan un bloque polimérico hidrofóbico (PMMA) que proporcione compatibilidad con la matriz polimérica de PLA y un segundo bloque de poli(ácido 2-acriloamido-2-metilpropanosulfónico) (PAMPS), poli(metacrilato de 2-hidroxi-etilo) (PHEMA) y poli(metacrilato de 2-dimetilamino etilo) (DMAEMA) con diferentes grupos funcionales que les confieren hidrofiliidad y biocompatibilidad. Para aumentar la propiedad de antiincrustamiento en la superficie, se propuso la deposición de los copolímeros en la superficie de las membranas por la técnica de pulverización por spray.

Los resultados mostraron una mejora considerable en las membranas al añadir los copolímeros al PLA, tanto en morfología como en la hidrofiliidad superficial medida por el ángulo de contacto, el cual disminuye de 79.6° para la membrana de PLA puro a 73.9° - 61° para las membranas que contienen los copolímeros anfifílicos, lo que conlleva un aumento en la propiedad de anti-ensuciamiento y en el flujo de agua a través de las membranas. De igual manera, las pruebas de diálisis demostraron que las membranas con los copolímeros eliminan una gran cantidad de urea y lisozima de hasta 94.7% y 57.5%, respectivamente y una retención de proteínas de hasta 99.3%. En general, los resultados obtenidos indican que la adición de copolímeros anfifílicos a la matriz de PLA favorece de manera considerable la

eliminación de toxinas urémicas, además de prevenir la pérdida de moléculas esenciales gracias a la disminución del ensuciamiento de la capa superior de la membrana.

ABSTRACT

Dialysis is a renal replacement treatment that is performed in patients suffering from chronic or acute kidney failure in order to avoid life-threatening uremia. Currently, the number of kidney disease patients is estimated to be 10% of the world's population and it is estimated that, by 2020, chronic kidney disease will be the third leading cause of death only after diabetes and systemic blood pressure. The dialysis process function is to remove waste substances and excess liquids from the blood that are normally eliminated by the kidneys. To improve the performance of the dialysis process, the development of novel membranes is a permanent challenge. In this project, a series of asymmetric membranes was developed from a biodegradable polyester, poly (lactic acid) (PLA) blended with 3 different amphiphilic block copolymers synthesized by the atom transfer radical polymerization (ATRP) technique. The copolymers were chosen considering that they contain a hydrophobic polymeric block (PMMA) that provides compatibility with the PLA polymer matrix and a second block of poly (2-acryloamido-2-methylpropanesulfonic acid) (PAMPS), poly (2-hydroxyethyl methacrylate) (PHEMA) and poly (2-dimethylamino ethyl methacrylate) (DMAEMA) with different functional groups that give them hydrophilicity and biocompatibility. To increase the antifouling property on the surface, the deposition of the copolymers on the surface of the PLA membranes was proposed by the spraying deposition technique.

The results exhibited a remarkable improvement in the membranes when the copolymers were added to the PLA. Both the morphology and surface hydrophilicity measured by the contact angle, which decreases from 79.6° for the pure PLA membrane to 73.9° - 61° for the membranes that contain the amphiphilic copolymers. These results lead to an increase in the anti-fouling property and in water flow through the membranes. In the same way, dialysis tests showed that membranes with additives remove a high amount of urea and lysozyme up to 94.7% and 57.5%, respectively and a protein retention up to 99.3%. On the whole, the results obtained indicate that the addition of amphiphilic copolymers to the PLA matrix considerably promotes the elimination of uremic toxins, in addition to preventing the loss of essential molecules due to the decrease in fouling of the surface layer membrane.

INTRODUCCIÓN

Los riñones son órganos vitales que realizan diversas funciones para mantener limpia la sangre del cuerpo. Cuando una persona sufre un desequilibrio químico en la sangre, como es el caso de la diabetes o la presión arterial alta, corre el riesgo de padecer una enfermedad renal crónica (ERC), la cual se define como la pérdida progresiva e irreversible de la función renal. La disminución de la función renal ha sido reconocida como un grave problema de salud pública mundial, alrededor del 10% de la población mundial se ve afectada. Sin embargo, la cantidad de personas que tiene acceso a un tratamiento adecuado es escasa, por ejemplo, en 2013, tres millones de pacientes sobrevivieron a través de diálisis o trasplante renal [1, 2]. En México la cantidad de pacientes en tratamiento de remplazo renal es de aproximadamente 52,000 personas al año.

La diálisis es un tratamiento sustitutivo renal que se realiza en pacientes que sufren insuficiencia renal crónica o aguda, con el fin de evitar la uremia que pone en peligro la vida. El proceso implica la eliminación de sustancias de desechos y líquidos de la sangre que normalmente son eliminados por los riñones. Las dos formas principales de diálisis son la hemodiálisis y la diálisis peritoneal. La hemodiálisis utiliza un filtro especial llamado dializador que funciona como un riñón artificial para depurar la sangre de una persona. El dializador es un recipiente cilíndrico que se conecta a la máquina de hemodiálisis que contiene una membrana semipermeable separando dos compartimientos bien diferenciados, por donde circulan la sangre y el líquido de diálisis [3, 4]. La membrana (componente principal del dializador) se caracteriza por ser hidrofóbica, con alta selectividad, biocompatible y resistente a altas presiones en el circuito sanguíneo.

Para la mejora del rendimiento del proceso de diálisis, el desarrollo de nuevas membranas es un desafío permanente. Los cambios en la composición, estructura y en las propiedades de transporte de la membrana, pueden tener un efecto positivo en la eliminación de solutos urémicos, con el equilibrio entre el rechazo de moléculas medias y la retención de importantes proteínas sanguíneas [5].

La mejora de la compatibilidad sanguínea (hemocompatibilidad) es otro objetivo en el desarrollo de membranas [6], ya que una baja hemocompatibilidad produce reacciones adversas como la coagulación de la sangre, así como la activación de neutrófilos y monocitos, los cuales resultan en una mayor incidencia de infecciones y mortalidad en pacientes con hemodiálisis. Para mejorar la compatibilidad de las membranas, se pueden usar dos enfoques principales: 1) crear superficies que impidan o supriman las reacciones indeseables, como la activación de la cascada de coagulación, y 2) sintetizar polímeros que no reaccionen con la sangre (hemocompatibles). La modificación adecuada de la superficie del material es la estrategia más comúnmente utilizada, porque las propiedades de la superficie del material dominan las interacciones entre el entorno biológico y los materiales artificiales. Además, la modificación de la superficie puede mejorar la hemocompatibilidad, sin cambiar las propiedades físicas del material.

Diversos materiales han sido empleados para la fabricación de membranas para tratamiento de hemodiálisis como celulosa, poliacrilonitrilo, polisulfona, poliariletersulfona y poliidimidazoles, así como mezclas que contengan componentes hidrofílicos [7, 8, 9]. Sin embargo, aún se requiere desarrollar nuevos materiales que mejoren su compatibilidad y presenten mayor separación entre toxinas urémicas con alta permeabilidad líquida y disminuyan su ensuciamiento superficial.

Con base en lo anterior, en este proyecto se propone la fabricación de una serie de membranas a partir de poli(ácido láctico) (PLA) en mezcla con copolímeros en bloque anfifílicos funcionalizados. Las membranas obtenidas serán modificadas superficialmente con la adición de diversas capas de copolímeros funcionalizados mediante la técnica de pulverización por spray. Además, se llevará a cabo la caracterización fisicoquímica y superficial de las membranas y se evaluará su potencial desempeño en un proceso de diálisis.

HIPÓTESIS

Con la utilización de copolímeros anfifílicos para la modificación superficial de membranas de PLA, sus propiedades como la porosidad y la morfología transversal asimétrica mejorarán, lo mismo que las propiedades de flujo y selectividad de la membrana ante el paso de toxinas urémicas, así como la hemocompatibilidad. De igual manera, mejorará la propiedad de anti-ensuciamiento debido a la hidrofiliidad conferida a la superficie, pero evitando el paso de proteínas a través de ella.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la eficiencia en procesos de diálisis de membranas asimétricas diseñadas a partir de mezclas poliméricas de PLA con mezclas poliméricas modificadas superficialmente con impregnación superficial de copolímeros funcionalizados.

Objetivos específicos

1. Sintetizar y caracterizar tres copolímeros en bloques: poli(ácido 2-acriloamido-2-metilpropanosulfónico)-*b*-poli(metacrilato de metilo) (PAMPS-*b*-PMMA), poli(metacrilato de metilo)-*b*-poli(metacrilato de 2-dimetilamino etilo) (PMMA-*b*-PDMAEMA) y poli(metacrilato de metilo)-*b*-poli(metacrilato de 2-hidroxietilo) (PMMA-*b*-PHEMA) por la técnica ATRP.
2. Elaborar membranas a partir de mezclas de PLA con cada copolímero sintetizado en una proporción 85/15 (% peso/peso) por el método de inversión de fases.
3. Impregnar los copolímeros funcionalizados (solución al 6%) sobre la superficie de las membranas.
4. Caracterizar las membranas obtenidas por microscopía electrónica de barrido (SEM) y humectabilidad a partir de ángulo de contacto.
5. Evaluar la eficiencia de las membranas en procesos de diálisis como eliminación de urea y lisozima, adsorción de proteínas e incrustamiento en la superficie (antifouling).

CAPITULO I. ANTECEDENTES

1.1. Membranas en el área médica

Las membranas de separación tienen aplicaciones tanto en el sector industrial como en el sector salud. Las aplicaciones médicas de las membranas son un campo de rápido crecimiento que representa el mayor consumo del área de membrana por año. La primera y más importante aplicación en términos de costo es el tratamiento de enfermedad renal en etapa terminal (End-stage renal disease por sus siglas en inglés: ESRD) por hemodiálisis que consume aproximadamente 10^8 m² de membranas por año, seguido de oxigenadores de sangre utilizados durante la cirugía cardíaca y en el caso de insuficiencia respiratoria con más de 5×10^6 m² por año. La separación del plasma y el fraccionamiento utilizados para la recolección de plasma de los donantes y en el tratamiento de las enfermedades autoinmunes, así como la eliminación del colesterol, representan otros 2.5×10^6 m² por año. Además, están surgiendo nuevas aplicaciones de membrana en órganos artificiales y bioartificiales, por ejemplo, para el soporte de la función hepática y pancreática [10, 11, 12].

Actualmente, las membranas con aplicaciones en tratamientos de diálisis son fabricadas a partir de polímeros sintéticos, tales como polisulfona (PS) y poli(éter-sulfona). Estos materiales han presentado buenas propiedades mecánicas y de transporte de masa; sin embargo, carecen de propiedades antiincrustantes y presentan un grave problema al momento de su eliminación (contaminación del medio ambiente) [13].

1.2. Membranas para diálisis

El componente principal de un equipo de diálisis es la membrana por donde circulan la sangre y el líquido de diálisis respectivamente. Las membranas para diálisis se pueden describir como láminas porosas que permiten el transporte de agua y metabolitos tóxicos de bajo peso molecular (<2000 Da, tales como urea y creatinina), pero evita la pérdida de proteínas necesarias para el cuerpo de mayor peso molecular (albúmina y fibrinógeno) debido a la exclusión por el tamaño de poro de la membrana.

El primer “riñón” artificial fue elaborado a partir de membranas de trinitrato de celulosa (celodina), enrolladas sobre un tubo de aluminio y sumergidas en solución salina, en donde la sangre se extraía por uno de los extremos del cilindro mediante cánulas conectadas a una arteria y por el otro extremo a una vena. Años más tarde, se desarrolló un dispositivo de diálisis mejorado que consistía en un tambor de madera similar a una bobina envuelta con tubos de celofán, seguido por un dializador gemelo con las vías sanguíneas dobles conectadas por cánulas desechables a una arteria y una vena. En 1960, estos dializadores fueron modificados para permitir un acceso con un mayor flujo de sangre. En 1966, esta derivación externa fue reemplazada por una fístula arteriovenosa implantada debajo de la piel que era más segura y cómoda para el paciente. Esta derivación propuesta ayudó al desarrollo de nuevas técnicas para el dializado y permitió la evolución en la elaboración de membranas más selectivas y con mejores propiedades [14].

Hoy en día los dializadores generalmente utilizan membranas de placa plana porosas y membranas de tipo fibra hueca elaboradas por el método de inversión de fases. Las investigaciones actuales se centran en controlar la transferencia de masa y difusión de toxinas urémicas a través de la membrana de diálisis, lo cual está directamente relacionado con el material y estructura de ésta. Además, es de gran importancia la mejora de la biocompatibilidad de la membrana que permita la disminución de reacciones adversas.

1.2.1. Principios físicos

A medida que la sangre circula a lo largo de la membrana del dializador, las toxinas urémicas se difunden hacia el dializado, que se descarta, bajo la acción del gradiente de concentración (ver figura 1.1).

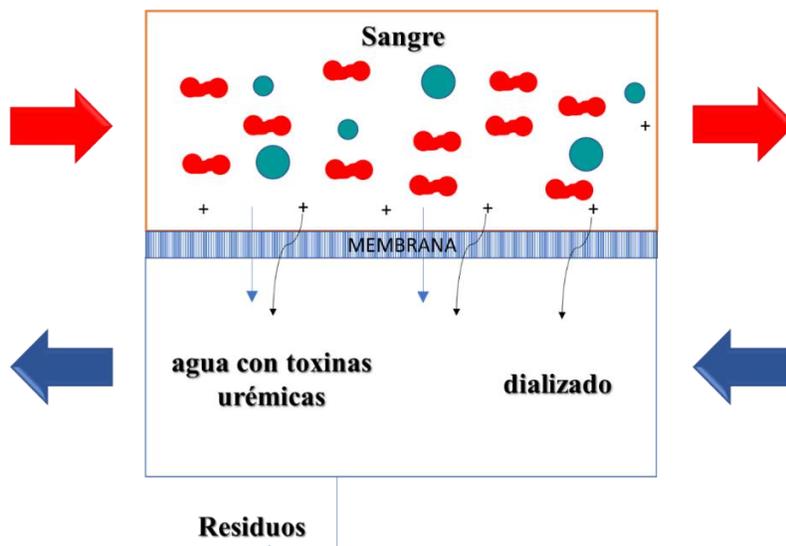


Figura 1.1. Interacción membrana-fluido

Para evitar que la sangre pierda sus iones, estos se incluyen en el líquido de dializado (líquido en el cual se depositan los productos de desecho) a la misma concentración que en el plasma normal para obtener su difusión a través de la membrana [14].

Hay dos principios físicos generales sobre los que trabaja la hemodiálisis: 1) el transporte difusivo y 2) el transporte convectivo o ultrafiltración. Como se mencionó en el párrafo anterior, en el caso del transporte difusivo, los solutos más concentrados presentes en la sangre se mueven a través de la membrana hacia el líquido de diálisis a favor de un gradiente de concentración. Por el contrario, en el transporte convectivo o ultrafiltración, el disolvente y los solutos se mueven en conjunto desde la sangre al líquido de diálisis siguiendo un gradiente de presión transmembrana existente entre ambos compartimientos, siendo este gradiente resultante de varias presiones que actúan sobre los fluidos presentes. Dado que los pacientes urémicos producen poca o nada de orina, su exceso de agua se elimina de la sangre por ultrafiltración a través de la membrana, ya que la presión arterial es más alta que la presión del dializado. Esta ultrafiltración también contribuye a la eliminación de toxinas al trasportarlas al dializado. Esta transferencia convectiva es más eficiente que la difusión de toxinas de alto peso molecular [15].

1.2.2. Características de las membranas de diálisis

Coefficiente de difusión

La eliminación de solutos de bajo peso molecular (urea, creatinina) a través de la membrana se lleva a cabo por un proceso de difusión inducido por el gradiente de concentración entre el plasma y la solución del dializado.

La rapidez de difusión está en función del grosor y la porosidad de la membrana, así como la difusividad del soluto en ella, y se expresa como el coeficiente de difusión de la membrana para un determinado soluto. La velocidad de difusión es mayor para moléculas pequeñas y disminuye de manera logarítmica conforme el tamaño del soluto aumenta. De igual manera, la difusión disminuye con el incremento del grosor de la membrana y al disminuir su porosidad [16].

Hidrofobicidad

En general, las membranas para hemodiálisis están elaboradas de una base polimérica hidrofóbica. Los materiales hidrofóbicos presentan elevado coeficiente de ultrafiltración, suelen formar membranas altamente porosas y presentan cierta biocompatibilidad. Sin embargo, las superficies hidrofóbicas adsorben proteínas del suero tanto en la superficie de la membrana como en la parte interna de los poros, lo cual trae como consecuencia la reducción del tamaño de poro y, por ende, la disminución del flujo y eliminación de otros solutos por transporte difusivo y convectivo. Por lo tanto, es muy importante tener un equilibrio en las propiedades de hidrofiliidad e hidrofobicidad de la membrana [17].

Eliminación de solutos

El desempeño del dializador se centra tradicionalmente en la eliminación de urea; sin embargo, la eliminación de moléculas más grandes de la sangre ha tenido mayor atención en los últimos años. En general, los solutos presentes en la sangre pueden clasificarse dentro de tres grupos (tabla 1.1): 1) moléculas pequeñas de bajo peso molecular (<500 Da); 2) moléculas de peso molecular medio (en un rango de peso molecular de 500 a 15,000 Da); 3) y moléculas grandes (>15,000 Da) [18].

Tabla 1.1. Clasificación del tamaño de moléculas en sangre

Clasificación de moléculas presentes en sangre	Intervalo de pesos moleculares (Daltons)
Moléculas pequeñas: Urea (60), creatinina (113), fosfato (134)	<500
Moléculas medias: B2-microglobulina (11818), vitamina B12 (1355)	500-15000
Moléculas grandes: Albumina (66000), EPO (34000)	>15000

La eficacia de la diálisis en la práctica clínica sólo se centra en la eliminación de urea. Esto es debido a que las moléculas de bajo peso molecular (LMW, por sus siglas en inglés “Low Molecular Weight”) se eliminan por difusión, mientras que los solutos de peso molecular medio (MMW, por sus siglas en inglés) se eliminan principalmente por convección, y la contribución de la convección a la eliminación total de solutos aumenta con el aumento del tamaño molecular. La convección causa una acumulación de solutos grandes en la superficie de la membrana, lo que influye en la difusión y el gradiente de concentración sobre la membrana.

Por otro lado, la difusión cambia las concentraciones locales de solutos, lo que tiene un impacto en su transporte neto convectivo. Como consecuencia, es imposible especificar la contribución exacta de la convección al aclaramiento total del dializador. Sin embargo, el flujo de ultrafiltración tiene un mayor impacto en solutos grandes, que no se difunden fácilmente a través de la membrana. Finalmente, las moléculas medianas también se pueden eliminar por adsorción en la membrana. Sin embargo, este fenómeno depende del tipo de membrana, y se observa especialmente con el poli(metacrilato de metilo) (PMMA) y algunas membranas de poliacrilonitrilo (PAN). Con esta última membrana, generalmente se observa que la adsorción se anula en las primeras etapas del tratamiento de diálisis, mientras que la convección se vuelve dominante en la etapa posterior [19].

Además, la eliminación de soluto por adsorción y convección se potencia mediante el uso de flujos de ultrafiltración elevados. Los datos de rendimiento del dializador de mayor interés para el médico en la práctica clínica diaria son: (a) su capacidad para eliminar la urea y otras moléculas de bajo peso molecular normalmente eliminadas en la orina (eliminación de pequeños solutos), (b) su coeficiente de ultrafiltración (flujo), (c) su habilidad para expulsar moléculas medianas, y (d) su capacidad para retener albúmina y sustancias más grandes [20].

Área de superficie

La mayor superficie de la membrana por unidad de volumen en el dispositivo de separación da como resultado una mayor eficacia en la eliminación de solutos en el proceso de diálisis. Es decir, el área de la superficie es la clave para determinar qué tan eficiente es un dializador para eliminar sustancias tóxicas. Si todos los demás factores son iguales, los dializadores con más área de superficie pueden estar en contacto con más sangre. Esto significa que se pueden eliminar más solutos tóxicos de la sangre. En general, los fabricantes de dializadores reportan las áreas superficiales de membrana efectivas medidas en estado seco, sin embargo, estas mediciones varían *in vivo*, debido a la humectación de la membrana con solución salina, sangre o líquido de diálisis

Biocompatibilidad

Los materiales en contacto con tejidos vivos o fluidos fisiológicos, comúnmente llamados biomateriales, pueden llegar a desencadenar una amplia serie de efectos que determinan su biocompatibilidad. En el tratamiento de diálisis, la biocompatibilidad del material es importante debido a la frecuencia y continuidad en el que estará en contacto con la sangre, además del líquido de diálisis [21].

Activación del complemento

Uno de los principales métodos para determinar la biocompatibilidad de la membrana es mediante la activación del complemento. La principal misión del complemento es eliminar cualquier patógeno que se encuentre en la circulación y es un mecanismo de defensa de nuestro sistema [22]. Es considerado un elemento de importancia debido a que su ausencia

puede ocasionar una susceptibilidad importante a infecciones, sin embargo, su activación en exceso también puede resultar dañina. El sistema de complemento está compuesto por una serie de proteínas que reaccionan ante estímulos de patógenos en el sistema, enviando un mensaje a las células del cuerpo para combatirlo.

1.2.3. Tipos de membranas usadas en diálisis

Los procesos de síntesis y polimerización permiten fabricar membranas con coeficientes de transferencia de masa variables y con propiedades biológicas peculiares que pueden afectar su biocompatibilidad.

Existen más de 30 materiales diferentes con los que se elaboran las membranas para dializadores. Estos materiales pueden ser de tres tipos: derivados de productos naturales, semisintéticos y sintéticos.

Debido a la cantidad de materiales utilizados, será más sencillo clasificarlos en dos familias: la primera será de membranas de celulosa, mientras que la segunda familia son las membranas elaboradas con polímeros sintéticos. Esta clasificación está dada principalmente por la composición del material, ya que también pueden clasificarse por su compatibilidad, funcionalidad, economía, etc [23].

Membranas de celulosa

La celulosa es un polímero natural y semicristalino que está compuesto por unidades repetitivas de celobiosa, las cuales están constituidas por dos moléculas de glucosa que contienen tres grupos hidroxilo cada una, siendo estos más susceptibles a reacciones químicas, formando ésteres (acetato y nitrato de celulosa) y éteres (etil celulosa). Debido a su estructura de cadena lineal regular, la celulosa es altamente cristalina y, a pesar de ser un polímero muy hidrofílico, no es soluble en agua porque las cadenas interactúan entre a través de un gran número de puentes de hidrógeno. Dado que el polímero natural es insoluble, éste es modificado químicamente para que sea soluble en agua, por medio de la acetilación (acetato, diacetato, triacetato) por combinación con complejos amino de cobre (cupramonio). Los materiales resultantes son hidrofílicos y contienen una notable cantidad de agua. El grado

de hidrofiliidad imparte una carga eléctrica parcial, que da como resultado una fuerte polaridad. Estas membranas comenzaron a ser utilizadas a mediados de los años 80's y se caracterizan por presentar espesores delgados (6-15 μm) y un tamaño de poro promedio de 22 μm . Los beneficios clínicos reportados incluyen alta antitrombogenicidad y alta adsorción de albúmina [9]. Sin embargo, se reportó que al disminuir los grupos OH por su modificación se reduce la compatibilidad con la sangre y genera una menor proporción de purificación ante las toxinas [24].

Membranas de polímeros sintéticos

La mayoría de las membranas para diálisis están hechas de polímeros sintéticos como la polisulfona (PSf), polietersulfona (PES), polimetacrilato de metilo (PMMA), mezclas de polietersulfona/polivinil pirrolidona (PVP)/poliamida (PA), copolímeros de etileno y alcohol vinílico (EVAL) y poliacrilonitrilo (PAN). Este tipo de membranas posee una matriz esponjosa central, que les confiere resistencia, recubierta por dos películas porosas. Las propiedades del transporte difusivo están determinadas por esta matriz esponjosa, mientras que las del transporte convectivo corresponden con las películas que la recubren, que pueden ser hidrofílicas o hidrofóbicas [25].

