

“SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE POLÍMEROS
BIODEGRADABLES A PARTIR DE LA SEMILLA DE
TAMARINDO”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIA
E INGENIERÍA DE MATERIALES

P R E S E N T A

I.Q. DANIELA WALLANDER ROMERO

Tutor:
M. en I.Q. Alicia Del Real López

México, DF.

2012



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Resumen

En México la semilla de tamarindo es considerada como desecho, la cual es un importante subproducto en la industria del Tamarindo. Este material tiene múltiples aplicaciones que van desde el ámbito alimenticio hasta el medicinal, como emulsificantes, agentes espesantes, etc. Las películas de la semilla de tamarindo por sí solas contienen propiedades de baja resistencia, ya que por la estructura entrecruzada de los polisacáridos de la semilla estas películas tienden a ser muy quebradizas. Muchos biopolímeros desarrollados hasta el momento con variadas aplicaciones, se han modificado a través de la familia de monómeros sintéticos que son los acrílicos. El monómero acrilato de etilo, por sus propiedades físicas, se ha utilizado en muchos trabajos de investigación como copolímero principalmente, para la mejora de propiedades en la síntesis de polímeros. En el presente trabajo de tesis se hizo reaccionar el polisacárido de la semilla de tamarindo en polvo y el acrilato de etilo para obtener un injerto de estos dos materiales a través de una polimerización de radicales libres en solución. El injerto de estos dos materiales se comprobó con espectroscopia (infrarroja y resonancia magnética nuclear). La modificación de la semilla de tamarindo habiendo injertado el acrilato de etilo mejoró las propiedades mecánicas de este nuevo material sintetizado, las cuales se pudieron observar con la realización de pruebas mecánicas de tensión. Se caracterizó el material por análisis térmico (calorimetría diferencial de barrido y análisis termogravimétrico) para observar el cambio de las propiedades térmicas y con microscopía electrónica de barrido se observó la morfología. El polímero injertado fue sometido a un proceso de biodegradación de incubado en donde la cepa bacteriana BQ1 fue capaz de probar la biodegradabilidad del material. De los resultados se obtuvo que los materiales fueron injertados, debido a que en resonancia magnética nuclear ^{13}C sólo aparece la señal del polímero sintético (grupo alcoxi), por lo que se puede decir que esta injertado o incorporado en el esqueleto del polisacárido de la semilla de tamarindo y que de algún modo está adoptando las propiedades de relajación de éste último. Las propiedades del polímero injertado se mejoraron comparadas con las películas de semilla de tamarindo en polvo, esto al incrementarse su módulo elástico y su resistencia conforme se aumentaba la cantidad de semilla de tamarindo en el material polimérico. El análisis de los polímeros sintetizados sometidos a las pruebas de biodegradación mostraron que se estaban llevando a cabo dos tipos de degradaciones: hidrólisis esteárica e hidrólisis enzimática, siendo la primera el mecanismo principal de degradación.

Abstract

Tamarind seed is an important by-product of the tamarind industry and in some countries (e.g., Mexico) it is even considered as waste. This material have led to several applications that go from food to medical usage. The tamarind seed films by themselves contain low-mechanical properties, due the structure of polysaccharides crooslinked this films tend to be very brittle. The development of biopolymers is mostly done through a family of synthetic polymers, the family of acrylate polymers. The ethyl acrylate monomer, due to its physical properties is uses in many research works mainly as a copolymer, in order to improve the properties in polymer synthesis. In this work react tamarind seed powder and ethyl acrylate by grafting a free radical polimerization in solution. The graft of these two materials will be show with IR and NMR, wich are observed in the structure of this new material.The modification of the tamarind seed grafting the poly(ethyl acrylate) will improve the mechanical properties of this new material synthesized, which can be observed with the mechanical testing. The material is characterized by thermal analysis (DSC and TGA) to observe the change of thermal properties and by SEM to observe the morphology. The new synthesized material will undergo a process of biodegradation incubated , where the bacterial strain (BQ1) will be able to prove the biodegradation of the material. From the results it was found that the materials were grafted, NMR ^{13}C is shown only part of the synthetic polymer (alkoxy group), so can say that this grafted or embedded in the skeleton polysaccharide of tamarind seed and that somehow is taking the relaxation properties of the polysaccharide. The polymer properties were improved by increasing its resistance and its elastic modulus is increased as the amount of tamarind seed in the polymeric material. The analysis of polymers subjected to biodegradation tests showed that they were carrying out two types of degradation: hydrolysis and enzymatic hydrolysis stearin, the latter being the main mechanism of degradation.

A mis padres. Daniel y Cecilia

Deseo expresar mi agradecimiento a todos aquellos que han hecho posible la realización de este trabajo y en particular a las siguientes personas:

A los académicos del Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada (CFA-TA):

Dra. Genoveva Hernández Padrón (apoyo en la elaboración de espectros de FT-IR y la ayuda en el análisis)

Dr. Domingo Rangel Miranda (apoyo técnico en instrumentación)

Laboratorista Antonio Loeza (por su apoyo a lo largo de todo el proyecto)

Q. Ma. Concepción Arredondo de las Rosas (apoyo en el uso de su laboratorio)

M. en C. Guillermo Vázquez Ramos (apoyo en sistemas)

A todo el personal administrativo por su ayuda y paciencia cada vez que necesitaba algo. A la física Rosa Elena López y sobre todo a la Sra. Judith y a Paloma Adriana Calderón por su gran gentileza y apoyo mostrado durante todo este tiempo.

A los académicos del Instituto de Investigación en Materiales (IIM):

M. en C. Esteban Fregoso Vázquez (apoyo en la elaboración de análisis térmicos)

I. Q. Gerardo Cedillo Valverde (apoyo en la elaboración y análisis de espectros de resonancia magnética nuclear)

I. Q. Ernesto Sánchez Colín y Dr. Alfredo Maciel Cerda (apoyo en pruebas mecánicas)

A los académicos de la Facultad de Química:

Dra. Herminia Loza Talavera (por su apoyo y paciencia en la realización de las pruebas de biodegradación.

Laboratorista Martín Pedro Vargas Suárez por su gran interés en este proyecto y la disposición siempre mostrada

A la Q. en A. Luz Elena Moreno González por toda la experiencia e ideas aportadas durante la realización de las pruebas de biodegradación de este proyecto y, por la gran disposición de tiempo que mostraste. Gracias!

A mi comité tutor:

M. en I.Q. Alicia del Real López

Dra. Genoveva Hernández Padrón

Dr. Alfredo Maciel Cerda

Por la constante motivación para la realización de éste trabajo, así como las aportaciones de ideas durante el tiempo que logre tenerlos como profesores.

A CONACyT por el apoyo económico otorgado.

Y por último y más importante a todas esas personas que estuvieron conmigo a lo largo de ésta etapa de mi vida.

Índice de abreviaturas

XG	Xiloglucanos
IR	Infrarrojo
TGA	Análisis termogavimétrico (Termogavimetric analysis)
DSC	Calorimetría diferencial de barrido (Differential scanning calorimetry)
RMN	Resonancia magnética nuclear
2STC60	Semilla de tamarindo precocida y tamizada en malla numero 60
PEA	Poli(acrilato de etilo)- Poly(ethyl acrylate)
PEAS	Polimero sintetizado conteniendo poli(acrilato de etilo) y semilla de tamarindo
LB	Medio luria bertain
BQ1	Cepa de bacteria del tipo <i>Alicycliphilus sp.</i>
MB	Medio basal
MM	Medio mínimo
PC	Polímero control (PEAS 7:3 en pruebas de biodegradación)
PBQ1	Polímero PEAS 7:3 con bacteria BQ1
DO	Densidad óptica
OV	Toda la noche (Over-night)
u.a	Unidades arbitrarias

Índice general

1. Antecedentes	18
1.1. Generalidades sobre las macromoléculas	18
1.1.1. Procesos de polimerización	19
1.2. Estructura molecular	20
1.3. Polímeros acrílicos	20
1.4. Principales polímeros naturales	20
1.4.1. Carbohidratos	20
1.4.2. Polisacáridos	22
1.4.3. Xiloglucanos (XG)	24
1.5. Semilla de tamarindo	24
1.5.1. Polisacárido de la semilla de tamarindo	27
1.5.2. Xiloglucano de la semilla de tamarindo	27
1.5.3. Usos de la semilla de tamarindo	29
1.6. Polímeros biodegradables	30
2. Técnicas de caracterización	37
2.1. Bromatología	37
2.2. Espectroscopia	37
2.2.1. Espectroscopia Infrarroja	37
2.2.2. Espectroscopia de resonancia magnética nuclear	41
2.3. Análisis térmico	42
2.3.1. Análisis termogravimétrico	42
2.3.2. Calorimetría diferencial de barrido	43
2.4. Propiedades mecánicas	44
2.5. Microscopia electrónica	45
2.5.1. Microscopia electrónica de barrido	46
2.6. Biodegradación de polímeros	47
2.6.1. Microorganismos para la hidrólisis enzimática	48
2.6.2. Hongos	48
2.6.3. Bacterias	49
2.6.4. Enzimas	51
2.6.5. Mecanismo general de degradación	52
2.6.6. Técnicas de monitoreo de la biodegradación de un material polimérico	53

2.6.7. Aislamiento de cepa <i>Alicyclophilus sp.</i>	55
3. Metodología experimental	57
3.1. Materiales	57
3.1.1. Monómero libre de inhibidor	57
3.1.2. Obtención de la semilla de tamarindo en polvo	58
3.2. Síntesis del polímero biodegradable	59
3.3. Caracterización de los polímeros	65
3.3.1. Análisis bromatológico	65
3.3.2. Espectroscopia infrarroja (IR)	65
3.3.3. Resonancia magnética nuclear(NMR) de Hidrógeno -1	66
3.3.4. Análisis térmico	66
3.3.5. Pruebas mecánicas	67
3.3.6. Microscopia electrónica de barrido	67
3.3.7. Pruebas de biodegradación	68
3.3.8. Determinación de peso seco y húmedo	73
4. Análisis y discusión de resultados	75
4.1. Análisis térmico de los polvos de la semilla de tamarindo obtenidos en diferentes procesos	75
4.2. Análisis bromatológico de la semilla de tamarindo	77
4.3. Espectroscopia Infrarroja	77
4.3.1. Polvo de semilla de tamarindo	77
4.3.2. Poli(acrilato de etilo)	79
4.3.3. PEAS, polímeros sintetizados (polvo de semilla de tamarindo + acrilato de etilo)	80
4.4. Resonancia magnética nuclear (NMR)	83
4.4.1. Espectros de 1H	83
4.4.2. Espectros de ^{13}C	86
4.4.3. Comparativo de espectros en método sólido y gel (PEAS 9:1 y PEAS 5:5)	88
4.5. Análisis térmico	89
4.5.1. Análisis termogavimétrico	89
4.5.2. Calorimetría diferencial de barrido	91
4.6. Pruebas mecánicas	93
4.7. Microscopía electrónica de barrido	95
4.7.1. Poli(acrilato de etilo)	95
4.7.2. PEAS	96
4.7.3. Bacteria BQ1	98
4.8. Pruebas de biodegradación 12 días	99
4.8.1. Microscopia electrónica de barrido	101
4.8.2. Espectroscopia infrarroja	101
4.8.3. Análisis termogavimétrico	102

<i>ÍNDICE GENERAL</i>	10
4.8.4. Calorimetría diferencial de barrido	103
4.9. Pruebas de biodegradación	104
4.9.1. Biodegradación PEA y PEAS (9:1, 8:2 y 7:3)	104
4.9.2. Análisis por espectroscopia infrarroja cercana (NIR)	112
5. Conclusiones	115
6. Perspectivas	117
7. Anexos	124
7.1. Anexo 1: Usos alimenticios y no alimenticios de la semilla de tamarindo . . .	124

Índice de figuras

1.1. Poli(acrilato de etilo)	19
1.2. Grupos funcionales característicos en los carbohidratos	21
1.3. Ciclación de la glucosa	22
1.4. Enlaces α y β -glucosídico en los glúcidos	23
1.5. Entrecruzamiento entre xiloglucanos y microfibras de celulosa	24
1.6. Representación de la semilla de tamarindo cortada transversalmente	25
1.7. Xiloglucano de la semilla de tamarindo, a) estructura resumidas en las que se puede presentar el XG , b) estructura general del XG	28
1.8. Diagrama de bloques de los biopolímeros mas importantes	33
1.9. Disposición de los polímeros biodegradables (Prof. Narayan, MSU).	34
1.10. Principales regiones consumidoras de polímeros biodegradables	35
1.11. Tendencias del mercado en polímeros biodegradables	35
2.1. Muelle entre átomos	39
2.2. Diagrama general de un equipo de RMN	42
2.3. Máquina universal de ensayos mecánicos, donde se lleva a cabo un ensayo de tracción	45
2.4. Interacción del haz de electrones con la muestra	46
2.5. Proceso de biodegradación enzimática	48
2.6. Principales formas de hongos	49
2.7. Principales formas de bacterias	49
2.8. Crecimiento poblacional de bacterias	50
2.9. Proceso de biodegradación enzimático	52
2.10. Diagrama de bloques de las diferentes técnicas de monitoreo de biodegradación de un polímero	53
3.1. Proceso de eliminación del inhibidor del monómero	57
3.2. Proceso de obtención del polvo de la semilla de tamarindo	60
3.3. Formación propuesta de puentes de hidrógeno	62
3.4. Mecanismo propuesto del copolímero injertado (<i>D. Roy et al., 2009; Ghosh et al., 2010</i>)	63
3.5. Cuadro metodológico del desarrollo experimental	64

3.6. Representación de la preparación de las muestras para la observación en forma transversal	68
3.7. BQ1 activada en medio LB	72
3.8. Ejemplos de las películas de PEAS que fueron sometidas en las pruebas de biodegradación	73
3.9. Metodología resumida del proceso de biodegradación para PEA y PEAS	74
4.1. Termogramas de TGA y su derivada, de los procesos de obtención del polvo de la semilla de tamarindo, 1ST60 (sin cocimiento y secada), 2STC60 (cocida y secada a 45 °C), 3STC60 (cocida y secada a 120 °C	75
4.2. Termogramas de polvos de semilla de tamarindo (1,2,3) por DSC	76
4.3. Espectro FT-IR por ATR del polvo de la semilla de tamarindo	79
4.4. Espectro de FT-IR por ATR del Poli(acrilato de etilo)	80
4.5. Espectros FT-IR por ATR comparativos de los polímeros sintetizados y las materias primas	81
4.6. Espectros FT-IR por ATR comparativos de los polímeros sintetizados y las materias primas	82
4.7. Espectros FT-IR por ATR comparativos de los polímeros sintetizados y las materias primas	82
4.8. Espectro RMN ¹ H del PEA	83
4.9. Posibles agrupaciones de las moléculas del PEA	84
4.10. Espectro RMN ¹ H del PEA y los polímeros injertados (PEAS)	86
4.11. Espectro RMN ¹³ C de los polímeros sintetizados	87
4.12. Espectros comparativos de ¹³ C en método gel y sólidos del PEAS 9:1	88
4.13. Espectros comparativos de ¹³ C en método gel y sólidos del PEAS 5:5	89
4.14. Termograma de análisis termogravimétrico de 2STC60, PEA y PEAS (5:5, 6:4, 7:3, 8:2 y 9:1)	90
4.15. Termograma de calorimetría diferencial de barrido para 2STC60, PEA y PEAS (5:5, 6:4, 7:3, 8:2 y 9:1)	92
4.16. Pruebas de tracción	95
4.17. Micrografía de PEA en forma transversal	95
4.18. Micrografías de PEAS 9:1	96
4.19. Micrografías de PEAS 8:2	97
4.20. Micrografías de PEAS 7:3	97
4.21. Micrografías de PEAS 6:4	98
4.22. Micrografías de PEAS 5:5	98
4.23. Micrografías de BQ1 incubadas en medio LB durante 24 horas, a) 2500 X y b) 5000 X	99
4.24. Formación de biopelícula de BQ1	99
4.25. Curvas de crecimiento de BQ1 en PEAS 7:3 (0.3 %, 0.6 %, 1.2 %, 2.4 %)	100
4.26. Micrografía de películas de PEAS 7:3, sin y con bacteria BQ1 a 12 días de incubación	101
4.27. Espectro FT-IR de PEAS 7:3 con y sin BQ1 durante 12 días	102

4.28. Termogramas de análisis termogavimétrico de PEAS 7:3 antes y después de haber sido sometido a biodegradación	103
4.29. Termogramas de calorimetria diferencial de barrido de PEAS 7:3 antes y después de haber sido sometido a bioderadación	104
4.30. Espectro FT-IR de la biodegradación de PEA (3 y 6 semanas)	105
4.31. Micrografías de películas de PEA, sin bacteria BQ1 a 3 y 6 semanas de incubación	106
4.32. Micrografías de películas de PEA, con bacteria BQ1 a 3 y 6 semanas de incubación	106
4.33. Espectro FT-IR por ATR de la biodegradación de PEAS 9:1 (3 y 6 semanas)	107
4.34. Micrografías de películas de PEAS 9:1, sin bacteria BQ1 a 3 y 6 semanas de incubación	108
4.35. Micrografías de películas de PEAS 9:1, con bacteria BQ1 a 3 y 6 semanas de incubación.	108
4.36. Espectro FT-IR de la biodegradación de PEAS 8:2 (3 y 6 semanas).	109
4.37. Micrografías de películas de PEAS 8:2, sin bacteria BQ1 a 3 y 6 semanas de incubación.	110
4.38. Micrografías de películas de PEAS 8:2, con bacteria BQ1 a 3 y 6 semanas de incubación	110
4.39. Espectro FT-IR por ATR, de la biodegradación de PEAS 7:3 (3 y 6 semanas)	111
4.40. Micrografías de películas de PEAS 7:3, sin bacteria BQ1 a 3 y 6 semanas de incubación	111
4.41. Micrografías de película de PEAS 7:3, con bacteria BQ1 a 3 y 6 semanas de incubación	112
4.42. Espectros de NIR por ATR del PEAS 7:3 antes y después de incubación de 6 semanas	113
4.43. Espectros de NIR por ATR del PEAS 8:2 antes y después de incubación de 6 semanas	113

Índice de tablas

1.1. Clasificación de los monosacáridos por el número de carbonos contenidos . . .	21
1.2. Composición de las partes de la semilla de tamarindo	25
1.3. Composición de la semilla de tamarindo	26
1.4. Aminoácidos presentes en la semilla de tamarindo	26
1.5. Propiedades físicas de la semilla de tamarindo	27
1.6. Contenido mineral en la semilla de tamarindo	29
1.7. Consumo global de polímeros biodegradables	34
2.1. Modos de vibración de una molécula de 3 átomos	40
3.1. Relaciones acrilato de etilo: Semilla de tamarindo, porcentaje en peso usado en este trabajo.	61
3.2. Cantidades a reaccionar de monómero:semilla de tamarindo en polvo y de iniciador	62
3.3. Cantidades para las pruebas de degradación de PEAS a diferentes concentraciones	71
4.1. Composición de la semilla de tamarindo	77
4.2. Valores de espectro IR de 2STC60	78
4.3. Frecuencias de estiramiento de los principales grupos funcionales del PEA . .	80
4.4. Valores obtenidos del espectro de PEA	84
4.5. Ambientes químicos en el PEA	84
4.6. Desplazamiento químico comparativo de espectros 1H de los PEAS	85
4.7. Desplazamiento químico comparativo de espectros ^{13}C de los PEAS	88
4.8. Desplazamientos químicos de NMR ^{13}C geles y sólidos del PEAS 9:1	89
4.9. Desplazamiento químico ^{13}C en método gel y sólido del PEAS 5:5	89
4.10. Temperatura de degradación térmica de los polímeros sintetizados	91
4.11. Temperatura de transición vítrea de los polímeros sintetizados	92
4.12. Resultados de las pruebas de tensión	94
4.13. Formación de biomasa de BQ1 en PEAS (0.3 %, 0.6 %, 1.2 % y 2.4 %)	100

Introducción

Los materiales plásticos tradicionales exhiben un tiempo muy largo de descomposición ambiental, lo cual representa un serio problema con la larga vida de la basura plástica. Por esta razón se ha mostrado el gran interés sobre el estudio de materiales que sean de origen natural.

El estudio y la utilización de polímeros naturales es una ciencia antigua. Los ejemplos típicos son el papel, la seda, la piel y el hueso. Estos polímeros naturales llevan a cabo un diverso conjunto de funciones en su entorno nativo. Por ejemplo, los polisacáridos tienen una gran función en las membranas y la comunicación intracelular; proteínas funcionan como materiales estructurales y catalizadores, y los lípidos funcionan como reservas de energía y así sucesivamente. La naturaleza puede proporcionar una cantidad impresionante de polímeros (aproximadamente un billón de toneladas al año) que pueden ser utilizados como fibras, revestimientos, geles, espumas, películas y resinas termoestables. Los polisacáridos son materiales producidos a partir de compuestos biológicos, y por lo general no son tóxicos y son biodegradables. Se debe de estudiar la estructura de los polímeros naturales, debido a que por los atributos de estos biopolímeros pueden ayudar a desarrollar nuevas aplicaciones de estos biomateriales. La inherente biodegradabilidad de los biopolímeros, también significa que se debe de estudiar, principalmente, en la prevención prematura de la degradación, así como otros problemas en los que son recurrentes como el control de humedad y pérdida de propiedades mecánicas. Amplias gamas de polímeros de origen natural que se derivan de recursos renovables los cuales están disponibles para las aplicaciones de diversos materiales (Charles et al., 1983.; Fuller et al., 1996;. Kaplan, 1998; Scholz y Gross, 2000; Gross y Scholz, 2001). Algunos de ellos (por ejemplo, almidón, celulosa y caucho), se utilizan activamente en los productos hoy en día, mientras que muchos otros permanecen infrautilizados.

La modificación de polímeros ha recibido una mayor atención a la luz de la escasez de materiales de partida necesarios para la síntesis de nuevos monómeros para obtener mejores materiales poliméricos. A veces, el equilibrio de las propiedades que se necesitan se hace posible sólo a través de la modificación de los polímeros. Los polímeros se modifican si se requieren lograr propiedades específicas, como una mayor estabilidad térmica, compatibilidad, flexibilidad, rigidez, degradación, entre otras. Las modificaciones pueden hacer a un polímero insoluble después de haber sido soluble o viceversa. Una de las direcciones recientes en relación con la modificación de polímeros está destinada a evitar su naturaleza no biodegradable.

Los polímeros son cadenas moleculares muy largas de átomos de carbono, a menudo ramificados como un árbol o unidas transversalmente en varias direcciones. Estas cadenas pueden ser proporcionados por la naturaleza, como en el caso del polisacárido de la semilla de tamarindo o la celulosa (E. B. Hermida, 2008).

Las técnicas principales para la modificación de polímeros son el injerto, la reticulación, mezclado y, la formación de materiales compuestos que son todos los sistemas de polímeros con multicomponentes. La funcionalización de polímeros injertados de materiales sintéticos con naturales se puede dar por tres vías: a) Polímeros sintéticos previamente formados uniendo cadenas de polímero a la cadena principal de un polímero natural (*injerto*), b) Crecimiento de nuevas cadenas de polímero sintético en los sitios de radicales en la columna vertebral del otro polímero (*injerto del*), c) Introducción de grupos vinilos a un polímero natural y la copolimerización de polímeros resultantes con un monómero de pequeño peso molecular (*a través de injerto*). Tales materiales han atraído una atención considerable en el sector industrial ya que combinan una variedad de componentes funcionales en un solo material. Los copolímeros de injerto son macromoléculas ramificadas, en la que las ramas son de un tipo diferente de la columna vertebral del polímero. Tienen una variedad de aplicaciones potenciales resultantes de la amplia disponibilidad de propiedades, cuando diferentes cadenas de polímeros están conectados para formar macromoléculas ramificadas híbridas.

La biodegradación de los polímeros se lleva a cabo por dos tipos de microorganismos diferentes, las bacterias y los hongos. Estos microorganismos actúan de forma que su metabolismo enzimático realiza una catálisis enzimática, donde en un principio los microorganismos liberan enzimas extracelulares, las cuales depolimerizan a las cadenas del polímero y utilizan éstas cadenas de polímero como fuente de carbón.

En este trabajo se describe la modificación de dos polímeros de diferente naturaleza como lo son la semilla de tamarindo y el poli(acrilato de etilo), a fin de obtener un copolímero. Se realizó un mecanismo de injerto para complementar las propiedades físicas que poseen. Para realizar el injerto de estos materiales, se llevó a cabo una polimerización por radicales libres en solución, con el fin de utilizar la estructura del polisacárido de la semilla de tamarindo como el esqueleto del nuevo material polimérico e injertar el monómero (acrilato de etilo) por la formación de radicales libres. El injerto de estos dos materiales permitió la producción de cadenas poliméricas del tipo éster las cuales son susceptibles a la degradación. Se usarán bacterias con actividad enzimática del tipo esterasa, las cuales pertenecen a la familia *Alicyclophilus sp.* donde el polímero sintético injertado podrá ser degradado, al contener el mismo tipo de enlaces que rompe la bacteria en su metabolismo enzimático.

Para el estudio de las características del material se utilizaron diversas técnicas encaminadas al estudio estructural, térmico, mecánico, morfológico y pruebas de biodegradación. Con las técnicas de IR y RMN se pudieron observar cambios en la estructura del polímero, lo cual se debe al injerto del material. El copolímero sintetizado obtuvo una buena resistencia

mecánica comparada con películas de la semilla de tamarindo, esto debido al aumento del módulo elástico y a la disminución a la deformación conforme se aumentaba la cantidad de la semilla de tamarindo durante las reacciones. El análisis térmico muestra un desplazamiento en las temperaturas de transición vítrea, lo cual aunado a los resultados en IR y RMN, se observa el cambio estructural presente en el copolímero. En la comparación de la degradación debida únicamente al medio acuoso (hidrólisis esteárica) contra los materiales sometidos a hidrólisis enzimática (en presencia de la bacteria BQ1) se observó que el mecanismo principal de degradación de los compuestos injertados es por la primera vía de degradación, lo que lleva a considerar que a la hidrólisis enzimática como un posible co-metabolismo, no siendo este el mecanismo principal de degradación de los polímeros, hasta el tiempo llevado a cabo de prueba.

Capítulo 1

Antecedentes

1.1. Generalidades sobre las macromoléculas

Con el nombre de polímero se define a toda sustancia constituida por moléculas que se caracterizan por la repetición de uno o más tipos de unidades monoméricas. Se trata de cadenas muy largas (o también redes) en las que muchas moléculas están alineados uno junto a otro. Los monómeros son, por tanto, sustancias químicas de bajo peso molecular capaces de reaccionar consigo mismo o con otras sustancias para formar un polímero. La palabra polímero deriva del griego poli y meros, que significan muchos y unidades, respectivamente, en contraste con monómero (mono significa uno). El término macromolécula se suele utilizar también por el mismo significado que el de polímero, lo mismo sucede con la expresión cadena polimérica. La única diferencia de los polímeros con las moléculas de menor peso molecular es el tamaño de aquellos, el cual introduce efectos muy especiales. Los polímeros pueden agruparse de acuerdo a su origen en [1]:

1. Polímeros naturales
2. Polímeros naturales modificados
3. Polímeros sintéticos

1. Los polímeros naturales

Se pueden clasificar en cuatro grupos:

- a) Polisacáridos (almidón, celulosa...)
- b) Proteínas
- c) Ácidos nucleicos
- d) Caucho natural

2. Polímeros naturales modificados

- a) Derivados de la celulosa (nitrato y acetato de celulosa, celulosa regenerada,...)
 - b) Caucho vulcanizado
 - c) Entre otros...
3. Polímeros sintéticos
- a) Polietileno, polipropileno, policloruro de vinilo, poliamidas y poliésteres...
4. Polímeros sintéticos modificados con polímeros naturales
- a) Almidón y poli(acrilonitrilo), almidón y poliacrilamida
 - b) Celulosa y poli(metacrilato de metilo)

1.1.1. Procesos de polimerización

La obtención de productos macromoleculares se da por la unión de grupos estructurales, mediante los procesos de polimerización, los cuales son:

a) Polimerización por adición

Se basan en el hecho de que los monómeros contengan dobles enlaces (tipo vinílicos). En éste proceso una molécula de monómero puede reaccionar con otra molécula de monómero para formar un enlace entre éstas. Este proceso se repite una y otra vez para producir la cadena de polímero, obteniendo como producto una cadena de unidades repetitivas, enlazadas covalentemente. Para el caso del Poli(acrilato de etilo), por ejemplo se tendrá (Fig. 1.1):

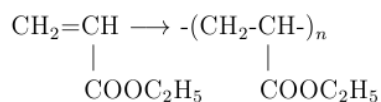
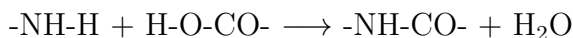


Figura 1.1: Poli(acrilato de etilo)

b) Polimerización de condensación

En una reacción de condensación, dos moléculas se unen para formar una molécula más grande, por eliminación de otra molécula, como el agua. Por ejemplo, una amina (compuesto que contiene un grupo NH_2), reacciona con un ácido carboxílico (compuesto que contiene un grupo $-\text{COOH}$) para formar un enlace entre N y C con formación de agua.



1.2. Estructura molecular

Según la forma de las macromoléculas, los polímeros pueden ser:

1. Lineales
2. Ramificados
3. Entrecruzados

Por contraste con las moléculas de cadena lineal, algunos polímeros tienen cadenas ramificadas, con frecuencia como resultado de las reacciones laterales durante la polimerización. El término ramificación significa que las moléculas individuales son todavía discretas; que dan aún otros casos en los que se forman estructuras de enlaces cruzados o reticulares, como en la utilización de monómeros que contienen más de dos grupos reactivos en la polimerización por etapas. Según la igualdad de los monómeros constituyentes pueden ser [2]:

- Homopolímeros (constituidos por un solo monómero)
- Copolímeros (constituido por moléculas que tienen un gran número de unidades de dos o más tipos químicos diferentes en una secuencia regular). Los copolímeros pueden ser de bloque, de injerto, al azar y alternados.

1.3. Polímeros acrílicos

Constituyen una familia de polímeros derivados de ésteres acrílicos y metacrílicos los cuales son obtenidos por polimerizaciones de adición utilizando catalizadores como los peróxidos. Los poliacrilatos presentan propiedades que varían dependiendo de la longitud del radical sustituyente. Por ejemplo, al aumentar las dimensiones de este, disminuye la dureza del polímero, se vuelven más blandos, presentan mejores propiedades adhesivas y suelen ser más solubles en los disolventes apolares. Con independencia del radical sustituyente, los polimetacrilatos son más duros, más gomosos y pegajosos que los poliacrilatos. Por esta razón los primeros se utilizan normalmente para proporcionar dureza y resistencia al agua en ciertas mezclas de polímeros, los segundos se emplean más como plastificantes [3].

1.4. Principales polímeros naturales

1.4.1. Carbohidratos

Los carbohidratos, derivan su nombre debido a su composición de carbono, hidrógeno y oxígeno. Otros nombres con los que se les conoce también a éstos son hidratos de carbono, sacáridos o glúcidos. Éstos son muy abundantes en la naturaleza, son aldehídos o cetonas

polihidroxilados, (o derivados). En consecuencia contienen grupos carbonilo e hidroxilo, por lo tanto presentan la reactividad típica de ambos grupos funcionales (Fig 1.2) [4].

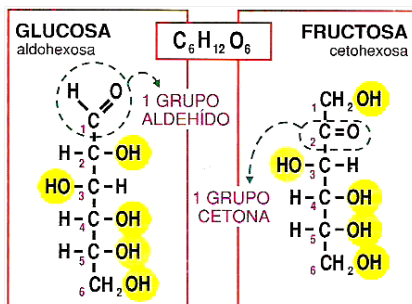


Figura 1.2: Grupos funcionales característicos en los carbohidratos

Los carbohidratos incluyen desde algunas moléculas relativamente simples, tales como la glucosa, hasta las estructuras poliméricas del almidón y la celulosa o las glucoproteínas y los glucolípidos, en los que están unidos a los aminoácidos y ácidos grasos que constituyen algunos de los componentes más importantes de las membranas celulares y de los tejidos. También comprenden estructuras que varían desde unos pocos átomos de carbono hasta macromoléculas poliméricas que tienen pesos moleculares del orden de millones. Los carbohidratos que no se pueden descomponer en unidades más sencillas mediante reacciones de hidrólisis se denominan monosacáridos [5]. La fórmula general de los monosacáridos es $C_n(H_2O)_n$ y suelen tener entre 3 y 9 átomos de carbono. En la tabla 1.1 se presenta una clasificación de los monosacáridos según el número de carbonos que contienen.

Tabla 1.1: Clasificación de los monosacáridos por el número de carbonos contenidos

Número de carbonos	Nombre de la categoría	Ejemplos relevantes
3	Triosa	Gliceraldehído, dihidroxiacetona
4	Tetrosa	Eritrosa
5	Pentosa	Ribosa, ribolosa, xilulosa
6	Hexosa	Glucosa, galactosa, manosa, fructosa
7	Heptosa	Seudoheptulosa
8	Nanosa	Ácido neuromínico, también llamado ácido siálico

La glucosa es un monosacárido con fórmula molecular $C_6H_{12}O_6$ y es la principal fuente de energía del cuerpo humano, es un carbohidrato típico y cuando uno de los grupos hidroxilo de la molécula interacciona con el grupo aldehído de la misma molécula, en donde se da lugar a las formas hemiacetálicas del compuesto (Fig. 1.3), que son las predominantes.

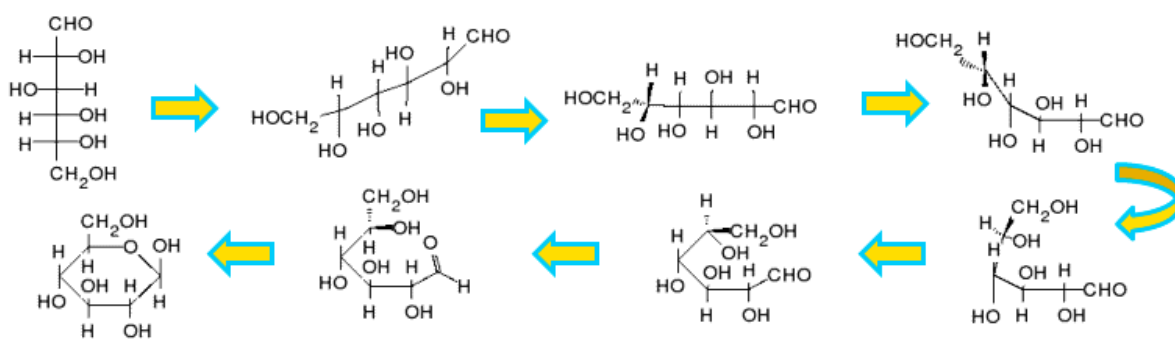


Figura 1.3: Ciclación de la glucosa

1.4.2. Polisacáridos

Los polisacáridos se forman por la unión de muchos monosacáridos (puede variar de once a varios miles), los cuales tienen la fórmula empírica $(CH_2)_n$, en donde $n=3$ o un número mayor; están unidos mediante enlace *O*-glucosídico, con la consiguiente pérdida de una molécula de agua por cada enlace. Ellos pueden formar cadenas lineales o ramificadas. Muchos polisacáridos contienen unidades de monosacáridos que se repiten, bien de una sola clase, o de dos clases, que se alternan. Los polisacáridos poseen pesos moleculares muy elevados, no tienen sabor dulce, pueden ser insolubles, como la celulosa, o formar dispersiones coloidales. Los polisacáridos, como el almidón desempeñan dos funciones biológicas principales:

- Reserva energética
- Elementos estructurales

Los polisacáridos que realizan una función estructural presentan el enlace β -glucosídico, y los que llevan a cabo una función de reserva energética presentan enlace α -glucosídico (Fig. 1.4). En los polisacáridos diferenciamos los homopolisacáridos, o polímeros de un solo tipo de monosacárido, y los heterosacáridos, cuando en el polímero interviene más de un tipo de monosacárido [6].

En la biosfera hay, probablemente, más cantidad de glúcidos (hidratos de carbono) que de toda la demás materia orgánica junta, lo cual es debido en gran parte a la abundancia en el mundo de las plantas de dos polímeros de la D-glucosa, el almidón y la celulosa. El

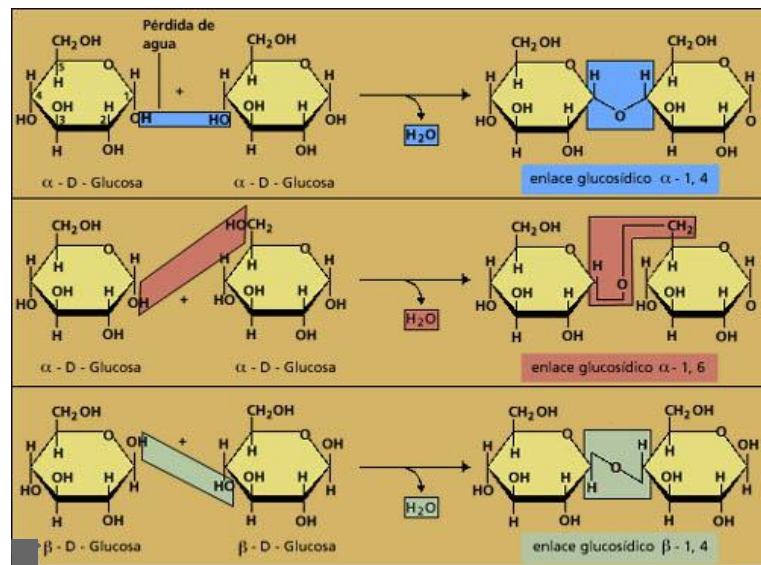


Figura 1.4: Enlaces α y β -glucosídico en los glúcidos

almidón es la principal forma de almacenamiento de combustible en la mayoría de los vegetales, mientras que la celulosa es el principal componente extracelular de las paredes rígidas y de los tejidos fibrosos y leñosos de los mismos. El glucógeno, que se parece al almidón en su estructura, es el principal glúcido de reserva en los animales. Otros polisacáridos desempeñan el papel de componentes principales de las paredes celulares de las bacterias y de las cubiertas celulares blandas de los tejidos animales.

Algunos biopolímeros más usados en la industria son mostrados a continuación:

Polisacáridos

Almidón (amilosa y amilopectina), ácido hialurónico, quitina, quitosano, celulosa, levan, pectina, xantana, konjac, poli(galactosamina), alginato, pululano, curdlan, carragenina, elsinan, xiloglucanos, escleroglucanos, dextran, entre otros.

Proteínas

Soya, zeína, gluten de trigo, suero, albúmina, colágeno/gelatina, sedas, resilina, polilisina, adhesivos, poli(aminoácidos), poli(γ -ácido glutámico), elastina, poli(arginil)-poli(ácido aspártico), poli(ácido málico), entre otros.

Poliésteres

Poli(hidroxialcanoatos), poli(ácido láctico) y poli(ácido málico).

Lípidos/Surfactantes

Acetoglicéridos, cera y surfactantes.

Polímeros especiales

Lignina, laca y caucho natural.

1.4.3. Xiloglucanos (XG)

Son las hemicelulosas contenidas en la pared celular primaria. Estos poseen un esqueleto lineal (1 \rightarrow 4) enlazado a moléculas de β 1 – 4 (en éste sentido idéntica a la celulosa). El xiloglucano se entrecruza con las microfibras de celulosa y proveen a estas microfibras la flexibilidad necesaria para deslizarse. La figura 1.5 muestra el entrecruzamiento entre el xiloglucano y las microfibras de celulosa. Los xiloglucanos comercialmente disponibles (Megazyme) proviene de la semilla de tamarindo [7].

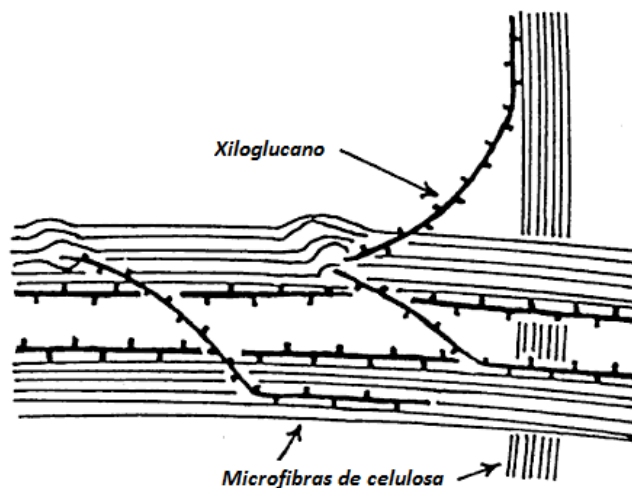


Figura 1.5: Entrecruzamiento entre xiloglucanos y microfibras de celulosa

Propiedades de los xiloglucanos

Los XG poseen propiedades como bajo peso molecular, comparados con otros polisacáridos. Ellos forman un gel en algunas condiciones, una de las cuales puede ser a altas concentraciones de azúcares. Los xiloglucanos son solubles en agua y forma una solución uniforme con la ayuda de agua, calor y agitación.

