

3- MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. DISOLVENTES Y REACTIVOS

Los disolventes y reactivos, normalmente de calidad PA-ACS, se utilizaron sin purificación previa.

Los disolventes deuterados utilizados para RMN son:

- CDCl_3 -*d*, grado de deuteración mínimo 99,8% (Merck).
- TFA-*d*, grado de deuteración mínimo 99,8% (Aldrich).
- TFA, grado de pureza 99,8% (Aldrich).
- Ácido fórmico-*d*, grado de deuteración mínimo 98% (Aldrich).

Los enzimas utilizados en los ensayos de biodegradación son:

- Papaína (*Carica papaya*), 30,000 unidades/mg, N° 7144 (Merck).
- Proteinasa K (*Tritirachium album*), 11.3 unidades/mg (Sigma).
- Lipasa (*Pseudomonas cepacea*), 40 unidades/mg (Fluka).
- Lipasa (*Candida cylindracea*), 943 unidades/mg (Sigma).
- Lipasa (*Rizophus delemar*), 0.4 unidades/mg (Fluka)

3.2. SÍNTESIS

3.2.1. Síntesis de compuestos modelo.

La síntesis de los compuestos modelo se llevó a cabo según los procedimientos empleados en la preparación de retro-péptidos.⁷⁶ Para los dos compuestos con estructura: $\text{MeO-OC-R-NH-OC-R'-CO-NH-R-CO-OMe}$, donde **R** es un grupo metileno para el caso del aminoácido glicina y **R'** es el grupo tereftálico (C_6H_4) u oxálico (CO-CO), el método consistió en hacer reaccionar dos moles del éster metílico del aminoácido con un mol del dicloruro del ácido correspondiente en presencia de trietilamina como base.

El modelo: $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{CO-NHCH}_2\text{CO-O}(\text{CH}_2)_6\text{O-OCCH}_2\text{NH-COC}_6\text{H}_4\text{CH}_3$, se preparó en dos etapas. La primera es una esterificación con ácido p-toluenosulfónico de dos moles de glicina con uno de 1,6-hexanodiol. A continuación, un mol del trímero anterior se trató con dos moles de cloruro de 4-metilbenzoilo en presencia de trietilamina como base.

3.2.2. Síntesis de polímeros.

El método de polimerización empleado se eligió en función del tipo de polímero. Las poliesteramidas y poliamidas fueron sintetizadas por polimerización interfacial o térmica, y los poliésteres por polimerización térmica.

3.2.2.1. POLIMERIZACIÓN INTERFACIAL

Se trata de una reacción bimolecular que tiene lugar en la interfase entre dos líquidos inmiscibles. En la fase orgánica se encuentra disuelto el dihaluro de ácido, y en la fase acuosa la diamina o el diol según se trate de poliamidación o poliesterificación, respectivamente. Esta técnica aprovecha la mayor reactividad de los dihaluros de ácido frente a sus correspondientes diésteres o diácidos.⁷⁷ Algunos factores como la conversión de la reacción pueden verse afectados por la agitación del sistema. Dos tipos de sistemas pueden ser empleados: **sin agitación** y **con agitación**.

En los sistemas **sin agitación** el polímero no es soluble en la interfase y al poner en contacto ambas soluciones se observa la formación de un film o filamento, el cual puede tener resistencia mecánica suficiente para ir estirándose y eliminándose de forma continua del medio de reacción.

Los sistemas **con agitación** se aplican a polímeros que precipitan rápidamente y no es necesaria la formación de un film para eliminarlo del medio de reacción, el polímero es aislado por filtración.

Algunos factores que influyen en el rendimiento y peso molecular de los polímeros obtenidos por el método de polimerización interfacial deben ser considerados. En primer lugar, es necesaria la presencia en la fase acuosa de una base inorgánica que neutralice el subproducto ácido procedente de la reacción de condensación, en caso contrario éste reaccionaría con la diamina para dar la sal hidroclicrica y se reduciría sustancialmente el peso molecular resultante. Aunque las bases fuertes son mejores aceptores de subproductos ácidos y deben emplearse en la síntesis de poliamidas,⁷⁸ deberá considerarse su elección en el caso de monómeros con enlaces fácilmente hidrolizables a pH básico. En éstos casos se escogen bases más débiles como el carbonato de sodio.

El dihaluro de ácido puede sufrir hidrólisis dando lugar al diácido a concentraciones elevadas de base y a bajas velocidades de polimerización. La hidrólisis no sólo reduce la velocidad de polimerización, sino

también limita en gran medida el peso molecular del polímero debido a que el diácido resultante no resulta reactivo a las temperaturas en que tiene lugar la polimerización interfacial.

La elección del disolvente en la fase orgánica también juega un papel importante en el control del peso molecular, ya que la reacción parece tener lugar en este lado de la interfase. El disolvente debe mantener disuelto el polímero en crecimiento hasta que éste alcance un tamaño suficientemente grande como para precipitar. Disolventes como xileno y tetracloruro de carbono tienden a dar polímeros de peso molecular más bajo que cloroformo o diclorometano porque precipitan todas las fracciones poliméricas.

A pesar de las ventajas que el método representa, existen ciertos inconvenientes que limitan su utilidad industrial como el elevado coste de los reactivos y la grande cantidad de disolvente que es necesario utilizar y recuperar posteriormente. La polimerización interfacial puede utilizarse para obtener diversos polímeros, aunque los policarbonatos son los únicos que se obtienen actualmente a escala industrial.

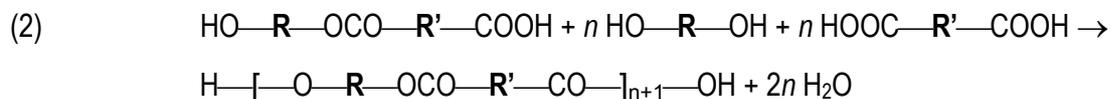
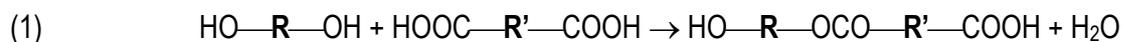
3.2.2.2. POLIMERIZACIÓN TÉRMICA

El método de polimerización térmica es ventajoso respecto al de polimerización interfacial para la producción industrial debido a que no es necesaria la recuperación de reactivos o cualquier otro tratamiento posterior a la polimerización.

Este proceso tiene un interés particular en la preparación industrial de poliésteres. Concretamente podemos ilustrar el proceso característico seguido en la síntesis de los poliésteres relacionados con el presente trabajo.

Los componentes, diácidos o sus ésteres y dioles, son añadidos en un recipiente provisto de condensador, una entrada de gas, un termómetro y agitación. En general se utiliza un exceso estequiométrico de diol debido a su mayor volatibilidad. Un flujo constante de nitrógeno es suministrado para eliminar el aire, manteniendo la atmósfera inerte. Los componentes son calentados y agitados a una temperatura cercana a 140-160°C para eliminar por destilación el agua o alcohol, subproductos de la reacción de esterificación según si el reactivo empleado es un diácido o un diéster. La viscosidad de la mezcla fundida aumenta conforme lo hace el peso molecular promedio del polímero, por lo que la agitación es cada vez más difícil. El polímero puede resultar de bajo peso molecular debido a la menor difusión de los reactivos. El problema se evita elevando poco a poco la temperatura del sistema, la cual

dependerá de la estabilidad térmica del polímero. En una segunda fase se prosigue la reacción de condensación sobre alto vacío para eliminar el exceso de diol empleado en la polimerización.



Cada una de las sucesivas esterificaciones que conducen a la formación del poliéster constituye un verdadero equilibrio químico. Así pues, para obtener un polímero de alto peso molecular debe desplazarse, tanto como sea posible, el equilibrio de las reacciones hacia la derecha, o sea, eliminando el subproducto que se va formando por aplicación de alto vacío.

La velocidad de la reacción puede ser considerablemente aumentada por la acción de catalizadores. Algunos trabajos de investigación demuestran que ácidos y varios compuestos organometálicos son capaces de catalizar estas reacciones.⁷⁹ Actualmente, los catalizadores de titanio son los más empleados para la síntesis de poliésteres.⁸⁰

3.3. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA

Los compuestos modelo se han caracterizado por espectroscopía de infrarrojo (IR), espectroscopía de resonancia magnética nuclear de protón (¹H-RMN) y carbono 13 (¹³C-RMN) y determinación del punto de fusión (p.f.).

La caracterización de los polímeros se ha realizado mediante viscosimetría, cromatografía de permeabilidad en gel (GPC), espectroscopía de infrarrojo (IR), espectroscopía de resonancia magnética nuclear de protón (¹H-RMN) y carbono 13 (¹³C-RMN), calorimetría diferencial de barrido (DSC), termogravimetría (TGA), ensayos termodinamomecánicos (DMTA), ensayos de solubilidad y ensayos de tensión-deformación.

3.3.1. Evaluación del peso molecular.

Las reacciones de polimerización pueden producir cadenas poliméricas con distinto número de unidades repetitivas. La mayor parte de los polímeros sintéticos son mezclas de macromoléculas de distintos tamaños, por lo que el peso molecular proporciona siempre un valor promedio.

Son muchas las técnicas existentes para la determinación del peso molecular medio de un polímero. Por tanto, según el método experimental utilizado se definen varios valores promedio del peso molecular: en número (M_n), en peso (M_w) o viscosimétrico (M_v). La relación entre los valores de los distintos promedios (M_w/M_n) se conoce como polidispersidad (D) y se utiliza a menudo para dar una idea de la heterogeneidad del peso molecular en las muestras de polímeros, o lo que es lo mismo, para evaluar la anchura de la curva de distribución de los pesos moleculares. Entre las técnicas de determinación del peso molecular podemos citar: la dispersión de luz, ebullioscopia, crioscopia, ultracentrifugación, análisis de grupos terminales y viscosimetría.

Sin duda, una de las técnicas más utilizadas es la **viscosimetría**. Esta técnica para medir el peso molecular de un polímero fue desarrollada por Staudinger en 1930.⁸¹ Es una técnica fácil y rápida que permite conocer el peso molecular promedio viscosimétrico (M_v). Cuando el polímero es poco polidisperso, M_v corresponde aproximadamente a M_w .

Por otro lado, la técnica que proporciona mayor información sobre los pesos moleculares es la **GPC**. La determinación de la polidispersidad a partir de la determinación de M_w y M_n se realiza habitualmente mediante esta técnica basada en los principios del fraccionamiento en función del tamaño de las macromoléculas.

3.3.1.1. DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD INTRÍNSECA $[\eta]$

La viscosidad de un polímero en solución depende de la naturaleza del polímero, del disolvente, de la distribución de pesos moleculares, de la concentración y de la temperatura. Al eliminar el efecto de la concentración por medidas a dilución creciente se obtiene la viscosidad intrínseca que está relacionada con el peso molecular promedio de la distribución denominado viscosimétrico, y que para un buen solvente es próximo al promedio en peso. Para cuantificar la relación viscosidad/peso molecular se requiere un calibrado con muestras de peso molecular conocido, normalmente el promedio en peso determinado por dispersión de luz. En ausencia de patrones se utiliza la correlación existente para un polímero de naturaleza similar en el mismo solvente y temperatura. De este modo, se ignoran interacciones específicas del polímero en estudio y el valor que se obtiene es sólo orientativo pero adecuado a efectos comparativos.