Como es habitual en la química de los polímeros, pequeñas modificaciones estructurales o de la secuencia de monómeros pueden originar diferencias sustanciales de las propiedades físicas y de interacción biológica del material. A continuación, se describirán algunas características de los materiales utilizados en membranas y su efecto en diálisis [3, 24].

Polisulfona (PSf)

La PSf es un polímero amorfo que tiene un grupo sulfona en la estructura de la unidad repetitiva (ver figura 1.2). Posee estabilidad química y térmica y, además, es el único material de todos los usados en diálisis que puede ser esterilizado por todos los métodos de esterilización sin sufrir cambios estructurales.

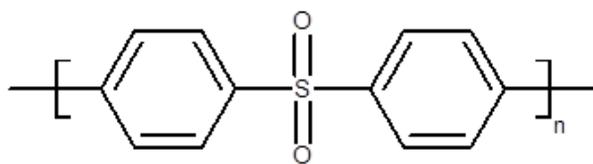


Figura 1.2. Estructura de PSf

Otra ventaja de la PSf es su capacidad de retención efectiva de un amplio intervalo de endotoxinas, característica que es de vital importancia de alto flujo, cuando el fenómeno de retrofiltración podría resultar en el paso de endotoxinas bacterianas. Esta capacidad de separación de toxinas urémicas le proporciona una baja citotoxicidad, la cual es otra propiedad importante de las membranas para diálisis. Es por ello que la polisulfona y sus mezclas con otros polímeros son los materiales más utilizados para la elaboración de membranas para hemodiálisis a nivel comercial [8].

Sin embargo, las membranas de PSf son altamente hidrofóbicas y cuando entra en contacto con la sangre rápidamente adsorbe las proteínas. Esto último, trae como consecuencia no sólo efectos adversos en el cuerpo, sino también provoca incrustaciones o ensuciamiento tanto en la superficie como en los poros internos de la membrana, reduciendo así la permeabilidad y la selectividad.

Polietersulfona (PES)

La polietersulfona como material base en la elaboración de membranas para diálisis ha demostrado ser ideal en rendimiento y depuración (ver figura 1.3). La generación más reciente de membranas de PES muestra las mejores características de biocompatibilidad y una excelente eliminación de proteínas de bajo peso molecular debido a su excelente permeabilidad y selectividad. Las membranas de alto rendimiento de polietersulfona son altamente eficientes, biocompatibles, seguras y adecuadas para todos los procedimientos actuales de diálisis [26].

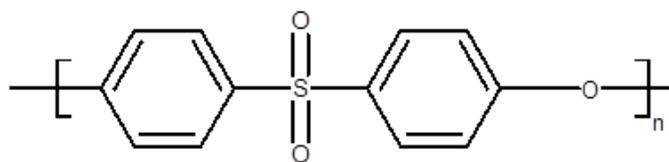


Figura 1.3. Estructura de PES

Polimetacrilato de metilo (PMMA)

La membrana de PMMA es altamente biocompatible y es capaz de eliminar la β 2-microglobulina por adsorción (ver figura 1.4), debido a que contiene una estructura homogénea en la que la eliminación por adsorción se da a través de toda la membrana en lugar de eliminarse únicamente en la superficie. Por otra parte, recientes estudios [27] han demostrado que las membranas de PMMA presentan alta retención de compuestos tóxicos que pueden producir daño cardiovascular por difusión endotelial y especies reactivas al oxígeno. En general, las membranas de PMMA presentan una alta capacidad de adsorción de diversas toxinas urémicas que podrían normalmente ser excretados por el riñón [10], mejorando la respuesta a la vacuna contra la hepatitis B y preservando la masa muscular, especialmente en adultos mayores.

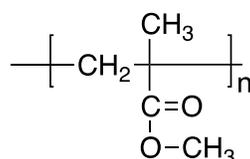


Figura 1.4. Estructura de PMMA

Poliacrilonitrilo (PAN)

Las membranas de PAN son hidrofílicas y pueden formar una estructura tipo hidrogel, lo cual le otorga una alta permeabilidad difusiva e hidráulica (ver figura 1.5). Las membranas fabricadas con PAN muestran una alta permeabilidad a los fluidos y ayudan a la eliminación de un amplio espectro de toxinas, además de tener una excelente biocompatibilidad [3].

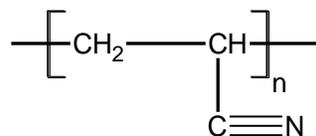


Figura 1.5. Estructura de PAN

A continuación, se presenta una tabla de las ventajas y desventajas de las membranas para hemodiálisis mencionadas anteriormente (ver tabla 1.2) [28].

Tabla 1.2. Ventajas y desventajas de membranas para hemodiálisis

Tipo de Membrana	Nombre	Ventaja	Desventaja
Celulosa	Cupropham ®	Buena eliminación de solutos pequeños	Alta activación de complemento. Penetración de productos bacterianos desde el dializado a la sangre. No elimina moléculas medias de la sangre.
Celulosa Modificada	Acetato de celulosa (CA) (grupos hidroxilo reemplazados por grupos acetato)	Menor activación del complemento en comparación con membranas de celulosa sin modificar	Mayor activación del complemento, en comparación con membranas sintéticas Mayor muerte de neutrófilos (apoptosis).
	Hemophan ® (varios grupos hidroxilo reemplazados por aminas ternarias)	Menor activación del complemento en comparación con membranas de celulosa sin modificar	Mayor producción de citocinas proinflamatorias en comparación con las membranas PAM
	Celulosa modificada sintéticamente (SMC) (grupos hidroxilo reemplazados con grupos bencilo)	Menor activación del complemento en comparación con membranas de celulosa sin modificar	Baja eliminación de β_2 -microglobulina
	Cuprammonium rayon	Menor activación del complemento en	Alta pérdida de albúmina

		comparación con Hemophan ® y celulosa sin modificar	
Sintéticos	Policarbonato (PC)	Hidrofilicidad natural, baja activación del complemento comparada con membranas de celulosa sin modificar	Alta producción de marcadores inflamatorios
	Polisulfona (PS)	Remueve β_2 -microglobulina. Baja tasa de mortalidad comparada con membranas de celulosa	Causa activación neutrofílica Incrementa la producción de citocinas proinflamatorias
	Poliamida (PAM)	Remueve β_2 -microglobulina	Riesgo de reacción anafiláctica Activación del complemento
	Polietersulfona (PES)	Remueve moléculas de peso molecular medio	Adsorción de proteínas en su superficie. Activación del sistema inmune.
	Poliacrilonitrilo (PAN)	Adsorción de proteínas pequeñas y medianas, y productos bacterianos. Baja activación neutrofílica.	Alto riesgo de reacciones anafilácticas comparada con otras membranas sintéticas, Persiste activación del complemento
	Poli(metacrilato de metilo) (PMMA)	Remueve proteínas de peso molecular medio Baja producción de citocinas proinflamatorias Efecto positivo sobre la anemia	Activación del complemento Leucopenia leve

1.3. Poli(ácido láctico) (PLA)

El PLA es un poliéster biodegradable que se obtiene a partir de la síntesis química de recursos renovables. Es uno de los bioplásticos más investigados y utilizados comercialmente, ya que

puede obtenerse a partir del ácido láctico en diferentes medios. El PLA puede sintetizarse por dos mecanismos diferentes: por policondensación del hidroxilo de ácido o por polimerización por apertura de anillo del monómero cíclico lactida (ver figura 1.6) [29].

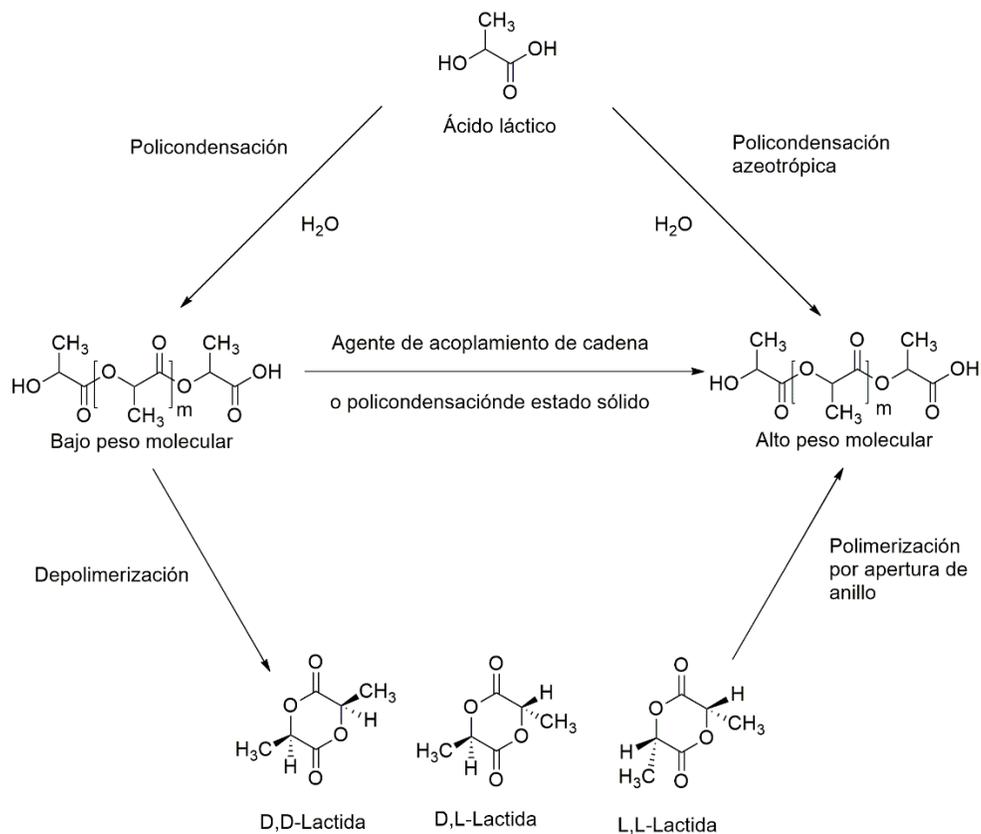


Figura 1.6 Rutas de síntesis del PLA

El PLA ha sido ampliamente utilizado en aplicaciones biomédicas; por ejemplo, en suturas, placas y tornillos reabsorbibles, en liberación de fármacos, y, en los últimos años, se ha utilizado para el desarrollo de membranas para hemodiálisis [30].

La alta hidrofobicidad del PLA permite la adsorción de ciertos contaminantes que se depositan en su superficie a través de una interacción hidrofóbica y electrostática, lo cual ocasiona una bioincrustación grave. La incrustación de los contaminantes promueve una reacción adversa en cadena durante el proceso de diálisis, como adsorción de proteínas y deposición en la superficie junto con la adhesión plaquetaria y la activación de las vías de

coagulación, lo que provoca respuestas trombogénicas del sistema inmune y otros tejidos [31].

Una de las ventajas de PLA es que puede ser adaptado a otros materiales para mejorar sus propiedades. Algunos intentos por mejorar las propiedades físicas y químicas son por copolimerización o por medio de mezclas con polímeros hidrofílicos/hidrofóbicos a fin de incrementar su área superficial, porosidad, permeabilidad, así como sus propiedades mecánicas. Por ejemplo, Lijing Zhu y colaboradores (2015) [32] elaboraron membranas para hemodiálisis con un gran mejoramiento en su capacidad de antiensuciamiento y hemocompatibilidad a partir del uso de mezclas de PLA con PLA-co-poli(metacrilato de 2-hidroxiethyl) (PHEMA), de las cuales la membrana con un 15 % de contenido del copolímero PLA-co-PHEMA presentó una mejora en la separación de flujo y de soluto comparadas con la membrana de puro PLA. En ese mismo año, Xuemin Yu y colaboradores [33] elaboraron membranas de copolímeros de polisulfona con injertos de PLA. Demostraron que la membrana de PLA modificada exhibía un flujo de agua pura de $54 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$, 95% de rechazo de BSA y un 65% y 18% de eliminación de urea y lisozima, respectivamente. Además, la estabilidad mecánica y térmica de la membrana modificada de PLA mejoró al incorporar el copolímero PSf-g-PLA.

Por otra parte, Ailin Gao en 2013 [34] reportó la preparación de membranas porosas por el método de inversión de fase de PLA para hemodiálisis. Posteriormente, modificaron las membranas por inmovilización de heparina sobre una capa de dopamina previamente agregada en la superficie de la membrana de PLA. La heparinización superficial en la membrana de PLA mejoró significativamente la adhesión plaquetaria, el tiempo de recalcificación del plasma y la disminución de la proporción de hemólisis. La prueba de simulación de diálisis reveló que la membrana de PLA inmovilizada con heparina limpió un 80% de urea, 18% de lisozima y retuvo más del 90% de BSA. En el 2012, Chantiga Choochottiros y colaboradores [35], sintetizaron copolímeros a partir de PLA y PMMA usando una combinación de dos técnicas de polimerización: apertura de anillo (ROP) y polimerización radicalica por transferencia de átomos usando un agente regenerativo (ARGET ATRP, por sus siglas en inglés). El PLA fue preparado como macroiniciador con

bromo activado como grupo terminal (PLA-Br). En este trabajo se estudiaron principalmente las propiedades mecánicas y térmicas del material, el cual demostró una mejora en la estabilidad térmica en comparación con el PLA puro. De igual manera, demostraron que el material aumentó su resistencia al impacto, lo cual se comprobó a través del módulo de Young.

Recientemente, se ha estudiado la modificación de las membranas de PLA con óxido de grafeno carboxilado y dopamina (DA-g-GOCOOH) [36] para mejorar la hemocompatibilidad. Esta modificación demostró una mejora en las propiedades de hidrofiliidad, así como una menor adhesión plaquetaria en su superficie y presentó una reducción de hemólisis hasta menos del 0.3%. Además, presentó un aclaramiento de moléculas medias en un 24%.

1.4. Métodos de obtención de membranas

En la actualidad, existen una gran variedad de técnicas para la obtención de membranas y la selección del método apropiado dependerá del tipo de material por utilizar, así como la aplicación final que tendrá la membrana [37]. Algunas membranas comerciales se obtienen a partir del método de inversión de fase. Esta técnica es un proceso por el cual un polímero es transformado de manera controlada de un estado líquido a uno sólido.

Hay tres métodos principales para obtener membranas: 1) precipitación por evaporación de disolvente, que consiste en colocar una solución polimérica en un soporte no poroso y dejar evaporar el disolvente a una temperatura controlada; de manera que se obtiene una membrana densa; 2) evaporación controlada, el cual consiste en disolver el polímero en una mezcla de disolvente/no solvente. Debido a que el disolvente es más volátil a diferencia del no solvente, la composición de la mezcla cambia durante la evaporación, obteniendo un mayor contenido de no solvente y polímero, lo que promueve la precipitación del polímero y la formación de la membrana; y por ultimo 3) precipitación por inmersión, el cual consiste en una solución polimérica (polímero más disolvente) que es vertida en un soporte adecuado (metal o cristal) y sumergida en un baño de coagulación que contiene un no solvente (comúnmente se utiliza agua). La precipitación ocurre debido al intercambio del solvente y no solvente en la solución

polimérica. La estructura de la membrana obtenida al final resulta de la combinación de transferencia de masa y separación de fase [38].

El método utilizado para la obtención de membranas para filtración, como es el caso de las utilizadas en hemodiálisis, es la técnica de precipitación por inmersión o mejor conocida como separación de fase inducida por un no solvente (NIPS, por sus siglas en inglés, Nonsolvent Induced Phase Separation), debido al tamaño de poro que puede obtenerse. Muchos factores son necesarios para controlar y manipular la formación de la membrana, por ejemplo, parámetros de solubilidad y la temperatura [31].

1.5. Justificación

En el área de polímeros, las aplicaciones biomédicas son de gran importancia. En particular, en el desarrollo de membranas para diálisis, debido a que constituye un tratamiento sustitutivo para la enfermedad renal, que en la actualidad constituye una de las principales causas de muerte en el mundo. En general, la biocompatibilidad y la interacción hidrofóbica-hidrofílica, entre la superficie de la membrana con los componentes orgánicos de la sangre, son dos características importantes por considerar en el desarrollo e investigación de nuevos materiales para membranas o en la modificación química y superficial que mejore los materiales actualmente utilizados. Aunque existen en la literatura algunos reportes relacionados con el desarrollo de membranas a partir de PLA [35, 34, 32], pocos son capaces de mejorar tanto la biocompatibilidad como el desempeño antiincrustamiento en las membranas. Por ello, en este trabajo de investigación se propone investigar la eficiencia de diálisis de membranas de PLA modificadas a través de la mezcla con copolímeros en bloque anfifílicos. Los copolímeros se seleccionaron considerando que contengan un bloque polimérico hidrofóbico (PMMA) que sea miscible con la matriz polimérica de PLA y un segundo bloque de poli(ácido 2-acriloamido-2-metilpropanosulfónico) (PAMPS), poli(metacrilato de 2-hidroxi etilo)(PHEMA) o poli(metacrilato de 2-dimetilamino etilo) (DMAEMA) con diferentes grupos funcionales que les confieren hidrofiliidad y biocompatibilidad. Por último, para evitar el incrustamiento en la superficie, se propone la deposición de los copolímeros funcionalizados mencionados anteriormente (PMMA-*b*-

PHEMA, PMMA-*b*-PDMAEMA y PAMPS-*b*-PMMA) en la superficie de las membranas por la técnica de pulverización por espray. Esta técnica ha sido elegida debido a su facilidad para aplicar revestimientos de manera sencilla en diferentes sustratos con baja rugosidad superficial.

CAPITULO II. MATERIALES Y METODOLOGÍA

A continuación, se presenta un esquema general (figura 2.1) de la metodología experimental llevada a cabo para el desarrollo y caracterización de membranas de mezclas de poli(ácido láctico) (PLA) con copolímeros anfifílicos para su aplicación en diálisis. El proyecto se encuentra dividido en tres etapas. En la primera, se sintetizaron los copolímeros anfifílicos en bloque de PMMA-*b*-PDMAEMA, PMMA-*b*-PHEMA y PAMPS-*b*-PMMA, los cuales se caracterizaron por resonancia magnética nuclear de protón (¹H-RMN) para confirmar la estructura química y el grado de copolimerización de cada uno. En la segunda etapa, se elaboraron las membranas asimétricas de PLA y de mezclas de PLA con cada uno de los copolímeros en una proporción 85/15 (% peso/peso). Posteriormente, las membranas de mezclas se impregnaron de los copolímeros funcionalizados en la superficie y éstas se compararon con las membranas sin aplicación del pulverizado. Finalmente, en la etapa 3, se realizaron las pruebas de hidrofiliicidad y de flujo, así como la prueba de diálisis para la evaluación de las membranas.

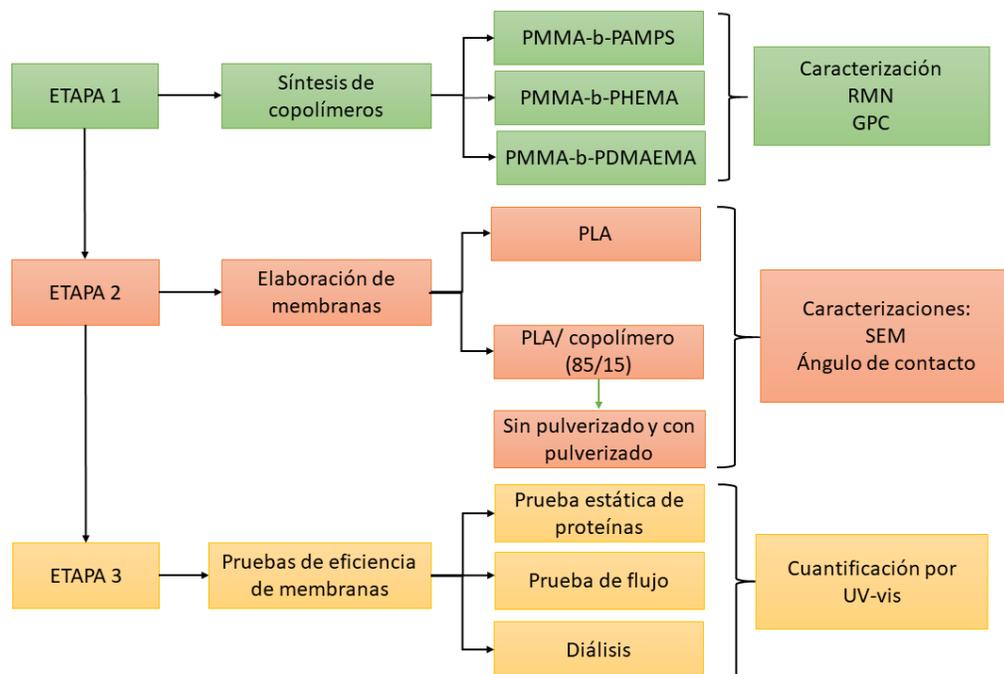


Figura 2.1 Metodología experimental

2.1. MATERIALES

Los monómeros de metacrilato de metilo (MMA), metacrilato de 2-hidroxiethyl (HEMA), metacrilato de 2-(dimetilamino) etilo (DMAEMA) y ácido 2-acriloamido-2-metilpropanosulfónico (AMPS) fueron adquiridos de Sigma Aldrich. Es importante mencionar que los monómeros HEMA y DMAEMA se purificaron a través de columnas removedoras de inhibidor y se almacenaron en refrigeración hasta su uso. Para los procesos de síntesis y caracterización se utilizaron los siguientes disolventes: anisol, tolueno, tetrahidrofurano (THF), 1-propanol, 2-butanona, cloroformo deuterado (CDCl_3), N,N-dimetilacetamida (DMAc), metanol deuterado (CD_3OD) y dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-d_6) los cuales fueron abastecidos por Sigma Aldrich, al igual que los catalizadores cloruro de cobre (CuCl) y bromuro de cobre (CuBr), el iniciador 2-bromoisobutirato de etilo (EBiB) y el ligante 2,2'-bipiridina (bpy). Para la realización de las pruebas de diálisis y absorción de proteínas, se utilizaron Albumina de Suero Bovino (BSA), urea y lisozima. El catalizador de rutenio (II) fue sintetizado de acuerdo con lo reportado en la literatura [39, 40].

2.2. ETAPA 1: SÍNTESIS DE COPOLÍMEROS

2.2.1. Síntesis del macroiniciador PMMA-Br

La síntesis del macroiniciador de PMMA-Br se llevó a cabo de acuerdo con lo reportado en la literatura [41]. En primer lugar, el monómero (MMA) y el disolvente (tolueno) fueron burbujeados con nitrógeno (N_2) durante 15 minutos para eliminar el oxígeno. Las cantidades utilizadas para la síntesis se presentan en la siguiente tabla (tabla 2.1).

Tabla 2.1. Cantidades utilizadas para la síntesis del macroiniciador

Reactivo	Cantidad
MMA	5.055 g
CuBr(I)	36 mg
Bpy	78 mg
EBiB	76 μl

Posteriormente, ambos (MMA y tolueno) se añadieron al matraz bajo atmósfera inerte (flujo de N₂) y se dejó en agitación hasta su completa disolución; para continuar, el CuBr(I) y el ligante bipyridina se añadieron al matraz y nuevamente se dejó en agitación hasta quedar una solución homogénea. Por último, se realizaron 3 ciclos de N₂-vacío para eliminar cualquier presencia restante de oxígeno en el sistema. Los ciclos se realizaron de la siguiente forma: el matraz se congela con nitrógeno líquido, se aplica vacío por 20 segundos e inmediatamente se añade N₂ al sistema, se descongela y se inicia de nuevo el ciclo. Una vez finalizado este paso, se añadió el iniciador EBiB al matraz y se colocó en un baño de aceite a 80 °C durante 4 h y en agitación (ver figura 2.2). La relación estequiométrica usada en la síntesis del macroiniciador fue de 100/1/1/2 (relación monómero/iniciador/catalizador/ligante) y 50/50 (% v/v) de monómero/disolvente.