1.5. Semilla de tamarindo

El fruto del tamarindo se divide en pulpa, semilla y fibra, principalmente, de las cuales se presentan las composiciones de las partes del tamarindo, reportadas por Rao, K. H (1984) y Bhattacharya et al.(2008), en la tabla 1.2 [8,9]:

Tabla 1.2: Composición de las partes de la semilla de tamarindo

Parte del tamarindo	Porcentaje (% peso)
Pulpa	55.0
Semilla	33.9
Fibra	11.1

Las semillas de tamarindo son un subproducto de la industria de la pulpa del propio tamarindo, son duras y de color café rojizo brillante o marrón púrpura, tienen aproximadamente 1.23 cm de largo y 0.4 cm de espesor [10]. Constituyen el 33 % del fruto entero (Fig. 1.6). El 30 % de la semilla corresponde a la testa y el 70 % al endospermo [11]. Las semillas están incrustadas en la pulpa del tamarindo, y están forradas con una capa dura y seca que actúa como membrana [12]. La testa contiene 40 % de sólidos solubles, correspondientes en un 80 % a una mezcla de taninos y materiales colorantes.

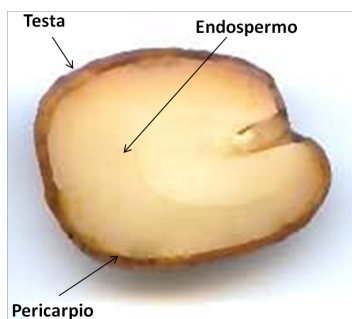


Figura 1.6: Representación de la semilla de tamarindo cortada transversalmente

El análisis bromatológico promedio de la semilla de tamarindo determinado por Wealth of India (1996), Ishola et al (1990) Bhattacharya et al. (1993), Morald et al. (1978), Ratana-sinlapaphong (2011) se muestra en la tabla 1.3.

Las semillas de tamarindo son una importante fuente de proteínas y otros valiosos aminoácidos [71]. La albumina y la globulina constituye la mayor parte de las proteínas de las semillas. Ellas son ricas también en cisteína y metionina, pero también contiene tionina y el triptano que son aminoácidos limitantes. Los aminoácidos esenciales dentro de la proteína de la semilla de tamarindo representan el 71.5 % del total, según lo informado por FAO pattern (1973). Los análisis de aminoácidos de la proteína de la semilla de tamarindo, llevado a cabo por Bhattacharya et al., (1994a) se resume en la tabla 1.4.

Tabla 1.3: Composición de la semilla de tamarindo

Constituyentes	%
Carbohidratos	61.5-72.2
Cenizas	2.4-4.2
Fibra cruda	2.5-8.2
Grasas	3.9-8.0
Humedad	11.4-22.7
Proteína	15.0-20.9

Tabla 1.4: Aminoácidos presentes en la semilla de tamarindo

<i>Aminoácidos</i>	<i>mg/16 g N</i>
Lisina	5.96
Histidina	2.01
Argina	4.2
Ácido aspártico	11.59
Teonina	3.75
Serina	7.71
Ácido glutámico	18.53
Prolina	6.19
Glicina	9.12
Alanina	6.96
Cisteina	0.3
Valina	4.6
Metonina	0.33
Isolucina	4.12
Leucina	8.21
Tirosina	1.99
Fenilalanina	4.33

Algunas propiedades físicas de la semilla de tamarindo que ya han sido determinadas como forma, tamaño, densidad, longitud, ancho, espesor, esfericidad, redondez, área superficial, peso promedio y volumen por semilla se enlistan en la tabla 1.5 [14]:

Tabla 1.5: Propiedades físicas de la semilla de tamarindo

Propiedad física	Unidad	Máximo valor	Mínimo valor	Valor medio \pm DS
Longitud	mm	17.3	10.8	14.4 ± 1.7
Ancho	mm	12.6	8.2	10.5 ± 0.9
Grosor	mm	7.5	4.5	6.3 ± 0.8
Peso promedio/semilla	g	1.18	0.57	17.9 ± 0.15
Volumen promedio/semilla	mm ³	690	430	480 ± 90
Perímetro (P)	mm	48.0	37.0	43.2 ± 3.3
Área superficial total (S)	mm ²	685	441	537 ± 69

1.5.1. Polisacárido de la semilla de tamarindo

La semilla tiene un polisacárido que esta únicamente dentro del grano. El polisacárido de la semilla de tamarindo está constituido por D-Galactosa, D-Xilosa y D-Glucosa en la proporción de 1 : 2 : 3 [15], más específicamente está separada por 2,3,4, trimetil-Xilosa, (1.06 partes), 3,4- dimetil- Xilosa (1.07 partes), 2,3,4,6 tetrametil - β Galactosa (1.02 partes), 2,3 β -trimetil glucosa (0.86 partes), y 2,3- dimetil-Glucosa (1.96 partes) [16]. Tiene excelentes propiedades espesantes, emulsionantes y gelificantes y puede ser utilizado como un sustituto del almidón y pectina, a pesar de que estructuralmente es muy diferente a estos.

La semilla de tamarindo está formada de diferentes tipos de proteínas: 1.1 % de prolamina, 8.5 % de albumina y 5.65 % de gluteína. La prolamina, contiene grandes cantidades de los aminoácidos prolamina y glutamina pero solo pequeñas cantidades de argina, lisina e histidina. La albumina es la proteína sérica más abundante, tiene un peso molecular de 65 y consta de 584 aminoácidos y contiene hidratos de carbono, es soluble en agua y en agua parcialmente saturada con sales como sulfato de amonio.

1.5.2. Xiloglucano de la semilla de tamarindo

El xiloglucano de la semilla de tamarindo también es llamado goma de tamarindo, y es muy utilizado como aditivo en comida procesada para mejora de propiedades como viscosidad y textura. El xiloglucano de la semilla de tamarindo es un heteropolisacárido entrecruzado. La unidad estructura de xiloglucano del tamarindo esta constituida por tres diferentes estructuras de unidades repetitivas (Fig. 1.7) las cuales pueden ser [17] heptasacáridos (Glu4Xyl3), octasacáridos (Glu4Xyl3Gal) y nonasacáridos (Glu4Xyl3Ga2), dependiendo de la especie que haya sido extraído (Picout et al., 2003).

La mayoría de los XG son procesados en pequeña o mediana escala y el producto no es uniforme o de calidad reproducible. Generalmente los XG son tan finos que $> 90\%$ de ellos

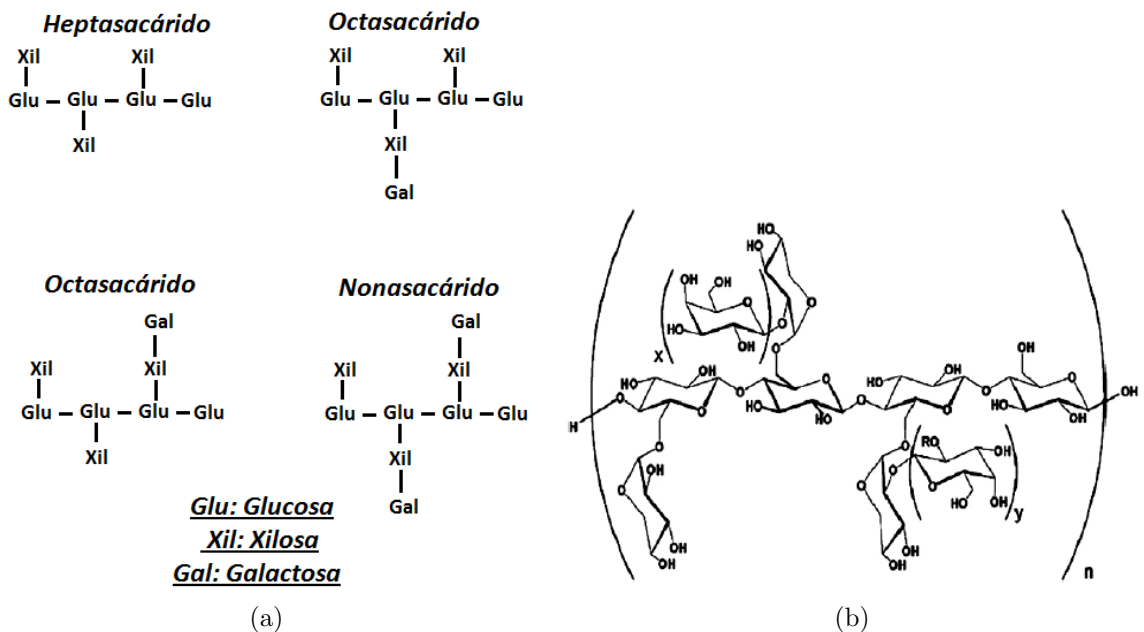


Figura 1.7: Xiloglucano de la semilla de tamarindo, a) estructura resumidas en las que se puede presentar el XG , b) estructura general del XG

pasan a través de mallas, en donde las aperturas son de 60 micrones. El polvo es generalmente mezclado con algunos preservativos, como fenoles clorados, benzoatos y bisulfatos, para evitar el arranciamiento. Se ha estimado que entre 60 y 80 mil toneladas de XG son procesados en la india [18].

Propiedades de XG de la semilla de tamarindo

La máxima viscosidad es obtenida después de unos 30 min de hervir la dispersión. La dispersión viscosa formada produce películas transparentes y elásticas mediante evaporación [19]. XG pueden gelarse con agua, solo en presencia de alcohol o altos niveles de azúcares, también tiene una buena estabilidad cuando éste es calentado. Soluciones de XG poseen reologicamente un fluido no-newtoniano, y la viscosidad es reducida cuando éstos sufren un incremento de temperatura. Las soluciones acuosas de XG exhiben un comportamiento de un fluido newtoniano a bajas concentraciones ($< 0.5\%w/w$) [20,21]. La estabilidad del polisacárido de la semilla de tamarindo ante el calor, medios ácidos y básicos, pueden atribuirse a su alto grado de sustitución del esqueleto, lo cual en cierta medida lo escuda de agentes que puedan ser hidrolizantes. En la industria alimenticia, se usa el XG para mejorar las propiedades reológicas y térmicas de muchos productos (ver anexo).

1.5.3. Usos de la semilla de tamarindo

El uso de la semilla de tamarindo en el área de alimentos es del tipo destado. Es importante remover la testa completamente, lo cual frecuentemente se hace a través de un tostado seguido de una decortificación del endospermo, a fin de evitar efectos indeseables a la salud como la depresión, estreñimiento y la diarrea [22]. Aparte del proceso de tostado y la decortificación, la hidratación de la semilla de tamarindo en agua seguido por un secado que es un proceso alternativo para la remoción de la testa [23]. La ventaja de este método, es que puede producir un polvo de color blanco marfil, el cual es deseable como material de apresto para el yute y la industria textil [24].

La semilla de tamarindo es un subproducto en la industria de la pulpa de tamarindo. Hay muchos posibles usos de la semilla de tamarindo, como en las industrias que no pertenecen al área de alimentos. El centro de la semilla de tamarindo es generalmente usado para obtener el polvo del núcleo de la semilla (*TKP- tamarind kernel powder*) por sus siglas en inglés. El TKP entro en producción comercial en 1943 como un reemplazo del almidón en la industria del algodón, en el mercado textil en la India [25]. Ver anexo 1.

El contenido mineral de la semilla de tamarindo se puede observar en la tabla 1.6 [26]:

Tabla 1.6: Contenido mineral en la semilla de tamarindo

Semilla de tamarindo	
<i>Mineral</i>	<i>mg/100g</i>
Calcio	9.3–786.0
Fósforo	68.4– 165.0
Magnesio	17.5– 118.3
Potasio	272.8– 610.0
Sodio	19.2 – 28.8
Cobre	1.6 – 19.0
Plata	6.5
Zinc	2.8
Manganesio	0.9

La semilla de tamarindo también es una fuente rica de aceite. Los ácidos grasos principales son el palmítico, oleico y linoleico [27].

1.6. Polímeros biodegradables

En los últimos años se ha prestado mucha atención a los polímeros biodegradables. El manejo de los residuos provenientes de la agricultura, o de origen alimenticio han sido demandados para la producción de nuevos polímeros biodegradables [28].

Un plástico biodergradable es aquel donde la degradación del mismo resulta por acción de microorganismos naturales como las bacterias, hongos y algas [29].

De acuerdo a la norma ASTM-D-5488-94d, el significado de biodegradable proviene de la capacidad de ser sometido a una descomposición en dióxido de carbono, metano, agua, compuestos inorgánicos, o biomasa en la cual predominan el mecanismo de la acción enzimática de microorganismos. Hay diferentes medios que se pueden utilizar para medir y analizar la biodegradabilidad, los cuales pueden ser un líquido inerte o un medio de compostaje. La biodegradación es la degradación de un material orgánico causado por actividad biológica, principalmente por microorganismos, los cuales realizan acción enzimática.

La química de los polímeros biodegradables ha entrado en discusión sobre los polímeros naturales y sintéticos, así como los que se derivan a partir de recursos renovables y no-renovables, ésto con el fin de asegurar que los polímeros biodegradables sean de origen natural o que sean sintetizados por medios químicos. Además, las materias primas utilizadas para producir los polímeros puede venir del procesamiento de los cultivos o de subproductos de otros cultivos (llamados de fuentes renovables), o que pueden provenir de fuentes petroquímicas (llamados recursos no-renovables).

La historia del hombre esta fuertemente ligada con la gran variedad de polímeros naturales. A lo largo de la historia se ha observado que se desconocía el hecho de que estas sustancias fueran polímeros con importantes utilidades. En muchos sectores la ignorancia persiste. Los polímeros naturales se pueden dividir en cuatro grandes grupos:

- Polisacáridos - almidón, celulosa
- Proteínas - gelatina, caseína, seda, lana
- Poliésteres - polihidroxicanoatos
- Otros - lignina, goma laca, caucho natural

La velocidad de degradación y la formación de los metabolitos finales dependerá mucho de la complejidad de la estructura de los materiales y de las condiciones ambientales seleccionadas para el proceso de biodegradación.

Hay muchos polímeros que se han modificado, los cuales son derivados de fuentes petroquímicas o fuentes biológicas que son biodegradables. Muchos de éstos han sido utilizados

como curiosidades o para llenar nichos del mercado muy especiales como por ejemplo, en el campo de la medicina se han utilizado como materiales para suturas. Otros, como algunos biopoliésteres, han intentado competir en contra de las resinas utilizadas en productos básicos, pero no han tenido avances significativos en el mercado, debido a sus altos precios. A continuación se muestra una serie de resinas sintéticas biodegradables:

- Ésteres de polialquileo
- Poli(ácido láctico) y sus copolímeros
- Ésteres de poliamida
- Ésteres de polivinilo
- Poli(alcohol vinílico)
- Polianhídridos

Cada uno de éstos tiene propiedades particulares y aplicaciones con gran potencial. El poli(alcohol vinílico) es ampliamente usado por su solubilidad en el agua. El Poli(ácido láctico) está creciendo en términos de volumen de producción y aplicaciones. Todos estos materiales pueden sufrir una biodegradación promovida por microorganismos, a menudo junto con agentes químicos y/o degradación mecánica.

Los carbohidratos son una fuente importante de materiales utilizados en las síntesis de polímeros biodegradables, debido a sus propiedades inherentes de biocompatibilidad y biodegradación, lo que ha llevado que tengan una amplia gama de aplicaciones como en la medicina. Hay otras razones por las que los carbohidratos son usados para estos fines, de las cuales destacan:

- Son fáciles de obtener; algunos provienen de los desechos agroindustriales
- Se pueden encontrar una gran variedad de estructuras químicas y una gran biodiversidad estereoquímica en ellos
- Constituyen una fuente renovable gracias a la energía solar

Algunas de las recopilaciones de publicaciones sobre polímeros sintéticos a partir de carbohidratos, base polímeros y glicopolímeros, ha demostrado la importancia de ellos [30–35].

Algunos polímeros biodegradables

En la última década, el rendimiento y la disponibilidad de polímeros biodegradables, se ha desarrollado fuertemente, esto por el incremento del desarrollo sostenible, en donde se trabaja contra la dependencia de los recursos finitos y el cambio de políticas y actitudes en la gestión de residuos. Muchos de los polímeros biodegradables en el mercado o los que están en desarrollo se basan en materias primas renovables de origen agrícola y forestal (fig. 1.8).

Los polímeros biodegradables se pueden clasificar de diversas formas, una de ellas es dependiendo del proceso de síntesis. A continuación se muestra tan solo una clasificación de polímeros biodegradables, en donde de las cuatro clasificaciones que se dan solo las primeras tres provienen de fuentes de recursos naturales:

- Polímeros provenientes de fuentes agrícolas como el maíz (por ejemplo, almidón, celulosa)
- Polímeros obtenidos por producción microbiana (por ejemplo el polihidroxialcanoatos)
- Polímeros sintetizados químicamente y cuyos monómeros se obtienen a partir de microorganismos (por ejemplo, el poli(ácido láctico))
- Los polímeros sintéticos modificados, cuyos monómeros y polímeros se obtienen convencionalmente por síntesis química (ácido poliglicólico)

Algunos de los usos de los polímeros biodegradables se muestran a continuación:

1. Envases (envases de alimentos, mantas, mosquiteros, espumas)
2. Las bolsas de plástico para la recolección y compostaje de los residuos de alimentos y, como bolsas de supermercado
3. Productos plásticos desechables (cubiertos, platos, vasos, etc.)
4. La agricultura (las películas de mantillo, macetas, películas para viveros, etc.)
5. Productos de higiene (detergentes, jabones, etc.)
6. Los implantes médicos y dentales (suturas, etc)

Los polímeros biodegradables se puede clasificar en dos formas: la primera incluyen polímeros como poliácido láctico (PLA) o polihidroxibutirato (PHB), los cuales son biodegradables por su naturaleza, la segunda es la modificación de propiedades de polímeros por la incorporación de aditivos, los cuales cuando son desechados en la naturaleza ayudan a romper las cadenas moleculares y permiten directamente el metabolismo de microorganismos (CDC, 2001).

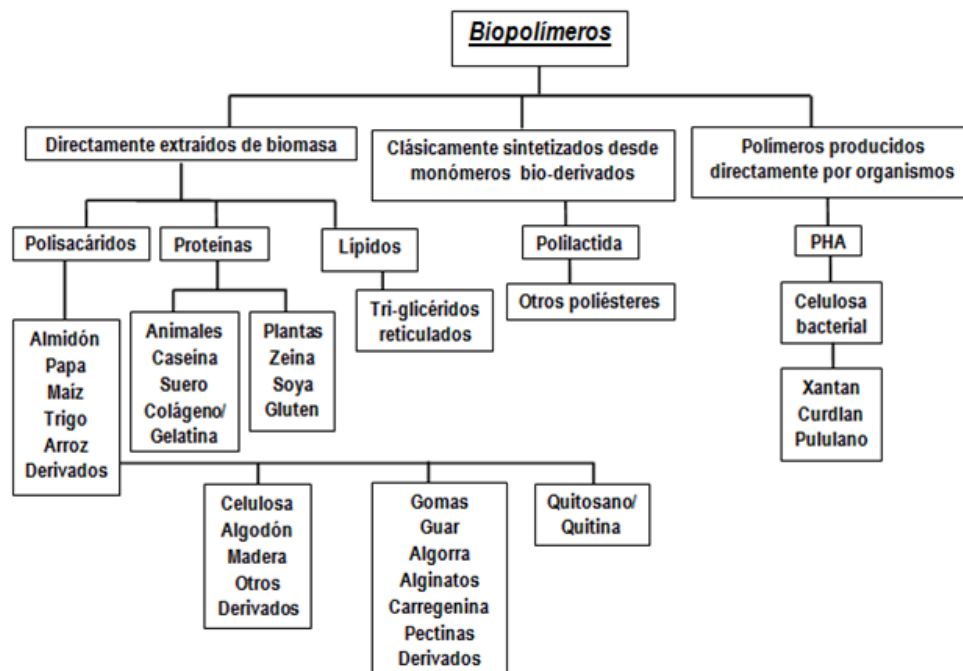


Figura 1.8: Diagrama de bloques de los biopolímeros más importantes

Los microorganismos presentes en el ambiente se encargan de consumir el carbón de su medio ambiente a través de procesos químicos, para recibir energía necesaria para su proceso de vida. Los procesos químicos se describen resumidamente a continuación:

- Rompimiento del material (carbohidratos, productos de carbón) en pequeñas moléculas por secreción de enzimas o del mismo ambiente que lo hace (temperatura, humedad, luz solar)
- Transporte de pequeñas moléculas dentro de las células de los microorganismos
- Oxidación de moléculas dentro de las células transformándolas en CO_2 y agua, y donde se libera energía, la cual es utilizada por los microorganismos para su proceso de vida a través de un proceso bioquímico. Este proceso involucra la participación de tres mecanismos metabólicos interrelacionados (ciclo tri-carboxílico, transporte de electrones, y la fosfolilación oxidativa).

La disposición de degradación de los biopolímeros se describe en la figura 1.9.

Algunos ambientes para disposición de polímeros biodegradables son:

- Compostaje o el entierro en suelo
- Digestión anaerobia

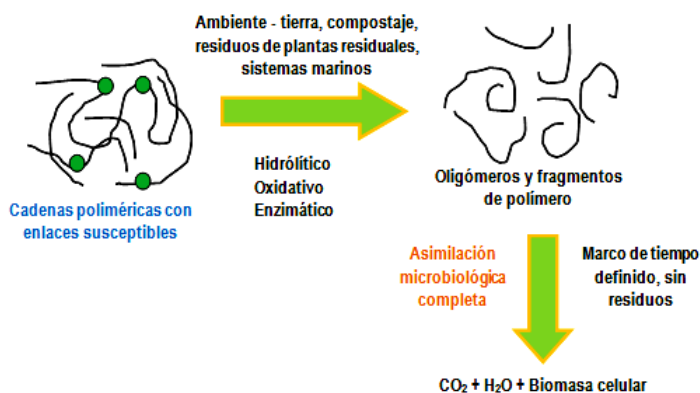


Figura 1.9: Disposición de los polímeros biodegradables (Prof. Narayan, MSU).

- Instalaciones de tratamiento de aguas residuales
- Instalaciones de reprocesamiento de polímeros
- Ambientes marinos y de agua dulce
- Medios generales, los cuales estén abiertos y llenos de basura

Mercado de los polímeros biodegradables

En el año 2000, el mercado global de plásticos biodegradables fue estimado en 28,100 toneladas, en 2005 94,800 toneladas y en 2010 214,400 toneladas (tabla 1.7).

Tabla 1.7: Consumo global de polímeros biodegradables

Consumo global de polímeros biodegradables (,000 toneladas)			
	2000	2005	2010
Almidón	15.5	44.8	89.2
PLA	8.7	35.8	89.5
PHA	0	0.2	2.9
Sintético	3.9	14.0	32.8
Total	28.1	94.8	214.4

El mercado mundial de los polímeros biodegradables esta creciendo y se espera que llegue a 1.1 millones de toneladas en el 2017 según un nuevo estudio según firma en investigación Global University Analyst (marzo 2012).

Algunas tendencias en consumo y mercado que tienen los polímeros biodegradables en el mundo son las que se muestran en las figuras 1.10 y 1.11:

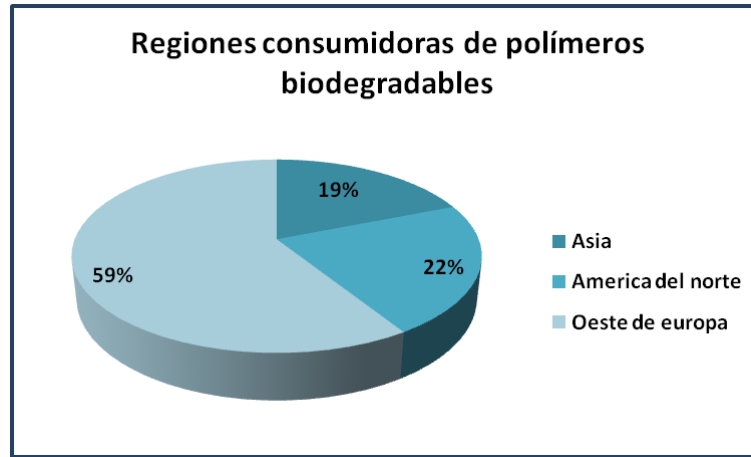


Figura 1.10: Principales regiones consumidoras de polímeros biodegradables

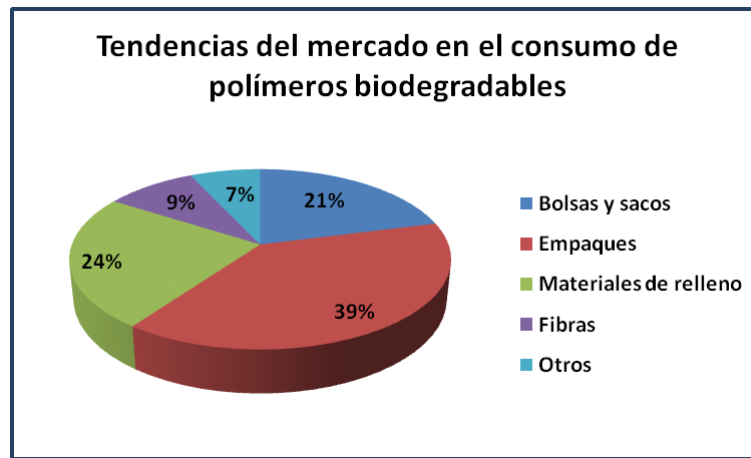


Figura 1.11: Tendencias del mercado en polímeros biodegradables

Debido a la fragmentación del mercado y las definiciones ambiguas es difícil describir el tamaño total del mercado de los bioplásticos, pero en estimaciones que se han hecho sobre la producción y consumo de polímeros biodegradables actualmente; la capacidad de producción mundial es de 327,000 toneladas [36]. En contraste, el consumo mundial de todos los envases flexibles se estima en alrededor de 12,3 millones de toneladas [37]. Se ha hecho una evaluación potencial de los usos de los diversos biopolímeros que se han desarrollado, con una amplia gama de aplicaciones. Estos estudios se hicieron por COPA (Comité de organización para la agricultura en la unión europea) y la CIGECA (Comisión general para la cooperación agrícola). Los cuales muestran lo siguiente en diferentes sectores de la economía europea:

- Productos desechables: 450,000 toneladas por año
- Bolsas de residuos orgánicos: 100,000 toneladas por año
- Láminas acolchonadas biodegradables: 130,000 toneladas por año
- Láminas biodegradables para pañales: 80,000 toneladas por año
- Pañales 100 % biodegradables: 240,000 toneladas por año
- Envases para vegetales: 400,000 toneladas por año
- Componentes de neumáticos: 200 toneladas por año
- Empaques para envases de aluminio: 400 toneladas por año

Capítulo 2

Técnicas de caracterización

2.1. Bromatología

La bromatología es una ciencia que se encarga de estudiar la naturaleza de los alimentos, su composición química y su comportamiento bajo ciertas condiciones.

2.2. Espectroscopia

Es el estudio de la absorción de energía radiante por parte de las moléculas. Una muestra de un compuesto se somete a una radiación electromagnética, como la luz visible o infrarroja. La energía de luz incidente se varía regularmente, al mismo tiempo que se mide la cantidad de luz absorbida por el compuesto. Estas operaciones se efectúan automáticamente mediante instrumentos denominados espectrómetros. Un registrador incorporado al espectrómetro nos proporciona un espectro del compuesto, a partir del cual puede ser posible deducir una gran cantidad de datos acerca de la estructura de la molécula [38].

2.2.1. Espectroscopia Infrarroja

La espectroscopia infrarroja es el estudio de la interacción de la luz infrarroja con la materia. La medida fundamental obtenida en la espectroscopia infrarroja es un *espectro de infrarrojo* el cual es una gráfica que representa la cantidad de intensidad infrarroja contra la longitud de onda (o numero de onda) de la luz. Un instrumento usado para obtener un espectro infrarrojo es llamado espectrómetro infrarrojo. Hay muchos tipos de espectrómetros en el mundo, pero el mas usado es el Espectrómetro Infrarrojo de Transformada de Fourier (*Fourier Transform Infrared Spectrometer-FTIR*).

La espectroscopia infrarroja es sensible a la presencia de grupos funcionales en una muestra. Un grupo funcional es un fragmento estructural dentro de una molécula. Los grupos funcionales frecuentemente tienen propiedades químicas que son las mismas de molécula a

molécula [39].

Un aspecto importante de la espectroscopia infrarroja es que permite la identificación de moléculas. Una vez que las posiciones del número de onda de las bandas de un grupo funcional son conocidas, esta información puede ser usada para la identificación de grupos funcionales en diversas muestras.

La parte infrarroja del espectro electromagnético se divide en tres regiones:

- Cercano
- Mediano
- Lejano

El infrarrojo lejano (aproximadamente $400\text{-}10\text{ cm}^{-1}$) se encuentra adyacente a la región de microondas, posee una baja energía; el infrarrojo mediano (aproximadamente $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$) puede ser usado para estudiar las vibraciones fundamentales y la estructura rotacional vibracional, mientras que el infrarrojo cercano ($14000\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$) puede excitar sobretonos y se utiliza mucho en la determinación de compuestos orgánicos como las proteínas.

Si un compuesto (en forma de gas, líquido puro o disuelto en un disolvente inerte) se ilumina con luz infrarroja, ésta puede atravesarlo o bien absorberse. Que tenga o no lugar la absorción depende de la frecuencia exacta de la luz y de los tipos de enlaces y grupos funcionales presentes en la molécula. Un espectrofotómetro infrarrojo mide la cantidad de luz absorbida o transmitida en distintas frecuencias, donde se representa el resultado mediante un registrador.

Las fuerzas que mantienen unidas a los átomos en ellas no son rígidas como varillas, sino elásticas, a manera de un muelle (Fig. 2.1). Los átomos se encuentran siempre en movimiento, vibrando unos con respecto a los otros. La distancia internuclear en un enlace carbono-carbono sencillo es de $1,54\text{ \AA}$. No obstante si se examinara en un instante dado un conjunto de moléculas, no todas las distancias de C-C serían de $1,54\text{ \AA}$, sino que algunos enlaces serían mas largos, mientras que otros se encontrarían acortados. Las longitudes de enlace determinadas experimentales son sólo valores promedios, y es importante advertir que todos los enlaces químicos se encuentran en contracción y expansión continua.

Estos enlaces vibrantes pueden absorber energía y, de este modo, aumentar la magnitud de su vibración. Es decir, el enlace se estirará, contraerá o flexionará en mayor grado que antes, después de absorber energía.

La vibración molecular es necesaria para la absorción de la radiación infrarroja, pero no siempre es condición suficiente. Para que haya tal absorción, la vibración debe dar lugar a un cambio de polaridad de la molécula. Las moléculas polares tienen enlaces polares, es

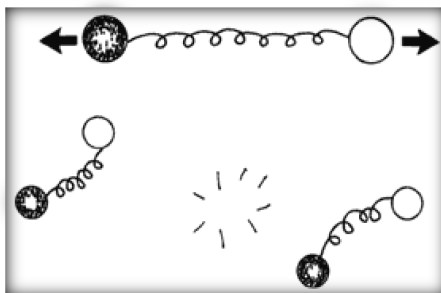


Figura 2.1: Muelle entre átomos

decir, uniones entre átomos de distinta electronegatividad. Un enlace polar tiene dos centros separados de carga negativa y positiva. Si la molécula en conjunto presenta una separación de cargas, positiva y negativa, se dice que posee un momento dipolar, que es una medida de su polaridad.

La mayor parte de las moléculas con momento dipolar apreciable son eficaces absorbentes de la radiación IR, debido a que las vibraciones provocan cambios en el momento dipolar. Las absorciones IR más intensas son las que corresponden a enlaces más polares, como C=O y O-H.

Algunas moléculas simétricas poseen enlaces polares, pero en cambio su momento dipolar es nulo, dado que los dipolos de cada enlace se anulan mutuamente; en ellas, los centros de carga negativa y positiva coinciden. Normalmente, estos compuestos absorben muy poco en el IR, aunque dan lugar a unos picos de absorción, ya que algunos de sus modos de vibración hacen que su momento dipolar pase de cero a un valor infinito.

Las propiedades de la luz

La luz puede ser considerada como onda y como de partícula, por poseer ambas propiedades. Los rayos de luz están compuestos de ondas eléctricas y magnéticas. Estas ondas oscilan en planos perpendiculares entre sí. La luz es llamada *radiación electromagnética* porque contiene partes eléctricas y magnéticas.

La frecuencia, longitud de onda, y velocidad de la luz (c), están relacionadas entre sí a través de la siguiente ecuación:

$$c = \nu\lambda$$

donde:

c = la velocidad de la luz (3×10^{10} cm/segundo)

ν = frecuencia en Hertz (seg^{-1})

λ = longitud de onda en cm

Esta ecuación muestra que el producto de la frecuencia y la longitud de onda de la luz es igual a una constante, la velocidad de la luz.

En espectroscopía infrarroja, las unidades son llamadas número de onda y son normalmente usadas para denotar diferentes tipos de luz. Un número de onda es definido como el recíproco de la longitud de onda, como sigue:

donde:

$$W = 1 / \lambda$$

W = número de onda en cm^{-1}

λ = longitud de onda en cm

W es una medida del número de ciclos en una onda de luz por centímetro.

La naturaleza de las vibraciones moleculares: modos de vibración

Cuando una molécula absorbe radiación infrarroja, sus enlaces químicos vibran. Los enlaces pueden estirarse, contraerse y doblarse. Esta es la razón por la cual la espectroscopía infrarroja es un tipo de *espectroscopía vibracional*. El movimiento vibracional causado por la absorción infrarroja es complejo. Pero los movimientos vibratoriales complejos de una molécula pueden ser desglosados dentro de un número de vibraciones constituyentes llamadas, *modos de vibración*.

Es fácil calcular el número total de modos de vibración para una molécula, la cual da el número total de vibraciones que una molécula posee. Las ecuaciones están enlistadas en la tabla 2.1:

Tabla 2.1: Modos de vibración de una molécula de 3 átomos

Tipo de molécula	Fórmula normal	Modo	Número de modos de vibración en una molécula de 3 átomos
Lineal	$3N - 5$		4
No lineal	$3N - 6$		3

Entonces, el número de modos normales de vibración actúa como una guía aproximada de cuantas bandas de infrarrojo podrá tener una molécula, pero no podrá proveer un número exacto.

2.2.2. Espectroscopia de resonancia magnética nuclear

El espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN) se deriva del hecho de que esta espectroscopia supone un cambio energético en los núcleos atómicos y que es necesario un campo magnético para que estas variaciones de energía puedan observarse. La palabra resonancia es análoga al término absorción de espectroscopia IR: denota la absorción de energía asociada a un cambio de estado de energía de los núcleos.

Los dos elementos más frecuentes en los compuestos orgánicos son el carbono y el hidrógeno. Por este motivo, los núcleos estudiados a menudo en los experimentos de RMN en química orgánica son el núcleo de hidrógeno, 1H , y el del isótopo minoritario del carbono, ^{13}C . (El término protón se usa indistintamente para el núcleo de hidrógeno, por lo que la $^1H - RMN$ suele denominarse resonancia magnética de protón). Para que un núcleo sea magnéticamente activo y sea capaz de dar una señal de resonancia magnética, debe de tener un núcleo impar de electrones, de neutrones o de ambos. Tanto 1H como ^{13}C satisfacen esta condición; otros núcleos que producen espectros de RMN son ^{15}N , ^{17}O , ^{19}F , ^{31}P . Obsérvese que los isótopos abundantes ^{12}C y ^{16}O poseen un número par de neutrones y de protones, por lo que no originarán espectros de RMN.

Los neutrones y los protones se comportan como si girasen sobre sí mismos, al igual que lo hacen los electrones. Dos neutrones en un mismo núcleo tenderán a aparearse sus spines de modo que se anulen mutuamente; el mismo efecto tiene lugar para los protones. Sin embargo, un neutrón o un protón puede conferir un spin al núcleo completo, puesto que éste posee una carga, originará un campo magnético con su giro. Cuando el núcleo se coloca en un campo magnético externo, como el producido por el electroimán del aparato de RMN, este campo interacciona con el campo magnético nuclear. En estas condiciones el núcleo se comporta como una pequeña varilla magnetizada, cuyo eje norte-sur puede alinearse en distintas orientaciones en el campo magnético externo. Al igual que los imanes ordinarios, los imanes nucleares tienen diferentes energías potenciales en cada una de sus orientaciones.

La RMN tendrá un valor práctico únicamente si dos núcleos de 1H (o de ^{13}C) distintos dentro de una molécula absorben energía en dos posiciones diferentes del espectrómetro, de modo que sea posibles distinguirlos. Existen dos factores que controlan la absorción de energía: la frecuencia de la radiación incidente y la intensidad del campo magnético. Normalmente, los espectrómetros de RMN operan a una frecuencia fija y con un campo magnético variable. A medida que se modifica la intensidad de este último, la diferencia de energías entre las orientaciones nucleares también cambia. Cuando esta diferencia corresponde exactamente

con la energía de radiación se producirá la resonancia y una absorción de energía.

La RMN es una técnica no destructiva. Se basa en la absorción de energía en la zona de la radiofrecuencia por parte de los núcleos de algunos átomos, cuando estos se colocan en un campo magnético intenso y de alta homogeneidad. Esta técnica se emplea para el análisis estructural, para determinar la información estructural o química de una muestra. El esquema del equipo de resonancia magnética nuclear se puede observar en la figura 2.2.

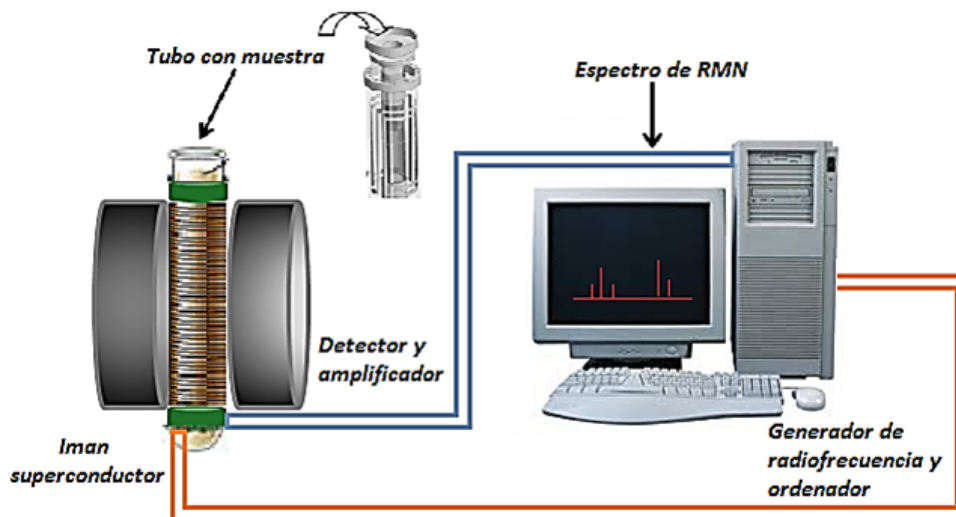


Figura 2.2: Diagrama general de un equipo de RMN

2.3. Análisis térmico

El análisis térmico es una técnica donde se estudian los cambios en los materiales debido a cambios en la temperatura, y que se define como un conjunto de técnicas analíticas que estudian el comportamiento térmico de una muestra en un intervalo de tiempo o temperatura en condiciones específicas.

2.3.1. Análisis termogavimétrico

El análisis termogavimétrico (TGA) es uno de los miembros de la familia de técnicas para análisis térmico [40], el TGA mide y cuantifica la velocidad de cambio en la masa de la muestra en función de la temperatura sobre una atmósfera controlada. Las mediciones se realizan primeramente para determinar la estabilidad térmica y/o oxidativa de los materiales, así como para conocer sus propiedades composicionales. Ella puede analizar materiales que exhiben pérdida o aumento de masa, éstos por los volátiles (como la humedad). Ésta técnica es especialmente útil para el estudio de materiales poliméricos, incluyendo termoplásticos,

termoestables, elastómeros, compositos, películas, fibras, revestimientos y pinturas.

