

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Disolventes y reactivos

En general, se utilizaron disolventes de grado analítico o superior. Para los disolventes y reactivos que requirieron purificación o secado, se procedió según la metodología descrita por Riddick y Bunger (1970). A continuación se describen los tratamientos seguidos con algunos productos.

Éter dietílico anhidro P.A. (Panreac, agua < 0,01%) y *Benceno P.A.* (Panreac, agua < 0,03%): se trataron con sodio hilado.

Dimetilsulfóxido (DMSO) P.A. (Merck): Se dejó agitando mecánicamente con CaH_2 durante 24 horas. A continuación se destiló fraccionadamente a presión reducida. Se despreció la primera fracción (10%). La fracción recogida se guardó a vacío en un balón, bajo atmósfera de nitrógeno.

Diclorometano (DCM) P.A. (Merck): Se agitó sobre Na_2CO_3 durante una hora, se filtró y se dejó agitando durante 24 horas con CaCl_2 . Seguidamente el producto se destiló fraccionadamente, recogiendo la fracción a 39-40°C.

Los alcoholes que se utilizaron en la preparación de los monómeros, fueron suministrados por Aldrich, a algunos se les aplicó una purificación adicional, tal y como se describe a continuación.

Alcohol isobutilico: se dejó agitando mecánicamente con CaH_2 durante 24 horas. Seguidamente se mantuvo a reflujo durante 5 horas. A continuación, se destiló fraccionadamente recogiendo la fracción a 106-107°C. Se guardó sobre tamiz molecular de 4 Å.

Alcohol neopentilico: tras la destilación se recogió la fracción a 112-113°C. Se guardó sobre tamiz molecular de 4 Å.

Alcohol ciclohexílico: se dejó agitando mecánicamente durante 24 horas con K_2CO_3 . A continuación, se realizó su destilación recogiendo la fracción a 160-161 °C. Se guardó sobre tamiz molecular de 4 Å.

2-Pirrolidona (Aldrich): se destiló a presión reducida. Se recogió la fracción a 77-78°C.

Pirrolidona sódica: para su preparación se siguió la metodología descrita por Coutin (1973). En un balón de 100 mL provisto de tres bocas se introdujeron 50 mL de benceno y a continuación se añadieron 0,22 g de sodio. Seguidamente, se adicionaron 1,63 g de pirrolidona y se saturó el balón con nitrógeno. La mezcla se dejó agitando mecánicamente durante 24 horas. Tras la filtración en una placa porosa n°4, bajo atmósfera de nitrógeno, se obtiene la pirrolidona sódica en forma de polvo blanco higroscópico. Esta se colocó en un desecador de vacío para eliminar los restos de disolvente. El producto se guardó a vacío hasta su utilización. El catalizador, así preparado, es recomendable utilizarlo antes de 48 horas.

2.2. Instrumentación y técnicas

Los puntos de fusión de productos intermedios y de algunos monómeros se determinaron en un aparato Gallenkamp de tubo capilar y están sin corregir.

Los análisis elementales se realizaron en el Servei de Microanàlisi del CID de Barcelona del CSIC.

Las destilaciones a presión reducida, efectuadas para purificar los monómeros (1-2 g), se realizaron en un horno de bolas Büchi GKR-50.

Para el seguimiento de las reacciones, así como para verificar la pureza de los diversos monómeros sintetizados o sus intermedios, se utilizó la cromatografía en capa fina. Se emplearon cromatofolios Merck de gel de sílice 60 F254. El eluyente utilizado fue la mezcla diclorometano/acetato de etilo (20/3). Los métodos empleados para el revelado de las placas fueron:

- i) Exposición bajo lámpara UV (250 nm), para la detección de compuestos con anillos aromáticos.
- ii) Ninhidrina (solución al 0,2% en acetona). Permite detectar la presencia de grupos amino primarios. Después de pulverizar y calentar a 110°C durante 3 minutos aparece coloración violeta.
- iii) Ninhidrina + HBr/ácido acético. Utilizado para detección de β -lactamas. Después del revelado con ninhidrina se procedió a una segunda pulverización con una solución de HBr en ácido acético glacial (10% v/v) para abrir la lactama. Tras calentar a 110°C durante 3 minutos aparece coloración violeta.