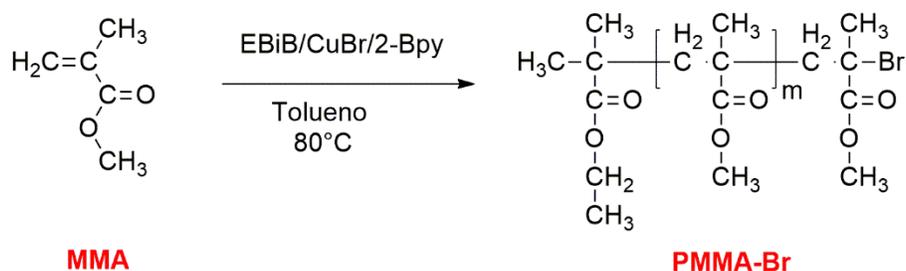


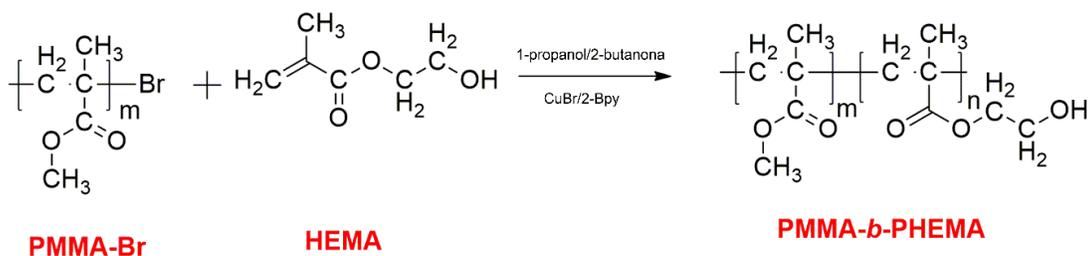
Figura 2.2. Síntesis del macroiniciador PMMA-Br

Al finalizar la reacción, el macroiniciador se disolvió en THF y se pasó a través de una columna de alúmina básica eliminar residuos de monómero y catalizador. El material se recuperó por evaporación del disolvente.

2.2.2. Síntesis de PMMA-b-PHEMA

Una vez obtenido el macroiniciador, se prosiguió con la síntesis del copolímero PMMA-*b*-PHEMA de acuerdo con lo reportado por Taylor et al. [42] usando una relación molar de 1/100/1/2 de macroiniciador/monómero/catalizador/ligante, respectivamente. Primero, los disolventes utilizados (1-propanol y 2-butanona) así como el monómero (HEMA) se burbujearon por 15 min con N₂. La mezcla de disolventes 1-propanol/2-butanona (30/70 % v/v) con el PMMA-Br se agregaron a un matraz Schlenk dejándose en agitación constante

hasta obtener una solución homogénea. Se añadieron el catalizador CuBr(I) y la bipyridina y nuevamente se dejó en agitación hasta su completa homogeneización. Se realizaron 3 ciclos de N₂-vacío como el descrito en la sección anterior. La mezcla de reacción se dejó en un baño de aceite a 80 °C por 5 horas (ver figura 2.3).

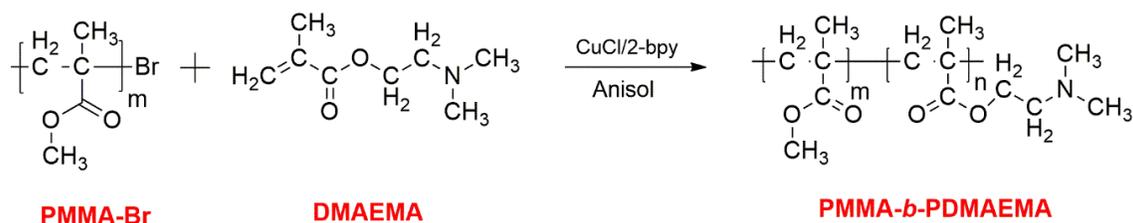


*Figura 2.3. Síntesis del copolímero PMMA-*b*-PHEMA*

Para purificar el copolímero, primero se pasó a través de una columna de alúmina básica y se evaporó el disolvente para obtener el copolímero seco.

2.2.3. Síntesis de PMMA-*b*-PDMAEMA

El proceso de síntesis para el copolímero PMMA-*b*-PDMAEMA es similar al utilizado en la síntesis del PMMA-*b*-PHEMA, pero en este caso usando anisol como disolvente y CuCl como catalizador. El anisol y el monómero DMAEMA se desgasificaron por 15 minutos con N₂ previo a su uso [43, 41, 44]. El orden en que se agregaron los reactivos fue igual que en la síntesis de PMMA-*b*-PHEMA. El copolímero obtenido se purificó a través de una columna rellena de alúmina básica y sílica gel para eliminar los residuos de catalizador y monómero residual (ver figura 2.4).



*Figura 2.4. Síntesis del copolímero PMMA-*b*-PDMAEMA*

2.2.4. Síntesis de PAMPS-*b*-PMMA

La síntesis del copolímero PAMPS-*b*-PMMA se llevó a cabo usando como catalizador el complejo de rutenio [Ru(o-C₆H₄-2-py)(bpy)(MeCN)₂]PF₆ siguiendo una metodología diferente a las descritas anteriormente. En un matraz Schlenk de 25 mL, con agitación, se agregó 1.62 g (7.8 mmol) del AMPS, 25 mg (0.039 mmol) de catalizador [Ru(o-C₆H₄-2-py)(bpy)(MeCN)₂]PF₆ y 2 mL de dimetilformamida (DMF). La mezcla se agitó hasta su completa disolución y se desgasificó mediante tres ciclos de congelamiento-vacío-N₂. Posteriormente, se agregó 5.73 μL (0.039 mmol) de EBiB y se dejó reaccionar por 10 horas a 80 °C.

Terminado el tiempo de reacción, a la solución polimérica viscosa se agregó 1 mL de DMF para disminuir la viscosidad, se agregó el monómero MMA previamente desgasificado y se dejó reaccionar por otras 24 h a 80 °C (ver Figura 2.5). Finalizado el tiempo de reacción el copolímero se purificó a través de una columna rellena de florisil y la solución obtenida se concentró a vacío y se precipitó en acetato de etilo. El precipitado se filtró y lavó varias veces con acetato de etilo. Finalmente, el copolímero se secó a 80 °C en una estufa de vacío por 24 horas.

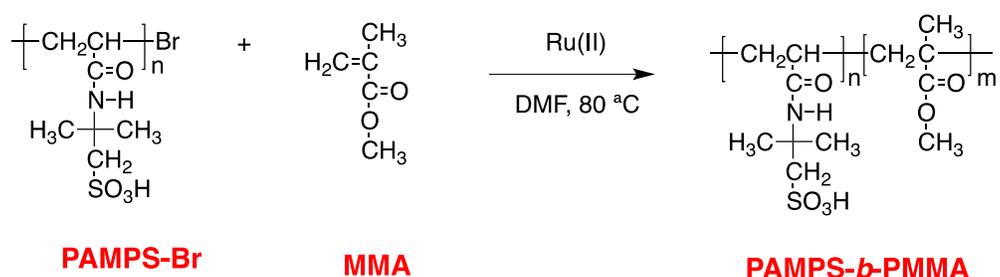


Figura 2.5. Síntesis del copolímero PAMPS-*b*-PMMA

2.2.5. Caracterización de copolímeros

La estructura química de cada uno de los copolímeros sintetizados se confirmó por resonancia magnética nuclear de protón (¹H-RMN). Para el análisis, los materiales obtenidos PMMA-Br, PMMA-*b*-PHEMA, PMMA-*b*-PDMAEMA y PAMPS-*b*-PMMA se disolvieron en

CDCl₃, DMSO-d₆, CDCl₃ y CD₃OD, respectivamente. Las caracterizaciones se realizaron en el Laboratorio Nacional de Nano y Biomateriales (LANNBIO) del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico (CINVESTAV) unidad Mérida, usando un espectrómetro Varian-600. Los pesos moleculares (PM) y su distribución (DPM) se determinaron en un equipo cromatógrafo de permeación en gel (GPC) Agilent 1100 HPLC equipado con un detector de índice de refracción (IR) y 2 columnas Zorbax PSM 60-S y PSM 1000-S. Se utilizó DMF con 0.05% de LiBr como fase móvil a una velocidad de flujo de 1.0 mL/min. Para la calibración se utilizaron muestras estándar de poli(metacrilato de metilo).

2.3. ETAPA II: ELABORACIÓN DE MEMBRANAS

Las membranas se elaboraron por el método de inversión de fases. A continuación, se describe en detalle la preparación de las mezclas y las membranas por el método de inversión de fases. Se utilizaron 3 diferentes baños de coagulación para su obtención: agua, agua/DMAc (90/10 % v/v) y agua/acetona/isopropanol (95/2.5/2.5 % v/v/v).

2.3.1. Elaboración de membrana de PLA

Con la finalidad de conocer la eficiencia de diálisis de las membranas de mezclas de PLA/copolímeros en comparación con las membranas de PLA puro, se elaboró una membrana 100% de PLA de acuerdo con lo reportado en la literatura [45]:

El PLA (3.6 g) se disolvió en DMAc (20 mL) durante 24 horas a 85°C. Se verificó que la solución no contuviera burbujas en su interior, para evitar que la membrana se forme con rugosidades en su superficie. La solución polimérica se colocó en una placa de acero inoxidable y se realizó el rasamiento de la solución por la superficie con ayuda de una cuchilla para rasado de película previamente graduada a 80 µm de espesor. Inmediatamente se colocó en el baño de coagulación donde la formación de la membrana porosa se llevó a cabo en un lapso de 15-20 min (ver figura 2.6). Por último, se lavó varias veces con agua destilada para eliminar cualquier residuo.

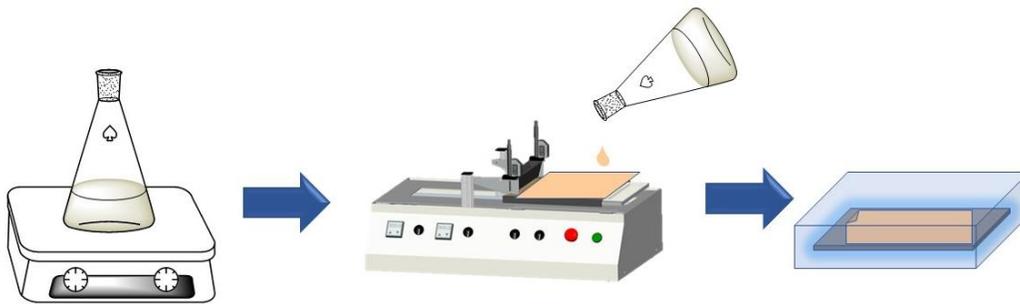


Figura 2.6. Proceso de elaboración de membranas por inversión de fases

2.3.2. Elaboración de las membranas PLA/copolímero

Las mezclas de cada copolímero sintetizado con el PLA se realizaron de la siguiente manera: la mezcla de PLA/copolímero con proporción 85/15 (% peso/peso) se disolvió en DMAc por 24 h a 85 °C. En un experimento típico, se disolvió 1.7 g de PLA y 0.3 g de uno de los copolímeros en 8 mL de DMAC durante 24 h. Posteriormente se realizó el mismo procedimiento de preparación de membrana e inversión de fases que el descrito para la membrana de PLA. Las membranas se formaron en un tiempo de 25- 30 min usando los baños de coagulación mencionados. De igual forma, se realizan lavados con agua destilada para eliminar los residuos del disolvente.

2.3.3. Incorporación superficial de copolímeros funcionalizados en las membranas

Una vez obtenidas las membranas, el proceso continúa con la incorporación de los copolímeros funcionalizados en la superficie de cada membrana.

Las soluciones de copolímeros preparadas para el pulverizado fueron del 6% (% peso/volumen) y se usaron diferentes disolventes para cada copolímero. Para solubilizar el copolímero PMMA-*b*-PHEMA se utilizó una mezcla de disolventes de 1-propanol/2-butanona en una proporción 30/70 (% volumen/volumen) y se dejó en agitación a temperatura ambiente por 24 h. Al obtener una solución homogénea se pulverizó sobre la superficie de la membrana PLA/PMMA-*b*-PHEMA, tal como se muestra en la figura 2.7. Para la membrana de PLA/PMMA-*b*-PDMAEMA y PLA/PMMA-*b*-PAMPS, el procedimiento se realizó de la

misma manera, sin embargo, los disolventes utilizados para disolver los copolímeros fueron cloroformo y metanol, respectivamente.

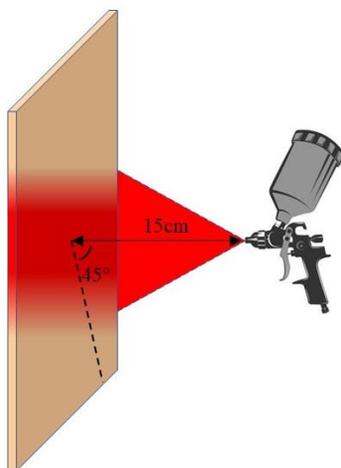


Figura 2.7. Aplicación de copolímeros funcionalizados, 8 ciclos

A cada membrana se le aplicaron 8 ciclos de pulverización en su superficie a una distancia de 15 cm entre el aerógrafo (marca GONI mod. 954) y la superficie. Entre cada ciclo de pulverizado se esperaron 5 min para que la superficie se secase.

2.3.4. Caracterización de membranas

Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Para la caracterización morfológica de las membranas se prepararon muestras superficiales y transversales. Las transversales se prepararon sumergiendo las muestras en nitrógeno líquido y una vez congeladas se fracturaron para obtener un corte fino. Para el análisis se utilizó un equipo de microscopía electrónica marca JEOL-JSM-6360LV, previo al análisis las muestras se recubrieron con una capa de oro utilizando el equipo de metalización DENTON VACUUM DESCOPE.

Ángulo de contacto

Para comprobar la hidrofiliicidad de las membranas, se realizó la prueba de ángulo de contacto usando un goniómetro marca Ramé-Hart modelo 590. Se cortaron muestras de cada

membrana con un tamaño de 1 x 2 cm y cada una se colocó en un portaobjetos. La medición se realizó usando gotas de agua (10 µL) en 4 diferentes posiciones de la membrana y se reportó el promedio de los valores obtenidos.

2.4. ETAPA III: PRUEBAS DE EFICIENCIA DE DIÁLISIS

Se realizaron tres pruebas fundamentales para el estudio de la eficiencia de diálisis de las membranas elaboradas, las cuales son: prueba estática de proteínas, prueba de flujo y la prueba de diálisis.

2.4.1. Prueba estática de proteínas

La prueba estática de proteínas se realizó utilizando albúmina de suero bovino (BSA) como proteína. Cada membrana se cortó en círculos con diámetro de 4.5 cm y seguidamente se sumergieron en 50 mL de una solución de buffer de fosfatos (0.1 M, pH de 7.24) durante 24 h.

Una vez terminado el tiempo, se retiraron las membranas de la solución buffer y se colocaron en 50 mL de buffer de fosfatos/BSA (con una concentración de 1 mg/mL de proteína) y se dejaron por 3 h. Al finalizar el tiempo, las membranas se lavaron con abundante solución de buffer de fosfatos y agua destilada para retirar el exceso de proteínas en su superficie. La cantidad de proteínas adsorbidas se cuantificó usando un espectrofotómetro de UV-vis A&E Lab Mod. AE-UV1608 a una longitud de onda de 595 nm utilizando el método de Bradford [46, 47].

La concentración de proteínas fue determinada a partir de la ecuación (1):

$$Cantidad\ absorbida\ (\mu g/cm^2) = \frac{C_{inicial} - C_{final}}{S} \quad (1)$$

Donde $C_{inicial}$ es la concentración de proteínas en la solución inicial, C_{final} concentración de proteínas después de la inmersión de la membrana y S el área de la membrana (19.63 cm²).

2.4.2. Prueba de flujo y retención de proteínas

Las pruebas de flujo, anti-ensuciamiento y retención de proteínas se realizaron en una celda de alta presión Sterlitech HP4750 (ver figura 2.8). Las condiciones utilizadas en la medición de flujo se presentan en la tabla 2.2. La prueba de flujo y retención se llevó a cabo controlando la presión aplicada con un medidor de presión de 0-1000 psi marca Heise.

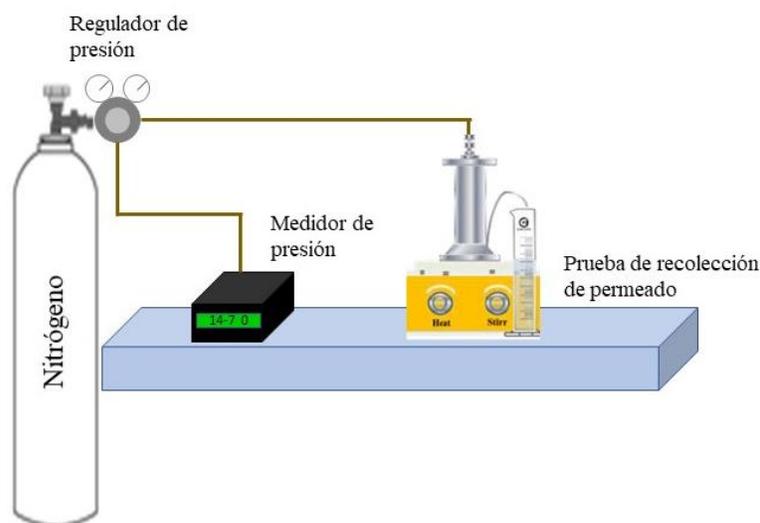


Figura 2.8. Celda de permeación Sterlitech HP4750

Para iniciar la prueba, la membrana se colocó en el interior de la celda, seguido por la aplicación de 250 mL de agua destilada y presión. Se midió el flujo de agua durante 15 min en un intervalo de 5 min entre cada medición. Este primer flujo será nombrado J_{w1} . Al finalizar los 15 min, se retiró el agua sobrante de la celda y se prosiguió a colocar 200 mL de solución de BSA/buffer fosfatos, la cual se dejó filtrando durante 15 min y se midió solamente la cantidad final filtrada. Al finalizar esta prueba, se retiró el sobrante de la solución de la celda y se agregó agua destilada sin retirar la membrana, se dejó en agitación constante durante 30 min para realizar la limpieza de la celda. Por último, se agregaron nuevamente 250 mL de agua destilada y se aplicó presión a la celda, tomando nuevamente cada 5 min la cantidad de agua filtrada (J_{w2}). Esta última prueba se realizó para conocer la variación entre el flujo inicial y final a través de la membrana [48].

Tabla 2.2. Parámetros utilizados para pruebas de flujo

Diámetro de membrana	Presión inicial	Volumen inicial	Concentración de proteínas	Flujo de permeado
4.5-5 cm	5.5 psi	250 mL	1 mg/mL	L/m ² h

Para calcular el flujo a través de la membrana, se utiliza la siguiente ecuación

$$J = \frac{V}{At} \quad (1)$$

Donde V es el volumen filtrado, A es el área efectiva de la membrana (14.6 cm²) y t es el tiempo en que se realizó la prueba (h).

Para evaluar la propiedad de relación de recuperación de flujo por reciclado (RFR) de la membrana, se utilizó la siguiente ecuación:

$$RFR (\%) = \frac{J_{w2}}{J_{w1}} \times 100 \quad (2)$$

Donde J_{w2} y J_{w1} son los flujos obtenidos al finalizar la prueba y al iniciarla, respectivamente. Un alto valor promedio de RFR es un indicador de anti-ensuciamiento (antifouling), ya que refleja un ensuciamiento mínimo que no disminuye la eficiencia de la membrana.

2.4.3. Prueba de diálisis

La prueba de diálisis se realizó según lo reportado en la literatura [2, 32, 33, 36, 49]. En el diagrama de la figura 2.9 se muestra el sistema de diálisis utilizado para evaluar las propiedades de las membranas. Este sistema está compuesto por dos compartimentos que se encuentran a contracorriente; en el primer compartimento se coloca una solución que contiene solutos como urea, lisozima y BSA, mientras que en el segundo se coloca el líquido de arrastre o dializante. De esta manera, se asegura el intercambio de los solutos a través de la membrana.

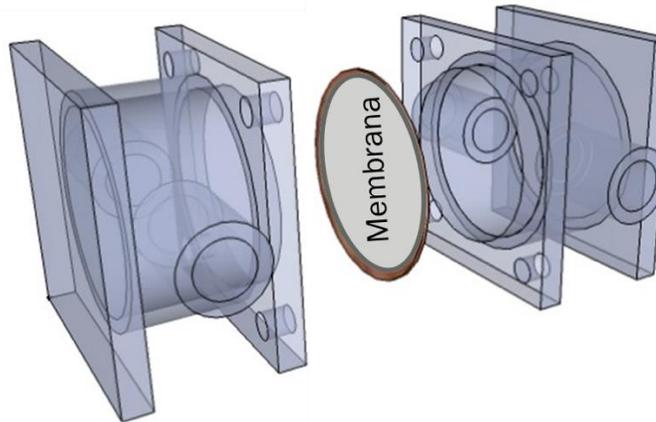


Figura 2.9. Celda de diálisis

Se utilizaron dos soluciones con solutos para realizar la prueba: la primera solución se preparó con una mezcla de urea (1.5 g/L) y lisozima (0.04 g/L) y la segunda solución con una mezcla de urea (1.5 g/L) y BSA (1 g/L); ambas soluciones simulan la sangre. Como simulador del líquido dializador se utilizó agua destilada. Los flujos de los compartimientos de la solución con solutos y la solución dializante se mantuvieron en 50 ml/min y 100 ml/min, respectivamente. El área efectiva de la membrana fue de 7 cm². La prueba tuvo una duración de 4 h y se tomaron muestras cada hora.

Para la cuantificación de urea, se utilizó una solución de ácido sulfúrico (H₂SO₄) al 1.2 M en la cual se disolvió el reactivo 4-(dimetilamina) benzaldehído (PDAB) a una concentración de 0.1 M [33]. De la solución preparada, se tomaron 0.8 ml y se mezclaron con 1.7 ml de agua y 1.5 ml de muestra. La solución con la muestra se midió a una longitud de onda de 410 nm en un equipo de UV-vis. La eliminación de urea fue determinada a partir de la fórmula 3:

$$Eliminación_{UREA}(\%) = \left(1 - \frac{C_{Final}}{C_{Inicial}}\right) \times 100 \quad (3)$$

Dónde $C_{inicial}$ es la concentración inicial de urea en la solución inicial simulando la de la sangre y C_{final} es la concentración final de urea en la misma solución.

Para la cuantificación de lisozima se utiliza de igual manera el método UV-vis y se mide a una longitud de onda de 280 nm sin añadir ningún colorante [50]. Para la determinación de la eliminación de lisozima se utiliza la fórmula (3) mencionada en el párrafo anterior. Para la cuantificación de proteínas se utilizó el método de Bradford (como en la prueba estática de proteínas) y las muestras se midieron a una longitud de onda de 595 nm. Para determinar la retención de BSA se utiliza la fórmula 4:

$$Retención_{BSA} = \left(\frac{C_{final}}{C_{inicial}} \right) \times 100 \quad (4)$$

En donde $C_{inicial}$ es la concentración inicial de proteínas en la solución simuladora de sangre y C_{final} es la concentración final obtenida después de 4 h de prueba.

CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. ETAPA I. SÍNTESIS DE COPOLÍMEROS

Se eligió la técnica de polimerización radicalica por transferencia de átomos (ATRP) para la síntesis de los copolímeros con la finalidad de obtener copolímeros anfifílicos en bloque, con control en la longitud de cadena y en la composición química. Se utilizó como base un bloque de PMMA debido a su naturaleza hidrofóbica, además de ser miscible con la matriz de PLA [51]; además de que se ha reportado que el PMMA es altamente biocompatible, capaz de eliminar la β 2-microglobulina por adsorción y presenta alta retención de compuestos tóxicos [27]. Para el segundo bloque se eligieron monómeros con grupos funcionales que proporcionarán hidrofiliidad y biocompatibilidad a la mezcla.

3.1.1. Caracterización por resonancia Magnética Nuclear de protón (^1H -RMN)

La estructura química del macroiniciador y copolímeros fueron confirmadas por resonancia magnética nuclear de protón (^1H -RMN). El uso de RMN también nos permitió identificar y cuantificar los grupos terminales (para confirmación de una polimerización viviente/cotrolada), la masa molecular del macroiniciador y el grado de copolimerización. Los resultados obtenidos de este análisis se presentan y discuten a continuación.