Mediante la ecuación de Hagen-Poiseuille para líquidos con movimiento en flujo laminar, se puede relacionar el tiempo que tarda en pasar un fluido por un capilar con la viscosidad del mismo, por lo tanto, la viscosidad de una solución puede definirse como el tiempo que tarda la disolución en pasar por un capilar fino por efecto de la gravedad. La **viscosidad intrínseca** $[\eta]$ es la extrapolación a concentración cero de la viscosidad reducida (η_{red}), según la expresión:

$$[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \left(\frac{t}{t_0} - 1 \right) / c$$

donde t y t_0 son los tiempos de caída de la disolución y el disolvente; c es la concentración de la disolución en g.dL⁻¹. Los tiempos son proporcionales a la viscosidad si son suficientemente grandes para lo cual debe elegirse adecuadamente el diámetro del capilar.

Una vez calculada la viscosidad intrínseca, se puede determinar el peso molecular viscosimétrico (M_v) de un polímero a partir de la ecuación de Mark-Houwink:

$$[\eta] = K.M_v^a$$

donde K (dL.g⁻¹) y a son constantes tabuladas que dependen de la naturaleza del polímero, del disolvente y de la temperatura.

Experimentalmente la determinación de la viscosidad intrínseca se realiza midiendo el tiempo de flujo (t) requerido para que un volumen determinado de disolución polimérica atraviese el tubo capilar por efecto de la gravedad y el tiempo que tarda en hacerlo un volumen equivalente de disolvente puro (t_0).

Las medidas se efectuaron en un viscosímetro capilar Cannon-Ubbelohde tipo semi-micro (modelo 150) termostatzado a 25±0.1°C en un baño de agua. Se utilizó ácido dicloroacético como disolvente, en el rango de concentraciones 0.1 a 0.035 g/dL.

3.3.1.2. CROMATOGRAFÍA DE PERMEACIÓN EN GEL (GPC)

La **cromatografía de permeación en gel** es una potente técnica de separación que encontró gran aplicación en el campo de los polímeros después de su desarrollo en 1961.⁸² Actualmente es la técnica más utilizada para la separación de las moléculas de una muestra polimérica en función del tamaño molecular. Se produce como consecuencia de la diferente penetración de las macromoléculas a través de los poros de un gel dispuesto en el interior de una columna cromatográfica. Los materiales de relleno de la columna son principalmente poliestireno poroso (entrecruzado e hinchado) y vidrio poroso.

Los cromatógrafos utilizados son similares a los de HPLC, siendo la columna y el detector las partes más importantes del instrumento.

Cuando una disolución polimérica, con diferentes tamaños moleculares es introducida en el interior de la columna cromatográfica tiene lugar un fraccionamiento en función de su tamaño molecular y de la distribución de tamaño de poro del gel polimérico. Las moléculas de mayor tamaño se arrastran con el disolvente, tardan menos tiempo en atravesar la columna y son las primeras en abandonarla, mientras que las de tamaño menor son retenidas durante un tiempo superior. A la salida de la columna se registra la variación entre el índice de refracción del disolvente puro y la fracción recogida. Para conocer los valores de los pesos moleculares se requiere un calibrado con patrones.

En este trabajo las medidas se realizaron en un cromatógrafo Waters (modelo 510) equipado con columnas μ -Stiragel (Polymer Lab.) de 10000 y 1000 Å de estireno-divinilbenceno termostalizadas a 35°C, con un detector de índice de refracción (RI 410) y un programa para tratamiento de datos (Máxima 820). El calibrado se realizó con muestras de poliestireno (Polysciences) de baja dispersidad. El eluyente consistió en una mezcla de cloroformo/ortoclorofenol (90/10, v/v) y su velocidad de flujo fue de 0.5 mL/min. El volumen inyectado fue de 100 μ L y la concentración de las muestras fue de 2.5 mg/mL.

En este trabajo solamente se efectuó el análisis cromatográfico con los poliésteres. En los *nylons* y en las poliesteramidas no fue posible su realización debido a los problemas de insolubilidad de estos materiales en los disolventes orgánicos comunes.

3.3.2. Espectroscopía infrarroja (IR)

Constituye una técnica espectroscópica de amplio uso que se basa en la excitación de los modos de vibración de las moléculas por la absorción de la **radiación infrarroja**. Aunque esta comprende longitudes de onda (λ) entre el visible y el microondas, la región de infrarrojo medio entre 4000-300 cm^{-1} es la más empleada desde un punto de vista práctico. Durante la excitación es necesaria una variación del momento dipolar de la molécula para que se produzca una absorción en el IR que puede asociarse a vibraciones de tensión (simétrica o asimétrica) o de deformación. La detección de los grupos funcionales presentes es la principal aplicación de la técnica.

Las bandas de mayor importancia para los materiales estudiados se resumen a continuación:

Metilenos

2940 cm^{-1} : tensión asimétrica del C-H.

2860 cm^{-1} : tensión simétrica del C-H.

1460 cm^{-1} : deformación asimétrica del C-H.

725 cm^{-1} : deformación simétrica del C-H.

Amida

3300 cm^{-1} : vibración de tensión del N-H (AMIDA A).

3100 cm^{-1} : sobretono de la amida II (AMIDA B).

1650 cm^{-1} : vibración de tensión del C=O (AMIDA I).

1550 cm^{-1} : vibración de torsión del N-H y tensión del C-N (AMIDA II).

1300-1250 cm^{-1} : interacciones entre las vibraciones de tensión del C-N y las de torsión del N-H.

Además en esta zona aparecen las vibraciones de tensión del C-C y de torsión de los grupos CH_2 y CH (AMIDA III).

627 cm^{-1} : vibración de torsión de N-C=O (AMIDA IV).

700 cm^{-1} : vibración de torsión fuera del plano de N-H (AMIDA V).

600 cm^{-1} : vibración de torsión fuera del plano de C=O (AMIDA VI).

Éster

1740 cm^{-1} : vibración de tensión del C=O.

1100 cm^{-1} : vibraciones de tensión (simétrica y asimétrica) del C-O.

Los espectros fueron registrados en espectrofotómetros de transformada de Fourier Perkin-Elmer 1600 y Perkin-Elmer 2000 a partir de muestras sólidas dispersas en pastillas de KBr o como películas preparadas por evaporación lenta del disolvente sobre ventana de NaCl.

3.3.3. Espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN)

La **técnica de RMN** se utiliza como complementaria a la espectroscopía infrarroja y constituye actualmente una de las más útiles y empleadas para conocer la estructura de los compuestos orgánicos. Su papel en el campo de los polímeros se destaca especialmente por proporcionar datos sobre su constitución, organización y dinámica, que difícilmente podrían obtenerse por otros medios.

La técnica analiza la interacción entre los niveles de energía de los espines de ciertos núcleos atómicos con la radiación electromagnética. Únicamente los núcleos con momento magnético nuclear serán observables. Los núcleos de sustancias orgánicas más usuales en RMN, son los de protón (^1H) y carbono 13 (^{13}C). La posición de las señales obtenidas depende en los dos casos del entorno electrónico. Los espectros de ^1H -RMN consisten en un registro de las señales de resonancia que corresponden a los diferentes tipos de hidrógeno presentes en la muestra en forma de picos cuya posición, anchura, área y subestructura permiten la potente caracterización arriba mencionada. La posición está asociada a la identidad de los diferentes grupos vecinos a los protones y se expresa como desplazamiento químico en ppm respecto a la señal de un grupo de referencia. El área es proporcional al número de protones presentes en la muestra.

Los espectros de RMN se realizaron con un espectrofotómetro Bruker AMX-300 que opera a 300.13 y 75.4 MHz para ^1H y ^{13}C , respectivamente. Experimentalmente estos espectros se obtienen disolviendo la muestra en disolvente deuterados como son el cloroformo (CDCl_3), ácido trifluoroacético (TFA-*d*) y ácido fórmico. La disolución resultante se introduce en un tubo de vidrio especial de 5-10 mm de diámetro, se añade una gota de la sustancia de referencia (TMS) y se introduce en el imán superconductor del aparato.

En el caso de los polímeros se pueden determinar su estructura química, la presencia de grupos terminales y posibles ramificaciones. La presencia de grupos terminales en el espectro se utiliza para determinar el peso molecular (M_n) de los polímeros. Por último, también resulta útil en el seguimiento de la degradación de polímeros. La aparición de nuevas señales o la disminución de la intensidad de otras existentes en el espectro inicial del polímero sirve para conocer el avance de la degradación.

3.3.4. Análisis térmico

El análisis térmico comprende un conjunto de técnicas cuyo objetivo es la determinación del comportamiento térmico de un material en función de la temperatura o del tiempo. En el campo de los polímeros las técnicas más usuales son: análisis térmico diferencial (DTA), calorimetría diferencial de barrido (DSC), análisis termogravimétrico (TGA) y el análisis térmico dinamomecánico (DMTA).

3.3.4.1. CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC)

En los materiales poliméricos, las transiciones térmicas más importantes en DSC son la temperatura de **transición vítrea** (T_g) y la **temperatura de fusión** (T_f). En los polímeros amorfos la T_g es la única transición que se registra y aparece como un cambio abrupto de la línea base. Por otra parte en los muy cristalinos la T_g es difícil de observar debido a la baja proporción de parte amorfa en el polímero. Los procesos de fusión/cristalización dan información cualitativa sobre la temperatura del pico de fusión y cuantitativa sobre la cristalinidad del polímero (área del pico). La fusión se manifiesta en un pico endotérmico con subida más o menos gradual y regular según la naturaleza e historia térmica de la muestra, y bajada brusca hasta recobrar la línea base, que si se mantiene tras la fusión, puede decirse que el material es estable para ser procesado por fusión. Lo contrario es indicio de descomposición y debe estudiarse con más detalle por análisis termogravimétrico. La cristalinidad se evalúa usando como referencia el calor de fusión de un material 100% cristalino que puede estimarse a partir de las contribuciones de grupo.⁸³ Los valores utilizados fueron -2.5 kJ/mol para el grupo éster, 2.0 kJ/mol para el grupo amida, 4.7 kJ/mol para el grupo $\text{CH}(\text{CH}_3)$, 4.0 kJ/mol para el grupo metilénico y 5.0 kJ/mol para el grupo *p*-fenilénico.

Normalmente en una calorimetría rutinaria se registran 4 barridos. En el primer barrido se obtiene información acerca de la fusión de una muestra cristalizada directamente en el proceso de polimerización. Inmediatamente después de la fusión se procede el enfriamiento lento de la muestra para observar la cristalización del fundido (2º barrido). Posteriormente se realiza un segundo calentamiento (3º barrido) para verificar la fusión de la muestra cristalizada a partir del fundido y la reproducibilidad de las fusiones observadas. Por último, después de haber sometido la muestra a un enfriamiento rápido, se hace un tercer calentamiento (4º barrido) que permite determinar la temperatura de transición vítrea del material.

