



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

**PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE NUEVO
POLIURETANOATO BASADO EN N-HIDROXIETIL ACRILAMIDA
INJERTADO EN POLI (3-HIDROXIBUTIRATO) POR
POLIMERIZACIÓN INDUCIDA POR RADIACIONES GAMMA**

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERO QUÍMICO

PRESENTA
ERIC IVAN OCHOA SEGUNDO



MÉXICO, CDMX

2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: MANUEL JIMÉNEZ ESTRADA

VOCAL: EDUARDO VIVALDO LIMA

SECRETARIO: MAYKEL GONZÁLEZ TORRES

1.º SUPLENTE: GUILLERMINA YAZMÍN ARELLANO SALAZAR

2.º SUPLENTE: JUAN MANUEL GERMÁN ACACIO

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA

INSTITUTO DE CIENCIAS NUCLEARES

ASESOR DEL TEMA

DR. MAYKEL GONZÁLEZ TORRES

SUPERVISOR TÉCNICO

DRA. ANA LEONOR RIVERA LÓPEZ

SUSTENTANTE

ERIC IVAN OCHOA SEGUNDO

Índice

Índice	I
Índice de figuras.....	IV
Índice de tablas.....	VI
1. Generalidades	1
1.1 Modificación de polímeros.....	1
1.2 Métodos de modificación de polímeros.....	1
1.3 Injerto por radiación gamma.....	2
1.3.1 Injerto por método directo.....	2
1.3.2 Método de pre-irradiación.....	3
1.3.3 Método de pre-irradiación oxidativa.....	3
1.3.4 Irradiación directa en presencia de vapor.....	4
1.3.5 Ventajas y desventajas del injerto mediante radiación ionizante.....	4
1.4 Factores que afectan la rapidez de injerto.....	5
1.4.1 Efecto de la intensidad de la radiación.....	5
1.4.2 Efecto de la dosis.....	5
1.4.3 Efecto de la temperatura.....	6
1.4.4 Efecto de la concentración del monómero.....	6
1.4.5 Efecto del disolvente.....	6

1.4.6 Efecto del espesor de la matriz polimérica	7
1.4.7 Sensibilidad a la radiación ionizante	7
1.5 Técnicas de caracterización.....	7
1.5.1 Espectroscopía infrarroja.....	7
1.5.2 Espectroscopia Raman.....	8
1.5.3 Resonancia magnética nuclear.....	9
1.5.4 Análisis termogravimétrico (TGA).....	10
1.5.5 Calorimetría diferencial de barrido (DSC).....	10
1.5.6 Difracción de rayos X.....	12
1.5.7 Microscopía electrónica de barrido (SEM).....	12
1.6 Polihidroxicanoatos (PHA)	13
1.6.1 Clasificación de los PHA.....	14
1.6.2 Poli (3-hidroxi butirato) (P(3HB)).....	15
1.6.3 Aplicaciones del P(3HB)	16
2. Objetivos	17
2.1 Objetivo general.....	17
2.2 Objetivos particulares.....	17

3. Desarrollo experimental	18
3.1 Materiales	18
3.2 Métodos	19
3.2.1 Síntesis del copolímero por injerto P(3HB-g-HEAAm)	19
3.2.2 Síntesis del poliuretano	20
3.2.3 Caracterización	21
3.2.3.1 Análisis por espectroscopía Raman	21
3.2.3.2 Análisis por espectroscopía FTIR	22
3.2.3.3 Análisis por resonancia magnética nuclear	22
3.2.3.4 Análisis por difracción de rayos X	22
3.2.3.5 Estudio morfológico.....	23
3.2.3.6 Estudio de hinchamiento de los copolímeros por injerto	23
3.2.3.7 Estudio calorimétrico	23
3.2.3.8 Estudio de la cristalinidad.....	24
4. Análisis de resultados	26
5. Conclusiones	54
6. Referencias	55

Índice de figuras

<i>Figura 1: Representación esquemática de los métodos de modificación de polímeros ..</i>	<i>2</i>
<i>Figura 2: Termograma típico por TGA para el homopolímero PHEAAm</i>	<i>10</i>
<i>Figura 3: Termograma típico por DSC para un el homopolímero PHEAAm.....</i>	<i>11</i>
<i>Figura 4: Estructuras de (A) poli(3-hidroxi butirato) y (B) N-hidroxietil acrilamida</i>	<i>26</i>
<i>Figura 5: Determinación del grado de injerto W (%) de los copolímeros de P(3HB)</i>	<i>28</i>
<i>Figura 6: (A) Espectros Raman del P(3HB) y los copolímeros por injerto P(3HB-g-HEAAm) en la región de 3100–2800 cm⁻¹. (B) Espectros Raman en la región 1850–1600 cm⁻¹. (C) Espectros Raman en la región 1600–700 cm⁻¹. (D) Espectros Raman en la región 800–100 cm⁻¹</i>	<i>29</i>
<i>Figura 7: Espectros FTIR del P(3HB) y los copolímeros por injerto P(3HB-g-HEAAm).</i>	<i>30</i>
<i>Figura 8: Patrones de difracción de rayos X del P(3HB) y los copolímeros</i>	<i>32</i>
<i>Figura 9: Espectro ¹³C-CPMAS-NMR (RMN sólido) del P(3HB) and P(3HB-g-HEAAm)</i>	<i>33</i>
<i>Figura 10: Imagen del P(3HB) vista con un microscopio electrónico de barrido</i>	<i>34</i>
<i>Figura 11: Imagen del P(3HB-g-HEAAm) vista con un microscopio electrónico de barrido</i>	<i>35</i>
<i>Figura 12: Estudio de hinchamiento realizado en el P(3HB) y los copolímeros por injerto</i>	<i>35</i>
<i>Figura 13: TGA y DTGA del P(3HB).....</i>	<i>37</i>
<i>Figura 14: TGA y DTGA de la muestra P1M2.....</i>	<i>37</i>
<i>Figura 15: TGA y DTGA de la muestra P1M2S1</i>	<i>38</i>
<i>Figura 16: TGA y DTGA de la muestra P1M2S2</i>	<i>38</i>
<i>Figura 17: TGA y DTGA de la muestra P1M2S3</i>	<i>39</i>

<i>Figura 18: TGA y DTGA de la muestra P1M2S4</i>	39
<i>Figura 19: TGA y DTGA de la muestra P1M2S5</i>	40
<i>Figura 20: TGA y DTGA de la muestra P1M2S6</i>	40
<i>Figura 21: DSC del P(3HB)</i>	41
<i>Figura 22: DSC de la muestra P1M2</i>	41
<i>Figura 23: DSC de la muestra P1M2S1</i>	42
<i>Figura 24: DSC de la muestra P1M2S2</i>	42
<i>Figura 25: DSC de la muestra P1M2S3</i>	43
<i>Figura 26: DSC de la muestra P1M2S4</i>	43
<i>Figura 27: DSC de la muestra P1M2S5</i>	44
<i>Figura 28: DSC de la muestra P1M2S6</i>	44
<i>Figura 29: Propuesta del mecanismo de reacción de la HEAAm con P(3HB) por polimerización de injerto radio-inducido</i>	48
<i>Figura 30: Propuesta del mecanismo de reacción del poliuretano obtenido con el copolímero por injerto P(3HB-g-HEAAm)</i>	50
<i>Figura 31: FTIR del poliuretano obtenido a partir del copolímero por injerto P(3HB-g-HEAAm)</i>	51
<i>Figura 32: Fotografía de los andamios obtenidos a partir del poliuretano sintetizado</i> ...	52
<i>Figura 33: Micrografía del poliuretano obtenido</i>	53