Síntesis de macroiniciador PMMA-Br

En la figura 3.1 se muestra el espectro de ^1H -RMN correspondiente al macroiniciador PMMA-Br. El macroiniciador fue caracterizado usando CDCl_3 como disolvente. Se identificaron las señales características de los protones presentes en el PMMA a 3.66 ppm (señal **c**) correspondiente a los metilos cercanos al grupo éster y las señales entre 0.5-1.4 ppm y entre 1.7 a 2 ppm correspondientes a los grupos $-\text{CH}_3$ (señal **b**) y $-\text{CH}_2$ (señal **a**) de la cadena principal del macroiniciador. Además, la señal en 4.14 ppm (**d**) se atribuye a los protones del $-\text{CH}_2$ α terminal del grupo éster de etilo del iniciador EBiB, indicando que la polimerización vía ATRP del PMMA ocurrió con éxito. El desplazamiento que se observa en 3.77 (señal **e**) corresponde al éster de metilo de la cadena terminal. Todas las señales en el espectro coinciden con lo reportado en la literatura [44]. La señal correspondiente al

desplazamiento 3.47 corresponde a residuos de metanol, disolvente utilizado para la purificación del material.

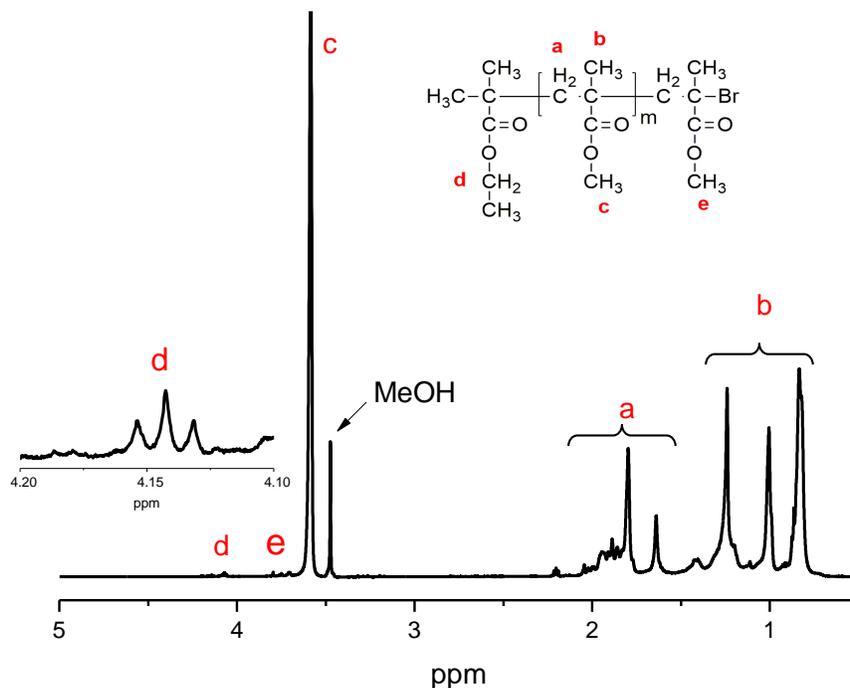


Figura 3.1. Espectro de ^1H RMN del macroiniciador PMMA-Br

Síntesis de PMMA-*b*-PHEMA

La estructura química y la composición molar del PMMA-*b*-PHEMA también fue confirmada por ^1H -RMN. En la Figura 3.2 se observan los picos característicos de cada uno de los bloques que forman el copolímero, entre las que podemos destacar la señal **c** a un desplazamiento de 3.55 ppm correspondiente al $-\text{CH}_3$ del PMMA, la señal **e** en 3.77 ppm correspondiente a los protones del $-\text{CH}_2$ del PHEMA, y la señal **a** a 4.7 ppm (señal **d**) de los protones del $-\text{CH}_2$ cercano al grupo hidroxilo del PHEMA. La señal del disolvente DMSO- d_6 aparece a 2.5 ppm. Lo anterior se comparó con la literatura [52] y confirma la obtención del copolímero PMMA-*b*-PHEMA.

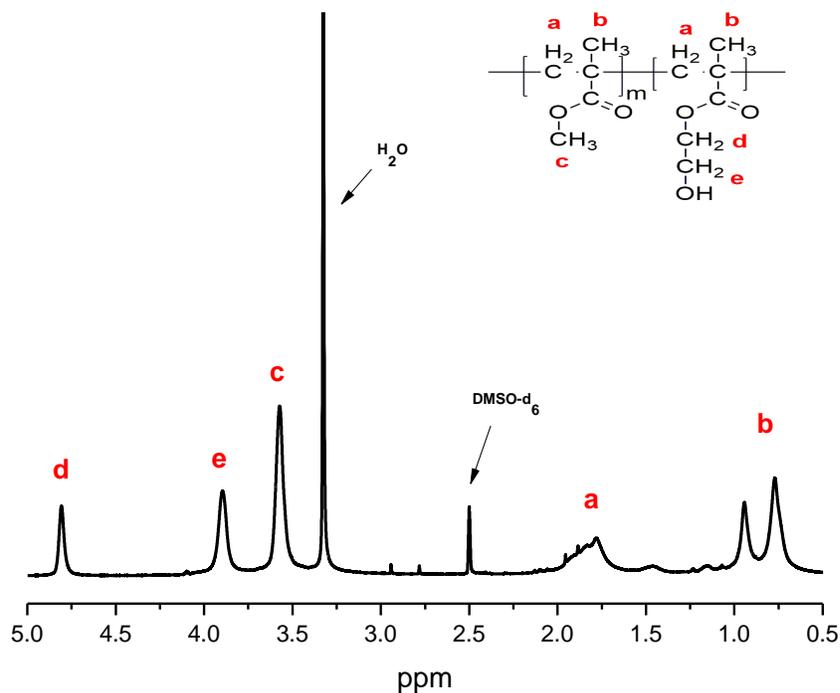


Figura 3.2. Espectro de ^1H RMN del copolímero PMMA-*b*-PHEMA

El grado de copolimerización se calcula integrando las señales de los protones del grupo metilo del éster ($-\text{CH}_3$) del bloque de PMMA y los protones $-\text{CH}_2$ del bloque de PHEMA, de acuerdo con la siguiente formula (6):

$$G. P_{PMMA} = \frac{2 \int c}{2 \int c + 3 \int d} \quad (6)$$

Donde **c** corresponde a la señal de los protones del metil éster del bloque de PMMA y **d** corresponde a los protones del metileno del bloque de PHEMA. Los coeficientes 2 y 3 corresponden a los protones de $-\text{CH}_2$ del PMMA y $-\text{CH}_3$ del PHEMA, respectivamente.

Con esta fórmula se obtuvo un grado de copolimerización del bloque PMMA del 66% y del 33% del bloque PHEMA. Se determinó desde el inicio del proyecto mantener una concentración del bloque hidrófilo menor al 40%, con la finalidad de no aumentar drásticamente la hidrofiliidad de la mezcla polimérica impidiendo la formación de la membrana por afinidad de esta con el baño de coagulación.

Síntesis de copolímero PMMA-*b*-PDMAEMA

Para el análisis $^1\text{H-RMN}$ del copolímero PMMA-*b*-PDMAEMA se utilizó cloroformo deuterado para disolver la muestra. Las señales características del copolímero debidamente identificadas se muestran en la figura 3.3. La señal del desplazamiento a 4.00 ppm (señal *b*) corresponden a los protones cercanos al oxígeno del grupo éster del bloque de PDMAEMA y la señal a 3.54 ppm (señal *a*) se atribuyen a los desplazamientos de los protones cercanos al grupo éster del PMMA. Las señales químicas típicas en los desplazamientos 0.96, 1.77, 2.09 y 2.51 ppm se atribuyen a los protones del metilo $-\text{CH}_3$ (señal *f*), al metileno $-\text{CH}_2$ (señal *e*), N-CH_3 (señal *d*) y N-CH_2 - (señal *c*) de la cadena principal del PMMA-*b*-PDMAEMA, respectivamente. La señal observada en 3.76 corresponde a residuos de THF, disolvente utilizado para la purificación del copolímero.

El porcentaje de copolimerización de PMMA en el bloque del copolímero fue de 68% y se calculó con la siguiente fórmula (7):

$$G. C_{PMMA} = \frac{2 \int a}{2 \int a + 3 \int b} \quad (7)$$

Donde *a* corresponde a la señal de los protones del metil éster del bloque de PMMA y *b* corresponde a los protones del metileno del bloque de PDMAEMA. Los coeficientes 2 y 3 corresponden a los protones de cada señal (2 protones del $-\text{CH}_2$ del PDMAEMA y 3 del PMMA).

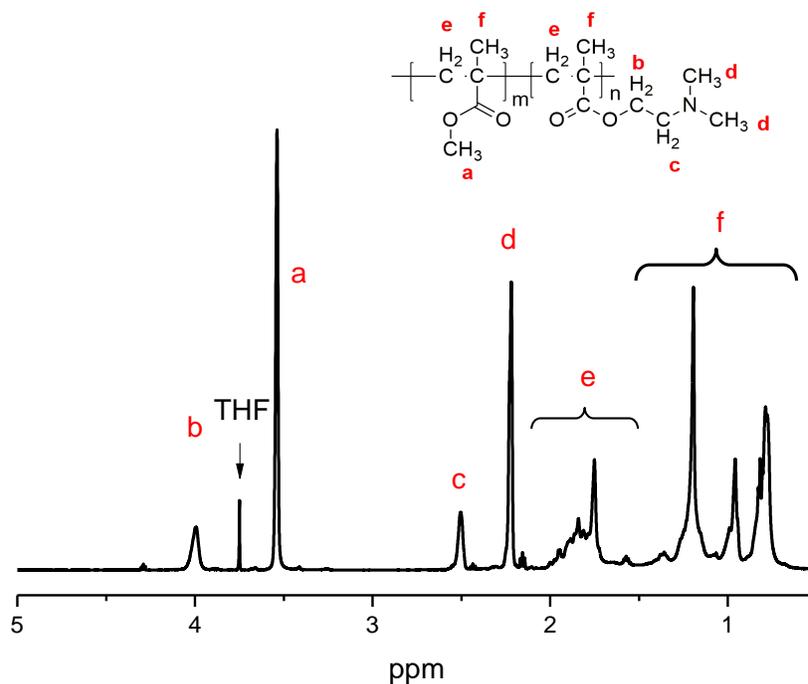


Figura 3.3. Espectro de ^1H RMN del copolímero PMMA-*b*-PDMAEMA

Síntesis de copolímero PAMPS-*b*-PMMA

El espectro (figura 3.4) exhibe picos alrededor de 3.22, 1.92, 1.58 y 1.37 ppm correspondiente a los protones del bloque de PAMPS, así como las señales características del bloque PMMA debidamente identificadas a 3.7 ppm (señal **g**), 0.5-2.0 ppm y a 1.92 ppm que se traslapa con la señal de los protones $-\text{CH}_2$ de la cadena principal del PAMPS. La composición del copolímero fue obtenido directamente por ^1H -NMR de la integración de la señal del PAMPS a 3.22 ppm (señal **d**) y a 3.72 ppm (señal **g**) para el bloque de PMMA, resultando en 67.5% de PMMA y 32.5% de PAMPS.

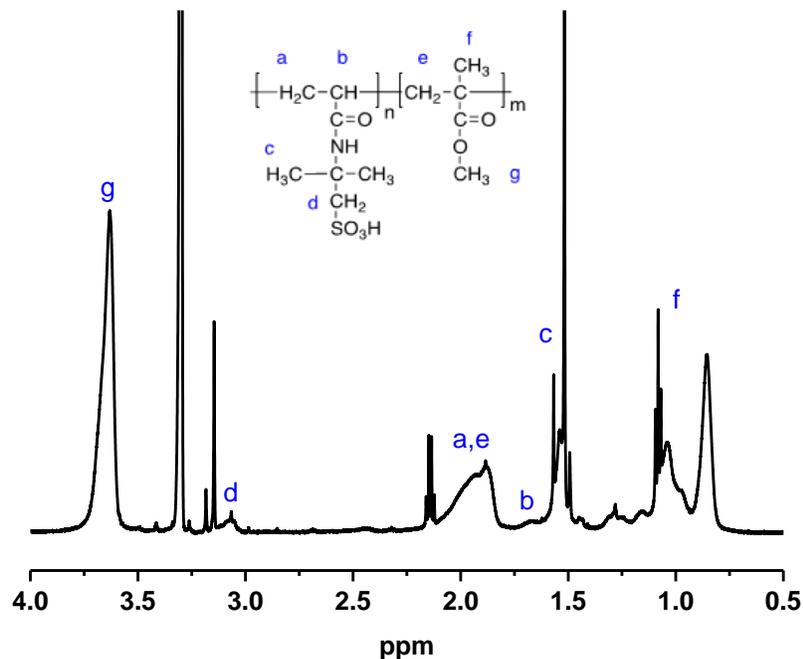


Figura 3.4. ^1H RMN del copolímero PAMPS-*b*-PMMA

3.1.2. Determinación de masa molecular (M_n) y dispersidad (D) por GPC

Como se mencionó anteriormente, la ventaja de utilizar la técnica de polimerización ATRP es que permite obtener copolímeros anfifílicos en bloque, con control en la longitud de cadena y en la composición química. En particular, permite el control de la masa molecular (M_n) y la dispersidad (D) de los polímeros. En la tabla 3.1 se muestran los valores de M_n y D obtenidos experimentalmente por cromatografía de permeación en gel (GPC). En los primeros dos copolímeros PMMA-*b*-PHEMA y PMMA-*b*-PDMAEMA se sintetizaron a partir de un macroiniciador de PMMA con masa molecular de 25.7×10^3 g/mol con una D de 1.15. La baja dispersidad es característica de este tipo de sistemas de polimerización controlada. Los cromatogramas de GPC mostraron un importante incremento en la masa molecular de los copolímeros PMMA-*b*-PDMAEMA y PMMA-*b*-PHEMA pasando de 25.7×10^3 a 58.9×10^3 y 46.7×10^3 g/mol, respectivamente.

Tabla 3.1. Masa molecular (M_n) y polidispersidad (PDI) de los copolímeros sintetizados

Copolímeros	M_n macroiniciador (g/mol) x 10^3	D	M_n Copolímero (g/mol) x 10^3	D
PMMA- <i>b</i> -PHEMA	25.7	1.15	46.7	2.31
PMMA- <i>b</i> -PDMAEMA	25.7	1.15	58.9	1.29
PAMPS- <i>b</i> -PMMA	66.4	1.63	90.7	2.63

En la figura 3.5, se muestra como ejemplo el cromatograma del copolímero PMMA-*b*-PDMAEMA, donde el copolímero conservó una D por debajo de 1.5. En los otros casos, las curvas de GPC de los copolímeros fueron más anchas, debido al porcentaje de cadenas muertas presentes en el macroiniciador, en particular para el copolímero PAMPS-*b*-PMMA que presentó una D de 2.63 debido a que el proceso de copolimerización se llevó a cabo de manera secuencial [53].

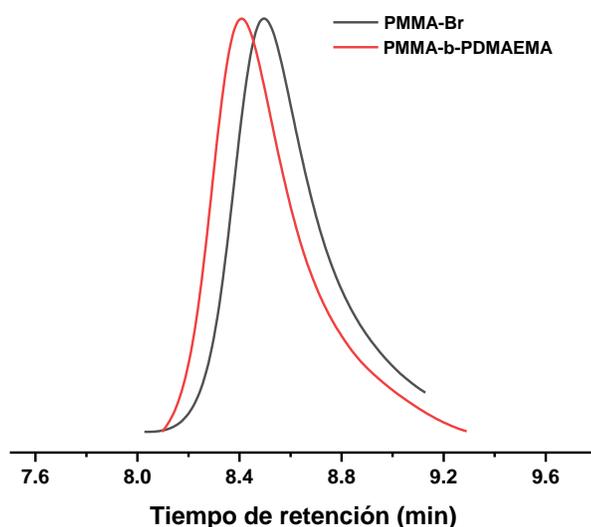


Figura 3.5. Cromatograma de GPC del macroiniciador de PMMA-Br y PMMA-*b*-PDMAEMA

3.2. ETAPA II. ELABORACIÓN DE MEMBRANAS

3.2.1. Microscopía electrónica de barrido (SEM) de membranas

En esta sección se describe la morfología y estructura de las membranas elaboradas por inversión de fase usando los diferentes baños de coagulación como son: agua, una mezcla de agua/DMAc y una mezcla de Isopropanol/Acetona/Agua (I/A/A). La técnica de microscopía electrónica de barrido (SEM) fue usada para confirmar la estructura porosa superficial y transversal de las membranas.

Efecto del agua como baño de coagulación

El agua es uno de los disolventes más utilizados como baño de coagulación en la técnica de inversión de fases. Sin embargo, se ha reportado la formación de macroporos, y estructuras internas tipo “dedos” los cuales no son deseables en las membranas, ya que disminuye las propiedades mecánicas, además de no tener buenas propiedades de separación.

Membrana de PLA

Zhu y colaboradores (2015), reportaron la elaboración de membranas de PLA aplicadas en procesos de hemodiálisis. Los autores mencionados utilizaron polietilenglicol (PEG) como aditivo para promover la formación de poros en la membrana. En este estudio no se añadió PEG debido a que se quiere estudiar el efecto de la incorporación de copolímeros anfifílicos como aditivos en las membranas asimétricas. Para efectos de comparación se elaboró una membrana de PLA puro, su morfología se puede observar en la figura 3.6. La membrana presentó una superficie porosa, con poros irregulares del orden de nm (calculados con el software del equipo “Analytical Scanning Electron Microscope”) y distribuidos de manera no uniforme, como puede observarse en las micrografías con aumento a 20,000X.

El corte transversal en las membranas aportó más información respecto a su estructura asimétrica. El baño de coagulación que en este caso fue agua provocó la formación rápida (10 min) de la membrana. Este intercambio que se da entre la solución polimérica con el disolvente y el no solvente ocurre tan rápido que no produce una membrana bien formada, como se observa en la figura 3.6b. En la base de la membrana se puede apreciar la

acumulación del material y cómo se pierden aquellos caminos que se forman por el intercambio de solventes. Por otra parte, si se observa nuevamente el corte transversal se puede apreciar que el tamaño de los poros se incrementa conforme se alejan de la capa superficial.

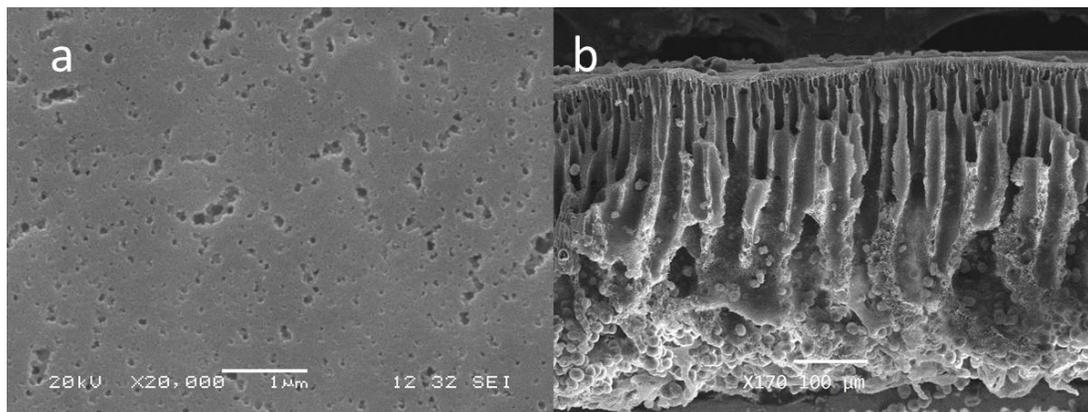


Figura 3.6. Vista superficial (a) y transversal (b) de la membrana PLA en baño de agua

Efecto de la adición de copolímeros anfifílicos

Se ha reportado que uno de los métodos para mejorar la hidrofiliidad y propiedad de antiensuciamiento, en membranas con aplicaciones biomédicas y de tratamiento de aguas, es la mezcla de copolímeros anfifílicos en una matriz polimérica [54, 55]. Cuando se mezclan con la solución polimérica, los aditivos se segregan hacia la superficie de la membrana en baños de coagulación de agua creando una superficie hidrofílica, mientras el bloque hidrofóbico (en este caso el bloque PMMA) junto con la matriz polimérica (PLA) quedan en la parte inferior de la membrana [56]. A continuación, se estudiará el efecto del mezclado de los copolímeros anfifílicos PMMA-*b*-PHEMA, PAMPS-*b*-PMMA y PMMA-*b*-PDMAEMA en la mezcla de PLA.

Membrana de PLA/PMMA-*b*-PHEMA

La morfología superficial de la membrana de PLA/PMMA-*b*-PHEMA (figura 3.7a) presenta una mayor cantidad de poros en la superficie, así como tamaños más uniformes y de menor

tamaño (entre 61 y 100 nm) comparada con la membrana de PLA puro. La sección transversal es altamente porosa, además los poros se vuelven más pequeños al acercarse a la superficie, esto puede resultar benéfico al incrementar la selectividad de los solutos que pasen a través de ella. Al igual que en las membranas de PLA puro, se puede apreciar la acumulación del material en la base de la membrana y se observa la pérdida de los caminos que se forman por el intercambio de disolventes. Esto último debido a la rápida formación de la membrana en el baño de coagulación de agua.

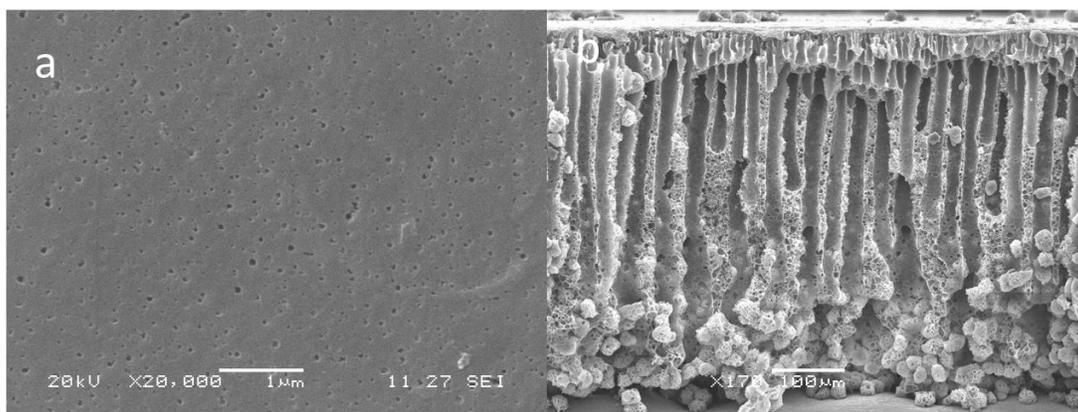
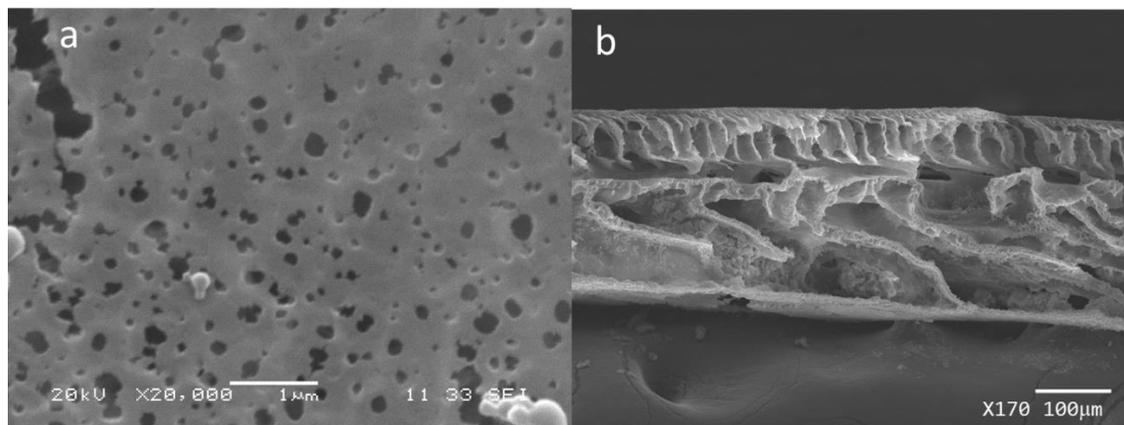


Figura 3.7. Vista superficial (a) y transversal (b) de la membrana de PLA/PMMA-b-PHEMA en baño de agua

Membrana de PLA/PMMA-b-PDMAEMA

La membrana que se muestra a continuación es la elaborada a partir de la mezcla PLA/PMMA-b-PDMAEMA. Esta membrana presentó en la superficie una estructura no homogénea y la vista transversal muestra una estructura asimétrica que consiste en una capa superior compacta y una capa inferior con la presencia de macroporos, los cuales a su vez con un mayor aumento se observan parcialmente densas. A diferencia de las membranas anteriores, esta membrana presenta poros grandes en la superficie, del orden de 5 a 10 μm , así como poros más pequeños (0.12 – 0.24 μm) por lo cual podría influir en la selectividad a las proteínas en las pruebas de flujo (figura 3.8). La membrana cuenta con un espesor 150-200 μm , lo cual es mucho menor al de las membranas anteriormente presentadas (442-511

μm). En general, la formación de la membrana no fue favorable y además difícil de manipular, ya que resultó muy frágil al tacto.