Los resultados de una medición de análisis termogavimétrico son usualmente mostrados como un termograma del análisis termogavimétrico, que consiste en una gráfica de la masa o el por ciento de la masa en función de un intervalo de temperaturas o tiempos definidos.

Una alternativa y complemento a la presentación de la gráfica es el uso de la primera derivada de la curva del análisis termogavimétrico con respecto a la temperatura o al tiempo. Esta llega a mostrar la velocidad a la cual la masa cambia y es conocida como el diferencial termogavimétrico.

El TGA proporciona información valiosa, que puede ser usada para seleccionar materiales para determinadas aplicaciones, como predecir el rendimiento del producto y mejorar la calidad de ellos. Esta técnica es particularmente usada para los siguientes tipos de mediciones:

- Análisis de la composición de múltiples componentes o mezclas de materiales
- Estabilidad térmica
- Estabilidad oxidativa
- Estimación de la vida media de los productos
- Cinética de descomposición
- Efectos de los materiales con la atmósfera de reacción
- El contenido dentro de un material
- Determinación de humedad y contenido de sustancias volátiles.

2.3.2. Calorimetría diferencial de barrido

La calorimetría diferencial de barrido (DSC por sus siglas en inglés) determina las transiciones térmicas cualitativamente. La temperatura de fusión y cristalización, transición vítrea, reacción química, las características del comportamiento de degradación e incluso la capacidad específica puede monitoriarse por un simple análisis de DSC. El método consiste en proporcionar un flujo de calor, a velocidad constante, a la muestra y a un material de referencia de composición conocida que se sabe no sufre cambios en el intervalo de temperaturas. Las muestras se colocan en charolas de aluminio que pueden ser cerrados herméticamente, lo que impide que se produzcan cambios de humedad. Lo que se registra es la diferencia de flujo de calor que hay que suministrar a la muestra y a la referencia para mantener la misma temperatura en ambas. Si la muestra tiene una capacidad calorífica mayor que la referencia, habrá que suministrarle más calor para mantener constantes las temperaturas: hay una diferencia en el flujo de calor suministrado que es proporcional a la diferencia de capacidades

caloríficas de la muestra y de la referencia.

Hay dos métodos básicos en DSC, el flujo de calor y el de potencia compensada. La primera mide la diferencia de temperatura (ΔT) entre la muestra y el material de referencia (el flujo de calor es proporcional al calor absorbido o al que se libera de la muestra pero es corregido por una velocidad de calentamiento). El DSC de potencia compensada consiste en dos hornos independientemente controlados, en el cual el calor absorbido (proceso endotérmico) y el calor liberado (proceso exotérmico) son compensados por el calentamiento de la muestra y la referencia, respectivamente. El DSC de flujo de calor es capaz de estudiar las transiciones térmicas en muestras relativamente grandes, el peso de la muestra puede ser incluso de 100 mg. El DSC de poder compensador es flexible, porque sus mediciones son de muestras pequeñas que van alrededor de 5-10 mg.

2.4. Propiedades mecánicas

El estudio de las propiedades mecánicas se refiere a la respuesta de un cuerpo cuando se le somete a una fuerza externa, la cual genera relaciones del tipo tensorial con la deformación que sufre este material (en general validas para la zona elástica). El procedimiento usual es colocar una pequeña muestra de un material en máquinas de ensayo, aplicar las cargas y luego medir las deformaciones resultantes, como cambio de longitud, llamado pruebas de tracción.

De los diferentes ensayos existentes, el más empleado es el ensayo de tracción en una dimensión, el cual entrega la mayoría de los datos relevantes para un primer estudio mecánico de materiales [41]. Este ensayo consiste en someter al material (moldeado en una forma estandarizada llamada probeta) a una velocidad de deformación constante, y medir la fuerza necesaria para cada deformación, esto se realiza generalmente hasta que el material se fractura. El esquema de esta prueba de tracción se puede observar en la fig. 2.3

Finalmente, se entrega una curva donde en el eje de las abscisas muestra la deformación del material y en el eje de las ordenadas la tensión requerida. Es importante señalar que para independizarse de las dimensiones particulares de cada probeta, en vez de trabajar con la fuerza (F) se utiliza la tensión o carga (σ , en ingles stress o load) la cual se define como la fuerza aplicada dividido por el área transversal a la deformación (A):

$$\sigma = F/A(t)$$

Se utiliza el termino $A(t)$ para mostrar explícitamente la dependencia del área con la deformación que sufre el material. Generalmente es mucho más fácil trabajar sólo con el área inicial, ya que se evita el estar midiendo constantemente las dimensiones de las probetas, y en ese caso a la tensión se le denomina nominal o de ingeniería. Cabe señalar que, en general, es una muy buena aproximación el suponer que el área de la probeta es constante en la zona

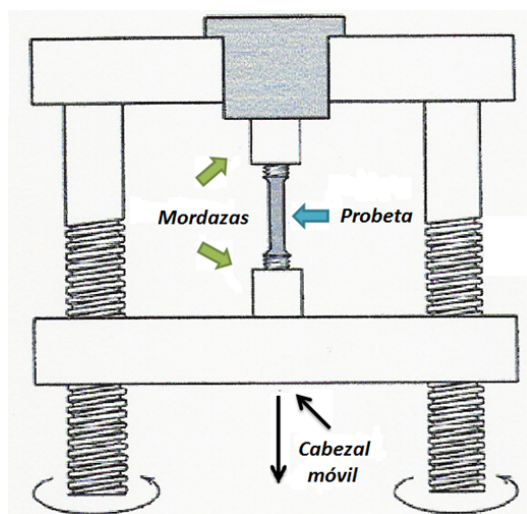


Figura 2.3: Máquina universal de ensayos mecánicos, donde se lleva a cabo un ensayo de tracción

elástica. Con la deformación (en inglés strain o extension) sucede algo similar y se trabaja generalmente con la deformación nominal o de ingeniería:

$$\varepsilon = (l - l_0)/l_0 = \Delta/l_0$$

donde l_0 se refiere al largo inicial de la muestra; sin embargo también existe una definición más precisa, que se denomina deformación verdadera.

En este trabajo se usarán los valores nominales o de ingeniería. Una de las grandes dificultades que presentan los polímeros desde el punto de vista mecánico, es la gran dependencia que tienen sus propiedades con la temperatura y la velocidad de deformación. Lo anterior debido a su comportamiento viscoelástico, que en primera aproximación es producto de los altos tiempos de relajación de los procesos microscópicos, debido al alto peso molecular de ellos.

2.5. Microscopia electrónica

El objeto de este conjunto de técnicas es la interacción de los electrones con la materia y la forma de obtener información, tanto de la estructura, como de los defectos. En muchos sentidos, el microscopio electrónico ofrece una solución ideal a los problemas que presentan los microscopios ópticos, que tienen una longitud de onda (λ) $\approx 0.5\mu\text{m}$, por lo que no pueden obtener resolución atómica, ya que la longitud de onda de la radiación incidente es demasiado grande. En el microscopio electrónico se pueden obtener electrones acelerados con la longitud de onda asociada bastante menos de 1 \AA , y por lo tanto se puede obtener, al menos teóricamente, resolución atómica. Con las lentes adecuadas se pueden transformar los electrones

difractados en la imagen real. Además de usarse para difracción e imagen, la microscopía electrónica tiene otros usos.

Los electrones en el microscopio electrónico se generan por efecto de un filamento (catódico) que es generalmente wolframio, y se monocromatizan acelerándose a través de un potencial en un sistema sometido a vacío. Para un voltaje de 100kV, la longitud de onda asociada a los electrones es 0.037 \AA (0.01 \AA para 1MV). Los electrones interactúan mucho con la materia por lo que es posible la difracción de electrones de muestras gaseosas. De hecho, muchas estructuras moleculares (distancias y ángulos de moléculas inorgánicas y orgánicas simples) fueron determinadas a partir de la mitad de la década de los años cuarentas, a partir de datos de difracción de electrones en muestras gaseosas.

En la figura 2.4 se muestran las diferentes respuestas que da un material al ser estimulado con un haz de electrones. Estas interacciones originan algunas técnicas como lo son la microscopía electrónica de barrido y de transmisión.

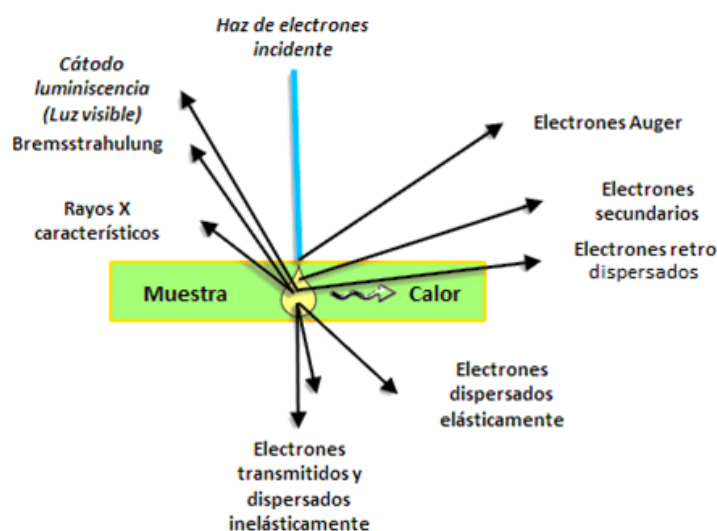


Figura 2.4: Interacción del haz de electrones con la muestra

2.5.1. Microscopía electrónica de barrido

En la microscopía electrónica de barrido el haz de los electrones secundarios de baja energía (menos 50 eV) emitidos de la superficie de la muestra se puede utilizar para dar un tipo de imagen. Para facilitar esta emisión de electrones se metaliza la muestra, es decir, se recubre de una pequeña capa de un metal conductor como el Au. El haz de electrones se puede concentrar en una zona diminuta (aprox. 20 \AA) que puede barrer la superficie del espécimen al ser deflectado por las bobinas adecuadas. Los electrones secundarios emitidos

por las diferentes partes de la muestra (Fig. 2.4). La microscopia electrónica de barrido es muy útil para estudiar la morfología de los polímeros.

2.6. Biodegradación de polímeros

La biodegradación de polímeros implica cambios en las propiedades del polímero, debido a procesos químicos, físicos o biológicos, resultando en encisiones sobre enlaces y subsecuentemente transformaciones químicas. La degradación refleja cambios en las propiedades del material, tales como son las mecánicas, ópticas o eléctricas. La forma en que se observan son en grietas, la erosión, la decoloración y la fase. Dependiendo de la naturaleza de los agentes causantes de la degradación de polímeros han sido clasificados como degradación foto-oxidativa, degradación térmica, degradación inducida por el ozono, degradación mecanoquímica, degradación catalítica y biodegradación. Por considerarse sólo de interés la última, se explicará brevemente de que consiste y cuales son los factores involucrados en ella.

La biodegradación es una transformación bioquímica de los compuestos en la mineralización por los microorganismos (Fig.2.5). La mineralización de compuestos orgánicos, y la generación de dióxido de carbono y agua bajo condiciones aeróbicas y, el metano y dióxido de carbono bajo condiciones anaerobias. La hidrólisis abiótica y la foto oxidación, así como la desintegración física de polímeros, pueden mejorar la biodegradación de polímeros, a partir del aumento en la superficie para la colonización microbiana o la reducción de peso molecular [42].

La biodegradación ha sido definida como el cambio en las propiedades superficiales o pérdida de resistencia mecánica [43], la asimilación por los microorganismos [44], la degradación por enzimas [45], rotura de cadenas principales y posterior reducción del peso molecular de los polímeros [46]. La degradación puede producirse por cualquiera de los mecanismos antes mencionados, solos o en combinación. La degradación biológica es de naturaleza química, pero la fuente de los productos químicos que atacan es a partir de microorganismos. Éstos productos químicos son de naturaleza catalítica, por ejemplo, *enzimas*. La susceptibilidad de los polímeros al ataque microbiano, en general, depende de la disponibilidad de la enzima, la disponibilidad de un sitio en el polímero para el ataque de la misma, y la especificidad de las enzimas para el polímero.

La biodegradación puede ocurrir a diferentes niveles estructurales, es decir, macromolecular, microscópica y macroscópica, dependiendo del mecanismo [47]. Se ha investigado que el fenómeno de la degradación in-vivo, no puede ser equiparada con la participación activa de entidades biológicas, tales como enzimas u organismos en el proceso de degradación [48]. Es sin embargo, difícil de identificar la participación y el papel de la diversidad biológica en la degradación in-vivo. Los procesos que pueden contribuir a la degradación son los procesos hidrolíticos y enzimáticos. A medida que va avanzando el proceso de degradación, la degradación puede comenzar por hidrólisis, pero a medida que aumenta el rompimiento del polímero y la accesibilidad en el área superficial, la degradación enzimática podrá dominar. De esta

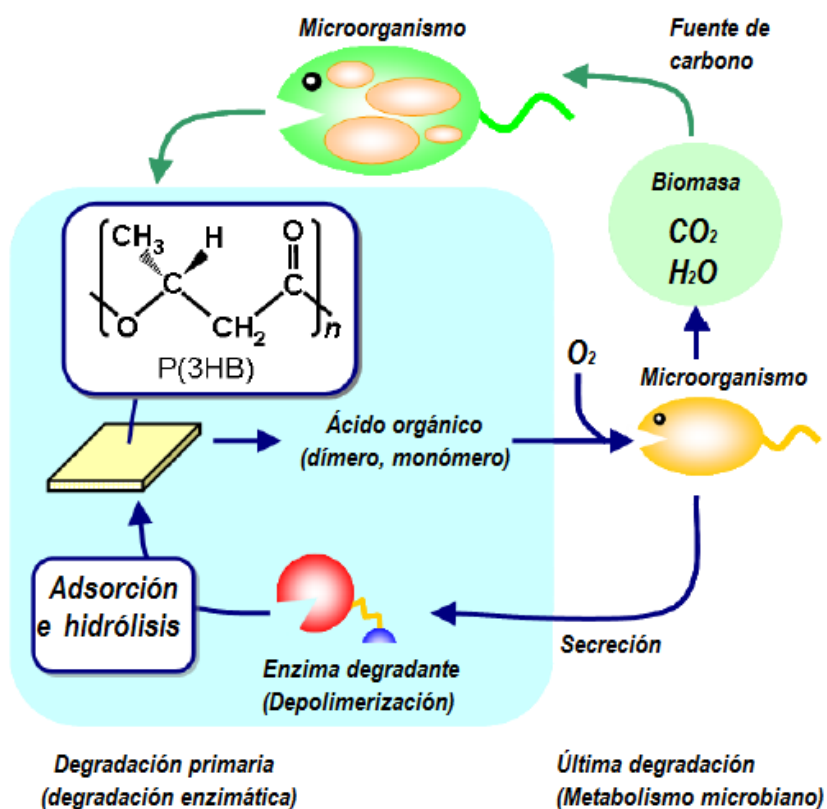


Figura 2.5: Proceso de biodegradación enzimática

manera la biodegradación incluye todos los tipos de degradación que se producen debido a la hidrólisis o a los procesos metabólicos. Por lo tanto, la biodegradación también se define como la conversión de materiales en complejos intermedios menores o productos finales de la solubilización, por hidrólisis o la acción de entidades formadas biológicamente como enzimas y otros productos de estos organismos [49].

2.6.1. Microorganismos para la hidrólisis enzimática

Existen dos tipos de microorganismos que resultan de gran interés para llevar a cabo la biodegradación mediante catálisis enzimática en polímeros naturales o sintéticos; estos son las bacterias y los hongos.

2.6.2. Hongos

Los hongos son microorganismos eucariontes, de particular importancia para los procesos de biodegradación. Los hongos son microorganismos nucleados, se reproducen sexual y ase-

xualmente; la mayoría de ellos poseen filamentos y existen más de 80,000 especies conocidas. Su importancia como agentes degradadores es resultado de la producción de enzimas capaces de utilizar las cadenas poliméricas como sustratos, para ser asimilados como sus nutrientes [50].

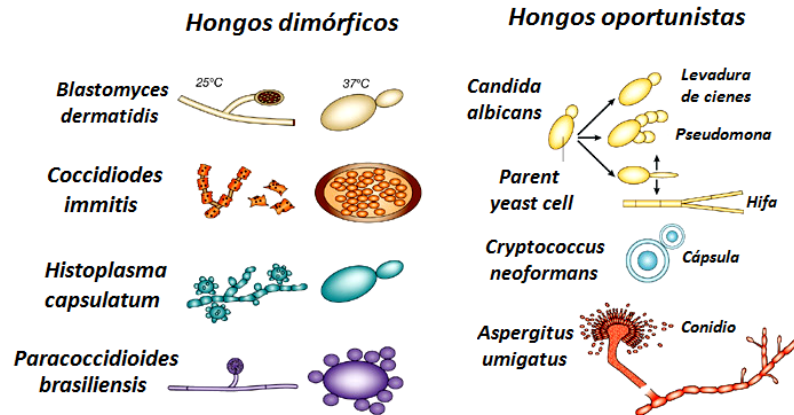


Figura 2.6: Principales formas de hongos

2.6.3. Bacterias

Las bacterias son microorganismos procariontes los cuales pueden presentarse en las formas de: bastones, cocos o espirales, otras pueden ser de tipo cadena o filamentosas, las cuales se pueden observar en la figura 2.7. Pueden ser aerobias o anaerobias, en contraste con los hongos los cuales son únicamente microorganismos aerobios. Su acción degradativa al igual que los hongos es vía enzimática, utilizando los productos de biodegradación como nutrientes para su supervivencia.

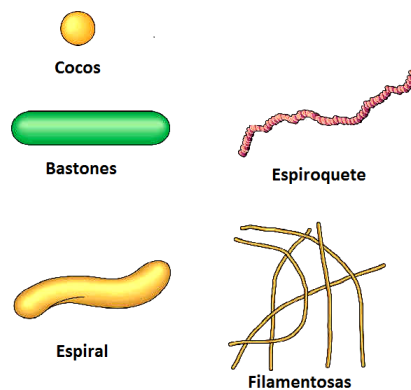


Figura 2.7: Principales formas de bacterias

Crecimiento bacteriano

La multiplicación celular es una consecuencia directa del crecimiento y da lugar, en el caso de las bacterias, a colonias, a través de un sistema de reproducción asexual denominado división binaria. Los procesos sintéticos involucrados en el crecimiento bacteriano incluyen más de 2 000 reacciones bioquímicas.

En un sistema cerrado o cultivo en medio no renovado, se obtiene una curva de crecimiento típica que se divide en cuatro fases (Fig.2.8):

1. Fase de latencia
2. Fase exponencial
3. Fase estacionaria
4. Fase de muerte

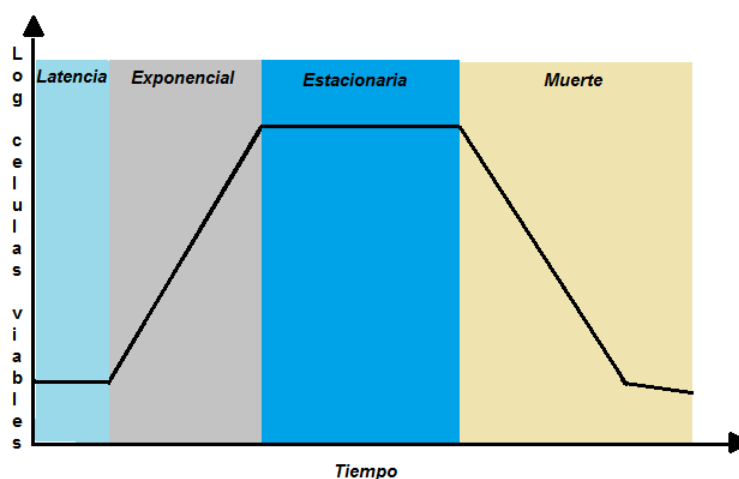


Figura 2.8: Crecimiento poblacional de bacterias

La fase de latencia se caracteriza por la adaptación de los microorganismos, no se presenta cuando el inóculo es nuevo, pero si el inóculo proviene de un cultivo viejo, requiere de este periodo de adaptación. La mayor parte de las bacterias crece de forma exponencial, aunque hay una serie de condiciones que influyen (nutrimentos en el medio, temperatura, factores genéticos). En la fase estacionaria, no hay una modificación neta en el número de células. Existe un frágil equilibrio que desaparece eventualmente cuando aún las bacterias metabólicamente activas mueren, debido a productos tóxicos y falta de nutrientes (factores presentes en la fase estacionaria) aunados a enzimas liberadas por la lisis bacteriana [51].

Durante la fase de latencia o adaptación, las bacterias se adaptan a las condiciones de crecimiento. Éste es el período en que las bacterias individuales maduran y no pueden dividirse.

Durante la fase de adaptación del ciclo de crecimiento bacteriano se produce, la síntesis de ácido ribonucleico (ARN), enzimas y otras moléculas. La fase exponencial (a veces llamada la fase de registro o de la fase logarítmica), es un período caracterizado por la duplicación celular. El número de nuevas bacterias que aparecen por unidad de tiempo es proporcional a la población actual. Si el crecimiento no se limita, el duplicando continuará a un ritmo constante, por lo tanto el número de células y la tasa de crecimiento de la población se duplica con cada período de tiempo consecutivos. El crecimiento exponencial no puede continuar indefinidamente, sin embargo, el medio puede sufrir agotamiento de nutrientes y ser enriquecido con los desechos. Durante la fase estacionaria, la velocidad de crecimiento disminuye como consecuencia del agotamiento de los nutrientes y la acumulación de productos tóxicos. Esta fase se alcanza ya que las bacterias empiezan a agotar los recursos que están disponibles para ellos. Esta fase es un valor constante, así como la tasa de crecimiento de las bacterias es igual a la tasa de muerte bacteriana. En la fase de muerte, las bacterias se queda sin nutrientes y mueren.

2.6.4. Enzimas

Las enzimas son proteínas altamente especializadas, que tienen como función la catálisis o regulación de la velocidad de las reacciones químicas que se llevan a cabo en los seres vivos. Las enzimas son proteínas globulares que pueden variar en tamaño, desde 10,000 a más de 2,000,000 daltons [52].

El nombre de las enzimas es el del sustrato + el sufijo: -asa. Los nombres de las enzimas revelan la especificidad de su función:

- Oxido-reductasas: catalizan reacciones de oxido-reducción, las que implican la ganancia (o reducción) o pérdida de electrones (u oxidación). Las más importantes son las deshidrogenasas y las oxidasas
- Transferasas: transfieren grupos funcionales de una molécula a otra. Ej.: quinasas; transfieren fosfatos del ATP a otra molécula.
- Hidrolasas: rompen varios tipos de enlaces introduciendo radicales -H y -OH.
- Liasas: adicionan grupos funcionales a los dobles enlaces.
- Isomerasas: convierten los sustratos isómeros unos en otros.
- Ligasas o Sintetasas: forman diversos tipos de enlaces aprovechando la energía de la ruptura del ATP. Ejemplo: polimerasas

En la biodegradación de poliésteres se ha encontrado que las enzimas capaces de catalizar reacciones de ruptura de las cadenas poliméricas son las enzimas tipo hidrolasas, las cuales rompen enlaces C-O. Las hidrolasas a su vez pueden ser: lipasas, esterases, depolimerasas y

endopeptidasas [53].

2.6.5. Mecanismo general de degradación

La biodegradación de polímeros se refiere al ataque por microorganismos dirigida hacia materiales poliméricos que no son solubles en agua. Esto implica que la biodegradación de dichos materiales sea usualmente un proceso heterogéneo. Debido a la baja solubilidad en agua y al tamaño de las moléculas poliméricas, los microorganismos no son capaces de transportar el material polimérico directamente hacia el interior de las células, donde se lleva a cabo la mayoría de las reacciones bioquímicas. En un principio, los microorganismos liberan enzimas extracelulares, las cuales depolimerizan a las cadenas del polímero. Si la masa molecular de los polímeros está lo suficientemente reducida para generar intermediarios solubles en agua, éstos podrán ser transportados hacia el interior de las células y transformarse mediante procesos metabólicos. El producto final de estos procesos metabólicos incluye la generación de agua, dióxido de carbono y biomasa. Sin embargo, las enzimas extracelulares son demasiado grandes para penetrar profundamente en el material polimérico, por lo que solo actúan en la superficie del polímero. Consecuentemente, la biodegradación de los plásticos es generalmente un proceso de erosión en la superficie. Aunque la catálisis enzimática en la cadena polimérica es, en muchos casos, el proceso primario de la biodegradación; los procesos químicos y físicos pueden actuar de la misma forma en el polímero, ya sea de forma paralela o individualmente. Estos efectos no bióticos incluyen la hidrólisis, degradación térmica, oxidación o rompimiento de la cadena por irradiación (foto degradación). Para algunos materiales, estos efectos se emplean directamente para inducir el proceso de biodegradación, procesos que hay que considerar cuando se lleva a cabo primordialmente por enzimas extracelulares. Existiendo una coexistencia entre los procesos bióticos y los abióticos (no bióticos).

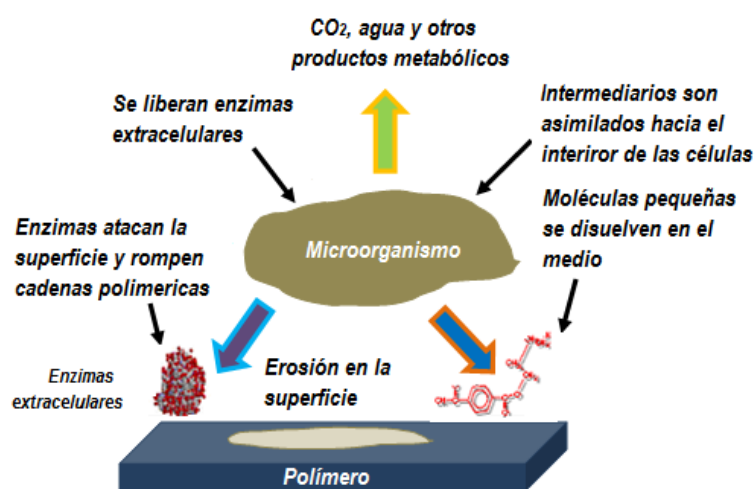


Figura 2.9: Proceso de biodegradación enzimático

Por otro lado, los parámetros como humedad, temperatura, pH, salinidad; presencia o ausencia de oxígeno y la cantidad de nutrientes presentes en el medio, tienen efectos importantes en la biodegradación por microorganismos, dichos factores hay que considerar durante las pruebas de biodegradación. Otro factor que hay que considerarlos durante dichas pruebas es la complejidad de los materiales poliméricos, ya que estos pueden estar constituidos por distintos componentes, plastificantes, aditivos o pueden ser copolímeros; los cuales pueden estar distribuidos de forma aleatoria, pueden formar bloques, estar entrecruzados o formar redes poliméricas en donde se involucra un ordenamiento en la estructura polimérica (cristalinidad y temperatura de transición vítrea). Estas diferencias estructurales pueden influir en la hidrólisis enzimática para poder acceder al material [54].

2.6.6. Técnicas de monitoreo de la biodegradación de un material polimérico

La evaluación de los cambios en los materiales poliméricos se debe de realizar en todas las pruebas que implican una degradación. Las principales técnicas empleadas se resumen en la fig. 2.10.

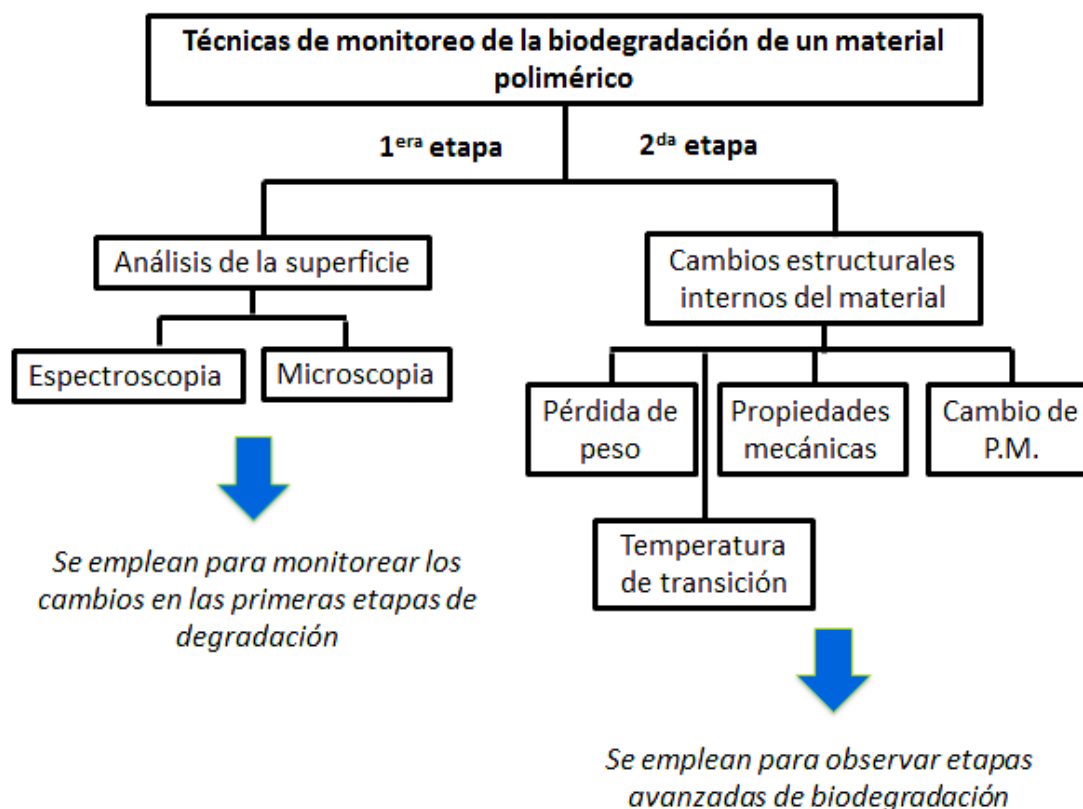


Figura 2.10: Diagrama de bloques de las diferentes técnicas de monitoreo de biodegradación de un polímero

Por lo tanto, la selección del tipo de técnica a emplear debe de estar basada en la etapa en la que se encuentra el proceso de degradación y en el tipo de material en estudio. Algunas de las propiedades y técnicas empleadas se describen a continuación.

Observación visual

La evaluación de los cambios visibles en los polímeros se realiza en casi todas las pruebas in-vitro. Hay algunos cambios que no son visibles a simple vista por lo que se emplean técnicas como la microscopia electrónica de barrido (SEM). Los efectos que pueden observarse en la superficie del material son: formación de agujeros o grietas, fragmentación, cambio de color o la formación de biofilms en la superficie. Estos cambios no demuestran la presencia de un proceso de biodegradación en condiciones de metabolismo, pero el parámetro de los cambios visuales se puede utilizar como una primera indicación de cualquier ataque microbiano. Para obtener información sobre el mecanismo de degradación, se emplean técnicas más sofisticadas como son la microscopía electrónica de barrido (SEM) o microscopia de fuerza atómica (AFM) [55].

Superficie del material

La superficie del material antes y después de ser biodegradado puede ser analizada por técnicas como: espectroscopia de infrarrojo mediante transformada de Fourier (FTIR), la cual se puede proporcionar información de la composición molecular de la muestra y es una técnica rápida, sin embargo, no proporciona información acerca de cambios en la superficie a nivel nanométrico [55, 56].

Absorción de agua y pérdida de peso

Los principales factores que influyen en la permeabilidad de los polímeros están relacionados con el grado de cristalinidad, composición y medio acuoso. Marois et al. encontraron diferencias entre películas poliméricas de polihidroxialcanoato referente a la absorción de agua y en solución amortiguadora de fosfatos. Observaron que la incubación en dicha solución permitía una menor absorción de agua que cuando se incubaron únicamente en presencia de agua, dichas diferencias se atribuyeron al fenómeno osmótico y a la fuerza iónica. La medición de la cantidad de agua absorbida es un indicador de la naturaleza de hidrofiliidad/hidrofobicidad del material, así como la tendencia a ser degradados.

Los valores de absorción de agua son obtenidos después de haber alcanzado el equilibrio de los materiales en la solución. En algunos casos, el equilibrio no puede alcanzarse ya que los materiales se degradan al mismo tiempo. En este caso, el nivel de agua absorbido incrementa con el tiempo de la degradación, debido a un incremento en la permeabilidad de los materiales (una estructura porosa normalmente es obtenida como resultado de la liberación de los productos de biodegradación).

Durante la degradación, la masa del material puede variar, y estos cambios pueden ser monitoreados al comparar la masa inicial y final durante el período de prueba. El material debe de estar seco a peso constante para evitar humedad en la muestra. La temperatura de

secado no debe de exceder la temperatura a la cual presente cambios irreversibles (ejemplo temperatura de fusión). Después de las pruebas de biodegradación las muestras deben lavarse con agua desionizada o destilada para remover productos trazas, enzimas, sales u otras impurezas y, finalmente, colocarlas para su secado a vacío y pesarlas.

Peso molecular

La determinación del peso molecular promedio (Mw) durante el proceso de biodegradación es uno de los análisis más importantes que se realizan. La evolución del Mw durante dicho proceso puede ser determinado mediante cromatografía de permeación en gel (GPC) o por técnicas de viscosimetría. El principal parámetro antes de ser biodegradado el material es la determinación del peso molecular promedio así como la distribución del peso molecular (Mw/Mn) y así comparar dichos valores con los obtenidos una vez concluidos los experimentos.

Cambios en las propiedades mecánicas y peso molecular

Al igual que con las observaciones visuales, los cambios en las propiedades mecánicas de los materiales, se pueden utilizar para probar directamente la biodegradación en los materiales. Sin embargo, los cambios en las propiedades mecánicas se observan cuando se llevan a cabo pequeños cambios en el peso molecular se llevan a cabo. Propiedades como resistencia a la tracción son muy sensibles a los cambios en el peso molecular de los polímeros, que también es a menudo un indicador de la degradación [57].

2.6.7. Aislamiento de cepa *Alicyclophilus sp.*

El aislamiento de la cepa *Alicyclophilus sp.* fue realizado por el equipo de trabajo perteneciente al departamento de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas de la Facultad de Química, UNAM, Conjunto E. Para obtener la cepa bacteriana se tomaron muestras de poliuretano en proceso de deterioro, provenientes de distintos residuos encontrados en sillones y en el suelo, en varias zonas del basurero municipal de Nezahualcoyotl, Estado de México. Las muestras fueron obtenidas en invierno y la temperatura promedio de la zona no superaba los 20°C. Las muestras se inocularon el mismo día de la colecta. Para el aislamiento, las muestras se incubaron en medio basal con poliuretano hidrosoluble Hydroform®, el cual ha sido empleado exitosamente en el aislamiento de bacterias afines al poliuretano, por el grupo de Howard y colaboradores [58, 59]. Las cepas presentaron crecimiento en medio basal (MB) con Poliuretano (PU), sin embargo, la determinación de las curvas de crecimiento, midiendo densidad óptica a 660 nm, mostró que las de mayor crecimiento fueron las cepas que denominaron en un principio como BQ1 y BQ8. Siendo la cepa BQ1 (*Alicyclophilus sp.*) la que es de interés para el desarrollo de este trabajo experimental.

Actividad enzimática asociada a la cepa *Alicyciphilus sp.* (BQ1)

Las pruebas que se realizaron a las cepas BQ1, muestra que no hay presencia de actividades proteasas y ureasas. Por otro lado, se observó que la actividad presente en el sobrenadante de los cultivos con MB, Hydroform® y las bacterias presenta una actividad esterasa que pudiera ser la responsable de la degradación, ya que no se presenta ninguna otra actividad más que ésta última [60].

Capítulo 3

Metodología experimental

3.1. Materiales

3.1.1. Monómero libre de inhibidor

Se eliminó la hidroquinona (inhibidor) del acrilato de etilo, ya que este compuesto actúa como un inhibidor de la propia polimerización. Este proceso se realizó mediante una destilación a vacío.



Figura 3.1: Proceso de eliminación del inhibidor del monómero

Metodología

1. Se montó el equipo mostrado en la figura 3.1
2. En el recipiente donde se recibió el producto de polimerización, se colocó hielo, así como en las trampas de vacío colocadas en la destilación, para retener en forma condensada al monómero
3. La destilación a vacío se realizó a una temperatura de 50 °C

4. El recipiente donde se recibió el monómero libre de inhibidor, se colocó en refrigeración a una temperatura de -18°C , para evitar la polimerización del mismo.

3.1.2. Obtención de la semilla de tamarindo en polvo

La preparación de las materias primas se siguieron tres procedimientos:

- La primera se realizó al retirar la testa con una navaja. Una vez retirada la testa se trituró la semilla y fue separada a consistencia de harina
- La segunda se realizó al cocer la semilla, para retirar la testa manualmente y se colocó en un horno a secar (45° durante 6 horas). Posteriormente las semillas fueron trituradas.
- La tercera se realizó de manera semejante que la segunda, sólo variando la temperatura (120°) y tiempo de secado en el horno (48 horas)

Por la preparación de los polvos de semilla se les dio la siguiente nomenclatura:

Semilla de tamarindo	Nomenclatura
Sin cocimiento y tamizada	1ST60
Cocida y secada a 45°	2STC60
Cocida y secada a 120°	3STC60

Se caracterizaron los polvos por DSC y TGA (tema 3.3.4) para ver el comportamiento térmico de estos polvos de semilla preparados y poder determinar si la metodología utilizada no afectaría el polisacárido de la semilla de tamarindo.

Análisis termogravimétrico (TGA)

Los análisis termogravimétricos fueron llevados a cabo con el equipo DSC Q5000IR TA Instruments. Se empleó una atmósfera de nitrógeno a un flujo de $25\text{ml}/\text{min}$, una velocidad de calentamiento de $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ y un intervalo de trabajo de 25 a 550°C . Se usó un crisol de platino. El tratamiento de datos se realiza mediante el software Universal Analysis 2000.

Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

El análisis se llevó a cabo mediante el equipo DSCQ100 TA Instruments, el calentamiento se realizó en un intervalo de temperaturas de -50 a 230°C en una atmósfera de nitrógeno con un flujo de $30\text{ml}/\text{min}$ y a una velocidad de calentamiento de $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Se usó un crisol de aluminio con tapa de aluminio, prensados y sin sello hermético. El tratamiento de datos se realizó mediante el software *Universal Analysis 2000*.

Por la complejidad del procedimiento para la obtención de 1ST60 y, al cambio de color de la semilla de tamarindo en polvo durante 3STC60, se decidió realizar el procedimiento para obtener 2STC60. A continuación se enlista la metodología empleada:

Metodología

1. Se removió la semilla de la pulpa de tamarindo de forma manual, como lo describía Bhattacharya (1978) y Manak (1978) [61]
2. Se colocaron en una cacerola las semillas con agua y fueron sometidas a una temperatura de 93 °C, en un intervalo de 1.5 horas, ésto para poder remojar la testa y desprenderla del endospermo
3. Se removió la testa con un instrumento punzo cortante, debido a que por el cocimiento de las semillas la testa era mas blanda y fácil de remover
4. Se colocaron las semillas de tamarindo sin testa al sol por 4 horas a una temperatura de 28 °C
5. Se colocaron en un horno por 4 horas a una temperatura que osciló entre 35 y 45 °C para su secado y así poder remover la humedad que había en ellas por el remojo y cocimiento previamente realizado
6. Las semillas se trituraron con una licuadora comercial, para poder obtenerlas en forma de polvo
7. El polvo de las semillas de tamarindo fue separado por tamaños, utilizando solamente el de 250 micrones (Tamiz 60), con el cual se obtuvo un polvo de consistencia de harina (Fig 3.2)

3.2. Síntesis del polímero biodegradable

Se preparó el polímero biodegradable con el acrilato de etilo como monómero sintético y la semilla de tamarindo en polvo como polímero natural, y se nombró como *PEAS*, denotando el tipo de material PEAS que se esta produciendo P de polímero, el nombre del componente



Figura 3.2: Proceso de obtención del polvo de la semilla de tamarindo

del material sintético EA (ethyl acrylate por sus siglas en ingles) y S de semilla. Se utilizó el método de polimerización por radicales libres en solución. Se usó como iniciador el 2-2'-azobis-isobutirilnitrilo (AIBN). Durante la preparación de la polimerización (antes de comenzar a polimerizar) se burbujeo nitrógeno en el reactor, para eliminar el oxígeno disuelto y para desplazar el que se encontraba libre. La temperatura de polimerización fue calculada relacionando el tiempo de vida media del iniciador (AIBN), donde se asume una descomposición cinética de primer orden, la cual es más usual para la mayoría de los radicales libres de los iniciadores orgánicos, la vida media ($t_{1/2}$) es relacionada con la velocidad de descomposición del iniciador (K_d) como sigue [62]

$$t_{1/2} = \ln 2 / K_d$$

Haciendo el cálculo para una temperatura de 70 °C y tomando como disolvente el benceno se tiene:

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{3.2 \times 10^{-5}} = 21,660s = 361min = 6.01horas$$

Se determinó que a una temperatura de 70 °C, el tiempo de vida media correspondía a 6.01 horas. Pero como la temperatura de las polimerizaciones se mantuvo en un intervalo de 70 a 75 °C. La reacción se mantuvo durante 6 horas aproximadamente. El iniciador se disolvió con acetona.