Índice de tablas

<i>Tabla 1: Clasificación de los PHA de acuerdo a su composición monomérica</i>	<i>14</i>
<i>Tabla 2: Análisis cualitativo y cuantitativo del grado de cristalinidad de los copolímeros</i>	<i>31</i>
<i>Tabla 3: Porcentaje de hinchamiento (S (%)) y grado de injerto (W (%)) para el P(3HB) y los copolímeros obtenidos.....</i>	<i>36</i>
<i>Tabla 4: Datos de las propiedades termodinámicas obtenidas del TGA y DSC de los copolímeros.....</i>	<i>45</i>
<i>Tabla 5: Principales señales del espectro infrarrojo del poliuretano obtenido</i>	<i>51</i>

1. Generalidades

1.1 Modificación de polímeros^{1, 2}

Una tendencia en la civilización moderna es lograr el reemplazo gradual de los materiales naturales ya sea por su modificación o por materiales sintéticos. En la era de los polímeros, es esencial la modificación de las propiedades de los polímeros de acuerdo con especificaciones hechas a la medida designadas para aplicaciones específicas.

La modificación de polímeros ha recibido gran atención recientemente debido a la dificultad que conlleva la síntesis de nuevos monómeros para desarrollar mejores materiales poliméricos. A partir de la modificación de los polímeros convencionales se pueden obtener fácilmente materiales con propiedades mejoradas, tales como estabilidad térmica, compatibilidad, respuesta al impacto, flexibilidad, rigidez, solubilidad, etcétera. Uno de los objetivos recientes de la modificación de polímeros es evitar su naturaleza no biodegradable.

1.2 Métodos de modificación de polímeros²

La modificación de las propiedades de los polímeros puede llevarse a cabo de diferentes maneras, la formación de mezclas poliméricas, el injerto y el curado. Las *mezclas poliméricas* son mezclas físicas de dos o más polímeros para obtener las propiedades requeridas. El *injerto* es un método en el que monómeros se unen covalentemente a una cadena polimérica, mientras que, en el *curado* físico la polimerización de la mezcla de un oligómero forma una capa que se adhiere a un sustrato por medio de fuerzas físicas. El curado proporciona un terminado suave al llenar los espacios en la superficie. Esto es algo diferente al curado químico o vulcanización del caucho que produce entrecruzamiento químico entre las cadenas poliméricas poco enrolladas, produciendo elasticidad a medida que las cadenas se estiran bajo un estrés, y retrayéndose con la liberación del mismo.

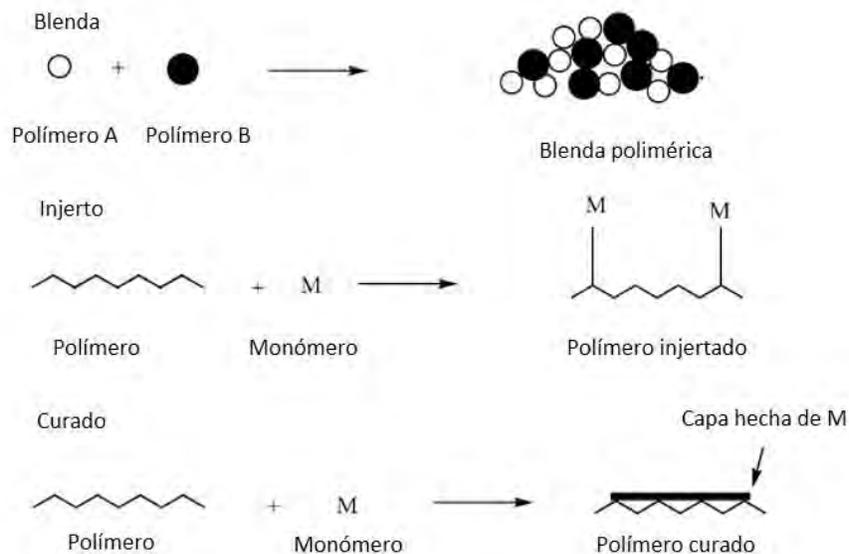


Figura 1: Representación esquemática de los métodos de modificación de polímeros. Reimpreso de *Progress in Polymer Science*, 29, Bhattacharya, A. & Misra, B.N., *Grafting: a versatile means to modify polymers techniques, factors and applications*, 767-814, Copyright (2004), con permiso de Elsevier.

En este trabajo se detalla la técnica de injerto por radiación gamma.

1.3 Injerto por radiación gamma³

La modificación por injerto usando radiación gamma, rayos de electrones o plasma son algunos métodos que proporcionan una modificación covalente del material. Estos tres métodos proporcionan materiales con un alto nivel de pureza, a pesar de eso la radiación gamma es preferida por su alta penetrabilidad. Las ventajas de usar radiación gamma para el proceso de injerto son: que puede realizarse a cualquier temperatura, en sólido, gaseoso, o estado líquido. En varios casos, la radiación gamma conduce a un mayor injerto, comparado con otros métodos⁷.

1.3.1 Injerto por método directo

En este método, el polímero y el monómero (en fase gaseosa o líquida) son irradiados simultáneamente. La irradiación permite la formación de sitios activos en la matriz polimérica y en el monómero. La dosis e intensidad de la dosis son

parámetros muy importantes en este método. Este proceso se representa de manera sencilla en el siguiente mecanismo.



Una de las desventajas que presenta este método es la considerable formación de homopolímero. Generalmente esto sucede cuando se emplea una proporción mayor en volumen de monómero con respecto al disolvente o si el rendimiento de radicales provenientes del monómero es considerablemente mayor que el rendimiento de radicales provenientes de la matriz polimérica. Además, el injerto puede predominar si la matriz polimérica es tratada antes de la irradiación como por ejemplo hinchándola en una solución del monómero, en un disolvente sensible a la radiación o bien por la adición de ciertos compuestos como ácidos (ácido sulfúrico), sales inorgánicas (LiClO_4 , LiNO_3), etc.

1.3.2 Método de pre-irradiación

En este método la matriz polimérica es irradiada en ausencia de aire o atmósfera de un gas inerte para formar sitios activos. Posteriormente, la matriz polimérica irradiada se pone en contacto con el monómero en fase gaseosa o líquida.

Una de las ventajas de este método es la poca formación de homopolímero. Se aconseja para este método llevar a cabo la irradiación y la difusión del monómero a bajas temperaturas para prevenir la recombinación de radicales. Una de las desventajas de este método es que el porcentaje de injerto suele ser muy bajo.

1.3.3 Método de pre-irradiación oxidativa

Alternativamente, el injerto puede ser conseguido irradiando inicialmente la matriz polimérica en presencia de aire para formar hidroxiperóxidos y peróxidos, los cuales

posteriormente con calentamiento forman radicales libres que comiencen el proceso de injerto.

Una ventaja de este método es la posibilidad de almacenar el polímero irradiado a baja temperatura por un tiempo considerable. Además, se reduce considerablemente la formación de homopolímero. Una desventaja es la posible degradación del polímero.