Para la visualización por microscopía óptica se utilizaron los microscopios Nikon Labophot y Cari Zeiss de polarización con platina térmica Mettler FP-80.

2.2.1. Espectroscopia infrarroja (IR)

Los espectros de infrarrojo se registraron en los espectrofotómetros Perkin Elmer 783 o FTIR Perkin Elmer 2000, equipados con una estación de datos. Los espectros de productos líquidos se analizaron entre ventanas de bromuro potásico. Los productos sólidos intermedios se registraron en pastillas de KBr. Los espectros de los polímeros se registraron en films obtenidos por evaporación de sus disoluciones, en general en CHCl_3 o TFA.

2.2.2. Espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN)

Los espectros de RMN se realizaron en los espectrofotómetros Varian XI-GEM200 de 200 MHz de la Universitat de Barcelona o Bruker AMX300 de nuestro Departamento operando a 300,13 y 70,48 MHz para ^1H y ^{13}C , respectivamente. Como referencia interna se empleó tetrametilsilano (TMS). Para los monómeros se utilizaron disoluciones en deuterocloroformo (CDCl_3) y los espectros de los polímeros se registraron disueltos en mezclas CDCl_3/TFA . Las concentraciones utilizadas para los espectros de protón y carbono fueron de 5-10 y 30-50 mg/mL respectivamente.

Los espectros de 2D, de correlación heteronuclear $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ y de correlación heteronuclear de acoplamiento a larga distancia $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ se registraron usando las secuencias de pulsos estándar HETCOR y COLOC respectivamente.

Los espectros en disolución a diferentes temperaturas se registraron utilizando un accesorio de temperatura variable, seleccionando la temperatura a intervalos de 10 ó 5 K en un rango de 210,15-333,15 K. Las muestras fueron disueltas en deuterocloroformo (1% p/p) y se mantuvieron durante 10 min a cada temperatura para alcanzar el equilibrio térmico. Los registros de cada espectro se efectuaron con pulsos de 90° ($5 \mu\text{s}$). La anchura espectral fue de 4 KHz y el número de acumulaciones fue de 64.

Los espectros de ^{13}C en estado sólido se realizaron mediante la técnica de RMN CP-MAS en el espectrofotómetro Bruker AMX300 equipado con un accesorio CP-MAS y una unidad de temperatura variable. Los espectros se registraron a diferentes temperaturas en un intervalo comprendido entre -70 y 80°C , a $75,5$ MHz. Se utilizaron muestras de 50 - 100 mg diluidas en KBr y sometidas a una velocidad de rotación de $2,0$ - $4,0$ KHz en rotor cilíndrico de cerámica. Los espectros se adquirieron en un tiempo de contacto de 2 y 10 ms, y se acumularon entre 256 y 5000 adquisiciones. La anchura espectral fue de $31,2$ KHz y el número de puntos de 4 K. Los desplazamientos se calibraron externamente en función del pico a campo más alto del adamantano a $29,5$ ppm relativo al TMS.

2.2.3. Rotación óptica específica

Para las medidas de rotación óptica específica se utilizaron los polarímetros Perkin Elmer 141 o Perkin Elmer 241 MC, del Departament de Química Orgánica de la Universitat de Barcelona. Los poderes rotatorios específicos se midieron a 25°C y utilizando la raya D del sodio (589 nm). En el caso de los monómeros las medidas se efectuaron en cloroformo a una concentración de $0,1$ g/100 mL, para los polímeros se realizaron en TFA a una concentración de $0,5$ g/100 mL.