Se prepararon diferentes polimerizaciones variando la concentración en peso. Estas relaciones se muestran en la tabla 3.1:

Tabla 3.1: Relaciones acrilato de etilo: Semilla de tamarindo, porcentaje en peso usado en este trabajo.

PEAS 9:1	Poli(90 % Semilla de tamarindo + 10 % Acrilato de etilo)
PEAS 8:2	Poli(80 % Semilla de tamarindo + 20 % Acrilato de etilo)
PEAS 7:3	Poli(70 % Semilla de tamarindo + 30 % Acrilato de etilo)
PEAS 6:4	Poli(60 % Semilla de tamarindo + 40 % Acrilato de etilo)
PEAS 5:5	Poli(50 % Semilla de tamarindo + 50 % Acrilato de etilo)

Metodología

1. Se disolvió el polvo de la semilla de tamarindo (de acuerdo a la polimerización a realizar consultando la tabla 3.2) en un vaso de precipitados donde se usó 100 *mL* de agua a temperatura ambiente y después con 100 *mL* de agua caliente (previamente hervida), ésto para una mejor disolución e inhibición de grumos durante la disolución del polvo de la semilla de tamarindo en el medio de reacción.
2. Se pesó y disolvió el AIBN en acetona, y se tapó con parafilm, para evitar que se evaporara
3. Se colocó la disolución preparada anteriormente en un reactor de tres bocas de 500 *mL*, sometiéndolos a una agitación constante de 45 rpm y una temperatura de 30 °C
4. Se continuó calentando hasta llegar a los 50 °C
5. Se agregó el acrilato de etilo, manteniendo constante la agitación
6. Se agregó nitrógeno líquido al medio de reacción a una temperatura de 60 °C, la cual fue una temperatura donde se mantuvo controlada la polimerización
7. Se agregó el AIBN (concentración 200:1 molar [monómero:AIBN]), para comenzar la reacción de polimerización
8. Se dejó la reacción por 6 horas, manteniendo un intervalo de temperatura de polimerización entre 70 y 75 °C
9. Se retiró el polímero del reactor, y para retirar la mayor cantidad de agua del polímero (el polímero es insoluble en acetona) se lavó con acetona, la cual fue separada mediante decantación
10. Esto mismo se hizo para todas las polimerizaciones a sus diferentes relaciones

Tabla 3.2: Cantidades a reaccionar de monómero:semilla de tamarindo en polvo y de iniciador

Relación en peso monómero : semilla	Cantidad monómero (g)	Cantidad de semilla en polvo (g)	Cantidad AIBN (g)
90:10	49.5	5.5	0.4054
80:20	44	11	0.3603
70:30	38.5	16.5	0.3153
60:40	33	22	0.27027
50:50	27.5	27.5	0.2252

Las interacciones físicas que se esperan son puentes de hidrógeno debido a gran cantidad de grupos OH y grupos carbonilos presentes en el polisacárido de la semilla de tamarindo y el acrilato de etilo, respectivamente (Fig. 3.3).

El mecanismo propuesto de injerto del copolímero se muestra en la figura 3.4 [63, 64].

En el cuadro metodológico de la figura 3.5 se encuentran resumido el procesos experimental, el cual será un mapa a seguir durante todo el trabajo experimental.

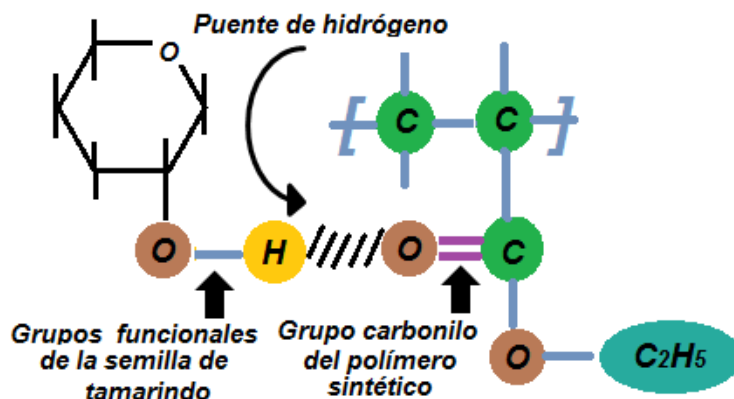


Figura 3.3: Formación propuesta de puentes de hidrógeno

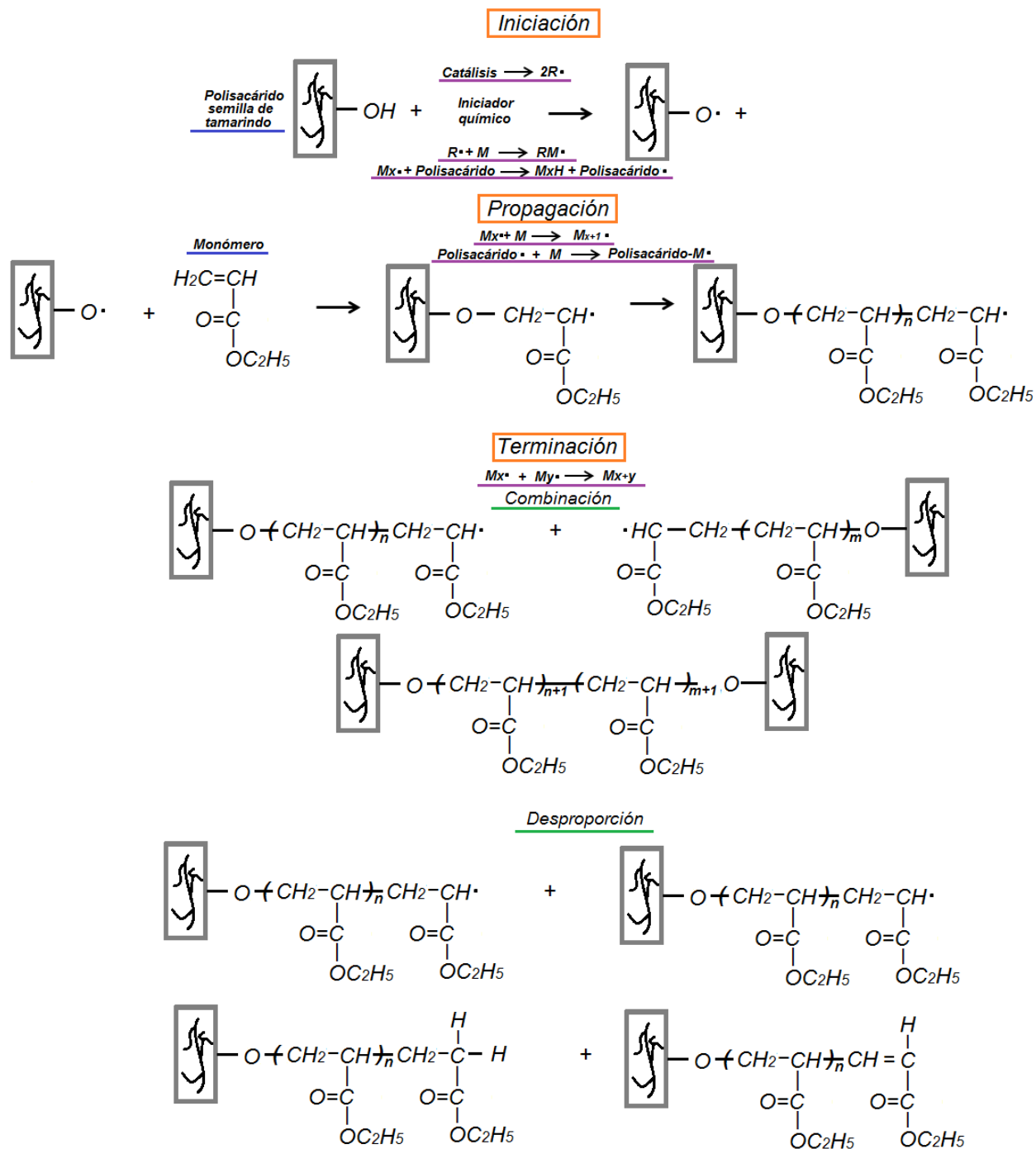


Figura 3.4: Mecanismo propuesto del copolímero injertado (D. Roy et al., 2009; Ghosh et al., 2010)

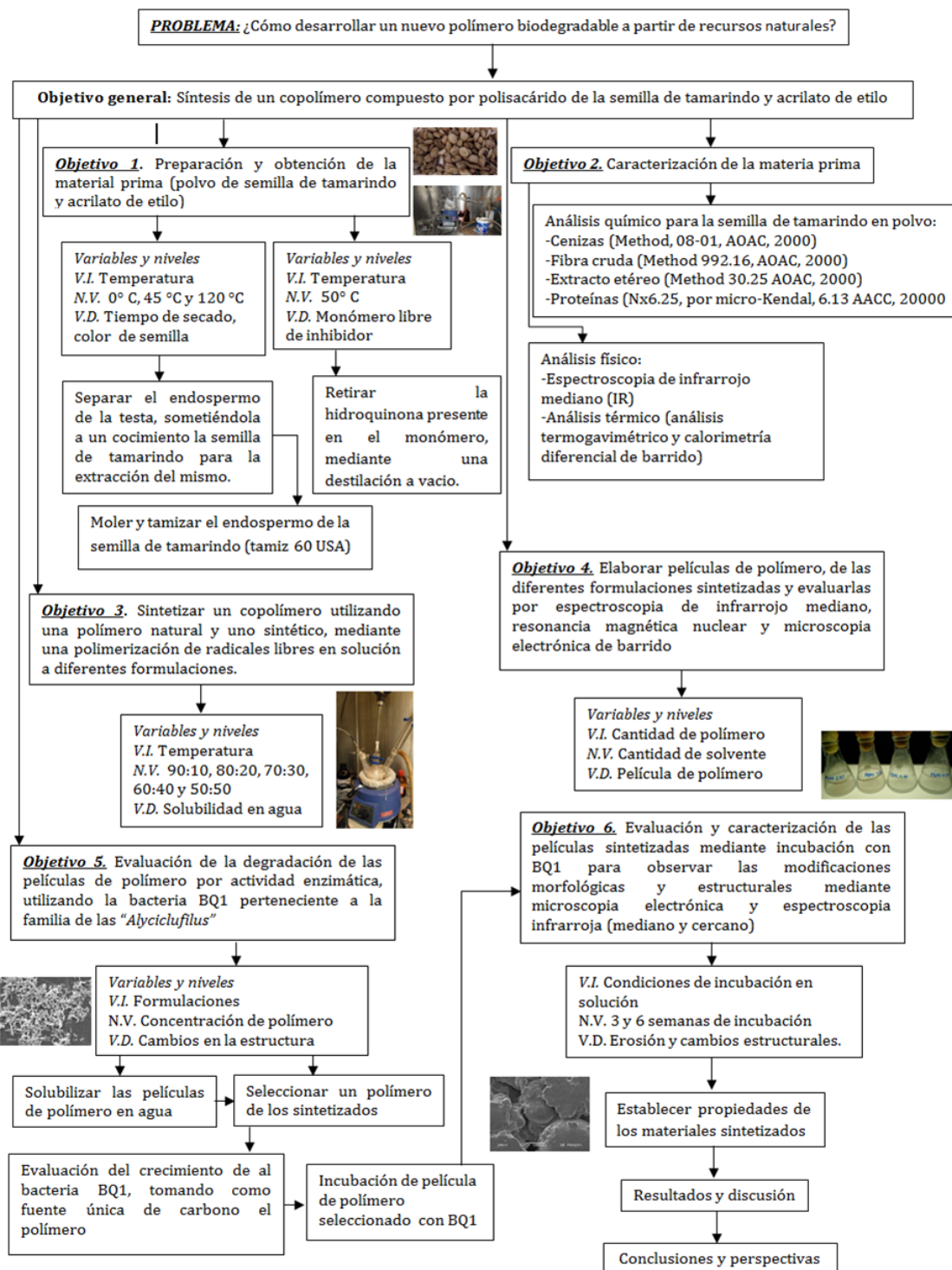


Figura 3.5: Cuadro metodológico del desarrollo experimental

3.3. Caracterización de los polímeros

3.3.1. Análisis bromatológico

Se enviaron a analizar 50 gr. de semilla de tamarindo en polvo tamizada en cribas de 250 micrones, a la Facultad de Química en la Universidad Autónoma de Querétaro para determinación de los principales componentes del polvo de la semilla de tamarindo así como sus respectivas cantidades, fue importante para conocer la cantidad de carbohidratos presentes en la semilla de tamarindo debido a que ésta es uno de los dos principales reactivos para llevar a cabo la síntesis del polímero biodegradable PEAS. En este análisis químico se determinó la cantidad de carbohidratos, proteínas, fibra cruda, grasas, cenizas y humedad.

Metodología

Para la determinación de los principales componentes de la semilla de tamarindo se utilizaron las siguientes normas:

- Method 08.01, AOAC 2000; para la determinación de cenizas
- Method 992.16, AOAC 2000; para la determinación de fibra cruda
- Method 30.25, AOAC 2000; para la determinación de extracto etéreo (ácidos grasos), método Soxhlet en alimentos
- NX6.25, por micro-Kendal, 6.13 AACC 2000; para la determinación de proteínas en alimentos
- La determinación de carbohidratos se hace por diferencia de los demás componentes.

3.3.2. Espectroscopia infrarroja (IR)

Polvo de la semilla de tamarindo

Se prepararon polvos de semilla de tamarindo, con procesos diferentes de obtención, haciéndose un estudio para ver si se alteraba su estructura después de cada proceso. Se elaboró un análisis por FT-IR en técnica de transmitancia en un espectroscopio del tipo Bruker Vector 33, preparada mediante una mezcla de *KBr* (Bromuro de potasio) y semilla de tamarindo en polvo, en una relación 3:1, usando un empastillador.

Poli(acrilato de etilo)

Se colocó 1 g de polímero disuelto en acetona sobre una caja petri cuadrada forrada de un plástico (poli etileno) para evitar el daño del solvente sobre la caja y se secó en una campana de extracción durante 24 horas. Se elaboró una película de éste material con un grosor aproximado de 250 micrómetros. Se utilizó la técnica de reflectancia total atenuada (ATR, por sus siglas en ingles), utilizando 32 barridos

PEAS

Se prepararon películas de los polímeros (PEAS 5:5, PEAS 6:4, PEAS 7:3, PEAS 8:2, PEAS 9:1). Se utilizaron aprox. 0.1 g de polímero y se disolvieron en 15 ml de agua destilada. Esta disolución se colocó en una caja petri forrada de un plástico (poli (cloruro de vinilo)) y se secó en una campana de extracción durante 24 horas. Para poder analizarlos mediante la técnica de ATR, los que contenían grosores aproximado de 110 micrómetros, 200 micrómetros, 190 micrómetros, 200 micrómetros y 210 micrómetros, respectivamente.

3.3.3. Resonancia magnética nuclear(NMR) de Hidrógeno -1

Las pruebas se realizaron utilizando un equipo Bruker AVANCE 400 a 500MHz, se utilizó como estándar interno (0 ppm) el 3-trimetilsilil, propiónico- 2.2, 3.3-d (ácid sililado + sal de sodio). La frecuencia de resonancia para un iman de campo de 9.3 Tesla donde se utilizaron 400 MHz para el 1H y 100.57 MHz para el ^{13}C , con una sonda hr-MAS. La velocidad utilizada fue de 5000 rpm. Los espectros de RMN de 1H y ^{13}C de los PEAS(5:5, 6:4, 7:3, 8:2 y 9:1) se llevaron a cabo en agua deuterada por la técnica de geles (3% p/v). El PEA se llevo a cabo con acetona deuterada por técnica de líquidos.

3.3.4. Análisis térmico

Se utilizarón dos técnicas para el análisis térmico, las cuales fueron: análisis termogravimétrico (TGA) y calorimetría diferencial de barrido (DSC), las cuales son un complemento una de la otra. Se prepararon películas de los materiales (elaboradas anteriormente) y se tomó solo una pequeña parte de éstas para el análisis.

Análisis termogravimétrico (TGA)

Los análisis termogravimétricos fueron llevados a cabo con un equipo TGA Q5000IR TA Instruments. Se empleó una atmósfera de nitrógeno a un flujo de 25 mL/min, una velocidad de calentamiento de 10 °C/min y un intervalo de trabajo de 25 a 550 °C. Se usó un crisol de platino. El tratamiento de datos se realiza mediante el software Universal Analysis 2000.

Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

El análisis se llevó a cabo en un equipo DSCQ100 TA Instruments, el calentamiento se realizó con un flujo de 30 mL/min y a una velocidad de calentamiento de 10 °C /min en una atmósfera de nitrógeno dentro de un intervalo de temperatura de -50 a 230 °C. Se usó un crisol de aluminio con tapa de aluminio, sellados y sin sello hermético. El tratamiento de datos se realizó mediante el software *Universal Analysis 2000* con el que se determinó el valor de la temperatura de transición vítrea (Tg) de las muestras estudiadas.

3.3.5. Pruebas mecánicas

Para realizar pruebas de tracción a los materiales sintetizados y hacer una comparación sobre el polímero puro, se utilizó un equipo INSTRON 5500R, siguiendo la metodología marcada en la norma ASTM 1708-87 [65], en donde se tuvieron que hacer probetas en forma de hueso, con medidas ya estandarizadas. Para esto se elaboraron películas delgadas de los polímeros sintetizados (PEAS) y del Poli(acrilato de etilo) se cortó el material con las medidas ya predeterminadas por la norma ASTM 1708-87. Se colocaron en un horno de vacío marca Thermo Scientific a una temperatura de 40 °C y una presión de 20 KPa, para eliminar de una manera estándar los compuestos volátiles presentes en las películas. Cuando el material estuvo libre de compuestos volátiles, se realizó la prueba de tensión para películas delgadas.

3.3.6. Microscopia electrónica de barrido

Se prepararon películas de todos los polímeros sintetizados para poder observar la conformación de las macromoléculas de su estructura. Se usó nitrógeno líquido de tal modo que estas películas fueron inmersas en él, para su posterior ruptura (preparación criogénica). Dichas películas fueron montadas de forma transversal (fig. 3.6), colocadas hacia arriba en portamuestras de cobre para su observación.

El portamuestras con la muestra montada fue bañado con oro en un recubridor (*sputtering*), utilizando dos ciclos en un nivel máximo, para evitar el daño de la película de polímero por el voltaje utilizado. Las micrografías se elaboraron en un microscopio marca JEOL-JSM-6060LV, con electrones secundarios. Se utilizaron como condiciones: Voltaje- 20KV y una distancia de trabajo de: 7mm.



Figura 3.6: Representación de la preparación de las muestras para la observación en forma trasversal

3.3.7. Pruebas de biodegradación

Se decidió hacer las pruebas de biodegradación en solo uno de los materiales sintetizados, para los cuales se eligió uno de los que presentó mejores propiedades, tanto térmicas como mecánicas: el PEAS 7:3.

Se reactivaron las células de BQ1. Se prepararon dos medios de cultivo de medio mínimo (MM) con una solución madre del polímero PEAS 7:3, donde se tomaron diferentes concentraciones, ver apéndice (b), conteniendo uno de los dos medios a la cepa *Alicyclophilus sp.*, y el segundo medio no inoculado (sin contener la bacteria), éste último se tomó como control del experimento, esto con el fin de estudiar la influencia de la actividad enzimática de la cepa bacteriana en función de la influencia de la hidrólisis química debida únicamente al medio mínimo que contiene el polímero PEAS 7:3. El propósito de este procedimiento fue determinar si la cepa bacteriana es capaz de crecer en un medio cuya fuente de carbono fuera el material sintetizados. Se realizaron dos réplicas de cada prueba de biodegradación.

Se monitoreó el crecimiento bacteriano con la medición de la absorbancia, esto debido a que la absorbancia se relaciona con la turbidez presente durante el crecimiento de cepas bacterianas. La presencia de crecimiento bacteriano se monitorio durante 5 tiempos, es decir, se tomaron lecturas de absorbancia en un espectrómetro marca ULTROSPECT UV-VISIBLE en tiempos de 0, 24, 48, 72, 96 y 120 horas, en donde se midió la absorbancia de cada una de las concentraciones inoculadas y no inoculadas, en una lectura de $D.O_{660}$. El procedimiento que se siguió fue el siguiente:

- Se tomó una muestra del matraz sin inocular de $100 \mu\text{L}$, mezclándose con $900 \mu\text{L}$ de solución de fosfatos (Solución A) formando una disolución. Se colocó en una celda especial para el uso del espectrómetro y se midió la absorbancia de esta disolución. Se pulsó un botón que daba la aplicación de establecer esa lectura como referencia.
- Se tomó una muestra del matraz inoculado (con bacteria) de $100 \mu\text{L}$, mezclándose con

900 μL de solución de fosfatos (Solución A) formando una disolución. Se colocó en una celda especial para el uso del espectrómetro y se midió la absorbancia de esta disolución, teniendo ya la lectura de la solución control como referencia.

Se realizó esto para cada tiempo de incubación. Tomando muestras cada 24 horas.

Preparación de medios de cultivo

Medio Mínimo. (Composición por litro)–Nakajima-Kambe et. al., 1995 [66]

Se pesaron las sustancias para la preparación de las soluciones que servirán para preparar el medio mínimo.

Solución A. (10x)

KH_2PO_4 20.0 g

K_2HPO_4 70.0 g

Solución B. (100x)

NH_4NO_3 100.0 g

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 100.0 g

Solución elementos traza (1000x)

$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.0 g

$\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.10 g

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 10.0 g

$\text{MgSO}_4 \cdot 4 - 6\text{H}_2\text{O}$ 2.0 g

Se mezclaron las cantidades de las sales mencionadas anteriormente para un litro de solución, tanto para solución A, B y C (con agua destilada).

Preparación de soluciones para el MM:

1. Se prepararon las soluciones A y B. Se esterilizaron en autoclave a 120 °C por 15 minutos
2. Se preparó la solución de elementos traza y se esterilizó por filtración (filtros Whatman de 0.2 μg .)
3. A 800 mL de agua estéril adicionar en condiciones asépticas 100mL de solución A, 10 mL de solución B y 1 mL de solución de elementos traza

4. Se llevó a un volumen final de 1 L, el cual es el medio mínimo que permanecerá como solución madre para realizar las pruebas de degradación, por triplicado.

Medio Luria bertain (LB) (Composición por litro [67]).

Medio líquido

Peptona 10.0 g
Extracto de levadura 5.0 g
NaCl 5.0 g

Preparación de medio LB (líquido):

1. Las sustancias se disolvieron en agua desionizada, necesaria para completar un litro, ajustar pH a 7.0 mediante la adición de solución de NaCl 1.0 N y se esterilizó en autoclave a 120 °C por 15 minutos.
2. Se mantuvo en refrigeración

Medio sólido

Agar 15.0 g
Peptona 10.0 g
Extracto de levadura 5.0 g
NaCl 5.0 g

Preparación de medio LB sólido:

1. Se disolvió el agar en la mínima cantidad de agua desionizada posible, haciéndolo por separado y, los otros componentes en 100 mL de agua desionizada. Mezclar las dos soluciones y completar a 1 L con agua. Se esterilizó bajo las mismas condiciones que para la preparación del medio líquido. Se enfrió hasta 65 °C. Para preparar placas de 25 a 30 mL de la solución caliente en cajas petri estériles. Se mantuvieron las cajas en refrigeración.

Preparación de medio mínimo con PEAS 7:3

Se preparó una solución madre de PEAS 7 : 3 al 10 % (1 g. de polímero PEAS disuelto en 10 mL de agua destilada). Se esterilizó la solución del PEAS (solución madre de PEAS 7:3 10 % en peso). Se prepararon 4 concentraciones diferentes con la solución madre, para obtener concentraciones de 0.3, 0.6, 1.2 y 2.4 %, todo esto en condiciones asépticas. Se preparó el

MM-PEAS 7 : 3, cuya metodología es descrita a continuación.

Medio mínimo con PEAS 7:3 (MM-PEAS 7 : 3)

Se preparó siguiendo las cantidades correspondiente a cada concentración, tomada de una solución madre de PEAS 7:3 al 10 %:

[]%	Cantidad PEAS 7:3 (mL)	Agua esterilizada (mL)	Solución (mL)	A	Solución B (mL)	Solución C (mL)
0.3	1.2	34.36	4		0.4	0.04
0.6	2.4	33.16	4		0.4	0.04
1.2	4.8	30.76	4		0.4	0.04
2.4	9.6	14.04	4		0.4	0.04

Tabla 3.3: Cantidades para las pruebas de degradación de PEAS a diferentes concentraciones

Preparación: Las cantidades descritas anteriormente son las necesarias para tener como volumen final 40mL de MM-PEAS 7:3. Se preparó dicho medio en un matraz previamente esterilizado y en condiciones asépticas. Se adicionó cada uno de los componentes siguiendo el orden de aparición. Se separó en otro matraz 20 mL de cada concentración preparada (0.3, 0.6, 1.2 y 2.4 %), para tener un control de crecimiento. Un matraz correspondiente a cada concentración preparada (20mL) fue inoculado con BQ1 e incubado durante 120 h a 37 °C, muestreando cada 24 horas y midiendo la absorbancia.

Reactivación de la cepa bacteriana Alicycliphilus sp.-BQ1

Se multiplicó la cepa bacteriana Alicycliphilus sp.-BQ1 (para poder mantener las mismas condiciones experimentales durante el desarrollo experimental de biodegradación del PEAS 7:3)

Metodología

1. Se descongeló un glicerol el cual estaba a una temperatura de -70 °C
2. Se tomó una alícuota de 50μL una vez descongelado y se plaqueó en LB sólido contenido en caja petri
3. Se introdujo la caja petri en la incubadora a 37 °C durante 48 h. Una vez pasado este tiempo se observaron las colonias formadas y aisladas (normalmente observadas en el cuarto cuadrante)



Figura 3.7: BQ1 activada en medio LB

A partir de una colonia aislada se inoculó un tubo de ensayo el cual contenía LB líquido y se introdujo en la incubadora con agitación y temperatura durante 16hr (over night), esto con el objeto de reproducir y alcanzar la fase exponencial de crecimiento de la cepa bacteriana. Pasado este tiempo se determinó la densidad óptica a 660nm mediante el espectrofotómetro UV/visible Ultrospec 2000 y se calculó el volumen de alícuota para inocular 20mL de medio mínimo con PEAS 7:3 MM-PEAS 7:3, el cual es el medio de cultivo que contiene a los nutrientes necesarios para la supervivencia de la cepa, incluyendo la fuente de carbono, el cual es obtenido del PEAS 7:3.

Una vez inoculados los matraces que contenían medio mínimo y polímero (MM-PEAS 7:3) a diferentes concentraciones, se sometieron a incubación durante 120 hrs, pasando cada 24 hrs se tomaron alícuotas de $100\mu\text{L}$ y se mezclaron con $900\mu\text{L}$ de solución A al 1X (solución de fosfatos), para medir la absorbancia, con la cual se obtuvieron datos que mostraron el crecimiento de la cepa bacteriana durante el tiempo de incubación.

Para la determinación de la formación de biomasa se inocularon otros matraces con las mismas características que los utilizados para medir el crecimiento de la bacteria, los cuales eran provenientes de una misma cepa y medio preparado. El medio preparado se centrifugó a 7500 rpm durante 15 min y se decantó, la parte sedimentada se resuspendió con solución buffer de fosfatos al 20mM (milimolar), y se colocaron en tubos eppendorf de 2mL prepesados. Estos tubos se centrifugaron a 7500 rpm por 15 min y se les retiró la solución suspendida (biomasa producida); con esto se obtuvo el peso húmedo. El material sedimentado de cada tubo con sedimento húmedo se colocó en un horno de vacío y se dejó por 48 h, para obtener un peso constante y así se obtuvo el peso seco de la biomasa formada.

3.3.8. Determinación de peso seco y húmedo

Se midió el peso seco y húmedo al inicio y final del experimento. Se prepararon 80 *mL* de medio para cada concentración en lugar de 40 *mL*, para poder hacer la referencia de los pesos al tiempo 0. Habiéndose preparado los 80 *mL* de medio, se repartirán 40 *mL* en 2 matraces de 125 *mL*. Se inoculó uno de los matraces que contiene 40 *mL* y se repartieron en dos matraces, teniendo 20 *mL* en cada uno de ellos. La misma repartición de los 40 *mL* en dos matraces para tener 20 *mL* en cada uno de ellos, se hará para el medio no inoculado. Esto se hará para todas las concentraciones, obteniendo de cada una de ellas dos juegos.

En el tiempo 0 h un juego de dos matraces de cada concentración (matraces de 20 *mL*, medio inoculado y matraz control, respectivamente) se vaciaron en un tubo eppendorf y se centrifugaron a 7500 rpm por 15 min. Se decantaron y se re suspendieron con una solución Buffer de fosfatos al 20 *mM*, se vaciaron en tubos eppendorf de 2 *mL* (los cuales fueron previamente pesados), fueron centrifugados por 15 min a 7500 rpm en una SORVAL RC-5. Se volvieron a decantar y se pesaron las células. El peso de éstos se tomó como el peso húmedo, obtenidas de la diferencia del peso de la parte sedimentada del matraz control y el matraz inoculado. Lo mismo se hará para todas las concentraciones.

Para la determinación del peso seco, los mismos tubos eppendorf obtenidos del paso anterior se colocaron en un horno de vacío a 35 °C con una presión de 11.2 psig por 48 horas, hasta peso constante. Se pesaron los tubos eppendorf. El peso obtenido de éstos se tomaron como peso seco, obtenido de la diferencia del peso de la parte sedimentada del matraz control y el matraz inoculado. Lo mismo se hizo para el resto de las concentraciones.

Preparación de medios para PEAS en película

Las películas de los polímeros sintetizados (fig. 3.8) se colocaron en MM, inoculándose con BQ1 y preparando su respectivo control. Se probaron los materiales PEA, PEAS 9:1, PEAS 8:2, PEAS 7:3, PEAS 6:4 y PEAS 5:5. Se incubaron en un volumen de 5 mL en tubos de ensayo. Una vez habiendo cumplido el tiempo de incubación de 3 y 6 semanas fueron retirados del medio para su posterior estudio por SEM, IR y NIR. Se siguió el mismo procedimiento que en pasos anteriores.

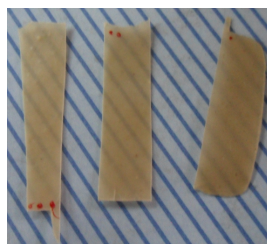


Figura 3.8: Ejemplos de las películas de PEAS que fueron sometidas en las pruebas de biodegradación

A continuación se resume la metodología llevada a cabo en la figura 3.9:

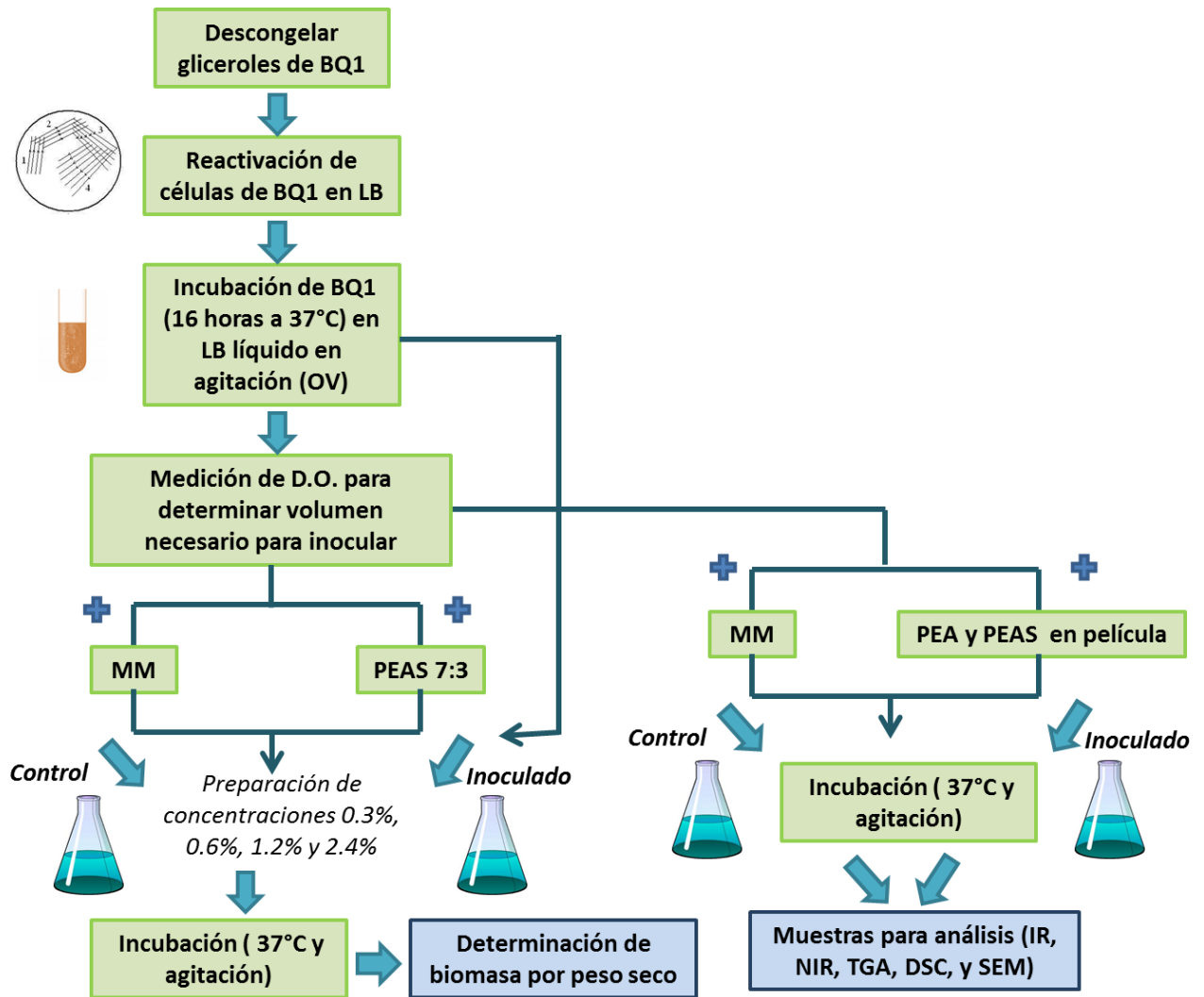


Figura 3.9: Metodología resumida del proceso de biodegradación para PEA y PEAS

Capítulo 4

Análisis y discusión de resultados

4.1. Análisis térmico de los polvos de la semilla de tamarindo obtenidos en diferentes procesos

Los resultados de TGA no muestran desplazamientos significativos en la temperatura de degradación térmica, por lo que no afectará la síntesis del injerto en la reacción ya que la temperatura de reacción será a 75 °C. De los diferentes polvos de semilla de tamarindo preparados (1ST60, 2STC60, 3STC60), la opción más fácil de retirar la testa es cocinando la semilla. En la figura 4.1 se muestran los termogramas de análisis termogravimétrico de los polvos obtenidos a diferentes procesos.

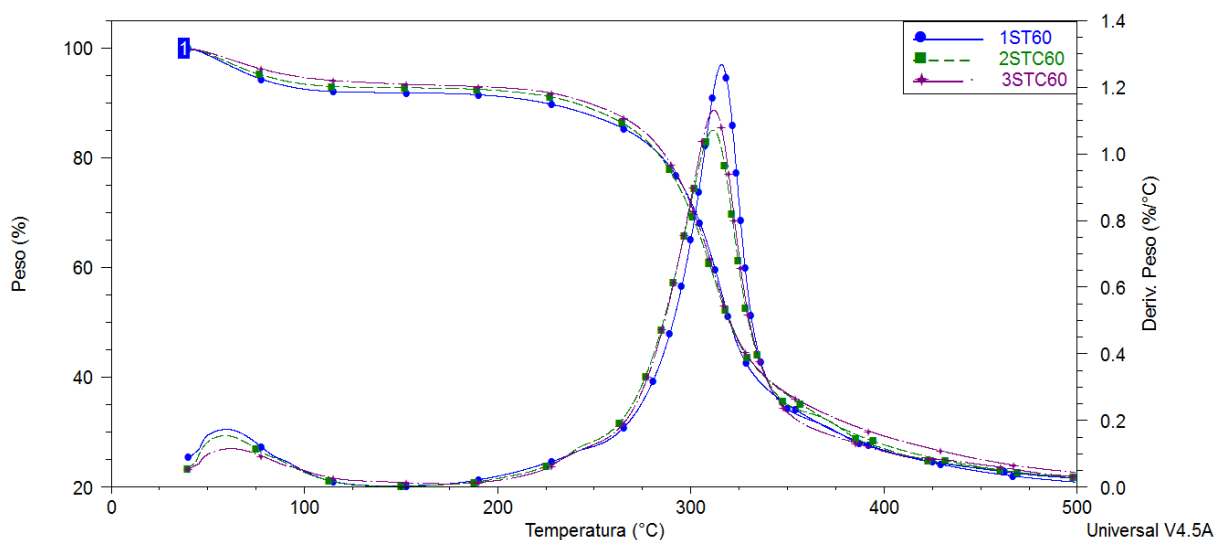


Figura 4.1: Termogramas de TGA y su derivada, de los procesos de obtención del polvo de la semilla de tamarindo, 1ST60 (sin cocimiento y secada), 2STC60 (cocida y secada a 45 °C), 3STC60 (cocida y secada a 120 °C

)

En los termogramas se puede observar que el polvo 1ST60 presenta su temperatura de degradación a los 315 °C, el 2STC60 a los 312 °C y el 3STC60 en 311 °C, con lo cual se puede ver que durante este último proceso de obtención del polvo disminuyó 4 °C la temperatura de degradación comparada con el 1ST60. A pesar de estas pequeñas variaciones en la temperatura de degradación, esto no representa un factor importante que pueda afectar a la reacción de injerto.

En la fig 4.2 se muestran los resultados obtenidos por calorimetría diferencial de barrido a los polvos obtenidos de semilla de tamarindo, donde se puede observar la temperatura de transición vítrea. Las temperaturas de transición vítrea de los diversos procesos de obtención de la semilla de tamarindo son: para la 1STC60 de 96.95 °C, para el 2STC60 de 90.85 °C y para el 3STC60 de 87.27 °C, con lo que se observa que el proceso tan alto de secado al que se sometió la semilla de tamarindo en el 3STC60 afectó su temperatura de transición vítrea, disminuyendola. Respecto a los otros dos procesos se puede observar que a pesar de que en el proceso 2STC60 disminuyó de igual forma su temperatura de transición vítrea, pero no fue más grande la reducción del 2STC60 comparada con el 3STC60, por lo que aunado con los resultados de TGA se puede elegir el proceso 2STC60 para la obtención de la semilla de tamarindo en polvo a utilizar.