Los análisis térmicos se han efectuado en un calorímetro diferencial de barrido Perkin-Elmer DSC-30 equipado con un termoanalizador TA400 y en un calorímetro Perkin-Elmer DSC-PYRIS 1. El calibrado se realizó con índio ($T_f = 429.75$ K, $\Delta H_f = 3.267$ kJ/mol). Las calorimetrías se han registrado a una velocidad de calentamiento de $20^\circ\text{C}/\text{min}$ y de $10^\circ\text{C}/\text{min}$ para el enfriamiento, determinando las variaciones de entalpia con la temperatura. Se utilizaron muestras en polvo (5-10 mg) depositadas en cápsulas de aluminio.

3.3.4.2. ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO (TGA)

En esta técnica se detectan los cambios de peso que tienen lugar en una muestra sometida a un determinado tratamiento térmico. Los experimentos pueden realizarse midiendo el cambio de peso de la muestra al variar la temperatura a una velocidad constante, o bien, variando el tiempo y manteniendo constante la temperatura. El análisis resultante se denomina, respectivamente, **dinámico** e **isotérmico**. También es posible medir el gradiente de la variación del peso con la temperatura o el tiempo, constituyendo el análisis térmico diferencial (DTA).

El análisis de TGA representa una forma fácil y rápida de análisis de la estabilidad térmica de los polímeros y puede ser utilizada como medida de las posibilidades de transformación por encima de la temperatura de fusión del polímero.

Las termogravimetrías se registraron con una termobalanza Perkin-Elmer TGA 6, acoplada a un sistema de control por microprocesador y una estación de procesamiento de datos. Se operó en régimen dinámico a 10°C/min, con muestras en polvo (10-20 mg) bajo atmósfera de nitrógeno y en el rango de 50-600°C.

3.3.4.3. ENSAYOS TERMODINAMOMECAÑICOS (DMTA)

El análisis térmico dinamomecánico suministra información cuantitativa de la variación que experimenta el módulo durante las transiciones termodinámicas o relajaciones del material, pudiéndose detectar la transición α , asociada a segmentos de la cadena principal, y otras transiciones (β , γ , etc.), correspondientes a movimientos moleculares locales. La técnica es particularmente adecuada para estudiar la **transición vítrea** pues suele ser más sensible que la calorimetría, especialmente con polímeros cristalinos.

La aplicación de una tensión a un material viscoelástico se traduce en el almacenamiento de energía elástica y en una disipación de energía en forma de calor. El comportamiento mecánico-dinámico se evalúa en función de la temperatura. Para ello se aplica una tensión de forma cíclica con una frecuencia angular (ω), la deformación causada por dicha tensión también varía de forma sinusoidal pero con un cierto retardo en la respuesta. El fenómeno se interpreta descomponiendo la tensión aplicada en dos componentes, uno en fase con la deformación y otro en desfase con respecto a ella. La expresión que corresponde a la deformación sinusoidal de la muestra es:

$$\varepsilon(t) = \varepsilon_0 \text{sen}(\omega t)$$

donde ε_0 es la deformación máxima aplicada, ω es la frecuencia angular y t es el tiempo. La ecuación correspondiente a la tensión (σ) producida por el material es:

$$\sigma(t) = \sigma_0 \text{sen}(\omega t + \delta)$$

donde σ_0 es la tensión máxima y δ es la diferencia de fase entre la deformación aplicada y la tensión producida. Las propiedades dinamomecánicas se describen mediante el módulo complejo (E^*):

$$E^* = \sigma/\varepsilon = E' + i E''$$

donde E' es el denominado módulo de almacenamiento, que es una medida de la energía que puede recuperarse de la deformación producida en el material y E'' es el módulo de pérdidas que se relaciona con la energía disipada por el material viscoelástico y que no puede recuperarse. La diferencia de fase δ , que es la que determina la evolución de calor en un material viscoelástico sometido a una tensión cíclica, queda determinada por la relación entre estos dos componentes, mediante la llamada tangente de pérdidas o factor de disipación ($\tan \delta$).

$$\tan \delta = E''/E'$$

El análisis DMTA se llevó a cabo en un analizador Rheometrics PL-DMT MK3 con una frecuencia de 1 Hz. Las probetas utilizadas fueron de 25 x 10 mm² de tamaño y 0.4 mm de espesor. El calentamiento se efectuó en atmósfera de nitrógeno a 2°C/min en un intervalo de -150 a 150°C.

3.3.5. Solubilidad

La **disolución** de un polímero es un proceso lento que ocurre en dos etapas. En la primera, las moléculas de disolvente se difunden lentamente dentro del polímero produciendo el hinchamiento del mismo. El proceso de disolución puede detenerse en esta fase, si las fuerzas intermoleculares polímero-polímero (reticulación, cristalinidad o enlaces por puentes de hidrógeno) son lo suficientemente grandes como para impedirlo. En caso de que estas fuerzas puedan superarse por la formación de interacciones intensas polímero-disolvente, tendrá lugar la segunda etapa de la disolución. En ésta, el polímero hinchado se desintegra gradualmente convirtiéndose en una verdadera disolución. El proceso de disolución puede ser bastante lento (días o semanas) para materiales de muy alto peso molecular.

La temperatura es un factor importante que debe ser controlado durante el experimento. La polidispersidad es una característica de los polímeros que dificulta sus pruebas de solubilidad debido a la coexistencia de moléculas de bajo peso molecular; más fácilmente solubles, y de alto peso

molecular; que se disuelven con mayor dificultad. Por esta razón, en un polímero pueden darse varios casos de solubilidad:

Insolubilidad total en el disolvente.

Insolubilidad parcial: cuando tiene lugar la solubilización de las moléculas de menor peso molecular o cuando se produce un hinchamiento del polímero al penetrar el disolvente en el material sin llegar a disolverlo.

Solubilidad parcial: en este caso las moléculas de menor peso molecular pueden disolverse en frío y las de mayor peso molecular al calentar la preparación. Estas, sin embargo, vuelven a precipitar al enfriar.

Solubilidad total en el disolvente.

Los ensayos de solubilidad consisten en depositar una pequeña cantidad del polímero (1 mg) en un tubo de ensayo al que se añade alrededor de 0.5 mL de disolvente. Tras la agitación de la preparación se observa si se produce algún cambio en el índice de refracción del líquido, indicativo del proceso de disolución. Por el contrario, si no se detecta ningún cambio, se dice que no hay disolución a temperatura ambiente. Cuando se observa una variación en el aspecto del polímero se considera que se ha disuelto parcialmente. En aquellos tubos donde no se ha apreciado disolución se calientan como máximo a la temperatura del disolvente y se observan los cambios en la solución.

3.4. CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL

3.4.1. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

En la ciencia de los polímeros generalmente el término morfología se refiere a la organización y forma superior al orden atómico y el término estructura se refiere a los detalles de la disposición atómica y molecular. La **microscopía electrónica de transmisión** (TEM) es capaz de resolver estructuras a nivel atómico y molecular y presenta un importante papel con respecto al análisis morfológico de los polímeros. Su principal limitación es el efecto destructivo que ejercen los electrones sobre los polímeros y las muestras orgánicas en general. Aunque morfológicamente la muestra parezca inalterada, el deterioro de la estructura cristalina se manifiesta con la extinción progresiva del diagrama de difracción. No sólo se destruyen las interacciones moleculares de tipo secundario, sino también los propios enlaces covalentes. El control riguroso de la dosis de radiación y el uso de sistemas de registro extraordinariamente sensibles hace posible obtener los mejores diagramas de difracción de electrones.

El fundamento de la microscopía electrónica es esencialmente el mismo que el de la microscopía óptica, siendo la naturaleza de la radiación empleada en cada caso la principal diferencia entre ellas (Tabla 3).

TABLA 3. Diferencias entre la microscopía óptica y la electrónica.

Característica	Microscopía óptica	Microscopía electrónica
Tipo de radiación	UV o visible	Haz electrónico
Resolución	300 nm	0.2 nm
Rango de aumentos	2 - 2000	200 – 2 x 10 ⁶
Entorno	Ambiente	Alto vacío
Destruyiva	No	Si
Preparación de muestras	Fácil	Difícil
Observación	Superficies	Películas
Detecta orientación	Si	Si

La TEM se ocupa de la información suministrada por los electrones que traspasan una muestra sólida sobre la que se ha hecho incidir un haz electrónico coherente y a gran velocidad. La interacción de los electrones con la materia es un fenómeno complejo.

Cuando hacemos incidir un haz electrónico sobre una muestra los electrones pueden no desviarse de la trayectoria inicial, o ser desviados elástica o inelásticamente dependiendo, respectivamente, de que la interacción sea con el núcleo o con algún orbital electrónico de alguno de los átomos que forman parte del material. Los electrones desviados de forma inelástica experimentan un cambio en su velocidad como consecuencia de la energía perdida en la colisión con la muestra, mientras que los desviados de forma elástica mantienen su velocidad y son los responsables de los fenómenos de difracción. Los electrones no desviados y los desviados elásticamente son los únicos que contribuyen de forma constructiva a la formación de la imagen, mientras que los desviados de forma inelástica son los responsables del ruido de fondo presente en toda imagen de microscopía electrónica. La proporción de electrones dispersados de forma elástica es directamente proporcional al grosor de la muestra. Por esta razón, los experimentos de difracción se realizan a un voltaje mayor (100 kV) que los de análisis morfológico (80 kV).

El microscopio electrónico de transmisión consta de un sistema de iluminación formado por un filamento de tungsteno o wolframio que emite electrones, que serán acelerados por la elevada diferencia de potencial a que son sometidos (80-100 kV). El haz de electrones es enfocado hacia la muestra mediante dos lentes condensadoras, la primera recoge la imagen del filamento y la segunda controla el área de iluminación. El vacío existente en la columna permite la transmisión de los electrones, a través de ella, hacia la muestra. A continuación, se encuentra la lente objetivo que amplía la imagen y finalmente la lente proyectora que la dirige hacia la pantalla fluorescente que recoge la imagen final. Todas las lentes son de naturaleza electromagnética y su potencia se puede controlar variando el voltaje.

La resolución es una ventaja importante de ésta técnica frente a la de difracción de rayos X y depende de la longitud de onda del haz de electrones según la ecuación:

$$d = \lambda / n \text{ sen } \theta$$

siendo d la resolución, λ la longitud de onda, n el índice de refracción del medio y θ el ángulo de apertura de las lentes de microscopio.

Las modificaciones en el voltaje (V) modifican la longitud de onda del haz de electrones según la fórmula $\lambda = (1.5/V)^{1/2}$. Así, para voltajes de 80 y 100 kV las longitudes de onda de los electrones son 0.041756 Å y 0.037013 Å, respectivamente.⁸⁴ La máxima resolución se obtiene con longitudes de onda más cortas, es decir, diferencias de potencial más elevadas y lentes de gran apertura. Generalmente, para una substancia estable en un microscopio operando correctamente, la resolución práctica viene determinada por la aberración cromática debida a la presencia de electrones inelásticos. Dado que su proporción aumenta de forma exponencial con la cantidad de materia con la que colisiona, el espesor de la muestra es decisivo para obtener buenas imágenes.