2.2.4. Determinación de la racemización mediante rotación óptica

Para determinar la racemización en muestras poliméricas se procedió inicialmente a la hidrólisis de dichas muestras. Para realizar la hidrólisis, unos 50 mg de producto se introdujeron en un tubo de hidrólisis junto con 2 mL de HCl 6N , se congeló con nieve carbónica en acetona y el tubo se cerró a vacío. Tras 24 horas a 110°C se abrió el tubo y se filtró su contenido. El líquido resultante se evaporó a sequedad. Se añadieron 2 mL de agua, se evaporó nuevamente y se repitió dos veces esta operación.

En la determinación de la racemización se operó del siguiente modo. Unos 15 mg de polímero hidrolizado y una cantidad aproximadamente equivalente de ácido L-aspártico sometido a las mismas condiciones de hidrólisis, se disolvieron en 2 mL de HCl 6N conteniendo un cantidad comparable y conocida de glicina. Se midió la rotación óptica en celdas de 10 cm de longitud y volumen aproximado de 1 mL.

La glicina, que al ser ópticamente inactiva no influye en la medida de la rotación óptica, sirvió como patrón interno en el analizador de aminoácidos para determinar la concentración de ácido aspártico en las muestras usadas en el polarímetro.

2.2.5. Dicroísmo circular

Los espectro de dicroísmo circular se registraron en un espectrómetro Jasco J-720 del Servei d'Espectroscopia de la Universitat de Barcelona. Se utilizó una celda de cuarzo de paso 0,02 cm termostatizada a 25°C. Las muestras se prepararon con una concentración de cromóforo de $4 \cdot 10^{-2}$ mol/L en solución de CHCl_3 . Para el estudio de la transición hélice-ovillo por efecto de la temperatura se trabajó en un rango de -10°C hasta 40°C con la misma celda termostatizada con un criostato. En este caso como disolvente se utilizó la mezcla CHCl_3/TFA con una concentración de ácido del 2% (v/v). Los espectros se registraron en una región de longitudes de onda comprendidas entre 210 y 260 nm. Los resultados se expresaron en términos de elipticidad molar ($\text{deg} \cdot \text{cm}^2/\text{dmol}$).

2.2.6. Determinación de la masa molecular: viscosidad intrínseca

Para las medidas de viscosidad se utilizaron viscosímetros Cannon-Ubbelohde CUSMU 100 y 200 termostatizados a 25°C. Las determinaciones se realizaron utilizando ácido dicloroacético (DCA) como disolvente. La concentración inicial de polímero fue del orden

de 1 g/dL que se fue diluyendo sucesivamente hasta alcanzar una concentración final de 0,3 g/dL. La carga inicial en el viscosímetro fue de 1,2 mL.

Las masas moleculares se estimaron utilizando las ecuaciones de Mark-Houwink-Sakurada: $[\eta] = 2,78 \cdot 10^{-5} Mv^{0,87}$ y $[\eta] = 2,9 \cdot 10^{-4} Mv^{0,74}$, establecidas para el poli(γ -bencil- α -L-glutamato) (Doty *et al.*, 1956) y poli(γ -metil- α -L-glutamato) (Tanaka, 1972) respectivamente.

2.2.7. Determinación de la densidad por el método de flotación

Para determinar la densidad de los polímeros obtenidos se utilizó el método de flotación en disoluciones acuosas de KBr a 25 °C. Pequeños trozos de films cristalinos obtenidos por evaporación de disoluciones de polímero y cuidadosamente secados, se sumergieron en una probeta con agua. Se fue añadiendo una disolución de KBr hasta que la muestra se elevó del fondo y se mantuvo suspendida en el interior del líquido. Se determinó la densidad de este líquido con un picnómetro y se promedió con la obtenida por el mismo procedimiento empezando con la disolución de KBr, de mayor densidad que la muestra.