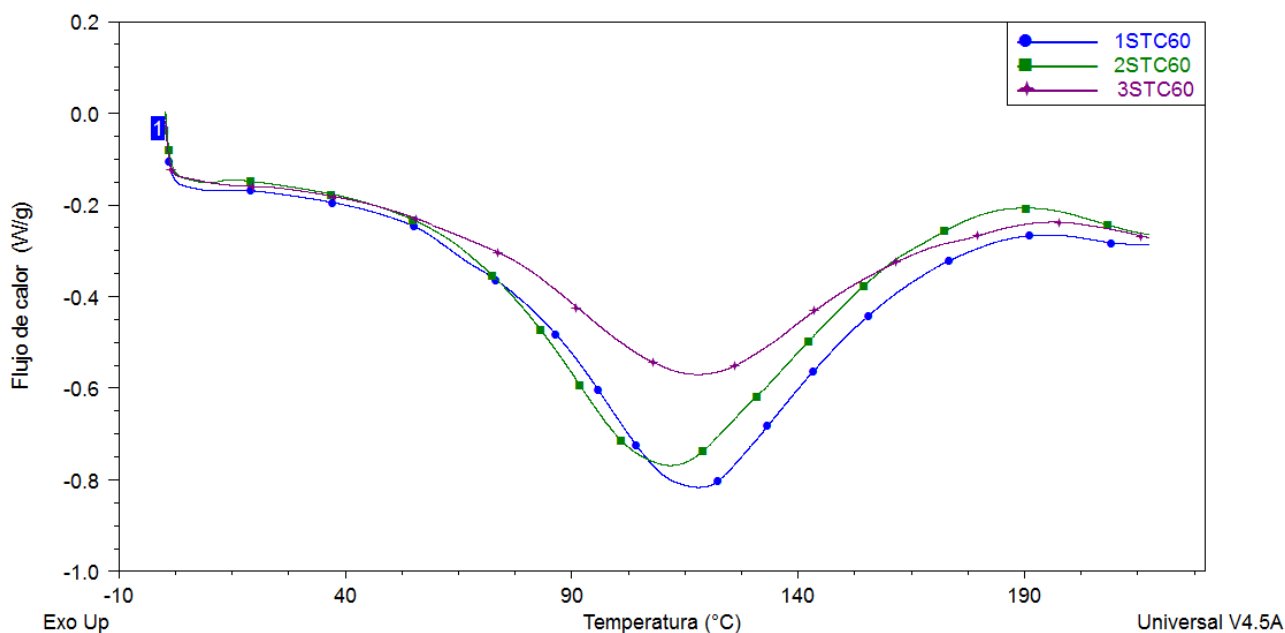


Figura 4.2: Termogramas de polvos de semilla de tamarindo (1,2,3) por DSC

4.2. Análisis bromatológico de la semilla de tamarindo

El examen bromatológico a la semilla de tamarindo se hizo para la cuantificación de carbohidratos, proteínas, fibra cruda, grasa, humedad y ceniza, mediante las normas mexicanas: Method 08.01 AOAC, 2000 (determinación de cenizas), Method 992.16, AOAC 2000 (determinación de fibra cruda), Method 30.25 AOAC 2000 (determinación de extracto etéreo-método Soxhlet en alimentos), NX6.25 por Micro-Kendal 6.13 AACC 2000 (determinación de proteínas en alimentos), obteniendo los siguientes resultados mostrados en la tabla 4.1:

Tabla 4.1: Composición de la semilla de tamarindo

Determinación	%
Carbohidratos	69.21
Cenizas	2.36
Fibra cruda	1.08
Grasas	3.005
Humedad	8.69
Proteína	15.65

Mostrando así que la mayor parte de la semilla de tamarindo es carbohidrato y donde este material podrá utilizarse en la reacción química junto con el acrilato de etilo, para la obtención del polímero biodegradable, mediante radicales libres.

La composición de la semilla de tamarindo varía ampliamente por los tipos y grado de madurez de ellas. La composición mostrada anteriormente concuerda con la determinada por Morad et al. (1978) [68], Ishola et al. (1990) [69], Bhattacharya (1993) [70], Shankaracharya (1998) [71], S. V. Patil et al. (2008); donde se mencionaba que el contenido de la semilla de tamarindo es rica en proteína (13-20 %).

4.3. Espectroscopia Infrarroja

4.3.1. Polvo de semilla de tamarindo

La determinación de la estructura molecular se llevó a cabo mediante espectroscopia de infrarrojo (IR). En el espectro de IR se pueden observar las bandas de absorción debidas a la presencia de los grupos amidas de las proteínas y las bandas de absorción de los grupos pertenecientes al polisacárido de la semilla de tamarindo.

La señal de $3200-3000\text{cm}^{-1}$ pertenece al estiramiento del grupo funcional hidroxilo $-OH$, del mismo modo que se observan otros modos de vibración de éste grupo funcional, en 1372cm^{-1} se presenta la deformación en el plano del $O-H$ y en 620cm^{-1} la deformación fuera del

plano de los alcoholes (Freile Pelegrin et al. 2007). La vibración de 1151 cm^{-1} pertenece al estiramiento asimétrico $C - O - C$ provenientes de unidades de glucopiranosil y xilopiranosil, y en 947 cm^{-1} se encuentra la frecuencia relacionada con los enlaces glucosídicos presentes en los cicloalcanos [72]. Las vibraciones de 2900 cm^{-1} corresponde al estiramiento entre $C - H$ (ver figura 4.3). La vibración en 1740 cm^{-1} corresponde al estiramiento de $C = O$ en cíclicos o cadenas abiertas de aldehidos. La vibración a los 3355 cm^{-1} pertenece a la vibración de $N - H$ de una amida [73], la cual corresponde a las contenidas en la proteína de la semilla, así como los picos en 1636 cm^{-1} (donde probablemente sea este pico traslapado con la humedad el motivo de un pico tan intenso), 1541 cm^{-1} , 1240 cm^{-1} , 697 cm^{-1} , correspondientes a la vibración del grupo carbonilo $C = O$, deformación $N - H$, estiramiento $C - N$ y deformación fuera del plano $N - H$, respectivamente [74]. El pico muy pequeño a los 2856 cm^{-1} corresponde a la vibración de estiramiento de un CH_2 [75], el cual pudiera estar contenido como grupo sustituyente en el polisacárido de la semilla de tamarindo. La vibración 1034 cm^{-1} es debido a la vibración de estiramiento de un $C - O/C - OH$.

Tabla 4.2: Valores de espectro IR de 2STC60

Grupo funcional	Longitud de onda (cm^{-1})	Tipo de vibración
$N - H$	3355	Es
OH	3200-3000	Es
$C - H$	2930-2800	Es
$C = O$	1740	E
Humedad en la muestra/ $C = O$ de proteínas	1636	E
$N - H$	1541	Ddp
$O - H$	1372	Ddp
$C - O - C$	1151	Eas, Es
$C - O$	1034	Es
$C - O - C$ /enlaces glucosídicos	947	Es
$C - H$	895	Ddp
$N - H$	750-700	Es
$O - H$	620	Dfp

E= Estiramiento, E(s,as)= Estiramiento simetrico, antisimetrico) D(dp,fp)= Deformación dentro del plano, fuera del plano

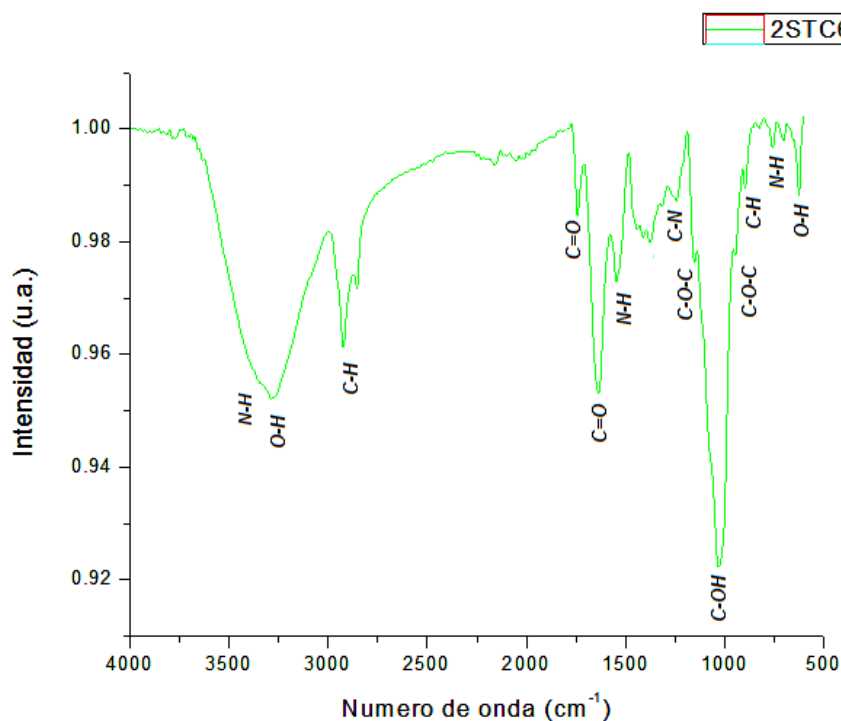


Figura 4.3: Espectro FT-IR por ATR del polvo de la semilla de tamarindo

4.3.2. Poli(acrilato de etilo)

En el espectro mostrado en la figura 4.4 se puede observar la presencia de vibraciones correspondientes a los grupos ésteres, los cuales contiene ramificaciones unidas del polímero poli(acrilato de etilo). El pico correspondiente a 2967 y 2935 cm^{-1} es por la vibración asimétrica y simétrica, respectivamente de los grupos metilo (CH_3) y metileno (CH_2). La frecuencia de 1728 cm^{-1} , la cual es muy intensa y corresponde al estiramiento del carbonilo ($C=O$). La vibración en los 1448 cm^{-1} corresponde a la vibración entre el grupo CH_2 perteneciente al grupo alcoxi del polímero. El pico en 1378 corresponde a la deformación entre un carbono y un metilo ($C-CH_3$) [76]. Las vibraciones de 1258 y 1156 cm^{-1} corresponden a estiramientos asimétrico y simétrico, entre ($R-CO-OR'$) de los ésteres saturados. El pico en la frecuencia de 1094 cm^{-1} corresponde al estiramiento del ester del tipo $C-C-O$. La vibración en 1021 cm^{-1} es debida al estiramiento simétrico entre $C-O-C$ en ésteres saturados [77]. El pico en 800 (cm^{-1}) es por un doble enlace existente, presente en el monómero (acrilato de etilo), ya que a éste polímero no se le hizo un lavado con acetona como a los otros materiales, debido a que éste si es soluble en dicho disolvente, tampoco se pudo utilizar otro disolvente como el agua debido a que el monómero no es soluble en este disolvente, por lo que no se pudo eliminar el monómero residual del material con la metodología seguida durante la experimentación. La vibración del pico a 710 (cm^{-1}), corresponde a las cadenas de CH_2 .

En la tabla 4.3 se resumen los picos más representativos:

Tabla 4.3: Frecuencias de estiramiento de los principales grupos funcionales del PEA

Grupo funcional	Longitud de onda (cm^{-1})	Tipo de vibración
$C - H$	2800-2900	$C - H$
$C = O$	1728	Es, de ésteres saturados
CH_2 modo tijera	1448	Modo tijera
$C - CH_3$	1378	Ddp, de ésteres saturados
$R - CO - OR'$	1258,1021	Eas,Es, ésteres saturados
$C - O$	1156	Eas, ésteres saturados
$C - C$	853	Es
$C - O$	710	Es

E= Estiramiento, E(s,as)= Estiramiento simétrico, antisimétrico) D(dp,fp)= Deformación dentro del plano, fuera del plano

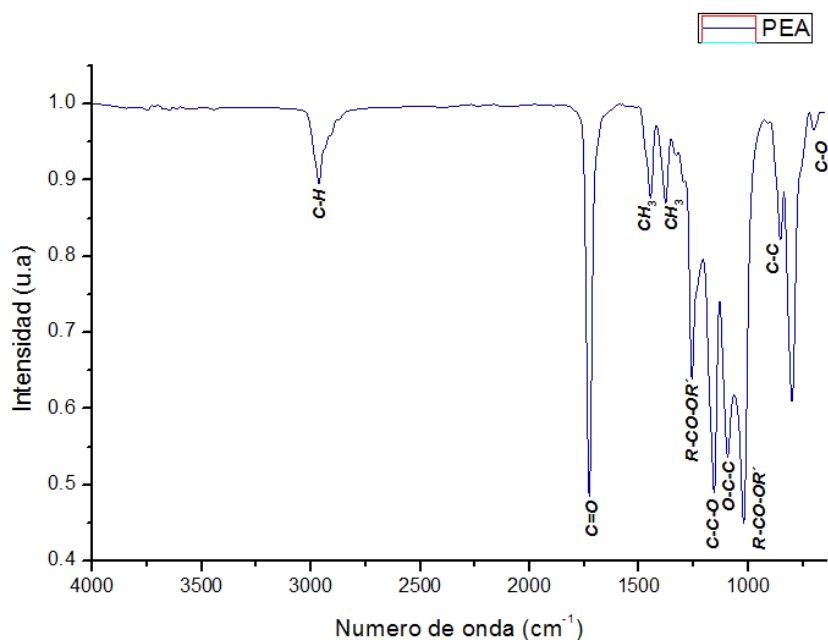


Figura 4.4: Espectro de FT-IR por ATR del Poli(acrilato de etilo)

4.3.3. PEAS, polímeros sintetizados (polvo de semilla de tamarindo + acrilato de etilo)

El corrimiento que poco alcanza a apreciarse, entre las frecuencias de vibración, se debe a que las cadenas del Poli(acrilato de etilo) están dispuestas de forma irregular en el po-

lisacárido donde fueron injertados (Fig. 4.5). Debido al grupo colgante del poli(acrilato de etilo), se puede suponer que esté causando que la distancia entre las cadenas de dos polímeros sintéticos aumente en el copolímero que ya se ha injertado. La interacción dipolar entre el poli(acrilato de etilo) y el polisacárido de la semilla de tamarindo es menos que la que habría con solamente cadenas de homopolímeros de poli(acrilato de etilo). Esta disminución en la interacción dipolar conduce a cambios en las frecuencias de los polímeros sintetizados a través de injertos [78]. La frecuencia de los puentes de hidrógeno se vuelve más ancha en los polímeros injertados comparandolos con el polímero sin haberle hecho el injerto, esto debido al número desigual de puentes de hidrógenos producidos [75]. Se observa principalmente que algunos modos de vibración de las amidas han desaparecido, lo que se puede atribuir a la reacción por radicales libres que se puede estar llevando en estos enlaces. Hay unos picos característicos del poli(acrilato de etilo) como lo es la vibración 1258 cm^{-1} corresponden a estiramientos asimétrico entre ($R - CO - OR'$), la cual presenta un ensanchamiento y corrimiento de 1258 a 1253 cm^{-1} y debido a la formación de un nuevo enlace del tipo $R - CO - OR'$ correspondiente al injerto entre el polisacárido de la semilla de tamarindo y el poli(acrilato de etilo). La vibración en 1094 cm^{-1} corresponde al estiramiento del $C - C - O$ que tuvo una disminución grande comparada con los polímeros que contienen semilla de tamarindo en polvo en cualquiera de las concentraciones, lo cual podría deberse al mismo efecto.

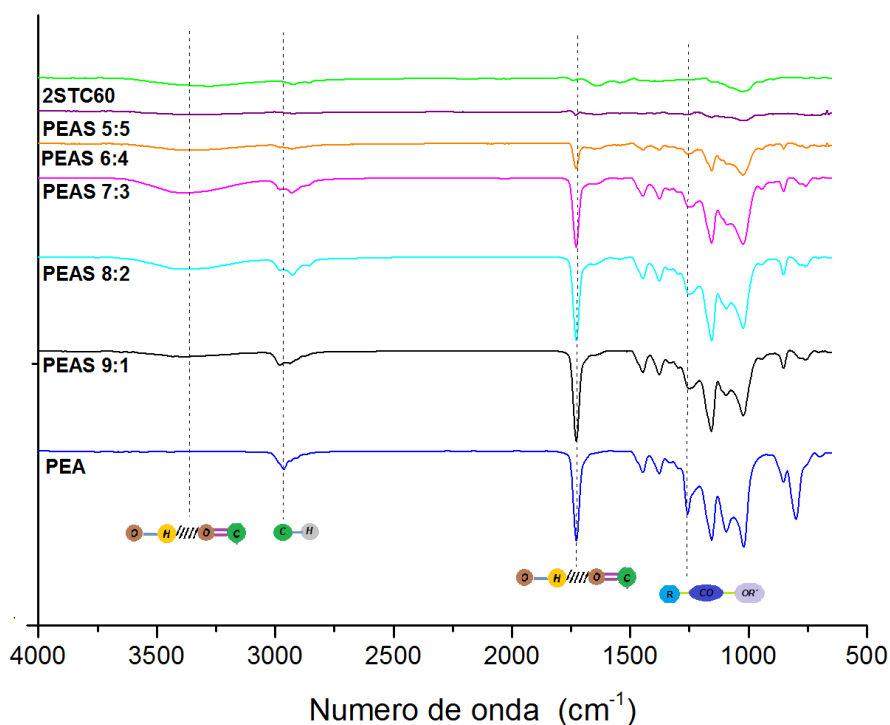


Figura 4.5: Espectros FT-IR por ATR comparativos de los polímeros sintetizados y las materias primas

Para un análisis más certero se amplificaron diferentes secciones, las cuales se enmarcan a continuación:

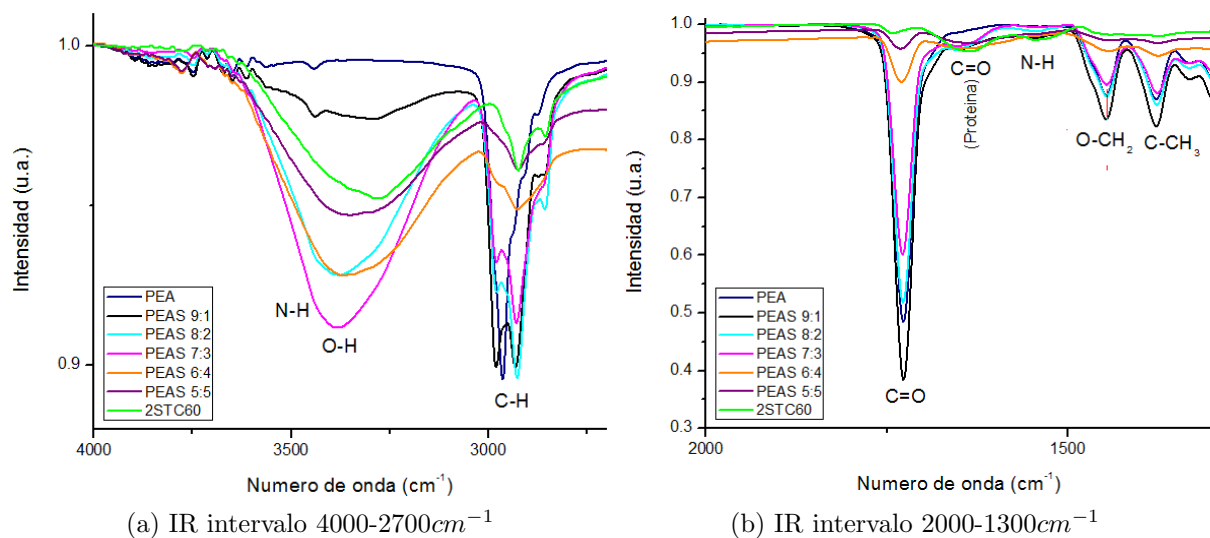


Figura 4.6: Espectros FT-IR por ATR comparativos de los polímeros sintetizados y las materias primas

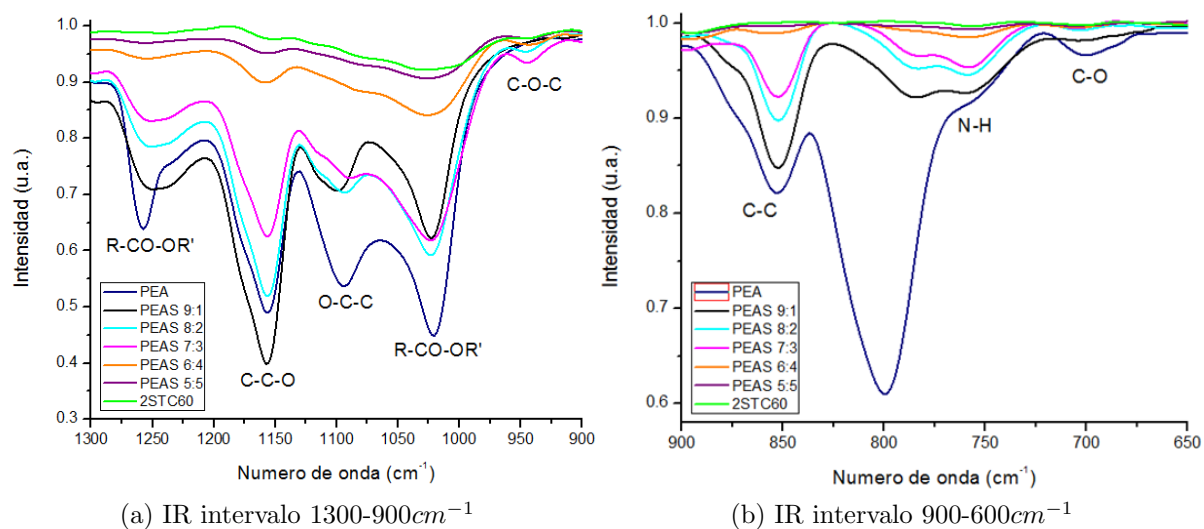


Figura 4.7: Espectros FT-IR por ATR comparativos de los polímeros sintetizados y las materias primas

4.4. Resonancia magnética nuclear (NMR)

En los espectros que a continuación se describen, se encontró que los espectros por ^{13}C en geles tendían a mostrar sólo la estructura del polímero sintético. En los espectros de ^1H se puede observar que el espectro se puede dividir en dos regiones de las cuales la zona que va desde los 6 a los 3.5 ppm corresponden a la semilla de tamarindo y de 3 a 0.5 ppm corresponden al polímero sintético.

4.4.1. Espectros de ^1H

El espectro del ^1H del PEA (fig. 4.8) muestra sus principales y más evidentes grupos los cuales aparecen en 4 ppm y 1.17 ppm que corresponden al grupo $\text{O}-\text{CH}_2$ y CH_3 , respectivamente. El esqueleto del polímero se hace presente en la región comprendida entre 1.33 y 2.4 ppm [79, 80]. En esta sección se observa el fenómeno de tacticidad, el cual fue posible determinar por medio de la integración de los picos. Son notables los diversos desplazamientos químicos de las conformaciones, donde los substituyentes se encuentran distribuidos de manera aleatoria a lo largo de la cadena de la macromolécula y no en un orden constante, por lo que se puede decir que el polímero sintetizado se obtuvo con un arreglo estereoquímico del tipo atáctico (fig 4.9), como lo predeciría el tipo de reacción de radicales libres llevada a cabo.

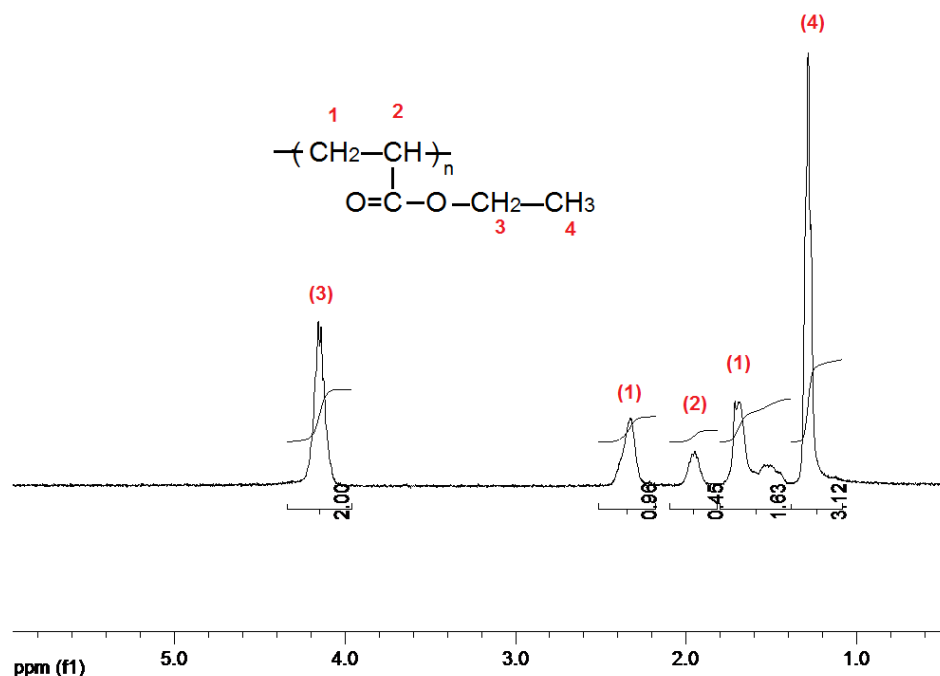


Figura 4.8: Espectro RMN ^1H del PEA

Tabla 4.4: Valores obtenidos del espectro de PEA

Desplazamiento químico (ppm)	Integral	Tipo de protón
4.3 - 3.95	2.00	$O - CH_2$
2.51 - 2.17	0.96	$-CH_2-$
2.09 - 1.81	0.47	$-CH-$
1.80 - 1.57	1.12	$-CH_2-$
1.57 - 1.38	0.52	$-CH-$
1.38 - 1.08	3.12	CH_3

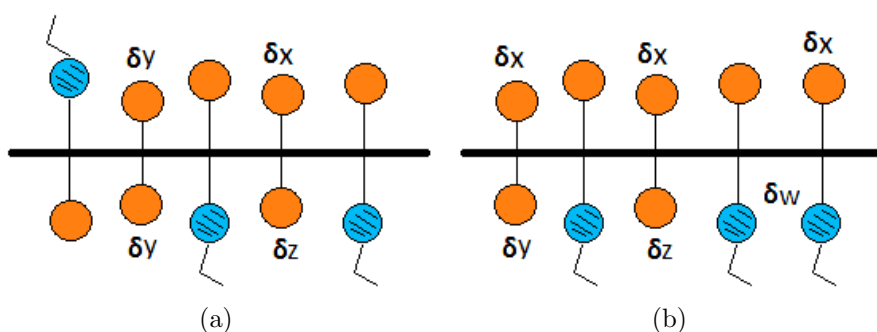


Figura 4.9: Posibles agrupaciones de las moléculas del PEA

La tabla 4.5 muestra los desplazamientos encontrados en el espectro del PEA, asignados a los diferentes ambientes químicos de la molécula, respecto a la figura 4.9:

Tabla 4.5: Ambientes químicos en el PEA

Donde:

Ambiente químico	Desplazamiento químico
dx	1.80 - 1.57 ppm
dy	1.57 - 1.38 ppm
dz	2.51 - 2.17 ppm
dw	2.09 - 1.81 ppm

El espectro de la figura 4.10 muestra una comparación de todos los polímeros injertados (PEAS 9:1, PEAS 8:2, PEAS 7:3, PEAS 6:4 y PEAS 5:5) respecto al PEA, donde se puede observar los cambios en los desplazamientos químicos conforme se incrementó la cantidad de semilla de tamarindo en polvo en la reacción de injerto. Se puede observar que las señales que van desde 1.32 a 1.75 ppm aproximadamente, representan al grupo metilo CH_3 del polímero

sintético perteneciente al grupo alcoxi de su cadena. En las señales de 2.1 a 2.6 se encuentran los grupos $-CH_2-$ de esqueleto del polímero sintético y en 2.68 ppm corresponden a los protones del hidrocarburo alicíclico. De 3.8 a 4.8 se encuentran las señales de las interacciones entre $O-CH_2$ las cuales se deben de igual forma al polímero sintético o al natural, ya que estos dos materiales en cuestión de este intervalo presentan señales semejantes y sería muy complicado precedir cual señal pertenece a cada material debido al tipo de estructura atáctica que se obtuvo. La señal en 5.25 ppm se pudo correlacionar con los enlaces $C-OH$ provenientes del polisacárido de la semilla de tamarindo. Hay dos picos que se forman durante la síntesis de estos materiales donde se presume que se debe a factores de tacticidad producidos durante la reacción química. El primero se encuentra a campo alto, el cual corresponde a la región entre 0.8 - 0.9 ppm, el segundo en el intervalo de 2.5- 2.7 ppm. En el producto injertado, los protones de metileno se traslapan con los picos del polisacárido [81]. El PEAS 8:2 presenta una disminución considerable de las señales correspondientes al grupo $O-CH_2$ ubicada aproximadamente en 4 ppm. El PEAS 7:3 presenta las mismas señales que el PEAS 8:2, a diferencia de este, el espectro del PEAS 7:3 tiene las señales más definidas. El PEAS 6:4 presenta el mismo comportamiento que el espectro del PEAS 7:3, sólo que este se ensancha e incrementa la señal en la sección de frecuencia de 4 ppm. A partir de esta relación tiende a tener un comportamiento de grupos de la semilla de tamarindo, ya que al incrementar lo puntos de reacción por ende aumentarán las posibles reacciones a llevarse a cabo, los cuales podrán presentar más efectos de tacticidad, por lo que se da la aparición de más picos. El espectro del PEAS 5:5 presenta el mismo comportamiento que el espectro del PEAS 6:4. En estos espectros se puede observar como en la zona de los alifáticos se encuentran dos desplazamientos uno en 0.9 ppm y el otro 1.3 ppm, los cuales se derivan de encontrar dos diferentes desplazamientos para un mismo tipo de molécula, refiriéndose al grupo metilo CH_3 , con el cual se concluye que hay dos puntos principales de injerto, como se puede observar en a figura 4.10.

Tabla 4.6: Desplazamiento químico comparativo de espectros 1H de los PEAS

Tipo de protón	Desplazamiento químico (ppm)				
	PEAS 9:1	PEAS 8:2	PEAS 7:3	PEAS 6:4	PEAS 5:5
CH_3'	0.91	0.84	0.84	0.95	0.87
CH_3	1.32-1.75	1.23-1.96	1.49	1.39	1.28
$-CH_2-$	2.19-2.41	2.16	2.19	2.10	2.99
	2.79	2.61	2.70	2.65-2.77	2.2-2.7
$O-CH_2$	3.89-4.88	3.64	3.51-4.07	3.70-4.22	...
$O-CH_2$...	4.23-4.59	4.61
$-CH_2-OH$	4.51-4.82	3.40-4.80
$C-OH$	5.25-5.34	5.26	5.27	5.03-5.28	5.10-5.20

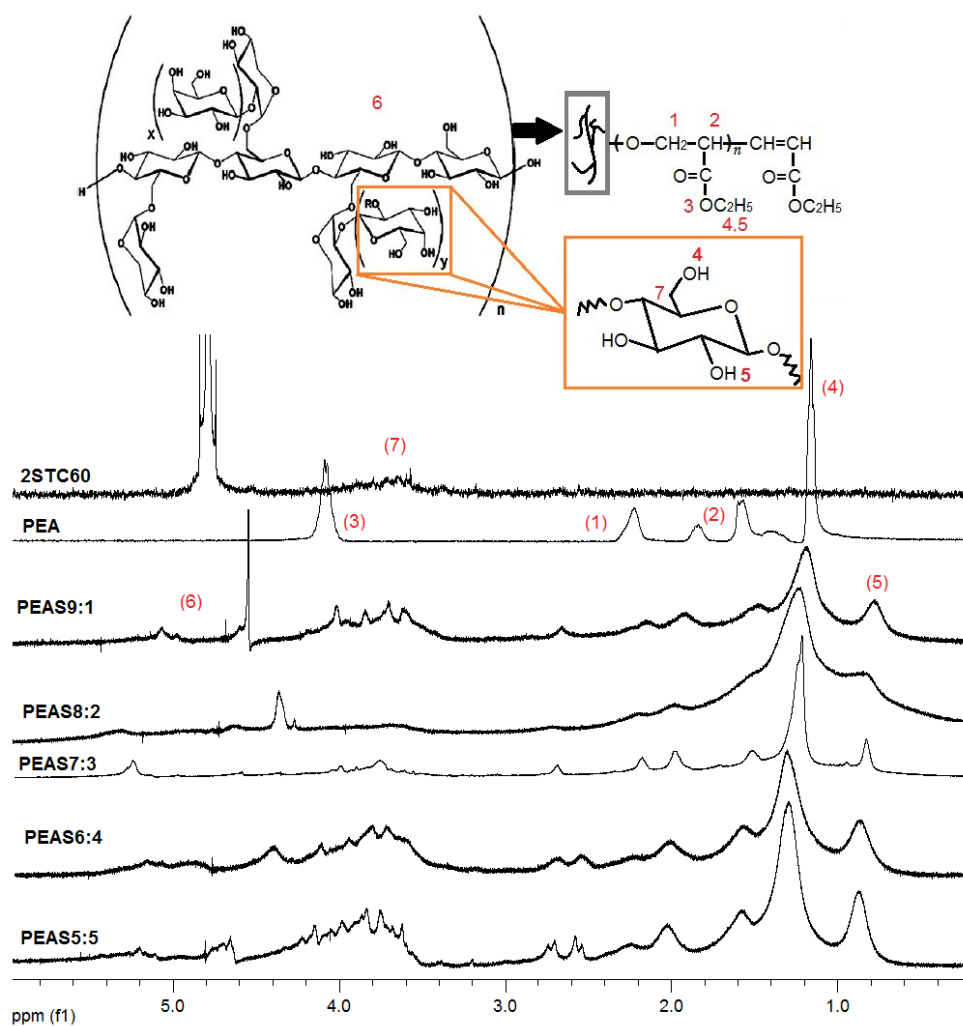


Figura 4.10: Espectro RMN 1H del PEA y los polímeros injertados (PEAS)

4.4.2. Espectros de ^{13}C

La figura 4.11 con el espectro ^{13}C en método geles de los polímeros injertados presenta señales las cuales se deben sólo al polímeros sintético ya que los carbonos del polímero natural no se relajan fácilmente (tardan mucho tiempo), los carbonos de un polímero sintético lo hacen fácil (rápido), por dicha razón solo se observan señales del polímero sintético. Las señales que se observan son alrededor de 153 ppm que corresponde al grupo carbonilo $C=O$ de los ésteres. La señal en 61 ppm corresponde a la interacción H_2C-O , en 31 ppm se encuentra el grupo CH de la cadena principal. En 14 ppm se encuentra el grupo de los metilos del polímero sintético, pertenecientes al grupo alcoxi. Observando que al grupo metilo de la parte colgante no le ha pasado nada, siendo muy intenso. La señal del teflon que aparece aprox a 100 ppm se debe a que se utiliza como material de apoyo en la preparación de las muestras.

En el espectro ^{13}C del PEAS 9:1, solo se observan las señales del grupo alcoxi $O-CH_2-$

CH_3 . En el espectro del PEAS 8:2 sólo aparecen 4 señales, las cuales se localizan en 173 ppm, 60 ppm, 29 ppm y 14 ppm, las que corresponden al grupo carbonilo $C = O$, H_2C-O , CH y CH_3 , respectivamente. Hay una señal a los 100 ppm pero ésta se debe al teflón, el cual se utilizó como material de relleno durante la preparación de todas las muestras en NMR. En el espectro del PEAS 7:3 se observa que hay más señales que se encuentran en 173 ppm, 101 ppm, 61 ppm, 31 ppm y 16 ppm, referidas a los grupos $C = O$, CH_2 , H_2C-O y CH_3 , respectivamente. En el espectro del PEAS 6:4 sólo aparecen 2 señales, las cuales se localizan en ppm 61 ppm y 14 ppm, las que corresponden a los grupos H_2C-O y CH_3 . En el espectro del PEAS 5:5 aparecen 2 señales, la cuales son localizadas en 75 ppm la cual corresponde a la interacción $CH - O$, que en comparación con el espectro del PEAS 6:4 tuvo un ensanchamiento mayor pareciendo que aparecen varios picos en esa zona y, la de 60 ppm que corresponde al grupo H_2C-O . Hay una señal a los 100 ppm pero ésta se debe al teflón, el cual se utilizó como material de relleno durante la preparación de todas las muestras en RMN.

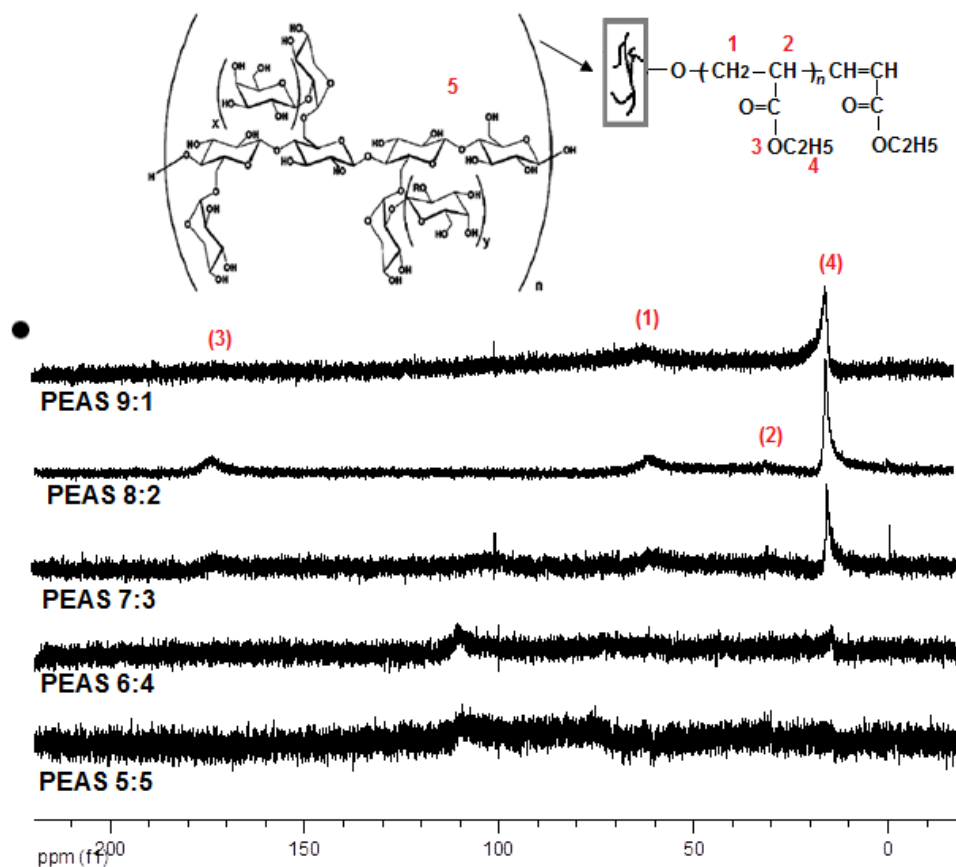


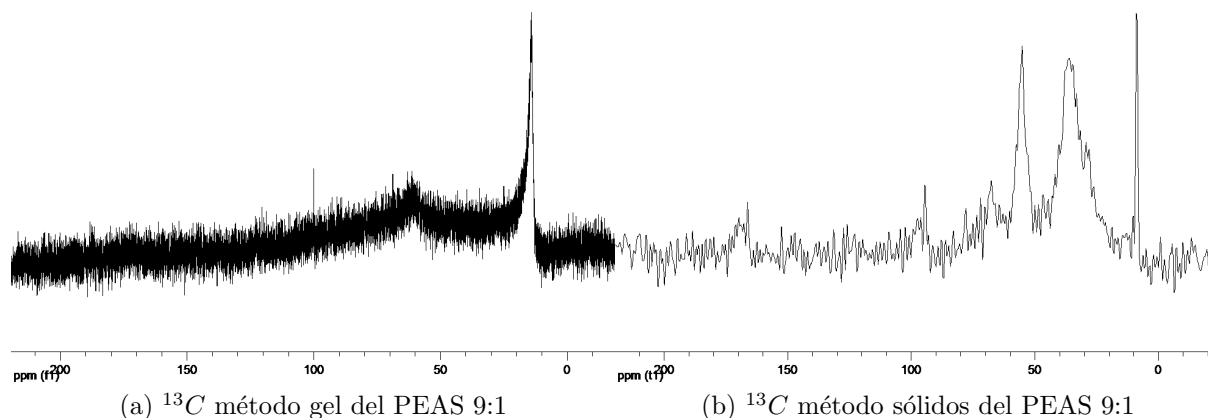
Figura 4.11: Espectro RMN ^{13}C de los polímeros sintetizados

Tabla 4.7: Desplazamiento químico comparativo de espectros ^{13}C de los PEAS

Tipo de protón	Desplazamiento químico (ppm)				
	PEAS 9:1	PEAS 8:2	PEAS 7:3	PEAS 6:4	PEAS 5:5
CH_3	14.17	24.10	16.08	14.93	14.79
CH_2	...	29.90	31.94	...	30.19
$\text{O}-\text{CH}_2$	61.25	60.38	61.95	62.50	62.50
$\text{C}=\text{O}$	173.40	173.80	173.59

4.4.3. Comparativo de espectros en método sólido y gel (PEAS 9:1 y PEAS 5:5)

Al PEAS 9:1 se le realizó también el análisis de ^{13}C pero en método de sólidos, para hacer una comparativa de estas dos técnicas. Observándose que los injertos se están llevando a cabo por el esqueleto del polímero sintético, esto debido a al fenómeno del tiempo de relajación presentado en resonancia de geles comparado con el de sólidos, en donde en geles tienden a no aparecer ciertos grupos del polímero sintético. Esto se puede observar en la tabla 4.8.

