

**SINTESIS Y CARACTERIZACION ESTRUCTURAL
DE NUEVAS POLIAMIDAS
CON UNIDADES MONOMETILENICAS**

APLICACIONES POTENCIALES EN EL CAMPO DE LA BIOMEDICINA

Memoria presentada por *M^ª Lourdes Franco García*
para optar al grado de Doctor en Ciencias.

Trabajo realizado en el Departamento de Ingeniería Química
de la Universidad Politécnica de Cataluña,
dentro del programa de Doctorado "Polímeros y Plásticos"

Director de la Tesis: Dr. *Jordi Puiggali Bellalta*.

Barcelona, Septiembre de 1994

UNIVERSIDAD POLITECNICA DE CATALUÑA
DEPARTAMENTO DE INGENIERIA QUIMICA
ESCUELA TECNICA SUPERIOR
DE INGENIEROS INDUSTRIALES DE BARCELONA

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA
ADMINISTRACIÓ D'ASSUMPTES ACADÈMICS

Aquesta Tesi ha estat enregistrada
a la pàgina 65 amb el número 602

Barcelona, 27-12-94

L'ENCARREGAT DEL REGISTRE,



DATA DE LECTURA: 14 d' octubre de 1994
QUALIFICACIÓ: APTA CUM LAUDE



JAUME VECIANA I MIRÓ.
Vocal



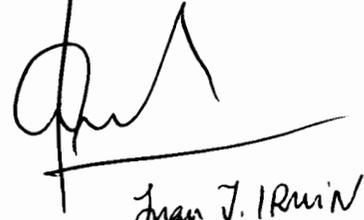
Jaume Gascó Gual
Vocal



JUAN A. SUBIRANA
President



JOSEP M. FERNÁNDEZ SANTÍN
Secretari



Juan J. Ruiu
Vocal

« Será inútil que asomen la cabeza y me digan:
- Sube aquí arriba, cariño.
Me limitaré a mirar y decirles:
- A ver, ¿quién soy?; decídmelo primero.
... Y luego, si me gusta serlo, subiré;
y si no, me quedaré aquí abajo,
hasta que sea otra persona. »

Alicia,

Alicia en el País de las Maravillas
de Lewis Carroll.

Agradecimientos

Desde estas líneas quiero expresar mi agradecimiento a todas las personas que de una manera u otra han colaborado en la elaboración y presentación de esta Tesis doctoral.

Al *Dr. Jordi Puiggalf*, director de la Tesis.

Al *Dr. Juan A. Subirana*, catedrático del Dpt. de Ingeniería Química.

Al *Dr. José M^e Fernández-Santfán*, profesor del Departamento.

A la *Dra. M^e Teresa Casas*, responsable del microscopio electrónico.

A *Cristina Peraire*, colaboradora en el proyecto europeo como responsable de la realización de las pruebas biológicas.

A los compañeros del Laboratorio, en especial a quienes compartieron conmigo el despacho en los primeros años: *Xavier Vidal, Carlos Alemán y Enric Daniel* y a mis amigas de esta última etapa: *Eloísa Navarro, Encarna Escudero, Nuria Irles y Nuria Paredes*.

Al personal del Departamento, en particular a *Francina Solé, Sabina Coello, Juan Luis Marcos y Joaquim Subirats*.

A mis hermanos *-Encarna, Belén, Juanjo, Jesús y Miguel Angel-*, a mis padres *-Juan Manuel y M^e Encarnación-*, y a *Jordi*.

Este trabajo se ha realizado gracias a la ayuda económica de una beca concedida por la Comunidad Europea, a través del programa BRITE/EURAM, y una beca predoctoral de Formación del Personal Investigador, del Ministerio de Educación y Ciencia.

Tabla de contenido

1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Poliamidas.....	3
1.2 Clasificación de las poliamidas.....	5
1.3 Propiedades básicas de las poliamidas sintéticas.....	8
1.4 Objetivos.....	10
1.5 Estructura de poliamidas.....	12
<i>1.5.1 Polipéptidos.....</i>	<i>12</i>
1.5.1.1 Puentes de hidrógeno intramoleculares.....	14
1.5.1.2 Puentes de hidrógeno intermoleculares.....	18
<i>1.5.2 Nylons.....</i>	<i>23</i>
1.5.2.1 Estructuras α y β	24
1.5.2.2 Estructura γ	29
<i>1.5.3 Nylons modificados.....</i>	<i>33</i>
1.5.3.1 Inserción de una unidad de glicina en la cadena polimérica.....	33
1.5.3.2 Inserción de un grupo estereoregular en la cadena polimérica.....	37
1.6 Morfología cristalina y plegamiento molecular.....	39
1.7 Biocompatibilidad y biodegradabilidad.....	43
2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	47
2.1 Instrumentación.....	49
2.2 Disolventes y reactivos.....	51

2.3 Síntesis	52
2.3.1 <i>Síntesis a partir de dinitrilos</i>	53
2.3.2 <i>Método de ésteres activos</i>	53
2.3.3 <i>Polimerización interfacial</i>	56
2.4 Caracterización de productos intermedios y finales	57
2.4.1 <i>Cromatografía de capa fina</i>	57
2.4.2 <i>Espectroscopía de infrarrojo</i>	58
2.4.3 <i>Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear</i>	60
2.4.4 <i>Análisis térmico</i>	61
2.4.4.1 <i>Termogravimetría</i>	61
2.4.4.2 <i>Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)</i>	61
2.4.5 <i>Evaluación del peso molecular</i>	62
2.4.6 <i>Análisis de aminoácidos por Cromatografía</i>	65
2.5 Estudio estructural	67
2.5.1 <i>Difracción de rayos X</i>	68
2.5.1.1 <i>Preparación de muestras</i>	73
2.5.2 <i>Microscopía electrónica</i>	74
2.5.2.1 <i>Obtención de monocristales</i>	77
2.5.2.2 <i>Preparación de muestras</i>	78
2.5.2.3 <i>Cristalización epitaxial de muestras de polímero sobre sustratos orgánicos</i>	79
2.5.2.4 <i>Decoración superficial con polietileno</i>	79
2.6 Modelaje molecular	81
2.6.1 <i>Análisis del refinamiento</i>	81
2.6.2 <i>Estrategia del refinamiento</i>	83
3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	85

3.1 Nylons 1,n.....	87
3.1.1 <i>Síntesis</i>	87
3.1.2 <i>Caracterización</i>	95
3.1.2.1 Espectroscopía de Infrarrojo	95
3.1.2.2 Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear. Estimación de pesos moleculares.....	98
3.1.2.3 Análisis térmico	102
3.1.3 <i>Microscopía electrónica</i>	107
3.1.3.1 Nylons 1,n (n par)	107
3.1.3.2 Nylons 1,n (n impar)	117
3.1.4 <i>Difracción de rayos X</i>	123
3.1.4.1 Nylons 1,n (n par)	124
3.1.4.2 Nylons 1,n (n impar)	136
3.1.4.3 Longitud de la unidad repetitiva y valores de densidad para los nylons 1,n	141
3.1.5 <i>Estructura molecular de cristales lamelares</i>	143
3.1.6 <i>Modelado estructural</i>	144
3.1.6.1 Nylons 1,n (n par)	145
3.1.6.2 Nylons 1,n (n impar)	152
3.2 Copolímeros estadísticos de glicina y ω-aminoácidos.....	161
3.2.1 <i>Síntesis</i>	162
3.2.1.1 Preparación del ácido 12-aminododecanóico	162
3.2.1.2 Protección de grupos amino por carbobenzoxilación.....	163
3.2.1.3 Preparación de los derivados de los ésteres pentaclorofenólicos	164
3.2.1.4 Eliminación de los grupos protectores	165
3.2.1.5 Polimerizaciones	165
3.2.2 <i>Caracterización</i>	166
3.2.2.1 Rendimientos de polimerización y viscosidad intrínseca.....	166
3.2.2.2 Espectroscopía de RMN y composición de aminoácidos	169
3.2.2.3 Análisis térmico	179
3.2.2.4 Espectroscopía de Infrarrojo	187

3.2.2.5 Difracción de rayos X.....	190
3.2.2.6 Formación de fibras y propiedades mecánicas	198
3.3 Derivados de la inclusión de glicina en un Nylon m,n	203
3.3.1 Introducción	203
3.3.2 Nylons 2/6/2,10 y 2/12/2,10	205
3.3.2.1 Síntesis	205
3.3.2.1.1 Acoplamiento del éster pentaclorofenílico de la N-carbobenzoxi glicina con la diamina	206
3.3.2.1.2 Desprotección del grupo carbobenzoxycarbonil.....	206
3.3.2.1.3 Polimerización	207
3.3.2.2 Caracterización	208
3.3.2.2.1 Espectroscopía de Infrarrojo.....	208
3.3.2.2.2 Espectroscopía de RMN	210
3.3.2.2.3 Análisis térmico	213
3.3.2.3 Análisis estructural.....	217
3.3.2.3.1 Microscopía electrónica.....	217
3.3.2.3.2 Difracción de rayos X.....	228
3.3.3 Nylon 12,10	238
3.3.3.1 Síntesis	238
3.3.3.2 Caracterización	238
3.3.3.3 Análisis estructural.....	242
3.3.3.3.1 Microscopía electrónica.....	242
3.3.3.3.2 Difracción de rayos X.....	242
3.3.4 Nylons 2/6/2,10 y 2/12/2,10 con defecto de glicina	251
3.3.4.1 Síntesis	251
3.3.4.2 Caracterización	252
3.3.4.2.1 Espectroscopía de infrarrojo	253
3.3.4.2.2 Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear	255
3.3.4.2.3 Análisis térmico	260
3.3.4.3 Difracción de rayos X.....	263

4 CONCLUSIONES	273
4.1 Conclusiones particulares.....	275
4.1.1 <i>Nylons 1,n</i>	275
4.1.2 <i>Copolímeros de glicina y ω-aminoácidos</i>	276
4.1.3 <i>Nylons 2/6/2,10 y 2/12/2,10</i>	276
4.1.4 <i>Nylon 12,10</i>	277
4.1.5 <i>Nylons 2/6/2,10 y 2/12/2,10 con defecto de glicina</i>	278
4.2 Conclusiones generales	279
BIBLIOGRAFIA	281
ANEXO 1 BIOCOMPATIBILIDAD Y BIODEGRADABILIDAD.....	291
1.1 Métodos de evaluación.....	293
1.2 Resultados	296
1.2.1 <i>Nylons 1,n</i>	296
1.2.2 <i>Copolímeros estadísticos de glicina y de ω-aminoácidos</i>	296
1.3 Conclusiones.....	300

Abreviaturas

AcOH	Acido acético
DCA	Acido dicloroacético
p-TsOH	Acido para-toluensulfónico
β -Ala	β -alanina
Bz-OH	Alcohol bencílico
ω -Am	ω -Aminoácido
ϵ -Acp	ácido ϵ -aminocapróico
TGA	Análisis termogravimétrico
Z	Grupo benciloxycarbonilo
BAAM	Bis-(acetamida)metano
IBTFA	[Bis(trifluoroacetoxi)iodo]benceno
DSC	Calorimetría Diferencial de Registro
Col	Colágeno
δ	Desplazamiento químico
Diam	Diamina
DCC	1,3-Diciclohexilcarbodiimida
DMSO	Dimetilsulfóxido
d(obs)	Distancia observada
d(cal)	Distancia calculada
d(Å)	Espaciados de Bragg
ΔH_f	Entalpía de fusión
ΔH_c	Entalpía de cristalización
Exp	Experimental
R	Factor R
F _o	Factor de estructura observado
F _c	Factor de estructura calculado
PITC	Fenilisotiocianato
Gly	Glicina
X _n	Grado medio de polimerización
Int	Intensidad
LALS	Least Atom Linked Square
AM1	Método Austin Model (semiempírico)
4-31G	Método ab initio (bases 4-31G)
m	Multiplicidad
DMMA	N,N'-dimetilmalonamida
PcpOH	Pentaclorofenol
M _n	Peso molecular
PG I	Poliglicina I
PG II	Poliglicina II
PABLG	Poly(α -bencil-L-glutamato)
PAIBLA	Poly(α -isobutil-L-aspartato)
PP II	Poliprolina II
P _f	Punto de fusión
T _c	Temperatura de cristalización
T _g	Temperatura de transición vítrea
TEA	Trietilamina
TFA	Trifluoroacético
TMS	Trimetilsilano
$[\eta]$	Viscosidad intrínseca

1 Introducción

1.1 Poliamidas

Los polímeros son materiales que constituyen la mayoría de nuestro entorno natural y sintético. No es sorprendente que gran parte de nuestra alta tecnología, desde la biotecnología hasta la microelectrónica, dependa de la habilidad para sintetizarlos y manipularlos.

Aunque los miles de polímeros existentes en el mundo difieren en sus propiedades físicas y químicas, todos ellos tienen algo en común: son macromoléculas. Precisamente las propiedades particulares de los compuestos poliméricos se atribuyen, en gran manera, a su estructura de cadena larga o macromolecular. Estas propiedades incluyen la elasticidad, la resistencia mecánica, la resistencia a la abrasión, la tenacidad y la flexibilidad.

Todos los seres vivos están constituidos por macromoléculas biológicas, es decir, biopolímeros (proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos, etc). La celulosa, el principal material estructural de las plantas, es un polímero natural. El algodón es celulosa, el rayón y el acetato son fibras derivadas de la celulosa. Las proteínas son también polímeros, al igual, que lo es el ácido desoxirribonucleico (DNA), el material del que están compuestos los genes.

Por otro lado, existe una gran variedad de materiales polímeros que se han hecho imprescindibles en el mundo tecnológico actual (fibras, cauchos, resinas sintéticas, pinturas, etc). Los polímeros sintéticos, comúnmente denominados *plásticos*, han substituido en numerosas aplicaciones al papel, algodón, lana, acero y vidrio, entre otros, siendo los más usados los termoplásticos, que representan el 80% del volumen total en peso de la producción, con extensivas aplicaciones en embalajes y en fibras sintéticas como las más importantes.

Dentro de los polímeros sintéticos están los plásticos de consumo, que por su bajo precio y sus buenas propiedades se consumen masivamente, y otro grupo formado por un numeroso conjunto de productos de alto precio y pequeño consumo, pero de importantes propiedades específicas. Como la mayoría de estas aplicaciones se daban en el campo de la construcción, componentes de máquinas y equipos de plantas químicas, aeronaves, etc, se les ha denominado *plásticos de ingeniería*. Estos materiales plásticos de altas prestaciones están reemplazando a los metales en una gran variedad de aplicaciones como electrodomésticos y piezas de automoción, entre otras muchas.

Un grupo importante de polímeros, que engloba a materiales naturales y sintéticos, es el de las POLIAMIDAS, familia cuya característica común es la presencia del grupo amida, -CONH-, en su cadena. Este grupo amida es capaz de formar puentes de hidrógeno, provocando fuertes interacciones. La relación entre el número de grupos amida y el número de grupos alifáticos marca las diferencias estructurales y las

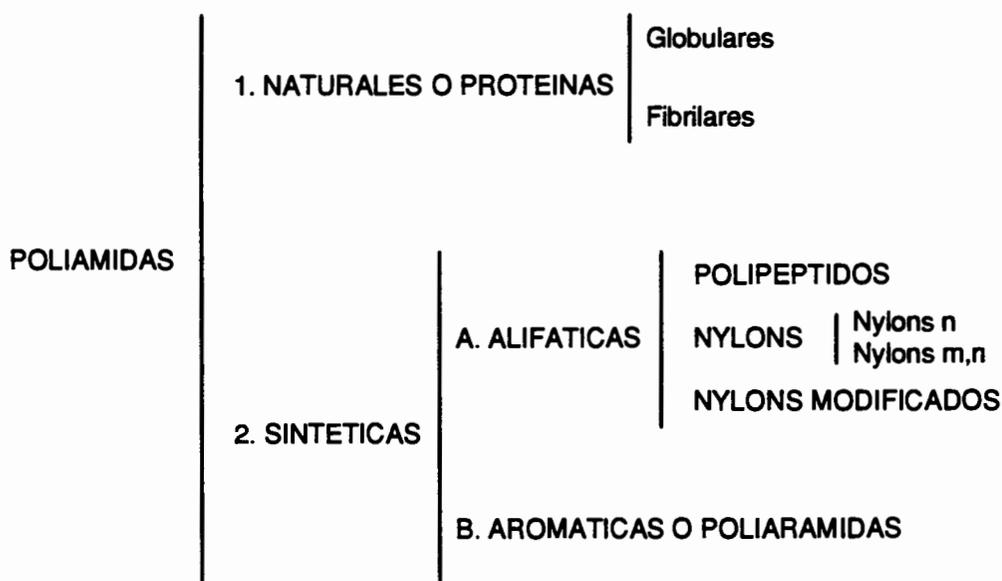
particulares características de estos polímeros. Por una parte, se encuentran las poliamidas con poca densidad de grupos amida que presentan unas propiedades similares a las del polietileno y, por otro lado, están las proteínas y los polipéptidos, con los grupos amida separados únicamente por un grupo $-CH_2-$ o $-CHR-$ y que tienen características diferentes. Las poliamidas de interés comercial tienen una proporción de grupos amida intermedia entre el polietileno y los polipéptidos y proteínas.

Las poliamidas son los primeros plásticos que empezaron a competir con otros materiales tradicionales que parecían insubstituíbles por su resistencia mecánica: los metales. Este hito se produjo en 1930, en el complejo químico de la DuPont, cuando Carothers y Hill descubren un polímero que hila con mucha facilidad en hebras de gran resistencia. Se trataba de la poliamida 66, que tendría su entrada en el mercado textil diez años después bajo la marca registrada de *nylon*, nombre que se ha tomado como genérico de las poliamidas alifáticas.

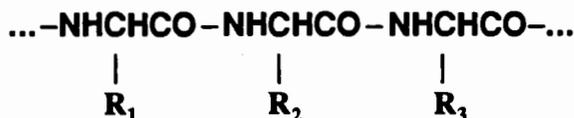
Las excelentes características de las poliamidas comerciales las han impuesto como materiales insubstituíbles en la construcción de elementos de máquinas y mecanismos, comportándose satisfactoriamente en un amplio margen de temperatura y por ello encabezan el grupo de los plásticos de ingeniería.

1.2 Clasificación de las poliamidas

Las poliamidas pueden ser naturales o sintéticas y dentro de cada uno de estos grupos se pueden establecer diferentes tipos dependiendo de su composición. Aunque pueden agruparse desde varios puntos de vista, en este trabajo se ha propuesto la siguiente clasificación:



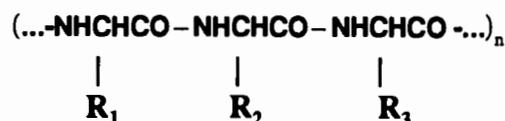
Las poliamidas naturales son las PROTEINAS. Se trata de poliamidas con una composición química muy compleja, en la que se une una larga secuencia de aminoácidos distintos:



Las proteínas pueden tener estructuras globulares o fibrilares. Algunos ejemplos de proteínas globulares son la hemoglobina de la sangre, la albúmina y la caseína, y como proteínas fibrilares están las fibras de colágeno, queratina y fibroína. Las proteínas globulares son solubles en agua o en soluciones acuosas de ácidos o bases, mientras que todas las proteínas fibrilares tienen en común su insolubilidad en agua.

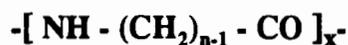
Dentro de las poliamidas sintéticas alifáticas están los polipéptidos, los nylons y los nylons modificados.

Los POLIPEPTIDOS son modelos simplificados de proteínas, formados por la repetición de secuencias cortas de α -aminoácidos:



Los polipéptidos pueden estar constituidos por un sólo aminoácido *-homopolipéptidos-*, (ejemplo: poli(α -alanina)), o por varios aminoácidos *-polipéptidos secuenciales o estadísticos-*, dependiendo respectivamente, de que los aminoácidos estén en disposición secuencial o bien estén distribuidos al azar (ejemplo: poli (glicil-prolil-prolina), polímero secuencial de interés por ser un modelo del colágeno).

Los NYLONS se pueden obtener a partir de la condensación de ω -aminoácidos *-nylons n-* (donde n es el número de átomos de carbono del aminoácido), o por polimerización de diácidos y diaminas *-nylons m,n-* (donde m es el número de carbonos de la diamina y n el número de carbonos del ácido dibásico). Las unidades estructurales de ambos tipos de nylons son las siguientes:



Nylons n



Nylons m,n

Dentro del grupo de los nylons se puede considerar la polimerización de dos monómeros distintos dando lugar a copolímeros. Estos copolímeros dependiendo de como estén situados ambos monómeros pueden ser secuenciales y estadísticos. También pueden establecerse otras disposiciones como son al azar, periódica, en bloques, o con uno de los monómeros unido como cadena lateral al monómero que hace de cadena principal, pero estas ordenaciones se alejan del marco en el que se desarrolla el presente trabajo. Un copolímero secuencial, formado por los monómeros A y B, se nombrará como A/B. Si el copolímero es estadístico se indicará además, entre paréntesis, el porcentaje molar de A y B respectivamente (Kohan, 1973).

Un caso particular de *nylon n* se presenta cuándo hay un único metileno, es decir en el nylon 2 o Poliglicina, que también puede clasificarse como un homopolipéptido.

Casos particulares de los nylons m,n son los *nylons 1,n* y los *nylons n,3*, ambos caracterizados también por tener un grupo metileno aislado entre dos grupos amida.

Los NYLONS MODIFICADOS son poliamidas en las que se ha introducido alguna modificación en su composición, lo que da lugar a polímeros con características particulares como pueden ser biocompatibilidad, biodegradabilidad o la generación de una significativa actividad piezoeléctrica o piroeléctrica entre otras. Las modificaciones llevadas a cabo en el laboratorio del *Departamento de Ingeniería Química* de la *Universidad Politécnica de Cataluña* son principalmente de dos tipos:

- Inclusión de residuos de glicina u otro aminoácido en el esqueleto del polímero, por ejemplo los nylons 2/3, 2/6 y 2/11, que representan la inserción de glicina en la cadena de los nylons 3, 6 y 11 respectivamente.

- Introducción de sustituyentes en la cadena principal, por ejemplo, el poli(α -isobutil-L-aspartato) o PAIBLA, que es un nylon 3 modificado con un grupo éster como sustituyente lateral.

1.3 Propiedades básicas de las poliamidas sintéticas

En las poliamidas sintéticas alifáticas se combinan zonas cristalinas de alta atracción molecular y zonas amorfas, que confieren al polímero una gran flexibilidad. Hay una serie de variables estructurales que pueden afectar considerablemente a las propiedades de este tipo de poliamidas: la distancia entre los grupos amida, el número y la paridad de grupos metileno en los monómeros, el peso molecular y la copolimerización.

La existencia de puentes de hidrógeno proporciona a las poliamidas un alto grado de cristalinidad, que se pone de manifiesto en una alta y claramente definida temperatura de fusión y en una elevada resistencia a la tracción, tanto mayores ambas, cuanto mayor número de grupos amida existan, a igualdad de número de átomos totales de carbono. Sin embargo, por encima del punto de fusión la viscosidad del material fundido es baja debido a la flexibilidad del polímero y a su relativamente bajo peso molecular.

Hay que destacar sus propiedades mecánicas: son fibras con gran resistencia a la tracción, a la abrasión y a la flexión. Pueden ser estiradas en frío y presentan una elevada capacidad de absorción de humedad. La absorción de agua depende, principalmente, de la densidad de los grupos amida (hidrófilos), a lo largo de la cadena. Por otra parte, cuanto mayor es el grado de cristalinidad menor es la absorción de agua. El efecto de la humedad influye decisivamente en las propiedades eléctricas del polímero y también en las propiedades mecánicas rebajándolas, debido a que, si bien aumenta su tenacidad, también afecta sensiblemente a su estabilidad dimensional (la pieza se hincha). Por otro lado, debe eliminarse este agua antes del moldeo, lo que obliga a procesos de secado muy rigurosos. Este inconveniente hizo que otros plásticos posteriores tomaran el relevo a las poliamidas en muchas aplicaciones.

La acción de reforzantes en cantidades relativamente grandes (fibra de vidrio principalmente, pero también caolín y mica), hasta un 40-45%, aumenta la resistencia a la tracción y la estabilidad dimensional a alta temperatura de las poliamidas alifáticas, disminuyendo su deformación a la rotura.

Otra aplicación de las poliamidas sintéticas es como recubrimiento de piezas metálicas; estos recubrimientos tienen casi siempre el sentido protector frente a agentes químicos o ambientales, por ejemplo es muy habitual en piezas de barcos, para protegerlas del ataque salino.

Las poliamidas sintéticas de mayor aplicación son las poliamidas 6; 66; 610; 11; 12; 7; y 9; además de copolímeros como 66/610 y 66/610/6.

Las poliamidas aromáticas o también llamadas *poliaramidas* se caracterizan por poseer una elevada rigidez esquelética debido a los grupos aromáticos que contienen. Los puntos de fusión de estas poliamidas se encuentran frecuentemente por encima de la temperatura de descomposición y son menos inflamables que las poliamidas alifáticas.