1.3.4 Irradiación directa en presencia de vapor

En este método se emplea una ampollita diseñada de tal forma que el monómero no esté en contacto con la película que se desee injertar. Se elimina el oxígeno presente en el sistema. En un dispositivo de plomo se coloca la ampollita cubriendo únicamente el monómero, permitiendo que la radiación ionizante incida sobre la película, la cual estará en contacto con los vapores del monómero, con lo que se iniciara el injerto. El mecanismo de injerto es igual al del método directo.

1.3.5 Ventajas y desventajas del injerto mediante radiación ionizante

La radiación ionizante ha sido utilizada desde hace décadas para modificar las propiedades físicas y químicas de los polímeros. A continuación, se mencionarán las ventajas más importantes:

- No se requiere iniciador químico, por lo que no es necesaria la posterior purificación del copolímero de injerto.
- El efecto de la temperatura es de poca importancia en la formación del radical por lo que se puede controlar la etapa de propagación.
- El efecto de aditivos, disolventes, etc. puede ser controlado usando un amplio rango de dosis de radiación y temperatura.

- La polimerización puede llevarse a cabo en fase sólida.
- Fácil preparación cuando se compara con los métodos químicos convencionales.
- Aplicabilidad para una gran mayoría de combinación de polímeros debida a que la absorción de energía por parte de la materia no es selectiva.
- Mayor eficiencia de la transferencia de energía proveniente de la radiación cuando se compara con los métodos químicos que requieren calentamiento.

A continuación, se mencionan las desventajas más importantes:

- Se requiere de instrumentación y equipos complejos.
- Existe el peligro de contaminación por radiación.
- Se requiere equipo de protección especial para su manejo.

1.4 Factores que afectan la rapidez de injerto³

1.4.1 Efecto de la intensidad de la radiación

A altas intensidades, la polimerización vía radicales libres decrece debido a la recombinación de los radicales producidos. La rapidez de formación de radicales en injertos en muchos casos es proporcional a la raíz cuadrada de la intensidad de radiación.

1.4.2 Efecto de la dosis

A altas dosis de radiación, la rapidez de polimerización se incrementa debido a un proceso de auto-aceleración y se incrementa el porcentaje de injerto, el cual también

depende de la naturaleza del monómero y de la intensidad de radiación. La auto aceleración es causada por un incremento de viscosidad en el sistema ocasionado por una posible disminución de la rapidez de terminación, sin afectar la rapidez de propagación de la cadena. De esta forma, se presenta la formación de nuevos radicales no sólo en el monómero sino también en las cadenas poliméricas en crecimiento que pueden iniciar una polimerización.

1.4.3 Efecto de la temperatura

La rapidez de polimerización o de injerto se incrementa con la temperatura, también depende de la naturaleza del monómero, ya que al llegar a una cierta temperatura combinada con factores como la difusión, concentración, dosis, etc. puede ocurrir la homopolimerización. Como se mencionó anteriormente, a mayor temperatura se incrementa el porcentaje de injerto hasta llegar a una temperatura óptima que no disuelva al copolímero de injerto o a la matriz a injertar.

1.4.4 Efecto de la concentración del monómero

La concentración de monómero utilizada dependerá del método empleado. Por ejemplo, si se escoge el método directo para llevar a cabo el injerto, no es conveniente manejar concentraciones de monómero superiores a 80% porque hay una mayor tendencia a formar homopolímero que hacia el proceso de injerto. Por otro lado, si se utiliza el método de pre-irradiación debemos utilizar concentraciones de monómeros superiores al 50% ya que a concentraciones más pequeñas el injerto será muy pobre porque hay menor cantidad de radicales que copolimerizará con la matriz polimérica.

1.4.5 Efecto del disolvente

En el caso de la irradiación del sistema polímero-monómero-disolvente (método directo), es importante que la estructura química del monómero y el disolvente sea

similar, así como también para el método de pre-irradiación. En ambos casos es muy importante tomar en cuenta que el disolvente empleado debe ser soluble en el monómero, pero no-disolvente para la matriz polimérica a injertar, así como del copolímero de injerto. Dicho disolvente debe ser capaz de hinchar el polímero a injertar.

1.4.6 Efecto del espesor de la matriz polimérica

En el proceso de injerto de polímeros, el incremento del injerto depende de la difusión del monómero en la película. El efecto de la difusión del monómero trae como resultado una reducción de la rapidez de injerto de películas gruesas comparadas con películas delgadas.

1.4.7 Sensibilidad a la radiación ionizante

La radiación ionizante no es selectiva y tiene efecto sobre la matriz polimérica, monómero, disolvente y cualquier otra especie presente en el sistema. La sensibilidad a la radiación de una especie química es medida en términos de su valor de rendimiento radioquímico. El injerto es favorecido cuando el valor del rendimiento radioquímico de la matriz polimérica es mayor que el del monómero.

1.5 Técnicas de caracterización

1.5.1 Espectroscopía infrarroja⁴

Las espectroscopías vibracionales más importantes son la espectroscopía de absorción infrarroja y la espectroscopía Raman. Aunque las dos técnicas encuentran información parecida son, en gran medida, complementarias.

La espectroscopía de absorción infrarroja se basa en la absorción de la luz incidente por el material. Los fotones cuya frecuencia coincide con una frecuencia de

vibración del material pueden ser absorbidos y su energía se invierte en la activación del modo de vibración correspondiente. Por ello la zona del espectro electromagnético útil corresponde a números de onda de 0 a 4000 cm^{-1} , que son las frecuencias típicas de vibración molecular. Esta zona es la zona del infrarrojo medio y lejano de manera que los materiales ópticos de ventanas y lentes deben ser transparentes (cuarzo o zafiro) y los detectores tienen que ser de HgCdTe, de Ge o piroeléctricos. Además, el vapor de agua del aire interfiere por lo que hay que desecar las zonas donde pasa el haz de luz.

De un espectro infrarrojo se obtienen las frecuencias de vibración de las moléculas del material, que están finalmente ligadas a la composición química (masas atómicas y tipos de enlace) y a la estructura molecular. Las vibraciones que aparecen más intensas en un espectro infrarrojo son aquellas en las que oscilan enlaces entre átomos muy diferentes, que producen una fuerte variación del momento dipolar eléctrico. Además, la espectroscopía infrarroja puede aportar información sobre la masa efectiva, la densidad y la movilidad de los portadores de carga eléctrica en semiconductores, la resistividad, el borde de absorción y el espesor de las capas delgadas.

1.5.2 Espectroscopía Raman^{5, 6}

La espectroscopía Raman se basa en la dispersión inelástica de la luz que se produce cuando una radiación electromagnética incide sobre una partícula, lo que implica una transferencia de energía entre el fotón y la molécula, resultando en una excitación vibracional. En esta técnica se observan tres tipos de dispersión que son: Rayleigh, Stokes y anti-Stokes. La dispersión Rayleigh se produce cuando una radiación electromagnética incide sobre una molécula que está en estado basal, provocando su excitación y después vuelve a su estado vibracional inicial, esto implica que no se observa ninguna variación, por lo tanto, la radiación incidente y la dispersada presentan la misma longitud de onda y frecuencia. La dispersión Stokes tiene un proceso similar a la Rayleigh pero, en este caso, después de la excitación

la molécula queda en un estado vibracional superior al inicial, por lo tanto, la radiación dispersada presenta una frecuencia menor. Por su parte, en la dispersión anti-Stokes la molécula desexcitada queda en un estado vibracional inferior a la inicial, por lo tanto, la radiación dispersada presenta una frecuencia mayor. A causa de que las líneas anti-Stokes son normalmente muy débiles, y la información obtenida duplica la de las líneas Stokes, normalmente se desprecian las anti-Stokes.