*Figura 3.8. Vista superficial (a) y transversal (b) de la membrana de PLA/PMMA-*b*-PDMAEMA en baño de agua*

A continuación, en la tabla 3.2 se presenta la relación de tamaños de poros y espesores de membranas realizadas en el baño de agua. Las membranas presentaron poros en la sección superficial en el orden de nm que van desde 61-100 para la membrana de PLA/PMMA-*b*-PHEMA hasta 180-537 para la membrana de PLA puro. Cabe mencionar que la membrana de mezcla de PLA con PAMPS-*b*-PMMA no se formó en el baño de agua, lo cual se atribuye a la alta compatibilidad del copolímero con el no solvente (agua).

Tabla 3.2. Tamaño de poro en la superficie y espesor de membranas en el baño de agua

Membrana	Espesor (μm)	Tamaño de poro (nm)
PLA	442	180 - 537
PLA/PMMA-<i>b</i>-PHEMA	465	61-100
PLA/PMMA-<i>b</i>-PDMAEMA	150	122- 1,000
PLA/PAMPS-<i>b</i>-PMMA	ND	ND

*N.D.: No determinado debido a que la membrana no se formó

Efecto del baño de coagulado DMAc/agua

En el proceso de inversión de fases, varios parámetros afectan la precipitación del polímero y, en última instancia, la morfología de la membrana formada. De acuerdo con la literatura, algunos de los parámetros más influyentes son la concentración de polímero, el uso de aditivos, el disolvente, la composición y la temperatura del baño de coagulación. Así como la composición y la temperatura de la solución de fundición (solución casting) [57]. A continuación, nos enfocaremos en el efecto que se produce en la morfología de la membrana al cambiar la composición del baño de coagulación por una mezcla de agua con dimetilacetamina (DMAc) en una relación 90/10 % v/v.

Membrana de PLA

En la figura 3.9 se puede observar que la membrana de PLA, comparada con la anterior, presenta una mayor cantidad de poros en su superficie, así como en su interior (vista transversal, figura 23b). El tiempo de formación de la membrana fue mayor (entre 20-30 min) en comparación con el baño de agua. Los sistemas con una velocidad rápida de inversión de fases tienden a formar macroporos con estructuras tipo “dedo”, mientras que los sistemas con una velocidad lenta de inversión de fases resultan en morfologías con estructura “tipo esponja” [58]. En este caso, la introducción de DMAc al 10% en el baño de coagulación retarda el tiempo de formación de la membrana, provocando un incremento uniforme en la cantidad de poros del orden de μm (2.66 – 6.05 μm) así como una estructura más manejable, con una disminución de macroporos tipo “dedos” en la sección transversal; además, no se aprecia la acumulación de restos de material polimérico en comparación con la membrana de PLA elaborada usando agua como baño de coagulación.

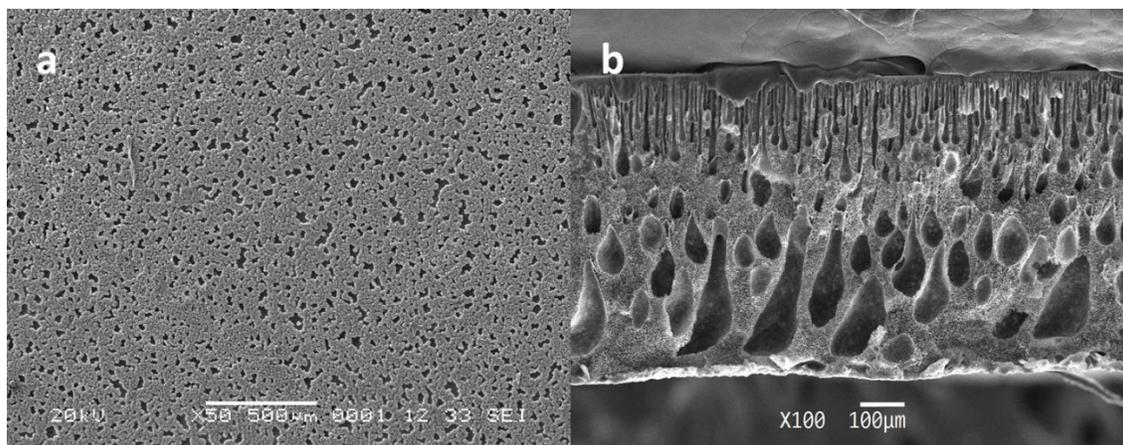


Figura 3.9.. Vista superficial (a) y transversal (b) de la membrana de PLA

Membrana de PLA/PMMA-*b*-PHEMA

Como se observa en las imágenes de SEM de la figura 3.10, la membrana presenta una gran cantidad de poros del orden de nm (70-80 nm), así como una estructura más uniforme que la membrana realizada con el baño de agua. Al igual que la membrana de PLA puro, el tiempo de formación fue mayor (20-30 min), lo que permitió un mejor intercambio entre disolvente y no solvente. Por otra parte, en la imagen transversal (figura 3.10 b) de la membrana también se puede observar una disminución en la formación de macroporos. Es importante mencionar que la membrana realizada en este baño de coagulación es más flexible al tacto y se puede manipular mejor que la realizada en baño de agua. La membrana presentó un espesor de 316 a 318 μm.

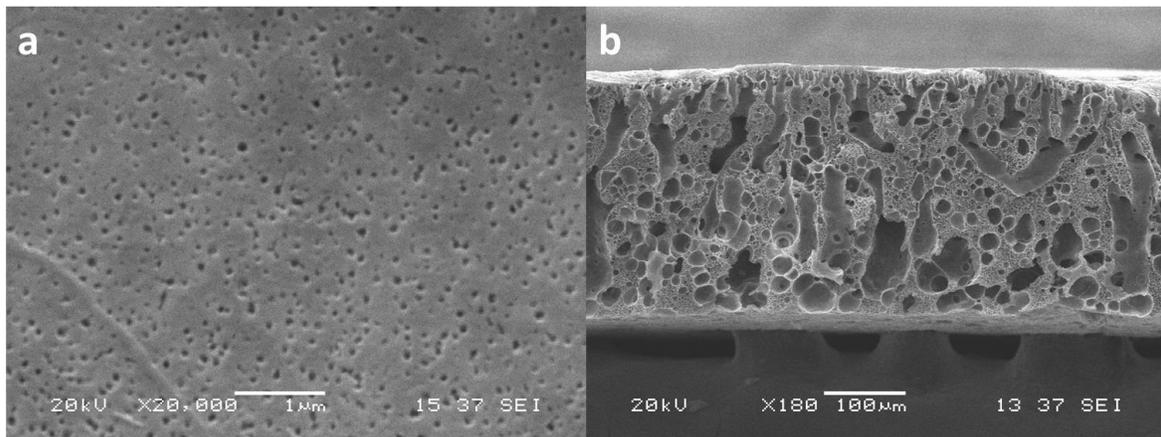
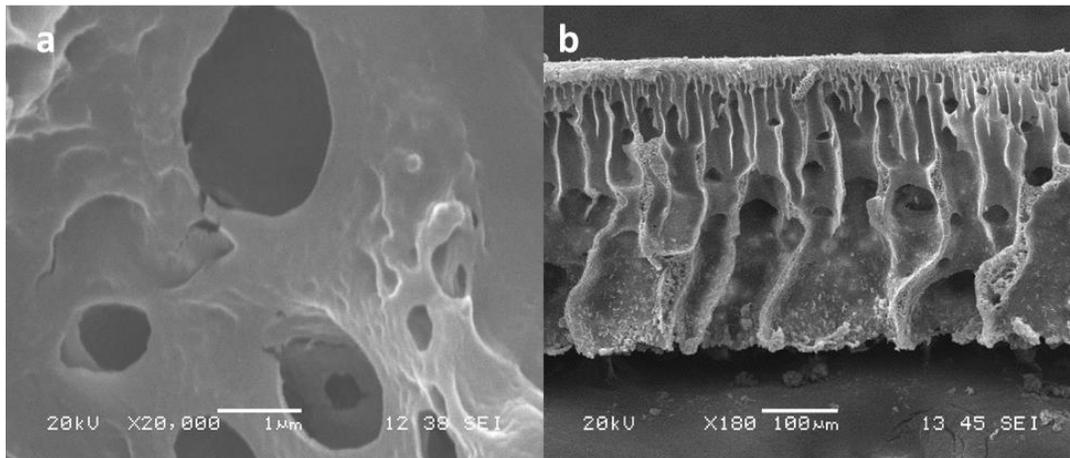


Figura 3.10. Vista superficial (a) y transversal (b) de la membrana de PLA/PMMA-b-PHEMA

Membrana de PLA/PMMA-b-PDMAEMA

La morfología observada en la membrana de PLA/PMMA-*b*-PDMAEMA es similar a la observada en la membrana obtenida en el baño de agua; presenta una alta porosidad en su superficie, con pequeñas fallas en su superficie que podrían promover la rotura de la membrana al momento de su manipulación en las pruebas de diálisis (ver figura 3.11 a).

En el caso de la vista transversal, puede observarse una formación de canales con baja porosidad en su interior. Es importante destacar que la morfología obtenida en la membrana es visiblemente más firme comparada con su homóloga elaborada en agua, así como la visualización de las dos capas formadas, mencionadas anteriormente.



*Figura 3.11. Vista superficial (a) y transversal (b) de la membrana PLA/PMMA-*b*-PDMAEMA*

Membrana de PLA/PAMPS-*b*-PMMA

A diferencia de la membrana de PLA, se observa que la membrana con el copolímero PAMPS-*b*-PMMA aumenta la porosidad de la membrana significativamente en la zona superficial (ver figura 3.12 a), así como la disminución del tamaño de poro, haciendo que la superficie sea más selectiva al momento de la filtración. Esto podría ser favorable para evitar el paso de las proteínas como el BSA a través de la membrana; sin embargo, por la forma de los poros, al momento de las pruebas las membranas pueden presentar fracturas en su superficie.

En la zona transversal, como se observa en la figura 3.12 b, se puede observar la formación de macroporos en el interior, así como poros mayores en la parte inferior de la membrana, lo cual podría ser benéfico para el transporte de agua a través de la membrana (cabe destacar como importante la eliminación de agua en los pacientes con ESRD debido a que no pueden eliminarla por sí mismos); sin embargo, podría disminuir sus propiedades mecánicas [59].

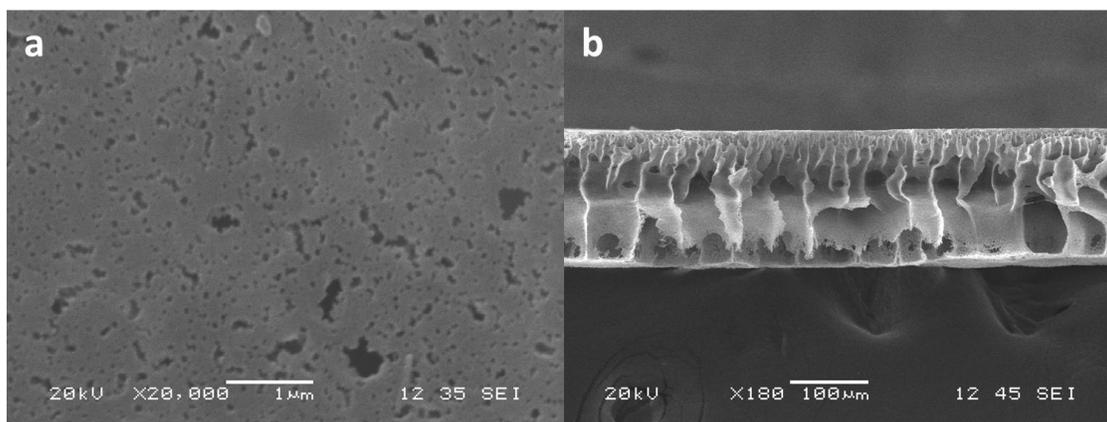


Figura 3.12. Vista superficial (a) y transversal (b) de la membrana PLA/PAMPS-*b*-PMMA

A continuación, en la tabla 3.3 se presentan los tamaños de poro en la superficie y espesor de cada una de las membranas realizadas en este trabajo. La principal diferencia entre las diferentes membranas fue el tamaño de poro en la superficie y sección transversal. Sin embargo, a pesar de que todas las soluciones poliméricas contenían la misma concentración polimérica, así como el espesor del rasador, la solución que contenía la mezcla de PLA con el copolímero PAMPS-*b*-PMMA lucía con menor viscosidad comparadas con las demás, siendo las soluciones de PLA/PMMA-*b*-PHEMA y PLA/PMMA-*b*-PDMAEMA más espesas.

Tabla 3.3. Tamaño de poro en la superficie y espesor de membranas realizadas en DMAc/agua

Membrana	Espesor (µm)	Tamaño de poro (nm)
PLA	568	2,066 – 6,050
PLA/PMMA-<i>b</i>-PHEMA	317	60 - 78
PLA/PMMA-<i>b</i>-PDMAEMA	334	540 - 950
PLA/PAMPS-<i>b</i>-PMMA	173	72 - 154

En todos los casos, la introducción de DMAc al 10% en el baño de coagulación retardó el tiempo de formación de la membrana (hasta 15 min más en comparación del baño de agua). De acuerdo con J. Brandrup [60], para el caso de una solución polimérica de poli(fluoruro de vinilideno) (PVDF), el DMAc presenta los siguientes parámetros de Hansen $\delta_d = 16.8 \text{ Mpa}^{1/2}$,

$\delta_p = 11.5 \text{ Mpa}^{1/2}$ y $\delta_h = 10.2 \text{ Mpa}^{1/2}$, correspondientes a interacciones no polares (d), interacciones moleculares dipolares (p) e interacciones moleculares de puente de hidrógeno (h), estos dos últimos (δ_p y δ_h) con valores mucho más bajos que los que presenta el agua, y son $\delta_p = 16.0 \text{ Mpa}^{1/2}$ y $\delta_h = 42.4 \text{ Mpa}^{1/2}$, pero más alto para las interacciones no polares $\delta_d = 16.8 \text{ Mpa}^{1/2}$. Por lo tanto, la introducción de DMAc en el baño coagulante contribuye a la disminución de las interacciones de tipo polar y de puentes de hidrógeno con los diferentes grupos funcionales ($-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{OH}$ y $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$) presentes debido a la adición de los copolímeros anfifílicos, pero incrementa la interacción no polar hidrofóbica con la matriz polimérica de PLA, lo cual estaría disminuyendo la rapidez de formación de la membrana. Efectos termodinámicos (miscibilidad termodinámica de la solución “casting”) y cinéticos (incremento de la viscosidad de la solución polimérica por la adición de los copolímeros) en el proceso de inversión de fases, también pueden estar favoreciendo la disminución de la rapidez de formación de las membranas [58].

Se puede mencionar, además, que la presencia de los copolímeros como aditivos hidrofílicos con propiedades no solventes (el aditivo que tiene afinidad con el no solvente y baja afinidad con el polímero) aumenta la inestabilidad termodinámica de la solución polimérica, lo que podría estar provocando la formación de macroporos en la estructura transversal de la membrana durante el proceso de formación [61].

Efecto del baño de coagulado I/A/A

Yam Cervantes y colaboradores [48], obtuvieron membranas de PS/PS sulfonada con estructura tipo esponja al usar un baño de coagulación de mezcla acetona/isopropanol, debido a una lenta coagulación. Este baño fue elegido principalmente por la lenta precipitación, permitiendo obtener membranas con menor cantidad de macroporos en la zona transversal, así como un menor tamaño de poros en la superficie, obteniendo una capa aún más selectiva.

Membrana de PLA

La membrana de PLA elaborada en el baño de I/A/A presenta una capa superficial densa con la presencia de poros aislados unos de otros en algunas zonas como puede observarse en la figura 3.13 a. Por otro lado, la zona transversal (figura 3.13 b) presenta una alta porosidad y

una disminución visible en la formación de macroporos, comparada con su homóloga obtenida en el baño de agua y DMAc/agua. Con respecto a las anteriores membranas de PLA, se observa una marcada diferencia en su estructura morfológica causada por la variación del baño de coagulación.

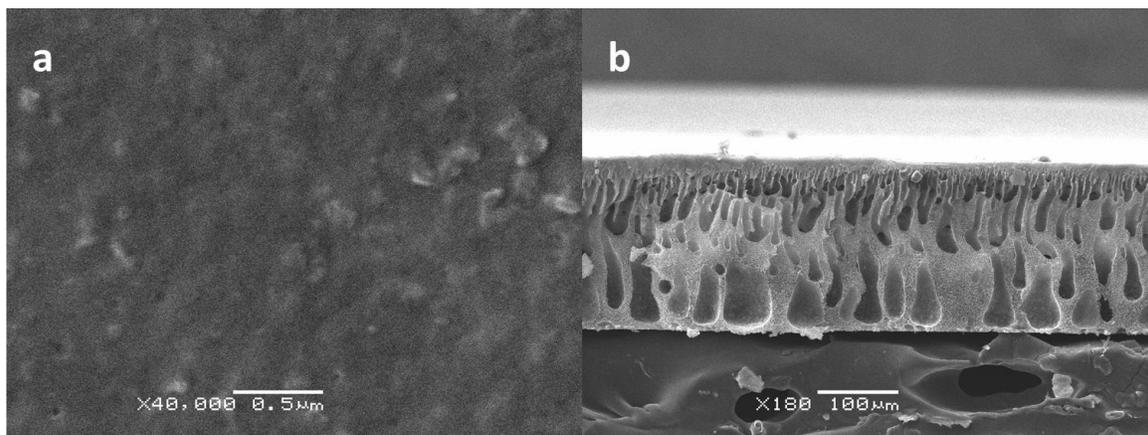


Figura 3.13. Vista superficial (a) y transversal (b) de la membrana de PLA

Membrana de PLA/PMMA-*b*-PHEMA

La membrana que contiene el copolímero con PHEMA obtenida en baño I/A/A presenta una alta porosidad en su superficie (figura 3.14 a), así como en su zona transversal (figura 3.14 b). Presenta una morfología muy parecida a la membrana realizada en el baño de DMAc/agua, sin embargo, el tamaño de poro es menor (aproximadamente 10 nm), con la presencia de poros mayores (aproximadamente de 400 μm).

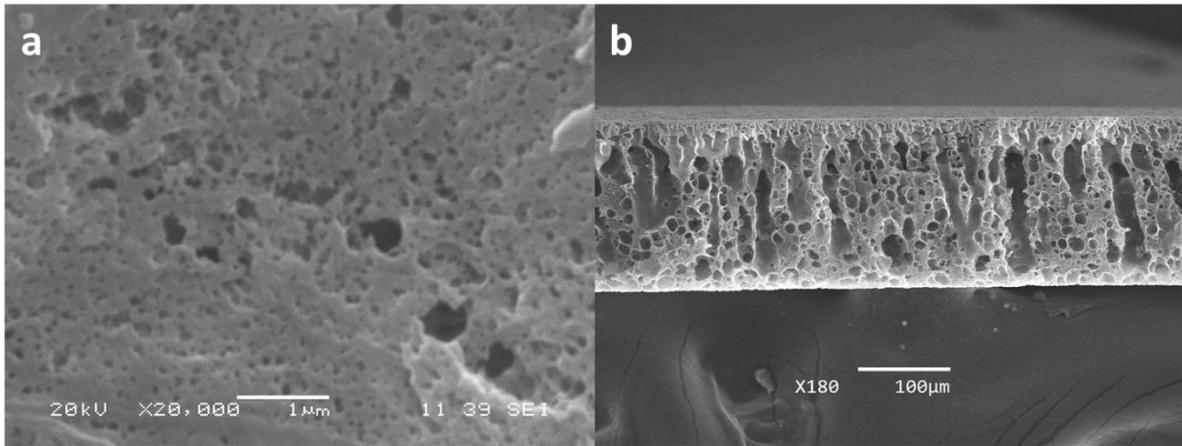


Figura 3.14. Vista superficial (a) y transversal (b) de la membrana de PLA/PMMA-b-PHEMA

Membrana de PLA/PMMA-b-PDMAEMA

La morfología obtenida de la membrana con el copolímero PMMA-*b*-PDMAEMA con el baño de I/A/A es muy diferente comparada con su homóloga en el baño de agua y DMac/agua. Se observa una capa superficial (figura 3.15 a) con presencia de poros más definidos en comparación con las membranas realizadas con los otros baños, mientras que la zona transversal (figura 3.15 b) presenta macroporos, los cuales son provocados por la rápida formación de la membrana. La membrana fue más resistente al tacto en comparación con la membrana formada en el baño DMac/agua, lo cual se asocia a la baja porosidad en su superficie. Cabe mencionar que la aparición de macroporos es un defecto estructural de la membrana que debería evitarse, ya que disminuyen las propiedades mecánicas de las membranas.

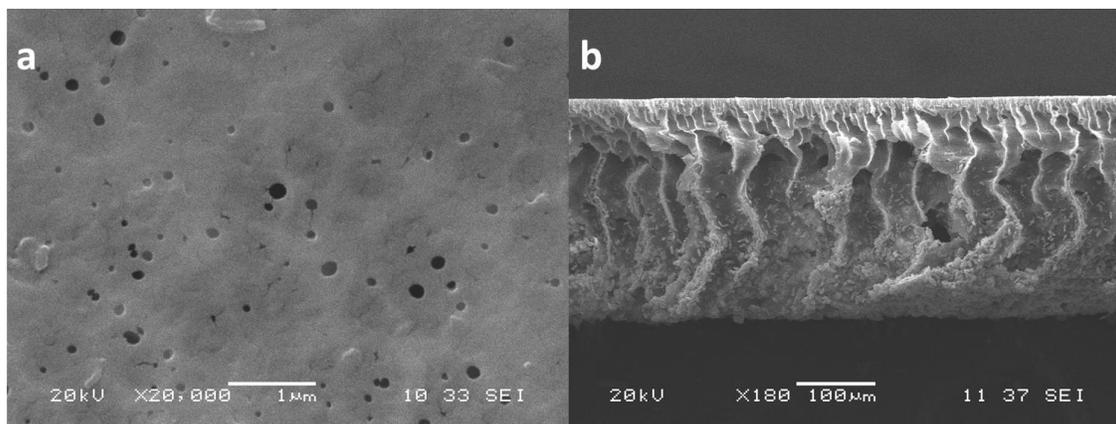


Figura 3.15. Vista superficial (a) y transversal (b) de la membrana de PLA/PMMA-b-PDMAEMA

Membrana de PLA/PAMPS-b-PMMA

La estructura de la membrana con el copolímero PAMPS-*b*-PMMA preparada en el baño I/A/A (figura 3.16) demuestran que el intercambio entre el disolvente y no solvente utilizados en el baño fue rápido, dando como origen la presencia de macroporos en la sección transversal (figura 3.16 b), mientras que en el caso de la zona superficial (figura 3.16 a) se observa una capa que es prácticamente densa. De manera convencional, al realizar membranas por inversión de fases generalmente resultan con una baja densidad de poros en su superficie, al igual que una estructura porosa cerrada, lo cual exhibe propiedades de separación para moléculas pequeñas (como urea), pero muy baja para moléculas medianas (lisozima) [18].