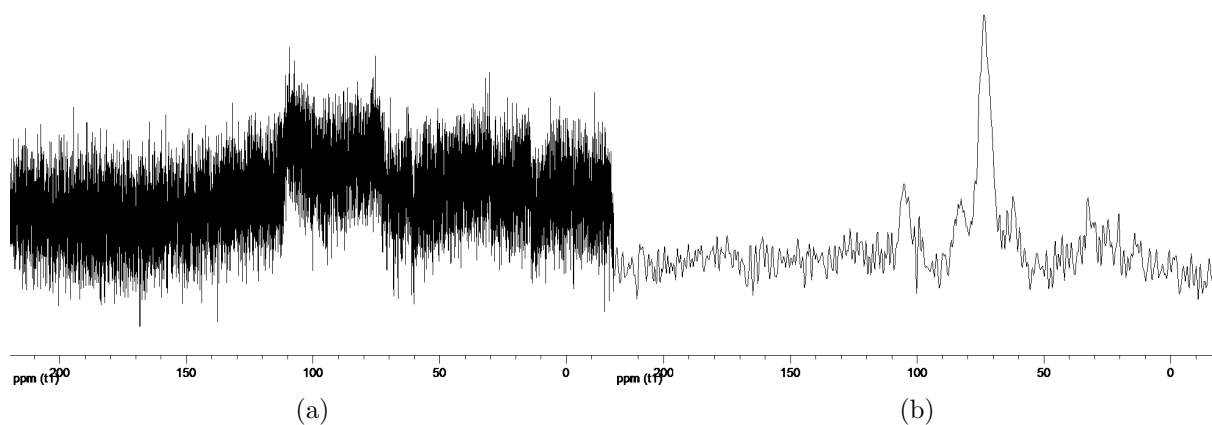
Figura 4.12: Espectros comparativos de ^{13}C en método gel y sólidos del PEAS 9:1

En la tabla 4.8 se resumen los desplazamientos químicos (D.Q.):

Al PEAS 5:5 también se le realizó la prueba de ^{13}C por el método de sólidos para hacer un comparativo entre las dos técnicas. A continuación en la tabla 4.9 se muestra la comparación:

Tabla 4.8: Desplazamientos químicos de NMR ^{13}C geles y sólidos del PEAS 9:1

D.Q. (ppm)-GEL	Protón-GEL	D.Q. (ppm)-SOL	Protón-SOL
14.175	CH_3	8.780	CH_3
61.258	$-\text{CH}_2 - \text{O}$	29.293	$-\text{CH}_2$
100.065	Teflón	36.139	CH
172.584	$\text{C} = \text{O}$	55.177	$-\text{CH}_2 - \text{O}$
—	—	67.628	$-\text{CH}_2 - \text{O}$
—	—	94.460	$\text{O} - \text{C} - \text{O}$
—	—	171.799	$\text{C} = \text{O}$

Figura 4.13: Espectros comparativos de ^{13}C en método gel y sólidos del PEAS 5:5Tabla 4.9: Desplazamiento químico ^{13}C en método gel y sólido del PEAS 5:5

D.Q. (ppm)-GEL	Protón-GEL	D.Q. (ppm)-SOL	Protón-SOL
14.793	CH_3	22.571	CH_3
30.192	$-\text{CH}_2-$	34.571	CH
62.507	$\text{O} - \text{CH}_2$	64.245	$\text{O} - \text{CH}_2$
75.305	$\text{CH} - \text{O}$	75.614	$\text{CH} - \text{O}$
86.402	$\text{C} - \text{OH}$	84.74	$\text{C} - \text{O} - \text{C}$

4.5. Análisis térmico

4.5.1. Análisis termogavimétrico

La semilla de tamarindo en polvo presenta tres pendientes (Fig. 4.14), la primera es debida a la humedad presente en la muestra, la cual presenta un 5.57 % de la masa total, la segunda

debido al polisacárido, el cual es el material de interés, representa un 66.17% de la muestra total, la degradación del polisacárido se mostró a una temperatura de 310 °C. La tercer pendiente (23.62 %) pudiera ser atribuida a la descomposición de las diferentes estructuras de algunos polisacáridos modificados [73]. La pendiente que corresponde a la temperatura de 406 °C es por la degradación del poli(acrilato de etilo). De los materiales sintetizados hay algunos que se distinguen entre ellos por presentar dos endotermas, o una, las cuales tienen tendencias de las temperaturas de degradación térmica, ya sea de la semilla de tamarindo o del poli(acrilato de etilo). Se observan corrimientos en estas temperaturas las cuales se deben a la interacción química y física entre la semilla de tamarindo y el poli(acrilato de etilo), ésto a través de los injertos que pudiera ocurrir entre ellos y a los puentes de hidrógenos entre los grupos OH y $C = O$. Se encontró que los materiales que tienen más inclinación hacia el comportamiento del material sintético es el PEAS 7:3, PEAS 8:2 y PEAS9:1, y los PEAS 6:4 y PEAS 5:5 tienen a seguir el comportamiento de la semilla de tamarindo, lo cual corresponde a la composición de dichos materiales durante las diferentes reacciones llevadas a cabo, pero destacando que a partir de la concentración 6:4, los materiales tienen a adoptar un comportamiento alejado del polímero sintético debido a la posible saturación de grupos hidroxilo presentes en la semilla de tamarindo. Las temperaturas de degradación de todos los polímeros sintetizados se muestran en la tabla 4.15, las cuales fueron obtenidas con el programa *Universal Analysis*.

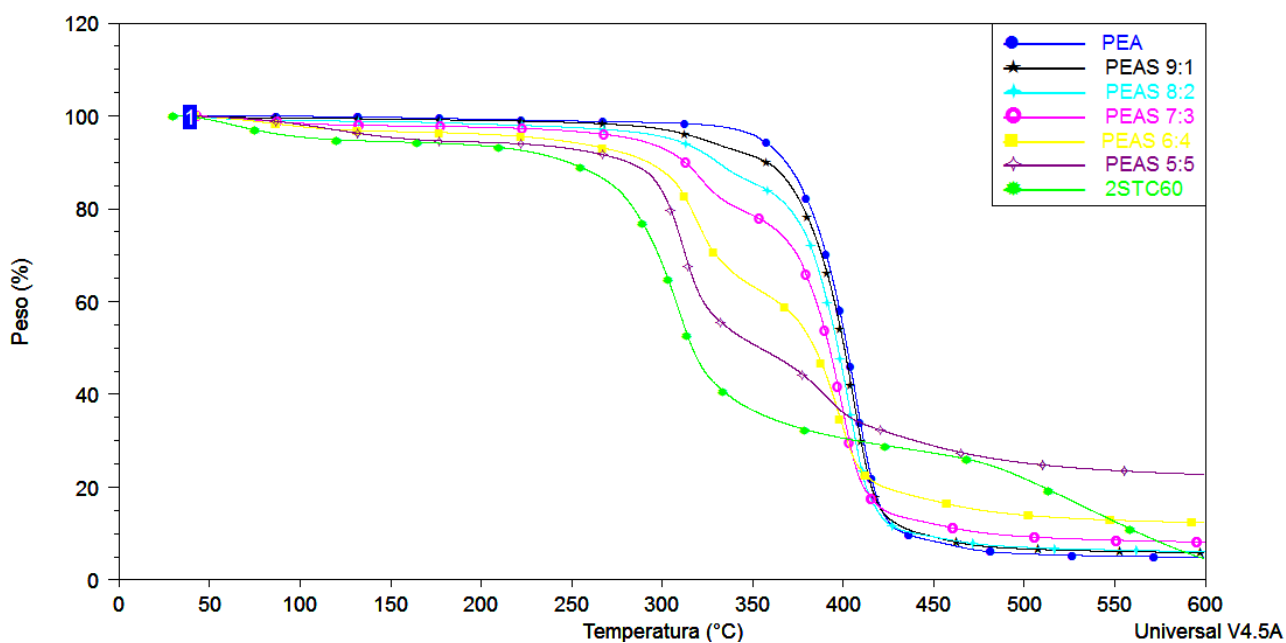


Figura 4.14: Termograma de análisis termogravimétrico de 2STC60, PEA y PEAS (5:5, 6:4, 7:3, 8:2 y 9:1)

Tabla 4.10: Temperatura de degradación térmica de los polímeros sintetizados

Polímero	Temperatura de degradación térmica-°C
PEA 10:0	406.49
PEAS 9:1	328 y 405
PEAS 8:2	330 y 403
PEAS 7:3	76, 322 y 399
PEAS 6:4	82, 319 y 397
PEAS 5:5	117, 311 y 390
2STC60	61, 310 y 534

4.5.2. Calorimetría diferencial de barrido

Los valores de las endotermas, indican la absorción de la energía necesaria que se da entre las reacciones de descomposición de las distintas moléculas que componen la estructura interna de la 2STC60, PEA y PEAS (5:5, 6:4, 7:3, 8:2 y 9:1). Se observan dos endotermas (Fig. 4.15), las cuales corresponden a las materias primas (poli(acrilato de etilo) y la semilla de tamarindo en polvo). Una se encuentra a la temperatura de ~ 12 °C y la otra a 91 °C, respectivamente [73]. La temperatura de transición vítrea es baja debido a la flexibilidad de la cadena polimérica del PEA, ésto debido a los enlaces $C - C$ y a los $C - O$ que contiene en su estructura. Las muestras PEAS 9:1 presenta la Tg del PEA, pero variando en -2 grados centigrados y otra a 67 °C, donde ésta última presenta a un material que conjuga las propiedades de los dos materiales obteniendo una nueva temperatura de transición vítrea. El PEAS 8:2 presenta dos temperaturas una a -13 °C y otra a 95 °C. El PEAS 7:3 presenta una temperatura de transición vítrea a -16 °C y a 85 °C. El PEAS 6:4 presenta dos temperaturas una a -16 °C y otra a 67 °C, donde se vuelve a observar la interacción entre los dos materiales utilizados, puesto que hay un considerable cambio en la temperatura de transición vítrea, que podría ser poli(acrilato de etilo) con un peso molecular menor aunado a la presencia de los grupos polares presentes en la semilla de tamarindo que contienen los nuevos materiales. El PEAS 5:5 presenta sólo una temperatura de transición vítrea la cual es a 70 °C, indicando la formación de un sólo material donde la semilla de tamarindo y el acrilato de etilo tienen la mayor interacción, comparada con las otras relaciones.

Es bien conocido que la temperatura de transición vítrea varía con el aumento de la longitud de la cadena del polímero [82–84], por lo que al observarse las temperaturas de transición vítrea es evidente la interacción entre los dos materiales utilizados. Los resultados de las temperaturas de transición vítrea de los polímeros sintetizados se muestran en la tabla 4.16, los cuales fueron obtenidos con el programa *Universal Analysis*.

En el análisis de termogramas por calorimetría diferencial de barrido se pudo observar que uno de los materiales sintetizados que presentaron una sola temperatura de transición

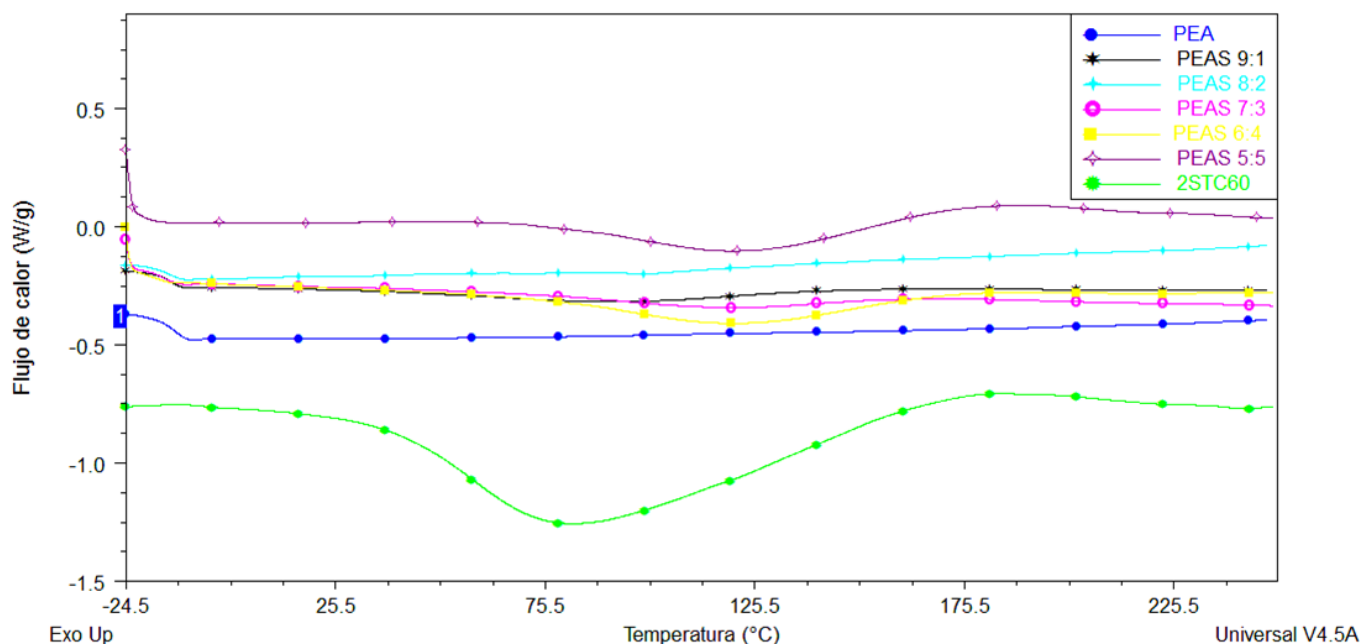


Figura 4.15: Termograma de calorimetría diferencial de barrido para 2STC60, PEA y PEAS (5:5, 6:4, 7:3, 8:2 y 9:1)

Tabla 4.11: Temperatura de transición vítrea de los polímeros sintetizados

Polímero	Temperatura de transición vítrea (T _g)-°C
PEA 10:0	-12
PEAS 9:1	-14 y 67
PEAS 8:2	-13 y 95
PEAS 7:3	-16 y 85
PEAS 6:4	-16 y 67
PEAS 5:5	70
2STC60	91

vítrea, fue el PEAS 5:5, tal comportamiento pudiera deberse a que a esta concentración, los materiales se compatibilizaron para interactuar sus grupos funcionales y con el material no injertado pudieran haber formado una mezcla, pero del tipo miscible como lo ha explicado Fayt, R. et al (1985) en múltiples publicaciones. Este fenómeno es causado principalmente por las interacciones que ocurren por los puentes de hidrógeno, efecto que produce una compatibilidad entre componentes binarios. La temperatura de transición vítrea está interrelacionada con el efecto que causa el peso molecular en una cadena polimérica y, aunque no fue posible medir el peso molecular de los materiales sintetizados, se hizo notable la diferencia en las diversas concentraciones de acrilato de etilo y semilla de tamarindo en polvo sinteti-

zadas. Los PEAS 9:1, 8:2, 7:3 y 6:4, presentaron dos temperaturas de transición vítrea. El PEAS 9:1 presentó la temperatura de transición vítrea del poli(acrilato de etilo), corriéndola en $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$, lo cual se debe a que posiblemente la cadena polimérica del poli(acrilato de etilo) perdiera grupos que la volvieran más apolar y a su vez que la hicieran aún más flexible. La otra temperatura que se hizo presente en el PEAS 9:1, se dió a $67\text{ }^{\circ}\text{C}$, la cual no corresponde a ninguno de los dos materiales sintetizados, por lo que se puede esperar que al introducir sólo 10 % de concentración peso de polvo de semilla de tamarindo a la reacción, los dos materiales utilizados pudieran reaccionar de tal forma que en la cadena del poli(acrilato de etilo) al enganchar la estructura de la semilla de tamarindo, aumentara la rigidez en la cadena y fuera el causante de este aumento considerable en su temperatura de transición vítrea. En el PEAS 8:2 se obtuvo una temperatura de $-13\text{ }^{\circ}\text{C}$, habiendo sido disminuida $1\text{ }^{\circ}\text{C}$, lo cual puede deberse al mismo fenómeno antes explicado. La otra temperatura que presenta este material es a $95\text{ }^{\circ}\text{C}$, la cual concuerda con la temperatura de transición vítrea de la semilla de tamarindo, pero aumentándola en $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, lo cual se debe a que a la semilla se hayan injertado cadenas de acrilato de etilo, las cuales incrementen su grado de entrecruzamiento el cual haga que el materiales se haga más rígido. El PEAS 7:3 presenta una tendencia como el PEAS 8:2. El PEAS 6:4 presenta una temperatura a $-16\text{ }^{\circ}\text{C}$, lo cual hace notable una mayor disminución de la temperatura de transición vítrea a esta concentración. Puede ser causada por el mismo fenómeno antes explicado, pero por la pérdida de grupos. La otra temperatura de transición vítrea que se presenta a esta concentración es a $67\text{ }^{\circ}\text{C}$, donde tampoco es parecida a ninguna temperatura de transición vítrea presente en los dos materiales utilizados, este fenómeno es igual al presente en el caso del PEAS 9:1. Se puede concluir que el injerto mostrado como hipótesis se llevó a cabo pero no como se esperaba, ya que por el cambio en las temperaturas de transición vítrea es notable que en algunas relaciones se hizo presente esta reacción, pero no se llevó a cabo en su totalidad por tener la presencia aun de las materias primas (poli(acrilato de etilo)) y semilla de tamarindo). Esta propiedad hizo que algunos materiales se volvieran más resistentes y aumentarían algunas de sus propiedades térmicas.

4.6. Pruebas mecánicas

Los datos obtenidos de la prueba de tensión de los diversos materiales sintetizados así como del poli(acrilato de etilo), se muestran en la tabla 4.17.

Las pruebas de tensión mostraron cambios principalmente notorios en el aumento del módulo de Young y la disminución en la deformación, conforme se hacia el incremento a la cantidad de la semilla de tamarindo en polvo (figura 4.16).

donde:

DCM= Desplazamiento en la carga máxima (MPa)

TCM= Tensión en la carga máxima (mm)

Tabla 4.12: Resultados de las pruebas de tensión

Muestra	DCM (mm)	TCM(MPa)	MY(Mpa)	DPR(mm)
PEA 10 : 0	26.25	0.12	0.69	31.34
PEAS 9 : 1	2.74	0.25	5.86	3.77
PEAS 8 : 2	2.36	1.20	25.49	4.48
PEAS 7 : 3	1.06	5.58	184.37	1.18
PEAS 6 : 4	0.68	13.57	645.42	0.68
PEAS 5 : 5	0.60	16.47	1188.10	0.60

Muestra	TPR(MPa)	DePR (mm/mm)	DeCM (mm/mm)	T(MPa)
PEA 10 : 0	0.11	1.79	1.50	0.147
PEAS 9 : 1	0.19	0.21	0.15	0.035
PEAS 8 : 2	0.063	0.25	0.13	0.19
PEAS 7 : 3	4.35	0.068	0.061	0.19
PEAS 6 : 4	13.57	0.039	0.039	0.20
PEAS 5 : 5	16.47	0.034	0.034	0.18

MY=Módulo de Young (MPa)

DPR= Desplazamiento en el punto de rotura (mm)

DePR= Deformación en el punto de rotura (mm/mm)

DeCM= Deformación en la carga máxima (mm/mm)

T= Tenacidad (Mpa)

Los valores graficados de los resultados de las pruebas de tensión se muestran en la figura 4.16:

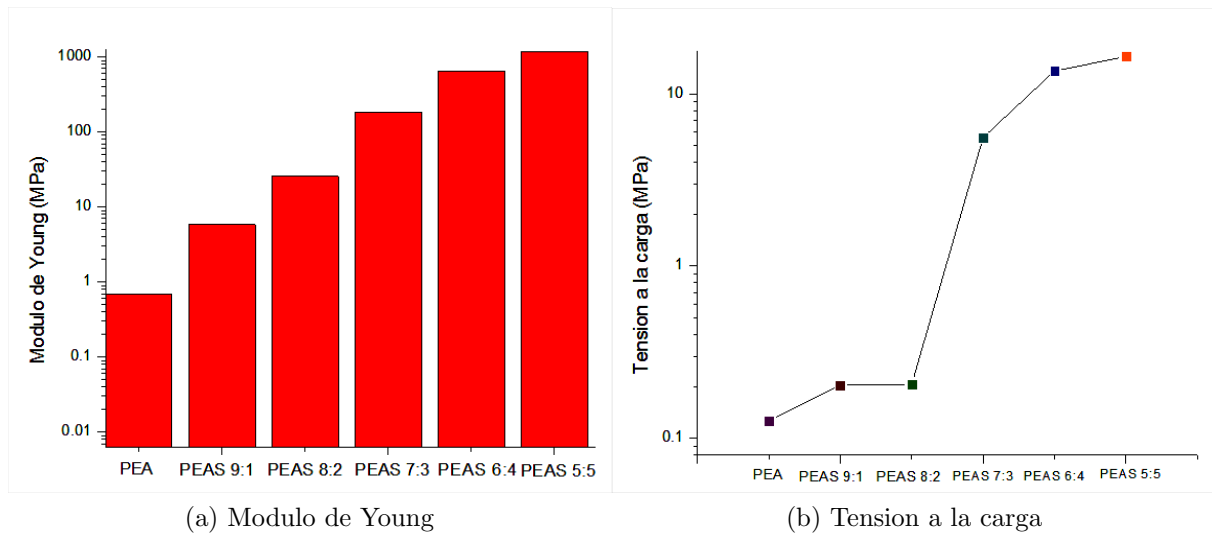


Figura 4.16: Pruebas de tracción

4.7. Microscopía electrónica de barrido

4.7.1. Poli(acrilato de etilo)

Debido al tipo de polímero que pertenece (elastómeros), no se logra ver muy bien su morfología, pero lo que se puede observar es que no posee una morfología esférica.

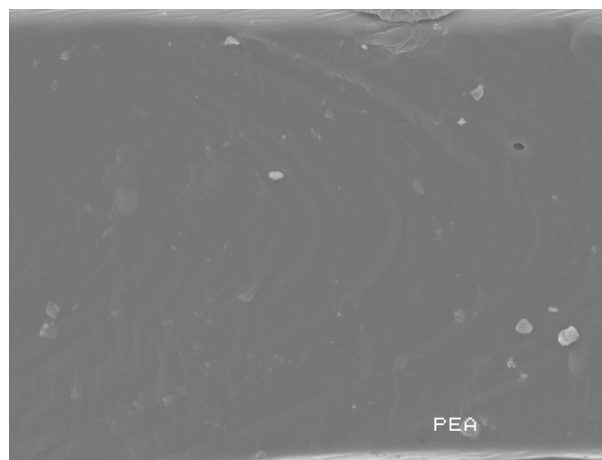
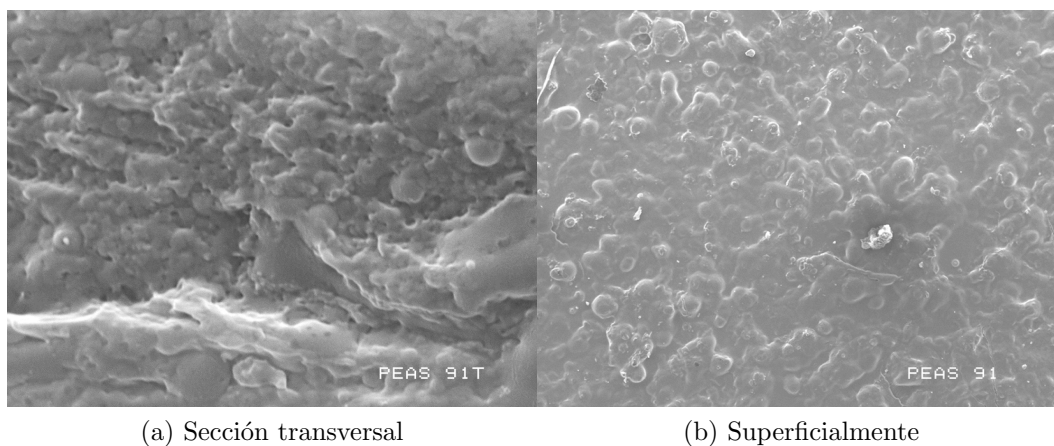


Figura 4.17: Micrografía de PEA en forma transversal

4.7.2. PEAS

PEAS 9:1

Se puede observar en la micrografía del PEAS 9:1 (fig. 4.18), que contiene una estructura completamente esférica. Las partículas de las cuales está compuesto el material son de una amplia distribución de tamaños que pueden ir desde las 20 a 200 micras aproximadamente. Se observa la aglomeración que existe entre este tipo de partículas y que la cohesión entre las partículas no es tan grande, debido a que la muestra es un poco porosa de algunas partes.



(a) Sección transversal

(b) Superficialmente

Figura 4.18: Micrografías de PEAS 9:1

PEAS 8:2

Se observó que la película, no contiene una porosidad a comparación de otras muestras, donde se puede decir, que las partículas poseen una buena cohesión entre ellas, permitiendo que no se vean diferentes fases a lo largo de la película, ni que se observen poros dentro de ella (fig. 4.19).

PEAS 7:3

Se puede observar que hay una diferencia a través de la película en sección transversal, debido al proceso de secado, con el cual se elaboró la película. Se pueden ver tres zonas donde la parte superior y más porosa, posee una mayor cantidad de partículas pequeñas, de las cuales por la presencia de agua en la muestra, se pueden observar los huecos que se produjeron al evaporarse el agua. En la segunda y tercer zona, se observa un material más homogéneo, donde no se aprecia a simple vista una porosidad interna en la muestra (fig. 4.20)

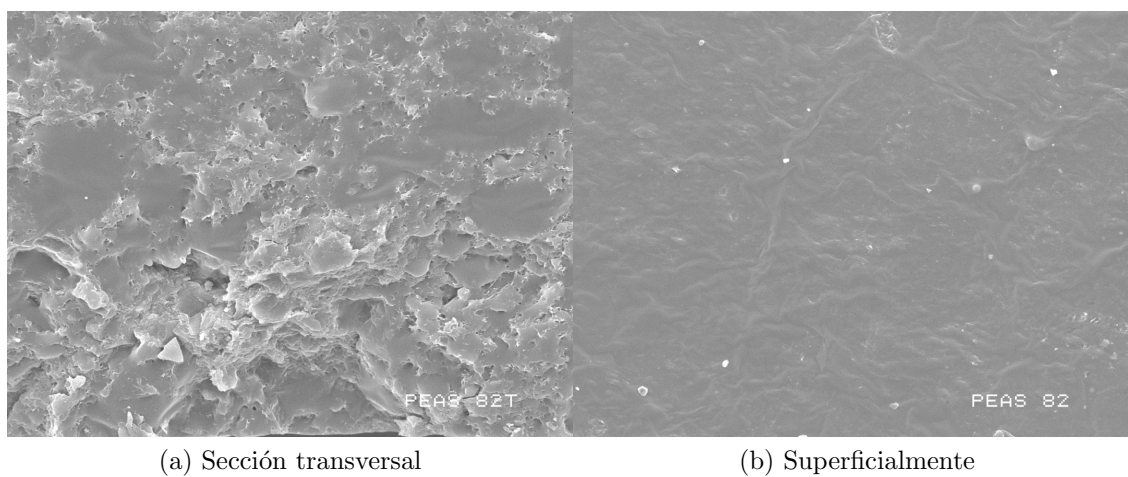


Figura 4.19: Micrografías de PEAS 8:2

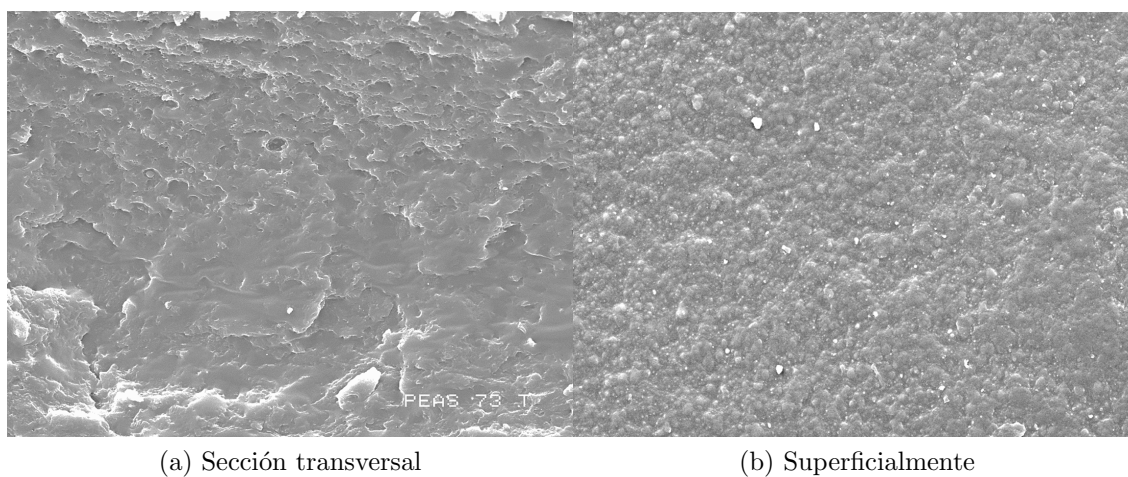


Figura 4.20: Micrografías de PEAS 7:3

PEAS 6:4

Las micrografías muestran la conformación de la partículas, observando que en algunas zonas hay una mayor fuerza de cohesión, lo que puede ser originado por el tipo de secado al cual se sometió la película(4.21).

PEAS 5:5

Las micrografías muestran en este material también, que la estructura del polímero está conformada por partículas esféricas, las cuales tienden a aglomerarse.

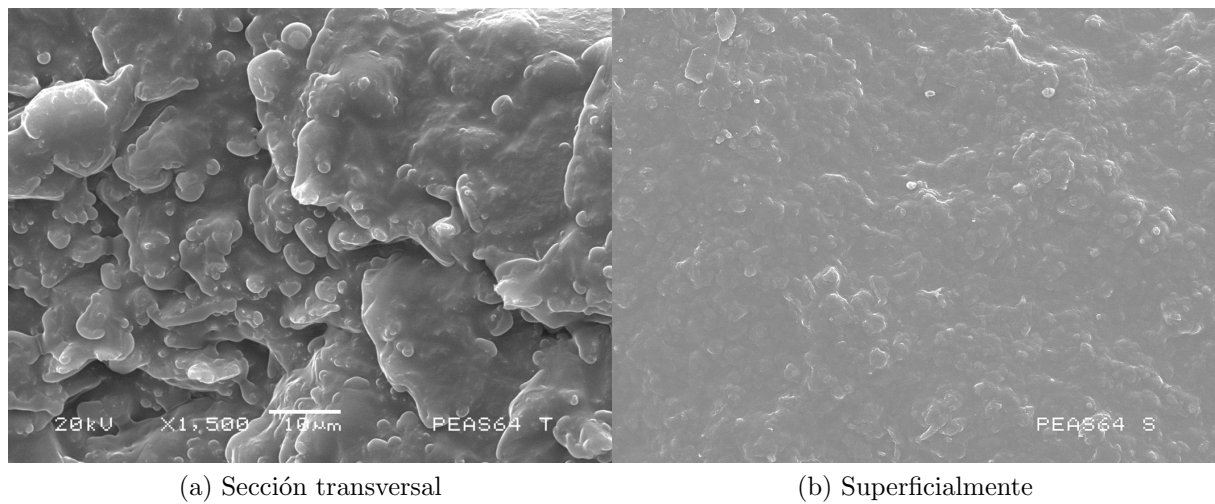


Figura 4.21: Micrografías de PEAS 6:4

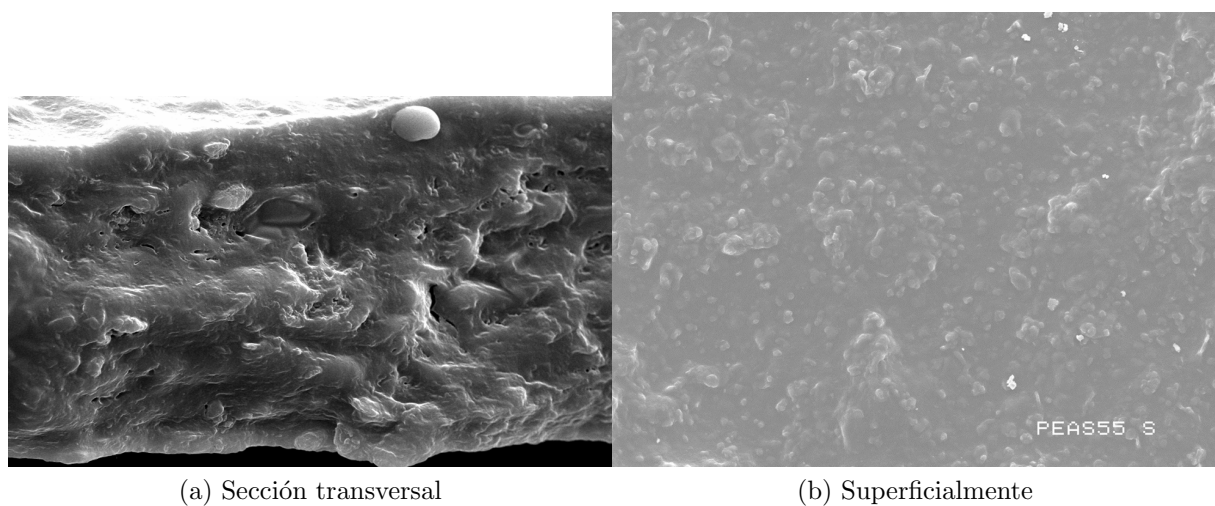


Figura 4.22: Micrografías de PEAS 5:5

4.7.3. Bacteria BQ1

Se elaboraron las micrografías para conocer la forma de las bacterias utilizadas (BQ1-*Alicyciphilus sp.*), donde se encontró que estas bacterias tienen la forma de bastones, con un tamaño aproximado de 2.5 micras de largo (fig. 4.23).

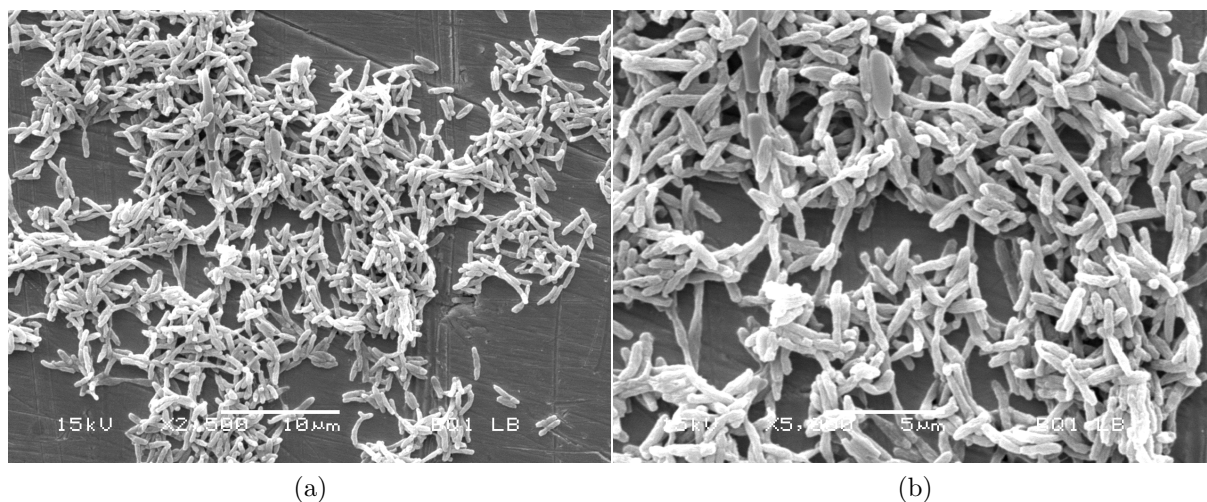


Figura 4.23: Micrografías de BQ1 incubadas en medio LB durante 24 horas, a) 2500 X y b) 5000 X

4.8. Pruebas de biodegradación 12 días

Después de la preparación de todos los medios necesarios se colocaron los matraces a incubar y se tomaron las mediciones de absorbancia.

Uno de los indicadores principales de crecimiento de la bacteria es la formación de una biopelícula, característica por el tipo de crecimiento planctónico de la bacteria BQ1 (*Alicyclophilus sp.*), en donde, conforme va aumentando la concentración de polímero se puede observar la cantidad de biopelícula en los matraces. En la figura 4.24 se ilustra dicho crecimiento, observando la biopelícula formada en diversas concentraciones.

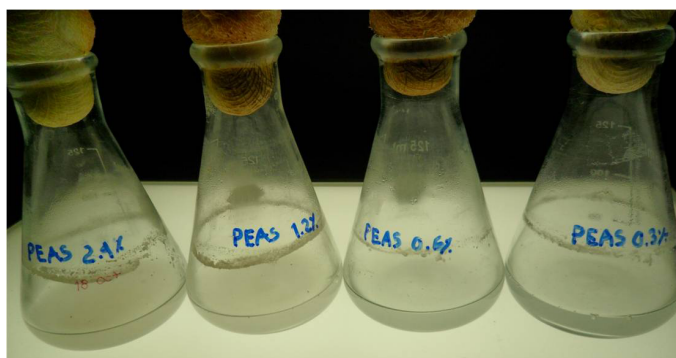


Figura 4.24: Formación de biopelícula de BQ1

Se realizaron las curvas de crecimiento de la bacteria BQ1, colocando PEAS 7:3 como fuente única de carbono. Se utilizaron 4 concentraciones, 0.3 %, 0.6 %, 1.2 % y 2.4 %, con las

cuales se observó un crecimiento de la bacteria durante 120 horas.

En la figura 4.25 se muestran las curvas de crecimiento de las diferentes concentraciones probadas, donde se observan que la gráfica muestra una mayor actividad en la concentración de 1.2%, aunque en algunos casos a unas concentraciones mayores se ha tenido menos actividad que a concentraciones más bajas, como en este caso la concentración de 1.2% es un poco mayor que la de 2.4%.

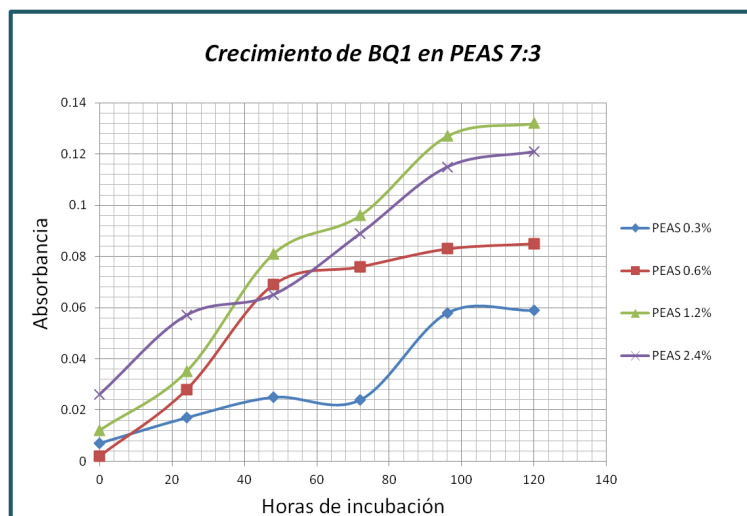


Figura 4.25: Curvas de crecimiento de BQ1 en PEAS 7:3 (0.3%, 0.6%, 1.2%, 2.4%)

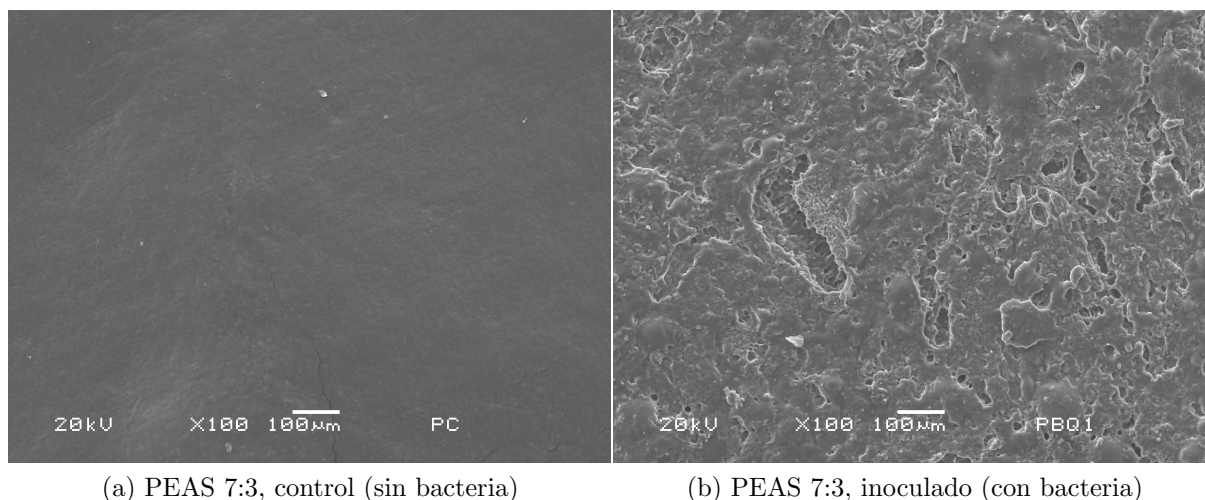
Se determinó la cantidad de biomasa formada, mediante la determinación del peso seco en cada matraz. Se observó que a la concentración de 1.2%, la bacteria tuvo un mayor crecimiento, lo cual concuerda con la gráfica donde se muestra el crecimiento de la misma, y se puede concluir que el crecimiento de las bacterias puede llegar a ser mayor en una determinada concentración, ya que se llegará a un punto, en donde aunque se le proporcione una cantidad mayor de fuente de carbono, esta no crecerá más rápido.