2.2.8. Difracción de rayos X

En los estudios de difracción de rayos X se utilizó un cámara Statton Pinhole modificada (W.H. Warhus, Willmington, Delaware, USA) con registro fotográfico sobre film plano y monocromador de grafito que selecciona la radiación Cu-K α ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$). Para el registro fotográfico de los diagramas de difracción de rayos X se utilizó film Kodak DEF-5.

Las muestras en polvo fueron introducidas en capilares de vidrio especial para rayos X, sin plomo y de paredes delgadas, en general de diámetro 1mm.

Las muestras de films se obtuvieron por evaporación de disoluciones de concentración de polímero de 5-20 mg/mL en CHCl_3 , TFA, 2-cloroetanol ó 1,1,1-trifluoroetanol. Las muestras de fibra se obtuvieron por estiramiento mecánico de los films en ocasiones con calentamiento y otras veces por estiramiento de una pasta viscosa formada por la evaporación parcial del disolvente de las soluciones de polímero.

Para la calibración se depositó sobre la superficie de la muestra sulfuro de molibdeno (MoS_2), el cual presenta una reflexión intensa a $6,47 \text{ \AA}$ (d_{200}), que se utiliza como referencia.

2.2.9. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Se utilizó un termoanalizador Mettler TA4000 con una célula de análisis DSC30, que permite realizar medidas entre -150 y 600°C , con una precisión de $\pm 0,2^\circ\text{C}$ y un microprocesador acoplado TC11. El enfriamiento se llevó a cabo con nitrógeno líquido.

El aparato se calibra con un standard de indio con entalpia y temperatura de fusión perfectamente conocida. Para ello se utiliza una cantidad de indio, entre 5 y 10 mg, que se dispone en una cápsula de aluminio, y como referencia se utiliza otra cápsula de aluminio vacía. A continuación se mide el calor y la temperatura de fusión en el calorímetro.

Para el análisis calorimétrico se utilizaron muestras en polvo de entre 5 y 10 mg, que se dispusieron en cápsulas de aluminio. Los termogramas DSC se registraron bajo atmósfera de nitrógeno a una velocidad de calentamiento de 10 K/min . Para los polímeros se trabajó en un intervalo de temperaturas comprendido entre -150 y 500°C .

2.2.10. Análisis termogravimétrico (TGA)

Para los análisis termogravimétricos se utilizó el equipo del Laboratorio de Termodinámica de esta Escuela, constituido por un termoanalizador Mettler TA4000 y un microprocesador TC11, al cual se acopló una termobalanza TG50. La termobalanza consiste en una microbalanza Mettler MT5 y un horno controlado por el procesador. Las medidas pueden realizarse en un rango de temperatura de entre 0 y 1000°C, con una precisión de $\pm 2^\circ\text{C}$. Para la obtención de las curvas TGA se utilizaron muestras de 5-10 mg. Se trabajó a una velocidad de calentamiento de 10 K/min en un intervalo de temperaturas entre 30 y 600°C, bajo corriente de nitrógeno con un flujo de 200 mL/min.

2.2.11. Análisis térmico dinamomecánico (DMTA)

El análisis térmico dinamomecánico se llevó a cabo en un analizador Rheometrics PL-DMTA MK3 en el Laboratorio de Termodinámica de esta Escuela. En la técnica de DMTA se aplica una deformación sinusoidal a la muestra, que puede expresarse por $\epsilon(t) = \epsilon_0 \sin(\omega t)$, donde ϵ_0 es la deformación máxima aplicada, ω es la frecuencia angular y t el tiempo. La correspondiente ecuación para la tensión producida en el material es, $\sigma(t) = \sigma_0 \sin(\omega t + \delta)$, donde σ_0 es la tensión máxima y δ la diferencia de fase entre la deformación aplicada y la tensión producida. El desfase se produce como consecuencia de que el material no responde de forma instantánea a la deformación aplicada y depende del carácter viscoso y elástico de la muestra. Las propiedades dinamomecánicas de un material viscoelástico se describen mediante el módulo complejo, $E^* = \delta/\epsilon = E' + iE''$, donde E' es el llamado 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 , queda determinada por la relación entre estos dos componentes, mediante la denominada tangente de pérdidas, $\tan \delta = E''/E'$.