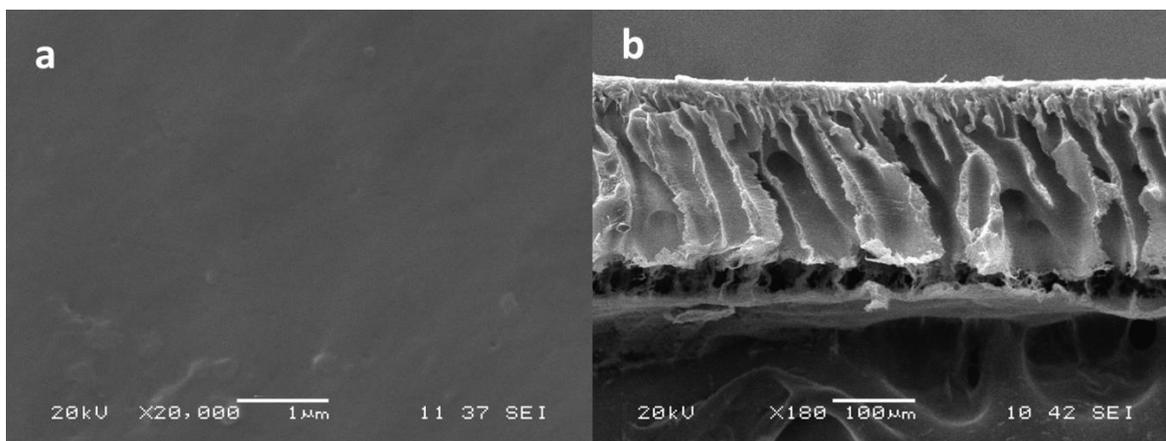


Figura 3.16. Vista superficial (a) y transversal (b) de la membrana PLA/PAMPS-*b*-PMMA

A continuación, en la tabla 3.4 se presenta la relación de tamaños de poros y espesores de las membranas realizadas en el baño de I/A/A. Para la membrana de PLA y PMMA-*b*-PDMAEMA realizada en este baño, no fue posible determinar el tamaño de poro, debido a que la superficie es prácticamente densa.

Tabla 3.4. Tamaño de poro en la sección superficial y espesor de membranas realizadas en I/A/A

Membrana	Espesor (μm)	Tamaño de poro (nm)
PLA	208	N.D.*
PLA/PMMA- <i>b</i> -PHEMA	260	120 - 125
PLA/PMMA- <i>b</i> -PDMAEMA	278	89 - 170
PLA/PAMPS- <i>b</i> -PMMA	216	N.D.*

*N.D.=No determinado

En las soluciones poliméricas preparadas de PLA con los copolímeros anfifílicos, el no solvente I/A/A presenta una menor interacción por puente de hidrógeno y de fuerzas polares con el polímero, debido a que dos de los copolímeros (PMMA-*b*-PHEMA y PMMA-*b*-PDMAEMA) son insolubles y tienden a precipitar en acetona e isopropanol, excepto el copolímero PAMPS-*b*-PMMA que es parcialmente soluble en isopropanol. En la mayoría de las membranas de esta última serie se observa una capa selectiva densa o con poros muy pequeños.

En general, las membranas obtenidas en este estudio fueron realizadas por el método de inversión de fases con 3 diferentes baños de coagulación (agua, DMAc/agua e I/A/A) obteniendo diferentes morfologías para cada uno de ellos. En un proceso de inversión de fases inducido por un no solvente; la solución polimérica obtenida se coloca dentro del no solvente y se obtienen dos fases líquidas: una con alto contenido de polímero, la cual forma la membrana sólida; y la segunda con bajo contenido de polímero que proporciona los poros a las membranas [58]. Una característica importante para la elaboración de las membranas es la viscosidad de la solución polimérica. Al agregar los copolímeros a la solución polimérica, se obtuvo una solución más viscosa que la solución que contenía solamente el PLA. Según Xuemin Yu y colaboradores [33], el aumento en la viscosidad de la solución polimérica podría generar la disminución del tamaño de poro, así como la disminución en la presencia de poros en la superficie. Lo anterior puede apreciarse en las membranas elaboradas con el copolímero PMMA-*b*-PHEMA y PAMPS-*b*-PMMA, las cuales presentan una disminución en el tamaño de poro en los tres baños, así como una menor presencia en el baño de I/A/A.

Membranas con impregnación de superficie con copolímeros funcionalizados

La deposición por “spray” es un método sencillo y de bajo costo para aplicación de pinturas. Este método permite aplicar recubrimientos de baja rugosidad en superficies de diferentes sustratos. Esta técnica ofrece la posibilidad de modificar la microestructura y composición de la superficie de una forma sencilla y rápida. Por lo tanto, fue aplicado en este trabajo para estudiar el desempeño de las membranas con diferentes microestructuras superficiales y para incrementar la hidrofiliidad en la superficie de las membranas al aplicar recubrimientos de copolímeros anfifílicos y, por ende, incrementar la propiedad de antiensuciamiento de las membranas asimétricas. Vargas et. al (2016) [62] reportaron que el número de capas aplicadas en el proceso de pulverizado juega un papel importante en la formación de microestructuras superficiales. En este estudio se aplicaron 8 capas de una solución de copolímeros anfifílicos al 6% (% peso/peso copolímero/solvente) en la superficie de cada membrana obtenida a partir de las mezclas poliméricas.

En la figura 3.17 se pueden apreciar las imágenes de SEM de las membranas de PLA/PMMA-*b*-PHEMA (a), PLA/PMMA-*b*-PDMAEMA (b) y PLA/PAMPS-*b*-PMMA (c) en los baños

de agua (1), DMac/agua (2) e isopropanol/acetona/agua (I/A/A) (3). En el caso de la membrana con el copolímero anfifílico PAMPS-*b*-PMMA no fue posible obtener una membrana en el baño de agua, por lo tanto, no se presentan resultados sobre ésta. A todas las membranas se les aplicaron 8 ciclos de pulverizado en la superficie a una distancia de 15 cm y con un ángulo 45°.

Para las membranas que se realizaron en agua (1), se puede apreciar que al realizar la impregnación de superficie adoptaron una morfología tipo red o “telaraña” (figura 3.17 a1-b1). Esta morfología es muy diferente a la apreciada para las membranas sin pulverizar, las cuales presentan una superficie porosa pero lisa. De igual manera, se pueden observar que en ciertas secciones de la superficie se aglomeran partículas de copolímero, estas aglomeraciones son comunes en membranas modificadas superficialmente por la técnica de pulverizado [62]. Cabe mencionar que la deposición no fue completamente homogénea en toda la superficie, lo cual se le atribuyó a que el pulverizado o impregnación superficial se llevó a cabo en las membranas previamente secadas a 60 °C; es decir, estando completamente secas, lo cual pudo influir en la adhesión superficial de los copolímeros. Por lo tanto, para las siguientes membranas (realizadas en los baños de DMac/agua e I/A/A), la impregnación se realizó con la superficie humedecida con agua.

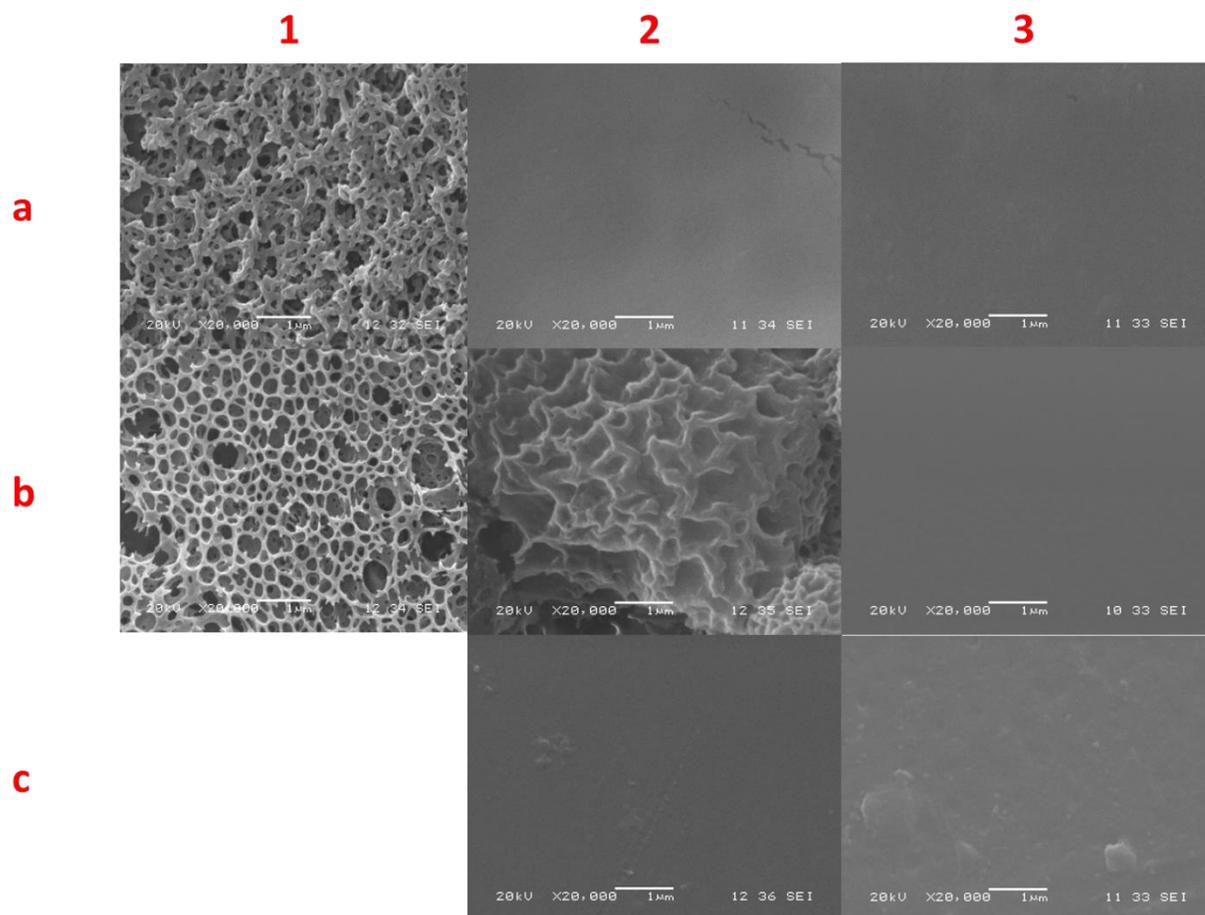


Figura 3.17. Imágenes SEM de membranas con impregnación de superficie: PLA/PMMA-b-PHEMA (a), PLA/PMMA-b-PDMAEMA (b) y PLA/PAMPS-b-PMMA (c) en baño de agua (1), DMAC/agua (2) e Isopropanol/Acetona/Agua (I/A/A) (3).

Para las membranas siguientes, realizadas en el baño DMAC/agua (2) e I/A/A (3) se puede observar que la morfología es muy similar. La impregnación en la superficie de éstas fue de manera homogénea, sin embargo, resultó en una capa completamente densa, debido a que no se encuentran porosidades y tampoco se observa la estructura tipo red que se observó en las membranas anteriores (figuras 3.17 a1 y 3.17 b1). Para la membrana que contiene el copolímero PMMA-*b*-PDMAEMA se puede observar en la figura 3.17 b2 la formación rugosidades en su superficie, sin embargo, a diferencia de su homóloga en el baño de agua, no se presentan poros.

En todas las membranas a las que se les realizó la impregnación se registró la presencia de aglomeraciones de material en su superficie, aunque éstas fueron disminuyendo al realizar la impregnación sobre la superficie húmeda. Se confirmó que la aplicación de copolímeros en la superficie de las membranas es más homogénea cuando la superficie se encuentra húmeda, ya que el material se impregna mejor, evitando la aparición de sitios sin pulverizado, sin embargo, esto provoca que, al aplicarle los 8 ciclos de pulverizado, la capa superficial formada termine siendo completamente densa.

3.3.2. Hidrofilicidad de las membranas

La hidrofilicidad en la superficie de las membranas es una de las características más importantes para mejorar la propiedad antiincrustante. Uno de los objetivos de agregar los copolímeros anfifílicos a la matriz hidrofóbica del PLA [63] es modificar la superficie de las membranas, introduciendo diferentes grupos funcionales hidrofílicos que promuevan la eliminación de una mayor cantidad de agua, y de esta manera ayudar a la eliminación de toxinas urémicas. Un método conveniente para determinar el grado de hidrofilicidad es la determinación del ángulo de contacto. En la figura 3.18 se presentan los resultados obtenidos en las pruebas de ángulo de contacto para las membranas de PLA y de PLA con los copolímeros funcionalizados. De acuerdo con lo reportado en la literatura [36, 32], las membranas de PLA presentan ángulos en el intervalo de 80° - 75.8° . Los resultados obtenidos en esta prueba fueron muy similares, el valor determinado fue de 79.6° . Sin embargo, el ángulo de contacto disminuyó significativamente en las membranas modificadas con los copolímeros PMMA-*b*-PHEMA, PMMA-*b*-PDMAEMA y PAMPS-*b*-PMMA. Los resultados indican que la hidrofilicidad de la superficie fue mejorada debido a los grupos hidrofílicos $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{OH}$ y $\text{N}-(\text{CH}_3)_2$ presentes debido a la adición de los copolímeros anfifílicos.

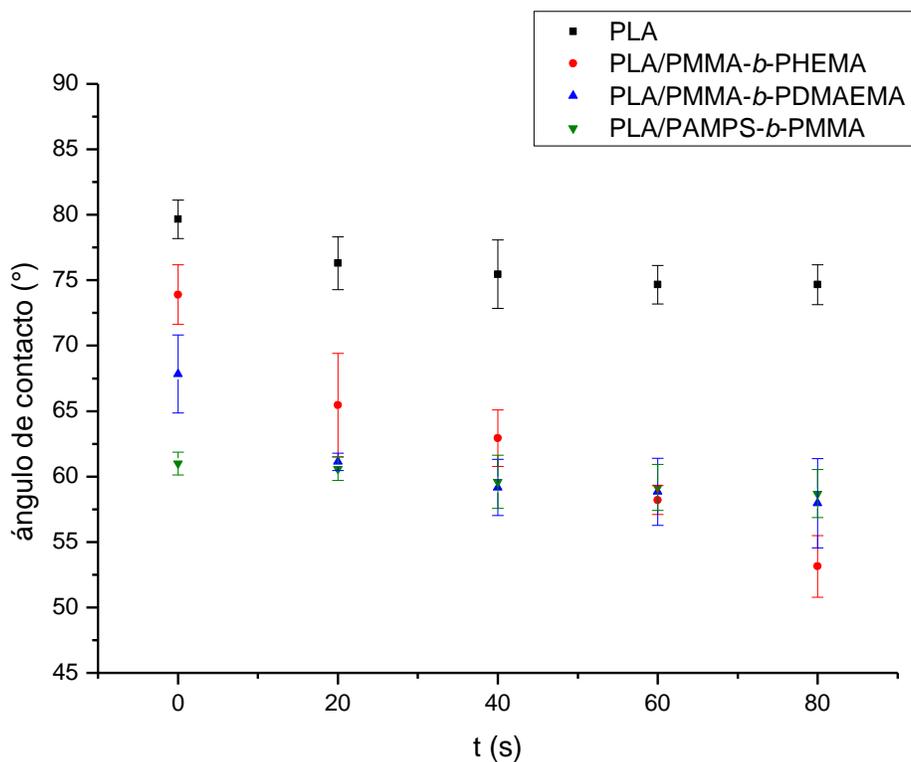


Figura 3.18. Ángulo de contacto para las membranas de PLA y PLA con mezclas de copolímeros anfifílicos

En la figura 3.18 se puede observar la tendencia que tienen las membranas y cómo disminuye su ángulo de contacto conforme se agregan los copolímeros. El ángulo inicial de la membrana de PLA es de 79.6° y decrece conforme se agregan los copolímeros PMMA-*b*-PHEMA, PMMA-*b*-DMAEMA y PAMPS-*b*-PMMA a 73.9° , 67.8° y 61° , respectivamente, siendo este último el más hidrofílico.

La afinidad del copolímero que contiene la sección del PHEMA con el agua se debe a la presencia de los grupos hidroxilo en su cadena, ya que estos causan un efecto de hidratación al entrar en contacto con el agua [64]. Por otra parte, los grupos amino presentes en el copolímero con la sección de PDMAEMA son conocidos por ser polares, lo cual le da una gran facilidad para formar puentes de hidrógeno e interactuar fácilmente con el agua [65].

Finalmente, el uso de compuestos orgánicos sulfonados está ligado a la presencia del grupo $-\text{SO}_3\text{H}$, el cual presenta un carácter hidrofílico muy polar [66]. Esto se ve reflejado en el valor obtenido en la prueba de ángulo de contacto.

Con el incremento en la hidrofiliidad de la superficie se espera que mejore la resistencia a la adsorción de proteínas en la membrana y, por ende, disminuyan los problemas de ensuciamiento y con ello aumentar el tiempo de vida (uso) de las membranas.

3.3. ETAPA III. PRUEBAS DE FUNCIONALIDAD

La eficiencia de diálisis en las membranas de mezclas poliméricas fue determinada a través de las siguientes pruebas: 1) prueba estática de proteínas para determinar la propiedad de antiensuciamiento, 2) determinación de flujo y 3) eliminación de solutos de interés (urea, lisozima) y retención de BSA. A continuación, se presentan y discuten los resultados obtenidos.

3.3.1. Prueba estática de proteínas

El anti-ensuciamiento en los procesos de purificación es una característica deseable en la tecnología de membranas ya que es un indicio positivo de la resistencia superficial de la membrana ante el ensuciamiento que conlleva a pérdidas en la productividad y aumento en los costos operacionales [48]. Cuando una membrana es utilizada para purificar sangre, la adsorción de proteínas es la primera interacción que ocurre entre la membrana y la sangre. La característica hidrofílica/hidrofóbica del material empleado para la elaboración de la membrana es un factor importante entre la interacción de membrana y las proteínas, ya que una superficie más hidrofílica contribuye a la adsorción de agua en lugar de solutos [67]. Es por ello por lo que se espera que al modificar superficialmente la membrana con la adición de los copolímeros que contienen una sección hidrofílica en su bloque, disminuya la incrustación de proteínas en su superficie, sin embargo, no se descartan los efectos de la porosidad y morfología de las membranas.

En la tabla 3.5 se presentan los resultados de las membranas elaboradas en agua, donde se puede observar que la membrana de PLA adsorbe una gran cantidad de proteínas ($32.9 \mu\text{g}/\text{cm}^2$), como era de esperarse debido a su naturaleza hidrofóbica. Por otra parte, las membranas de PLA/PMMA-*b*-PHEMA pulverizada y no pulverizada demuestran una mejoría en la adsorción de proteínas en relación con la membrana de PLA, esto se debe los grupos hidrofílicos (grupos hidroxilo) que otorga la sección de PHEMA que evitan la incrustación de las proteínas [32]. También se observa que las membranas de PLA/PMMA-*b*-PDMAEMA pulverizada y no pulverizada son las que mejor desempeño presentan en esta serie elaborada en agua, presentando valores de adsorción de proteínas de $9.35 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ y $3.54 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, respectivamente. Sin embargo, contrario a lo esperado, la membrana pulverizada adsorbe menos proteínas en comparación con la membrana de PLA/PMMA-*b*-PDMAEMA no pulverizada. Esto puede atribuirse a que su morfología presenta rugosidades en algunas zonas, lo que podría favorecer la incrustación excesiva en su superficie. Sin embargo, cabe mencionar que la influencia del tamaño de poro obtenido por las membranas es un factor importante en tener en cuenta, ya que, a mayor tamaño de poro, permite el paso de moléculas más grandes a través de la membrana, teniendo la oportunidad de alojarse en su interior.

*Tabla 3.5. Resultados de la prueba estática de proteínas en membranas realizadas con el baño de agua. *P= pulverizado*

Muestra	Concentración adsorbida ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)
PLA	32.9 ± 0.03
PLA/PMMA-<i>b</i>-PHEMA	26.44 ± 0.10
PLA/PMMA-<i>b</i>-PHEMA P	10.64 ± 0.01
PLA/PMMA-<i>b</i>-PDMAEMA	3.54 ± 0.32
PLA/PMMA-<i>b</i>-PDMAEMA P	9.35 ± 0.01

En la tabla 3.6 se presentan los resultados obtenidos para las membranas realizadas en el baño de I/A/A, las cuales demuestran ser más adsorbentes con respecto a las realizadas en agua. Nuevamente, la membrana de PLA fue la que obtuvo mayor adsorción de proteínas con un total de $14.66 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, mientras que la membrana de PLA/PMMA-*b*-PHEMA con pulverizado no presentó adsorción de proteínas. Esta membrana presenta una aglomeración

menor en la superficie, lo que contribuye a una superficie más plana y con menos probabilidades de incrustaciones en la superficie, además de portar grupos hidroxilo que contribuyen a tener una superficie hidrofílica y adsorber más cantidad de agua en lugar de proteínas. En general, todas las membranas pulverizadas de esta serie elaborada en I/A/A demuestran ser menos adsorbentes de proteínas en comparación a sus homólogas sin pulverizar, lo cual demuestra que la adición de los copolímeros anfifílicos a la superficie mejora las propiedades antiincrustantes de las membranas, además de haber obtenido superficies menos porosas.

Tabla 3.6. Prueba estática de membranas en baño I/A/A. P = pulverizado

Muestra	Concentración adsorbida ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)
PLA	14.66 \pm 0.17
PLA/PMMA-<i>b</i>-PHEMA	9.31 \pm 0.05
PLA/PAMPS-<i>b</i>-PMMA	11.31 \pm 0.11
PLA/PMMA-<i>b</i>-PDMAEMA	6.60 \pm 0.005
PLA/PMMA-<i>b</i>-PHEMA P	N.D.
PLA/PAMPS-<i>b</i>-PMMA P	11.08 \pm 0.05
PLA/PMMA-<i>b</i>-PDMAEMA P	3.33 \pm 0.2

*N.D.: No detectado

A continuación, se presentan los resultados obtenidos en la prueba de adsorción de proteínas en membranas realizadas en el baño de DMAc/agua (tabla 3.7). A diferencia de las membranas de los baños anteriores, las membranas realizadas en el baño de DMAc/agua presentan un comportamiento diferente. La membrana de PLA tuvo una adsorción de 6.32 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, siendo nuevamente la más adsorbente debido a su naturaleza hidrofóbica. Todas las membranas probadas obtuvieron una adsorción menor comparada con la de PLA, sin embargo, se observa que para las pulverizadas que contienen las cadenas de PMMA-*b*-PMMA-*b*-PHEMA y PAMPS-*b*-PMMA, la adsorción fue mayor (1.68 y 2.79 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, respectivamente) comparadas con sus homólogas sin pulverizar (0.14 y 2.28 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, respectivamente). Por otra parte, la membrana que contiene PMMA-*b*-PDMAEMA con pulverizado si obtiene una mejora en la adsorción de proteínas comparada con su homóloga sin pulverizado (2.14 y 1.39 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, respectivamente). La razón por la cual se estarían adsorbiendo más proteínas en la superficie de las membranas con pulverizado, es debido a las rugosidades y aglomeraciones de polímero en su superficie después de la impregnación

[68], situación que ocurre de igual manera en la membrana con el copolímero PMMA-*b*-PDMAEMA en el baño de agua. Además, como se mencionó en la sección de caracterización de las membranas, cada baño obtuvo como resultado morfologías diferentes, obteniendo diversos resultados en el desempeño de las membranas.