La preparación de las muestras para microscopía electrónica de transmisión se efectuó con un evaporador de alto vacío Balzers BAE 080T. Los cristales se observaron con Microscopios Electrónicos Philips EM301 y Philips Tecnai 10/12. El calibrado de los diagramas de difracción de electrones se realizó con oro ($d_{111} = 2.35$ Å) y la rotación de la imagen se determinó mediante cristales de MoO₃.

La caracterización por **microscopía electrónica de barrido** (SEM) de los materiales poliméricos comprende una serie de aplicaciones que difieren en su estructura y micromorfología. En cada caso la

estrategia de la exploración es distinta dependiendo de la naturaleza de cada material y de las posibilidades que se tienen para la preparación de las muestras.

El microscopio electrónico de barrido forma la imagen con los electrones secundarios que se generan en la interacción de la radiación electrónica con una capa superficial y fina de la muestra mediante un proceso de rastreo.

Una analogía simple que describe perfectamente el mecanismo de operación del microscopio electrónico de barrido es una habitación completamente oscura en donde se sitúa un exposímetro y una luz flash que va iluminando las paredes de manera continuada y sistemática. El exposímetro mide la luz reflejada señalando máximos para las zonas blancas y lisas, y mínimos para las oscuras y rugosas. El registro del exposímetro para toda la habitación proporciona el mapa de la pared. En el caso de una muestra observada con SEM las áreas oscuras corresponden a las zonas de baja reflectividad y las rugosas a los relieves superficiales. Podemos tener un contraste composicional, dependiendo de la composición química de la muestra, o un contraste topográfico, dependiendo de la morfología superficial de la muestra.

La resolución espacial de una observación por SEM viene dada por el área de la muestra reflectante, y depende del grado de interacción de la radiación con la muestra. Esta interacción genera electrones reflejados (secundarios o elásticos) que son atraídos por un detector para dar las imágenes topográficas.

La simplicidad en la preparación de muestras para SEM es quizás la principal ventaja que ofrece esta técnica. El hecho de que la observación de la muestra se haga punto a punto, permite la utilización de muestras de cualquier tamaño y forma, y da lugar a una gran profundidad de campo. De hecho, la preparación de muestras finas para microscopía óptica (0.1-0.3 mm) o hiperfinas para TEM (5-100 nm) constituye la mayor limitación práctica en el análisis microscópico de muestras de polímeros por transmisión.

En la SEM el metalizado de las muestras poliméricas es indispensable y su función, además de hacer conductiva la superficie, es eliminar la electricidad estática, minimizar el daño por radiación y aumentar la reflectividad electrónica. Normalmente, el metal utilizado suele ser el oro en presencia de una atmósfera ionizante de argón.

La morfología de la superficie de las películas de polímero sometidas a un proceso de degradación se observó con un Microscopio Electrónico de Barrido JEOL JSM-6400. Los films fueron metalizados con oro usando un evaporador Balzers SCD-004 Sputter Coater.

3.4.1.1. Morfología cristalina

Los niveles de organización supramolecular de un polímero cristalino se identifican con dos tipos de morfologías: las **lamelas** y las **esferulitas**. Así pues, un fenómeno peculiar en la organización molecular de los polímeros cristalinos es el plegamiento molecular con la consiguiente formación de la estructura lamelar (*Figura 24*). Las lamelas son microcristales de espesor muy pequeño (< 25 nm) y dimensiones basales que pueden llegar a ser de decenas de micrómetros. En estos cristales, la cadena molecular se dispone más o menos perpendicularmente a las bases y se pliega sobre sí misma con una cierta periodicidad que determina el grosor de los mismos.

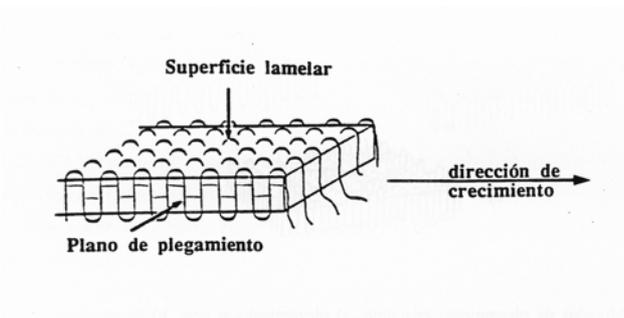


Figura 24. Modelo de la formación de lamelas cristalinas en polímeros con una única dirección de puentes de hidrógeno.

Mediante cristalización en disoluciones diluidas es posible obtener estos microcristales con hábitos bien definidos que suelen revelar la geometría de la celdilla cristalina (*Figura 25*).

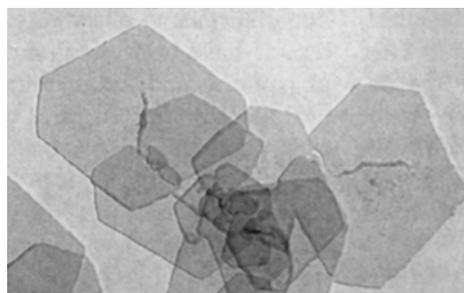


Figura 25. Cristales lamelares de polietileno cristalizados en xileno a 83°C.

Los monocristales de polímero suelen tener un grosor adecuado ($< 100 \text{ \AA}$) para su estudio por esta técnica, pero presentan una imagen de bajo contraste, porque éste suele ser inversamente proporcional al peso atómico de la muestra. Este inconveniente se soluciona sombreando los cristales con una fina capa de un metal pesado (Cr, Pt, Pd, U, etc). El metal es evaporado a alto vacío ($10^{-4} - 10^{-5}$ torr) sobre las rejillas a un cierto ángulo y se deposita sobre los cristales resaltando las características topográficas de la muestra. Conociendo el ángulo de sombreado y midiendo la longitud de las sombras resultantes se puede conocer el grosor aproximado de las lamelas del cristal. En este trabajo, el sombreado se realizó con Pt-C con un ángulo de aproximadamente 15° . En la *Figura 26* se muestra esquemáticamente el ángulo de sombreado (α) y su relación con el grosor lamelar (a). La morfología de los monocristales es un buen indicador, aunque no infalible, de la simetría presente en la estructura cristalina.

En general, las celdillas tetragonales proporcionan cristales de base cuadrada, las hexagonales y trigonales proporcionan cristales de forma hexagonal y las rómbicas cristales con forma de rombo.

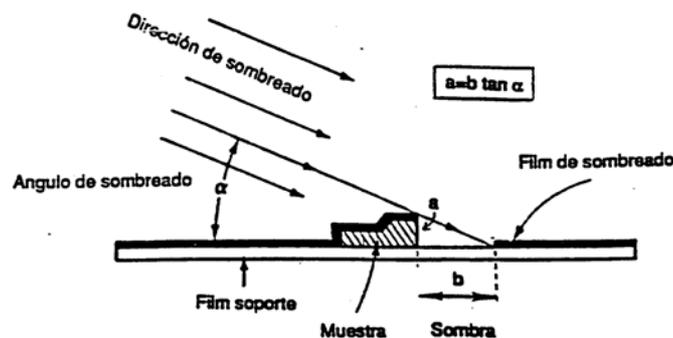


Figura 26. Esquema del sombreado para determinar el grosor lamelar.

La esferulita consiste en un agregado esférico con un tamaño que puede oscilar entre décimas de micrómetros y varios milímetros, y pueden ser observadas claramente en el microscopio óptico. Una morfología esferulítica se obtiene por la cristalización del polímero a partir del estado fundido o por la cristalización del polímero a partir de soluciones muy concentradas por evaporación lenta del disolvente. En el microscopio óptico de luz polarizada son fácilmente reconocibles como círculos fuertemente birrefringentes que exhiben una cruz de malta característica (*Figura 27*).

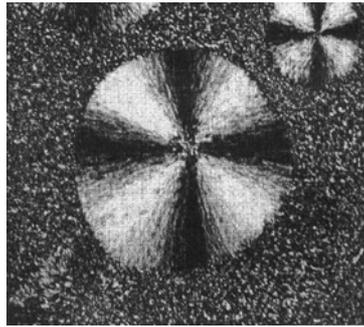


Figura 27. Esferulita simple presentando extinción en forma de cruz de malta observada en el microscopio óptico de luz polarizada.

Las esferulitas están constituidas internamente por lamelas que irradian del centro. En muchos casos la lamela se retuerce sobre si misma, de forma que la orientación del eje molecular gira alrededor del radio esferulítico. Este fenómeno se refleja en la esferulita como una serie de bandas de extinción concéntricas que muestran una periodicidad dependiente de las condiciones en que ha cristalizado. La medida de la birrefringencia permite diferenciar dos tipos de esferulitas: las positivas y las negativas. De esta manera, si el índice de refracción en la dirección radial es mayor que en la dirección tangencial, la esferulita es positiva, en caso contrario es negativa.

3.4.1.2. Difracción de electrones

Los **diagramas de difracción** de monocristales consisten en retículos puntuales que representan la proyección de la red cristalina sobre el plano perpendicular al haz electrónico. Suponiendo que la radiación electrónica es paralela al eje cristalográfico c las manchas de difracción se indexan como $hk0$, aunque en ocasiones pueden observarse reflexiones hkl con l distinto de 0 debido a una inclinación parcial de los cristales o a una disposición no ortogonal de la celdilla unitaria.

El diagrama de difracción de una muestra refleja su organización estructural a nivel atómico y molecular. Para las muestras amorfas consiste en un halo difuso que rodea a una mancha central correspondiente a la radiación no desviada, mientras que para las cristalinas se observan diagramas con máximos y mínimos, cuya disposición en el espacio viene determinada por el tipo de estructura presente.

Las posiciones de las reflexiones definen los espaciados de los planos cristalográficos, realizándose su determinación según la ley de Bragg. Dado que los ángulos θ con que son difractados los electrones son muy pequeños ($1-2^\circ$) se puede admitir la aproximación $\tan 2\theta = 2 \sin\theta$ y puede utilizarse la ley de Bragg simplificada:

$$R d_{hkl} = \lambda L$$

donde R es la distancia de la mancha de difracción al centro del diagrama, d_{hkl} el espaciado interplanar, L la longitud de cámara entre la muestra y la placa de registro y λL la constante de cámara (Figura 28).

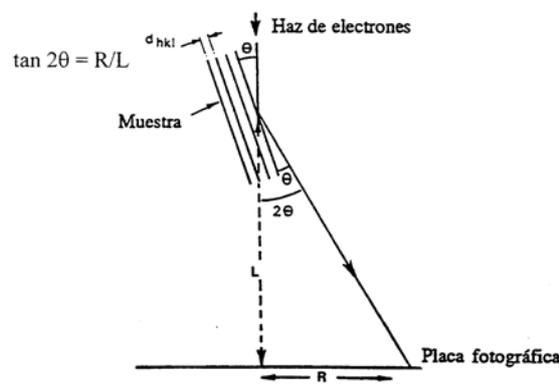


Figura 28. El microscopio electrónico considerado como una cámara de difracción.