Debido a la baja intensidad de la luz dispersada, la técnica ha sido poco usada, pues requiere de fuentes de luz de elevada intensidad. Y más aún, los cambios de frecuencia son tan pequeños que se necesita luz altamente monocromática.

1.5.3 Resonancia magnética nuclear^{7, 8}

La resonancia magnética nuclear se ha convertido en una poderosa técnica analítica con diversas aplicaciones en el área de la química, incluyendo la caracterización de polímeros. Usando esta técnica para elucidar la estructura molecular de una muestra de polímero desconocida, se puede obtener información cualitativa y cuantitativa de materiales poliméricos como son: tacticidad, ramificaciones, defectos estructurales, y cambios químicos como estados de oxidación.

La resonancia magnética nuclear es básicamente otra forma de absorción espectrométrica y está basada en la absorción de radiación electromagnética bajo condiciones apropiadas en la región de radiofrecuencia a frecuencias definidas por la naturaleza de la muestra.

El principal objetivo de esta técnica es la de proveer información para la identificación de moléculas orgánicas por medio del estudio de las propiedades magnéticas del núcleo.

1.5.4 Análisis termogravimétrico (TGA)^{3, 9}

Esta técnica permite observar la resistencia térmica de los copolímeros con respecto a la temperatura, es decir, en una gráfica de porcentaje de pérdida de peso contra temperatura se puede determinar la temperatura a la cual se descompone el copolímero.

Entre los cambios térmicos que se acompañan de un cambio de masa se encuentran la descomposición, la sublimación, la reducción, la desorción, la absorción y la vaporización. Las mediciones son normalmente llevadas a cabo en aire o en atmosfera inerte de helio, argón o nitrógeno y el peso es registrado como una función de la temperatura.

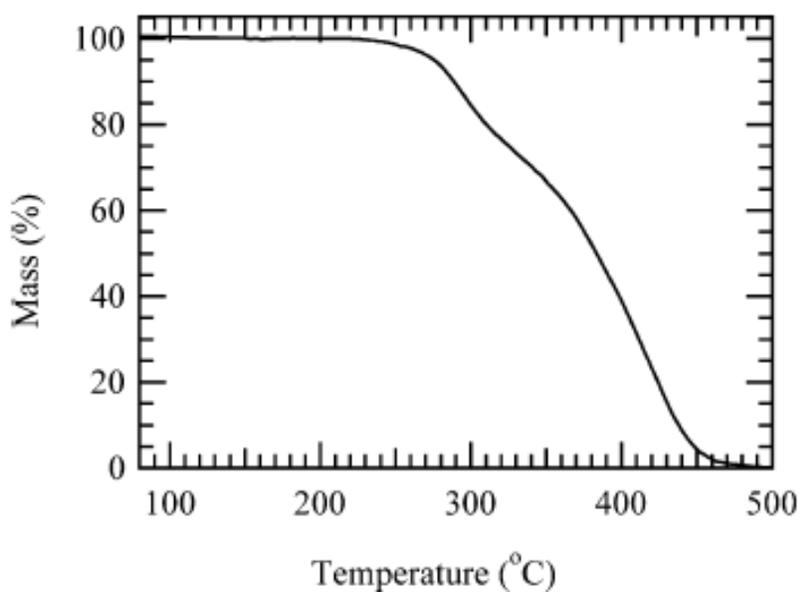


Figura 2: Termograma típico por TGA para el homopolímero PHEAAm. Copyright (2009) Wiley. Usado con permiso de (Atsushi Narumi, Yougen Chen, Masako Sone, Keita Fuchise, Ryosuke Sakai, Toshifumi Satoh, Qian Duan, Seigou Kawaguchi, Toyoji Kakuchi, Poly(N-hydroxyethylacrylamide) prepared by atom transfer radical polymerization as a nonionic, water-soluble, and hydrolysis-resistant polymer and/or segment of block copolymer with a well-defined molecular weight, Macromolecular Chemistry and Physics, John Wiley and Sons).

1.5.5 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)^{3, 9}

Cuando un material pasa por un cambio de estado físico, por ejemplo, una fusión o una transición cristalina de una forma a otra, o cuando reacciona químicamente,

tiene lugar una absorción o un desprendimiento de calor. Muchos de estos procesos pueden ser iniciados simplemente aumentando la temperatura del material. Los calorímetros diferenciales de barrido están diseñados para determinar las entalpías de estos procesos, midiendo el flujo calorífico diferencial requerido para mantener una muestra del material, y una referencia inerte a la misma temperatura.

Entre las determinaciones posibles a partir de medidas de DSC se hallan las siguientes: calor de transición, calor de reacción, pureza de muestra, diagrama de fase, calor específico, identificación de muestra, porcentaje de incorporación de una sustancia, rapidez de reacción, rapidez de cristalización o fusión, retención de disolventes, energía de activación y temperatura de transición vítrea (T_g). Esta última es una propiedad muy importante para los polímeros ya que es la temperatura a partir de la cual el material sufre un marcado cambio de propiedades. pasando de un estado duro y rígido a un estado más gomoso y flexible.

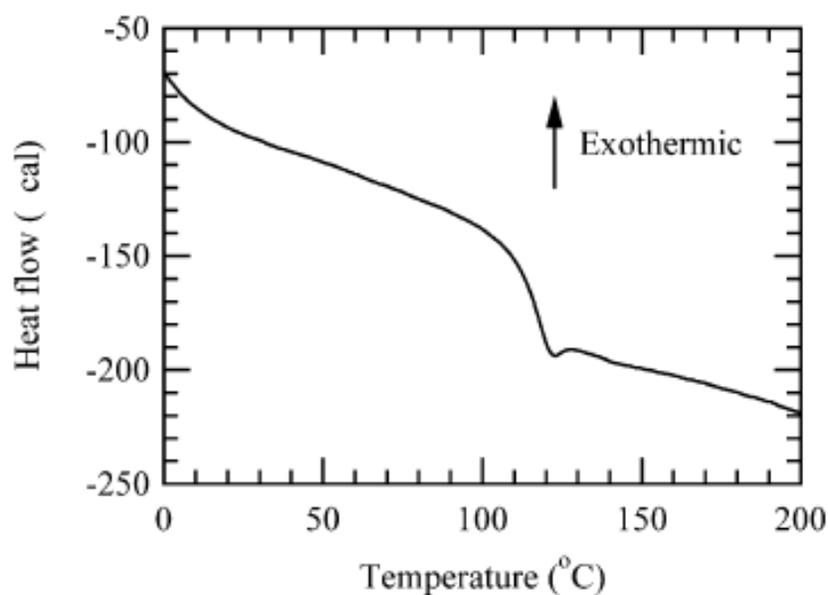


Figura 3: Termograma típico por DSC para un el homopolímero PHEAAm. Copyright (2009) Wiley. Usado con permiso de (Atsushi Narumi, Yougen Chen, Masako Sone, Keita Fuchise, Ryosuke Sakai, Toshifumi Satoh, Qian Duan, Seigou Kawaguchi, Toyoji Kakuchi, Poly(N-hydroxyethylacrylamide) prepared by atom transfer radical polymerization as a nonionic, water-soluble, and hydrolysis-resistant polymer and/or segment of block copolymer with a well-defined molecular weight, Macromolecular Chemistry and Physics, John Wiley and Sons).