Las poliaramidas destacan como fibras de alto módulo; son las únicas entre las de altas prestaciones que han sido capaces de incidir substancialmente en el mercado de las fibras técnicas. La primera fibra de poliaramida fue el "Kevlar" de DuPont, que se comercializó en 1972. Esta fibra se caracteriza por tener alta tenacidad, alto módulo, baja elongación, baja densidad, termorresistencia, resistencia química y resistencia a la corrosión, aislamiento eléctrico, alta porosidad y la no formación de partículas fibrosas durante su uso.

1.4 Objetivos

Esta Tesis Doctoral se enmarca dentro de la línea de investigación que viene desarrollándose en el *Departamento de Ingeniería Química, de la Universidad Politécnica de Cataluña*, sobre el conocimiento de las similitudes e interrelaciones de las estructuras cristalinas de polipéptidos y poliamidas sintéticas. Concretamente, la Tesis es parte del proyecto *BRITE/EURAM BE-3106-89*, financiado por la *Unión Europea* y cuyo título es:

"Síntesis, caracterización y desarrollo de nuevas poliamidas biocompatibles con biodegradabilidad controlada".

El objetivo de este proyecto era obtener una serie de poliamidas, de forma escalada y por procedimientos de síntesis sencillos, que tuvieran buenas propiedades biológicas, para su posible uso como suturas biodegradables. Esta Tesis Doctoral aborda principalmente el estudio estructural de algunas de las poliamidas preparadas para el proyecto.

Se trata de proseguir con el estudio de la estructura de nuevos polímeros cuya constitución química está modificada con respecto a la de los polímeros comerciales existentes, e investigar si las modificaciones introducidas confieren al mismo características de biocompatibilidad y biodegradabilidad ya que, como se sabe, los polímeros comercialmente disponibles son normalmente biocompatibles.

En este sentido, por su similitud con los polipéptidos, se completará el estudio de nylons que dispongan de un metileno aislado entre dos grupos amida. En esta línea se han estudiado en el laboratorio los nylons $n,3$ (Prieto, 1991) y $2/n$ secuenciales (Bella *et al.*, 1994). Mientras que en este trabajo se abordará el estudio de una familia de características similares: los *nylons 1,n*, polímeros que poseen además un enlace retropeptídico.

Los antecedentes de biocompatibilidad y biodegradabilidad de algunos nylons de la serie $2/n$, en concreto del nylon $2/6$ (Bailey *et al.*, 1976), da lugar a un segundo punto de interés que corresponde al estudio de los *nylons 2/n estadísticos*. Se trabajará con distintas proporciones de glicina, procurando que el contenido de la misma no sea demasiado elevado para que el polímero conserve sus propiedades térmicas y mecánicas. Como comonomeros se utilizarán los más usuales en el campo de los nylons: ácido 6-aminohexanoico, ácido 11-aminoundecanoico y ácido 12-aminododecanoico. Es decir, se probará con aminoácidos de diferente hidrofobicidad y distinta paridad del número de metilenos.

Las nuevas estructuras postuladas en el laboratorio, tipo Poliglicina II, en los *nylons n* con inclusión secuencial de glicina (*nylons 2/n*), lleva a plantear un tercer

objetivo, que corresponde al estudio del efecto de la introducción de glicina en un *nylon m,n*. Esta inserción se realizará de forma secuencial -en vistas a estudios estructurales-, y al azar -en vistas a estudios de biocompatibilidad y biodegradabilidad. En concreto se estudiarán los *nylons 6,10* y *12,10* que, en principio, es de esperar que sean polímeros con un punto de fusión aceptable en relación a su posterior procesabilidad.

En general, para cumplir los objetivos propuestos, el trabajo comprenderá las siguientes fases:

- i. Síntesis.
- ii. Caracterización por métodos fisico-químicos (viscosimetría, resonancia magnética nuclear, espectroscopía de infrarrojo y análisis térmico).
- iii. Caracterización por métodos estructurales (difracción de rayos X, microscopía electrónica y simulación teórica).

1.5 Estructura de poliamidas

En este apartado se describirán las características de las estructuras de las poliamidas sintéticas alifáticas, ya que las proteínas y las poliamidas aromáticas se alejan del marco en el que se desarrolla el presente trabajo.

1.5.1 Polipéptidos

Los polipéptidos presentan una gran variabilidad estructural. La proximidad entre los grupos amida polares y la influencia de los distintos grupos laterales R son los principales responsables. El resultado es la existencia de distintas conformaciones helicoidales más o menos extendidas, que pueden ser simples o dobles, y que difieren básicamente en el número de residuos por vuelta, la altura de residuo y el tipo de puentes de hidrógeno (intramoleculares o intermoleculares) (Fraser y Mac Rae, 1973; Lotz y Brack, 1979).

La conformación de la cadena peptídica está definida por las distancias y ángulos de enlace, y los ángulos de torsión: φ_i , ψ_i y ω_i (Figura [1.1]).

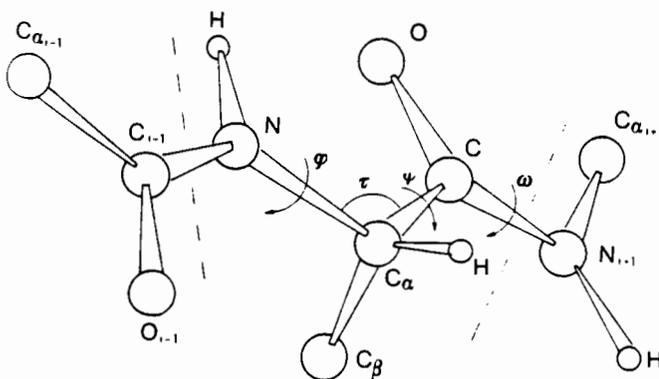


Figura [1.1]. Ángulos de torsión que definen la conformación de las cadenas polipeptídicas. Normalmente, en las estructuras conocidas el ángulo de torsión ω asume un valor de 180° , lo que quiere decir que el O del carbonilo y el H del nitrógeno están en conformación trans planar.

La repetición de los valores de los ángulos conformacionales en cada residuo de la cadena polimérica da lugar a estructuras regulares que pueden definirse indicando el número de residuos por vuelta (n) y la altura del residuo (h). El número de residuos por vuelta puede no ser entero, en cuyo caso la conformación helicoidal se describe indicando el número de vueltas necesario para contener un número entero de residuos. Así, una hélice de 3.6 residuos por vuelta se designa como una hélice 18/5, es decir, 18 residuos en 5 vueltas. Además, estas hélices pueden diferenciarse de acuerdo con el tipo de puentes de hidrógeno: intermoleculares o intramoleculares.

En la Figura [1.2] se muestra la variación de los parámetros de la hélice con los ángulos de torsión ϕ_i y ψ_i y en la Tabla [1.1] se resumen las características de las principales estructuras observadas.

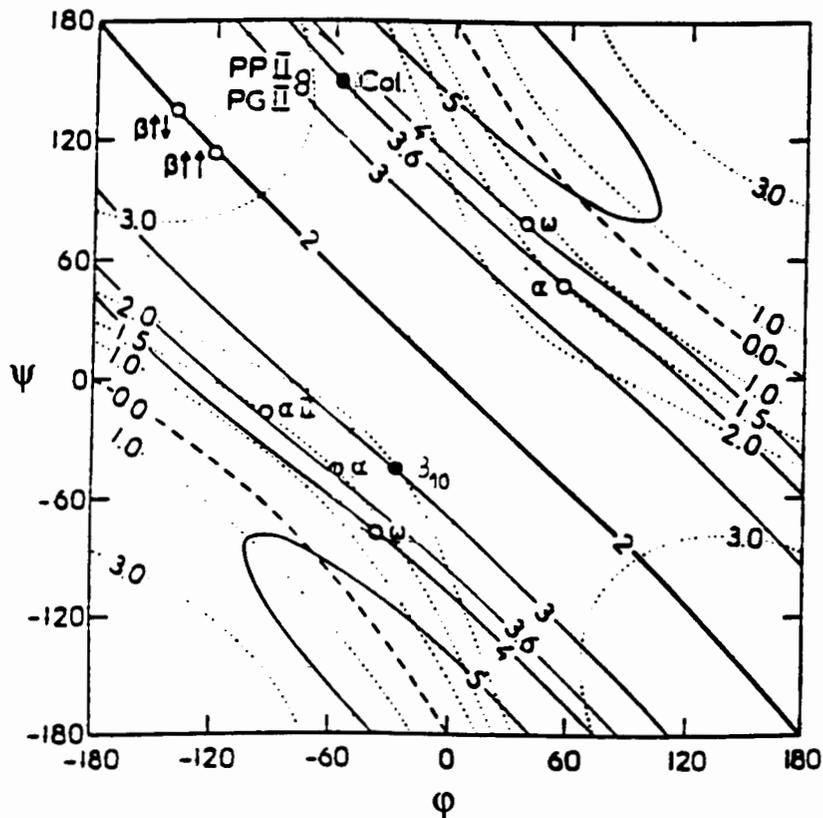


Figura [1.2]. Variación de los parámetros de hélice en cadenas polipeptídicas con los ángulos de torsión ϕ y ψ . Las líneas continuas corresponden al número de residuos por vuelta y las punteadas a la altura del residuo. Algunas estructuras están representadas en el diagrama: poliprolina II (PPII), poliglicina II (PGII), colágeno (Col), hélices α y ω , y lámina plegada paralela y antiparalela (β).

Tabla [1.1]. Principales conformaciones de los Polipéptidos en estado sólido.

Estructura	Empaquet. habitual	Puentes de H	Residuos por vuelta	Altura de residuo (Å)	$\phi(^{\circ})$	$\psi(^{\circ})$	Referencia
β -plegada	Monoclínico	Intermolecular	2.0	3.45	-139	+135	Arnott <i>et al.</i> (1967)
β -rizada	Monoclínico	Intermolecular	2.0	3.52	-150	+146.5	Lotz (1974)
Hélice α	Hexagonal	Intramolecular	3.6	1.49	-57	-47	Arnott y Dover (1967)
Forma PG II	Hexagonal	Intermolecular	3.0	3.10	+78	-146	Crick y Rich (1955)
Hélice ω	Tetragonal	Intramolecular	4.0	1.32	-38	-78	Bradbury <i>et al.</i> (1962)

NOTAS:

- Para todas las conformaciones, $\omega = 180^{\circ}$
- Los ángulos ϕ y ψ mostrados para las estructuras α , ω y PG II corresponden a hélices dextrógiras. El cambio de signo de los mismos da lugar a hélices levógiras.

1.5.1.1 Puentes de hidrógeno intramoleculares

La conformación estabilizada por puentes de hidrógeno intramoleculares más importante es la hélice α . Estructuras diferentes se producen cuando los polímeros disponen de grupos aromáticos como grupos laterales (hélice ω), o en polipéptidos sindiotácticos (hélices α_{DL} , π_{DL} ó $\pi\pi_{DL}$).

En la hélice α (Pauling *et al.*, 1951; Pauling y Corey, 1951a), los puentes de hidrógeno se establecen a lo largo del eje de la hélice (entre el NH de un aminoácido y el CO del tercer aminoácido que se encuentra tras él), uniendo las vueltas contiguas y contribuyendo a la estabilidad del sistema (Figura [1.3]). Como resultado se tienen moléculas de contorno aproximadamente cilíndrico, con los grupos laterales proyectados hacia el exterior de la hélice, que tienden a empaquetarse hexagonalmente. En general se asume que las hélices más estables son las dextrógiras si están formadas por L aminoácidos y las levógiras si están formadas por D aminoácidos.

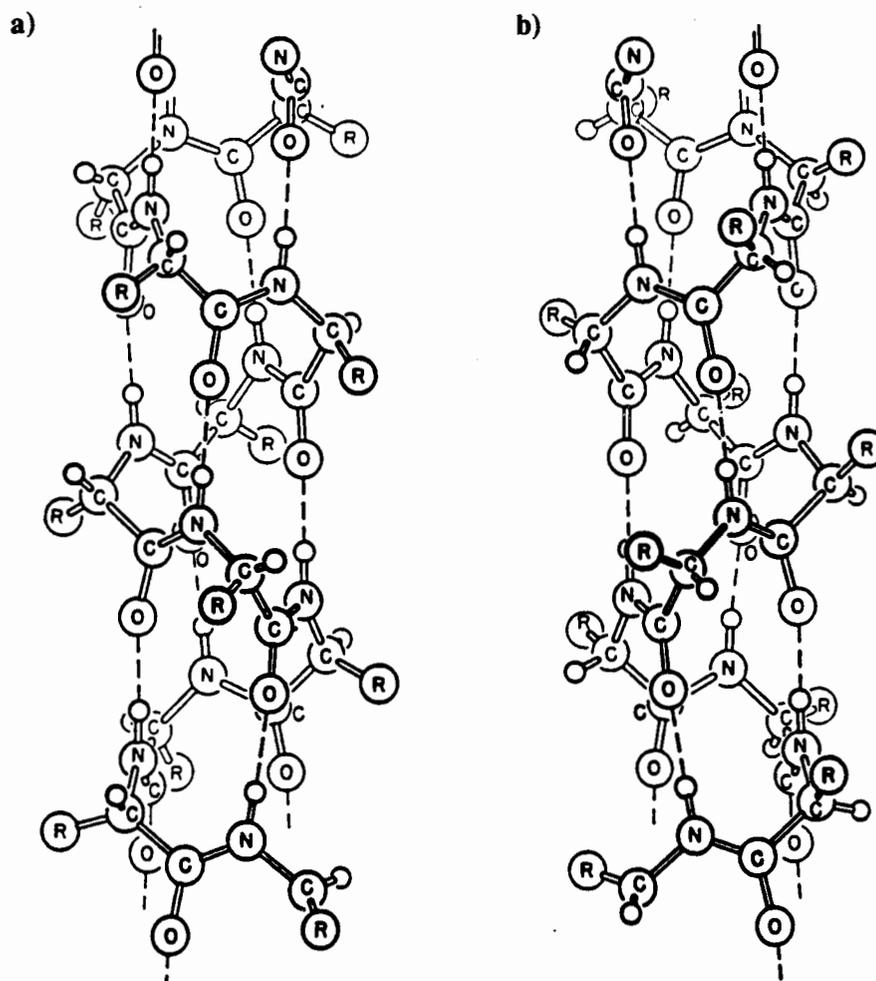


Figura [1.3]. Dos formas posibles para la hélice α de los polipéptidos. (a) hélice α levógira y (b) hélice α dextrógira. En ambos casos los aminoácidos tienen la configuración L.

En algunos polímeros con grupos aromáticos en los grupos laterales, como el Poli(β ,L-aspartato de benzilo) o Poli(β ,L-aspartato de p-clorobenzilo) (Bradbury *et al.*, 1962; Takeda *et al.*, 1970), se produce una distorsión de la hélice α que permite una mayor interacción entre los sustituyentes. De esta forma se obtienen hélices con cuatro residuos por vuelta y que se empaquetan tetragonalmente. Se denominan hélices ω (Figura [1.4]) y pueden existir tanto en forma levógira como dextrógira.

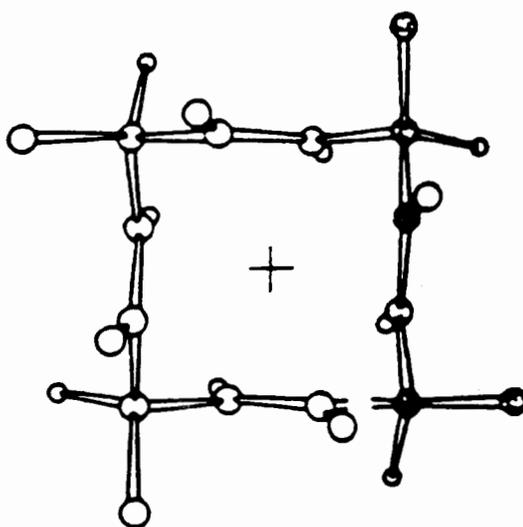


Figura [1.4]. Proyección de una hélice α según el eje helicoidal cuaternario (Lotz y Brack, 1979).

En polipéptidos sindiotácticos, como el Poli(γ ,D-L-glutamato de benzilo) se presenta una estructura denominada α_{DL} , ligeramente diferente a la hélice α . También, dependiendo de las condiciones de preparación, se han observado otras estructuras en hélice simple: π_{DL}^n , o en hélice doble: $\pi\pi_{DL}^n$, donde n es el número de residuos de una cadena en una vuelta. La característica más importante de estas familias de hélices es que los residuos alternadamente adoptan conformaciones diferentes, orientándose los grupos carbonilo en direcciones opuestas respecto al eje de la hélice (Figura [1.5]). En el caso de las hélices dobles estas parecen estar más estabilizadas con una disposición antiparalela de las hélices constituyentes. Según las condiciones de preparación se han observado las estructuras $\pi_{DL}^{4.4}$, $\pi\pi_{DL}^{5.6}$, $\pi\pi_{DL}^{7.2}$, $\pi\pi_{DL}^{9.0}$ y $\pi\pi_{DL}^{10.8}$ en el Poli (γ ,D-L-glutamato de benzilo) (Tabla [1.2]), (Heitz *et al.*, 1975; Lotz *et al.*, 1976).

Tabla [1.2]. Parámetros conformacionales y estructurales del Poli (γ ,D-L-glutamato de benzilo).

Estructura	Residuos/ vuelta	Altura de residuo (Å)	φ_L	ψ_L	φ_D	ψ_D
α_{DL}	1.82	2.97	-60.0	-46.1	-44.4	-60.0
$\pi_{DL}^{4.4}$	2.2	2.33	-84.0	+100.8	+136.1	-95.0
$\pi\pi_{DL}^{5.6}$	2.8	4.02	-116.0	+141.1	+159.2	-102.9
$\pi\pi_{DL}^{7.2}$	3.6	2.95	-126.6	+145.7	+153.9	-125.6
$\pi\pi_{DL}^{9.0}$	4.5	2.26	-138.0	+149.0	+156.9	-139.0
$\pi\pi_{DL}^{10.8}$	5.4	1.87	-145.1	+153.6	+158.9	-147.4

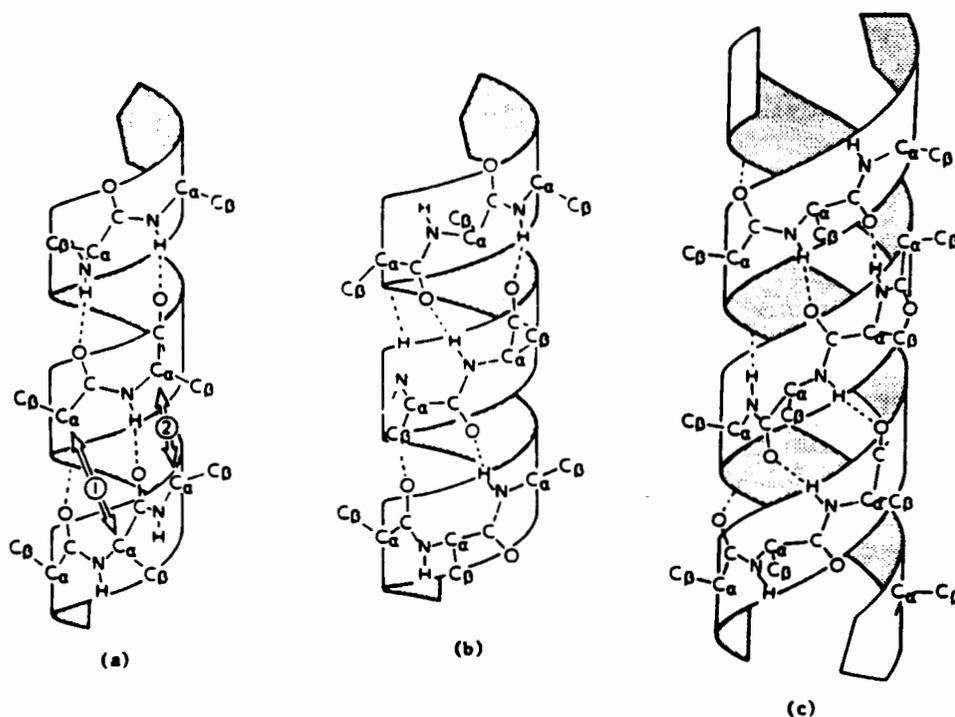


Figura [1.5]. Diferentes estructuras helicoidales en polipéptidos sindiotácticos.
a) α_{DL} , b) π_{DL} y c) $\pi\pi_{DL}$ (Colonna-Cesari *et al.*, 1977)

1.5.1.2 Puentes de hidrógeno intermoleculares

Dentro de las conformaciones estabilizadas por puentes de hidrógeno intermoleculares se encuentran, principalmente, las estructuras β y la estructura tipo Poliglicina II.

En las estructuras β las cadenas poliméricas adoptan una forma más estirada y están unidas por puentes de hidrógeno dando lugar a la formación de láminas u hojas que se empaquetan por fuerzas de Van der Waals. Los grupos laterales se sitúan por encima y por debajo de las láminas (Figura [1.6]), dependiendo la separación entre las mismas de la voluminosidad de los grupos laterales. La separación entre cadenas contiguas en una misma lámina está determinada por la formación de puentes de hidrógeno (4.7-4.8 Å).

La estructura β -sheet o en láminas plegadas fue propuesta por Pauling y Corey (1951b). En esta estructura las cadenas están ligeramente plegadas y se disponen de forma antiparalela dentro de la lámina. Las cadenas adoptan una conformación con una simetría helicoidal binaria (2_1). Con una disposición antiparalela se consigue una mayor alineación de los puentes de hidrógeno que en el caso de una disposición paralela. De hecho, todos los polipéptidos que cristalizan en láminas β lo hacen de forma antiparalela, mientras que las formas paralelas, también propuestas por Pauling, sólo han sido observadas en algunas regiones de ciertas proteínas globulares (Schellmann *et al.*, 1964).

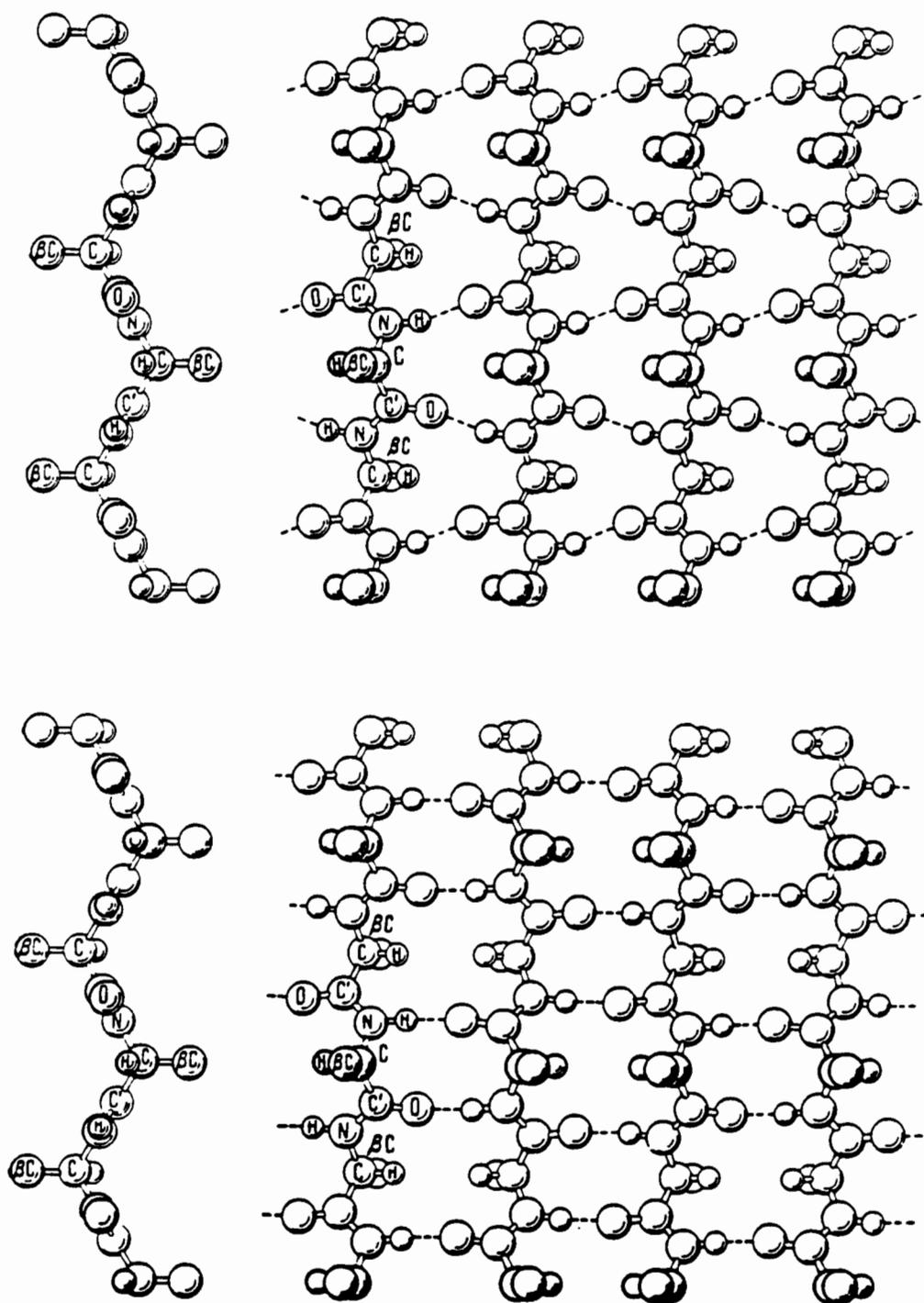


Figura [1.6]. Estructura en láminas plegadas de los polipéptidos. Arriba se muestra el empaquetamiento paralelo y abajo el antiparalelo. La cadena aislada muestra como los grupos laterales (representados por βc) salen hacia fuera de las láminas como consecuencia del plegamiento.