Tabla 4.13: Formación de biomasa de BQ1 en PEAS (0.3%, 0.6%, 1.2% y 2.4%)

Concentración	mg/ml de biomasa (Tiempo=0 horas)	mg/ml de biomasa (Tiempo=120 horas)	Biomasa producida (mg/ml) en 120 horas
0.3%	0.542	0.904	0.362
0.6%	0.723	0.857	0.134
1.2%	1.289	1.828	0.548
2.4%	0.9809	1.52	0.539

4.8.1. Microscopia electrónica de barrido

Se elaboraron micrografías de dos películas de PEAS 7:3, las cuales estuvieron en incubación a 37°C con agitación durante 12 días. Una de ellas se inoculó con BQ1 (fig. 4.26 (a)), agregándose al medio de incubación y la otra se tomó como un control (fig. 4.25 (b)).



(a) PEAS 7:3, control (sin bacteria)

(b) PEAS 7:3, inoculado (con bacteria)

Figura 4.26: Micrografía de películas de PEAS 7:3, sin y con bacteria BQ1 a 12 días de incubación

En estas micrografías se puede observar la clara erosión que sufrió la superficie de la película, comparada con la muestra que no contenía inóculo.

4.8.2. Espectroscopia infrarroja

La espectroscopia infrarroja se encuentra dentro de las técnicas de caracterización para probar una biodegradación de segunda etapa, es decir, cuando el polímero comienza a presentar cambios en su estructura. En el espectro por FT-IR que se elaboró a las películas sin y con bacteria (fig. 4.27), muestra que no hay cambios apreciables en el espectro, lo cual se podría deber a que la hidrólisis enzimática es sólo un co-metabolismo en el medio, pero se elaboró un espectro comparativo entre el polímero sin someter a incubación y las muestras que sí fueron incubadas (muestra control y muestra no inoculada). El pico que presenta una desaparición es el que se encuentra a una frecuencia de 3381 cm^{-1} la cual corresponde al estiramiento del grupo funcional OH , lo que demuestra una desaparición de la región de los grupos $O - H$ que se debe a que en esta frecuencia también se presentan los puentes de hidrógeno generados con los grupos hidroxilo y los carbonilo. Esto debido a que durante la interacción del polisacárido de la semilla de tamarindo y el acrilato de etilo se obtuvo la formación de dichas interacciones físicas. La vibración en 2981 cm^{-1} correspondiente al grupo CH_3 presenta un pequeño aumento de intensidad. Las vibraciones en los picos 2927 y 2856

cm^{-1} corresponden al grupo funcional CH_2 . En la vibración correspondiente al grupo carbonilo en 1729 cm^{-1} se encontró un aumento considerable, esto debido a que al desaparecer los puentes de hidrógeno este grupo vuelve a vibrar sin tener la interferencia de este tipo de interacciones físicas. En el grupo $R-CO-OR'$ a 1376 cm^{-1} se vieron afectados mostrando una disminución al igual que la vibración 1155 cm^{-1} . La vibración 851 cm^{-1} pertenece al estiramiento entre $C-C$ el cual tuvo una disminución, la cual puede ser por el rompimiento de cadenas en esta etapa de degradación. La vibración a 943 cm^{-1} que corresponde a los grupos OH muestran una disminución, lo cual muestra que los principales puntos afectados en la prueba de degradación llevada a cabo son los grupos hidroxilo provenientes del polisacárido de la semilla de tamarindo.

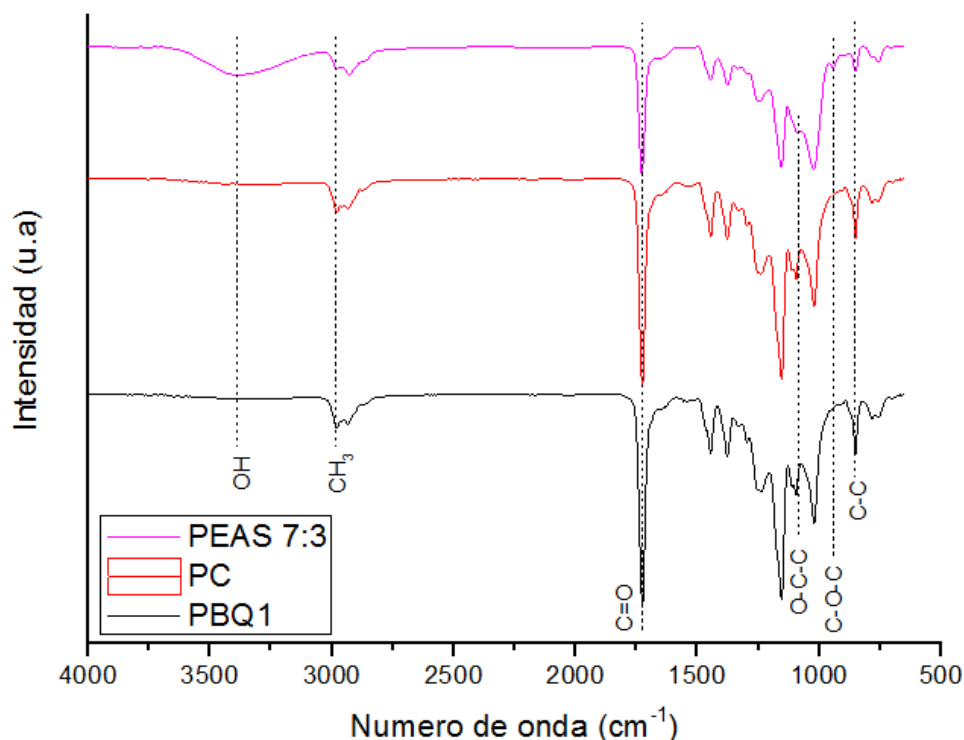


Figura 4.27: Espectro FT-IR de PEAS 7:3 con y sin BQ1 durante 12 días

4.8.3. Análisis termogavimétrico

Los termogramas de las dos muestras incubadas (PEAS 7:3 control y PEAS 7:3 con bacteria) mostradas en la figura 4.28, no muestran alguna variación sobre cambios en las propiedades calorimétricas de los materiales, sin embargo, si se comparan estas dos muestras con el polímero sin incubar, se observan una diferencias. Primero, que la muestra sin inocular contiene dos componentes, esto debido a la aparición de dos endotermas, a una temperatura de 322 y 403 °C , las cuales corresponden a la semilla de tamarindo en polvo y al poli(acrilato de etilo), respectivamente. Las muestras incubadas (muestra control y muestra inoculada con

BQ1) muestran una endoterma a 382 °C, correspondiente al poli(acrilato de etilo), donde se muestra una disminución en la temperatura de degradación del material, lo que contribuye a un cambio en las propiedades térmicas que tuvo lugar por la degradación del materia [85].

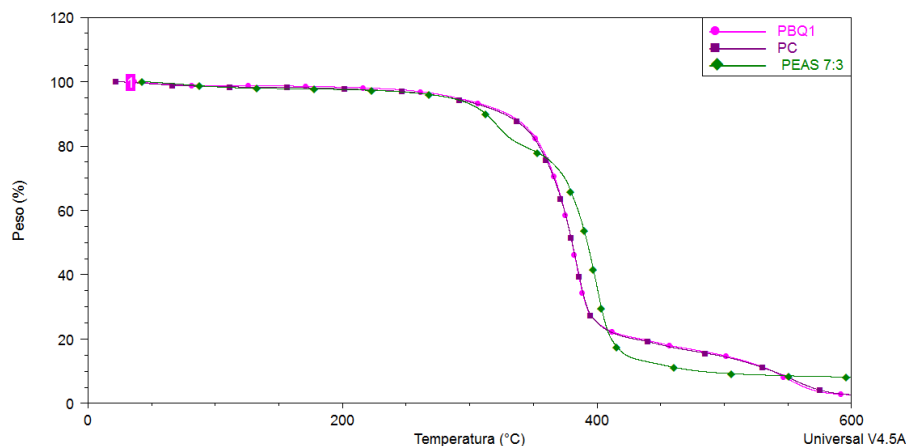


Figura 4.28: Termogramas de análisis termogravimétrico de PEAS 7:3 antes y después de haber sido sometido a biodegradación

Los termogramas de las muestras incubadas se muestran muy semejantes, debido a que el material incubado sin bacteria también está sufriendo una degradación pero por acción de hidrólisis, por lo que la degradación no sólo se está llevando a cabo por la acción de la bacteria BQ1, sino también por acción del agua, que por ésta última es como suele comenzar la degradación de un material, pero a medida que el proceso va avanzando, la degradación enzimática podrá dominar al aumentar el rompimiento estructural del polímero.

4.8.4. Calorimetría diferencial de barrido

Entre las muestras incubadas (muestra control y la muestra inoculada con BQ1) mostradas en la fig. 4.29, sólo hay pequeñas variaciones, sin embargo no es suficiente para que se pueda elaborar un comparativo entre ellos. No obstante, al compararlos con la muestra sin incubación, se puede observar la aparición de dos nuevas endotermas, las cuales representan transiciones que pertenecen a otros componentes presentes en la muestra. La primera transición se presenta en -15 °C y se debe a la temperatura relacionada con el poli(acrilato de etilo), la cual aparece en las tres muestras y no se observan corrimientos de temperatura en la misma. La segunda a una temperatura de 60 °C, que sólo aparece en las muestras incubadas. La segunda sólo se encuentra en las muestras incubadas, lo que se pudiera asignar a la temperatura referente a la semilla de tamarindo, pero presentando un corrimiento a 60 °C, lo cual demuestra un cambio en las propiedades del material. La tercera, aparece a los 200 °C, mostrándose de igual manera sólo en las muestras inoculadas la cual puede corresponder a parte de la semilla de tamarindo referida a otro tipo de polisacáridos la cual presenta de igual forma un corrimiento decreciente en la temperatura de transición vítrea.

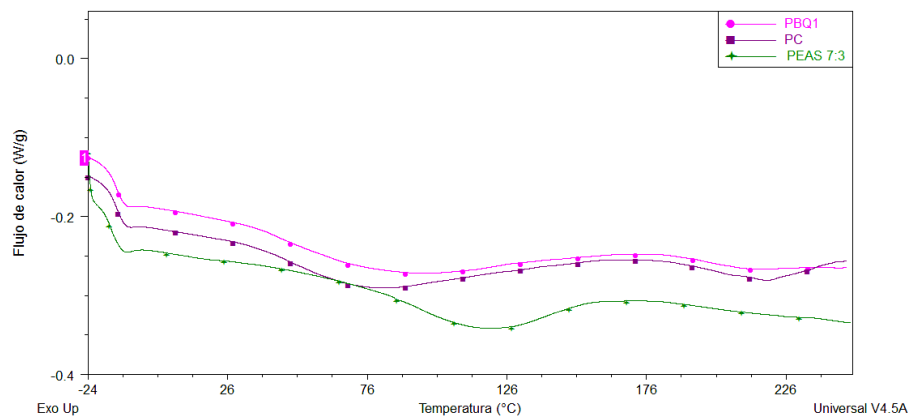


Figura 4.29: Termogramas de calorimetria diferencial de barrido de PEAS 7:3 antes y después de haber sido sometido a biodegradación

4.9. Pruebas de biodegradación

Para las pruebas de biodegradación se sometieron películas de todos los polímeros sintetizados, pero debido a la alta solubilidad que presentaron las películas de polímeros PEAS 6:4 y PEAS 5:5, no se pudo obtener una película y hacer el análisis. Las películas adecuadas para hacer el análisis son PEA, PEAS 9:1, PEAS 8:2 y PEAS 7:3. Durante las pruebas de biodegradación se obtuvieron muestras a dos tiempos (3 y 6 semanas), para observar los cambios estructurales y físicos presentes en las muestras.

4.9.1. Biodegradación PEA y PEAS (9:1, 8:2 y 7:3)

Las pruebas de biodegradación se elaboraron para todos los polímeros excepto los polímeros PEAS 5:5 y PEAS 6:4, debido a que durante el proceso que se llevó a cabo se disolvían completamente, impidiendo la misma caracterización que se había elaborado a los demás materiales. Del medio líquido se podrían haber separado los materiales, pero iba a ser un proceso complicado, por lo que se decidió omitirlo para estos dos materiales.

PEA

IR

En la Figura 4.30 se puede observar que hay cambios en los diferentes espectros, en donde para el tiempo estudiado de biodegradación, ocurrieron dos tipos de degradaciones, una por medio de hidrólisis esteárica la cual es sólo en presencia de agua y la otra por acción de degradación enzimática, a través de la bacteria BQ1. La diferencia entre estos dos métodos

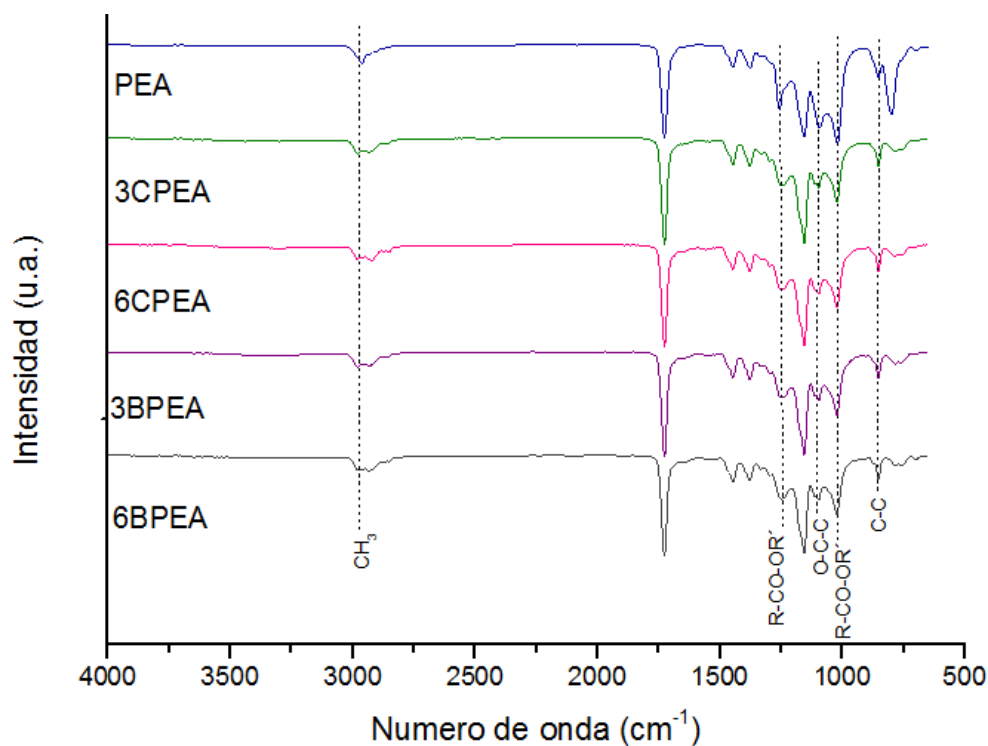


Figura 4.30: Espectro FT-IR de la biodegradación de PEA (3 y 6 semanas)

de degradación no es mucha por lo que no se puede observar cual de los dos métodos es más conciso.

Se puede observar que tanto en el polímero control y en el inoculo hay una notable reducción del pico correspondiente a la vibración 1258 , 1094 y 1021 cm^{-1} , los cuales corresponden al ataque ocurrido a los grupos $R - CO - OR'$, $O - C - C$ y $R - CO - OR'$, respectivamente. Estos grupos fueron atacados por la hidrólisis ocurrida, ya sea por hidrólisis estérica o enzimática.

SEM

Se observan pequeños cambios en la superficie de la película. La muestra control presenta un superficie lisa, comparada con la superficie de la muestra incubada con inoculo, lo que representa como una especie de arrugamiento de la película. A pesar de que las muestras se dejaron por más tiempo (Fig. 4.31), la única diferencia apreciable es que las zonas de la película inoculada contiene una mayor cantidad de partículas adheridas a la superficie, en comparación con la muestra control, habiéndose hecho el mismo tratamiento y manipulación durante las pruebas, por lo que se puede relacionar con la pequeña erosión de la superficie, la cual permite que al estar en el medio ambiente sea propensa a que se le adhieran partículas, comparada con la muestra control.

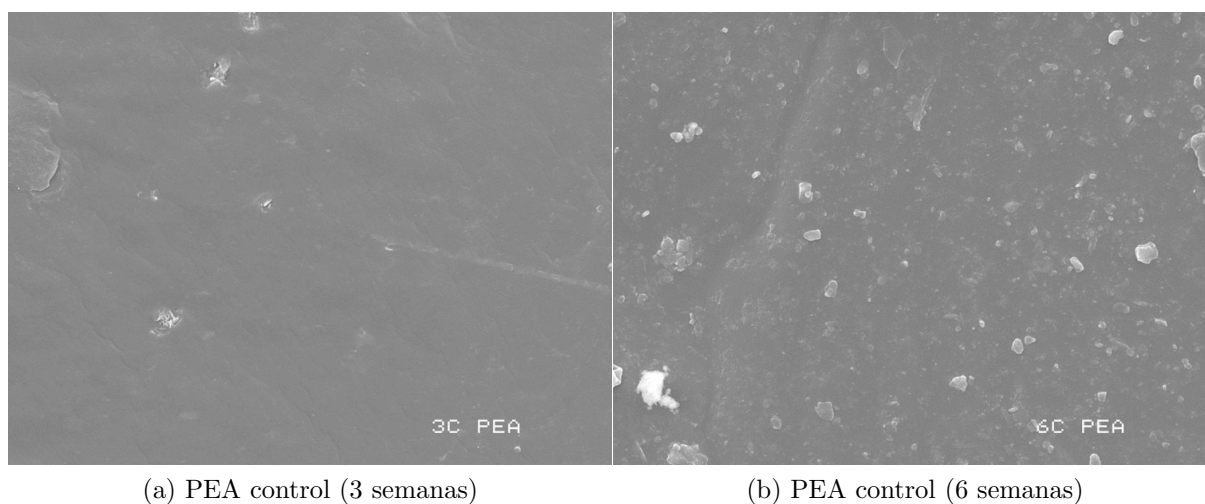


Figura 4.31: Micrografías de películas de PEA, sin bacteria BQ1 a 3 y 6 semanas de incubación

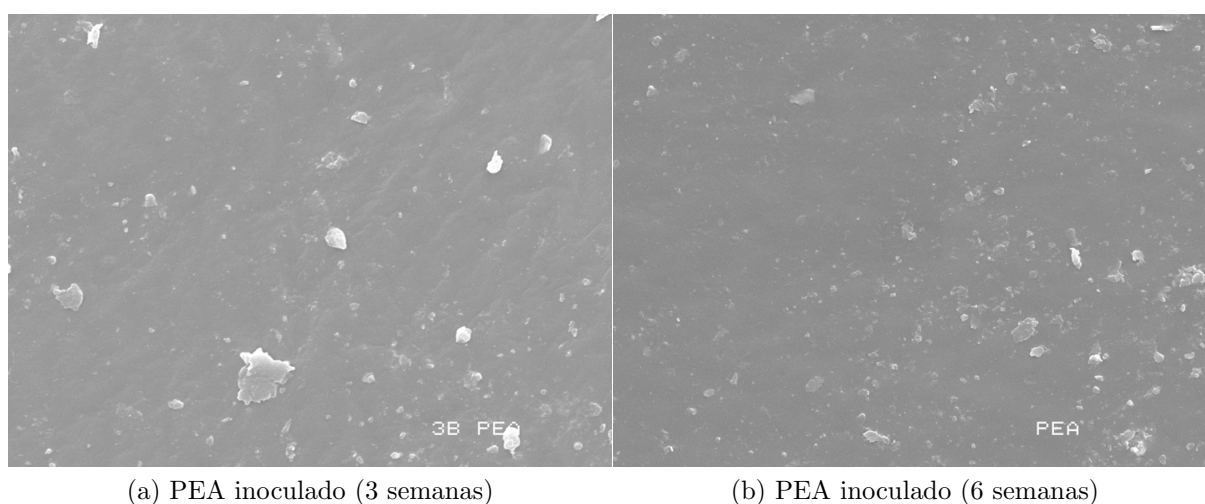


Figura 4.32: Micrografías de películas de PEA, con bacteria BQ1 a 3 y 6 semanas de incubación

PEAS 9:1

IR

Se puede observar que tanto en el polímero control y en el inoculo (Fig. 4.33) hay una notable reducción del pico correspondiente a la vibración 1258 , 1094 y 1021 cm^{-1} , los cuales corresponden al ataque químico en los grupos funcionales éster $R-CO-OR'$, $C-C-O$ y $O-C-C$, los cuales corresponden a grupos atacados por la hidrólisis ocurrida, ya sea por hidrólisis estéarica o la enzimática. Hay una disminución de picos perteneciente a la vibración 3390 cm^{-1} , provenientes del polisacárido de la semilla de tamarindo, lo cual muestra que

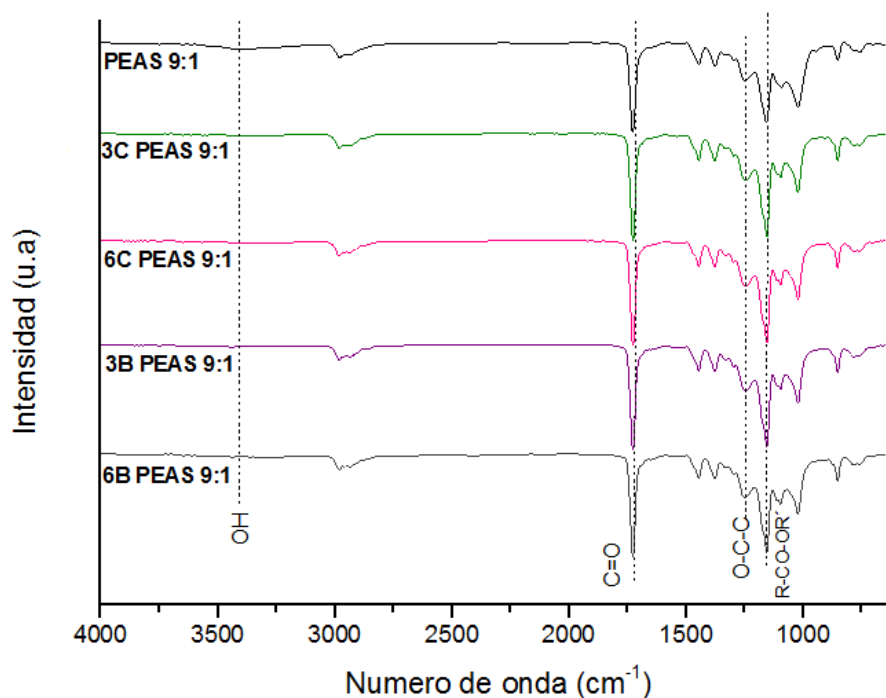


Figura 4.33: Espectro FT-IR por ATR de la biodegradación de PEAS 9:1 (3 y 6 semanas)

los grupo OH están siendo desprendidos de la cadena del polisacárido. La vibración de los grupos $C - H$, no muestra ningún cambio. El pico 1727cm^{-1} aumentó en todas las muestras incubadas, lo cual predice un aumento en la libertad de vibrar del grupo carbonilo, este mismo comportamiento se observa en la vibración a 1100cm^{-1} , en donde el material incubado durante 6 semanas con bacterias tiene un intensidad mayor que las demás. La vibración a 1246cm^{-1} que representa un estiramiento $R - CO - O - R'$, presenta una intensidad mayor en la 3 semana incubada sin bacteria.

SEM

En este material se observa como en la muestra control (Fig. 4.34), parecieran estar cubiertas las partículas de un material, y en la micrografía de la muestra que estuvo en contacto con BQ1, se observan cómo las partículas quedaron sin el material que las tenía cubiertas.

En esta muestra no se alcanzan a observar diferencias representativas (Fig. 4.35), en las dos muestras se presenta una importante erosión en la superficie.

PEAS 8:2

IR

Se presenta una disminución en el pico 3379cm^{-1} correspondiente a los grupos $O - H$, proveniente del polisacárido de la semilla de tamarindo (Fig. 4.36). Además, se observa un

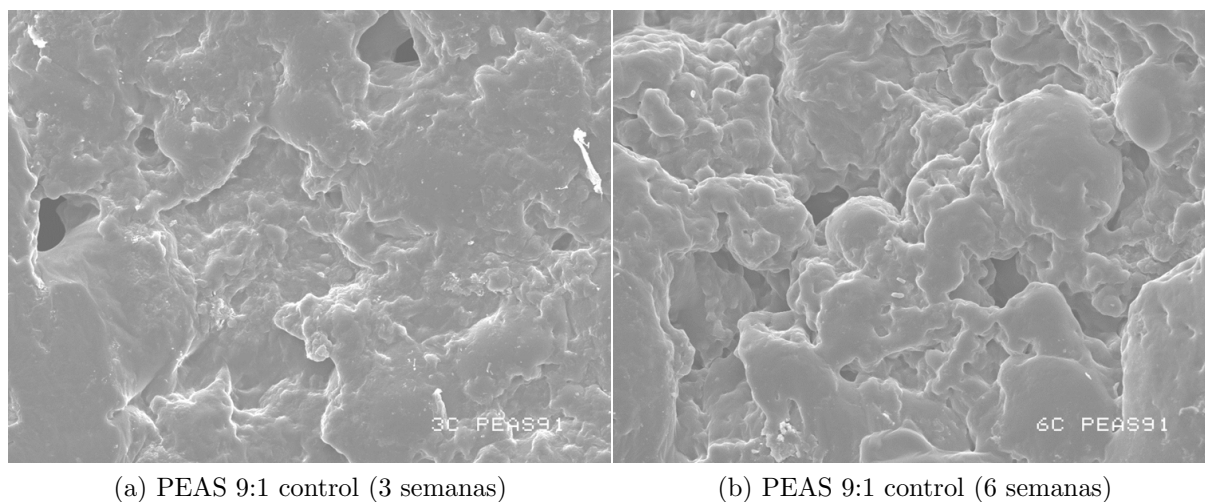


Figura 4.34: Micrografías de películas de PEAS 9:1, sin bacteria BQ1 a 3 y 6 semanas de incubación

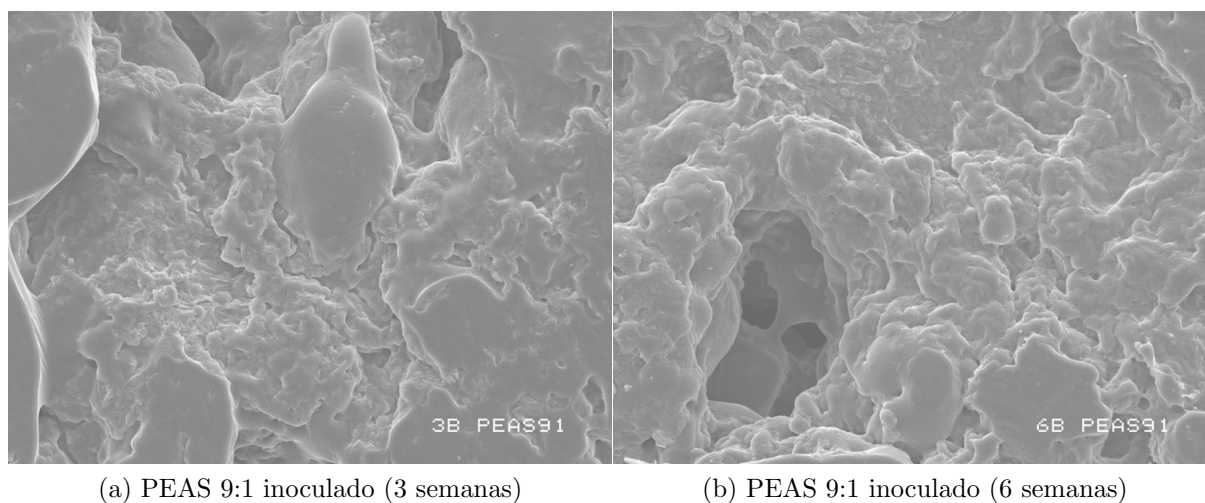


Figura 4.35: Micrografías de películas de PEAS 9:1, con bacteria BQ1 a 3 y 6 semanas de incubación.

aumento en la intensidad de la banda a 2977cm^{-1} , debido a la vibración del grupo CH_3 . También hay una disminución en los picos 2927 y 2856cm^{-1} , pertenecientes a la vibración asimétrica y simétrica del grupo metileno CH_2 . Hay un aumento en la intensidad de los picos 1729cm^{-1} y 1249cm^{-1} , correspondientes a los grupos carbonilo y la vibración entre $\text{R}-\text{CO}-\text{OR}'$, lo cual se refiere a la hidrólisis esteárica y enzimática con actividad enzimática estereasa que proviene de la bacteria utilizada. La vibración 1155cm^{-1} corresponde al grupo $\text{R}-\text{CO}-\text{OR}'$ y muestra el mismo comportamiento.

SEM

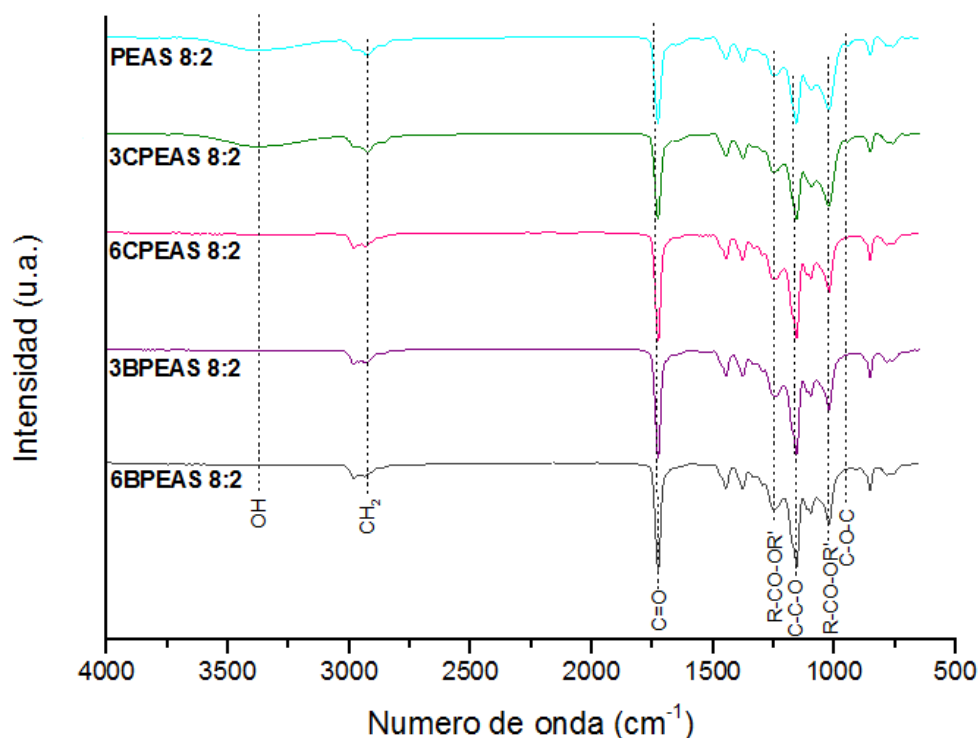


Figura 4.36: Espectro FT-IR de la biodegradación de PEAS 8:2 (3 y 6 semanas).

En algunas zonas de las micrografías de la película control (Fig. 4.37), se observa como presenta erosiones en la superficie pero en menor cantidad y profundidad, a comparación con la película inoculada con BQ1, donde es visible una erosión a una mayor profundidad.

En este material a 6 semanas (Fig. 4.38), se puede observar claramente como en la película control es apreciable una morfología lisa a comparación de la película inoculada con BQ1, donde en esta última se alcanza a observar cómo la superficie ha sido erosionada a una profundidad considerable.

PEAS 7:3

IR

Comparando la muestra inoculada con la que no fue inoculada, la vibración 3379 cm^{-1} correspondiente a los grupos $O-H$ disminuyeron casi por completo (Fig.4.39). La vibración a 2961 cm^{-1} presenta un aumento en su intensidad, esta vibración pertenece al grupo CH_3 . Se presenta una disminución del pico a 2928 y 2856 cm^{-1} , los cuales representan las vibraciones de los grupos CH_2 . La vibración a 1729 cm^{-1} del grupo carbonilo, muestra un aumento en su intensidad. El grupo $R-CO-OR'$ presente en la vibración a 1249 cm^{-1} aumentó en su intensidad. La vibración en 1155 cm^{-1} , muestra el mismo comportamiento que la anterior,

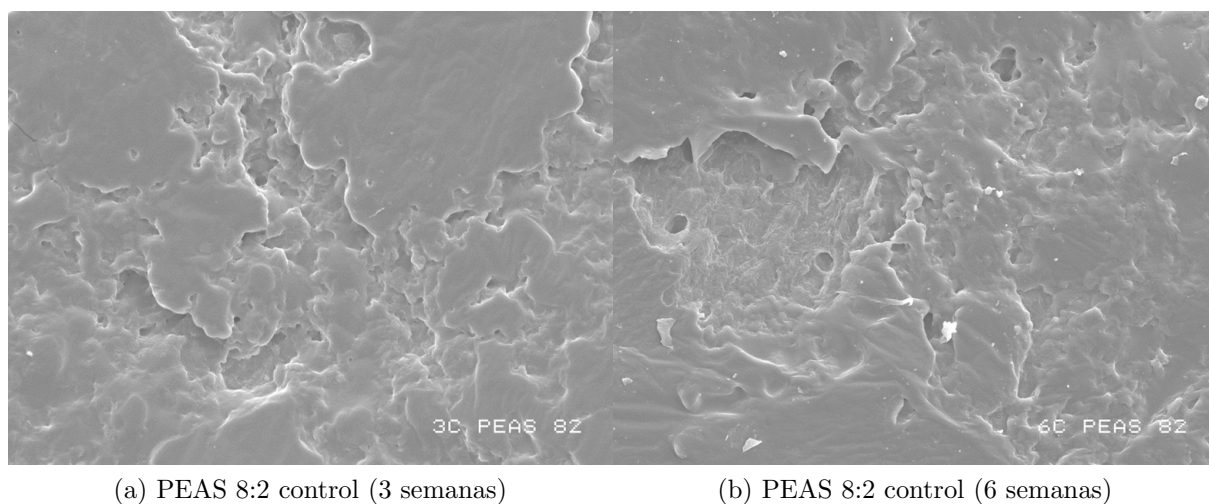


Figura 4.37: Micrografías de películas de PEAS 8:2, sin bacteria BQ1 a 3 y 6 semanas de incubación.

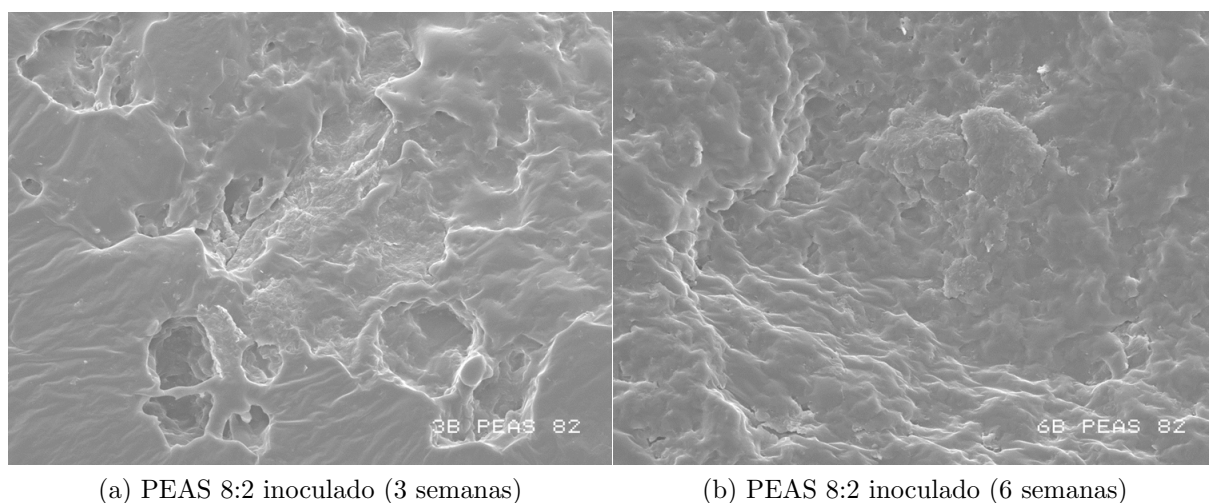


Figura 4.38: Micrografías de películas de PEAS 8:2, con bacteria BQ1 a 3 y 6 semanas de incubación

pero ésta pertenece al grupo $R - CO - OR'$. El pico presente en 1023 cm^{-1} , corresponde al estiramiento $O - C - C$, el cual se ve disminuido.

SEM

En las micrografías (Fig. 4.40) de éste material se puede ver como en las muestras control se observa una mayor erosión conforme va aumentando el tiempo de incubación.