El análisis de la difracción de electrones requiere un calibrado previo del aparato para poder correlacionar las manchas de difracción obtenidas en el diagrama con las distancias reales de la red cristalina. Los valores de λ y L pueden variar de un registro a otro debido a inestabilidades del circuito eléctrico, pequeños desajustes del alto voltaje utilizado o de la corriente en las lentes objetivas y proyectoras. Por esta razón, se debe determinar de forma precisa la constante de cámara para cada conjunto de lentes utilizadas.

El calibrado de la constante de cámara se realiza evaporando una fina capa de un material policristalino sobre las rejillas con la muestra problema. Substancias cristalinas que presenten espaciados próximos a los del problema como (Au, Al, TiCl, etc.) son adecuadas como patrones. En el campo de los polímeros se utiliza normalmente oro (reflexiones características a 4.08, 2.35, 2.04, 1.44, 1.23, 1.18 y 1.02 Å) como sustancia patrón para calibrar la constante de cámara. Su evaporación sobre las rejillas se realiza a partir de 1 cm de un filamento de 0.25 mm de diámetro cuidadosamente enrollado alrededor de otro filamento (en este caso de tungsteno) en forma de V.

Por último, debe tenerse en cuenta que no es posible relacionar directamente una dirección en el diagrama de difracción y la misma en la imagen morfológica porque existe una cierta rotación entre ambas imágenes (*Figura 29*). La rotación del diagrama de difracción con respecto al cristal se determina experimentalmente, superponiendo la imagen morfológica de un cristal de óxido de molibdeno y su diagrama de difracción de electrones en una misma placa de registro, de forma que la dirección de mayor crecimiento coincida con el eje de la red recíproca cuyo parámetro es menor. La rotación del diagrama debe calibrarse para cada constante de cámara.

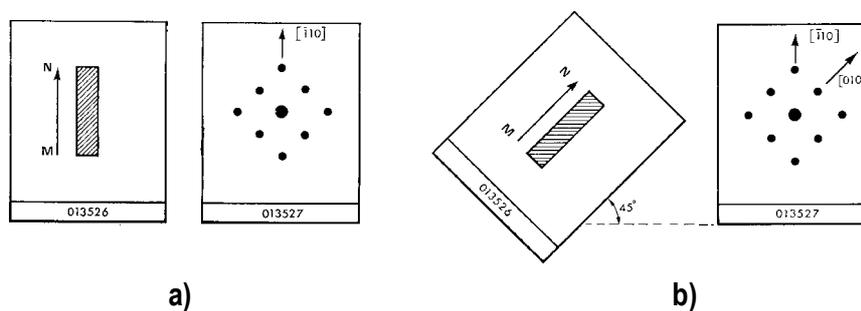


Figura 29. Correlación entre la imagen de difracción y la morfológica: a) incorrecta, b) correcta.

Las técnicas más habituales para la preparación de las muestras para su observación mediante microscopía electrónica de transmisión son:

a) CRISTALIZACIÓN EN DISOLUCIÓN

Los **monocristales** se preparan a partir de soluciones diluidas y están generalmente constituidos por pequeñas lamelas de 50-100 Å de grosor. Su obtención es la fase de mayor dificultad en la preparación de muestras para microscopía. La cristalización del polímero siempre se realiza a partir de disoluciones muy diluidas (0.05-0.20 %) en un disolvente a temperatura ambiente o elevada y bajo un estricto control de concentración y temperatura. Los métodos utilizados habitualmente para obtener cristales con el grosor adecuado y estudiarlos por TEM son los que se describen a continuación.

Cristalización isotérmica: consiste en solubilizar el polímero en un mal disolvente a temperatura elevada y dejarlo cristalizar a una temperatura menor en un baño de cristalización. Los disolventes más utilizados para la cristalización de los polímeros de este trabajo fueron: 2-metil-2,4-pentanodiol, 1,4-butanodiol, hexanol y glicerina.

Cristalización por precipitación: en este caso se disuelve el polímero en un buen disolvente y se cristaliza con la ayuda de un agente precipitante. Como disolventes se utilizan ácidos como dicloroacético o fórmico y como precipitantes agua o alcoholes como etanol, metanol o butanol. La degradación de estos cristales en los disolventes empleados se evita al máximo trabajando a temperatura ambiente o próxima a ella.

Los cristales obtenidos se separan por centrifugación, se lavan con un no-solvente suficientemente volátil (*n*-butanol) hasta eliminar totalmente el disolvente utilizado para su cristalización, y posteriormente se suspenden en el mismo no-solvente. Una gota de esta suspensión es depositada sobre una rejilla de cobre de 3 mm de diámetro, cubierta por un film de carbono delgado ($< 200 \text{ \AA}$), obtenido por evaporación de grafito a alto vacío ($10^{-4} - 10^{-5}$ torr) sobre una lámina exfoliada de mica y flotado posteriormente sobre las rejillas.

El film de carbono es el sustrato más idóneo para trabajar con monocristales porque es bastante resistente, amorfo y relativamente transparente a los electrones. Después de dejar evaporar el no-solvente sobre la rejilla quedan los cristales adheridos sobre el film de carbono y puede obtenerse el diagrama de difracción. La visualización de los detalles de superficie de los cristales requiere el sombreado posterior de la muestra.

b) CRISTALIZACIÓN EPITAXIAL

Esta cristalización consiste en el crecimiento inducido de un cristal sobre la superficie de otro en contacto con él. En el campo de los polímeros se utilizan como sustratos sustancias fácilmente solubles y de bajo peso molecular como el **ácido benzóico** o la **hidroquinona**.⁸⁵ Estas sustancias tienen un parámetro cristalográfico próximo a 5 \AA , valor cercano a la distancia reticular entre cadenas de diferentes polímeros como polietileno, poliésteres alifáticos y poliamidas (en éstas la distancia es ligeramente menor por la presencia de puentes de hidrógeno). Los planos separados por estas distancias se disponen perpendicularmente a la superficie del sustrato.

Esta técnica puede resultar complementaria a la difracción de electrones de cristales obtenidos por cristalización isotérmica o por precipitación, porque puede proporcionar orientaciones cristalinas diferentes. Así, en la cristalización epitaxial puede conseguirse que el eje molecular se encuentre orientado perpendicularmente al haz de electrones y no de forma paralela como normalmente ocurre en

los cristales obtenidos de disoluciones diluidas. La proyección diferente de la celda unitaria aumenta la información cristalográfica, aunque las reflexiones suelen ser más arqueadas debido a una mayor desorientación de los cristales.⁸⁶

La cristalización epitaxial empieza con la evaporación de una solución diluida de polímero en un buen disolvente como el ácido fórmico. Así, se obtiene un film delgado de polímero sobre el que se añade el inductor de la cristalización. Ambos, se funden conjuntamente sobre un portaobjetos hasta obtener una disolución homogénea que posteriormente se enfría lentamente bajo un gradiente de temperaturas. Los cristales orientados del inductor favorecerán la cristalización del polímero. Mediante un lavado exhaustivo con metanol se elimina el inductor del crecimiento. A continuación, se evapora sobre los cristales un film de carbono y por microscopía óptica de luz polarizada se seleccionan las zonas orientadas epitaxialmente. Éstas se separan del portaobjetos con la ayuda de una gota de ácido poliacrílico que puede eliminarse posteriormente en un baño de agua.

c) PELÍCULAS ORIENTADAS UNIAXIALMENTE

La orientación uniaxial de un polímero requiere el estiramiento del material, procedente del fundido o de una disolución muy concentrada, en una única dirección del espacio. El procedimiento es esencialmente idéntico a la obtención de fibras o películas orientadas para difracción de rayos X, pero en este caso el grosor de la muestra es crítico para obtener buenas difracciones.

La tensión aplicada sobre el material se realiza con la ayuda de un material inerte como el **teflón** capaz de producir una fuerte cizalla durante el proceso simultáneo de orientación-cristalización.⁸⁷ Se seleccionan las zonas birrefringentes y después de evaporar sobre ellas un film de carbono se separan de forma análoga a la cristalización epitaxial.

d) DECORACIÓN DE CRISTALES CON POLIETILENO

Esta técnica fue desarrollada por Wittmann y Lotz en 1985.⁸⁸ El fundamento es el mismo que el de la cristalización epitaxial, sólo que en este caso el polímero es el substrato y sobre él se deposita una sustancia, de estructura cristalina conocida, que cristaliza sobre los monocristales del mismo. Nos permite determinar las características superficiales de las lamelas.

La observación detallada de los cristales poliméricos sugiere que debe existir un cierto plegamiento de las cadenas debido a que en general, el espesor de las lamelas resulta mucho menor que la longitud promedio de las cadenas. Además, se acepta generalmente que éste debe ser paralelo a la dirección de crecimiento del cristal.⁸⁹ Así, esta técnica permite conocer la sectorización de los cristales del polímero asociada a una dirección privilegiada de plegamiento molecular durante el crecimiento cristalino (Figura 30a).

En la práctica se evapora lentamente bajo vacío ($10^{-4} - 10^{-5}$ torr) una pequeña muestra de **polietileno** (~ 2 mg, $M_w = 20.000$ y $M_w/M_n = 1.1$) en un filamento de tungsteno. Durante este proceso se produce la escisión parcial de las cadenas moleculares de polietileno que cristalizan epitaxialmente en forma de pequeñas barritas alargadas sobre las lamelas del polímero a decorar (Figura 30b). Todas las muestras son sombreadas con Pt/C después de la decoración para su observación microscópica.

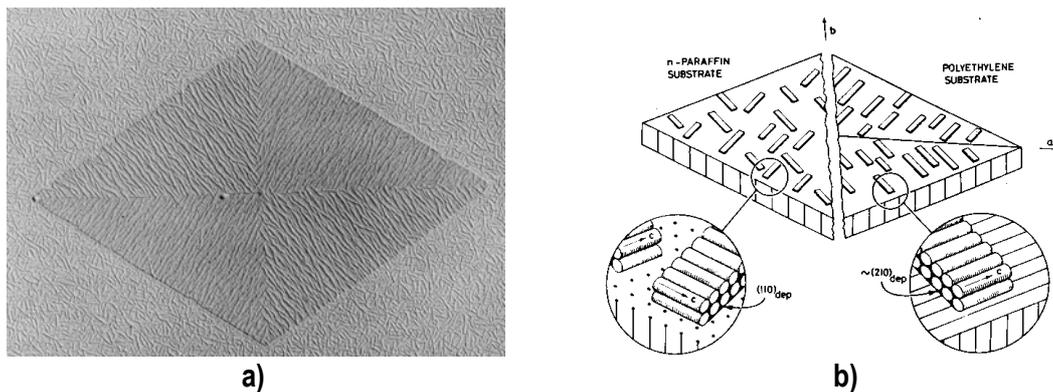


Figura 30. a) Cristal simple de polietileno cristalizado en *p*-xileno a 70°C y decorado con vapores de polietileno. b) Representación esquemática de la decoración de cristales con polietileno. Disposición de las lamelas sobre parafina exenta de plegamiento que da lugar a una disposición del polietileno decorador completamente al azar (izquierda), y polietileno con planos de plegamiento 110 que origina una decoración sectorizada (derecha).