1.5.6 Difracción de rayos X (XRD)^{3, 10}

Los rayos X son una forma de radiación electromagnética que tiene elevada energía y corta longitud de onda. Cuando un haz de rayos X incide en un material sólido, parte de este haz se dispersa en todas direcciones a causa de los electrones asociados a los átomos o iones que encuentra en el trayecto.

La técnica de difracción más común utiliza una muestra pulverizada o policristalina consistente en muchas partículas diminutas y orientadas al azar, que se exponen a una radiación de rayos X monocromática. Como cada partícula de polvo es un cristal, teniendo gran cantidad de ellos libremente orientados se asegura que algunas partículas estén orientadas adecuadamente para que sus planos cristalográficos cumplan las condiciones para la difracción.

Esta técnica nos ayuda a determinar la distancia interplanar y el ordenamiento en la estructura de un compuesto. Las gráficas representativas de esta técnica se llaman difractogramas. Cuando se presentan máximos orientados se considera que el compuesto es cristalino y cuando no hay máximos, sino una zona ancha de dispersión el compuesto es amorfo.

1.5.7 Microscopía electrónica de barrido (SEM)^{3, 11}

La microscopía electrónica de barrido es una técnica indispensable para la caracterización microestructural de los materiales poliméricos. Ésta técnica permite conocer la morfología de la superficie, tamaño aproximado de los poros en caso de polímeros reticulados así como el grado de homogeneidad de la cadena injertada. El fundamento de la microscopía electrónica de barrido se puede describir de un modo sencillo de la siguiente manera: un haz de electrones procedente de un filamento es acelerado y focalizado mediante una serie de lentes electromagnéticas hacia una muestra. Debido a la interacción que sufren estos electrones con la muestra, se generan una serie de señales que convenientemente recogidas y

amplificadas permiten obtener información de ésta tanto de un punto de vista morfológico como de su composición química.

1.6 Polihidroxicanoatos (PHA)^{12, 13}

Los PHA son polímeros de ácidos hidroxialcanoicos que algunas bacterias, arqueas y microalgas acumulan intracelularmente como material de reserva, para usarlo posteriormente como fuente de carbono y energía. La polimerización de los ácidos hidroxialcanoicos, por acción de enzimas intracelulares, tiene lugar mediante la condensación del grupo carboxilo de un monómero, con el grupo hidroxilo del siguiente, formándose un enlace éster, de allí que también se les conozca como biopoliésteres.

Desde que se descubrió que la bacteria *Bacillus megaterium* produce el PHA denominado polihidroxi-butirato, se han reportado más de 300 bacterias capaces de producir PHA. Estas bacterias los producen a partir de sustratos orgánicos, como carbohidratos (glucosa, sacarosa), aceites, alcoholes, ácidos orgánicos, y los acumulan en grandes cantidades dentro de la célula bacteriana en forma de gránulos que se alojan en el citoplasma microbiano rodeados de una monocapa de fosfolípidos que contiene enzimas polimerasas y despolimerasas, llegando a constituir hasta el 90% de la biomasa. La cantidad de polímero producido y acumulado depende de la especie de bacteria y de las condiciones en las que se cultiva.

En general, condiciones de desbalance de nutrientes en el caldo o medio usado para cultivar a la bacteria favorecen una alta producción. Para producir PHA son especialmente favorables condiciones de cultivo en las que hay una concentración alta de fuente de carbono (que la bacteria utilizará como materia prima para sintetizar el PHA), por ejemplo, sacarosa, pero además existe una limitación para el crecimiento como niveles de oxígeno bajos o escasez de otros nutrientes.

1.6.1 Clasificación de los PHA^{12, 13}

En el caso de los PHA, los monómeros que se enlazan para formar la cadena del polímero son moléculas de diversos hidroxialcanoatos. Todos los PHA forman la misma estructura básica de poliéster con unidades de tres carbonos formando el esqueleto del polímero, pero difieren en el tipo de grupo alquilo que se encuentra unido al carbono número 3 de cada monómero. A la fecha se han descubierto más de 100 monómeros diferentes en los PHA producidos por bacterias, aunque solo unos cuantos se han producido en grandes cantidades y se han caracterizado. Como consecuencia, se sabe poco sobre las características químicas y mecánicas de muchos de los polímeros que las bacterias pueden producir. Se han encontrado PHA con monómeros rectos, ramificados, con o sin dobles enlaces y también con anillos aromáticos.

Los PHA se pueden clasificar en varios tipos según la longitud de la cadena de los ácidos hidroxialcanoicos de los que están constituidos. A continuación, se define cada una de ellas.

Tabla 1: Clasificación de los PHA de acuerdo a su composición monomérica.

Cadena	Composición
Corta	Monómeros de 3 a 5 átomos de carbono.
Media	Monómeros de 6 a 14 átomos de carbono.
Híbrida	Monómeros tanto de cadena corta como de cadena media.

La longitud de la cadena lateral y el grupo funcional tienen una influencia considerable sobre las propiedades del polímero, como son, el punto de fusión y la cristalinidad¹⁸. Los PHA de cadena corta son típicamente polímeros termoplásticos, que pueden ser moldeables arriba de sus puntos de fusión. La temperatura de fusión, T_m , es relativamente alta (180 °C) y su temperatura de transición vítrea, T_g , está entre -5 y 20 °C. En cuanto a los PHA de cadena media, estos son altamente amorfos con una T_g de entre -62 y -26 °C y T_m de 42 a 58 °C, por lo cual se clasifican como elastómeros.

1.6.2 Poli (3-hidroxi butirato) (P(3HB))^{14, 15, 16}

El poli (3-hidroxi butirato) es un poliéster alifático ópticamente activo producido por varios tipos de microorganismos. También es un termoplástico degradable en el ambiente por procesos de degradación hidrolítica y enzimática. Fue aislado por primera vez hace 50 años por Lemoigne y trabajos subsecuentes han demostrado que este polímero sirve como una fuente de almacenamiento de energía y carbono de la misma manera que el glucógeno en el tejido de los mamíferos.

El PHB es relativamente abundante en el ambiente y puede ser encontrado en bacterias de suelo, microflora estuarina, alga verde-azul y aguas tratadas microbially. El porcentaje de PHB en estas células es normalmente bajo, entre 1 y 30%, pero bajo condiciones controladas de fermentación, exceso de carbono y limitación de nitrógeno la producción de este polímero puede incrementarse hasta en un 70% en peso de células secas.

El proceso básico de producción del P(3HB) consta de dos etapas: etapa de fermentación en el cual los microorganismos metabolizan el azúcar disponible en el medio y acumula el P(3HB) en el interior de la célula como fuente de reserva; etapa de extracción en el cual el polímero acumulado en el interior de la célula del microorganismo es extraído y purificado para conseguir gránulos de P(3HB).