La estructura *rippled sheet* o en láminas rizadas (Pauling y Corey, 1953) es una estructura con láminas plegadas de forma más suave. Consiste en una alternancia de cadenas constituidas por D o L aminoácidos dentro de una misma lámina. Las cadenas adoptan también una conformación con simetría helicoidal 2_1 (aunque más estirada que en la β -plegada), y se disponen también en antiparalelo. Esta estructura sólo se ha observado en la poliglicina (polipéptido que no tiene diferenciación enantiomérica). Se la conoce como *forma I* de la poliglicina (Figura [1.7]) (Lotz, 1974).

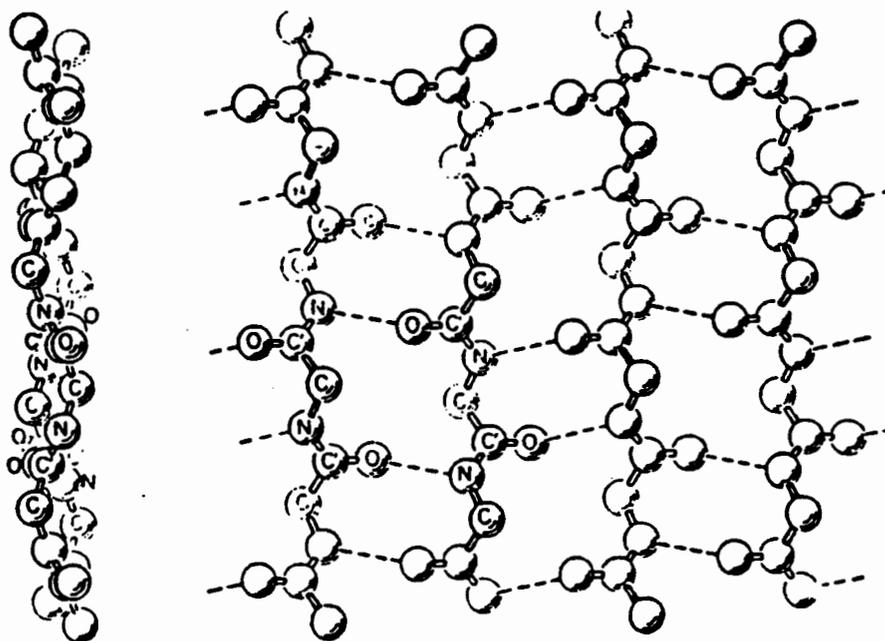


Figura [1.7]. Estructura β en láminas rizadas de la poliglicina I, disposición antiparalela de las cadenas moleculares.

En la poliglicina también se da otro tipo de estructura, denominada usualmente *forma II* (Figura [1.8]) (Crick y Rich, 1955). En el modelo propuesto inicialmente todas las cadenas presentan una simetría helicoidal 3_1 y se empaquetan de forma paralela, enlazándose cada una con las seis vecinas a través de una red de puentes de hidrógeno, en tres direcciones perpendiculares al eje de la cadena, formando entre sí un ángulo de 120° .

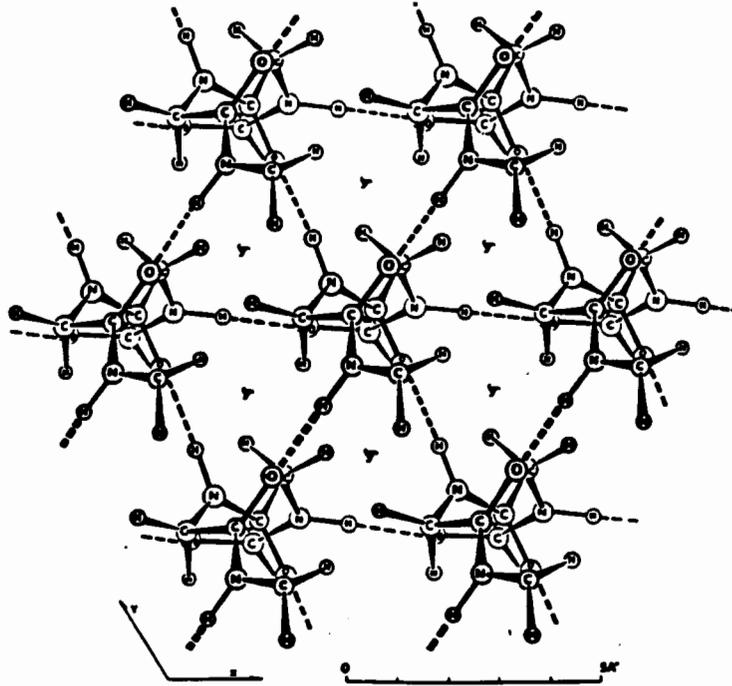


Figura [1.8]. Disposición de las cadenas en la estructura cristalina de la poliglicina II (Crick *et al.*, 1955).

Al no tener la molécula carbonos asimétricos se puede esperar que la estructura donde todas las moléculas tengan conformación helicoidal 3_2 , sea igualmente probable, aunque dentro de un mismo cristal todas las cadenas tendrán que tener el mismo sentido de rotación, para que puedan formarse todos los puentes de hidrógeno (Ramachandran *et al.*, 1967). El modelo permite, sin embargo, que en cualquier punto de la red hexagonal la cadena molecular pueda disponerse según una orientación paralela o antiparalela. Estas dos orientaciones pueden mezclarse al azar sin romper la red, es decir, cada cadena formará todos los enlaces de hidrógeno con sus seis vecinas más cercanas independientemente de su orientación. Dicho empaquetamiento es el más acorde con el plegamiento de las cadenas que se observa en los monocristales de Poliglicina, en la forma II (Padden y Keith, 1965).

Este tipo de estructura estrictamente sólo puede darse en la poliglicina, ya que otro polipéptido no podría acomodar el grupo lateral en un retículo hexagonal de 4.79 Å, a no ser que algunos puentes de hidrógeno dejaran de formarse.

La estructura tipo Poliglicina II merece especial atención por ser la base estructural del colágeno. En esencia, las moléculas de colágeno están formadas por tres cadenas polipeptídicas de secuencia $[-\text{Gly-X-Y}]_n$ donde X e Y pueden ser cualquier aminoácido (normalmente, sin embargo, en la posición X está la prolina y en la Y la hidroxiprolina). En las estructuras propuestas (Ramachandran y Kartha, 1955; Rich y Crick, 1955) hay tres hélices levógiras enlazadas por puentes de hidrógeno dando lugar a una hélice dextrógira, en la cual las glicinas están situadas cerca del eje de la misma haciendo posible la interacción entre cadenas vecinas debido a la ausencia de cadenas laterales voluminosas.

Estructuras similares a la de la *forma II* se han encontrado en algunos polipéptidos secuenciales. Por ejemplo, la estructura cristalina de la Poli(L-alanil-glicil-glicina) puede interpretarse en base a una conformación helicoidal pseudo-3₁, donde las hélices se empaquetan en un residuo monoclinico (Lotz y Keith, 1971). Las hélices se disponen de forma que los grupos metilo se dirigen hacia fuera, con lo que una de las distancias de separación entre las hélices es significativamente más larga. Los autores proponen que las moléculas de agua pueden hacer de intermediarias en la formación de puentes de hidrógeno en esta dirección.

1.5.2 Nylons

Los nylons alifáticos presentan estructuras diferentes dependiendo del número de metilenos y de la paridad de m y n . Nos encontramos con estructuras laminares, caracterizadas por cadenas totalmente extendidas - α y β -, y estructuras de cadenas parcialmente extendidas - γ -. La conformación de la cadena está definida por distancias de enlace, ángulos de enlace y ángulos de torsión, en analogía con los polipéptidos. En la Figura [1.9] están definidas las cadenas de un *nylon n* y de un *nylon m,n*. En la Tabla [1.3] se resumen las estructuras de los diferentes nylons.

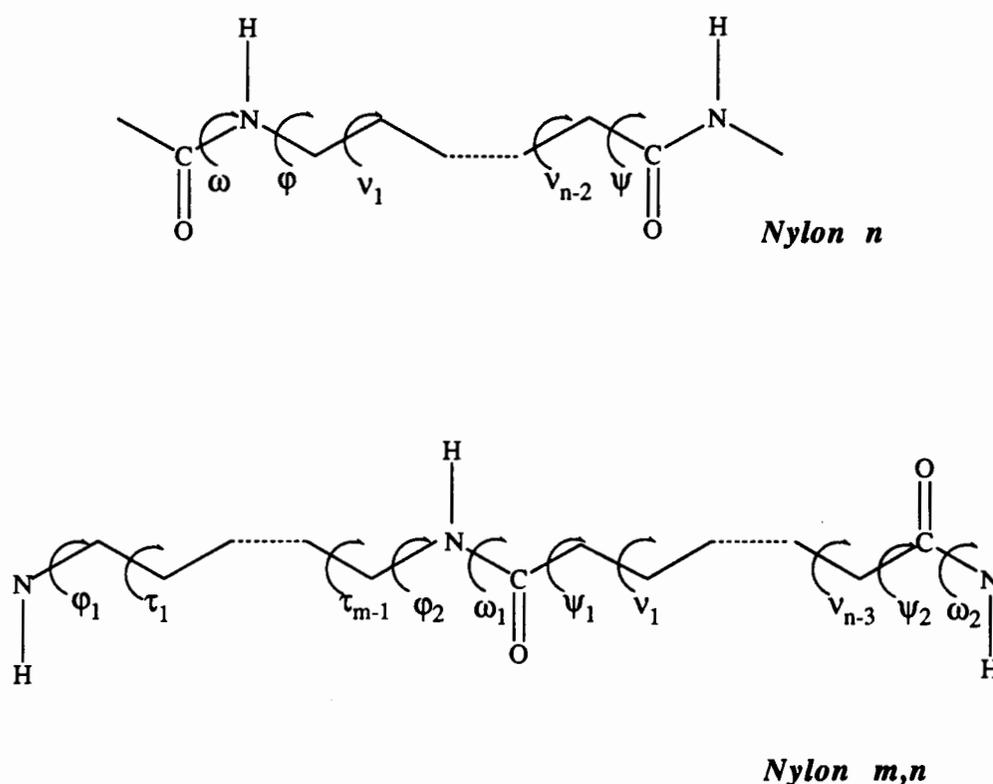


Figura [1.9]. Ángulos conformacionales que definen la cadena molecular en un *nylon n* y en un *nylon m,n*.

Tabla [1.3]. Estructuras de nylons.

Estructuras	Tipo de Nylon	Referencia
α y β	Nylons n ($n = 4$ y $n = 6$)	Vogelsong (1963) ; Fredericks <i>et al.</i> (1966) Holmes <i>et al.</i> (1955); Ziabicki (1959)
α y β	Nylons n ($n = \text{impar}$)	Hasegawa <i>et al.</i> (1974)
α y β	Nylons m, n (m y $n = \text{par}$)	Bunn y Garner (1947)
γ	Nylons n ($n = \text{par}$ y $n \geq 6$)	Cojazzi <i>et al.</i> (1973a)
γ	Nylons m, n ($m = \text{par}$ y $n = \text{impar}$)	Kinoshita (1959a)
γ	Nylons m, n ($m = \text{impar}$ y $n = \text{par}$)	Kinoshita (1959a)
γ	Nylons m, n (m y $n = \text{impar}$)	Kinoshita (1959b)

1.5.2.1 Estructuras α y β

Las formas α y β son características de los *nylons* m, n con m y n par, *nylons* n con n par (sólo para $n = 4$ y 6) y *nylons* n con n impar.

La diferencia entre estos nylons radica en la simetría de las moléculas. Así, los *nylons* m, n se caracterizan por tener centros de simetría a lo largo de la molécula, con lo cual ésta no tiene direccionalidad. En cambio, los *nylons* n no son centrosimétricos y se caracterizan precisamente por su direccionalidad, pudiéndose distinguir un empaquetamiento entre cadenas paralelas o antiparalelas.

Mediante estudios de espectroscopía de IR de series de poliamidas se ha demostrado que los puentes de hidrógeno se forman completamente (Kinoshita, 1959a). Esto implica que en el caso de los *nylons* m,n (m y n par) el establecimiento de los puentes de hidrógeno entre las cadenas que componen la hoja requiere que cada molécula se halle desplazada en un átomo según la dirección de la cadena (Figura [1.10]). En los *nylons* n con n par, la disposición de las cadenas enlazadas por puentes de hidrógeno ha de ser antiparalela (Figura [1.11]), ya que si las moléculas adyacentes se dispusiesen de forma paralela sólo se formarían la mitad de los puentes, no siendo necesario un desplazamiento sucesivo de las cadenas a lo largo de su eje. En los *nylons* n con n impar se pueden formar todos los puentes de hidrógeno, tanto en una disposición paralela con un desplazamiento sucesivo de un átomo de carbono, como en una disposición antiparalela similar a los *nylons* pares (Figura [1.12]).

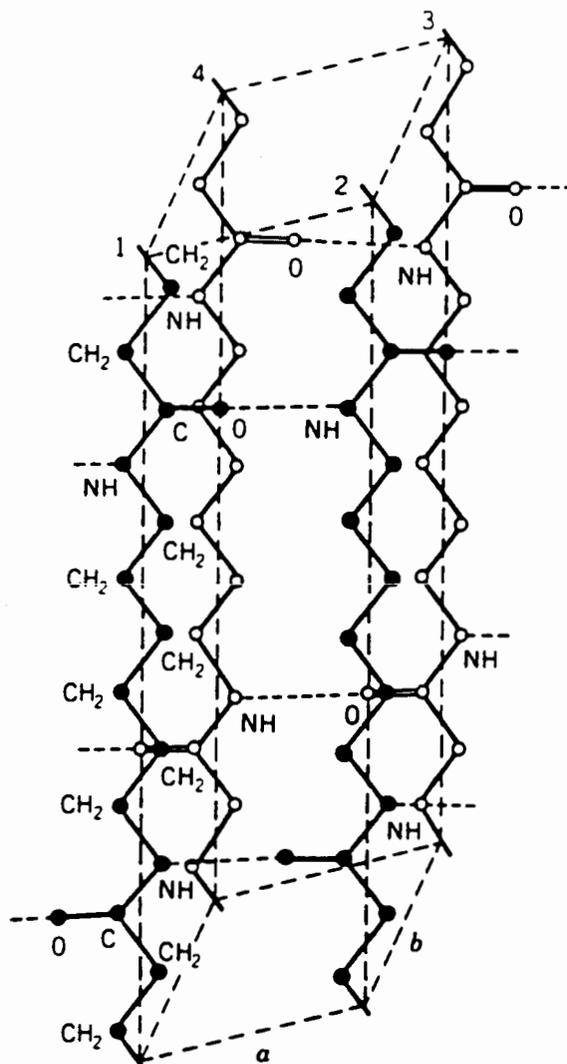


Figura [1.10]. Estructura cristalina del *nylon* 66 en su forma α . Las líneas discontinuas indican los puentes de hidrógeno.

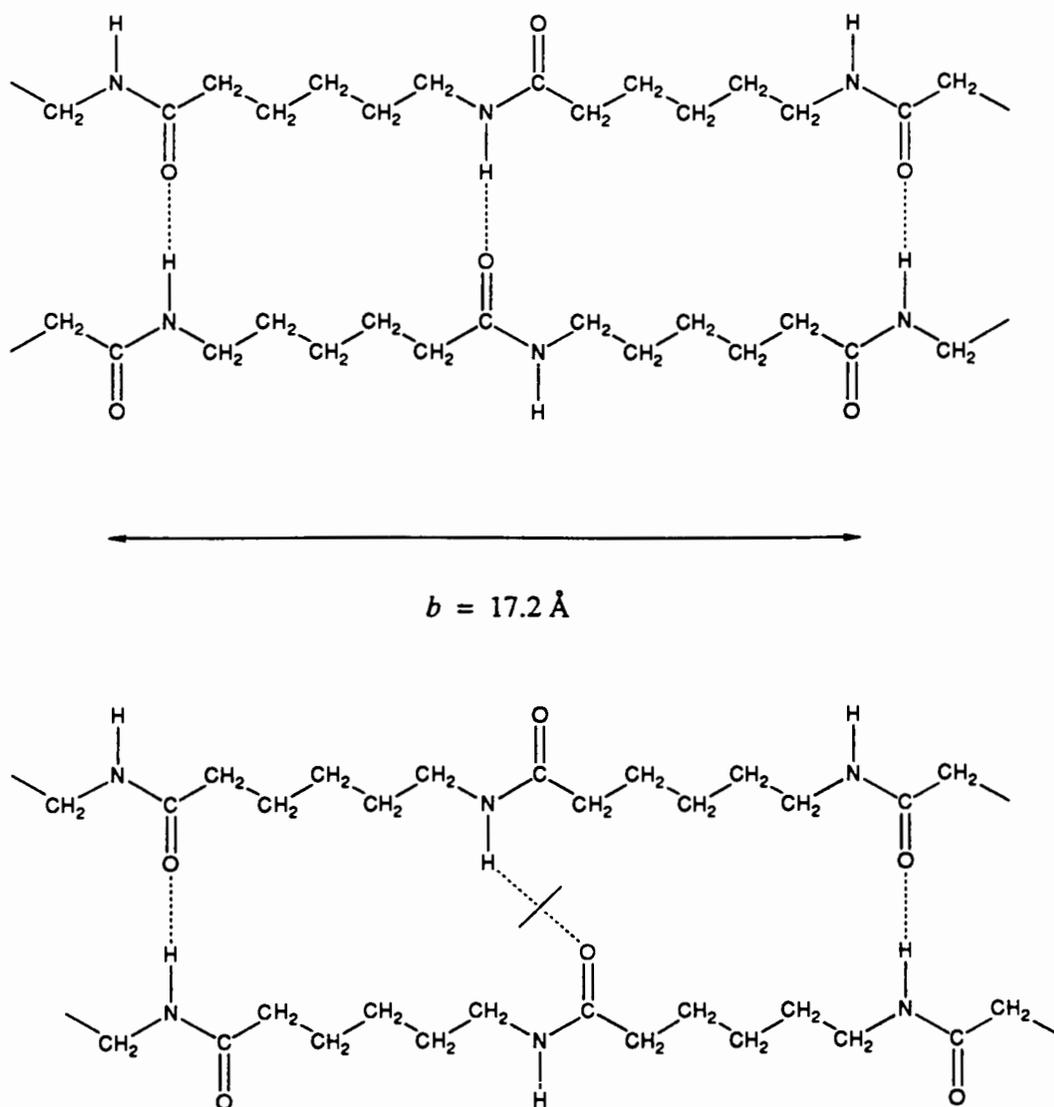


Figura [1.11]. Representación esquemática de la formación de puentes de hidrógeno en la forma α del nylon 6, para el caso de cadenas en antiparalelo (arriba) y de cadenas en paralelo (abajo). Los puentes de hidrógeno sólo se forman con una geometría correcta en el caso antiparalelo.

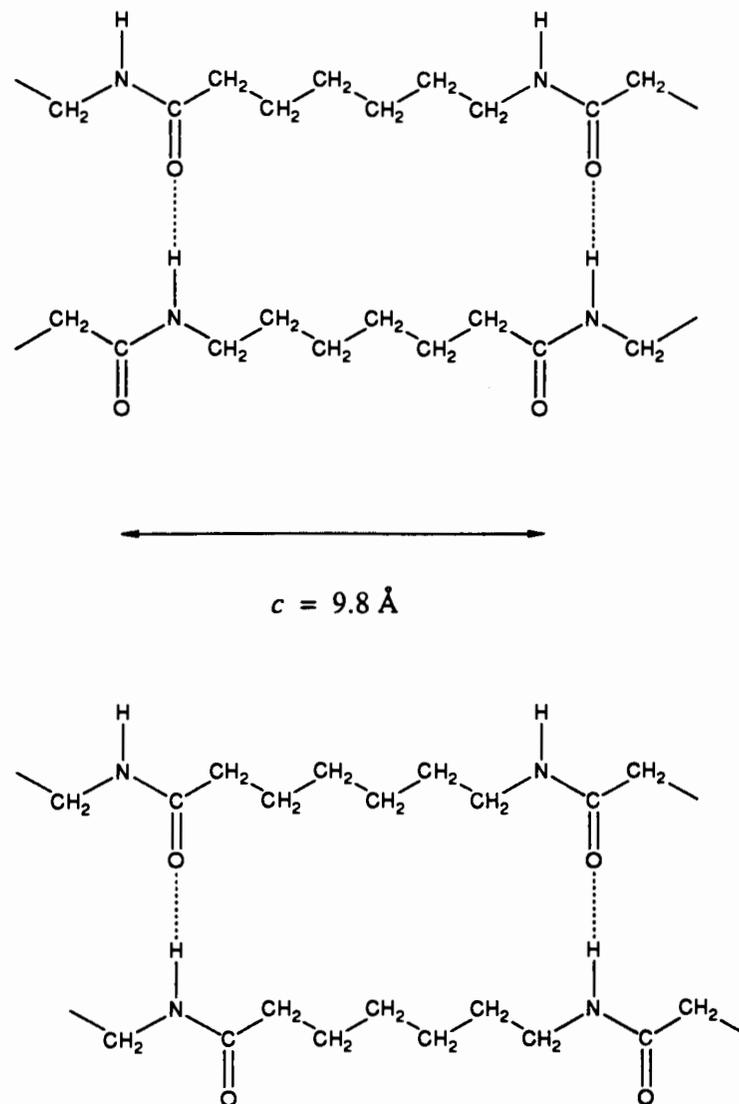


Figura [1.12]. Representación esquemática de la formación de puentes de hidrógeno, en la estructura cristalina del nylon 7. La geometría es correcta tanto en el caso de cadenas en antiparalelo (arriba) como en paralelo (abajo).

En la *estructura* α las cadenas se unen lateralmente mediante la formación de puentes de hidrógeno, dando lugar a una lámina que, a diferencia de las hojas β de los polipéptidos, no está plegada en la dirección de la cadena. Todos los ángulos de torsión (ω , φ , ψ , θ) que definen la conformación molecular son de 180° y, por lo tanto, las cadenas se encuentran totalmente extendidas. La distancia de separación entre las cadenas enlazadas por puentes de hidrógeno es de aproximadamente 4.79 \AA .

Cada lámina se desliza respecto la anterior en una distancia cercana a la mitad de la distancia de puente de hidrógeno en la dirección de éste y, a su vez las láminas tienen un segundo desplazamiento según la dirección de la cadena en una distancia equivalente a tres átomos de la cadena principal, con el fin de acomodar de forma óptima los grupos amida. Este último desplazamiento puede ser sucesivo o recuperativo, dando lugar respectivamente a las dos estructuras distintas α y β (Figura [1.13]).

Estos dos desplazamientos permiten una mayor compacidad y una mejor distribución de los momentos dipolares. Como consecuencia de ambos desplazamientos las moléculas de hojas adyacentes están más próximas (4.03 \AA) que las moléculas enlazadas por puentes de hidrógeno dentro de una misma hoja (4.79 \AA).

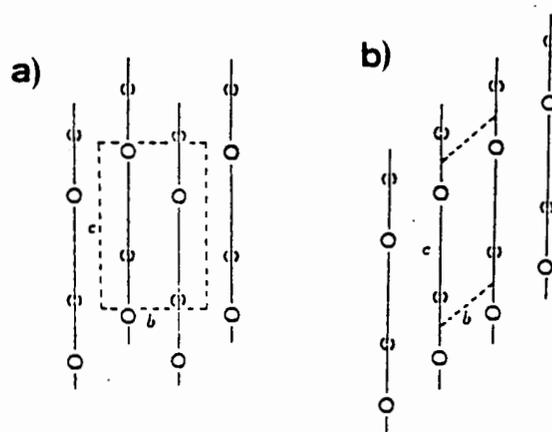


Figura [1.13]. Empaquetamiento laminar correspondiente a las dos formas cristalográficas que se obtienen según el desplazamiento recuperativo (a), o no recuperativo (b), de las láminas en la dirección de la cadena molecular.

1.5.2.2 Estructura γ

La estructura γ (Clark, 1973), se caracteriza porque la cadena ya no está totalmente extendida debido a que los ángulos de torsión adyacentes al grupo amida (ϕ y ψ) dejan de ser trans, y adoptan valores cercanos a $\pm 120^\circ$. Este hecho repercute en dos características básicas: i) la longitud de la cadena, según el eje de la molécula, experimenta un acortamiento de 0.35 Å por cada grupo amida, con respecto a la longitud que tendría la misma unidad si se encontrase en una conformación totalmente extendida, y ii) los grupos amida giran alrededor de 60° , respecto al plano definido por los átomos de carbono metilénicos. Como consecuencia se modifica la dirección en la que se establecen los puentes de hidrógeno y se obtiene un empaquetamiento pseudo hexagonal, al igualarse las distancias entre cadenas vecinas, ya sea en una misma lámina o en láminas contiguas. En la Figura [1.14] se puede observar la forma γ del nylon 6.