3.4.2. DIFRACCIÓN DE RAYOS X

Los **rayos X** son una radiación electromagnética cuya longitud de onda se encuentra comprendida entre la radiación UV y los rayos γ . Las propiedades más importantes de ésta radiación fueron descritas por Röntgen en 1896, pero no fue hasta principios del siglo pasado que von Laue (1912) y Bragg (1913) demostraron que los cristales, debido a su ordenación regular, podían difractar los rayos X dispersados por todos los elementos que los constituyen, según unas direcciones

determinadas. Este descubrimiento fue útil para la determinación de la estructura tridimensional de numerosas moléculas biológicas,⁹⁰ pero también en el caso de los polímeros sintéticos.⁹¹

Esta técnica permite obtener el diagrama de difracción del material y la ordenación de sus átomos en el espacio mediante análisis de Fourier. Aunque es aplicable a muestras sólidas, líquidas o gaseosas, en el campo de los polímeros su uso está restringido casi completamente a la determinación de la ordenación atómica en la parte sólida cristalina, es decir, regularmente ordenada como mínimo en una de las tres direcciones del espacio.

Cuando los electrones emitidos por un filamento calentado a temperatura elevada se hacen incidir sobre un ánodo metálico, de forma que las capas más internas de los átomos que lo constituyen puedan producir transiciones, se generan rayos X cuya longitud de onda se sitúa entre 10^{-7} y 10^{-11} m. Normalmente se utiliza un ánodo de cobre y se obtiene un espectro de rayos X formado por una banda ancha responsable de la radiación blanca y unas líneas características (CuK_α y CuK_β) que se pueden separarse mediante filtros adecuados. Para el estudio de los polímeros se utiliza la línea CuK_α de $\lambda = 0.154$ nm y un filtro de níquel para eliminar al máximo la radiación CuK_β y la continua.

La difracción de rayos X sigue el principio de Huygens, donde cada rendija presente en el cristal actúa como un nuevo foco emisor de ondas que interfieren constructiva o destructivamente para producir la difracción. Únicamente se produce interferencia constructiva cuando se cumple la ley de Bragg:

$$n \lambda = 2 d_{hkl} \sin \theta$$

donde d_{hkl} es el espaciado de los planos de Miller, θ el ángulo de incidencia o reflexión, n el número de orden y λ la longitud de onda de la radiación utilizada (*Figura 31*). El conjunto de espaciados cristalográficos permite determinar la celdilla unitaria determinada por los parámetros a , b , c y los ángulos existentes entre ellos α , β , y γ . Esta celdilla representa la unidad más pequeña que refleja la simetría del cristal.

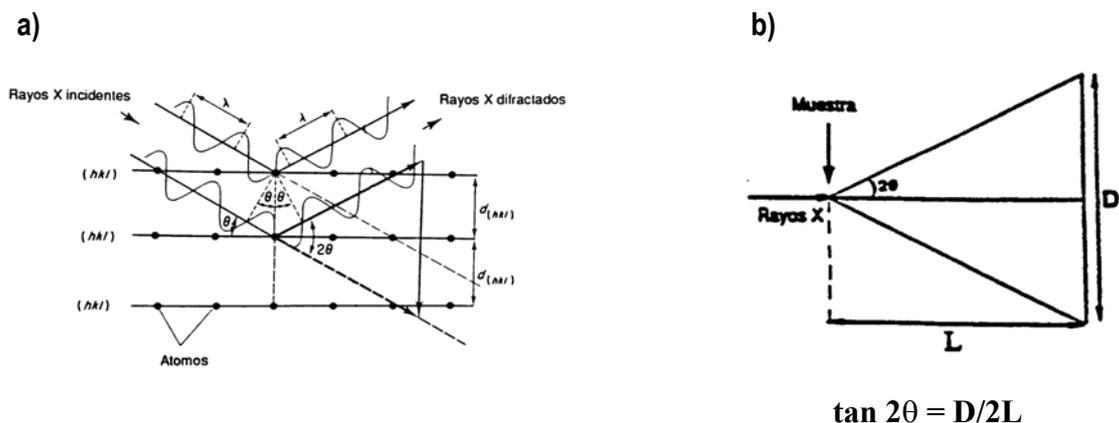


Figura 31. a) Geometría de la difracción de rayos X, b) relación entre el diámetro de la difracción (D) y el ángulo de dispersión (2θ).

La difracción de rayos X se realizó utilizando cámaras Warhus (W.H. Warhus, Wilmington, Delaware, USA) tipo Statton con monocromador de grafito incorporado que selecciona la radiación K_{α} del Cu ($\lambda = 0.154 \text{ nm}$) y un generador Phillips modelo P-W 1130/90 provisto de un tubo Phillips sellado (PW 2113 de 1200 W) de foco plano y con filtro de níquel. El calibrado se realizó con calcita $d_B = 0.3035 \text{ nm}$ o sulfuro de molibdeno $d_{002} = 0.6147 \text{ nm}$ dependiendo de la longitud de cámara.

Las muestras analizadas por difracción de rayos X corresponden a:

a) DIAGRAMAS DE POLVO

Son los **diagramas de difracción** de muestras totalmente desorientadas y se caracterizan por la presencia de una serie de anillos concéntricos cuya intensidad y diámetro son característicos de cada polímero. Estos anillos están ligados a la reflexión producida por los planos cristalográficos de los cristales del polímero. Se obtienen colocando una muestra del polímero finamente triturado y fuertemente compactado en un capilar de vidrio sin plomo con diámetro variable entre 0.5 y 1.5 mm. Dado que cada uno de los cristales está dispuesto al azar con respecto al resto, la difracción final tiene forma de anillo que será tanto más definido cuanto más cristalino sea el polímero. El número de reflexiones presentes en estos diagramas es muy reducido, por lo que en muchas ocasiones la celdilla unitaria no queda inequívocamente designada. Así pues, para tener una buena aproximación de la estructura es de vital importancia disponer de diagramas de difracción de muestras orientadas.

b) DIAGRAMAS DE FIBRA

Un **diagrama de fibra** muy orientado proporciona una información más precisa que un diagrama de difracción de polvo, en cuanto a la asignación de los índices de Miller correspondientes a los planos difractados y a la determinación de la simetría cristalina. Las propiedades térmicas y el peso molecular del polímero son condicionantes para la aplicación de este método. Debido a que el polímero es estirado según el propio eje molecular, estos diagramas se caracterizan por la aparición de manchas relacionadas con la repetitividad de cadena con orientación meridional (M) o fuera del meridiano (oM) según el sistema cristalino, y manchas ecuatoriales (E), relacionadas con el empaquetamiento cristalino. La orientación de la muestra se consigue a partir del estirado de la masa polimérica fundida. Ésta puede mejorarse al someter la muestra a un proceso posterior de templado que consiste en “reestirarla” bajo tensión constante en estufa o en atmósfera de vapor de agua. El grado de orientación de la fibra resultante se estima cualitativamente mediante la birrefringencia de la muestra bajo un microscopio de luz polarizada.

c) DIAGRAMAS DE SEDIMENTO CRISTALINO

Estos diagramas están **orientados parcialmente** según el eje de apilamiento de las lamelas. Aportan información adicional sobre la naturaleza lamelar de los cristales, ya que aparecen reflexiones meridionales relacionadas con el espesor de la lamela debido a que la muestra se irradia paralelamente a la superficie de deposición. También proporcionan información acerca de la inclinación de la cadena respecto a la lamela y del número de unidades repetitivas que pueden existir en el interior de la misma. Cuando éste es reducido, se producen unas reflexiones débiles adicionales denominadas máximos subsidiarios. El número de los mismos observado entre las reflexiones correspondientes a dos órdenes consecutivos de la repetitividad de residuo es igual al número de unidades repetitivas menos dos.

La preparación de estos sedimentos requiere una optimización previa de las condiciones de cristalización del polímero. Entre 20-25 mg de polímero perfectamente cristalizados son centrifugados para obtener el sedimento de cristales que se separa por decantación. Después de lavarlos varias veces con *n*-butanol, son suspendidos en él y filtrados lentamente en un dispositivo como el que muestra la *Figura 32*.

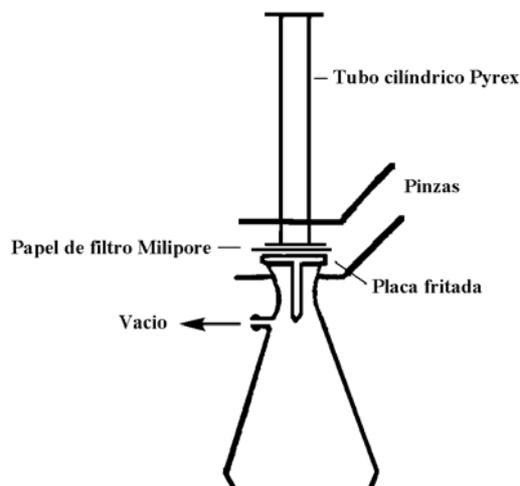


Figura 32. Dispositivo para obtener un sedimento de cristales para difracción de rayos X.

3.4.3. COMPUESTOS MODELO

3.4.3.1. Obtención de monocristales

En general, el **crecimiento de un cristal** debe ser lento para que las moléculas o iones formen una disposición regular interna altamente ordenada llevando a la obtención de un cristal bien formado (monocristal), adecuado para el análisis por difracción de rayos X. El objetivo es alcanzar un estado de saturación de la solución, el cual promueve la formación de algunos núcleos cristalinos que posteriormente llegarán a formar cristales de tamaños mayores. Cuando se inicia la cristalización el sistema evoluciona hacia un equilibrio entre las partículas de la fase sólida y la fase líquida, lo suficientemente lento como para que las moléculas puedan ordenarse en una red cristalina. El proceso depende de factores tales como: la solubilidad, la temperatura, la fuerza iónica, la nucleación y el crecimiento del cristal. El crecimiento depende de la naturaleza de las fuerzas en la superficie del cristal, de la concentración de la muestra y del medio de cristalización.

Normalmente, las caras del cristal que se desarrollan con mayor rapidez son aquellas en las que las partículas se enlazan fuertemente por puentes de hidrógeno o fuerzas de van der Waals. Dependiendo de las características propias de la molécula se forman cristales aciculares o bidimensionales debido a la existencia de direcciones de crecimiento favorecidas. Variando las propiedades de los disolventes y precipitantes como: densidad, constante dieléctrica, viscosidad, solvatación y volatilidad, se pueden evitar estos problemas.

Para la cristalización de una sustancia se han de determinar los disolventes y precipitantes adecuados. Un buen disolvente será aquel que permita una concentración de 5-200 mg/mL y un buen precipitante será aquel en que la solubilidad sea menor que 1 mg/mL. Si la concentración del disolvente es menor de 5-200 mg/mL, el flujo de soluto es bajo y se favorece la nucleación sin crecimiento; si es mayor, la viscosidad de la solución es elevada por lo que la difusión es baja y se obtiene un sólido vítreo.