En las micrografías de la figura 4.41 se puede observar la diferencia de la erosión de las

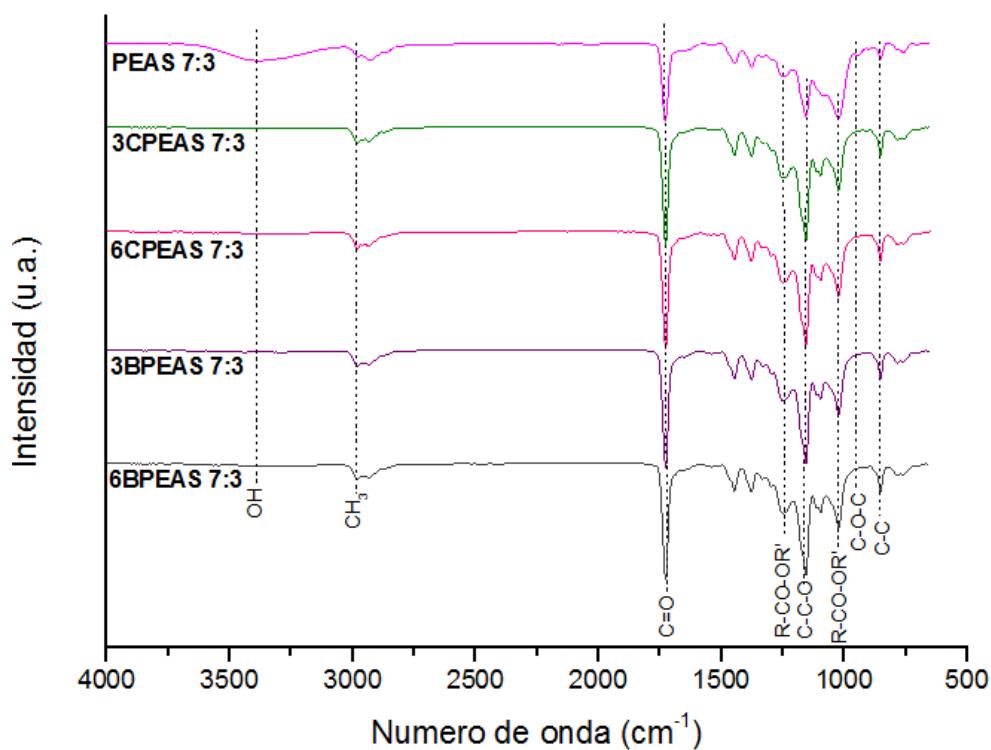
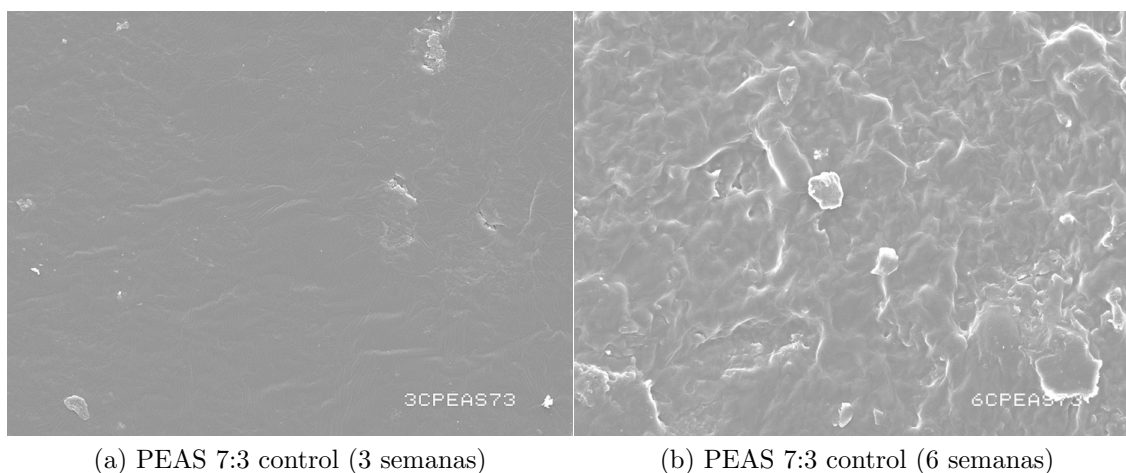


Figura 4.39: Espectro FT-IR por ATR, de la biodegradación de PEAS 7:3 (3 y 6 semanas)

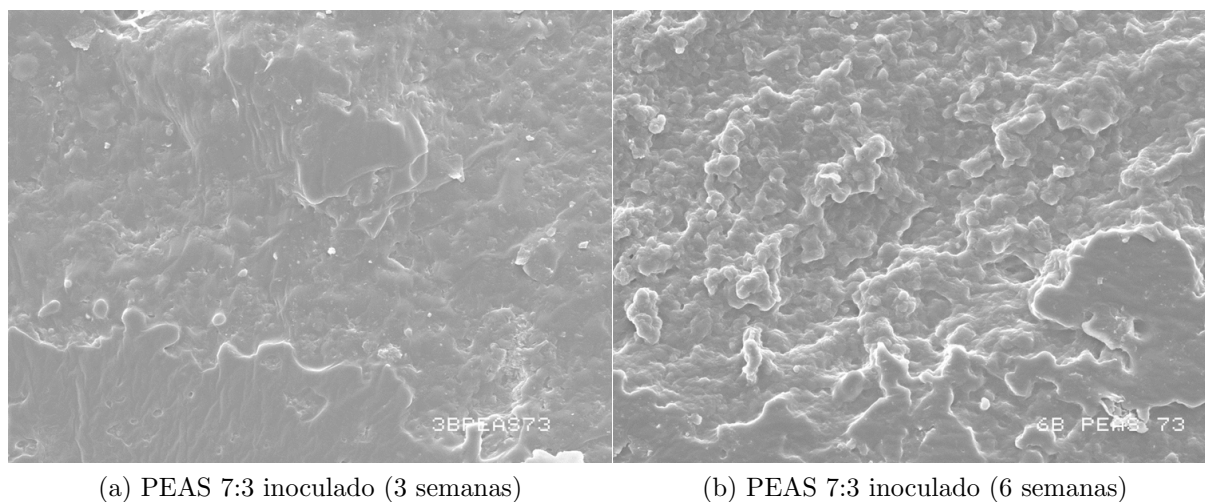


(a) PEAS 7:3 control (3 semanas)

(b) PEAS 7:3 control (6 semanas)

Figura 4.40: Micrografías de películas de PEAS 7:3, sin bacteria BQ1 a 3 y 6 semanas de incubación

películas sometidas a incubación con la bacteria comparadas con las muestras control (sin bacteria), en donde se puede concluir que la bacteria es capaz de degradar el polímero.



(a) PEAS 7:3 inoculado (3 semanas)

(b) PEAS 7:3 inoculado (6 semanas)

Figura 4.41: Micrografías de película de PEAS 7:3, con bacteria BQ1 a 3 y 6 semanas de incubación

4.9.2. Análisis por espectroscopia infrarroja cercana (NIR)

Los polímeros PEAS 8:2 y PEAS 7:3 se analizaron por NIR, eligiéndose debido a que las películas degradadas eran de un tamaño suficiente para realizar estas pruebas. Esta técnica se utilizó para ver que sobretonos podrían confirmar más la degradación llevada a cabo en los polímeros incubados. Estos materiales que habían sido sometidos a incubación (con y sin bacteria), se compararon con el PEAS sin haber sido sometido a incubación.

En la figura 4.42 se muestran las comparaciones del PEAS 7:3. Las vibraciones correspondientes a los intervalos de 4095 cm^{-1} a 4424 cm^{-1} y 5952 cm^{-1} a 5794 cm^{-1} y en 8476 cm^{-1} corresponden a los sobretonos de los enlaces $C-H$, de los cuales los picos 4095 , 4169 y 4268 corresponden a el grupo metileno CH_2 ; las frecuencias 4424 , 4343 y 8476 cm^{-1} corresponden a las vibraciones del metilo CH_3 . El sobretono a 4706 cm^{-1} pertenece al grupo carbonilo $C=O$. Las vibraciones en 6900 y 5161 cm^{-1} corresponden a los enlaces entre $O-H$. Los sobretonos del polímero sin incubar presentan disminuciones en la intensidad comparándolo con los incubados con y sin bacteria. Las vibraciones en 8476 y 6900 cm^{-1} son las que corresponden a los grupos CH_3 , éste grupo con el $O-H$ presentan una disminución casi en su totalidad. Estas disminuciones del grupo funcional alcoxi del acrilato de etilo, de donde proviene el CH_3 , y el grupo hidroxilo se deben a que son los principales grupos donde se realiza el ataque por hidrólisis visibles con esta técnica, ya sea esteárica o por acción del agua.

La fig 4.43 corresponde a la pruebas realizadas sobre el polímero PEAS 8:2. las vibraciones correspondientes a los intervalos de 4096 cm^{-1} a 4424 cm^{-1} y 5951 cm^{-1} a 5790 cm^{-1} y en 8447 cm^{-1} corresponden a los sobretonos de los enlaces $C-H$; donde las vibraciones 4095 , 4169 y 4268 cm^{-1} corresponden al grupo metileno CH_2 . Los picos en 4424 , 4343 y 8447 cm^{-1} corresponden a las vibraciones del metilo CH_3 . El sobretono a 4702 cm^{-1} pertenece al grupo

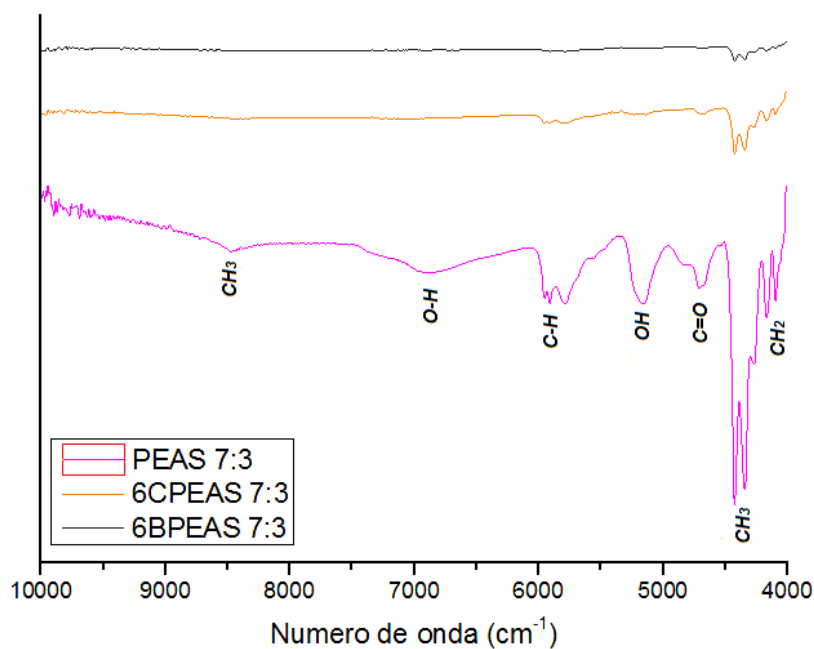


Figura 4.42: Espectros de NIR por ATR del PEAS 7:3 antes y después de incubación de 6 semanas

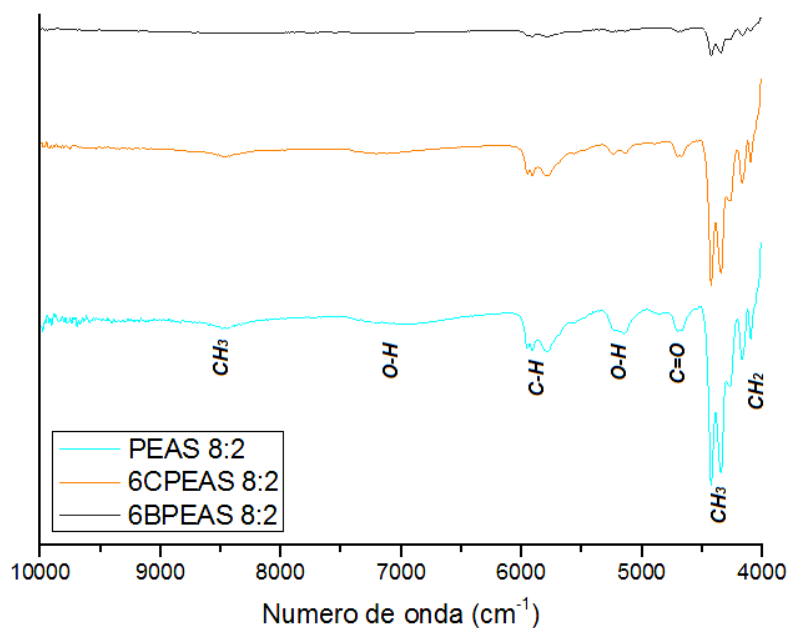


Figura 4.43: Espectros de NIR por ATR del PEAS 8:2 antes y después de incubación de 6 semanas

carbonilo $C = O$. Las vibraciones en 6953 y 5151 cm^{-1} corresponden a los enlaces entre $O - H$. La comparación que se realizó fue del polímero sin incubar sobre los incubados con y

sin bacteria. Todos los sobretonos presentan disminuciones en la intensidad en comparación con el polímero sin incubar. Los picos del espectro del polímero incubado con bacteria en las vibraciones de 8476 y 6900 cm^{-1} son las que corresponden a los grupos CH_3 y $O-H$ presentan una disminución muy considerable. El espectro del polímero incubado sin bacteria presenta una ligera disminución de la intensidad de los picos comparándolo con el material que no fue puesto en incubación.

Capítulo 5

Conclusiones

*Los 5 materiales sintetizados se analizaron por medio de diferentes técnicas de caracterización, donde se observó la estructura y los cambios en las propiedades que presentaron los materiales al aumentar o disminuir la cantidad de semilla de tamarindo, así como las pruebas de biodegradación llevadas a cabo. Esto da lugar a las siguientes conclusiones:

*De los resultados obtenidos en RMN se puede observar que durante la polimerización se llevó a cabo el injerto del acrilato de etilo en el polisacárido de la semilla de tamarindo, debido al ataque del radical sobre el enlace OH presentes en el polisacárido, donde este nuevo radical presente en el polisacárido compitiendo con radicales provenientes del iniciador, atacaron el doble enlace del monómero acrílico y de esta forma se obtuvo un copolímero de injerto^{1,2}. En RMN se pudo observar el cambio en los espectros de ^{13}C , donde conforme se va aumentando la cantidad de semilla de tamarindo y por ende se van agregando más puntos de reacción, se ausentan algunas de las señales del esqueleto del polímero sintético, al haber adoptado durante el injerto en el polisacárido las características de éste último, esto se pudo observar en la comparación de los espectros de ^{13}C en método gel y en sólidos. En FT-IR se pudo corroborar el injerto al observar un ensanchamiento y un corrimiento hacia un número de onda menor en la vibración de $R - CO - OR'$, el cual fue de 1258 cm^{-1} a 1253 cm^{-1} , lo cual nos indica el injerto de una cadena más grande que la que se tenía originalmente en el esqueleto del polímero sintético. Por esta técnica también se pudieron observar como los grupos funcionales del tipo hidroxilo y los carbonilo, tendieron a formar puentes de hidrógeno, mostrada en el pico de la zona de los 3200 cm^{-1} .

*El poli(acrilato de etilo) es soluble en solventes orgánicos y al interaccionar con el polisacárido de la semilla de tamarindo perdió dicha propiedad al volverse completamente insoluble en éstos solventes. Las películas de los materiales sintetizados pasaron de ser un material apolar a uno polar comparándolos con el polímero sintético. Las propiedades físicas del material fueron aumentadas al observarse el incremento del módulo de Young y una mayor resistencia en el material (conforme se aumentó la cantidad de semilla de tamarindo).

¹A. Mishra et al./ Polym. Adv. Technol., 2008; 19:99-104

²E.Erkselius, O.J. Karisson /carbohydrate Polymers 62 (2005) 344-356

*Las pruebas de biodegradación arrojaron que la técnica utilizada no fue la más rápida para el tiempo destinado a dicha caracterización. En FT-IR los materiales sometidos a degradación, ya sea con películas incubadas con o sin bacteria hacían desaparecer los picos donde se presentaban las vibraciones de los grupos hidroxilo y las del carbonilo (eliminando puentes de hidrógeno) principalmente, pero a una misma velocidad. Esto condujo a que de los dos procesos de degradación, (hidrólisis esteárica y enzimática) se estaban llevando a cabo pero siendo la hidrólisis por acción del agua, la dominante. Con NIR se concluyó que la bacteria sí está siendo capaz de romper los enlaces esteres presentes en el polímero sintético, esto al obtener la disminución en la intensidad de los picos los grupos metilos (ya que sólo se encontraban en el polímero sintético). Las micrografías por SEM mostraron la erosión en la superficie presentes en las películas, observando que el daño se va haciendo mayor conforme fue pasando el tiempo y se hace más evidente en las muestras que estuvieron en contacto con la cepa BQ1. Con esto se concluye que sí se llevó a cabo la biodegradación de los materiales en donde el tiempo de degradación al que fueron sometidas las películas no fue suficiente para demostrar un cambio más relevante de propiedades.

Capítulo 6

Perspectivas

Durante la elaboración de los materiales sintetizados, siempre se ideó que la forma del polímero fuera en película. Con las técnicas de caracterización, se pudo apreciar que el método de procesamiento de las películas no fue el más idóneo, por lo que queda como trabajo futuro el mejoramiento de esto.

En las pruebas de biodegradación, queda claro que éstas sólo se elaboraron siguiendo un camino y utilizando como recurso un sólo tipo de cepa de *Alicyclophilus sp.*, por lo que se podrían hacer más estudios utilizando no sólo una cepa sino varias y de otras familias para disminuir el tiempo de biodegradación y que sean más evidentes los cambios durante dicho proceso. También podría verse si el tiempo de degradación es útil o no para el material, según sea la aplicación contemplada.

Bibliografía

- [1] Vincet María, Álvarez Silvia, Zaragoza José Luis, *Ciencia y Tecnología de los polímeros*. Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, 2006, p.9.
- [2] Wallace Billmeyer Fred, *Ciencia de los polímeros*. Reverte, New York, 2004, p.6.
- [3] Matteini Mauro, Moles Arcangelo, *La química en la restauración: los materiales del arte pictórico*. Nardini, 2008,
- [4] L.Lehninger, *Bioquímica, las bases moleculares de la estructura y función celular*. Reverte, Barcelona, 2009, p.255.
- [5] Seyhan Ege, *Química orgánica: estructura y reactividad*. Omega, Barcelona, 2009, p.1126.
- [6] Jimeno Antonio, Bastelleros Manuel, Ugedo Luis, *Biología*. Santillana, 2000, p.55.
- [7] G.O. Philips, P. A. Williams, *Xyloglucans, Handbook of hydrocolloids*. Woodhead 2000, p.247.
- [8] Rao, K. H., Subramanian N., *Nitrogen solubility and functional properties of tamarind seed kernel proteins*. In proceedings of national symposium on protein foods and feeds, Madras, India, 1984, p.A67–84.
- [9] Chandini S., Kumar and Sila Bhattacharya, *Tamarind seed: properties, processing and utilization*. Critical review in food science and nutrition 2008, 48:1–20.
- [10] Bueso C.E., *Soursop, tamarind and chironja. Tropical and subtropical fruits composition, properties and uses*. In: S. Nagy and P.E. Shaw eds, AVI, Westport Conn, 1980, p. 375–406.
- [11] Sila Bhattacharya, S. Bai, R. K., *Functional and nutritional properties of tamarind (Tamarindus Indica) kernel protein*. Mukherjee Post Harvest Technology Centre, Indian Institute of Technology., Kharagpur, India, 2003, p.721.
- [12] Purseglove J. W., *Tropical crops, Dicotyledons..* Longman Science and technology, 1987, London, p.204–206.
- [13] Shankaracharya N. B., *Tamarind–Chemistry, technology and uses: a critical appraisal*. Journal of Food science and technology 1998, 35:193–208.

- [14] Bhattacharya S., Bal S., Mukherjee, R. K., *Some physical and engineering properties of tamarind (Tamarindus Indica) kernel*. Journal of Food science and technology 1993, 31(5):372–376
- [15] G. R. Savur, A. Sreenivasan, *Insolation and characterization of tamarind seed (Tamarindus Indica L.)* Department of chemical technology, Bombay, India, 1998, p. 172,151
- [16] Vilee Claude A, *Biología* Ed. Interamericana, McGraw Hill, México, 1991
- [17] Mazz Marry, *Structural characterization of chemically and enzymatically derived stard oligosaccharides insolated from partially prified tamarind xyloglucan* Carbohydrate polymer, 2003, 51(3):347–356
- [18] www.technor-preneut.net
- [19] C. M. D. Iain, *Industrial polysaccharide* Pure Appl. Chem., 1989, 61 (7)–1315.
- [20] N. Nishinari, K. Yamatoya, M. Shirakawa, *Handbook of hydrocolloides* Xiloglucan, 2000, p. 247–267
- [21] N. Nishinari, H. Zhang, S. Ikeda *Colloid Interface Sci.* 2005, 5, 247–267
- [22] Rao P.S., Srivastava H. C., *Tamarind, in Industrial gums*. Academic Press, New York, 2000, p. 370–441
- [23] Anon, *Tamarind. In the wealth of India* Raw materials series, 1997, X, 247–267
- [24] Bhattacharya S., *Utilisation of tamarind seed kernel in food industry* Tirupathi (A.P.), India, 1997 27–29: p.162–8
- [25] Gerald T., *Tamarind gum*. In Davidson, R. L. ed. Handbook of water soluble hums and resins, Mc Grill Hill, New York, 1980, p. 23.1–23.12
- [26] Gunasena, Hughes, *Tamarind: (Tamarindus Indica)*. Fruits for the future, 2000, p. 170
- [27] Andriamanantena R. W., Artuad J., Gaydofn E. M., Latrides M. C., Chavalier, *Fatty acid and sterol composition of malagos and tamarind kernels*. Journal of the American oil chemistry's Society, 1983, 60(7): 1318–1321
- [28] J.A. Galbis, M. C. García Martín, *Monomers, polymers and composites from renewable resources* Sugars and monomers, 2008, p.89
- [29] S. P. Gautam, *Biodegradable polymers, impact on environment* Central pollution control board ministry of environment and forest goverment of India, 2009
- [30] Varma A. J., Kennedy J. F., Galgani P., *Synthetic polymers by carbohydrate. A review* Cabohydrate polymer, 2004, 56:429–445

- [31] Cunliffe D., Pennadam S., Alexander C., *Synthetic-merning the interface* European Polymer Journal, 2004, 40:5–25
- [32] Landmiral V., Melia E., Haddleton D., M., *Synthetic glycopolymer: An overview* European Polymer Journal, 2004, 40:431–449
- [33] Narain R., Jhurry D., Wulf G., *Synthesis and charcaterization of polymers containing linear sugar moities as side groups* European Polymer Journal, 2005, 38:273–280
- [34] Okada M., Fernandez A., Figueredo C. M., Fortes A. G., Freitas A. M., *Synthesis of carbohydrate based polymers* Cabohydrate polymer, 2001, 45:135–138
- [35] Carneiro M. J., Fernandez A., Figueredo C. M., Fortes A. G. Freitas A. M., *Synthesis of carbohydrate based polymers* Cabohydrate polymer, 2001, 45:135–138
- [36] NNFCC–Renewable polymers factssheet
- [37] FYI charts. Plastics news.com
- [38] Weininger J. Stephen, Frank R. Stermiz, *Organic chemestrty* Reverte, 1988
- [39] Brian Smith, *Infrarred spectral interpretation: A systematic aproach* Taylor and Francis, 1998, p. 1–29
- [40] W. J. Sichina, *Characterization of polymers using TGA* Rapra, 1997, 8–1:
- [41] Humberto Palza Cordero, *Introducción a las propiedades mecánicas de los polímeros*
- [42] Palmisano AC, Pettigrew C. A., *Biodegradability of plastics* Bioscience, 1992, 42(9): 680e5
- [43] Lemm W., Krukenberg T., Regier G., Gerlach K., Bucherl E. S., *Biodegradation of some biomaterials after subcutaneous implantation* Proc. Eru. Soc. Artif. , 1981, 8:71e5
- [44] Potts J. E., Clendinning R. A., Ackart W. B., Neigisch W. D., *The biodegradability of synthetic polymers* Polymer Science ans Technology series, 1973, 3:p61e79
- [45] Swift G., *Biodegradable polymers in the environment: are they really biodegradable* Pro ACS Div. Polym. Mater Sci. Eng., 1992, 66:403e4
- [46] Ratner D. D., Gladhill K. W., Horbett T. A., *Analysis of in vitro enzymatic and oxidative degradation of polyurethanes* J. Biomed. mater Res., 1988, 22:509e27
- [47] Marchant R. E., Anderson J. M., Phua K., Hiltner A., *In vivo biodegradability studies* J. Biomed. Mater Res., 1984, 18:309e15
- [48] Smith R., Williams D. F., Oliver C., *The biodegradation of poly(etherurethanes)* J. Biomed. Mater Res, 1987, 21:1149e66

- [49] B. Singh, N. Sharma, *Mechanistic implications of plastic degradation* Polymer degradation and stability, 2008, 93:561–568
- [50] Lee D., Trantolo D., Altobelli D., *Encyclopedic handbook of biomaterials and bioengineering* Marcel Dekker, New York, 2005
- [51] Molina López J., Uribarren Berrueta T., *Clasificación de bacterias* Departamento de microbiología y parasitología, Facultad de medicina UNAM, 2000
- [52] F. Boyd Robert, *General microbiology* Times mirror/Mosby Collegu Pub., 1984, p. 32
- [53] Webb E. C., *Enzyme nomenclature* Prepared for IUBMB, E. C. Webb Academic Press, San Diego, 1992
- [54] Augusta J., Muller R. J., Widdecke H., *A rapid evaluation plate-test for the biodegradability of plastic* Appl. Microbiol. Biotechnol., 1993, 39:673–678
- [55] ASTM D 5210–91, *Standart test method determining the anaerobic degradation of plastics materials in the presence of municipal sewage sludge* Am. Soc. Test. Mater, Philadelphia, 1991
- [56] Azebedo H., Reis R., *Understanding the enzymatic degradation of biodegradable polymers and strategies to control their degradation rate* CRC Press LLC, 2005
- [57] Kay M., McCabe R., Morton L. H., *Chemical and physical changes occurring on polyurethane during biodegradation* International biodeterioration and biodegradation, 1993, 31:209–205
- [58] Ruiz C., Main T., Hillard N., Howard G. T., *Purification and characterization of two polyurethane enzyme from pseudomonas chororaphis* International Biodeterioration and biodegradation, 1999, 43:43–47
- [59] Ruiz C., Hillard N., Howard G. T., *Grown of pseudomonas chororaphis on a polyester-polyurethane and purification and characterization of a polyurethanase* International Biodeterioration and biodegradation, 1999, 43:7–12
- [60] Oceguera Cervantes, A. Carrillo García, A. López, Wachter C., Loza Talavera, *Characterization of the polyurethenolytic activity of two Alycicliophilus sp. Strains able to degrade polyurethane and N-Methylpyrrolidone* App. and Env. Microb., 2007, 73(19):6214–6223
- [61] Manak Bharan 9, Bahadur Shan Zafae Marg, *Specification for tamarind seed* Indian Standards Institution, 1978, IS:9004–1978
- [62] Immergut F. H., Grulke E. A., *Polymer handbook*, Jhon Willey, New York, 1999, II/2–69
- [63] D. Roy, M. Semsarilar, J. T Guthrie, S. Perner, *Cellulose modification by polymer grafting: a review*, Chem., Soc. Rev., 2009, 38: 2046–2064

- [64] S. Ghosh, G. Sen, U. Jha, S. Pal, *Novel biodegradable polymeric flocculant based on polyacrylamide-grafted tamarind kernel polysaccharide* Bioresource Technology, 2010, 101:9638–9644
- [65] ASTM 1708-87, *Standard test method for tensile properties of plastics by use of micro-tensile specimen*, 1987,
- [66] Nakajima Kambe T, Onuna F., Kimpara N., Nakahara T., *Insolation and characterization of bacterium which utilizes polyester-polyurethane as a sole carbon and nitrogen source*, PEMS Microbiology letters, 1995, 129:39–42
- [67] Frederick M. Ausubel, Albright, *Current protocols in molecular biology*, Jhon Willey, New York, 1997,
- [68] Morad M. M., El magoli S. B., Sedky K. A., *Phisico-chemical properties of Egyptian tamarind seed oil* Fette Seifen Anstrichmittel, 80:357–359
- [69] Ishola M. M., Aybaji E. B., Agbaji A. S., *A chemical study of Tamarindus indica (Tsamiyal fruits grown in Nigeria)*, Journal of Science, food and agriculture, SI:141–143,
- [70] Bhattacharya S. Bal. S., Mukherjee R. K., *Rheological behaviour of Tamarind (Tamarindus Indica kernel powder suspension* J. Food Engennering, 18:77–89,
- [71] Shankaracharya N. B., *Tamarind-chemistry. Technology ans uses-a critical appraisal* Journal of food technology, 35(3):193–208
- [72] Isabelle Capron, Paul Robert, Paul Colonia, Maurice Brogly, *Starch in rubbery ans glassy states by FTIR spectroscopy* 2007, 68: 29–259
- [73] C. K. Simi, T. E. Abraham, *Psichochemical properties of aminated tamarind xyloglucan* Colloids and surfaces, 2010, 81:513–520
- [74] Kong J., Yu S., *Fourier transform infrared spectroscopy analysis of protein secondary structures* Acta Biochim Sin, 2007 38-8:549–559
- [75] M. H. Abo-Shosha, *Preparation and characterization of polyacrylics acid/karaya gum and polyacrylic acid/tamarind seed gum adducts and utilization in textil printing* Carbohydrate polymers, 74:241–249
- [76] G. Zampano, *Poly(ethyl acrylate) sulface-initiated ATRP grafting from wood pulp cellulose fibers*, Carbohydrate polymers, 2009, 75:22–31
- [77] L. Wang, *Synthesis and characterization of hydroxypropyl methyl cellulose and ethyl acrylate graft copolymers*, Carbohydrate polymers, 2007, 68:626–636
- [78] A. Mishra, *Amphiphilic drug by poly(ethylene oxide)-block-polyester*, Polym. Adv. Technolo, 2008, 19:99–109

- [79] Ian Mc Neil, Mussarrat H. Mohammed, *A comparison of thermal degradation behaviour of ethylene-ethyl acrylate copolymer low density and poly(ethyl acrylate)*, Polymer degradation and stability, 1995, 48: 175–187
- [80] Coehlo Jorge, Y. Carvalho Erica, *Synthesis of poly(ethyl acrylate) by single electron transfer-degenerative chain transfer living radical polymerization in water catalized by $Na_2S_2O_4$* , Polymer Science, 2008, 46:421–432
- [81] A. Mishra, A. V. Malhotra, *Graft copolymers of xyloglucan and methyl methacrylate*, Carbohydrate polymers, 2012, 87: 1899–1904
- [82] P. Claudi, Polymer Bulletin 1983, 9:208–215
- [83] Wrasidlo W. , Adv. Polym. Sci. 1974, 13: 30
- [84] Boyer R. F., In Mark H. F., Bikales N. M., *Encyclopedia of polymer science and technology*, Supp. Vol II New York, Jhon Wiley, 1997, p.745,
- [85] R. Lovino, R. Zullo., M. A. Rao., L. Cassar, L. Gianfreda, *Biodegradation of poly(lactic acid/starch/coir) biocomposites under controlled composting condition*, Polymer degradation and stability, 2008, 93: 147–157,

Capítulo 7

Anexos

7.1. Anexo 1: Usos alimenticios y no alimenticios de la semilla de tamarindo

<i>Función</i>	<i>Ejemplos</i>	<i>Fracción de la semilla de tamarindo</i>	<i>Citado por:</i>
<i>Usos alimenticios</i>			
Como comida	Como nueces tostadas/hervidas, para hacer chapatis y pastel de la india	Semilla descascarillada tostada/hervida, harina de la semilla	FAO (1988); Purseglove (1987)
Emulsificante	Aderezo de saladas, aceites esenciales, emulsiones de alimentos ácidos poco resistentes al calor	Xiloglucano	Vinod (1997); Yuji and Soichiro (2000)
Estabilizante	Leche descremada, mantequilla, café instantáneo, jarabe de glucosa y fructosa, Mayonesa, queso, emulsiones, estabilizador de actividad lacasa, condimento en polvo	Polisacárido de la semilla	Morton (1987); Kawaguchi et al. (1989); Susumu (2003); Hiroomi and Takuya (2002); Mayumi and Hiroyuki (2000)
Agente gelificante	Pudines, postres, confitería en gel, leche agria, gel de baja liberación de agua, yogurth, como sarcocarpio de gelatina, agentes gelificantes de calor reversible	Xiloglucano	Gliksman (1986); Yasuhiro (2004); Takao and Katsumi (2004); Ichiro (2004); Kazuo (2000); Junichi and Tatsuo (1999)
Agente de mejora de palatabilidad	Sopas instantáneas	Xiloglucano	Norifumi (2000); Norifumi (2003) Antimicrobial agent Processed foods Seed gum Kazumi and Masaaki (2004); Masamitsu and Kazuto (2003)

Agente antocro- biano	Comida procesada	Xiloglucano	Kazumi and Masaaki (2004); Masamitsu and Kazuto (2003)
Dispersor	Verduras en polvo	Xiloglucano	Ayako and Kenichi (2001)
Retención de agua, aislante de alimentos frios	Comida	Xiloglucano	Yuji and Horonori (2001)
Mejora de olor	Quitosano	Xiloglucano	Yasuyo (2001)
Agente de recu- brimiento	Alimentos	Xiloglucano	Tadanobu (1999)
Preventor de viscosidad	Geles medicinales	Xyloglucano	Toru (2000)
Agente boying	Bebida medicinal	Xiloglucano	Tamura et al. (1996)
Agente espesan- te	Mermeladas, rellenos de tartas, sal- sas, estabilizador de espuma de albúmina, W/O/W- tipo de emul- sión compuesta, condimento líquido compuesto, un medio de contraste, pastel de verduras, preparación de galactoxyloglucano, alimentos libres de proteína, alimentos ácidos protei- nicos, postre de verduras	Xiloglucano	Hidemi y Katsuhiro (2004); Tai- ji (2003); Makiko and Katsu- ji (2002); Satoshi y Tetsuno- ri (2001); Toshio y Takkano- vu (2001); Michiya y Katsuhiro (2000); Taro y Masaaki (1999); Atsuro y Masaaki (1999); Kat- suhiko (1999a, 1999b); Mayumi y Yamada (2000); Hironori y Ma- saaki (1999); Gliksman (1986); Yuanfan et al. (1997) Odor im- prover Chitosan Seed gum Ya- suyo (2001) Glazing agent Foods Seed gum Tadanobu (1999)
De relleno	Panes	Xiloglucano	Haruhiko and Noriaki (2001)
Coagulante	Tratamiento de aguas	Semilla en polvo	Ishikawa et al. (1992)
Goma formado- ra de películas	Extensión de la vida media de los pescados, piña	Semilla en polvo	Shetty et al. (1996); Kaur et al. (1993); Chen et al. (1988)
Moldeo de go- mas en gota	Mermelada, dulces	Semilla en polvo purificada	Bhattacharya et al. (1994b)
Material recu- bridor	Embutidos, recubridores protecto- res, almacenamiento de piña, ali- mentos fritos	Semilla en polvo	Toshihiro and Keisuke (2002); Shetty et al. (1996); Chen et al. (1988)
Inhibidor de cristalización	Materiales en pasta, helado, alimen- tos congelados, soya tofu, alimentos congelados fritos, albúmina frita y esterilizada, congelamiento de geles secos, fideos cocidos congelados, ali- mentos congelados cubiertos con ge- latina	Polisacárido de la semilla	Kanae y Tadanobu (2002); Ma- yuko (2005); Koei y Kenkichi (2001); Hisayasu y Yoshikazu (2001); Mikio y Takashi (1997); Nobumasa y Hidemi (1997); Go- to et al. (1994); Namio y Ma- saro (1992); Hiroshi y Yasusuke (1990); Masahiro (1989)
Agente deshi- dratante	Productos en polvo	Semilla en polvo	Vinod (1997)
Mejorador	De alimentos secos, alimentos con- gelados o alimentos en geles	Polisacárido hi- droxilado de la semilla	Shimohiro (1995); Sone and Sato (1994)

Agente de carga	Productos horneados, pudines, cremas y flanes, mermeladas, jaleas, bebidas endulzadas, salsas, aderezos para ensaladas, helados, dulces	Xiloglucano	Tadanobu (2004); Wai-Chung y Matthew (2002); Mayuko (2005); Naoki y Juychi (2002); Yoshio y Tetsuo (2001); Chiu et al. (1998); Whistler (1991 y 1995); Bhattacharya et al. (1994b)
Agentes preventores de deformaciones	Alimentos cocinados	Xiloglucanos	Katsuhiro y Makiko (2002)
Dispersante mineral	Alimentos	Polisacárido de la semilla	Yasutaka y Keisuke (2003)
Alimentos bajos en calorías	Para preparación de alimentos dulces bajos en calorías, goma de mascar, pastel seco, mezcla para galletas, postres lácteos congelados, barras nutricionales, productos de panadería, gelación de postres, crema con bajo contenido de aceite	Oligosacáridos de la semilla de tamarindo	Hideo y Hisashi (1995); Goto et al. (1994); Anon(1988)
Para evitar la liberación de agua	Elaboración de cuajada de soya	Xiloglucano	Veda et al. (1992)
Conservador	Cuajada de soya, pan, sopa cocida	Polisacárido de la semilla	Minoru y Kazuhiko (1999); Masaharu y Misako (1993); Shigenori (1981)
Materiales de pasta	Pastel de arroz resistente al calor	Xiloglucano	Hirobumi y Makiko (2001)
Agente mantenedor de frescura	Frutas, vegetales y carne	Xiloglucano	Toru y Kenji (1997)
Usos farmacéuticos			
En medicina	Para tratar forúnculos y disenteria, agente anti viral, agente para disminuir el azúcar en la sangre	Semilla en polvo	Nobuharu y Sakikazu (1991); Akira (1984); Rama Rao(1975)
	Como un curativo para el reumatismo	Semilla en polvo	Anon (1955)
	Enfermedades oculares y en úlceras	Semilla en polvo	Rama Rao (1975)
	Para el tratamiento de la diabetes	Testa	Rama Rao (1975)
	Tratamiento de diarrea crónica y la ictericia	Semilla en polvo	Rama Rao (1975)
	Como un agente anti-obesidad para el tratamiento de la obesidad	Polisacárido de la semilla	Koichi et al. (1997)
	Peluqueria	Aceite de la semilla	Rama Rao (1975)
Sustrato	para convertir basura orgánica en biofertilizantes	Testa	Madhulata and Rao (1997)
Supresor	Poliferación de bacterias gram- negativas	Xiloglucanos	Tsutomu y Yukiko (1996)
Transporador	Fijador de la beta- galactosidasa microbiana, acción laxante en la composición de la fibra dietética	Xyloglucano	Ji y Jiayu (2005); Shiyuuhachi (1994)

Excipiente	En el mercado de elaboración de pomadas sin grasa	Semilla en polvo	Vinod (1997)
Agente gelificante	Elaboración de mermelada yodica coloidal	Semilla en polvo	Vinod (1997)
Agente emulsificante	Insecticidas con follaje delicado	Semilla en polvo	Vinod (1997)
Sustituto	Producción de penicilina	Semilla de tamarindo	Patil y Nadagoudar (1997)
Promotor de absorción de agua	Preparaciones base petroleo	Semilla de tamarindo	Patil y Nadagoudar (1997)
Preparaciones cosméticas	Ahorro de crema menos espuma, Cremas hidratantes	Semilla de tamarindo	Takashi (2004); Patil y Nadagoudar (1997)
Gel compuesto para cavidad oral	Limpiador de cavidades orales	Xiloglucano	Naomi (2004)
Componente antioxidante	Incrementador de la vida media	Testa	Tsuda et al. (1995a) and 1995b; Osawa et al. (1994)
Extender	Hojas de pajote	Xiloglucanos	Iwao y Shigezo (2004)
Estabilizador	Preparacion de cápsulas, estabilizador dental, solución para lentes de contacto	Xiloglucano	Yoshimitsu y Kazuto (2003); Takashi y Kunitomo(1998); Mitsuhiro (1998)
<i>Usos no- alimenticios</i>			
Alimento sólido	Para ganado y cerdos, alimento gelificado para animales acuáticos	Semilla de tamarindo	Keiichi (2002); Hubert and Dietmar (2002); Rao and Srivastava (1974); Reddy et al.(1986)
Material de apresto	Mercado del yute en la industria textil	Semilla en polvo	Anon (1976); Yin y Lewis (1981); Toshihiro y Katsuhiko (2000)
	Para el dimensionamiento de hilados de viscosa	Semilla en polvo	Patil and Nadagoudar (1997)
Pegamento adhesivo de papel	Briquetas llenas de polvo, madera contrachapada	Semilla en polvo	Anon (1976)
Material cementante	Cemento para madera	Xiloglucano	Rama Rao (1975)
Agente de refuerzo	Tejados falsos, partición de habitaciones	Xiloglucano	Veluraja et al. (1997)
condicionador y estabilizador	Fabricación de ladrillos de suelo, detergentes	Semilla en polvo	John y James (2001); Anon (1976)
Espesantes	En explosivos	Semilla en polvo	Patil and Nadagoudar (1997)
Enlazante	Unidor de celulosa	Semilla en polvo	Chakkingal (2005); John y John (1999 y 2003)
Preventor de caries dental	En pasta de dientes	Testa	Tamura et al. (1996); Racciato y Yin (1981)
Materiales curtidos	En espuma e industria textil	Testa	Anon (1976)
Impresión de pasta	En prensa	Semilla en polvo	Anon (1976)
Agente cremante	Concentración de latex de caucho	Semilla en polvo	Anon (1976)

Pinturas y barnices	Marking idols	Aceite de la semilla	Anon (1976)
Lubricantes solubles en agua	Condomes	Xiloglucano	Kyogo (1999)
Combustible	Lámparas de aceite	Aceite de la semilla	Salim et al. (1998)
Material para riego de plantas	Plantar plantas	Xiloglucano	Hide (1998)