Como ya se indicó en el esquema de clasificación (apartado [1.2]), dentro del grupo de los nylons existen casos particulares. Así, cuando hay un metileno aislado entre dos grupos amida la fuerte interacción entre los mismos puede estabilizar conformaciones diferentes. En un *nylon n* éste es el caso del nylon 2 o poliglicina, para la cual existen dos tipos de estructura: la forma I, que corresponde a la estructura β -rizada y la forma II.

En los *nylons m,n* pueden considerarse dos situaciones similares: a) *nylons n,3* (copolímeros de α - ω -diaminoalcanos con ácido malónico) y b) *nylons 1,n* (copolímeros de diaminometano con ácidos α - ω -dicarboxílicos). Se diferencian en la orientación de los grupos amida y tienen en común la presencia de un metileno aislado entre dos grupos amida. Precisamente los ángulos dihedros de la unidad metilénica aislada son los responsables de las preferencias conformacionales de ambos tipos de nylons.

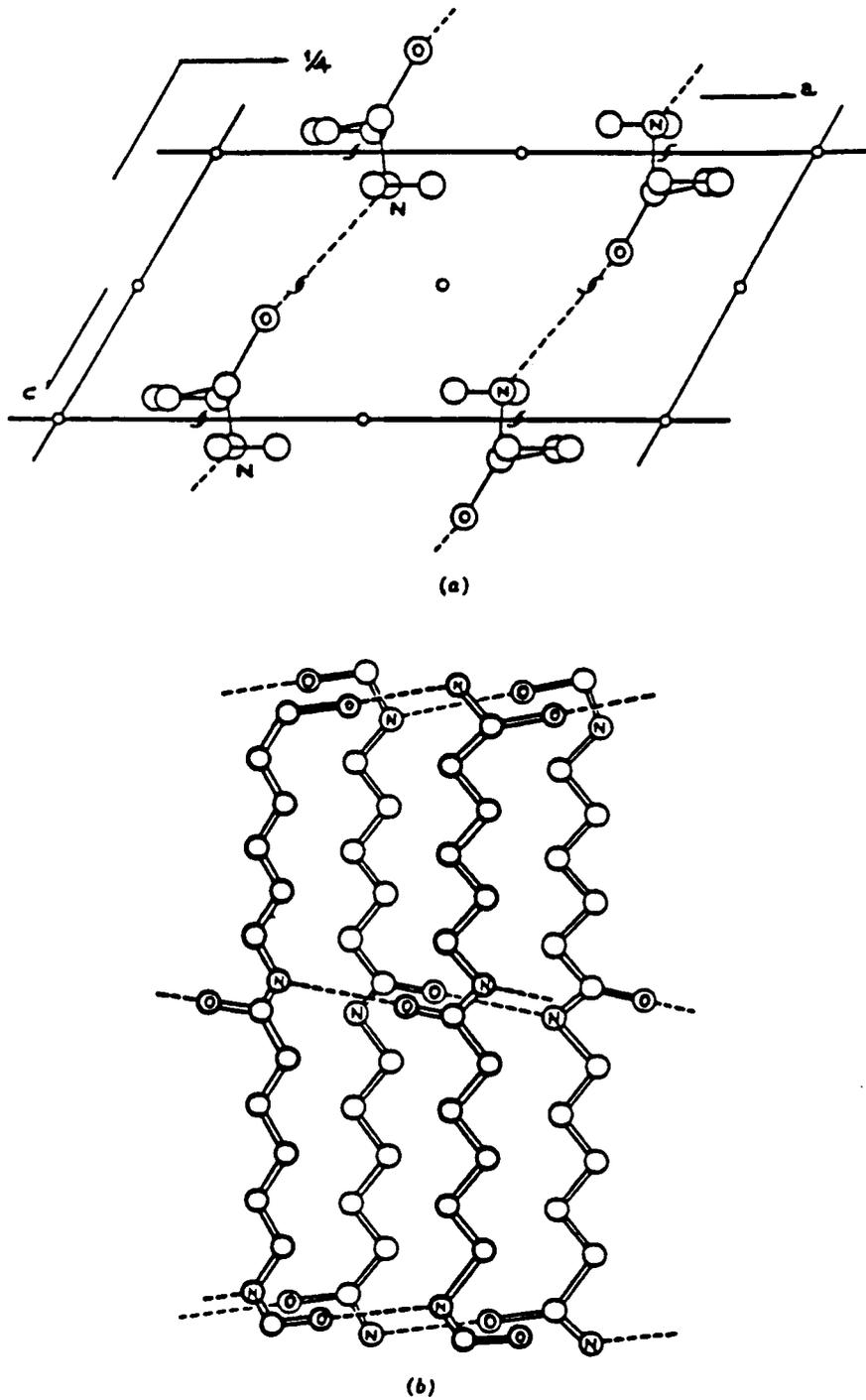


Figura [1.14]. Estructura de la forma γ del nylon 6. (a) Visión según el eje de la fibra, (b) visión aproximadamente perpendicular al eje de la fibra (Arimoto *et al.*, 1965).

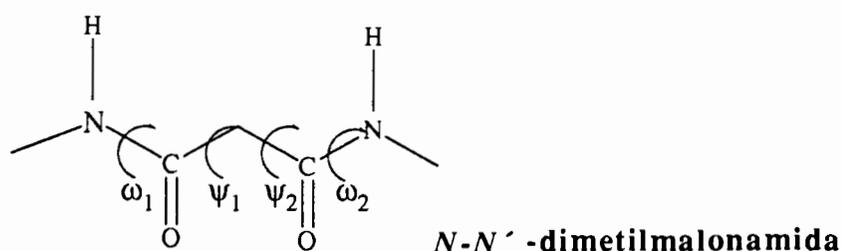


Figura [1.15]. Angulos conformacionales de la molécula modelo de los nylons $n,3$: N,N' -dimetilmalonamida (DMMA).

En el caso de los *nylons* $n,3$, los modelos obtenidos de moléculas derivadas de la malonamida (unidad básica de estos nylons) (Figura [1.15]), indican una organización pseudo-hexagonal con dos direcciones de puentes de hidrógeno y ángulos conformacionales $\psi_1 = \psi_2 = 114.8^\circ$, que originan un giro relativo de los grupos CO de aproximadamente 120° , (Tereshko *et al.*, 1993). No obstante estudios previos de los polímeros (Paiaro *et al.*, 1988) habían sugerido una conformación en la que $\psi_1 = \psi_2 = 60^\circ$, de acuerdo con el acortamiento de la unidad periódica observado experimentalmente. Esta situación implica una única dirección de puentes de hidrógeno, en una conformación donde los grupos peptídicos están orientados en direcciones opuestas. Conformaciones similares a las de Paiaro pero con los grupos peptídicos en la misma dirección se han encontrado en derivados de la malonamida substituidos en el metileno central (El-Masdouri *et al.*, 1992).

En lo referente a los *nylons* $1,n$, se han realizado estudios con una molécula modelo de estos nylons: la bis-(acetamida)metano (BAAM) (Figura [1.16]). Mediante mecánica molecular (Stern *et al.*, 1983a) se localizaron dos conformaciones equivalentes

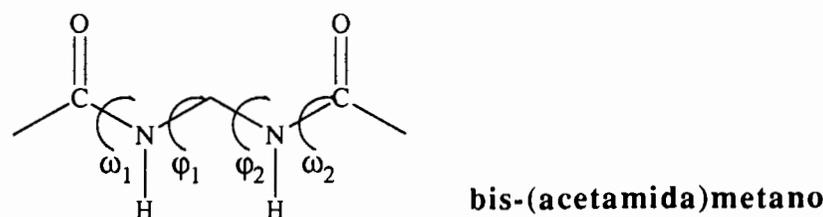


Figura [1.16]. Angulos conformacionales de la molécula modelo de los nylons $1,n$: bis-(acetamida)metano (BAAM).

de baja energía, con ángulos dihedros $\varphi_1 = \varphi_2 = +80^\circ$ ó -80° . Estos ángulos conformacionales dan lugar a una única dirección de puentes de hidrógeno, donde los grupos amida apuntan según direcciones opuestas, al contrario de lo que ocurre en las formas clásicas de nylons (α y β). Estudios posteriores (Aleman, 1994) corroboran los resultados de Hagler y colaboradores (Stern *et al.*, 1993a y Stern *et al.*, 1993b).

Los polímeros de la familia estudiados hasta ahora, son los nylons 1,3 (Puiggali y Muñoz-Guerra, 1987a) y 1,4 (Puiggali *et al.*, 1987b).

Los datos aportados por el nylon 1,4 o poli(metilén succinamida) son escasos, debido a la pobreza de resultados en difracción de electrones. La morfología de los cristales, alargada, parecía apuntar a una estructura con una única dirección de puentes de hidrógeno, pero no se posee información alguna sobre la conformación de la cadena molecular.

El nylon 1,3 o poli(metilén malonamida), tiene un interés especial porque pertenece tanto a la familia de los nylons 1,n como a la de los nylons n,3 y por tanto pueden darse las dos conformaciones particulares ya indicadas para las dos familias. Esta dualidad implica también, que no pueda ser considerado como una unidad significativa tanto de una familia como de la otra. Es de resaltar como curiosidad, que el nylon 1,3 en cuanto a la composición, es equivalente a la poliglicina, excepto en lo que hace referencia a la direccionalidad de los grupos amida, que va cambiando a lo largo de la cadena (enlaces retropeptídicos).

- NH - CH₂ - CO - NH - CH₂ - CO - Poliglicina

- NH - CH₂ - NH - CO - CH₂ - CO - Nylon 1,3

Aunque no se pudieron obtener monocristales lamelares, este material cristaliza en estructuras de morfología aparentemente toroidal que difractan igual que un monocristal, dando lugar a diagramas de difracción de electrones hexagonales con un espaciado básico de 4.15 Å. Conjuntamente con los datos de difracción de rayos X de muestras en polvo se postuló un retículo hexagonal de dimensiones $a = b = 4.79$ Å y $c = 18.0$ Å (Puiggali y Muñoz-Guerra, 1987a). En base a estos resultados y al hecho de que cristales toroidales de las mismas características se encuentran al cristalizar la poliglicina en su forma II se propuso para el nylon 1,3 una conformación helicoidal 3_1 o 3_2 formando puentes de hidrógeno intermoleculares según el esquema básico de las estructuras del tipo poliglicina II, y con unos ángulos de torsión alrededor de los dos metilenos aislados (Figura [1.17]) de $\varphi_1 = \varphi_2 = -75^\circ$ y $\psi_1 = \psi_2 = +146^\circ$ (Bella y Subirana, 1992), similares a los encontrados en la PG II, produciendo un empaquetamiento hexagonal similar.

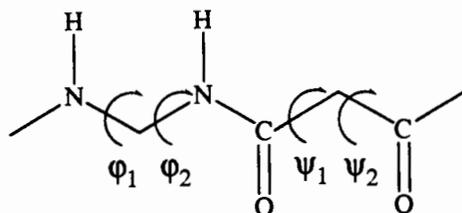


Figura [1.17]. Ángulos conformacionales característicos del nylon 1,3.

1.5.3 Nylons modificados

Se analizarán dos tipos de modificaciones correspondientes a nylons con un aminoácido en su esqueleto o con algún sustituyente lateral en la cadena principal.

1.5.3.1 Inserción de una unidad de glicina en la cadena polimérica

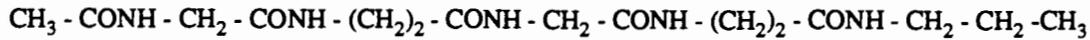
Se han estudiado copolímeros secuenciales de glicina y ω -aminoácidos variando el número de metilenos del ω -aminoácido (desde 2 hasta 11); de hecho se ha investigado el efecto que produce la inserción secuencial de glicina en un nylon n.

Se ha encontrado que estos nylons pueden cristalizar según dos estructuras distintas, minoritariamente lo hacen según una estructura laminar (normalmente en muestras cristalizadas epitaxialmente sobre sustratos orgánicos), y de una forma mayoritaria según retículos hexagonales con un empaquetamiento similar al mostrado por la poliglicina en su forma II.

Concretamente los nylons 2/3 (Puiggali *et al.*, 1986), 2/3/3 (Puiggali y Muñoz-Guerra, 1987a) y 2/5 (Puiggali *et al.*, 1992) desarrollan cristales triangulares con aristas serradas; el nylon 2/6 (Puiggali *et al.*, 1987c) cristaliza en forma de hexágonos; y los nylons 2/11 (Puiggali y Muñoz-Guerra, 1989) y 2/12 (Bermudez *et al.*, 1994) muestran estructuras irregulares con tendencia a formas hexagonales.

A pesar de esta diversidad de formas todos los cristales muestran diagramas de difracción idénticos, con simetría $6/mmm$ y un espaciado básico de 4.15 Å. Estos polímeros adoptan una conformación helicoidal similar a la forma II de la Poliglicina,

estabilizándose la estructura a través de la formación de puentes de hidrógeno intermoleculares. Para confirmar esta estructura se procedió a la síntesis y determinación de la estructura cristalina de la N-acetil-di-(glicil- β -alanil)-N-propilamida :



un oligómero modelo del nylon 2/3 (Tormo *et al.*, 1991). Con los datos estructurales básicos de esta estructura se construyeron modelos teóricos moleculares para algunos nylons 2/n.

En la Figura [1.18] se muestra la descripción del residuo genérico de un nylon 2/n con los ángulos de torsión empleados en los refinamientos.

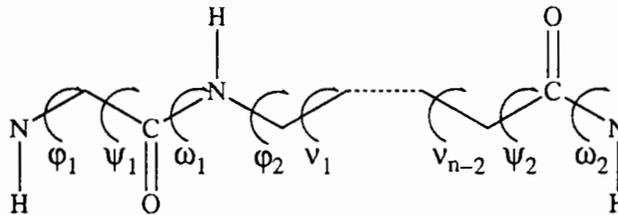


Figura [1.18]. Ángulos conformacionales que definen la cadena en un nylon 2/n.

Se encontró que la glicina introduce una rotación de 120° entre las direcciones de enlace N-H, y por tanto en la dirección en la que se establecen los puentes de hidrógeno. Los ángulos de torsión de este residuo tienen un valor alrededor de $\varphi=80^\circ$ y $\psi=-150^\circ$ para todos los nylons estudiados (Tabla [1.4]). Estos valores concuerdan con los mostrados por los residuos de glicina en la poliglicina forma II ($\varphi=76.9^\circ$ y $\psi=-145.3^\circ$).

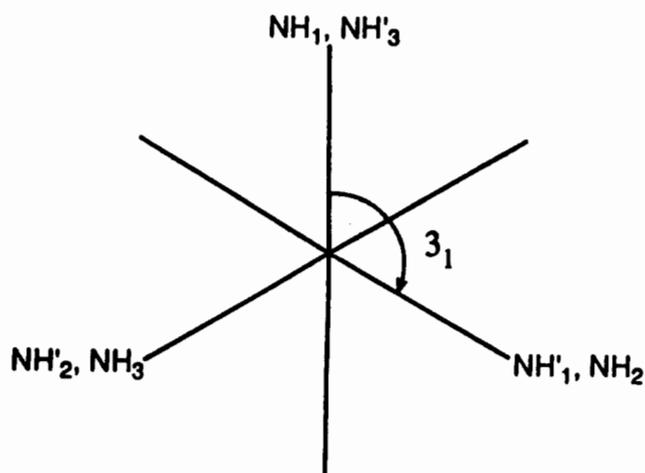
En lo que se refiere al segmento polimetilénico éste adopta una conformación $ST_{n-2}\bar{S}$. Es decir, los ángulos de torsión son de 180° , excepto los adyacentes a los grupos amida, que son de $\pm 120^\circ$. Es de resaltar que los valores de los ángulos de torsión de los metilenos adyacentes a los grupos amida adoptan unos ángulos similares a los encontrados en las formas γ de los nylons. Estos valores son necesarios en vistas a poder formar correctamente los puentes de hidrógeno entre cadenas paralelas y antiparalelas dentro de un mismo cristal. Además la difracción de electrones de simetría $6/mmm$ indica una distribución al azar de las dos orientaciones dentro de un mismo cristal. Esta conformación da lugar a que cuando n es impar los enlaces N-H separados por los segmentos polimetilénicos apuntan en la misma dirección, mientras que cuando n es par están situados a 180° . Consecuentemente las conformaciones helicoidales resultantes

presentan simetría ternaria en el primer caso o hexagonal en el segundo, totalmente de acuerdo con las morfologías mostradas por estos polímeros (Figura [1.19]). Por otra parte, al no tener la molécula átomos de carbono asimétricos los modelos pueden construirse satisfactoriamente tanto con hélices levógiras como dextrógiras, sin embargo, el sentido de la hélice ha de ser el mismo dentro de un microcristal con el fin de que puedan formarse todos los puentes de hidrógeno.

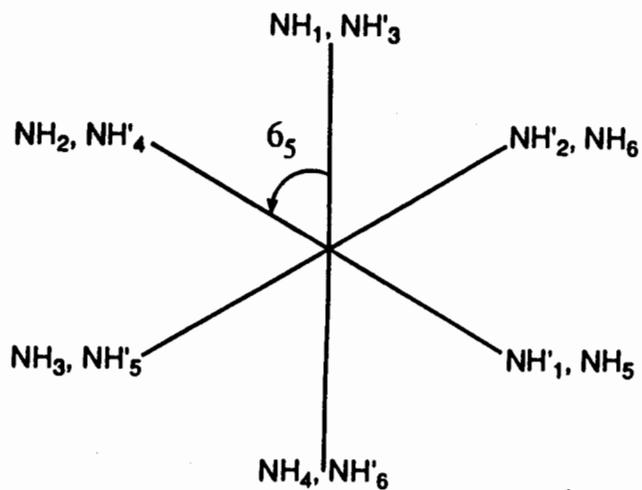
Tabla [1.4]. Angulos de torsión para los nylons 2/n estudiados.

	Nylon 2/3	Nylon 2/6	Nylon 2/3/3
φ_1	76.8	88.2	79.7
ψ_1	-153.9	-151.8	-150.6
φ_2	116.6	105.9	99.4
ψ_2	-123.2	-105.8	-90.8

Como conclusión se observa, que la presencia de residuos de glicina fuerza a las poliamidas a salir de su conformación más habitual de cadena extendida, para adoptar una estructura en hélice, estabilizada por puentes de hidrógeno en tres direcciones que forman un ángulo de 120° entre ellas.



Nylon 2/3
 $\Phi_{\text{Gly}} = 120^\circ$
 $\Phi_{\beta\text{-Ala}} = 0^\circ$



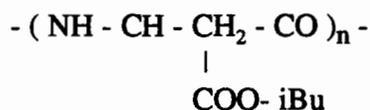
Nylon 2/6
 $\Phi_{\text{Gly}} = 120^\circ$
 $\Phi_{\epsilon\text{-Acp}} = 180^\circ$

Figura [1.19]. Esquema general de las estructuras cristalinas de los nylons 2/3 y 2/6 correspondientes a simetrías trigonal y hexagonal respectivamente (3_1 y 6_5). Φ indica el giro existente entre las direcciones de enlace N-H separadas por residuos de glicina, β -alanina o ϵ -aminocaprónico. Los grupos NH de glicina se indican sin prima para diferenciarlos de los del ω -aminoácido. El subíndice hace referencia a la unidad repetitiva. (Bella (1991b)).

1.5.3.2 Inserción de un grupo estereoregular en la cadena polimérica

En este caso la misma cadena polimérica puede formar diferentes tipos de hélice con puentes de hidrógeno intramoleculares. Estas estructuras particulares confieren al polímero propiedades características como son la capacidad de producir cristales líquidos (Montserrat *et al.*, 1988) y la piezoelectricidad (Prieto *et al.*, 1989). Ejemplos característicos son el poli(α , L-aspartato de isobutilo) (PAIBLA) y el poli(α , L-glutamato de bencilo) (PABLG).

El PAIBLA (Fernández-Santín, 1986 y Fernández -Santín *et al.*, 1987) es un derivado del nylon 3, que tiene un grupo éster como sustituyente lateral, dispuesto de forma isotáctica:



Puede considerarse también como un polipéptido, en el que se ha incluido un metileno adicional en la cadena principal de cada residuo. Se han caracterizado dos formas cristalinas, ambas con hélices compuestas de puentes de hidrógeno intramoleculares, de manera similar a la hélice α de los polipéptidos. En la Figura [1.20] se muestran los dos empaquetamientos propuestos para las dos conformaciones postuladas.

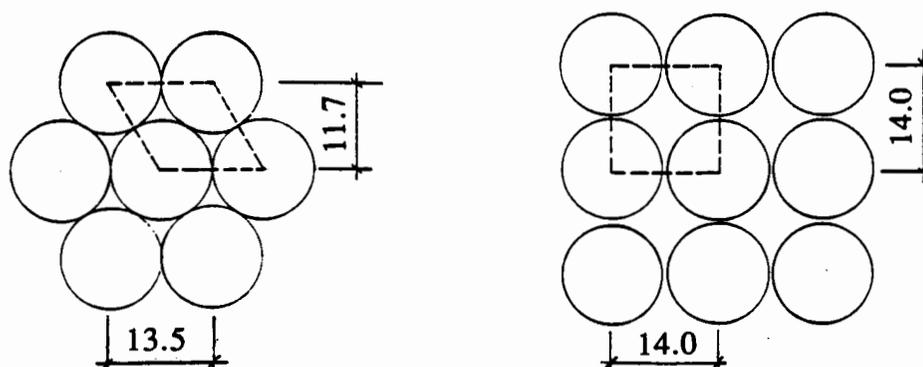
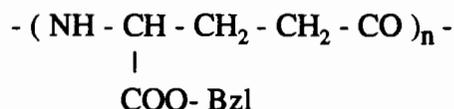


Figura [1.20]. Empaquetamientos hexagonal y tetragonal de moléculas de PAIBLA.

La forma pseudo-hexagonal está formada por hélices 13/4 y cristaliza en lamelas hexagonales. La segunda forma consiste en hélices con cuatro residuos por vuelta, originando un empaquetamiento tetragonal. Se han construido modelos moleculares de ambas formas, siendo los ángulos de torsión óptimos: $\varphi=144^\circ$ $\psi=148^\circ$ y $\nu=-87^\circ$ para la forma tetragonal y $\varphi=127^\circ$ $\psi=114^\circ$ y $\nu=-103^\circ$ para la forma hexagonal.

El metileno adicional que contiene la unidad monomérica del PAIBLA puede ofrecer una gran versatilidad conformacional al polímero, y por ello no es sorprendente encontrar dos conformaciones helicoidales diferentes, cuando en los polipéptidos convencionales sólo se encuentra una única estructura en hélice α .

Una hélice similar, pero con 2.5 residuos por vuelta, se ha postulado para el poli(α , L-glutamato de bencilo) (Puiggali *et al.*, 1988), un nylon 4 modificado de la misma manera que el PAIBLA.



El polímero, sin embargo, puede dar lugar a dos estructuras cristalinas interconvertibles. La denominada forma II corresponde a la mencionada estructura helicoidal con puentes de hidrógeno intramoleculares, mientras que la forma I corresponde a una estructura laminar característica de nylons.

Con estos antecedentes, se deduce que la introducción de grupos laterales en la cadena de un nylon puede dar lugar a estructuras helicoidales con características cercanas a las de polipéptidos y proteínas. El polimorfismo parece ser también, una característica general de estas poliamidas modificadas.

1.6 Morfología cristalina y plegamiento molecular

Las cristalizaciones de los polímeros se pueden realizar a partir de soluciones diluídas o altamente concentradas de polímero, así como por enfriamiento de un polímero fundido. Dependiendo de las condiciones de cristalización y de la naturaleza del polímero se obtienen morfologías diferentes. Así, a partir de disoluciones diluídas se obtienen *microcristales*, y a partir de disoluciones concentradas o del fundido se obtienen agregados denominados *esferulitas*. Hay casos intermedios, en los que debido a una mala cristalización se producen otro tipo de estructuras. Por ejemplo, cristalizaciones con gran subenfriamiento dan lugar a *dendritas* (estructuras complejas en forma de árbol), y la cristalización de polímeros en soluciones sometidas a elevadas tensiones de cizalla producen *cristales fibrilares*. Cuando se utilizan disolventes no adecuados en la cristalización, se puede provocar una separación de fases, y como resultado, la fase en la cual la concentración del polímero es mayor da lugar a agregados con morfologías similares a "donuts", que sin embargo, pueden presentar una difracción propia de cristal simple. Cuando la concentración de la fase que se separa no es muy elevada pueden producirse agregados en forma de roseta.