Entre las diferentes técnicas utilizadas para la obtención de monocristales destacamos dos que fueron empleadas en este trabajo:

a) EVAPORACIÓN LENTA DEL DISOLVENTE

Evaporación lenta del disolvente es un método disponible para la obtención de cristales de alta calidad y, primariamente, usado para moléculas pequeñas. La velocidad de crecimiento es regulada por el ajuste de condiciones (concentración inicial, temperatura, velocidad de evaporación) tal que los cristales son obtenidos en pocos días. La velocidad de evaporación puede ser ajustada cubriendo la solución con un vidrio de reloj o un Parafilm® en cuya superficie se habrán inyectado algunas agujas. La solución es dejada en reposo evitando cualquier tipo de perturbación posible.

Experimentalmente, se añade el precipitante sobre la muestra y luego se adiciona el disolvente hasta disolución total. El producto cristaliza al dejar evaporar lentamente el disolvente.

b) PRECIPITACIÓN POR DIFUSIÓN DE VAPOR

En el método de **difusión de vapor**, se prepara una disolución del compuesto (1 mg/200 μ L de una mezcla de precipitante:disolvente) y se coloca en un porta excavado (*spot plates*, Corning®). Luego, se prepara un recipiente (baño o depósito) que contiene una mezcla precipitante-disolvente más rica en precipitante (5-10%) y se coloca todo en una cámara de cristalización cerrándola herméticamente. Al aproximarse al equilibrio, si los porcentajes son correctos, la gota dentro del porta se enriquece lentamente en precipitante y el producto cristaliza dando lugar a monocristales de grandes dimensiones.

Los cristales obtenidos deben ser analizados previamente en una lupa binocular de luz polarizada. Los criterios para su selección son los siguientes:

- que posean una estructura interna uniforme y, por lo tanto, que no correspondan a maclas cristalinas o diversos dominios cristalinos. Los cristales tampoco pueden estar fracturados ni tensionados. En la realidad, sin embargo, los cristales son imperfectos ya que están compuestos de pequeñas regiones algo desorientadas que dan lugar al término denominado mosaicidad.
- que tengan un tamaño y una forma apropiados, siendo la dimensión lateral óptima del orden de 0,2-0,4 mm. En todo caso el grosor óptimo debe situarse alrededor de $2/\mu$, donde μ es el coeficiente de absorción lineal.

Una vez obtenido el monocristal y después de haber comprobado su calidad, se fija en el extremo de un capilar por medio de un adhesivo amorfo para no interferir en la difracción. El soporte consiste de una base de metal (pieza de latón) junto al cual el capilar (vidrio) está pegado con cera y, en la otra extremidad, tiene el adhesivo para fijar el monocristal. Una vez montado se coloca en la cabeza goniométrica del difractómetro.

En este trabajo se utilizó el método de evaporación lenta del disolvente y el de difusión de vapor para la obtención de los monocristales. La recogida de datos se realizó con un difractómetro Enraf-Nonius CAD4. El aparato está equipado con un generador Enraf-Nonius modelo FR590D, utiliza un monocromador de grafito y una radiación de Cu $K\alpha$.

3.4.3.2. Recogida de datos

Los **difractómetros** utilizan una geometría ecuatorial en la que el haz difractado se mide siempre en un plano horizontal definido por el haz incidente y la rotación del detector alrededor de un eje que atraviesa el cristal. El detector sólo se mueve en este plano y forma un ángulo de 2θ (entre $0-160^\circ$, dentro del rango del instrumento) con el haz incidente. El goniostato más utilizado es el de geometría euleriana que da lugar al difractómetro de cuatro círculos con tres rotaciones para el cristal (ω , χ , φ) y una para el detector (2θ). Según si χ es perpendicular o no a ω , el goniómetro se denomina de geometría Euler o Kappa, respectivamente.

El goniómetro gira y orienta el cristal de forma que cada familia de planos cumpla la condición de difracción de Bragg. La cabeza goniométrica, que produce la rotación φ (tipo spin) en el cristal,

descansa sobre el bloque κ soportado por el bloque ω que a su vez es colineal con 2θ . El centro del sistema (donde se coloca el cristal) y el detector están en un plano perpendicular al eje $\omega/2\theta$. Para evitar la pérdida de intensidad por la absorción del aire hay un túnel de helio en el camino del haz difractado (Figura 33).

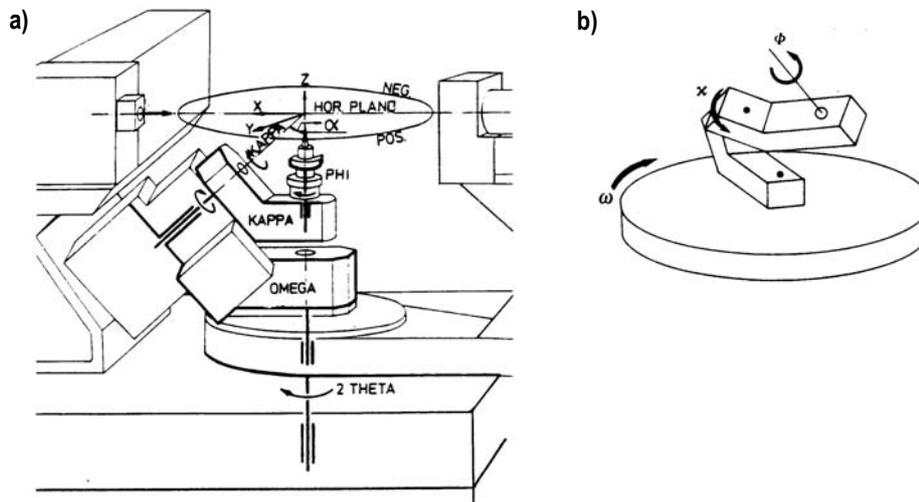


Figura 33. a) Esquema del difractómetro CAD4. b) Esquema simplificado de las rotaciones que mueven el cristal.

La **recogida** de un espectro consta de diferentes etapas:

- 1) Selección, montaje y centrado del cristal.
- 2) Determinación de la celda unidad. A partir de la rotación en el ángulo ϕ y registrando las difracciones sobre un film Polaroid® o buscándolas aleatoriamente en un rango de θ , se encuentran 25 reflexiones a partir de las cuales se selecciona automáticamente una celda compatible con el espacio recíproco estudiado. Se definen dos matrices: la matriz de orientación, que relaciona las dimensiones de la celda y su orientación respecto al sistema de coordenadas del difractómetro, y la matriz métrica recíproca que informa de las dimensiones y simetría de la celda recíproca.
- 3) Estudio de la calidad del cristal a partir del diagrama ω/θ . Permite ver si el cristal está tensionado o si es mosaico. Se determinan los parámetros de recogida del espectro de difracción que dependen del tamaño, dimensiones de la celda y calidad del cristal.
- 4) Recogida del espectro. La medida de las intensidades difractadas se realiza hasta un valor máximo de 2θ , habiendo determinado previamente la zona del espacio recíproco a investigar a partir de la celda hallada. Durante el proceso de recogida se mide periódicamente la intensidad de tres reflexiones para controlar que el cristal no se ha descentrado ni ha sido dañado por la radiación.

- 5) Reducción de datos. Con las intensidades obtenidas se procede al cálculo de los factores de estructura observados, $|F(hkl)|_o$. Se aplican las correcciones de Lorentz y polarización y, si fuera necesario, las de absorción o decaimiento.

3.4.3.3. Resolución y refinamiento de la estructura

Los métodos estructurales de resolución se pueden dividir en dos tipos según la estrategia que siguen para resolver el problema de la fase, así tenemos los **métodos directos e indirectos**. Los métodos indirectos se basan en la localización de un átomo pesado en la estructura sin tener un conocimiento previo de las fases. Por otro lado, los métodos directos acceden directamente a las fases a partir de las intensidades de los haces difractados, no siendo necesario tener información estructural previa. Suponen la asignación de una fase probable a un cierto número de factores de estructura. Son óptimos en el caso de compuestos con átomos de número atómico parecido, como es el caso de los compuestos orgánicos.

La base del desarrollo de los métodos directos estriba en las características de la función de densidad electrónica: real, positiva y continua en toda la celda. Esta se localiza en zonas aproximadamente esféricas conocidas como átomos que deben estar situados a determinadas distancias y ángulos para formar moléculas químicamente razonables, lo que restringe mucho las posibilidades. El problema estructural se plantea desde un punto de vista más práctico admitiendo el principio de aditividad de la densidad electrónica. El objetivo no es una descripción exhaustiva de la densidad electrónica $\rho(x, y, z)$ en toda la celda, sino la localización de sus máximos.

Como hay muchos más datos que parámetros no todos los factores de estructura son independientes por lo que deben existir relaciones de algún tipo en las que estén implicadas sus amplitudes y fases. En primer lugar, la resolución por métodos directos implica la formulación de relaciones de fases en las que participen varios factores de estructura. Éstas deben ser independientes a la elección del origen. Las relaciones expresan la probabilidad de que una fase tenga un determinado valor, calculado a partir de los valores de la amplitud escogidos. Luego, hay que fijar el origen de la celda para eliminar la indeterminación de las fases a él ligadas, y así pasar de relaciones de fases a conjuntos probables de fases. La elección del origen no es totalmente arbitraria, intentándose que coincida con uno o más elementos de simetría presentes en la celda.

Existen diferentes estrategias para abordar el problema de la asignación de las fases a los factores de estructura. Los **métodos de multisolución** son los más utilizados en la aplicación de los métodos directos, pues en ellos se basa el programa SHELXS-97⁹² con el que se ha trabajado. El programa trata de obtener una solución estructural múltiple, mediante varios conjuntos de fases, uno de los cuales debe corresponder a la solución correcta.

Una vez resuelto el problema de fases, se dispone de un conjunto de parámetros que especifican la situación de cada átomo dentro de la celda unidad. Como las fases obtenidas en la resolución son aproximadas, pues ésta se efectúa con un número selecto de reflexiones, es necesario efectuar un proceso de refinamiento de los valores obtenidos. Los métodos de refinamiento son dos: series de Fourier sucesivas y mínimos cuadrados. En el primero, se realiza una síntesis de Fourier con los $|F(hkl)|_o$ a los que se les asigna la fase que se deduce de los $F(hkl)_c$ calculados a partir de las coordenadas de que se dispone. En el segundo caso, se minimiza por mínimos cuadrados el factor de estructura observado y el calculado a partir de las coordenadas y los coeficientes de agitación térmica que se disponen de la estructura. La función es del tipo $R_w = \sum w_{hkl} [F(hkl)_o - F(hkl)_c]^2$ en la que el coeficiente w_{hk} expresa el peso que se atribuye a $F(hkl)_o$ y corresponde al inverso del cuadrado de la desviación estándar de su correspondiente medida ($w_{hkl} = 1/\sigma^2_{hkl}$). De esta forma se da más importancia a las reflexiones de menor desviación estándar.