Tabla 3.7. Prueba de adsorción estática de proteínas en membranas de baño DMAc/Agua

Muestra	Concentración adsorbida ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)
PLA	6.32 ± 0.01
PLA/PMMA-<i>b</i>-PHEMA	0.14 ± 0.02
PLA/PAMPS-<i>b</i>-PMMA	2.28 ± 0.02
PLA/PMMA-<i>b</i>-PDMAEMA	2.14 ± 0.008
PLA/PMMA-<i>b</i>-PHEMA P	1.68 ± 0.005
PLA/PAMPS-<i>b</i>-PMMA P	2.79 ± 0.02
PLA/PMMA-<i>b</i>-PDMAEMA P	1.39 ± 0.01

*P: Pulverizadas

3.3.2. Prueba de flujo y retención de proteínas

Durante el proceso de hemodiálisis, la permeabilidad o flujo de las membranas disminuye cuando las proteínas son depositadas en la superficie o en los poros superficiales de la membrana; esto disminuye la eficiencia del proceso de hemodiálisis y la vida media de la membrana [69]. Se ha demostrado que al incrementar la hidrofiliidad de las membranas aumenta la afinidad entre el agua y la superficie de la membrana, lo cual promueve un incremento del flujo de agua. Sin embargo, el flujo también tiene una relación directa con la cantidad y tamaño de poros en la superficie, así como la distribución de éstos, además del grosor de la membrana [70]. Algunos autores han reportado que el tamaño de poro tiene mayor efecto significativo que la hidrofiliidad en la permeación al agua pura [71].

A continuación, en la tabla 3.8, se presentan los resultados de la prueba de flujo y retención de proteínas de las membranas elaboradas en el baño de agua. La membrana que presentó mayor flujo inicial fue la de PLA; esto se debe a que esta membrana presentó una superficie bastante porosa, que, si bien los poros son del orden de nm, presentan formas irregulares y no están distribuidos de manera homogénea, tal como lo demuestran las imágenes obtenidas de SEM que se mostraron en la sección anterior. Además, el tamaño de poro es más grande

en comparación a las demás membranas de esta serie. Sin embargo, después del paso de la solución con proteínas, el flujo de la membrana disminuyó a 17.8 L/m²h, obteniendo una recuperación del 55%, es decir, las proteínas se incrustaron en la superficie, ensuciando la membrana y evitando el paso de agua a través de ella. Este resultado es similar a los ya reportados en membranas realizadas con PLA [32].

La membrana de PLA/PMMA-*b*-PDMAEMA y PLA/PMMA-*b*-PDMAEMA con pulverizado no pudieron ser sometidas a la prueba de flujo, ya que la membrana resultó muy frágil y al aplicarle presión, esta se fracturó.

Tabla 3.8. Resultados prueba de flujo para membranas realizadas en baño de agua

Muestra	Flujo inicial (L/m²h)	Flujo de proteínas (L/m²h)	Flujo final (L/m²h)	RFR (%)
PLA	31.91 ± 3.34	12.67 ± 2.23	17.8 ± 3.62	55
PLA/PMMA-<i>b</i>-PHEMA	24 ± 6.51	13.35 ± 1.78	15.06 ± 2.43	62
PLA/PMMA-<i>b</i>-PHEMA P	26.98 ± 6.10	16.16 ± 1.44	16.71 ± 5.16	62

Para el caso de las membranas elaboradas con el copolímero PMMA-*b*-PHEMA, el flujo inicial de la membrana pulverizada fue ligeramente mayor (26.98 L/m²h) que la no pulverizada (24 L/m²h) y disminuyó después del paso de la solución con proteína (16.71 y 15.06 L/m²h, respectivamente), obteniendo una recuperación de flujo del 62% para ambas. Esta recuperación está dada con respecto a la impregnación o ensuciamiento de la superficie de la membrana que, como se observó en la prueba estática de proteínas, la membrana con el pulverizado adsorbe menos proteínas que aquella membrana sin el pulverizado. Lo anterior, puede atribuirse al incremento de la hidrofiliidad superficial por la adición del copolímero, además de la morfología obtenida después del baño de coagulación de agua. La introducción de los grupos -OH provoca que las proteínas sean repelidas (la proteína tiene un punto isoeléctrico de 4.8, al usar una solución con un pH=7, la carga de la proteína se vuelve negativa) y se evite el ensuciamiento de la superficie, permitiendo que el tiempo de vida de la membrana sea mayor.

Las membranas realizadas en DMAc/agua también fueron probadas para conocer su desempeño en flujo con una solución de BSA y conocer sus propiedades anti-incrustantes a partir de la recuperación de flujo; en la Tabla 3.9 se presentan los resultados obtenidos.

La membrana con mayor flujo inicial fue la membrana de mezcla PLA/PAMPS-*b*-PMMA. Por la morfología adquirida, los macroporos en su interior permiten el paso del agua con mayor facilidad, además de la elevada hidrofiliidad que aporta el bloque de PAMPS, lo que contribuye a un flujo mayor. De igual manera se observa una recuperación de flujo del 69%, mayor que las otras membranas probadas, y con notable diferencia con respecto a la membrana de PLA puro.

Por otra parte, la membrana de PLA/PMMA-*b*-PHEMA no demuestra una mejoría en el flujo de agua comparada con la membrana de PLA. Esta membrana presenta un flujo inicial de 119.86 L/m²h, con una recuperación de flujo del 60 %. Esto se relaciona con la estructura superficial adquirida por la membrana, ya que presenta tamaños de poros más pequeños, aunque abundantes.

La membrana de PLA/PMMA-*b*-PDMAEMA demostró tener buenas propiedades de flujo, presentando un flujo inicial de 381.33 L/m²h y un flujo final de 342.46 L/m²h, lo que representa una recuperación de flujo del 66%. Esta recuperación de flujo indica que, en comparación con la membrana de PLA, se mejoran las propiedades antiincrustantes en la superficie al añadir el copolímero PMMA-*b*-PDMAEMA al PLA. Como se ha mencionado anteriormente, la presencia de grupos hidrofílicos permite la absorción de mayor cantidad de agua y de esta manera no permite a las proteínas adherirse fácilmente a la superficie de la membrana.

Es importante mencionar que, las membranas pulverizadas no lograron permear, debido a la densificación superficial que ocurre después del pulverizado.

Tabla 3.9. Flujos obtenidos para las membranas realizadas en baño DMAc/agua.

MUESTRAS	J_{w1} (L/m ² h)	J_p (L/m ² h)	J_{w2} (L/m ² h)	RFR (%)
PLA	136.98 ± 7.45	35.95 ± 3.32	82.19 ± 3.16	60
PLA/PMMA- <i>b</i> -PHEMA	119.86 ± 10.13	54.45 ± 6.55	71.19 ± 4.23	60
PLA/PMMA- <i>b</i> -PDMAEMA	381.33 ± 13.67	146.2 ± 4.9	342.46 ± 9.46	66
PLA/PAMPS- <i>b</i> -PMMA	500 ± 23.84	113.01 ± 10.28	342.46 ± 12.41	69

Las membranas elaboradas en el baño I/A/A presentaron un comportamiento similar al reportado para las membranas en baño de agua/DMAc. Los resultados se resumen en la Tabla 3.10.

Tabla 3.10. Flujos de membranas elaboradas con el baño I/A/A

MUESTRAS	J_{w1} (L/m ² h)	J_p (L/m ² h)	J_{w2} (L/m ² h)	RFR (%)
PLA	36.98 ± 1.56	8.21 ± 0.43	6.16 ± 1.22	16.66
PLA/PMMA- <i>b</i> -PHEMA	225.32 ± 11.24	110.57 ± 4.77	145.91 ± 14.16	65
PLA/PMMA- <i>b</i> -PDMAEMA	421 ± 9.52	253.42 ± 6.81	281.6 ± 2.22	67
PLA/PAMPS- <i>b</i> -PMMA	376.71 ± 14.56	184.92 ± 4.13	273.97 ± 11.58	73

En este sistema, la membrana que presentó mayor flujo es la de la mezcla PLA/PMMA-*b*-PDMAEMA con 421 L/m²h y con una recuperación de flujo del 67%, mientras que la membrana con menor flujo es la de PLA, con 36.98 L/m²h con una recuperación de tan solo 16.66%. El bajo rendimiento de la membrana de PLA se atribuye a la falta de porosidad en su superficie, como se observó en sus imágenes de SEM en la sección de morfología. Además, el PLA es un material hidrofóbico, por lo tanto, la absorción de agua es muy baja. La baja recuperación de la membrana de PLA también se debe a su alta hidrofiliidad, ya que, al no permitir el paso de agua, las proteínas se adhieren con mayor facilidad [67].

La membrana que obtuvo una mayor recuperación de flujo (**RFR**) fue la de PLA/PAMPS-*b*-PMMA con un 73% de recuperación. Nuevamente, los grupos hidrofílicos -SO₃H del bloque de PAMPS juegan un papel importante ante la adherencia de las proteínas en la superficie.

3.3.3. Prueba de diálisis: eliminación de urea, lisozima y retención de BSA

El proceso de diálisis es un tratamiento médico que permite la eliminación de toxinas y el exceso de agua en la sangre en pacientes con enfermedad renal crónica. Para evaluar la eficiencia de las membranas en un proceso de diálisis se utilizó una solución con solutos como urea, lisozima y BSA, la cual simula la sangre. Cada una de las moléculas presentan diferentes tamaños, por ejemplo, la urea (60 Da) y la lisozima (14,000 Da), las cuales fueron utilizadas para determinar la capacidad de eliminación de toxinas urémicas pequeñas (urea) y medias (lisozima) a través de la membrana. La importancia de utilizar una molécula de tamaño medio es debido a que su acumulación en sangre puede causar amiloidosis y afectar otros tejidos u órganos del cuerpo [49]. Por otra parte, el BSA (66,382 Da), se utilizó para la determinación de retención de moléculas grandes, ya que este tipo de moléculas son necesarias para que el cuerpo funcione correctamente.

A continuación, se presentan los resultados obtenidos en la prueba de diálisis para la eliminación de urea, lisozima y retención de BSA a través de las membranas elaboradas en los baños de DMAc/agua e I/A/A. Las membranas realizadas en agua no fueron evaluadas ya que presentaron fracturas en su superficie.

Eliminación de urea (MW 60 Da)

Las toxinas urémicas, como la urea y creatinina, son compuestos que se encuentran en la sangre y se eliminan por filtración a través de la orina en condiciones normales. Cuando existe un aumento en las concentraciones de éstas en la sangre, significa que la filtración no se realiza de manera correcta, lo que ocasiona problemas en la salud de los pacientes, tal como el síndrome urémico. La urea es la molécula más utilizada para comprobar la calidad y eficiencia de las membranas para hemodiálisis, debido a su tamaño y la importancia de su

eliminación. Para poder determinar si una membrana se encuentra funcionando de manera eficiente, la eliminación de la urea debe de encontrarse por arriba del 60 % [72].

A continuación, se presentan los resultados obtenidos en las membranas realizadas con el baño de DMAc/agua en la prueba de diálisis para la eliminación de urea con una duración de 4 horas.

Tabla 3.11. Eliminación de urea para membranas realizadas en DMAc/agua.

Membrana	1 h	2 h	3 h	4 h
PLA	30.9 ± 0.00	41.4 ± 0.00	42.1 ± 0.27	41.4 ± 0
PLA/PMMA-<i>b</i>-PHEMA	21.9±0.12	18.4±0.12	52 ± 0.03	72.5 ± 0.14
PLA/PAMPS-<i>b</i>-PPMMA	79.9 ± 0.00	78.2 ± 0.001	77.8 ± 0.03	80.2 ± 0.00
PLA/PMMA-<i>b</i>-PDMAEMA	70 ± 0.00	70 ± 0.00	N.D*	

*N.D.= No determinado

Como se puede observar en la tabla 3.11, la membrana de PLA fue la única que presentó una eliminación de urea menor al 60%, registrando una eliminación de urea del 41.44%. A pesar de que la membrana de PLA presenta tamaños de poro entre 2-6 μm , la eliminación de urea no fue efectiva como se esperaba. Esto se le atribuye a la naturaleza hidrofóbica de la membrana de PLA que ocasiona que moléculas más grandes como la proteína BSA se acumulen en su superficie, causando un incrustamiento mayor y, por lo tanto, evitando el paso de moléculas más pequeñas como la urea.

Con las membranas de mezclas poliméricas de PLA con los copolímeros PMMA-*b*-PHEMA, PAMPS-*b*-PMMA y PMMA-*b*-PDMAEMA se obtuvieron mejores resultados para la eliminación de urea con un 72.53%, 80.24% y 70%, respectivamente. Los resultados reportados de las dos primeras membranas son de 4 h, mientras que la última (mezcla con PMMA-*b*-PDMAEMA) el resultado reportado es de la segunda hora. Esta última membrana no pudo ser probada más de dos horas, ya que se fracturó en el transcurso de la tercera hora de prueba.

A continuación, en la tabla 3.12 se aprecian los resultados obtenidos con las membranas realizadas en el baño de I/A/A. Nuevamente, la membrana solo de PLA obtuvo el rendimiento más bajo para la eliminación de urea con sólo el 29%, mientras que la membrana

con el copolímero PMMA-*b*-PHEMA presentó la mejor capacidad de separación de urea con un 94.66%. Para las membranas con los copolímeros PAMPS-*b*-PMMA y PMMA-*b*-PDMAEMA se obtuvieron rendimientos del 86.84% y 62.75%, respectivamente. A pesar de que esta última tuvo un rendimiento relativamente bajo en comparación con las otras dos de mezclas poliméricas, la eliminación de urea es mayor en comparación con la de la membrana de PLA.

Tabla 3.12. Eliminación de urea para membranas realizadas en I/A/A

Membrana	1 h	2 h	3 h	4 h
PLA	27.9 ± 0.11	28.2 ± 0.02	28.9 ± 0.06	29.1 ± 0.03
PLA/PMMA-<i>b</i>-PHEMA	92.7 ± 0.00	93.3 ± 0.0	93.3 ± 0.0	94.7 ± 0.06
PLA/PAMPS-<i>b</i>-PMMA	82 ± 0.0	83.3 ± 0.0	85.5 ± 0.38	86.8 ± 0.75
PLA/PMMA-<i>b</i>-PDMAEMA	11.6 ± 0.02	21.2 ± 0.03	41.7 ± 0.10	62.7 ± 0.17

En general, la hidrofobicidad del PLA tiene un efecto significativo en el flujo a través de la membrana y en la adsorción de proteínas debido a la adhesión de proteínas en su superficie, lo cual conlleva al ensuciamiento y obstrucción de la capa selectiva de la membrana; además, ocasiona la deposición de proteínas en el interior de la membrana, causando principalmente la baja eliminación de las toxinas de menor tamaño, en este caso de la urea. A diferencia de lo anterior, las membranas que contienen copolímeros con bloques hidrofílicos (PHEMA, PAMPS y PDMAEMA) permiten el paso libre de agua a través de ella, evitando el contacto de la proteína en la superficie, la incrustación y el ensuciamiento de la capa superior y, por ende, la eliminación de toxinas urémicas.

Por otra parte, el tamaño de poro de la capa selectiva juega un papel importante al momento de la eliminación de urea. Como se observó en las imágenes SEM, el tamaño de poro de las membranas (tabla 3.12 para las membranas en baño de I/A/A y tabla 3.11 para membranas de baño DMAc/agua), es diferente dependiendo del baño utilizado. Para el caso de la membrana de PLA, elaborada en el baño de DMAc/agua presentó un tamaño de poro superior a los 2 µm, mientras que para la elaborada en el baño de I/A/A la superficie es prácticamente densa, lo que podría explicar también la baja eliminación de urea para esta última. La membrana de PLA/PAMPS-*b*-PMMA también presenta una superficie prácticamente densa,

sin embargo, es la membrana que presenta mayor hidrofiliidad, de acuerdo con las pruebas de ángulo de contacto, lo que aumenta su interacción con la solución con diversos solutos, evitando la incrustación de BSA en su superficie y promoviendo la separación de urea.

Eliminación de Lisozima (MW 14,000 Da)

Para pacientes con enfermedad renal crónica, la diálisis es uno de los tratamientos más utilizados para la eliminación de toxinas. Entre estas toxinas, se encuentran moléculas de tamaño medio como la β_2 -microglobulina (11,800 Da), la cual se encuentra a niveles elevados comparados con pacientes sanos. Por lo tanto, es importante su eliminación, ya que puede comprometer la salud del paciente [73]. Para estudiar la eliminación de moléculas medias, en este estudio se utilizó la lisozima (14,000 Da) en lugar de la β_2 -microglobulina.

En la tabla 3.13 se presentan los resultados obtenidos para la eliminación de lisozima en membranas realizadas en el baño de DMAc/agua. La membrana de PLA tuvo el menor grado de eliminación de esta molécula con tan sólo 3.33%, mientras que la membrana con el copolímero de PMMA-*b*-PHEMA obtiene el mayor rendimiento con el 40.55%, seguida de la membrana con PAMPS-*b*-PMMA con 17.43%. La membrana con el copolímero de PMMA-*b*-PDMAEMA no pudo ser probada debido a su fragilidad.

Tabla 3.13. Eliminación de lisozima en membranas realizadas en baño DMAc/agua

Membrana	1 h	2 h	3 h	4 h
PLA	0 ± 0.83	0 ± 0	0 ± 0	3.3 ± 0.83
PLA/PMMA-<i>b</i>-PHEMA	11 ± 1.24	16.7 ± 2.22	32.5 ± 0.87	40.5 ± 1.08
PLA/PAMPS-<i>b</i>-PMMA	2.5 ± 0	5.8 ± 1.44	14.2 ± 3.81	17.4 ± 6.53
PLA/PMMA-<i>b</i>-PDMAEMA	N. D.*			

N.D.*=No determinado

Por otra parte, en la tabla 3.14, se muestran los resultados de las membranas realizadas en el baño de I/A/A. Nuevamente la membrana de PLA resultó ser la de menor rendimiento, con el 0% de eliminación de lisozima. La capa densa obtenida de la membrana evita el paso de las moléculas de lisozima a través de la membrana.

Tabla 3.14. Eliminación de lisozima en membranas realizadas en baño I/A/A

Membrana	1 h	2 h	3 h	4 h
PLA	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
PLA/PMMA- <i>b</i> -PHEMA	35.8 ± 6.29	39.2 ± 3.81	52.5 ± 2.5	54.2 ± 3.81
PLA/PAMPS- <i>b</i> -PMMA	8.3 ± 1.44	56.7 ± 2.88	55.2 ± 0.28	57.5 ± 2.5
PLA/PMMA- <i>b</i> -PDMAEMA	2.5 ± 0.64	10.7 ± 1.42	16.3 ± 2.78	18.2 ± 0.54

Además, la membrana realizada con PAMPS-*b*-PMMA en este caso fue la que obtuvo mayor eliminación, con un 57.5%, seguida de las membranas de PMMA-*b*-PHEMA y PMMA-*b*-PDMAEMA con un 54.16% y 18.24%, respectivamente.

La membrana que contiene el bloque de PAMPS en su estructura, a pesar de que la superficie luce completamente densa en las imágenes de SEM, fue la que obtuvo una mayor eliminación de lisozima. Una forma de explicar este comportamiento es debido a la naturaleza hidrofílica del PAMPS, ya que, al contacto con el agua, éste se hincha, pudiendo generar una capa tipo gel en la superficie lo cual permite el paso de esta molécula media a través de ella.

Cabe mencionar que Lijing Zhu y colaboradores (2015) [32] reportaron que las membranas de mezclas de PLA con PLA-co-poli (metacrilato de 2-hidroxietilo) (PLA-co-PHEMA) presentaron una mejora en la separación de flujo y de soluto comparadas con la membrana de puro PLA, presentando un 18% de eliminación de lisozima. Esta membrana, reportada por los autores antes mencionados, es muy similar a la membrana de la mezcla PLA/PMMA-*b*-PHEMA, sin embargo, en este estudio la mezcla fue con copolímeros anfifílicos que presentan un bloque de PMMA, debido a que el PMMA es capaz de remover la β 2-microglobulina por adsorción y presenta alta retención de compuestos tóxicos [27]. Los resultados comprueban lo reportado, ya que las membranas de mezclas poliméricas de PLA con los copolímeros PMMA-*b*-X (X: PHEMA, PAMPS y PDMAEMA) presentaron una eliminación de lisozima de más del 50%, excepto para la mezcla con PMMA-*b*-PDMAEMA que presentó una eliminación similar a la reportada por Lijing Zhu y colaboradores. Por lo tanto, la adición de este tipo de copolímeros fue altamente efectiva para la eliminación de moléculas de tamaño medio a través de las membranas.

Retención de BSA (MW 66,382 Da)

La pérdida de albumina durante el procedimiento de diálisis es asociado a síndromes como la hipoalbuminemia; es por ello por lo que los diseños actuales para membranas es evitar que esto ocurra [18]. Para realizar la prueba de retención, se utilizó la molécula de Albumina de Suero Bovino (BSA) con un peso molecular de 66,382 Da.

Como se puede observar en la tabla 3.15, la membrana de PLA realizada en el baño de DMAc/agua presentó una baja retención de proteínas, del 64.70%. Esto está asociado al tamaño de los poros de la membrana (2-6 μm) que permite el paso de moléculas tan grandes como el BSA.

Por otra parte, la membrana que contiene PAMPS-*b*-PMMA demostró ser la membrana con mayor retención de proteínas después de 4 h, con un total del 99.26%. Seguida de la membrana que contiene PMMA-*b*-PHEMA y la membrana de PMMA-*b*-PDMAEMA con una retención del 89.77% y 65.45%, respectivamente. Como se mencionó anteriormente, la membrana de PMMA-*b*-PDMAEMA se fracturó antes de terminar la prueba.

Tabla 3.15. Retención de proteínas (BSA) en el medio usando membranas elaboradas en baño de DMAc/Agua

Membrana	1 h	2 h	3 h	4 h
PLA	92.7 \pm 0.03	81.5 \pm 0.04	71.5 \pm 0.13	64.7 \pm 0.02
PLA/PMMA-<i>b</i>-PHEMA	66.4 \pm 0.05	83.9 \pm 0.03	93 \pm 0.02	89.8 \pm 0.02
PLA/PAMPS-<i>b</i>-PMMA	97.9 \pm 0.00	99.4 \pm 0.03	97.4 \pm 0	99.3 \pm 0.55
PLA/PMMA-<i>b</i>-PDMAEMA	66.1 \pm 0.09	65.4 \pm 0.11	N. D.*	

*N.D.= No determinado

A diferencia de las membranas realizadas en DMAc/agua, las membranas que se realizaron en el baño de I/A/A presentan tamaños de poros más pequeños, así como superficies casi densas. En la tabla 3.16 se presentan los resultados obtenidos de la prueba de diálisis con respecto a la retención de proteínas.

Para este caso, la membrana de PLA presenta una retención de proteínas mayor que su homóloga en el baño de DMAc/agua. Esto se debe a su morfología y la falta de porosidad que evita el paso de moléculas como el BSA, reteniéndolas en su superficie. Sin embargo, al observar de nuevo su baja eliminación de urea (29%) y alta adsorción de proteínas en

superficie ($6.32 \mu\text{g}/\text{cm}^2$), se puede concluir que tanto la falta de porosidad como la hidrofobicidad del material no permiten el paso adecuado de las moléculas a través de la membrana.

Tabla 3.16. Retención de proteínas (BSA) en el medio usando membranas elaboradas en baño de I/A/A

Membrana	1 h	2 h	3 h	4 h
PLA	98.4 ± 0.04	92.9 ± 0.08	89.7 ± 0.03	83.3 ± 0.07
PLA/PMMA-<i>b</i>-PHEMA	99.6 ± 0.09	96.1 ± 0.12	91.0 ± 0.07	90.9 ± 0.03
PLA/PAMPS-<i>b</i>-PMMA	77.4 ± 0.05	67.2 ± 0.02	60.8 ± 0.04	65.7 ± 2.31
PLA/PMMA-<i>b</i>-PDMAEMA	96.1 ± 0.08	93.9 ± 0.05	86.9 ± 0.01	81.4 ± 0.15

En general, diversos factores afectan al funcionamiento de las membranas para diálisis, desde el baño de coagulación en el que se preparan, hasta las repulsiones electrostáticas (cargas eléctricas) en la superficie de la membrana por los materiales utilizados [17]. Para las membranas preparadas en este estudio, la principal influencia es la utilización de materiales hidrofílicos, los cuales permiten el paso de agua, evitando el arrastre de proteínas esenciales a través de la membrana y permitiendo la eliminación de toxinas urémicas con mayor facilidad [67]. También, la introducción del bloque de PMMA que, además de conferirle la compatibilidad con la matriz polimérica de PLA evitando la separación de fases, favorece la eliminación de moléculas de tamaño mediano.