Generalmente las cristalizaciones de polímeros en soluciones diluídas producen microcristales de poco espesor (30-100 Å), llamadas *lamelas*, en las cuales las cadenas moleculares suelen disponerse perpendicularmente a la base del cristal (Figura [1.21]). Imperfecciones en la cristalización pueden dar lugar a *cristales multilaminares*, provocados por dislocaciones helicoidales en lamelas simples y *cristales maclados* o cristales unidos de forma simétrica.

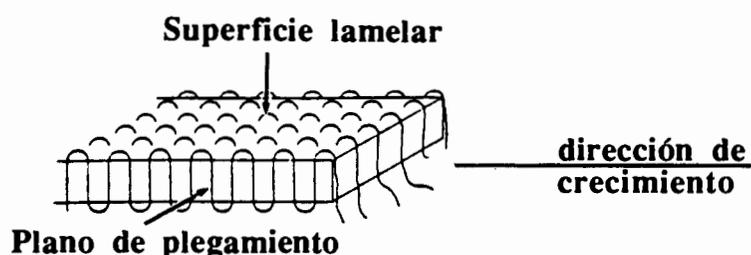


Figura [1.21]. Plegamiento de las cadenas moleculares en una lamela cristalina (Clark, 1973).

Según se desprende de un estudio combinado de difracción de electrones y de morfología, las cadenas moleculares se pliegan para poder acomodar su longitud con el bajo espesor lamelar, existiendo diferentes teorías acerca del plegamiento. Keller (1957) sugiere un plegamiento regular con reentrada adyacente de la cadena en el cristal, mientras que una reentrada irregular de la cadena molecular es propuesta por Flory (1962).

En el caso particular de nylons, Dreyfuss (1973) encuentra, a partir de estudios de difracción de rayos X a bajo ángulo, en contra de la teoría cinética del plegamiento, que el espesor lamelar no depende de las condiciones de cristalización (temperatura de cristalización, solvente, concentración, tiempo de solubilización, efectos nucleantes, etc), sino de la densidad de puentes de hidrógeno de la cadena molecular. De esta forma el grosor lamelar varía entre 40 y 80 Å, correspondiendo los menores espesores a polímeros con mayor densidad de grupos amida. Asimismo, la observación del espesor de las lamelas cristalinas por microscopía electrónica aporta información acerca del plegamiento molecular (Wunderlich, 1973 y Walton, 1973).

En lo referente a la forma en la que se pliegan las cadenas moleculares hay diversas hipótesis. Así, en el caso concreto de los polipéptidos en sus formas β , se sugiere que el giro de la molécula en la superficie de la lamela se produce mediante la intervención de cuatro residuos, en la denominada estructura β -turn (observada en proteínas globulares y ciclopolipéptidos). En el nylon 66, estudios de Atkins sobre diagramas de sedimento de cristales han demostrado que el plegamiento de la cadena se hace mediante el segmento metilénico del diácido. Pero esta teoría parece no ser válida para todos los nylons, ya que recientemente estudios de difracción de rayos X y de microscopía electrónica del nylon 46 (Atkins *et al.*, 1991) y del nylon 4 (Bellinger *et al.*, 1994) sugieren que el grupo amida interviene en el plegamiento. No obstante hay que indicar que, tanto el nylon 46 como los nylons n con n par, se caracterizan por el hecho de que las cadenas se sitúan perpendicularmente a las superficies lamelares, con puentes de hidrógeno dentro de la lámina. No hay un progresivo desplazamiento de las cadenas dentro de una misma lámina y entre láminas como ocurre en el nylon 66 y en general en los nylons m,n con $m \neq n-2$ (nylons con distinto número de metilenos en las unidades de diácido y de diamina).

La morfología de las lamelas crecidas en disolución depende mucho de las condiciones de cristalización y en el caso de los nylons está influenciada por la existencia de puentes de hidrógeno entre las moléculas. Normalmente, la velocidad de crecimiento en la dirección de los puentes de hidrógeno es mayor que en la del apilamiento de las hojas moleculares, resultando cristales muy largos y estrechos en forma de cinta. Estas cintas son de naturaleza lamelar, es decir, con las moléculas aproximadamente perpendiculares a la base del cristal y no deben confundirse con las fibras, en las que las moléculas se disponen a lo largo de éstas. Las morfologías que se extienden en dos dimensiones son relativamente poco frecuentes y parecen resultar de la agregación lateral de cintas lamelares (Clark y Wilson, 1973) o también estar condicionada por la existencia

de dos direcciones de puentes de hidrógeno. En el caso de haber tres direcciones de puentes, resultarían morfologías triangulares o hexagonales.

La *esferulita* es un agregado esférico de haces de fibrillas que se ramifican a partir de un núcleo central, y parecen representar las porciones cristalinas de la muestra, que crecen a expensas del fundido no cristalino. El punto de iniciación del crecimiento de las esferulitas, su núcleo, puede ser una partícula extraña (nucleación heterogénea), o puede surgir espontáneamente del fundido (nucleación homogénea)

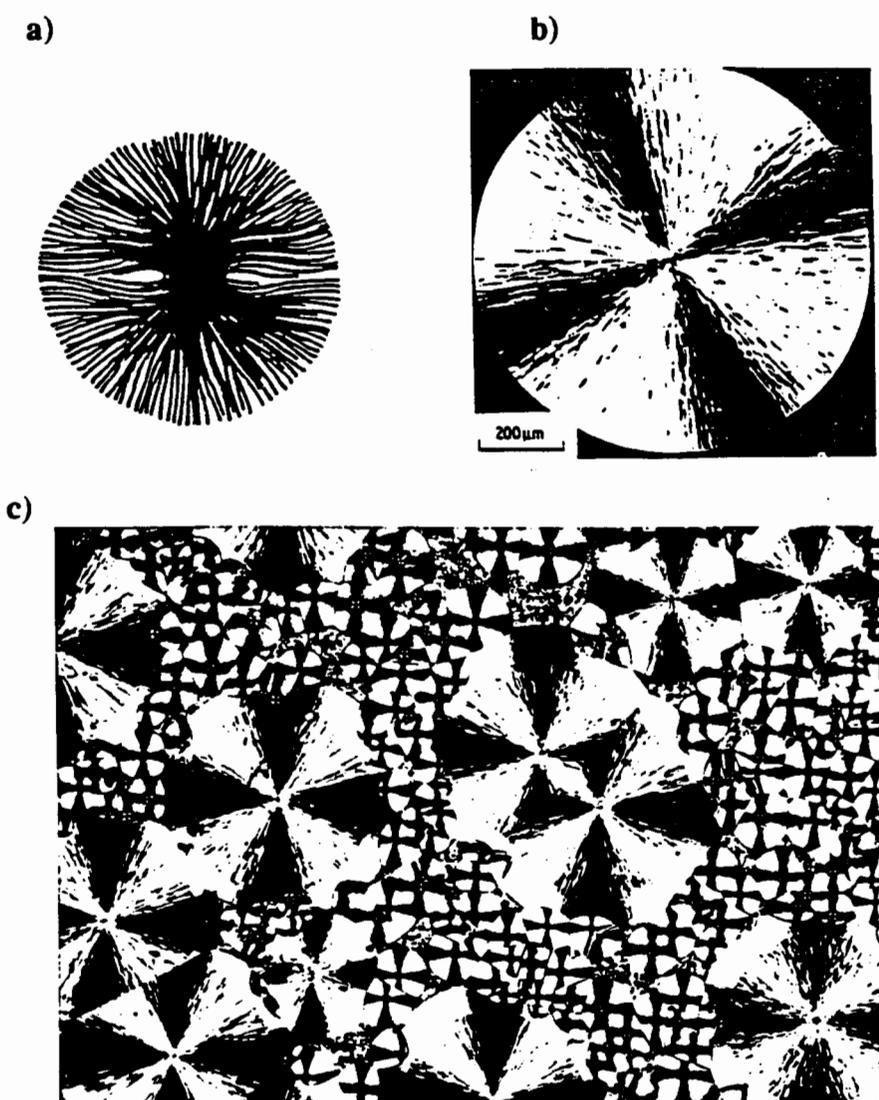


Figura [1.22]. a) Disposición de las fibrillas en una esferulita; b) Esferulita simple de poliestireno; c) Esferulitas de un polímero tipo silicona observadas en el microscopio óptico entre polarizadores cruzados (Price, 1958).

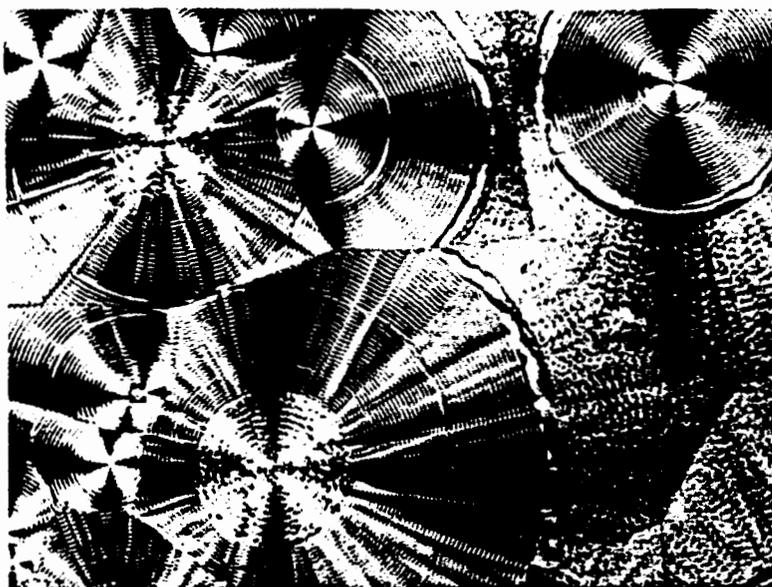


Figura [1.23]. Esferulitas anilladas de poli(glutarato de trimetileno) observadas al microscopio óptico entre polarizadores cruzados (Keller, 1959).

Se reconocen por su apariencia característica en el microscopio de luz polarizada, en el que se ven como áreas circulares birrefringentes que poseen una figura de cruz de malta oscura (Figura [1.22]). La birrefringencia está motivada por la variación del índice de refracción del cristal, según la dirección de la luz incidente. El índice de refracción adquiere unos valores máximo y mínimo según direcciones mutuamente perpendiculares, las cuales se denominan eje óptico mayor y eje óptico menor, respectivamente. En algunos casos, a la cruz de malta característica de las esferulitas se superpone una interferencia en forma de zig-zag o de anillos concéntricos (Figura [1.23]). Estos diagramas de interferencia podrían deberse a un enrollamiento en hélices de las fibras esferulíticas.

En las poliamidas, según las condiciones de cristalización las esferulitas son positivas (si el radio de la esferulita coincide con el eje óptico mayor de sus cristales) o negativas (cuando el radio de la esferulita coincide con el eje óptico menor de sus cristales), aunque ambos tipos pueden coexistir en una misma muestra. Los diagramas de difracción de estas microestructuras corresponden, en ambos casos, a cadenas macromoleculares perpendiculares a los radios de las esferulitas. El signo óptico puede explicarse por el hecho de que el cristal de la poliamida es biaxial, y el índice en la dirección de la cadena tiene un valor próximo al correspondiente en la dirección de los puentes de hidrógeno intermoleculares. Las esferulitas, positivas o negativas, únicamente difieren entre sí, por la orientación del plano de los puentes de hidrógeno, con relación a la dirección de los radios. Las cadenas moleculares son siempre perpendiculares a los radios; si el plano de los enlaces de hidrógeno es paralelo al radio, la esferulita es positiva; si es perpendicular, la esferulita es negativa.

1.7 Biocompatibilidad y biodegradabilidad

Para muchos usos en agricultura o en medicina, así como para mejorar el impacto ecológico de los plásticos, se desea tener polímeros biodegradables, que puedan ser fácilmente fabricados por inyección, o por extrusión del fundido.

Por supuesto, polímeros naturales como celulosa, proteínas, ácidos nucleicos, almidón y lignina son biodegradables, pero estos materiales, desafortunadamente, contienen grupos muy polares, que dan lugar a puntos de fusión muy elevados y, por ello, descomponen al calentarlos, antes de la fusión. Esto significa que estos materiales sólo pueden fabricarse por medios en solución pero no por procesos industriales económicos, como los citados anteriormente. Por otra parte, si uno intenta modificar estos polímeros en otros de menor punto de fusión, tal como la conversión de celulosa en acetato butirato de celulosa, los materiales dejan de ser biodegradables.

En el campo de la ecología se están investigando los llamados plásticos ecológicos o "limpios", tratándose temas como la recuperación, el reciclaje o la biodegradación de los materiales plásticos. Ya existen, por ejemplo, bolsas de basura domésticas realizadas con polietileno cargado con productos que facilitan la degradación del plástico. Generalmente, llevan cetonas y productos relacionados, que incitan la fotodegradación del polímero, para reducirlo en oligómeros que luego serán más fácilmente degradados por los organismos vivos. Otra opción existente, son las bolsas de polietileno con cargas de almidón, que son directamente biodegradables, aunque su costo es superior y no funcionan tan bien como las fotodegradables.

En lo referente al campo de la agricultura se ha empleado policaprolactama para procesos de reforestación (Potts *et al.*, 1973); la semilla se coloca en un semillero de plástico, que tarda un año en degradarse, con lo cual la semilla está protegida durante este primer año de vida. Para la protección y crecimiento de cultivos se puede utilizar un film de plástico biodegradable que, si es convenientemente elegido, incluso los productos de degradación pueden enriquecer el suelo. En lo que se refiere a insecticidas muchos de ellos han sido eliminados y substituidos por agentes no persistentes. Pennwalt, recientemente ha introducido la microencapsulación de materiales no persistentes en una poliamida, que permite la eliminación lenta del insecticida. Por otra parte, el uso de polímeros biodegradables para la eliminación lenta de fertilizantes sería de gran ayuda en la purificación de aguas naturales.

Los polímeros biodegradables utilizados en medicina deben tener propiedades propias de los materiales biomédicos, como pueden ser: facilidad para la esterilización sin pérdida de propiedades, procesabilidad, facilidad de manipulación por el personal sanitario y, por supuesto, un precio adecuado al mercado. Así, se han logrado sintetizar muchos polímeros biodegradables que luego han resultado de inviable comercialización por no poseer alguna de las anteriores características descritas. En

resumen, un material que va a entrar en contacto con la piel o con membranas mucosas debe reunir dos características: *biofuncionalidad*, que hace referencia a la capacidad de un dispositivo de cumplir la función para la que ha sido diseñado, y *biocompatibilidad*, o capacidad del material para permanecer biológicamente inerte durante el período de implantación. Además de estas dos propiedades resultaría muy interesante que tuviera *biodegradabilidad*, y así evitar una nueva intervención quirúrgica para extraer el material cuando éste ya ha realizado su función.

La utilización de polímeros biodegradables en el campo de la medicina se encuadra en dos áreas principalmente: los polímeros de liberación controlada de fármacos y en implantes biodegradables. Los primeros generalmente son bioabsorbibles y se biodegradan al mismo tiempo que se libera el medicamento. Tienen especial interés los polímeros con compuestos anticancerígenos, ya que además de un control sobre la velocidad y tiempo de actuación del fármaco, necesitan actuar solamente sobre un área específica y determinada.

Los polímeros biodegradables utilizados en implantes deben reunir, además de una buena biodegradabilidad, unas buenas propiedades mecánicas mientras no sean consumidos por el organismo. Los principales tipos de implantes en los que se utilizan estos polímeros son las suturas. Durante muchos años se han utilizado suturas biodegradables de origen natural, como el colágeno fibrilar ("catgut"), pero se ha comprobado que éste produce reacciones alérgicas en numerosos pacientes, por lo que ha sido substituido por fibras de nylon. El inconveniente de estas suturas es que no son absorbidas y, por tanto, pasado un tiempo tienen que ser extraídas del cuerpo. Lo deseable sería disponer de diferentes materiales, con distintas velocidades de absorción, para tener siempre el material idóneo, dependiendo del tipo de operación o características del paciente. Una situación ideal sería disponer de un implante que sufriera biodegradación a la misma velocidad que el nuevo tejido es regenerado. En la actualidad se dispone de suturas de poliglicolato, que poseen más ventajas que los nylons, debido a la mayor facilidad de hidrólisis de los grupos éster, y que son absorbidas de tal manera que no es necesario eliminarlas (Frazza y Smith, 1970).

Otra aplicación de polímeros biodegradables en implantes es la incorporación de piezas (tornillos y placas principalmente) en tejidos óseos o cartilagosos, para facilitar la inmovilización del hueso mientras se regenera de una rotura. Con ácido poliláctico o con ácido poliglicólico se realizan tornillos y tuercas substitutivos de los clásicos clavos de metal.

Polímeros sintéticos biodegradables hay muy pocos, sólo algunos poliésteres muestran algún grado de biodegradación. Así, el polietiléntereftalato y policarbonatos aromáticos son resistentes al ataque de microorganismos. El politetrametilénsuccinato, dependiendo de su viscosidad intrínseca puede ser o no biodegradable (Potts *et al.*, 1974). Poliuretanos poliésteres se degradan, pero poliuretanos poliéteres son resistentes a la degradación microbiana (Kaplan, 1974).

En un intento de conseguir otro tipo de polímeros biodegradables, las poliamidas tienen unas características muy atractivas, primero, porque contienen nitrógeno, que los microorganismos necesitan para crecer y segundo, porque el enlace amida es bastante polar, de tal manera que la poliamida tiende a ser hidrófila y tiene puntos de fusión razonablemente altos, incluso a pesos moleculares bajos. Desde este punto de vista, actualmente se investiga el efecto de la incorporación de aminoácidos naturales en nylons.

Un copolímero alternante de glicina y ácido ϵ -aminocapróico es biodegradado en unas semanas por bacterias y hongos (Bailey *et al.*, 1976 y Bailey, 1984), mientras que los homopolímeros correspondientes: poliglicina y nylon 6 son inertes en las mismas condiciones. Un copolímero, soluble en agua, con grupos serina en lugar de glicina es rápidamente degradado, con lo que se demuestra que la hidrofiliidad afecta a la susceptibilidad de un polímero a ser degradado.

Copolímeros de ácido ϵ -aminocapróico y α -aminoácidos tipo alanina, leucina, fenilalanina e hidrocloreuro de lisina han sido recientemente preparados por policondensación y estudiada su hidrólisis alcalina, con el objeto de examinar su biodegradabilidad. Los resultados más favorables corresponden al último aminoácido e indican la importancia de la higroscopicidad de la muestra (Nagata y Kiyotsukuri, 1992).

2 Materiales y Métodos

2.1 Instrumentación

- Los análisis elementales se han realizado en el Servicio de Microanálisis Elemental del CSIC de Barcelona.

- Los espectros de infrarrojo (IR) se han realizado en un espectrofotómetro Perkin-Elmer 783, equipado con un microordenador Perkin Elmer modelo 3500.

- Los espectros de RMN de ^{13}C (^{13}C -RMN) se han llevado a cabo en un Varian XL-GEM 200, del Departamento de Química Orgánica de la Universidad de Barcelona y en un Bruker AMX 300.

- Los análisis termogravimétricos se han registrado en una termobalanza Perkin Elmer TGS-1, del CSIC de Barcelona.

- Los análisis térmicos (DSC) se han realizado en un Calorímetro Diferencial de Barrido Perkin-Elmer DSC-4, equipado con una estación de datos TADS (*Thermal Analysis Data Station*).

- La composición de los polímeros se ha determinado por análisis de aminoácidos y por cromatografía líquida de alta presión. Se ha utilizado el analizador de aminoácidos BECKMAN SYSTEM 6300, con columna de intercambio iónico y detector por reacción con ninhidrina del Departamento de Química Orgánica de la Universidad de Barcelona. Y un equipo de HPLC (*High Pressure Liquid Chromatography*) Shimadzu SCL-6B, con detector espectrofotométrico de UV SPD-6A, equipado con una estación de datos C-R4AX y un sistema de bombas LC-6A, para trabajar con gradientes de concentración en la fase móvil.

- Las viscosidades intrínsecas se han estimado en microviscosímetros de tres brazos Cannon-Ubbelode CUSMU 75, CUSMU 100 y CUSMU 200, dependiendo del peso molecular del polímero.

- Para la visualización por microscopía óptica se han utilizado microscopios Nikon Labophot y Zeiss WL de luz polarizada.

- Para los estudios de difracción de rayos X se ha utilizado un generador Philips, modelo 1130/90 equipado con un tubo Phillips (PW 2113/90 de 1200W de potencia), de foco fijo, con un filtro de níquel, y un generador Elliot, modelo GX 6, (40KV por 20 mA), con tubo coolidge desmontable, ánodo rotatorio y monocromador de grafito. Se han utilizado dos cámaras (tipo Statton): a) Cámaras Rich. Se caracterizan por tener colimadores de pequeño diámetro (aproximadamente 0.1 mm), que facilita trabajar con muestras muy delgadas, y distancias espécimen-película cortas (3 cm). b) Cámaras Warhus (W.H. Warhus Company). Son cámaras tipo Staton de colimación.

Tienen colimadores de diferente diámetro de orificio y permiten variar la distancia muestra-cámara desde 3 cm hasta 32 cm.

- Los espaciados de difracción de los diagramas de rayos X se han medido con la ayuda de un proyector de perfiles Nikon 6C, equipado con objetivos x10, x20 y x50.

- Para los trazados fotográficos se ha utilizado un microdensitómetro modelo MK III CS de Joyce Loeb and Co.

- Para los estudios por microscopía electrónica se ha utilizado un aparato Philips EM 301.

- La preparación de muestras para microscopía electrónica se ha realizado con un evaporador de alto vacío BALZERS, BAE 080 T.

- Para el registro fotográfico se han utilizado películas Kodak DEF para difracción de rayos X, Kodak 4489 para microscopía electrónica y Kodak TRI X para difracción de electrones.

- Para el procesado de fibras se empleó un equipo especial de extrusión de fibras, a pequeña escala, fabricado para tal fin en la Universidad de Bradford.

- La medida de las propiedades mecánicas de fibras de nylon se realizó en la Escuela de Ingenieros Técnicos Industriales de Terrassa, empleando un analizador Instron y siguiendo la norma ASTM D3379.

- Los ensayos biológicos fueron realizados por CIDASAL (Centro de Investigación y Desarrollo Aplicado, Sociedad Anónima Laboral).

2.2 Disolventes y reactivos

- Cloruro de metileno (Doesder). Se seca y se destila sobre carbonato potásico anhidro antes de su uso. Se recoge sobre tamiz molecular de 4 Å y se guarda en botellas de color topacio, para evitar su descomposición desprendiendo ácido clorhídrico.

- Dimetilformamida (Merck). Se destila sobre Z-glicina-p-nitrofenil ester, almacenándose en botellas de color ámbar, con tamiz molecular de 4 Å. El control de pureza, que consiste en detectar las aminas primarias, se realiza por reacción con 1-fluoro-2,4-dinitrobenceno.

- Dimetilsulfóxido (Merck). Se purifica por destilación, guardándose sobre tamiz molecular de 4 Å.

- Trietilamina (Merck). Se purifica por destilación sobre ninhidrina, guardándose en botellas de color ámbar.

- Acetonitrilo (Carlo Erba). Se purifica por destilación sobre pentóxido de fósforo.

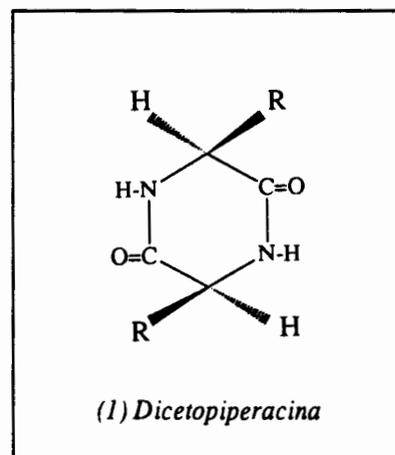
- Dioxano (Carlo Erba). Se purifica secándolo con sulfato de magnesio anhidro y posterior reflujo con sodio y destilación (Riddick y Bunger, 1970)

El resto de disolventes y reactivos se han utilizado tal como se suministran comercialmente.

2.3 Síntesis

Los polímeros objeto de estudio, se han sintetizado por diferentes métodos, dependiendo de las características de cada familia en concreto. En general, los nylons comerciales se obtienen por condensación térmica de los aminoácidos (poliamidas del tipo n), o de diácidos y diaminas (poliamidas del tipo m,n) (Kohan, 1973).

Para que se pueda llevar a cabo una policondensación térmica es necesario que los monómeros contengan un número mínimo de átomos de carbono, pues de lo contrario predomina la formación de compuestos cíclicos de bajo peso molecular u otros compuestos no deseados. Así, los α -aminoácidos forman el dímero cíclico, dicetopiperacina (1), y los β -aminoácidos pierden NH_3 para dar derivados insaturados, a menos que la eliminación sea impedida por disustitución en el carbono α .



En el caso de nylons derivados de la monometilendiamina la polimerización térmica tampoco es fácil de realizar al ser la diamina un gas, siendo además la misma inestable térmicamente.