La razón por la cual el PHB se ha vuelto tan atractivo es porque es un material fácilmente degradable por el ambiente y porque puede ser procesado como un termoplástico convencional. Sin embargo, su alta cristalinidad (que lo hace un material bastante rígido y quebradizo) y su inestabilidad térmica a temperaturas arriba del punto de fusión (alrededor de 180 °C) impiden en gran medida su aplicación comercial.

Varias técnicas han sido usadas para reducir la fragilidad del P(3HB). Las más comunes son: plastificación, copolimerización de 3-hidroxibutirato con 3-hidroxicaprolato o con homólogos más grandes de PHAs, ajustes en las condiciones de procesamiento, calandrado del material a temperatura arriba de la temperatura ambiente pero debajo de la temperatura de fusión y calentar el material formado después de lograr la cristalización completa a temperaturas alrededor de 120 °C o más.

1.6.3 Aplicaciones del P(3HB)^{13, 16}

Los PHA exhiben pesos moleculares relativamente altos, características termoplásticas o elastoméricas y otras propiedades físicas y mecánicas que los hacen candidatos para varias aplicaciones en la industria. En el caso del P(3HB), que es un termoplástico con propiedades similares al polipropileno, se usa principalmente para técnicas de moldeo¹⁹, aunque también se utiliza en la agricultura para la liberación prolongada de fertilizantes y agroquímicos, aplicaciones médicas, fabricación de botellas desechables, contenedores para productos alimenticios, bolsas y otros productos desechables como pañales, servilletas, rastrillos, vasos y cubiertos.

2. Objetivos

2.1 Objetivo general

Sintetizar y caracterizar un nuevo poliuretano basado en N-hidroxietil acrilamida (HEAAm) injertado en poli (3-hidroxibutirato) (P(3HB)) por polimerización inducida por radiaciones gamma.

2.2 Objetivos particulares

- Síntesis de copolímeros de injerto por el método de copolimerización por injerto inducido por radiaciones gamma de ^{60}Co (irradiación simultánea).
- Estudiar el efecto del disolvente en la polimerización por injerto radio-inducido de la HEAAm, en el P(3HB).
- Caracterización de los copolímeros de injerto a través de técnicas de espectroscopia Raman, espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), resonancia magnética nuclear de sólidos, difracción de rayos X, microscopía electrónica de barrido (SEM), análisis termogravimétrico (TGA) y calorimetría diferencial de barrido (DSC).
- Síntesis del poliuretano, el cual tiene utilidad en la preparación de andamios tridimensionales.
- Caracterización del poliuretano por FTIR.
- Realizar la propuesta del mecanismo de reacción de formación del copolímero y el poliuretano.
- Estudiar la morfología de la superficie de los andamios tridimensionales.

3. Desarrollo experimental

3.1 Materiales

Se utilizó P(3HB) suministrado por el Instituto de Investigaciones Tecnológicas de São Paulo, Sección Biotecnológica (Brasil). El mismo fue purificado por precipitación en etanol de una solución de cloroformo como se describe posteriormente. El peso molecular del PHB utilizado es de $\bar{M}_n = 27\ 000$ g/mol, $\bar{M}_w = 60\ 000$ g/mol y $\bar{M}_z = 98\ 000$ g/mol. La dispersidad del polímero es de 2.22.

El monómero N-hidroxietil acrilamida (HEAAm) se adquirió en Sigma Aldrich y fue utilizado sin previa purificación.

Otras sustancias químicas que también fueron utilizadas sin previa purificación se enlistan a continuación:

Etanol / $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$, Sigma Aldrich, 99.9%, P.M. 46.07 g/mol, p.e. 78.4 °C, $n_D^{20} 1.360$, $\rho^{20} 0.789$ g/cm³. Líquido incoloro, inflamable, tóxico.

Hexano / C_6H_{14} , Sigma Aldrich, 99.8 %, P.M. 86.18 g/mol, p.e. 69 °C, $n_D^{20} 1.375$, $\rho^{20} 0.6548$ g/cm³. Líquido incoloro inflamable, irritante.

Acetato de etilo / $\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3$, Sigma Aldrich, 99.9%, P.M. 88.11 g/mol, p.e. 77 °C, $n_D^{20} 1.3724$, $\rho^{20} 0.9$ g/cm³. Líquido incoloro inflamable, irritante.

Cloroformo / CHCl_3 , Sigma Aldrich, 99.9%, P.M. 119.38 g/mol, p.e. 61 °C, $n_D^{20} 1.4459$, $\rho^{20} 1.483$ g/cm³. A temperatura ambiente, es un líquido volátil, no inflamable, incoloro, de olor penetrante.

Acetona / $\text{CO}(\text{CH}_3)_2$, Sigma Aldrich, 99.8 %, P.M. 58.08 g/mol, p.e. 56 °C, $\rho^{20} 1.791$, $n_D^{20} 1.359$. Líquido incoloro, inflamable.

Ácido acético (AAc) / CH_3COOH , Sigma Aldrich, 99.8 %, P.M. 60.05 g/mol, p.e. 118 °C, 1,049 g/cm³. A temperatura ambiente, es un líquido incoloro, e inflamable.

Purificación del P(3HB)

Para la purificación del poli(3-hidroxibutirato) se realizó la precipitación en etanol de la solución del polímero en cloroformo, bajo agitación. El experimento se realizó en proporción 1:10 (1 mL de solución de polímero en cloroformo por cada 10 mL de etanol).

Purificación de los solventes

La purificación de los solventes se llevó a cabo a través de una destilación simple (i.e., el etanol se destila a una temperatura de 78.4 °C y el cloroformo a 61 °C). Los solventes utilizados fueron de calidad Sigma.

3.2 Métodos

3.2.1 Síntesis del copolímero por injerto P(3HB-g-HEAAm)

Los experimentos de irradiación se llevaron a cabo en un sistema al vacío a temperatura ambiente. Se utilizaron 400 mg de P(3HB) en polvo, 400 mg de HEAAm y 3 mL de disolvente para preparar cada muestra. Los disolventes utilizados fueron etanol (S1), hexano (S2), acetato de etilo (S3), cloroformo (S4), acetona (S5) y ácido acético (S6). La nomenclatura utilizada es P1 para el P(3HB), Sx para el disolvente de acuerdo con lo señalado anteriormente y M2 es la nomenclatura utilizada para el monómero HEAAm, de manera que, por ejemplo, el copolímero por injerto sería P1M2S1 (i.e. P(3HB-g-HEAAm) obtenido utilizando etanol como disolvente). Las muestras se expusieron a una fuente de rayos gamma (^{60}Co), con una tasa de dosis de aproximadamente 1,5 kGy/h y una dosis de 10 kGy. Se utilizó un irradiador Gamma Beam 651 PT, Nordion International. El copolímero obtenido se purificó utilizando un Soxhlet y suficiente etanol y acetona durante 48 horas. Con este procedimiento se eliminan el monómero HEAAm que no reaccionó y el homopolímero poli(N-hidroxietil acrilamida) (PHEAAm) que se obtuvo como

producto colateral de la reacción. El copolímero P(3HB-g-HEAAm) obtenido se secó al vacío a 40 °C hasta alcanzar un peso constante.