La técnica de DMTA proporciona las cantidades E' , E'' y $\tan \delta$. A partir de estas medidas se obtiene información cuantitativa de la variación que experimenta el módulo durante las transiciones termodinámicas, pudiéndose detectar, además de la transición α asignada a la cadena principal, transiciones correspondientes a movimientos moleculares locales, transición β y γ .

Para calcular la energía de activación correspondiente a las tres relajaciones α , β y γ , en el presente estudio, se ha utilizado la relación de Arrhenius:

$$\ln f = \ln f_0 - \frac{E_a}{RT}$$

donde f es la frecuencia, f_0 la frecuencia a la temperatura infinita, T la temperatura, E_a la energía de activación y R la constante universal de los gases. La representación lineal de $\ln f$ frente a $1/T$ permite obtener, a partir de la pendiente, la energía de activación.

Para la confección de las probetas se utilizó un accesorio para la obtención de films de grosor constante, Constant Thickness Film Maker (CTFN) P/N 15620 de Specac Limited. Se trabajó en modo de flexión en simple *cantilever* (**Figura 2.1**). La muestra se amordazó en un marco, situando dicha muestra de forma horizontal y centrada respecto a la situación del vastago que transmite el movimiento y del marco.

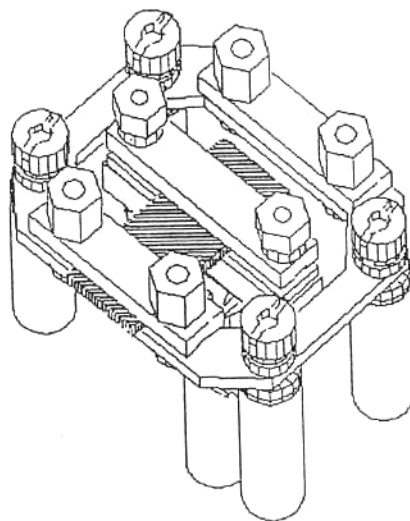


Figura 2.1 Amordazamiento en el modo de flexión en simple *cantilever*.

2.2.12. Degradación por ultrasonidos

La irradiación de ultrasonidos se llevó a cabo utilizando un generador Branson B-12 operando a una potencia de 70 W. Las vibraciones ultrasónicas se introdujeron en la solución de polímero mediante un transductor o punzón de material cerámico. Dicho material presenta buenas propiedades mecánicas y una gran estabilidad incluso para vibraciones de amplitud considerable. El sistema utilizado para la generación de ultrasonidos en la solución de polímero se esquematiza en la **Figura 1.2**.

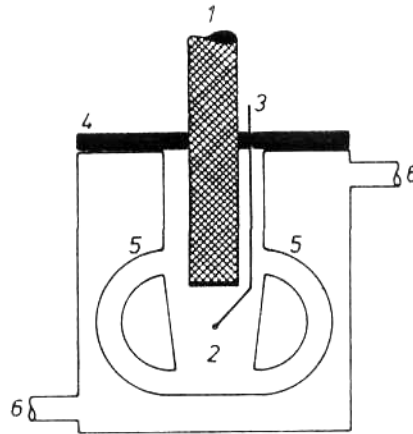


Figura 2.2. Celda refrigerada para experimentos de degradación por ultrasonidos. 1: vibrador de ultrasonidos; 2: solución de polímero; 3: termómetro; 4: tapa aislante; 5: celda Rosett para la circulación de la solución; 6: baño termostático.

Tal como se observa en la **Figura 2.2** la celda Rosett que contiene la solución de polímero está provista de ramas laterales que aseguran, mediante recirculación del líquido, un medio homogéneo durante la irradiación por ultrasonidos.