Con el **método de mínimos cuadrados** el programa SHELXL-97⁹² ajusta los parámetros (coordenadas, factores de escala, factores de ocupación, factores de temperatura) para obtener una mejor concordancia entre los $F(hkl)$ observados y calculados que se cuantifica mediante el índice de acuerdo, R . Este método permite calcular las desviaciones estándar de los parámetros atómicos, que se emplean en determinar las incertidumbres en las longitudes y ángulos de enlace. Todo proceso de afinamiento se acompaña con una síntesis de diferencias, cuya finalidad es determinar la posición de los átomos que no se afinan y de aquellos que no se han localizado (átomos de bajo número atómico, como el hidrógeno).

3.5. CÁLCULOS COMPUTACIONALES Y MODELADO MOLECULAR

La química teórica proporciona un amplio rango de metodologías para el estudio de sistemas poliméricos. Básicamente, éstas pueden ser clasificadas en dos grandes grupos: los **métodos cuánticos** y los **métodos clásicos**.

Los primeros realizan una descripción del sistema basada en el formalismo de la mecánica cuántica. Se caracterizan por su rigurosidad en resolver la ecuación de Schrödinger por medio de métodos *ab initio* o semiempíricos para una molécula o sistema molecular. Una vez conocida la función de onda, todas las propiedades fisicoquímicas de la molécula pueden ser determinadas fácilmente. Así, se puede determinar no solo la energía molecular sino otras propiedades que pueden estar directamente relacionadas con las características estructurales de las moléculas. Pero el uso de la mecánica cuántica en el análisis conformacional está limitado a sistemas de tamaño reducido debido a su elevado coste computacional.

Los métodos clásicos, en cambio, utilizan un formalismo basado en la mecánica clásica que permite aplicar los estudios teóricos a sistemas de gran tamaño con un coste computacional reducido. Dentro de la mecánica molecular, la energía de un sistema químico se evalúa a través de expresiones analíticas clásicas y de parámetros ajustados que incorporan de forma promediada la información electrónica. El conjunto de expresiones y parámetros utilizados constituye lo que se denomina campo de fuerza.

Los parámetros de un determinado campo de fuerza están optimizados para poder reproducir resultados experimentales o cálculos mecanocuánticos para un determinado colectivo de sistemas químicos. Así, por ejemplo, hay campos de fuerzas diseñados para estudiar polipéptidos y proteínas, otros para estudiar ácidos nucleicos, otros para estudiar compuestos orgánicos, etc.

Para describir la estructura cristalina de un polímero, habría que determinar diversos parámetros intramoleculares (posición de los átomos en cada cadena) e intermoleculares (posición y orientación de las cadenas). Normalmente, su estudio se lleva a cabo en dos pasos. En primer lugar, se busca la conformación de una cadena aislada. Una vez obtenida la conformación molecular para una cadena se genera el empaquetamiento cristalino a partir de ésta y en función de la simetría del cristal. Presuponiendo que como punto de partida se conocen experimentalmente las dimensiones de la celdilla unitaria (a , b , c , α , β , γ) se deben optimizar las posiciones relativas de las diferentes cadenas dentro de la celdilla (desplazamiento de las cadenas respecto a los ejes cristalográficos y orientación azimutal). Esta aproximación se ha demostrado válida para muchos sistemas poliméricos.⁹³

3.5.1. El programa PCSP.

Dentro de los métodos usados para estudiar el empaquetamiento cristalino en la presente memoria, destaca el programa PCSP (*Prediction of the Crystal Structure of Polymers*).⁹⁴ Este es especialmente útil debido a su simplicidad y, al mismo tiempo, a su gran eficiencia. Partiendo de un modelo de varilla rígida, es decir, sin optimizar la geometría molecular de las cadenas del polímero, permite obtener una rápida y precisa estimación de la energía asociada a un determinado empaquetamiento cristalino. Esta metodología ha sido de gran utilidad para la determinación de la estructura cristalina de diferentes familias de poliamidas alifáticas estudiadas en el Departamento de Ingeniería Química de la UPC.⁹⁵

3.5.2. El programa Cerius.

El programa Cerius⁹⁶ se emplea en la simulación de diagramas de difracción de rayos X y de electrones. Se trata de una herramienta computacional que permite llevar a cabo diversas aplicaciones además de la simulación de la difracción, siendo muy útil para el estudio de compuestos químicos, en particular de polímeros cristalinos.

El programa consta de diferentes módulos que permiten al usuario realizar numerosas operaciones. Tales operaciones se llevan a cabo de forma interactiva, facilitando la labor del usuario, y son de naturaleza muy diversa, abarcando desde la visualización y construcción de modelos moleculares hasta la simulación de diferentes propiedades.

La generación de las estructuras se realiza a partir de coordenadas previamente existentes, o mediante las propias herramientas de que dispone el programa. La generación de un empaquetamiento cristalino es una de las herramientas más potentes del programa Cerius, permite generar la celdilla a partir de los parámetros de red, incluyendo la posibilidad de especificar el grupo espacial. De esta forma, es posible construir la estructura cristalina a partir de su unidad asimétrica.

El módulo proporciona de forma rápida y muy versátil el patrón de difracción para un modelo cristalino determinado, pudiendo considerarse tres tipos de radiaciones: rayos X, electrones y neutrones; así como tres tipos de diagramas: polvo, fibra y monocristal. Para las reflexiones obtenidas se calculan los correspondientes espaciados e intensidades.

El módulo de difracción presenta como ventajas la posibilidad de comparar directamente las intensidades calculadas y experimentales, al incluir en aquéllas diferentes correcciones. Además, su naturaleza interactiva agiliza el estudio del efecto de los cambios estructurales sobre el patrón. Ello permite llevar a cabo el refinamiento de una estructura de forma iterativa (prueba y ajuste), hasta conseguir una concordancia aceptable entre la simulación y los datos experimentales. Los ajustes se basan fundamentalmente en los cambios de la conformación molecular, los movimientos de rotación y translación de las moléculas en el interior del cristal y en el cálculo de la energía de empaquetamiento considerando las diferentes contribuciones energéticas.

3.6. PROPIEDADES

3.6.1. Propiedades mecánicas

Los ensayos de **tracción-deformación** permiten evaluar la capacidad del material para soportar cargas y deformarse cuando se le somete a una tensión. Estos ensayos son habituales en la caracterización del comportamiento de los materiales frente a un esfuerzo mecánico. La geometría de la muestra, la temperatura y la velocidad de deformación son factores que han de controlarse rigurosamente para obtener resultados reproducibles. Normalmente, los ensayos de tracción-deformación a velocidad constante se utilizan en la comparación de productos similares o en la evaluación del efecto producido por un cambio en las condiciones de producción del material.

En el caso de los materiales viscoelásticos, como los polímeros, la resistencia a la deformación a velocidad constante posee una componente elástica que corresponde a una deformación lineal y recuperable ante un esfuerzo (ley de Hooke, $\sigma = E\gamma$). A medida que aumenta el esfuerzo, el material responde con una componente viscosa que corresponde a una deformación que deja de ser recuperable.

Los ensayos de tracción-deformación se realizaron en un minitensiómetro Miniature-Materials Tester (Minimat Instrument) de Polymer Laboratories a temperatura ambiente y a una velocidad de estiramiento constante de 0.8 mm/min. La distancia de sujeción entre mordazas fue de 10 mm. Se cortaron probetas de forma rectangular (3 x 30 mm²) a partir de films de 200 μ m de espesor obtenidos por compresión térmica del polímero a una temperatura 10°C inferior a su temperatura de fusión. Los parámetros que se determinaron en los ensayos fueron el módulo de Young (E, en MPa), la tensión

máxima alcanzada (ϵ , en MPa) y la deformación a rotura (τ , en %). Se realizaron 10 ensayos por muestra y los resultados se utilizaron con fines comparativos entre las poliesteramidas de diferentes composiciones de grupos éster y amida.

3.6.2. Degradación

Los ensayos de degradación *in vitro* de los polímeros pueden realizarse mediante **degradación hidrolítica** o mediante **biodegradación** con sistemas biológicos. La degradación hidrolítica generalmente es muy lenta y requiere tiempos de incubación largos para observar cambios. Los ensayos de degradación hidrolítica se llevaron a cabo con muestras en forma de films (dimensiones: 15 x 15 mm², espesor: 200 μ m) que se prepararon por prensado térmico a partir de 200 mg del polímero en forma de polvo. De esta forma, las placas se incubaron en 30 mL de una solución tampón a pH 7.4 (Na₂HPO₄/KH₂PO₄ 0.1 M) y temperatura de 37°C. La hidrólisis también fue estudiada en condiciones aceleradas, por ejemplo, a 55°C y a 70°C en agua desionizada. El seguimiento del proceso degradativo se evaluó basándose en la pérdida de peso del material y en la disminución de la viscosidad intrínseca. Los cambios en la estructura química de los polímeros degradados se evaluaron mediante espectroscopía de FT-IR y ¹H-RMN para identificar los enlaces lábiles. Se analizaron también las modificaciones que ocurren en la superficie de la muestra por microscopía electrónica de barrido (SEM).

A diferencia de la degradación hidrolítica, la degradación enzimática ocurre superficialmente y generalmente es más rápida.⁹⁷ Los ensayos de biodegradación se realizaron con enzimas del tipo proteasa como son papaína y proteinasa K, y estearasa como son las lipasas. Las dos primeras fueron seleccionadas por su eficacia demostrada en trabajos anteriores⁴⁵ con polímeros que contienen aminoácidos como glicina y L-alanina. De esta manera, las poliesteramidas que contienen glicina se degradan más rápidamente en papaína, mientras que las que contienen L-alanina lo hacen en proteinasa K. La papaína presenta una especificidad bastante amplia sobre el enlace peptídico,⁹⁸ siendo además capaz de hidrolizar enlaces ésteres.⁹⁹ Las lipasas se utilizaron específicamente para la degradación de los poliésteres pero también se han efectuado a efectos comparativos ensayos con poliesteramidas.

La incubación de las muestras de polímero tiene lugar en una solución de tampón fosfato 0.05 M (10 mL) que contiene 0.03 % de NaN₃ a pH 7.4 y 37°C. En el caso de la papaína el pH fue de 6.0 y se requirió además la presencia de activadores enzimáticos (34 mM de L-cisteína y 30 mM de EDTA). Se

han utilizado muestras en forma de films obtenidos por prensado térmico, como en el caso de la degradación hidrolítica, films preparados por evaporación lenta (14 mm de diámetro y 100-150 μm de espesor) de una disolución del polímero en cloroformo/hexafluoroisopropanol (1/3, v/v); y muestras en polvo (50 mg) pasadas por un tamizador (diámetro inferior a 100 μm) para homogeneizar el tamaño.

La solución enzimática se renovó cada tres días para mantener durante todo el experimento la actividad constante. Al final de la incubación se inactivó el enzima con 1 mL de HCl 1M y se separaron las muestras de polímero resultante. La degradación enzimática del polímero se evaluó como en el caso de la degradación hidrolítica, sin embargo no se consideraron las medidas de viscosidad debido a que este tipo de degradación ocurre únicamente en la superficie del material.