Para determinar el grado de injerto W (%) en la reacción de copolimerización se utilizó la siguiente ecuación:

$$W (\%) = \frac{(m_g - m_i)}{m_i} * 100 \quad (\text{Ecuación 1})$$

Donde m_i (g) es el peso original del polímero base (PHB) y m_g (g) es el peso del copolímero por injerto producto de la reacción de injerto. Esta variable (W (%)) es una alternativa para determinar el grado de injerto a través del incremento de masa.

3.2.2 Síntesis del poliuretano

La síntesis del poliuretano se realizó a través de la reacción del P(3HB-g-HEAAm), poliisocianato y resina hidroxilada. El copolímero por injerto se tamizó con un tamiz especial que tiene un tamaño de poro de 74 μm (# 200), y luego se le añadió acetato de sodio (J.T Baker) como formador de poro. Se utilizaron aproximadamente 0.38 g de P(3HB) injertado, 0.12 g de resina (Reichhold Química, Mex.), 0.025 g de poliisocianato y 0.23 g del porógeno para la síntesis del producto. Cuando la mezcla de los materiales resultó homogénea se cargaron 100 mg de la muestra en un molde de acero inoxidable que permitió la aplicación de una presión de 5 MPa durante unos 10 minutos aproximadamente. De los moldes se obtienen andamios de poliuretano de alrededor de 0.5 cm de diámetro y 3 mm de espesor. Estos andamios se ponen a airear por aproximadamente 24 horas y luego se liman para exponer los poros. Para eliminar el acetato de sodio e inducir mayor porosidad en el material, se lavó el producto en un Soxhlet, utilizando agua como disolvente. La morfología del andamio con porosidad inducida fue estudiada por MEB (JEOL-JSM-6060LV) operado a 15 kV.

Las propiedades mecánicas de compresión de los andamios se calcularon utilizando una máquina de ensayo mecánico Instron modelo AdameLhomargy DY.22 con una celda de carga de aproximadamente 1 kN a una rapidez de compresión de 0.5 mm/min. La carga máxima aplicada a las muestras ayudó para determinar la resistencia a la compresión, mientras que el módulo de compresión se obtuvo a partir de la pendiente de la región lineal de la curva de esfuerzo-deformación. Se midieron 10 muestras para asegurar la reproducibilidad del experimento. Todos los datos presentados en este trabajo se reportan como la media \pm la desviación estándar y el estudio estadístico se realizó mediante análisis ANOVA (Analysis of variance, según terminología inglesa). Los valores de $P < 0,05$ se consideraron como estadísticamente significativos ($n = 15$ para el crecimiento y $n = 10$ para las pruebas mecánicas y el estudio de porosidad de las muestras).

Para estudiar la porosidad de los andamios, se utilizó el método previamente reportado que se basa en pesar los andamios en botellas de densidad con etanol. Primero se pesa la botella con etanol (m_1) en una balanza analítica (Sartorius; Sartorius AG, Göttingen, Alemania). Luego se pesa la botella con el andamio y el etanol (m_2), y finalmente se pesa el andamio seco (m_s). Se calcula el grado de porosidad utilizando la siguiente ecuación, donde ρ_{etanol} es la densidad del etanol.

$$\varphi = 1 - \frac{m_1 - m_2 + m_s}{\rho_{\text{etanol}}} \quad (\text{Ecuación 2})$$

3.2.3 Caracterización

3.2.3.1 Análisis por espectroscopía Raman

La caracterización de los copolímeros de injerto y el P(3HB) se obtuvo utilizando un espectrómetro micro-Raman (Bruker Senterra, modelo 910, MA, EE. UU.) equipado con una fuente de luz láser de 785 nm. Las muestras se analizaron con 10 s de tiempo de integración y una resolución de 9–15 cm^{-1} y 100 mW. No se observó

ninguna señal de fluorescencia producida por los materiales a la longitud de onda de excitación utilizada. Los cambios Raman de las muestras se midieron de 200 a 3100 cm^{-1} aproximadamente, utilizando para su análisis cuatro intervalos. El error en la determinación de altura de la banda es de aproximadamente 3-5%. Con el fin de evitar cualquier interferencia entre el soporte y los productos obtenidos, las muestras se colocaron sobre un porta-muestras de latón plano y limpio. Los espectros Raman de los polímeros se obtuvieron a temperatura ambiente en todos los casos.

3.2.3.2 Análisis por espectroscopia FTIR

El análisis por infrarrojo se llevó a cabo en un espectrómetro Bruker Vector 33 con una resolución de 4 cm^{-1} y 32 barridos en modo de transmisión. Además, el análisis de los nuevos materiales se realizó mediante técnica de reflectancia total atenuada (ATR, por sus siglas en inglés) usando un cristal de diamante.

3.2.3.3 Análisis por resonancia magnética nuclear

El espectro de resonancia magnética nuclear en estado sólido (^{13}C -CPMAS-NMR) de P(3HB-g-HEAAm) y P(3HB) se realizó a 75 MHz en un espectrómetro Bruker Avance II 300 MHz. Se necesitaron aproximadamente 150 mg de cada muestra, las cuales se introdujeron en un rotor de 7.5 mm. El tiempo de contacto se estableció a 2 ms.

3.2.3.4 Análisis por difracción de rayos X

El estudio de difracción de rayos X se llevó a cabo en un difractómetro Rigaku Ultima IV que opera a 40 KV y 30 mA, y con una longitud de onda de radiación $\text{CuK}\alpha$ de $\lambda=1,5406 \text{ \AA}$. Los datos del difractómetro se recogieron de 10 a 33° en una escala de 2Θ con un detector de estado sólido D/teX-ULTRA con una rapidez de $10^\circ/\text{min}$ y

un muestreo de 0.02 s. Para el análisis del espectro, se utilizó la versión 2.0.3.0. del software PDXL2V.

3.2.3.5 Estudio morfológico

La morfología de los polímeros P(3HB-g-HEAAm) y el P(3HB) se estudió por microscopía electrónica de barrido. Los materiales fueron previamente recubiertos con oro para su análisis. Se estudió la superficie de los productos con un microscopio electrónico JEOL FE7800F que trabaja a 15 kV.

3.2.3.6 Estudio de hinchamiento de los copolímeros por injerto

El estudio de hinchamiento se realiza sumergiendo una membrana previamente preparada de los polímeros en agua destilada por intervalos de tiempo definidos, en que se saca la membrana del líquido, se seca y se pesa. Se continúa el procedimiento hasta que la membrana mantenga un peso constante. Posteriormente se calcula el grado de hinchamiento.

$$S(\%) = \frac{(m - m_0)}{m} * 100 \quad (\text{Ecuación 3})$$

Donde S es el grado de hinchamiento, m_0 es la masa del polímero inicial y m es la masa del polímero hinchado. Las membranas utilizadas se prepararon a través del método térmico, que consiste ejercer una presión de 5 MPa durante 15 minutos sobre el polímero a una temperatura cercana a su punto de fusión.

3.2.3.7 Estudio calorimétrico

Para el análisis calorimétrico del P(3HB-g-HEAAm) y el P(3HB) se utilizó la técnica termogravimétrica con un equipo Mettler TA 4000, a una rapidez de calentamiento de 20 °C/min. El intervalo de temperaturas fue entre 50 y 600 ° C y la masa de las muestras entre 6-14 mg. Los análisis se realizan en presencia de oxígeno.