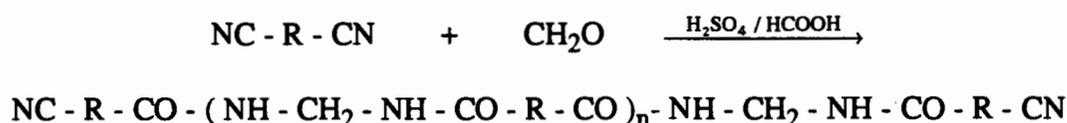
Consecuentemente, la polimerización térmica no es un método válido para la síntesis de las poliamidas que se estudian en este trabajo, al poseer, en general, unidades de glicina o de monometilendiamina en su esqueleto. La síntesis de estas familias de polímeros se ha realizado empleando las metodologías siguientes:

- Condensación de formaldehído con dinitrilos para la preparación de los *nylons 1,n*.
- Método de los ésteres activos en la síntesis de los copolímeros *2/n estadísticos*, así como para la preparación de los monómeros utilizados en la síntesis de los *nylons m,n* con glicina

- Polimerización interfacial entre un dicloruro de ácido y una diamina en el caso de los *nylons m,n*, con y sin glicina.

2.3.1 Síntesis a partir de dinitrilos

Los nitrilos reaccionan con formaldehído en medio fuertemente ácido para dar metilen-bis-amidas. Esta reacción puede extenderse a la preparación de poliamidas a partir de dinitrilos, dando lugar a un polímero que corresponde a la poliamida procedente de la monometilendiamina (Magat *et al.*, 1951):



La reacción es muy sensible a los cambios en las condiciones de reacción. Las propiedades del polímero dependen de un gran número de variables, tales como el tiempo de reacción, concentración de los reactivos, naturaleza de los ácidos utilizados como catalizadores, temperatura, balance molar de reactivos, pureza de los reactivos e introducción de algún componente extraño (Mowry y Ringwald, 1950).

La reacción es exotérmica y procede rápidamente a temperatura ambiente por lo que en ocasiones es conveniente enfriar el medio de reacción. Para que la reacción transcurra de forma adecuada se utiliza ácido sulfúrico o mezcla de dos ácidos (normalmente ácido sulfúrico y ácido fórmico), que además de ser disolventes de los productos de partida también lo sean del producto resultante. En cuanto a los tiempos de reacción éstos no deben ser excesivamente largos, ya que simultáneamente a la reacción de polimerización tiene lugar una reacción de degradación, debido al medio ácido utilizado.

2.3.2 Método de ésteres activos

Para formar el enlace peptídico entre α -aminoácidos es muy usado el método de condensación en solución denominado de los ésteres activos, basado en la activación del grupo COOH para el ataque nucleofílico por el grupo NH₂, mediante la formación de un éster con carácter atrayente de electrones.

Tradicionalmente el método es interesante para la preparación de polipéptidos constituídos por repetición de secuencias específicas de aminoácidos, las

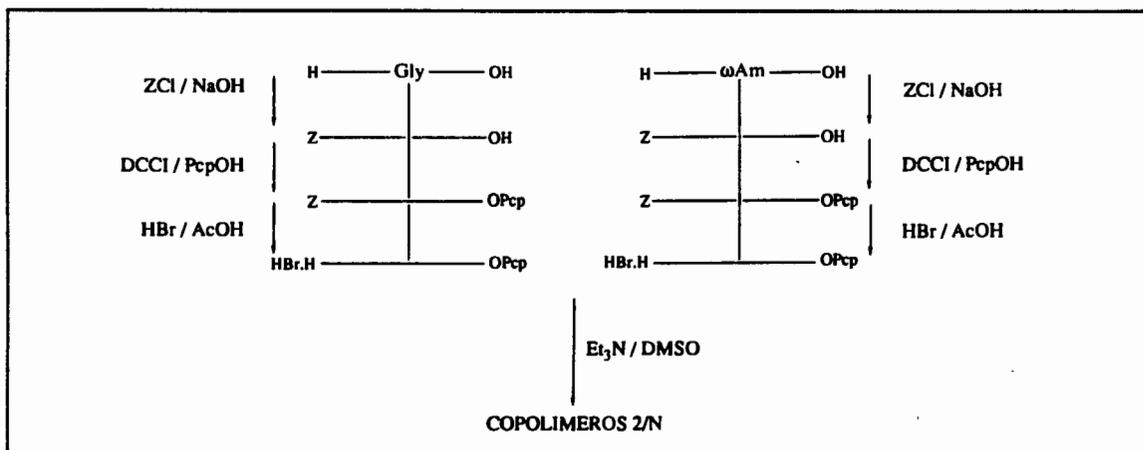
cuales pueden sintetizarse por etapas, empleando también, el método de los ésteres activos (Wieland *et al.*, 1951). Las etapas básicas de la síntesis son las siguientes:

1. *Protección*. Antes de la formación del éster activo hay que proteger el grupo amino del aminoácido para impedir la autoaminólisis. Entre los grupos protectores se ha escogido el grupo carbobenzoxi (Bergman y Zervas, 1932) por la facilidad de efectuar la posterior desprotección. Este grupo protector es introducido por el tratamiento del aminoácido con cloroformiato de bencilo, en medio acuoso y a pH básico.
2. *Activación*. La formación del enlace peptídico se favorece al preparar un éster del aminoácido que facilite el ataque nucleofílico del grupo amino. Los grupos protectores y el éster activo deben tener reactividades bien diferenciadas para evitar reacciones secundarias, y han de ser compatibles entre sí respecto a las condiciones en que se efectúan las diversas reacciones. Entre los ésteres fácilmente aminolizables, se ha utilizado el éster pentaclorofenílico, por tener una serie de ventajas, como el poseer un elevado punto de fusión de los derivados, que permite una fácil purificación, una elevada velocidad de aminólisis y un bajo grado de ramificación (Kovacs, 1966). La esterificación se realiza haciendo reaccionar el Z-aminoácido con pentaclorofenol y dicitclohexilcarbodiimida, en un disolvente de baja polaridad como acetato de etilo o cloroformo.
3. *Desprotección*. El grupo amino del éster activo se desbloquea mediante hidrogenación catalítica o por acidólisis con HBr 6N en ácido acético glacial (Schnabel, 1967).
4. *Polimerización*. Se lleva a cabo por la reacción de poliautoacilación que se produce al neutralizar las correspondientes sales de los ésteres activos producidas tras la desprotección. Como iniciador se utilizan aminas terciarias, por ejemplo la trietilamina o la piridina. Para evitar la autociclación la polimerización se suele hacer en soluciones muy concentradas. El solvente y el tiempo de polimerización influyen en el peso molecular del producto final, por ello, se han elegido disolventes que faciliten la permanencia del polímero en el medio de reacción, con objeto de que resulte de mayor tamaño. Normalmente se utilizan dimetilsulfóxido y dimetilformamida.

El método puede ampliarse a ω -aminoácidos o similares, y en este caso se ha utilizado para la obtención de:

a) Polímeros estadísticos, compuestos de glicina y ácido ϵ -aminocaprílico, ácido ω -aminododecanóico o ácido ω -aminoundecanóico, a partir de la policondensación de proporciones adecuadas de los correspondientes aminoácidos. En el Esquema [2.1] se indica la síntesis de una poliamida compuesta por glicina y un ω -aminoácido.

Esquema [2.1]

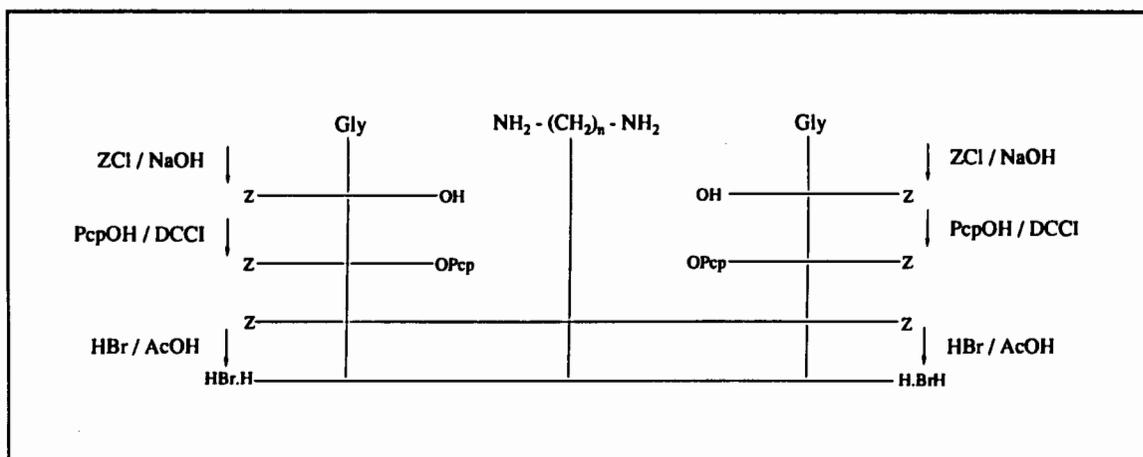


b) Secuencias:



utilizadas como monómeros en la síntesis de los *Nylons* m,n con inserción de glicina (Esquema [2.2]).

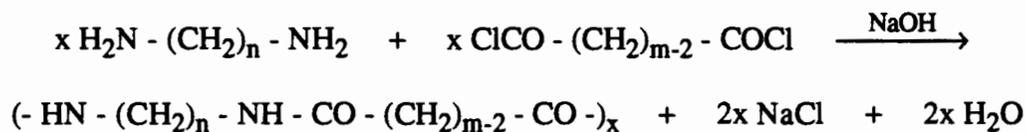
Esquema [2.2]



2.3.3 Polimerización interfacial

La polimerización interfacial implica una reacción en la interfase, entre la diamina que está en un disolvente acuoso, y el cloruro de diácido que está en un disolvente orgánico inerte, inmisible con la fase acuosa. Se utiliza una base inorgánica, tal como hidróxido sódico, que se disuelve en la fase acuosa y que neutraliza el ácido clorhídrico producido en la reacción. El solvente orgánico no necesita disolver el polímero, pero debería, al menos, mantenerlo en un estado inflado hasta obtener un polímero de alto peso molecular. Un problema que puede presentarse, cuando se utiliza un disolvente orgánico parcialmente soluble en la fase acuosa, es que al tener lugar un mayor reparto del cloruro de ácido dentro de la fase acuosa, la velocidad de hidrólisis del cloruro de ácido aumenta, produciéndose polímeros de bajo peso molecular.

Al tener lugar la polimerización en la parte orgánica de la interfase, que controla la liberación de la diamina, se puede utilizar un agente "superficial activo" para mantener un área superficial máxima. Normalmente la reacción transcurre a alta velocidad y en un tiempo breve, de 2 a 10 minutos, pero también hay descritas polimerizaciones interfaciales a tiempos mayores. El polímero puede obtenerse como film o como polvo.



La polimerización interfacial es un método de síntesis importante, porque debido a la baja temperatura en que se trabaja, se evita la degradación del polímero, lográndose productos de alto peso molecular.

2.4 Caracterización de productos intermedios y finales

En la caracterización de los productos intermedios de síntesis se ha realizado un seguimiento por cromatografía de capa fina y espectroscopía de infrarrojo. Además se ha comprobado el punto de fusión si se disponía de datos en Bibliografía. En el caso de monómeros, también se ha realizado el análisis elemental, para determinar si los porcentajes experimentales de C, H y N concuerdan con los teóricos.

En lo referente a los polímeros, además del análisis elemental y de la espectroscopía de infrarrojo, se ha utilizado la resonancia magnética nuclear de ^1H y de ^{13}C . Los pesos moleculares se han evaluado por medidas de viscosidad intrínseca. También se ha estudiado el comportamiento térmico por calorimetría diferencial de registro y por termogravimetría. Además, en el caso particular de copolímeros, se ha determinado su composición real por técnicas cromatográficas.

2.4.1 Cromatografía de capa fina

Esta técnica ha sido utilizada para verificar la pureza de los distintos productos sintetizados, tanto intermedios como finales.

Se han utilizado cromatofolios Merck (0.2 mm) de gel de sílice 60, con indicador de fluorescencia a 254 nm.

Se usaron diferentes eluyentes, dependiendo de la polaridad de los productos. Los más comunes fueron:

- CMA (95 ml de cloroformo, 5 ml de metanol y 3 ml de ácido acético).
- BuA (120 ml de n-butanol, 30 ml de acético y 30 ml de agua).
- PhAM (1 ml de amoniaco en 206 ml de una solución de 160 g de fenol en 40 ml de agua).
- SBN (850 ml de sec-butanol, 75 ml de amoniaco y 75 ml de agua).

Los reveladores más utilizados han sido:

- Exposición bajo lámpara de UV - 250 nm. Detecta compuestos con anillos aromáticos.

- Reactivo de ninhidrina (Schiltz *et al.*, 1977). Detecta aminas primarias (coloración violeta). Se prepara una disolución al 0.2% en acetona (Patton y Chism, 1951). La placa se rocía con esta disolución y se mantiene durante tres minutos a 100 °C.
- Reactivo de ninhidrina + reactivo de HBr/AcOH. Detecta aminoácidos protegidos por el grupo carbobenzoxi. Después del revelado con ninhidrina, que detecta las aminas primarias, se procede a una segunda pulverización con una solución de HBr en ácido acético al 10%, cuya finalidad es liberar los grupos amino protegidos y hacerlos visibles (coloración rosa-violácea) al calentar de nuevo.
- Reactivo de hipoclorito-o-tolidina (Reindel y Hoppe, 1954). Detecta grupos amida. Las placas se pulverizan con lejía comercial o una disolución de hipoclorito de tert-butilo en cloruro de metileno. A continuación se secan en una estufa a 110 °C durante 10 minutos y se pulverizan de nuevo con el reactivo de o-tolidina (1 g de o-tolidina, 5 g de IK, 300 ml de ácido acético y 970 ml de agua). Coloración marrón púrpura poco estable.

2.4.2 Espectroscopía de infrarrojo

Cuando la luz infrarroja pasa a través de una muestra, algunas de las frecuencias son absorbidas y otras transmitidas. Las transiciones implicadas en la absorción de infrarrojo están asociadas con cambios vibracionales dentro de la molécula. La presencia de enlaces moleculares puede ser detectada por la identificación de las frecuencias características como bandas de absorción en el espectro infrarrojo. Esta técnica se ha utilizado para confirmar las etapas intermedias de síntesis y los productos finales.

En el caso concreto de caracterización de nylons, las bandas de absorción características son las correspondientes a los enlaces C-C, N-H, C-N, C=O y C-H, o, lo que es lo mismo, las bandas de absorción correspondientes a los enlaces amida y a los enlaces metileno (Fasman, 1967).

Estas bandas características son:

- Amidas A y B : 3280 y 3090 cm^{-1} . Bandas provenientes de la resonancia entre el primer estado de excitación de la vibración de tensión del N-H y el segundo estado de excitación de la vibración de la Amida II.

- Amida I : 1650 cm^{-1} . Combinación de la vibración de tensión del C=O y la vibración de flexión del N-H.
- Amida II : 1550 cm^{-1} . Combinación de la vibración de tensión del C-N y la vibración de flexión del N-H.
- Amida III : 1300 cm^{-1} . Combinación de la vibración de tensión del C-N, flexión en el plano del N-H y tensión del C-H.
- Vibración de los grupos metileno: 2940 cm^{-1} (tensión simétrica del C-H), 2860 cm^{-1} (tensión asimétrica del C-H) y 1460 cm^{-1} (flexión asimétrica del C-H).

Los desplazamientos que se indican en todas las bandas son solamente orientativos ya que son datos variables dependiendo de la conformación propia del polímero, siendo las bandas I y II las que más varían en la zona por encima de 750 cm^{-1} (ver Tabla [2.1]).

La zona del espectro comprendida entre 750 y 500 cm^{-1} merece, sin embargo, especial atención por tratarse de una región altamente sensible a los cambios conformacionales. Las bandas de absorción correspondientes más significativas son las Amidas VI, V y IV, además de la referente al balanceo del metileno (CH_2 de *rocking*).

En la Tabla [2.1] se muestran las bandas de absorción de amida y grupos metileno más características de la poliglicina (Moore y Krimm, 1976; Abe y Krimm, 1972), el nylon 6 (Arimoto, 1964; Abu-Isa, 1971) y el nylon 12 (Ishikawa *et al.*, 1980), en sus distintas formas cristalinas. Estos polímeros servirán de referencia en la caracterización de las poliamidas estudiadas en el presente trabajo.

Los espectros de IR se han registrado en estado sólido, en pastillas de bromuro potásico o bien en forma de film obtenido por fusión o por evaporación de una disolución del polímero.

Tabla [2.1]. Asignación de bandas de IR en la poliglicina , nylon 6 y nylon 12.

Asignación	PG I	PG II	Nylon 6 (Forma α)	Nylon 6 (Forma γ)	Nylon 12 (Forma α)	Nylon 12 (Forma γ)
Amida A	3272	3304	3290	3290	3320	3310
Amida B	-	-	3070	3090	3080	3110
Tensión asimétrica del CH ₂	2929	2942	2930	2930	2930	2930
Tensión simétrica del CH ₂	2869	2858	2865	2860	2860	2860
Amida I	1636	1654	1642	1642	1635	1640
Amida II	1517	1554	1545	1562	1540	1563
Amida III	1214	1283	1271	1274	1272	1268
Balanceo del CH ₂	-	-	731	730	720	721
Amida V	710	696	690	-	680	-
Amida IV	589	-	-	-	-	-
Amida VI	-	563	580	630	578	624

2.4.3 Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear

La Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) recoge transiciones entre niveles de energía de un núcleo magnético en un campo magnético externo. Implica absorción de energía de radiación electromagnética en la región de radiofrecuencia, por parte de una muestra situada en dicho campo. La representación de la energía frente al campo magnético externo constituye el espectro de RMN.

Se ha utilizado la Espectroscopía de RMN de ¹³C para estudiar la regularidad química de los polímeros sintetizados y en especial para el estudio de posibles ramificaciones en la cadena polimérica. También se empleó esta técnica para obtener información acerca de la composición y de la secuencia (tipo bloque o random) en los copolímeros 2/n estadísticos.

Los espectros de RMN de ^{13}C , debido a la insolubilidad de los polímeros, se realizaron en disolventes tipo TFA y DCA deuterados.

2.4.4 Análisis térmico

El análisis térmico y calorimétrico se fundamenta en la medida y control tanto del calor como de la temperatura así como de los cambios que estos factores provocan en los materiales. Es útil para estudiar propiedades físicas de sustancias que son sensibles a los cambios térmicos y absorben o ceden calor. Las distintas técnicas calorimétricas se diferencian en el modo de operar, el parámetro de medida y el diseño del instrumento calorimétrico (uno o dos hornos).

El análisis térmico de los polímeros del presente trabajo se ha realizado con dos técnicas: la termogravimetría y la calorimetría diferencial de registro. Previamente, para evitar problemas de descomposición en el calorímetro, se estimó el punto de fusión y el grado de descomposición con una platina calefactora METTLER, que conectada a un microscopio óptico nos permite determinar visualmente la temperatura a la que funde la muestra.

2.4.4.1 Termogravimetría

En el análisis termogravimétrico se utiliza una balanza sensible que sigue el cambio de peso de la muestra en función de la temperatura o en función del tiempo. Las aplicaciones más usuales de ésta técnica son la evaluación de la estabilidad térmica y de la temperatura de descomposición (Baer, 1964 y Miller, 1969).

La muestra a analizar se sitúa en una balanza electrónica que está colocada en el interior de un horno. Un programador de temperaturas hace variar la temperatura del horno, de manera controlada, con la finalidad de registrar tanto la temperatura a la que está sometida la muestra como las variaciones que sufre la misma. También puede estimarse la pérdida de peso de la muestra a medida que pasa el tiempo, manteniendo la temperatura constante.

2.4.4.2 Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

En la calorimetría diferencial de registro un programador de temperatura permite, que de una manera predeterminada, se vaya aumentando igualmente la

temperatura de dos hornos (en uno está la muestra y en el otro la referencia). Cuando la muestra experimenta una transición térmica el calorímetro la registra, obteniéndose una medida del calor absorbido o cedido por la muestra en función de la temperatura.

Con esta técnica podemos determinar la temperatura de transición vítrea (T_g), el punto de fusión (T_f), la temperatura de descomposición (T_d), la temperatura de cristalización (T_c), las entalpías de fusión y de cristalización (ΔH_f y ΔH_c), así como evaluar cambios estructurales o transiciones entre formas cristalinas.

2.4.5 Evaluación del peso molecular

Los compuestos macromoleculares, ya sean naturales o sintéticos, presentan una heterogeneidad de peso molecular, es decir, son heteromoleculares. Esta diversidad de longitud de las moléculas se debe principalmente al carácter aleatorio de las reacciones de transferencia y a la variación de reactividad de los centros activos. La descripción completa de una muestra necesita, pues, el conocimiento de la curva de distribución de las diferentes especies presentes, determinación que puede hacerse con la ayuda de un fraccionamiento o por cromatografía de exclusión por tamaños: GPC (*Gel Permeation Chromatography*). En el caso concreto de los polímeros se presentan dos problemas: i) la insolubilidad, que motiva la utilización de disolventes tipo hexafluoroisopropanol, que son de coste elevado, y ii) la necesidad de hacer un calibrado previo para cada polímero, problema que se resuelve por medio de un calibrado universal con poliestireno, con los consecuentes errores que ésto conlleva.

Generalmente se limita a caracterizar la distribución de pesos moleculares con la ayuda de diferentes valores promedios, de los cuales los más importantes son los promedios en número y en peso. La diferencia entre ellos da idea de la dispersión de pesos moleculares en la muestra.

El peso molecular *promedio en número*, \overline{M}_n , se define por:

$$\overline{M}_n = \frac{\sum N_i M_i}{\sum N_i}$$

donde N_i es el número de especies de peso molecular M_i y $\sum N_i M_i = W$ representa el peso total del compuesto macromolecular. Así pues, el peso molecular promedio en número es igual al cociente del peso total de la muestra y el número de macromoléculas que contiene.

Experimentalmente, los promedios en número se calculan con la ayuda de métodos que permiten contar las moléculas presentes en una masa de composición macromolecular conocida. Este es el caso de los métodos basados en las propiedades

coligativas (ebulliometría, osmometría, crioscopia y presión de vapor) o de la valoración de grupos terminales de las cadenas macromoleculares (en el caso de nylons se pueden realizar valoraciones potenciométricas de aminas y grupos carboxílicos terminales, y valoraciones de aminas terminales con 2,4-fluorodinitrobenzoceno (Sanger, 1945, Garmon y Gibson, 1965)). Los métodos basados en las propiedades coligativas son muy poco precisos y únicamente la presión de vapor y la osmometría son relativamente exactas, pero la primera sólo es válida para muestras de bajo peso molecular y la segunda requiere membranas resistentes a los disolventes empleados, que en nuestro caso siempre son ácidos fuertes. En cuanto a los métodos basados en la valoración de grupos terminales, hay que asegurarse que por el método de síntesis empleado dichos grupos están presentes en el polímero.

El peso molecular *promedio en peso*, \bar{M}_w , se define mediante la ecuación:

$$\bar{M}_w = \frac{\sum M_i W_i}{\sum W_i} = \frac{\sum N_i M_i^2}{\sum N_i M_i}$$

En la práctica, se calcula el promedio en peso con técnicas de difusión de la luz de soluciones macromoleculares y técnicas de ultracentrifugación. Ambos métodos sólo son válidos para polímeros de alto peso molecular. El método de la ultracentrifugación es complejo y también presenta problemas de disolvente.

Un método rápido y general para la evaluación de pesos moleculares fue establecido por Staudinger y Heuer (1930) al considerar que la viscosidad intrínseca de una solución polimérica es básicamente la medida del tamaño en el espacio de las moléculas. La viscosidad intrínseca es la extrapolación a concentración cero de soluto de la viscosidad reducida:

$$[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{\eta - \eta_0}{c \eta_0}$$

donde η y η_0 representan las viscosidades de la solución polimérica y del disolvente respectivamente y c es la concentración del polímero. Por consiguiente la viscosidad intrínseca se puede relacionar empíricamente con el peso molecular, según la ecuación:

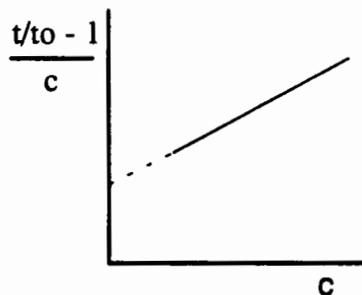
$$[\eta] = K M^a$$

donde K y a son constantes dependientes del polímero, la temperatura y el disolvente. El coeficiente a está comprendido entre 0.5 y 1 aumentando su valor según la "bondad" de los disolventes (Schaeffgen y Flory, 1948). Los valores de K y a están determinados para un gran número de nylons (Kurata, 1975; Aharoni, 1977). En buenos disolventes la viscosidad intrínseca disminuye con la temperatura, debido a la menor solvatación. En malos disolventes ocurre lo contrario, por mejorar su calidad al aumentar la temperatura: las moléculas de disolvente van introduciéndose en el ovillo estadístico aumentando así su tamaño (Subirana, 1960).