CAPÍTULO IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

La síntesis de los copolímeros PMMA-*b*-PHEMA, PMMA-*b*-PDMAEMA y PAMPS-*b*-PMMA fueron sintetizados con éxito por el método de ATRP, utilizando catalizadores de cobre (PMMA-*b*-PHEMA y PMMA-*b*-PDMAEMA) y complejos de rutenio (PAMPS-*b*-PMMA) obteniendo un crecimiento de la cadena de PMMA de aproximadamente 60% en cada bloque.

Las membranas de PLA y de mezclas de PLA/copolímeros en bloque indican que la morfología de estas membranas depende considerablemente del baño de coagulación empleado para su elaboración y del tipo de copolímero anfifílico adicionado. La membrana de PLA mostró disminución de macroporos en su interior con el baño de I/A/A con respecto a sus homólogas elaboradas en agua y DMAc/Agua. Para el caso de las membranas elaboradas con los copolímeros anfifílicos, la capa superficial de las membranas presentó una estructura menos porosa, disminuyendo el tamaño de los poros desde el orden de μm para las homólogas elaboradas en el baño de agua, hasta el orden de nm para las elaboradas en los baños de I/A/A y DMAc/agua

La impregnación superficial de los copolímeros anfifílicos resultó ser una técnica efectiva para modificar la estructura superficial de la membrana y aumentar la resistencia superficial de la membrana ante el ensuciamiento, siendo la impregnación en membranas húmedas el método más efectivo para lograr impregnación homogénea de los copolímeros en la superficie en comparación con el pulverizado en membranas previamente secadas. Sin embargo, en algunos casos la capa superior se volvió completamente densa, cubriendo los poros superficiales de manera completa. Aplicando menor cantidad de capas podría ser una solución para evitar una estructura superficial cerrada.

Se comprobó que la hidrofiliidad de las membranas mejoró con la adición de los copolímeros anfifílicos, disminuyendo el ángulo de contacto de 79° (membrana PLA) hasta 73.9° , 67.8° y 61° para las membranas con los copolímeros PMMA-*b*-PHEMA, PMMA-*b*-

PDMAEMA y PAMPS-*b*-PMMA, respectivamente. Esto es debido a los grupos hidrofílicos presentes en cada cadena -OH, -N-(CH₃)₂ y -SO₃H.

Las pruebas de adsorción estática de proteínas y pruebas de flujo de las membranas demostraron que mejora la propiedad de antiincrustamiento al aplicar los copolímeros anfifílicos. La membrana de PLA fue la que mostró una alta adsorción de proteínas, de hasta 32.9 µg/cm² (en baño de agua) y un flujo de 31.91 L/m²h con una **RFR** de solo 55%, demostrando que el alto ensuciamiento en la superficie del material está dado por la naturaleza hidrofílica del PLA, además de la influencia del grosor de la membrana y el tamaño de poro. Asimismo, las membranas mostraron una mayor recuperación de flujo, hasta un 73% de **RFR** (para la membrana PAMPS-*b*-PMMA en baño I/A/A).

Por otra parte, la prueba de diálisis permitió conocer las propiedades de eliminación entre moléculas pequeñas (como la urea) y moléculas medianas (lisozima) a través de las membranas de mezclas poliméricas. Las membranas de los copolímeros PMMA-*b*-PHEMA, PMMA-*b*-PDMAEMA y PAMPS-*b*-PMMA eliminan una mayor cantidad de urea y lisozima, con una capacidad de separación de hasta 94.7%, 62.7% y 86.8% para urea y 54.2%, 18.2% y 57.5% para lisozima, respectivamente, en comparación con la membrana de PLA que presentó una separación de 29.1% y 3% de urea y lisozima, respectivamente. Además, dichas membranas retienen moléculas esenciales en la solución como proteínas de hasta un 99.3% (membrana PAMPS-*b*-PMMA) y evitan su pérdida durante la realización del tratamiento.

En general, la adición de copolímeros debido a su naturaleza hidrofílica/hidrofóbica, permite el mejoramiento de la propiedad de antiincrustamiento en la superficie de las membranas, al evitar la adsorción de proteínas en la superficie, y mejoran la eliminación de toxinas urémicas pequeñas y medianas; además, las diferentes morfologías obtenidas por los diferentes baños, así como el grosor de las membranas influyeron en los resultados obtenidos.

4.2. RECOMENDACIONES

Se propone mejorar la síntesis de los copolímeros a través del método ATRP para la disminución del bloque hidrofílico, de esta manera mejorando las propiedades de soporte de la membrana.

Mejorar el método de inmersión de fase para obtener membranas asimétricas más porosa, con estructura de poros más definidas, sin fracturas en su superficie, así como la disminución de macroporos en su interior.

Disminuir la cantidad de capas en la impregnación de superficie, con el fin de evitar una estructura muy cerrada, de esta manera.

Por último, se ha reportado que al incrementar el área de contacto de las membranas mejora la propiedad de separación y eliminación de solutos urémicos, por ello sería interesante realizar membranas de fibra hueca con los copolímeros presentados, con el fin de obtener resultados más reales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] A. Melo dos Santos; A. C. Habert; H. Ferraz, «Development of functionalized polyetherimide/polyvinylpyrrolidone membranes for application in hemodialysis,» *Journal of Materials Science*, vol. 28, nº 131, pp. 1-9, 2017.
- [2] X. Yu; L. Shen; Y. Zhu; X. Li; Y. Yang; X. Wang; M. Zhu; B. S. Hsiao, «High performance thin-film nanofibrous composite hemodialysis membranes with efficient middle-molecule uremic toxin removal,» *Journal of Membrane Science*, vol. 523, pp. 173-184, 2017.
- [3] National Kidney Foundation, «National Kidney Foundation,» 22 de Noviembre de 2017. [En línea]. https://www.kidney.org/sites/default/files/02-10-6050_FBD_Clinical_bulletin.pdf. [Último acceso: 22 Noviembre 2017].
- [4] C. Ronco; A. Brendolan; C. Crepaldi; M. Rodighiero; M. Scabardi, «Blood and Dialysate Flow Distributions in Hollow-Fiber Hemodialyzers Analyzed by Computerized Helical Scanning Technique,» *Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 13, pp. S53-S61, 2002.
- [5] W. R. Clark; R. J. Hamburger; M. J. Lysaght, «Effect of membrane composition and structure on solute removal and biocompatibility in hemodialysis,» *Kidney International*, vol. 56, pp. 2005-2015, 1999.
- [6] A. Gautham; J. M. Muhammed; M. Murugan; N. Mansoor Ani, «Hemodialysis membranes: Past, present and future trends,» *International Research Journal of Pharmacy*, vol. 4, nº 5, pp. 16-19, 2013.
- [7] M. Abidin; P. Goh; A. Ismail; M. Othman; H. Hasbullah; N. Said; S. H. Abdul; F. Kamal; M. Abdullah; B. Ng, «Development of biocompatible and safe polyethersulfone hemodialysis membrane incorporated with functionalized multi-

- walled carbon nanotubes,» *Materials Science and Engineering C*, vol. 77, pp. 572-582, 2017.
- [8] S. Bowry; E. Gatti; J. Vienken, «Contribution of Polysulfone Membranes to the Success of Convective Dialysis Therapies,» de *High-Performance Membrane Dialyzers*, vol. 173, Basel, Karger, 2011, pp. 110-118.
- [9] T. Sunohara; T. Masuda, «Cellulose Triacetate as High-Performance Membrane,» de *High-Performance Membrane Dialyzers*, Basel, Karger, 2011, pp. 156-163.
- [10] F. Aucella; A. Gesuete; M. Vigilante; M. Prencipe, «Adsorption Dialysis: From Physical Principles to Clinical Applications,» *Blood Purification*, vol. 35, pp. 42-47, 2013.
- [11] C. Ronco; G. La Manna; «Expanded Hemodialysis: A New Therapy for a New Class of Membranes,» *Contrib Nephrol*, vol. 190, pp. 124-133, 2017.
- [12] A. Boschetti; W. Beck; H. Hildwein; B. Krause; M. Storr; C. Zweigart, «Membrane Innovation in Dialysis,» de *Expanded Hemodialysis - Innovative Clinical Approach in Dialysis*, Basel, Contrib Nephrol, 2017, pp. 100-114.
- [13] K. Kokubo; Y. Kurihara; K. Kobayashi; H. Tsukao; H. Kobayashi, «Evaluation of the Biocompatibility of Dialysis Membranes,» *Blood Purification*, vol. 40, pp. 293-297, 2015.
- [14] E. Drioli; L. Giorno, *Membrane Operations*, Weinheim: WILEY-VCH, 2009.
- [15] J. Daugirdas; P. Blake; T. Ing, «Physiologic Principles and Urea Kinetic Modeling,» de *Handbook of Dialysis*, Filadelfia, Lippincott Williams & Wilkins, 2007, pp. 25-58.
- [16] P. Farrell; A. Babb, «Estimation of the permeability of cellulosic membranes from solute dimensions and diffusivities,» *Journal of Biomedical Materials Research*, vol. 7, n° 4, pp. 275-300, 1973.

- [17] L. Ma; B. Su; C. Cheng; Z. Yin; H. Qin; J. Zhao; S. Sun; C. Zhao, «Toward highly blood compatible hemodialysis membranes via blending with heparin-mimicking polyurethane: Study in vitro and in vivo,» *Journal of Membrane Science*, vol. 470, pp. 90-101, 2014.
- [18] X. Yu; L. Shen; Y. Zhu; X. Li; Y. Yang; X. Wang; M. Zhu; B. S. Hsiao, «High performance thin-film nanofibrous composite hemodialysis membranes with efficient middle-molecule uremic toxic removal,» *Journal of Membrane Science*, vol. 523, pp. 173-184, 2017.
- [19] D. Sirshendu; A. Roy, «Evolution of Hemodialysis Technology,» de *Hemodialysis Membranes*, Boca Ratón, Taylor & Francis , 2017, pp. 13-36.
- [20] A. T. Azar, *Modeling and Control of dialysis Systems*, New York: Springer, 2013.
- [21] A. Nissenson; R. Fine, *Handbook of Dialysis Therapy*, Philadelphia: Elsevier, 2017.
- [22] M. López, «El sistema del complemento: un mecanismo innato de defensa,» *SEBBM Divulgación*, vol. 29, pp. 1-2, 2010.
- [23] P. Aljama; J. Amate; J. Conde, «Criterios de clasificación de las membranas,» *Nefrología*, vol. XVI, nº 4, pp. 50-63, 1996.
- [24] W. Hörl; K. Koch; R. Lindsay; C. Ronco; J. F. Winchester, *Replacement of Renal Function by Dialysis*, E.U.: Springer, 2004.
- [25] A. C. Yamashita; K. Sakurai, «Dialysis Membranes - Physicochemical Structures and Features,» de *Updates in Hemodialysis*, Rijeka, InTech, 2015, pp. 163-187.
- [26] D. H. Krieter; H. D. Lemke, «Polyethersulfone as a High-Performance Membrane,» de *High-Performance Membrane Dialyzers*, vol. 173, Basel, Karger, 2011, pp. 130-136.
- [27] T. Krummel; T. Hannedouche, «Clinical Potentials of Adsorptive Dialysis Membranes,» *Blood Purification*, vol. 35, nº 2, pp. 1-4, 2013.

- [28] M. Kohlová; C. Gomes; A. Araújo; A. Santos-Silva; P. Solich; M. C. Montenegro, «The biocompatibility and bioactivity of hemodialysis membranes: their impact in end-stage renal disease,» *Journal of Artificial Organs*, vol. I, n° 22, pp. 14-28, 2019.
- [29] F. Galiano; K. Briceño; T. Marino; A. Molino; K. V. Christensen; A. Figoli, «Advances in biopolymer-based membrane preparation and applications,» *Journal of Membrane Science*, vol. I, n° 564, pp. 562-586, 2018.
- [30] J. K. Oh, «Polylactide (PLA)-based amphiphilic block copolymers: synthesis, self-assembly, and biomedical applications,» *Soft Matter*, vol. 7, pp. 5096-5108, 2011.
- [31] A. Fauzi Ismail; M. Abidin; S. Mansu,; M. Zuhlilmi; N. Said; Y. Raharjo; S. Mat Rosid; M. H. Dzarfan; P. S. Goh; H. Hasbullah, «Hemodialysis Membrane for Blood Purification Process,» de *Membrane Separation Principles and Applications*, Amsterdam, Elsevier Inc., 2018, pp. 283-314.
- [32] L. Zhu; F. Liu; X. Yu; L. Xue, «Poly(Lactic Acid) Hemodialysis Membranes with Poly(Lactic Acid)-block-Poly(2-Hydroxyethyl Methacrylate) Copolymer As Additive: Preparation, Characterization and Performance,» *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 7, pp. 17748-17755, 2015.
- [33] X. Yu; F. Liu; L. Wang; Z. Xiong; Y. Wang, «Robust poly(lactic acid) membranes improved by polysulfone-g-poly(lactic acid) copolymers for hemodialysis,» *RSC Advances*, vol. 5, pp. 78306-78314, 2015.
- [34] A. Gao; F. Liu; L. Xue; «Preparation and evaluation of heparin-immobilized poly (lactic acid) (PLA) membrane for hemodialysis,» *Journal of Membrane Science*, vol. 452, pp. 390-399, 2014.
- [35] C. Choochottiros; E. Park; I.J. Chin, «Synthesis and characterization of polylactide–poly(methyl methacrylate) copolymer by combining of ROP and AGET ATRP,» *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, vol. 18, pp. 993-1000, 2012.

- [36] L. Ma; L. Huang; Y. Zhang; L. Zhao; X. Qingping; H. Ye; H. Li, «Hemocompatible Poly(lactic acid) membranes prepared by immobilizing carboxylated graphene oxide via mussel-inspired method for hemodialysis,» *RSC Advances*, vol. 8, pp. 153-161, 2018.
- [37] A. Figoli; S. Simone; E. Drioli, «Polymeric Membranes,» de *Membrane Fabrication*, Boca Ratón, CRC Press, Taylor & Francis Group, 2015, pp. 3-35.
- [38] M. Mulder; *Basic Principles of Membrane Technology*, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1996.
- [39] A. D. Ryabov; V. Sukharev; L. Alexandrova; R. P. M. Le Lagadec, «New Synthesis and New Bio-Application of Cyclometalated Ruthenium(II) Complexes for Fast Mediated Electron Transfer with Peroxidase and Glucose Oxidase,» *Inorg. Chem.*, vol. 40, pp. 6529-6532, 2001.
- [40] A. D. Ryabov; R. Le Lagadec; H. Estevez; L. Alexandrova; A. Fisher; M. Pfeffer, «Synthesis, Characterization, and Electrochemistry of Biorelevant Photosensitive Low-Potential Orthometalated Ruthenium Complexes,» *Inorg. Chem.*, vol. 44, pp. 1626-1634, 2005.
- [41] C.H. Du; X. M. Ma; C. J. Wu; M. Q. Cai; L. G. Wu, «Synthesis of a Poly(methyl methacrylate)-b-Poly[2-(N,N-dimethylamino) ethyl methacrylate] Block Copolymer and Its Effects on the Surface Charges and pH-Responsive Properties of Poly(vinylidene fluoride) Blend Membranes,» *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 40685, pp. 1-8, 2014.
- [42] E. Vargün; M. Sankir; B. Aran; N. D. Sankir; A. Usanmaz, «Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry,» *Synthesis and Characterization of 2-Hydroxyethyl Methacrylate (HEMA) and Methyl Methacrylate (MMA) Copolymer Used as Biomaterial*, vol. 43, n° 3, pp. 235-240, 2010.

- [43] U. Chatterjee; S. K. Jewrajka; B. M. Mandal, «The amphiphilic block copolymers of 2-(dimethylamino)ethyl methacrylate and methyl methacrylate: Synthesis by atom transfer radical polymerization and solution properties,» *Polymer*, vol. 46, pp. 10699-10708, 2005.
- [44] H. Sun; T. Wang; Y. Zhou; P. Li; Y. Kong, «Synthesis of well-defined amphiphilic block copolymers via AGET ATRP used for hydrophilic modification of PVDF membrane,» *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 42080, pp. 1-9, 2015.
- [45] L. J. Zhu; F. Liu; X. M. Yu; A. L. Gao; L. X. Xue, «Surface zwitterionization of hemocompatible poly(lactic acid) membranes for hemodiafiltration,» *Journal of Membrane Science*, vol. 475, pp. 469-479, 2015.
- [46] N. J. Kruger, «The Bradford Method for Protein Quantitation,» de *The Protein Protocols Handbook*, Totowa, J. M. Walker Humana Press Inc., 1996, pp. 15-20.
- [47] M. M. Bradford, «A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding,» *Analytical Biochemistry*, vol. 72, pp. 248-254, 1976.
- [48] M. A. Yam Cervantes; J. L. Santiago García; M. I. Loría Bastarrachea; S. Duarte Aranda; F. A. Ruiz Treviño; M. Aguilar Vega, «Sulfonated polyphenylsulfone asymmetric membranes: Effect of coagulation bath (acetic acid-NaHCO₃/isopropanol) on morphology and antifouling properties,» *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 44502, pp. 1-10, 2016.
- [49] Z. An; R. Xu; F. Dai; G. Xue; X. He; Y. Zhao; L. Chen, «PVDF/PDF-g-PACMO blend hollow fiber membranes for hemodialysis: preparation, characterization, and performance,» *RSC Advances*, vol. 7, pp. 26593-26600, 2017.
- [50] M. Irfan; A. Idris; N. F. Mohd Khairuddin; N. Mohd Yusof; H. Akhmal, «Surface modification and performance enhancement of nano-hybrid f-MWCNT/PVP90/PES

- hemodialysis membranes,» *Journal of Membrane Science*, vol. 467, n° 1, pp. 73-84, 2014.
- [51] G. Zhang; J. Zhang; S. Wang; D. Shen, «Miscibility and phase structure of binary blends of polylactide and poly(methyl methacrylate),» *Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics*, vol. 42, n° 1, pp. 23-30, 2003.
- [52] M. O. González Díaz; S. López Morales; R. Le Lagandec; L. Alexandrova, «Homogeneous Radical Polymerization of 2-Hydroxyethyl Methacrylate Mediated by Cyclometalated Cationic Ruthenium(II) Complexes with PF6⁻ and Cl⁻ in Protic Media,» *JOURNAL OF POLYMER SCIENCE PART A: POLYMER CHEMISTRY*, vol. 49, p. 4562–4577, 2011.
- [53] M. O. González Díaz, «Polimerización radicalica de metacrilato de 2-hidroxietilo (HEMA) catalizada por complejos iónicos de rutenio(II) : mecanismo e influencia del contraión,» Tesis de doctorado, Universidad Nacional Autonoma de México, Ciudad de México, 2011.
- [54] Y. Sui; Z. Wang; X. Gao; C. Gao, «Antifouling PVDF ultrafiltration membranes incorporating PVDF-g-PHEMA additive via atom transfer radical graft polymerizations,» *Journal of Membrane Science*, Vols. %1 de %2413-414, pp. 38-47, 2012.
- [55] Y. H. Zhao; Y. L. Qian; D. X. Pang; B. K. Zhu; Y. Y. Xu, «Porous membranes modified by hyperbranched polymers II. Effect of the arm length of amphiphilic hyperbranched-star polymers on the hydrophilicity and protein resistance of poly(vinylidene fluoride) membranes,» *Journal of Membrane Science*, vol. 304, pp. 138-147, 2007.
- [56] A. Asatekin; S. Kang; M. Elimelech; A. M. Mayes, «Anti-fouling ultrafiltration membranes containing polyacrylonitrile-graft-poly(ethylene oxide) comb copolymer additives,» *Journal of Membrane Science*, vol. 298, pp. 136-146, 2007.

- [57] M. B. Thürmer; P. Poletto; M. Marcolin; J. Duarte; M. Zeni, «Effect of Non-Solvents Used in the Coagulation Bath on Morphology of PVDF Membranes,» *Materials Research*, vol. 15, n° 6, pp. 884-890, 2012.
- [58] E. Fontananova; J. C. Jansen; A. Cristiano; E. Curcio; E. Drioli, «Effect of additives in the casting solution on the formation of PVDF membranes,» *Desalination*, vol. 192, pp. 190-197, 2006.
- [59] L. Ahmadian; M. Kheirmand; H. Mahdavi, «Preparation, characterization and properties of PVDF-g-PAMPS/PMMA-co-PAMPS/silica nanoparticle as a new proton exchange nanocomposite membrane,» *Chemical Engineering Journal*, vol. 1, pp. 1-25, 2015.
- [60] J. Brandrup; E. H. Immergut, *Polymer Handbook*, New York: Wiley, 1989, pp. 2289-2301.
- [61] E. Saljoughi; T. Mohammadi, «Cellulose acetate (CA)/polyvinylpyrrolidone (PVP) blend asymmetric membranes: Preparation, morphology and performance,» *Desalination*, vol. 249, pp. 850 - 854, 2009.
- [62] A. Nelson Vargas; J. Rodríguez Hernández, «Microstructured Polymer Blend Surfaces Produced by Spraying Functional Copolymers and Their Blends,» *Materials*, vol. 9, n° 431, pp. 1-12, 2016.
- [63] J. K. Oh, «Polylactide (PLA)-based amphiphilic block copolymers: synthesis, self-assembly, and biomedical applications,» *Soft Matter*, vol. 7, pp. 5096 - 5108, 2011.
- [64] Y. Sui; X. Gao; Z. Wang; C. Gao, «Antifouling and antibacterial improvement of surface-functionalized poly(vinylidene fluoride) membrane prepared via dihydroxyphenylalanine-initiated atom transfer radical graft polymerizations,» *Journal of Membrane Science*, vol. 394, pp. 107-119, 2012.

- [65] A. P. Abellán, Polivinilpirrolidonas aminadas: síntesis, caracterización y aplicaciones en los campos biomédico y tecnológico, Madrid: Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros, 2016.
- [66] S. M. Javaid Zaidi, «Polymer sulfonation – A versatile route to prepare proton-conducting membrane material for advanced technologies,» *The Arabian Journal for Science and Engineering*, vol. 28, nº 2B, pp. 183 - 194, 2003.
- [67] B. Fang; Q. Ling; W. Zhao; Y. Ma; P. Bai; Q. Wei; H. Li; C. Zhao, «Modification of polyethersulfone membrane by grafting bovine serum albumin on the surface of polyethersulfone/poly(acrylonitrile-co-acrylic acid) blended membrane,» *Journal of Membrane Science*, vol. 329, nº 1, pp. 46 - 55, 2009.
- [68] M. Han; A. Sethuraman; R. S. Kane, «Nanometer-scale roughness having little effect on the amount or structure of adsorbed protein,» *Langmuir*, vol. 19, nº 1, pp. 9868-9872, 2003.
- [69] E. Eren; A. Sarihan; B. Eren; H. Gumus; F. O. Kocak, «Preparation, characterization and performance enhancement of polysulfone ultrafiltration membrane using PBI as hydrophilic modifier,» *Journal of Membrane Science*, vol. 475, pp. 1 - 8, 2015.
- [70] H. Qin; C. Sun; C. He; D. Wang; C. Cheng; S. Nie; S. Sun; C. Zhao, «High efficient protocol for the modification of polyethersulfone membranes with anticoagulant and antifouling properties via in situ cross-linked copolymerization,» *Journal of Membrane Science*, vol. 468, pp. 172-183, 2014.
- [71] L. Duan; W. Huang; Y. Zhang, «High-flux, antibacterial ultrafiltration membranes by facile blending with N-halamine grafted halloysite nanotubes,» *RSC Advances*, vol. 5, pp. 6666 - 6674, 2015.

- [72] M. Irfan; A. Idris; N. M. Yusof; N. F. Mohd; H. Akhmal, «Surface modification and performance enhancement of nano-hybrid f-MWCNT/PVP90/PES hemodialysis membranes,» *Journal of Membrane Science*, vol. 467, pp. 73-84, 2014.
- [73] F. Ran; S. Nie; W. Zhao; J. Li; B. Su; S. Sun; C. Zhao, «Biocompatibility of modified polyethersulfone membranes by blending an amphiphilic triblock co-polymer of poly(vinyl pyrrolidone)–b-poly(methyl methacrylate)–b-poly(vinyl pyrrolidone),» *Acta Biomaterialia*, vol. 7, p. 3370–3381, 2011.