En muestras polidispersas M representa un peso molecular medio viscoso, \overline{M}_v , que corresponde a un valor intermedio entre \overline{M}_n y \overline{M}_w y se define por la ecuación:

$$\overline{M}_v = \left[\frac{\sum N_i M_i^{1+a}}{\sum N_i M_i} \right]^{1/a}$$

Experimentalmente, la viscosidad reducida puede determinarse a partir de la comparación del tiempo de flujo, t , requerido para que un volumen determinado de disolución del polímero pase a través de un tubo capilar con el correspondiente tiempo de flujo, t_0 , para el disolvente. Por tanto, midiendo la viscosidad de una disolución polimérica a diferentes concentraciones, obtendremos la viscosidad intrínseca, por extrapolación a concentración cero de la recta resultante.



$$[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{\eta - \eta_0}{c \eta_0} = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{t/t_0 - 1}{c}$$

Los valores de viscosidad se han obtenido termostataando el viscosímetro a 25 °C y como disolvente se ha usado ácido dicloroacético, ya que es un disolvente común a todos los polímeros y éstos presentan en él una conformación de ovillo estadístico, de forma que no hay influencia conformacional en las medidas realizadas (Hayash, 1969; Doty, 1956).

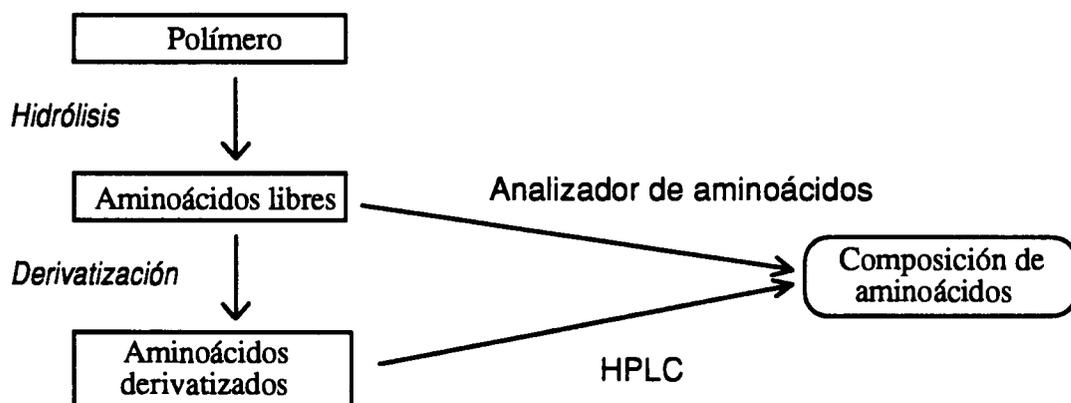
En cuanto a las ecuaciones empíricas para estimar el peso molecular se ha utilizado la de Elias y Schumacher (1964), en DCA referida al nylon 66 por ser éste un polímero similar a los del presente trabajo.

$$\log ([\eta] - 0.5) = -0.453 + 0.551 \log M$$

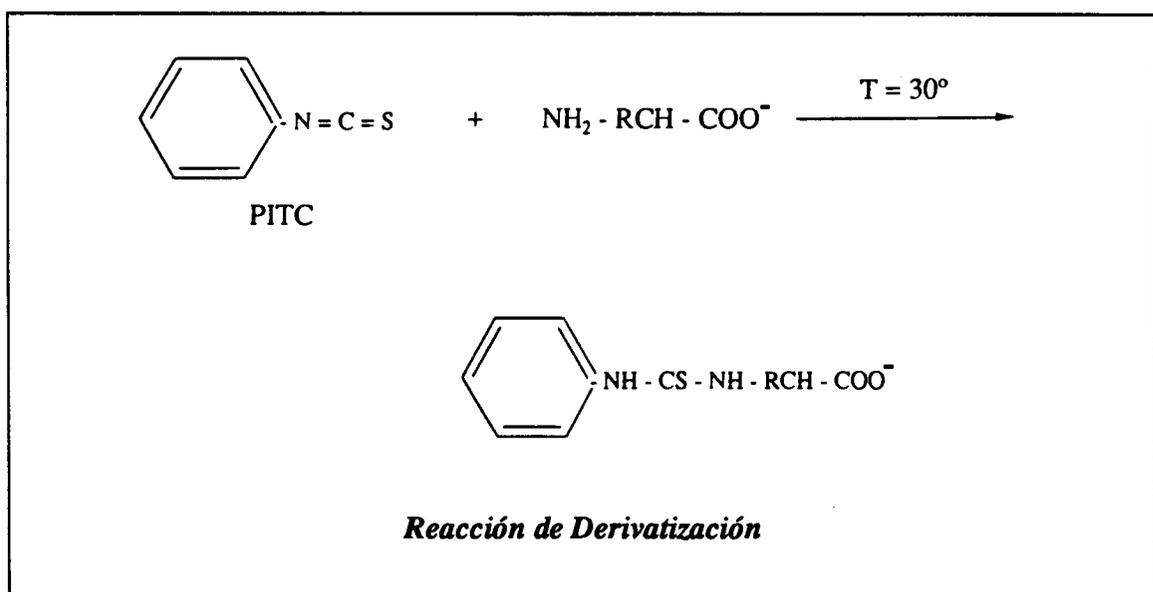
($[\eta]$ expresado en mL/g y para un rango de pesos moleculares entre 150 y 50000)

2.4.6 Análisis de aminoácidos por Cromatografía

La composición de los copolímeros se determinó por análisis de los aminoácidos generados al hidrolizar los polímeros (analizador de aminoácidos), o por análisis de los derivados fenilisocianato de los aminoácidos (HPLC). En los dos casos se puede determinar la composición de los aminoácidos constituyentes del polímero. En el siguiente esquema se pueden observar los pasos que se siguen para realizar el análisis con ambos instrumentos:



La hidrólisis del polímero, etapa común en ambos métodos, se realiza en tubos sellados al vacío, con HCl 6N. Se lleva a cabo a una temperatura de 110 °C, durante 24 horas.



En el analizador de aminoácidos, los componentes a separar se llevan a través de una columna en la fase móvil. La separación ocurre por un intercambio de iones entre la muestra (en la fase móvil) y las resinas (en la fase estacionaria) que empaquetan la columna de intercambio iónico. Los compuestos que tienen iones con diferentes afinidades por la resina pueden ser separados. El análisis se efectúa en un tampón de citrato sódico a pH 2.2.

En cromatografía líquida de alta presión la interacción entre las moléculas de soluto (absorbato) y la fase estacionaria (absorbente) tiene lugar en la superficie de la fase estacionaria. Las moléculas son absorbidas según su diferente polaridad. La muestra hidrolizada se neutraliza con una solución formada por: MeOH/H₂O/TEA (2:2:1) y posteriormente se añade la cantidad necesaria de mezcla derivatizadora (Edman, 1956) recién preparada: MeOH/TEA/H₂O/PITC (7:1:1:1). La derivatización se realiza para que los aminoácidos puedan ser detectados por la luz ultravioleta. El análisis se lleva a cabo en una mezcla de tampón acetato (pH 6) y acetonitrilo al 50% (Jansen *et al.*, 1986).

2.5 Estudio estructural

El estudio estructural de polímeros se basa en datos de difracción de rayos X y de difracción de electrones, dependiendo del grosor y de la morfología de la muestra. Con muestras gruesas (fibras, sedimentos de cristales y muestras en polvo), se emplean los rayos X, mientras que con muestras como films muy delgados o monocristales hay que emplear difracción de electrones.

Las ventajas de la difracción de electrones con respecto a la difracción de rayos X radican en la mayor interacción de los electrones con la muestra, que permite el estudio de muestras de tamaño mucho menor y con tiempos de exposición menores. El inconveniente es el efecto destructivo de los electrones sobre la muestra y la mayor dificultad para relacionar las intensidades de las reflexiones con la disposición de los átomos en el interior de la celda cristalina. En definitiva, existen una serie de diferencias entre el análisis por microscopía electrónica y por rayos X. Las principales diferencias son las siguientes:

- Como resultado de la corta longitud de onda de los electrones la máxima interferencia electrónica aparece a ángulos de difracción pequeños, de tal forma que un diagrama de monocristal obtenido por difracción de electrones incluye espaciados más cortos que un diagrama de difracción de rayos X.

- El tiempo de exposición requerido para tomar una fotografía utilizando microscopía electrónica es del orden de unos pocos segundos, en comparación con unas horas para rayos X.

- La cantidad de muestra que se requiere para obtener una fotografía de difracción de electrones es muy pequeña, debido a la gran interacción de los electrones con la materia. El grosor óptimo es de varios cientos de angstroms, mientras que en rayos X es del orden de algunos milímetros.

- La difracción de electrones puede combinarse con la observación de la morfología y ésto permite determinar el ordenamiento de las celdillas y la orientación de las cadenas moleculares dentro de las unidades estructurales morfológicas.

- La fuerte dispersión de los electrones pasando a través de la muestra se traduce en intensidades de difracción mayores que las producidas en difracción de rayos X en las mismas condiciones.

Todas estas diferencias suponen ventajas de la microscopía electrónica frente a la difracción de rayos X, pero también existen inconvenientes:

- El efecto destructivo que ejerce el haz de electrones sobre la muestra orgánica hace que, aunque la morfología permanezca aparentemente inalterada, ocurra un deterioro de la estructura cristalina, que se manifiesta por la extinción progresiva del diagrama de difracción.

- En la difracción de electrones la interpretación de las intensidades es más complicada debido a la fuerte interacción con la materia, ello hace que los datos de intensidad se suelen valorar sólo de manera cualitativa y aproximada.

- Las muestras para microscopía tienen que estar muy bien cristalizadas. Para tener buenos resultados, en la mayoría de los casos se requiere un cristal simple.

2.5.1 Difracción de rayos X

Los rayos X se generan cuando un haz de electrones de alta energía incide sobre un blanco metálico (generalmente hierro, cobre o molibdeno), dando lugar a un espectro de rayos X, que contiene dos partes: una banda ancha responsable de la radiación continua o radiación blanca y líneas características (K_{α} y K_{β}) que pueden separarse por filtros apropiados. Es necesario seleccionar sólo uno de los picos característicos y eliminar al máximo la radiación continua. La radiación CuK_{α} ($\lambda = 1.542 \text{ \AA}$) filtrada es la más útil para estudios de polímeros.

Hay dos métodos para lograr este tipo de radiación:

a) Mediante un filtro de níquel. El método más usual consiste en situar un filtro de níquel en la trayectoria del haz, en algún punto entre la fuente de rayos X y el sistema de detección. Este filtro absorbe selectivamente la línea espectral K_{β} , aunque disminuye la intensidad del doblete K_{α} . La ventaja principal del filtro de níquel es su simplicidad y bajo coste, mientras que su principal inconveniente es la presencia de un continuo de radiación blanca en el haz filtrado, que se pone de manifiesto en forma de manchas radiales alargadas en las fotografías de difracción de muestras orientadas.

b) Con un monocromador. Normalmente es un monocristal con una de sus caras cortada paralelamente a un conjunto de planos cristalinos importante. En el Departamento, la cámara conectada al generador GX 6 (Elliot) lleva instalado un monocromador de grafito, material muy estable a la acción de los rayos X, que está cortado paralelamente a los planos reticulares 002 ($d_{002} = 3.354 \text{ \AA}$). El uso de monocromadores tiene la ventaja de producir fotografías de difracción "limpias", pero conlleva una disminución apreciable de la intensidad del haz.

Cuando un haz de rayos X monocromático incide sobre una muestra pueden tener lugar dos procesos. Si la muestra tiene una estructura periódica (regiones

cristalinas) los rayos X inciden coherentemente, sin producir cambios en la longitud de onda y sin pérdida de relaciones de fase entre los rayos incidentes y dispersados. Cuando la muestra está compuesta de regiones amorfas y cristalinas los rayos X son dispersados incoherentemente, con cambio en la longitud de onda y fase de los rayos incidentes y dispersados. El primer proceso se mide por dispersión de rayos X de ángulo ancho (WAXS *Wide Angle X-ray Diffraction*) y el segundo por dispersión de bajo ángulo (SAXS *Small Angle X-ray Diffraction*).

Una red cristalina está compuesta por una familia de planos paralelos que se extienden a través de los átomos que la forman (Laue y Bragg, 1913) y que se definen por un triplete de números enteros llamados *índices de Miller*. El modelo geométrico más simplificado es el que asume que las ondas incidentes son reflejadas por estos planos. El espaciado entre un conjunto de planos adyacentes, d_{hkl} (con índices de Miller hkl), puede calcularse a partir de la relación de Bragg:

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

donde n es el número de orden (0,1,2,3...), λ es la longitud de onda de los rayos X y θ es la mitad del ángulo que forman el haz incidente y el difractado. La geometría de la difracción de rayos X se muestra en la Figura [2.1].

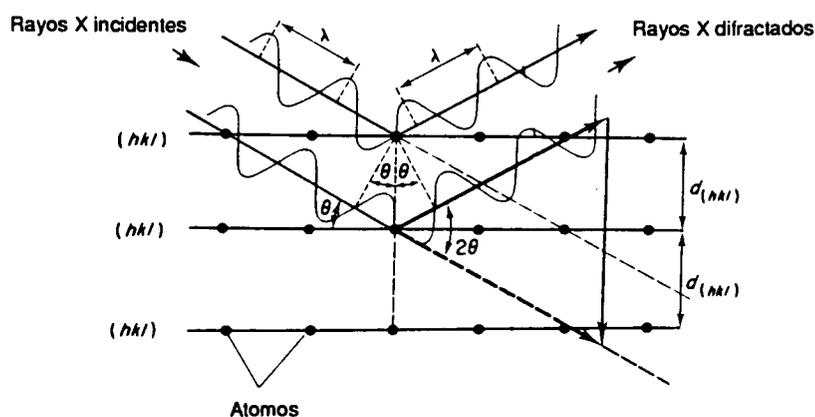


Figura [2.1]. Geometría de la difracción de rayos X en un cristal.

Cada conjunto de planos da lugar a una serie de diagramas de difracción a partir de los cuales se puede determinar las distancias interplanares. En el caso de diagramas de polvo las medidas que se hacen sobre éstos son los diámetros de los anillos \varnothing . En base a la geometría de la difracción se verifican las relaciones siguientes para un anillo de diámetro \varnothing :

$$\theta = 1/2 \text{ arc tg } (\varnothing / 2D_{ef})$$

$$d = 1/2 \text{ sen } (1/2 \text{ arc tg } (\varnothing / 2D_{ef}))$$

siendo d es el espaciado correspondiente al anillo de diámetro \varnothing , observado en el diagrama. Obviamente todas las reflexiones hkl con un mismo espaciado interplanar $d_{hkl} = d$ contribuirán a la reflexión. D_{ef} es la longitud de cámara o distancia entre la muestra y la película sensible. Esta distancia puede conocerse de forma aproximada para cada cámara, lo que permite hacer determinaciones aproximadas de los valores de d en un diagrama de difracción. Sin embargo, para medidas más precisas hace falta calibrar la fotografía mediante algunos valores previamente conocidos de 2θ .

Los patrones utilizados para el calibrado de los diagramas de difracción han sido, dependiendo de la longitud de cámara, la calcita (CaCO_3) y el sulfuro de molibdeno (MoS_2), que presentan anillos de difracción característicos a 3.035 y 6.147 Å respectivamente. Ambos en forma de polvo cristalino, muy fino, que se esparce ligeramente sobre la muestra cuando está en forma de sedimento de cristales o fibra, o bien mezclado con la misma cuando se trata de un capilar.

La intensidad de la difracción registrada por métodos fotográficos, puede calcularse a partir del ennegrecimiento producido en la película sensible como consecuencia de la interacción entre la radiación y las emulsiones de haluros de plata.

La densidad óptica de la película revelada es aproximadamente proporcional a la exposición, por tanto, midiendo cuantitativamente la distribución de densidad óptica sobre la película revelada se pueden calcular las intensidades de los haces de radiación que han incidido, eso sí, de forma relativa. Para ello se ha utilizado un microdensitómetro Joice-Loebl MK III CS, que mide con un fotómetro la cantidad de luz que deja pasar la película al incidir un haz, y la compara con una escala patrón de densidades ópticas. Las medidas de interés en este caso son las densidades integradas.

Cuando se trata de un diagrama desorientado se hace un barrido radial, con el microdensitómetro, perpendicularmente a los anillos, y se integra después el área por debajo de los diferentes máximos de densidad (Figura [2.2]). El área bajo los picos se determina habitualmente por el método de la pesada y, posteriormente, a partir del valor de $\int Ddl$ puede calcularse la intensidad relativa de la reflexión o reflexiones que difractan en los diferentes anillos.

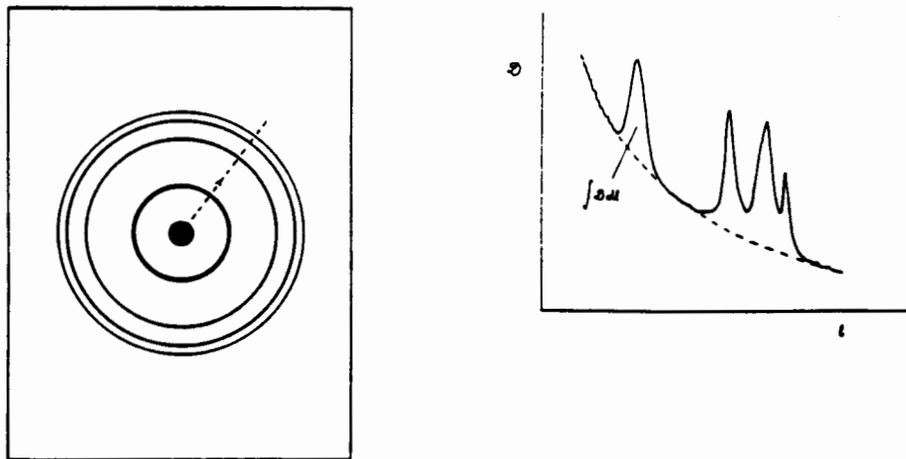


Figura [2.2]. Barrido sobre película y trazado microdensitométrico resultante sobre los anillos del diagrama de difracción de una muestra totalmente desorientada.

En el caso de diagramas orientados uniaxialmente se hace un barrido radial por el centro del arco y perpendicularmente a él (Figura [2.3]). Es conveniente realizar un trazado sobre los cuatro arcos equivalentes y calcular el área media.

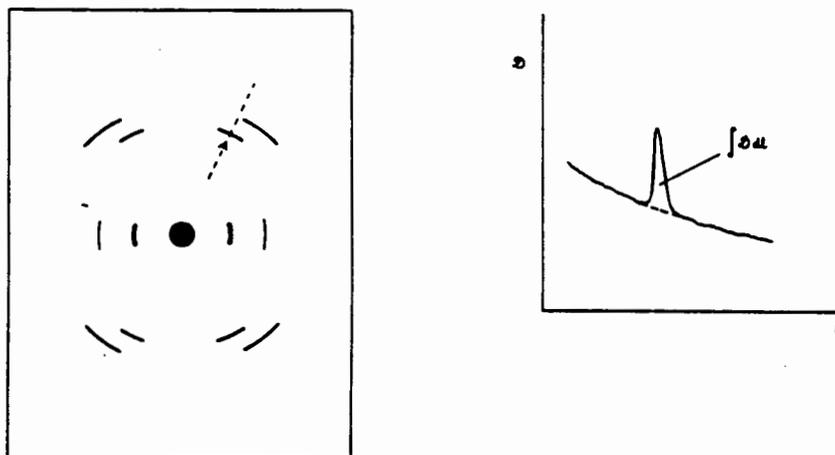


Figura [2.3]. Barrido sobre película y trazado microdensitométrico resultante sobre los arcos del diagrama de difracción de una muestra orientada uniaxialmente.

El factor de estructura "observado", F_e , está relacionado con el área integrada bajo un trazado radial, $\int Ddl$, mediante :

$$|F_e|^2 \propto \frac{\Gamma \int Ddl}{L\rho A}$$

donde L es el denominado *factor de Lorentz*, ρ es el *factor de polarización*, A es una *corrección de absorción* y Γ una *corrección de tipo geométrico* que depende del experimento concreto de difracción.

El factor de polarización surge de la polarización introducida en los rayos X después de ser difractados por los electrones de un átomo. Cuando la monocromatización del haz de rayos X es debida a un filtro de níquel el factor de polarización viene dado por:

$$\rho(\theta) = \frac{1 + \cos^2 2\theta}{2}$$

En cambio, cuando la monocromatización se hace a través de un cristal éste introduce una polarización adicional y el factor de polarización es:

$$\rho(\theta) = \frac{1 + \cos^2 2\theta_M \cos^2 2\theta}{1 + \cos^2 2\theta_M}$$

donde θ_M es el ángulo de Bragg para los planos difractores del monocromador.

El factor de Lorentz depende básicamente de las probabilidades de difracción de los diferentes puntos reticulares y, normalmente, incluye también las correcciones de tipo geométrico derivadas del experimento de difracción. En el caso de muestras desorientadas y película plana la relación que se utiliza en la corrección de las intensidades de difracción obtenidas a partir de fotografías de difracción es la siguiente:

$$\frac{\Gamma}{L} = \text{tg}2\theta \text{ sen}\theta$$

Las correcciones de absorción surgen como consecuencia de los diferentes recorridos de los haces difractados por el interior de la muestra, en función del ángulo de difracción. Para minimizar los efectos de absorción es necesario trabajar con muestras de un grosor entre 0.5 y 1.0 mm.

Por último, hay que tener en cuenta que, tanto en diagramas de difracción desorientados como en diagramas orientados uniaxialmente, hay diferentes reflexiones que se superponen en una misma reflexión observada. Por tanto, la intensidad observada, una vez corregida, será:

$$|_eF|^2 = \sum_{i=1}^I |_eF_i|^2$$

donde $|_eF_i|$ sería la amplitud de difracción correspondiente a la reflexión i -ésima de las intensidades que se superponen en una observada.

2.5.1.1 Preparación de muestras

Para los estudios estructurales de este trabajo se han utilizado datos provenientes de muestras totalmente desorientadas (en polvo) y muestras orientadas (sedimentos de cristales y fibras).

La muestra en polvo se coloca en un capilar de vidrio sin plomo, de paredes delgadas, de unos 0.7-1 mm. de diámetro. El polvo cristalino puede obtenerse por trituración mecánica o por precipitación del polímero de una disolución. El polvo ha de compactarse dentro del capilar para obtener una máxima capacidad de difracción. Un diagrama de polvo consiste en una serie de anillos concéntricos, que serán más definidos cuanto más cristalino sea el polímero a estudiar.

Con una fibra se obtiene un diagrama de difracción que nos proporciona más información que un diagrama de polvo. Al orientarse las cadenas poliméricas según la dirección del estirado se obtiene un diagrama de fibra, con manchas meridionales relacionadas con la repetitividad de la cadena, y manchas ecuatoriales relacionadas con el empaquetamiento lateral de las cadenas. Todo ello permite una mayor facilidad en la asignación de los índices hkl de indexado y en la determinación de la simetría cristalina.

La orientación de las muestras del presente trabajo se realizó a partir del estirado, con una varilla de vidrio, de una masa fundida del polímero. La obtención de fibras por este método está muy condicionada por el peso molecular de la muestra y por el punto de fusión o, más exactamente, por el comportamiento térmico de la misma. Los polímeros con mayor facilidad para ser hilados y de los cuales se disponía una cantidad suficiente, se procesaron en una máquina especial de extrusión de fibras. Posteriormente las fibras se sometieron a un proceso de templado (*annealing*), consistente en primer lugar en el estirado de la misma, en atmósfera de vapor de agua, y en segundo lugar en un estirado bajo tensión constante, en una estufa a una temperatura cercana a 130 °C.

El grado de orientación se ha comprobado cualitativamente con un microscopio óptico de luz polarizada, donde se mide la birrefringencia, indicativa de la orientación. Esta técnica se basa en la anisotropía de la muestra. La fibra orientada se coloca directamente sobre el colimador, procurando alinear con referencia al orificio más pequeño del sistema de colimación. Esta alineación se hace con el proyector de perfiles NIKON.

Además de los diagramas de fibra también existen diagramas prácticamente orientados, procedentes de sedimentos de cristales. Para obtener el sedimento se necesitan como mínimo 20 mg de polímero que es cristalizado en condiciones óptimas, establecidas previamente con una menor cantidad de muestra. La suspensión de cristales, previamente lavada con disolventes apropiados, se deja sedimentar en una columna con un filtro, muy lentamente. Dada la naturaleza lamelar de los monocristales se produce un apilamiento según el eje vertical de las lamelas, que origina una distribución aproximadamente paralela de los ejes moleculares de los polímeros, o lo que es lo mismo, una muestra parcialmente orientada según el eje de apilamiento.

Una información adicional de un diagrama de sedimento de cristales es la aparición de reflexiones meridionales relacionadas con los espesores lamelares, además los órdenes lamelares cercanos a la repetitividad de la cadena molecular quedan reforzados. Un diagrama de este tipo puede proporcionar información acerca de la inclinación de la cadena con respecto a la superficie de la lamela, o sobre el plegamiento molecular en la superficie lamelar, al analizar las reflexiones adicionales (máximos subsidiarios), que aparecen siempre que se dispone de un número reducido de unidades repetitivas en la lamela.

2.5.2 Microscopía electrónica

La microscopía electrónica permite el estudio de los monocristales obtenidos de polímeros, que por su tamaño microscópico (grosor entre 50 y 100 Å) no pueden analizarse por los métodos cristalográficos convencionales.

Con la microscopía óptica, como visualización preliminar, y con la microscopía electrónica, se realiza el estudio de la morfología de los cristales. Con la difracción de electrones, en el propio microscopio electrónico de transmisión, se lleva a cabo el análisis de la estructura. Entre las aplicaciones de la difracción de electrones al estudio de la estructura de polímeros, podemos señalar, como más importantes, la medida del tamaño y grado de perfección de monocristales, grado de cristalinidad, textura de estructuras policristalinas no orientadas y orientación de polímeros.

La técnica de microscopía electrónica de transmisión (TEM) es similar a la de luz visible, empleando un haz de electrones en lugar de un haz de luz y substituyendo las lentes de vidrio por lentes electrostáticas y/o electromagnéticas.

Básicamente, un microscopio electrónico de transmisión consta de un filamento, normalmente de tungsteno o wolframio, que emite electrones térmicos, los cuales son acelerados por aplicación de un alto voltage (50-100 kV). Este haz de electrones es enfocado sobre la muestra por medio de una serie de lentes condensadoras. La longitud de onda del haz de electrones depende del voltaje aplicado mediante la

relación : $\lambda = (1.5 / V)^{1/2}$ (λ en angstroms y V en voltios). En concreto, para voltajes de 80 y 100 kV, que son los normalmente utilizados, las longitudes de onda son 0.041756 Å y 0.037013 Å respectivamente (*Tablas Internacionales de Cristalografía*, Doyle y Cowley, 1974).

La imagen es primero ampliada por la lente objetivo y después es aumentada y proyectada en la pantalla fluorescente por la lente proyectora. La potencia de las lentes se puede controlar variando el voltaje, siendo así posible un cambio rápido en la magnificación del instrumento. Las interferencias que se producen en un frente de onda transmitido por una muestra y que a continuación se ha hecho refractar por una lente originan en el plano focal posterior una imagen de difracción y a continuación una segunda imagen (imagen secundaria) que representa al objeto, y que define el plano de la imagen de la citada lente. El microscopio electrónico permite visualizar alternativamente cualquiera de estas dos imágenes, con lo que es posible llevar a cabo de manera simultánea el análisis de difracción de electrones y la observación morfológica de una misma muestra (Figura [2.4]).

El *poder de resolución* de un microscopio electrónico (detalle más fino que puede resolver) es del orden de la magnitud de onda del haz de electrones, y viene dado por la relación:

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

donde d es la mínima distancia entre dos puntos que puede ser resuelta por el microscopio, n es el índice de refracción del medio y θ es el ángulo de apertura de las lentes del instrumento. Para obtener una mayor resolución se requieren lentes de gran apertura y cortas longitudes de onda.

Cuando un haz de electrones pasa a través de una muestra éste resulta modificado tanto por interacciones elásticas como inelásticas. Los electrones que sufren colisiones inelásticas experimentan un cambio en su velocidad y la energía se transmite al espécimen, mientras que los que sufren sólo colisiones elásticas emergen de la muestra con la misma velocidad y son los responsables de los fenómenos de difracción observados, idénticos a los producidos por radiación electromagnética monocromática. La proporción de electrones dispersados elástica e inelásticamente varía con el potencial de aceleración y el grosor de la muestra. En general, las mejores condiciones para maximizar la dispersión elástica se consiguen reduciendo el grosor y aumentando el voltaje. Por esta razón los experimentos de difracción se realizan a 100 kV y los estudios morfológicos a 80 kV.

La mayoría de los estudios de difracción de electrones se realizan en el mismo microscopio electrónico, aunque es necesario una calibración previa del aparato, para correlacionar las distancias obtenidas del diagrama de difracción con las distancias reales de la red cristalina. Los bajos valores de la longitud de onda de los electrones simplifica enormemente la teoría de la difracción. En efecto, los ángulos de difracción

calculados para los espaciados interplanares normalmente observados son tan pequeños que puede asumirse que $\theta_{hkl} = \sin \theta_{hkl}$, por tanto puede utilizarse la aproximación :

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

L es la longitud de cámara y el producto λL se llama *constante de cámara*. R_{hkl} es la distancia desde la reflexión considerada al centro del diagrama de difracción y d_{hkl} es el espaciado interplanar. El valor de la constante de cámara es función de la magnificación del microscopio electrónico, por lo que es necesario calibrarla con la ayuda de una muestra de estructura cristalina conocida. En el presente trabajo se ha utilizado el oro como patrón (espaciados a 0.408, 0.235, 0.204, 0.144, 0.123, 0.118, 0.102 nm). El indexado del diagrama se lleva a cabo por tanteo y el grado de fiabilidad que se alcanza depende del número y definición de las reflexiones que contiene.

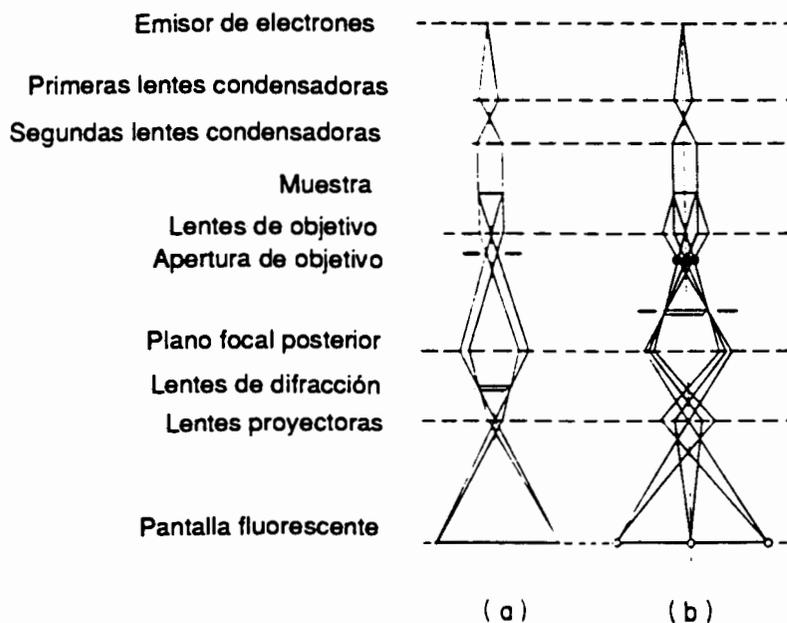


Figura [2.4]. Esquema del modo de funcionamiento del microscopio electrónico de transmisión, (a) en el modo de formación de la imagen secundaria (campo claro) y (b) en el modo de difracción. (Rabek, 1980)

La imagen secundaria se encuentra rotada respecto a la imagen de difracción, por lo que es necesario determinar la rotación relativa para una magnificación y longitud de cámara respectivamente fijadas. Esta calibración se realiza con un cristal con hábito cristalino bien definido y estructura cristalina conocida. En nuestro caso se han utilizado monocristales de óxido de molibdeno.

2.5.2.1 Obtención de monocristales

Los monocristales de los polímeros se obtienen fundamentalmente por dos métodos, dependiendo de si se utiliza un buen o mal disolvente. Un mal disolvente precisa una temperatura de disolución muy alta y el polímero se puede cristalizar también a una temperatura relativamente elevada. Al contrario, si se utiliza un buen disolvente (normalmente, ácido fórmico o ácido dicloroacético), se podrá disolver a temperatura ambiente y la cristalización se ha de hacer mediante un agente precipitante. Por consiguiente, los dos métodos empleados han sido:

- Cristalización isoterma de una disolución diluída del polímero (0.1% peso/volumen). El polímero se disuelve en un disolvente apropiado a la temperatura de disolución correspondiente y posteriormente se deja cristalizar lentamente en un baño de cristalización que está a una temperatura menor. Se varía, pues, disolvente, concentración y temperatura de cristalización. Como disolventes más idóneos se han utilizado glicerina, 1,4-butanodiol, 2- metil- 2,4 pentanodiol y 1,6-hexanodiol, entre otros.
- Precipitación de una disolución diluída del polímero. El polímero se disuelve en un ácido, normalmente a temperatura ambiente o a una temperatura no demasiado alta para evitar la degradación de la muestra, y se precipita (generalmente con agua o con un alcohol). Los parámetros variables en este caso son: concentración, temperatura, disolvente y agente precipitante. Como ácidos, los más utilizados han sido ácido dicloroacético y ácido fórmico, y como agentes precipitantes agua destilada y alcoholes, tipo metanol, etanol, isopropanol y n-butanol.

Una vez obtenidos los monocristales en las condiciones óptimas se centrifugan para separarlos del disolvente, se lavan varias veces y se transpasan a un medio suficientemente volátil, como es el n-butanol.

2.5.2.2 Preparación de muestras

Para la visualización de la muestra por microscopía electrónica se ha de colocar la misma en rejillas especiales, de cobre (3 mm. de diámetro y número de ventanas variable -entre 300 y 400-).

Las rejillas de cobre han de ser cubiertas previamente de un film muy delgado, de un material con una alta transparencia a los electrones (carbono, SiO_2 y polímeros como nitrocelulosa o polivinilo regular) y con un espesor no mayor de 200 Å. El film ha de colocarse sobre la parte mate de las rejillas para lograr una máxima adhesión. En este trabajo se ha utilizado como film de soporte carbono, obtenido por evaporación de un pellet del mismo a alto vacío y colocado sobre las rejillas por flotación sobre agua.

En el caso de la difracción de electrones la muestra se coloca directamente sobre una rejilla con film de carbono. Al visualizar la morfología, la imagen que obtenemos en el microscopio es de toda la muestra que es atravesada por los electrones, por lo que no se aprecian detalles superficiales o del contorno de los cristales. La creación de un sombreado "artificial", permitirá observar la micromorfología de la superficie del cristal con todo detalle y evaluar posteriormente el espesor del mismo. La muestra (colocada sobre una rejilla con film de carbono) se suele sombrear con un metal tipo tungsteno, oro, platino o uranio. En este trabajo se realizó con una mezcla de Pt y C, utilizando un ángulo de sombreado de 15° (Figura [2.5]).

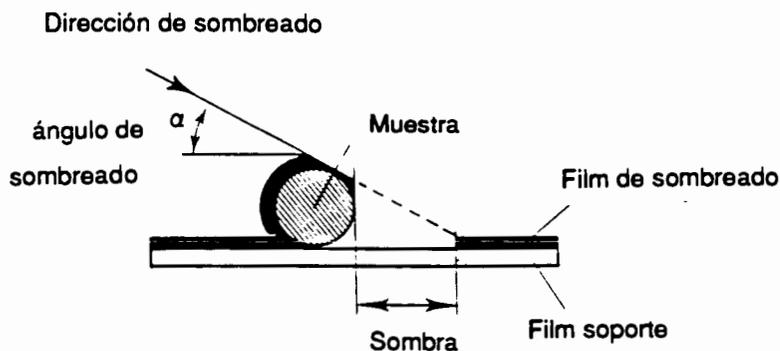


Figura [2.5]. Esquema del proceso de sombreado de una muestra con Pt/C.

2.5.2.3 Cristalización epitaxial de muestras de polímero sobre sustratos orgánicos

Esta cristalización puede explicarse como un anclaje entre ciertos planos cristalinos de dos sustancias que están en contacto y que tienen algunos parámetros cristalinos semejantes. El método se basa en el crecimiento cristalino de la sustancia polimérica sobre las caras de crecimiento de otra sustancia diferente de peso molecular bajo y parámetros cristalinos similares.

La técnica consiste en fundir conjuntamente el polímero y un exceso del sustrato y cristalizar posteriormente una película de la mezcla. Una vez cristalizada se lava con un disolvente adecuado del sustrato orgánico, obteniéndose una película finísima del polímero orientado por la cristalización epitaxial (Wittman *et al.*, 1983, Moss *et al.*, 1984). La orientación del polímero se puede comprobar con el microscopio de luz polarizada, pudiéndose seleccionar las áreas más adecuadas.

Con la cristalización epitaxial, dependiendo del tipo de cristal, se puede acceder a proyecciones cristalinas diferentes a aquellas obtenidas por cristalización en disolución (Moss *et al.*, 1985 y 1986).

Los sustratos utilizados son del tipo hidroquinona o ácido benzoico, caracterizados por poseer una distancia reticular cercana a 4.77 Å. Esto quiere decir que en el caso de las poliamidas, al tener planos separados por esta distancia, dichos planos se situarán perpendicularmente a la superficie del sustrato. Concretamente, en las estructuras laminares (formas α y β), las cadenas estarán colocadas paralelamente al sustrato y por tanto se puede conseguir una información distinta a la obtenida por difracción de electrones de monocristal. En cambio, en las estructuras tipo poliglicina II, al situarse las cadenas perpendicularmente al sustrato, la información obtenida por la epitaxial será análoga a la conseguida por la difracción de electrones del cristal simple. En cualquier caso, la textura de los cristales es más compleja que la obtenida por cristales en disolución, con reflexiones arqueadas, debido a que ahora no hay un monocristal sino muchos cristales juntos.

2.5.2.4 Decoración superficial con polietileno

Esta técnica la desarrollaron Lotz y Wittmann en 1985. El fundamento es el mismo que el de la cristalización epitaxial, sólo que en este caso el polímero es el sustrato y sobre él se deposita una sustancia, de estructura cristalina conocida, que cristaliza sobre los cristales del mismo. Nos permite determinar las características superficiales de las lamelas.

El polietileno que se emplea para decorar se evapora calentándolo al vacío y condensa cristalizando en forma de pequeñas barritas alargadas sobre la superficie de la lamela, con una disposición que viene condicionada por la estructura superficial de ésta. La nucleación que tiene lugar puede poner de relieve la presencia de diferentes dominios de plegamiento de las cadenas (*sectorización*).

En el caso de lamelas de polietileno, cristalizado en una mezcla de xileno-tetracloroetileno (1:1) a 90 °C y decoradas a su vez con polietileno, se observa claramente la orientación preferencial de estas barritas en sectores y disponiéndose perpendicularmente a las caras de crecimiento de los cristales. Por otra parte, dentro de las barritas las cadenas moleculares de polietileno se disponen perpendicularmente a la dirección larga de éstas, es decir a la dirección de plegamiento molecular existente en las lamelas (Figura [2.6]), como se demuestra a partir del estudio del diagrama de difracción de electrones de un sector.

La conclusión importante es la orientación de las cadenas decoradoras inducida por la superficie de plegamiento del sustrato. En este proceso se produce la escisión parcial de las cadenas moleculares de polietileno, que cristaliza epitaxialmente sobre las lamelas del polímero a decorar, en forma de microlamelas

Para efectuar la decoración una cantidad entre 1.5 y 2.5 mg de polietileno de elevado peso molecular se coloca en una "cestilla" de tungsteno. Con el evaporador de alto vacío se evapora este polietileno sobre los cristales y se observan por microscopía electrónica.

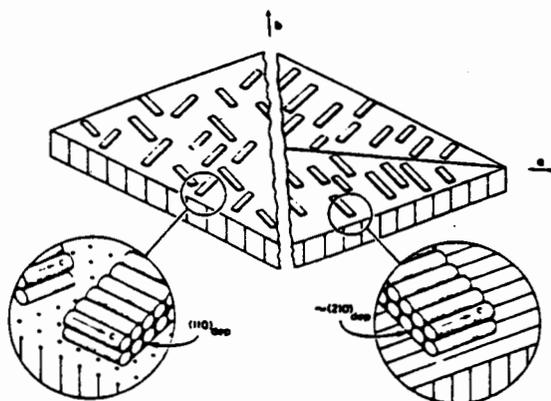


Figura [2.6]. Representación esquemática de la decoración de monocristales con polietileno. A la izquierda, disposición de las lamelas decoradoras sobre la superficie de un monocristal de parafina exento de plegamiento. A la derecha disposición sobre la superficie de un cristal de polietileno con planos de plegamiento, donde se pone en evidencia la sectorización del monocristal. (Wittmann y Lotz, 1985).

2.6 Modelaje molecular

Experimentalmente los datos que se obtienen de diagramas de difracción de rayos X de polvo y de fibra y de diagramas de difracción de electrones, en la mayoría de los casos no son suficientes para poder determinar la estructura cristalina del polímero. Como consecuencia, con métodos cristalográficos convencionales se hace difícil posicionar los átomos con un mínimo de fiabilidad, y normalmente hay más parámetros a refinar que datos de difracción.

El método habitual para el refinamiento de estructuras cristalinas de polímeros consiste en incorporar todo tipo de información estereoquímica al proceso de refinamiento y minimizar de una forma razonable el número de parámetros que hace falta variar. En esencia, se parte del conocimiento "a priori" de la secuencia química del polímero y, mediante valores standards de ángulos y distancias de enlace, se construyen modelos moleculares que, por procedimientos de prueba y ajuste, se refinan hasta conseguir un acuerdo razonable entre las difracciones calculadas y las observadas. En este laboratorio se ha utilizado para ello, el programa LALS (*Linked Atom Least Squares*) (Campbell-Smith y Arnott, 1978). El refinamiento de la estructura de los nylons 1,n estudiados en este trabajo ha sido realizado por el Dr. Jordi Puiggalí.

2.6.1 Análisis del refinamiento

En el refinamiento por mínimos cuadrados de la cristalografía convencional se considera como el mejor ajuste aquel que minimiza la siguiente ecuación:

$$\Phi = \sum_{m=1}^M \omega_m (F_m - F_m^o)^2$$

donde M es el número de reflexiones independientes observadas, F_m^o son las amplitudes de difracción observadas, F_m las amplitudes calculadas a partir de las posiciones atómicas en la celda unidad, y ω_m son los pesos de cada término en Φ , que para ir bien deberían ser proporcionales al grado de confianza de cada observación respectiva F_m .

Si hay P átomos en la celda unidad, con coordenadas fraccionales (x_p, y_p, z_p) , la amplitud de difracción F_m correspondiente a la reflexión $h_m k_m l_m$ se calcula según la siguiente ecuación:

$$F_m = |F_m| = \left| \sum_{p=1}^P f_p \exp\left(-B_p \frac{\sin^2 \theta_m}{\lambda^2}\right) \exp\left[2\pi i(h_m x_p + k_m y_p + l_m z_p)\right] \right|$$

donde F_m es el factor de estructura complejo, f_p es el poder de dispersión o factor de estructura atómico del átomo p-ésimo en reposo, B_p es el denominado factor de temperatura atómico, que representa la reducción del poder de dispersión de los átomos debida a la vibración térmica alrededor de sus posiciones de equilibrio, θ_m es el ángulo de difracción y λ_m la longitud de onda de la radiación utilizada.

Cuando los parámetros que se refinan son las coordenadas fraccionales de los átomos de la celda unidad (x_p, y_p, z_p), el método encontrará serias dificultades de aplicación porque el número de variables es superior al número de observaciones; habría que refinar 4P parámetros, es decir tres coordenadas y un factor de temperatura para cada átomo, y la información que se llega a obtener de un diagrama de fibra no es suficiente.

Un primer intento de reducir el número de parámetros es la definición de las moléculas de polímero mediante *coordenadas internas* (longitudes de enlace, ángulos de enlace y ángulos de torsión), utilizando valores estándar y fijos para los parámetros de enlace. Otra simplificación que se hace es el considerar un factor de temperatura común para todos los átomos.

Sin embargo, al describir las moléculas de polímero mediante coordenadas internas es frecuente que los parámetros no formen un conjunto de variables independientes, con lo que sus valores están sujetos a una serie de restricciones. Estas restricciones, que se han de cumplir exactamente para cualquier conjunto válido de parámetros, se denominan *ligaduras* o restricciones absolutas.

Un ejemplo característico de estas restricciones es la existencia de condiciones de contorno siempre que se define una cadena de polímero mediante la aplicación repetida de operaciones de simetría, helicoidal o bien de traslación, sobre una unidad asimétrica o *residuo*. El conjunto de parámetros que definen la geometría de la unidad asimétrica ha de cumplir que la "cola" de dicha unidad se una a la "cabeza" de la unidad asimétrica siguiente. La restricción puede ser, por ejemplo, que las longitudes de enlace y ángulos de enlace entre las dos unidades tengan valores estándar. Normalmente, para tratar este problema de las restricciones absolutas se utiliza el método de los multiplicadores de Lagrange. Por tanto, se tiene hasta ahora que el mejor ajuste se obtiene minimizando:

$$\sum_{m=1}^M \omega_m (F_m - F_m^2) + \sum_{r=1}^R \lambda_r G_r$$

Las constantes λ_r se denominan *multiplicadores indeterminados de Lagrange* y permiten tratar el problema como si las variables fuesen linealmente independientes; G_r es la función lineal para expresar las ligaduras entre los parámetros.

Como se ha comentado anteriormente, los datos obtenidos de experimentos de difracción de polímeros semicristalinos, suelen ser insuficientes para llevar a término una determinación estructural completa, por lo que es necesario complementar los datos de difracción con información de tipo estereoquímico. Además de fijar las distancias y los ángulos de enlace a valores estándar, se puede también por ejemplo, si en el sistema hay puentes de hidrógeno, predecir los valores de las distancias y los ángulos de los puentes en el modelo. Esto se hace basándose en los valores ya conocidos de otros modelos relacionados. Una fuente de información muy importante es que el modelo molecular obtenido ha de respetar las distancias mínimas aceptables entre átomos no enlazados (distancias de *Van der Waals*). La manera de introducir toda esta información estereoquímica en el proceso de refinamiento es en forma de término cuadrático a minimizar en la suma de mínimos cuadrados:

$$\sum_{t=1}^T k_t (\langle d_t \rangle - d_t)^2 = \sum_{t=1}^T k_t \Delta d_t^2$$

T es el número de datos estereoquímicos a considerar en el refinamiento, $\langle d_t \rangle$ es el valor esperado de la relación entre parámetros, d_t es el valor calculado a partir del modelo, y k_t es un peso proporcional al grado de confianza de $\langle d_t \rangle$.

Con todas las consideraciones que se han tenido en cuenta resulta que el mejor ajuste por mínimos cuadrados se obtendrá minimizando la siguiente función:

$$\Omega = \sum_{m=1}^M w_m (O F_m - F_m)^2 + \sum_{t=1}^T k_t (\langle d_t \rangle - d_t)^2 + \sum_{r=1}^R \lambda_r G_r$$

cuyos términos ya han quedado definidos.

2.6.2 Estrategia del refinamiento

En lo referente a la estrategia del refinamiento, primero se obtiene toda la información estructural de las fotografías de difracción de rayos X y de difracción de electrones, es decir, las características geométricas de retículo y las intensidades de difracción; y en segundo lugar se construyen los modelos. Para construir el modelo lo primero que hay que conocer es la composición química y secuencia de los polímeros. Para ello se siguen una serie de etapas básicas:

1. Se genera una hélice, definiendo un residuo básico en coordenadas internas, con valores estándar de distancias y ángulos de enlace. Utilizando como variables los ángulos de torsión y los parámetros de orientación se construyen todos los modelos de la cadena compatibles con las observaciones experimentales. Se

aplican las condiciones de contorno adecuadas al parámetro reticular observado del eje de la cadena y a la simetría helicoidal considerada. En esta etapa hay que explorar: diferentes simetrías helicoidales compatibles con los datos de difracción, ángulos conformacionales en dominios diferentes, hélices dextrógiras o levógiras, hélices dobles o sencillas y dobles hélices paralelas o antiparalelas.

2. Se estudia el empaquetamiento de la hélice de los diferentes modelos estereoquímicamente aceptables, teniendo en cuenta el que no haya contactos y que los puentes de hidrógeno se formen con valores de distancias y ángulos aceptables. En particular, hay que considerar empaquetamientos paralelos o antiparalelos cuando la molécula tiene polaridad.
3. Se calculan las difracciones de rayos X y de electrones teóricas de los modelos definidos en la etapa anterior, y se comparan con los experimentales. En las *Tablas Internacionales de Cristalografía* (Doyle y Cowley, 1974) se pueden encontrar los factores de estructura atómicos para difracción de electrones para los diferentes átomos e iones. Los factores de estructura para difracción de electrones están relacionados con los respectivos factores para difracción de rayos X, mediante una relación, que ha sido corregida por Bella (1991b), considerando la introducción de efectos relativistas, ya que se habían calculado con la masa del electrón en reposo.

En cualquiera de las tres etapas es conveniente introducir toda la información adicional posible, como puede ser la formación de puentes de hidrógeno intermoleculares e intramoleculares o las observaciones derivadas de la morfología de monocristales lamelares, entre otras.

Con este método es difícil determinar si el mejor ajuste obtenido es el mejor ajuste posible, por lo que es necesario analizar todos los modelos estereoquímicamente correctos compatibles con los datos de difracción observados. Para medir el grado de acorde entre los factores de estructura observados y calculados se utiliza el índice R convencional:

$$R = \frac{\sum |oF_m - F_m|}{\sum oF_m}$$

Cuanto más bajo es R mejor se considera el acuerdo entre las observaciones experimentales y el modelo teórico. En el caso de los polímeros, un modelo es razonable cuando muestra un índice R inferior a un 20%.