Posteriormente, en el estudio del efecto del solvente se utilizó en el análisis calorimétrico un equipo Q500 TA Instruments, a una rapidez de calentamiento de 10 °C/min, utilizando el mismo intervalo de temperatura y peso de las muestras. Las propiedades térmicas de los materiales obtenidos en el estudio del efecto del solvente en la polimerización de injerto del HEAAm en el P(3HB) fueron también investigadas por DSC, en un equipo TA Instrument 2920, en atmósfera de nitrógeno. En los experimentos de DSC, primeramente, la muestra se calentó de -30 °C a 180 °C (primer calentamiento de barrido), a una rapidez de calentamiento de 10 °C/min, y se mantuvo por algunos minutos a 180 °C. Luego de eliminar la historia térmica del material, se repitió el procedimiento, se calentó de -30 °C a 180 °C, a una rapidez de calentamiento de 10 °C/min (segundo calentamiento de barrido). Las temperaturas de transición y las entalpías se determinaron de los picos exotérmicos y endotérmicos en la segunda corrida.

3.2.3.8 Estudio de la cristalinidad

Por DFRX

El análisis del grado de cristalinidad se realiza por medio del difractograma. Los porcentajes de cristalinidad se calculan para muestras de igual peso. Los picos cristalinos son bien definidos en el difractograma y el grado de cristalinidad X_c se define como la relación entre las áreas para los difractogramas normalizados:

$$X_c = \frac{[(\text{Áreatotal}) - (\text{Áreaamorfa})]}{(\text{Áreatotal})} \quad (\text{Ecuación 4})$$

Todas las muestras se dejaron reposar como mínimo quince días, tiempo al cual se obtiene la máxima cristalización de estos materiales.

Por FTIR

Los cambios en el grado de cristalinidad fueron observados por espectroscopia FTIR, analizando el inverso de la intensidad relativa de la banda situada a 1185 cm^{-1} la cual presenta mayor sensibilidad en intensidad entre los estados físicos amorfo y cristalino y la banda a 1382 cm^{-1} la cual es insensible a estos cambios.

$$A_c\langle PHB \rangle = \frac{A_{\gamma CH_3}}{A_{\gamma C-O-C}} = \frac{A_{1382\text{ cm}^{-1}}}{A_{1185\text{ cm}^{-1}}} \quad (\text{Ecuación 5})$$

Entonces, se define el índice de cristalinidad como el cociente entre las intensidades (absorbancia) de las bandas 1382 cm^{-1} y 1185 cm^{-1} en el espectro FTIR de absorbancia normalizada. Este índice de cristalinidad no es una medida absoluta del grado de cristalinidad, pero es un dato útil desde el punto de vista comparativo.

Otro criterio que se siguió para la determinación cualitativa de la cristalinidad de los materiales poliméricos estudiados es el criterio de cristalinidad (CC), el cual se define como la relación entre el valor de la absorbancia a 1722 cm^{-1} y 1740 cm^{-1} .

$$CC = \frac{A_{1722\text{ cm}^{-1}}}{A_{1740\text{ cm}^{-1}}} \quad (\text{Ecuación 6})$$

4. Análisis de resultados

La Figura 4 muestra las estructuras del poli(3-hidroxiбутirato) y la N-hidroxietyl acrilamida. Como se puede observar la estructura del P(3HB) no presenta grupos funcionales hidrofílicos importantes, solo cuenta con un grupo carbonilo (polar e hidrófilo moderado), un grupo metileno (CH₂), un grupo metilo (CH₃) sustituyendo a un grupo metino (CH) y un átomo de oxígeno de éster, ya que por la repetición de las cadenas está ligado al carbonilo. Por esta razón este polímero es un poliéster, el cual es biodegradable, biocompatible, y con un porcentaje de cristalinidad de aproximadamente 65%.

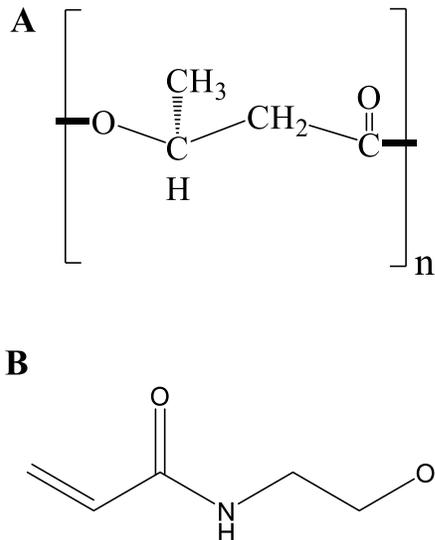


Figura 4: Estructuras de (A) poli(3-hidroxiбутirato) y (B) N-hidroxietyl acrilamida.

Se conoce de estudios previos la química de radiaciones del P(3HB), es decir qué radicales se forman cuando se expone el biopolímero a las radiaciones¹⁷. Los grupos metino y metileno son susceptibles a la formación de radicales libres, los cuales reaccionan posteriormente con el monómero para formar el copolímero por injerto (en forma de peine). Posteriormente se propondrá un mecanismo de reacción de la formación del copolímero basado en las evidencias experimentales y en la literatura¹⁸.

Por otra parte, el monómero N-hidroxietil acrilamida contiene un grupo hidroxilo, un grupo amino; de amina secundaria, un grupo carbonilo y un enlace doble. Este último es esencial ya que en la reacción de polimerización radicalica participa en la reacción de adición electrofílica con los radicales del P(3HB) irradiado para formar el injerto.

Este trabajo se refiere a un copolímero P(3HB-g-HEAAm) utilizando la letra g de "graft" (injerto, por su nombre en inglés) entre el polímero P(3HB) y el monómero injertado (HEAAm).

Un parámetro importante precisamente es el grado de injerto. Este se determinó a través del cálculo del incremento del peso del polímero antes y después del injerto (ver ecuación 1). Este cálculo tiene la desventaja de que sólo indica el incremento en masa del material, pero no proporciona datos sobre los sitios de injerto en el P(3HB) y la longitud de cadena del monómero injertado en forma de homopolímero (PHEAAm). El homopolímero y el monómero que no reaccionó con el P(3HB) es eliminado a través de la purificación utilizando un Soxhlet de manera que se puede realizar el análisis al copolímero por injerto solamente. El P(3HB) que no reaccionó se eliminó de la mezcla de injertos a través de lavados con cloroformo, ya que el P(3HB) es soluble en este disolvente, mientras que el copolímero es insoluble en el mismo.

La Figura 5 muestra el gráfico de grado de injerto (W (%)) de los diferentes materiales. Los valores promedio obtenidos fueron P1M2 (81.83%), P1M2S1 (60.81%), P1M2S2 (79.3%), P1M2S3 (83.06%), P1M2S4 (63.57%), P1M2S5 (81.43%), P1M2S6 (75.2%). Se conoce que el disolvente es un factor que afecta la reacción de polimerización por injerto inducido por radiaciones. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas (prueba estadística ANOVA) en la determinación de W (%) entre P1M2, P1M2S2, P1M2S3, P1M2S5 y P1M2S6, ni entre P1M2S1 y P1M2S4. Estos últimos disolventes (S1 y S4) fueron menos favorecidos en la reacción, mientras que el acetato de etilo (S3) fue el disolvente

que tuvo mayor grado de injerto, lo que está en concordancia con estudios anteriores de otros monómeros que se han injertado en este polímero utilizando el mismo método¹⁹.

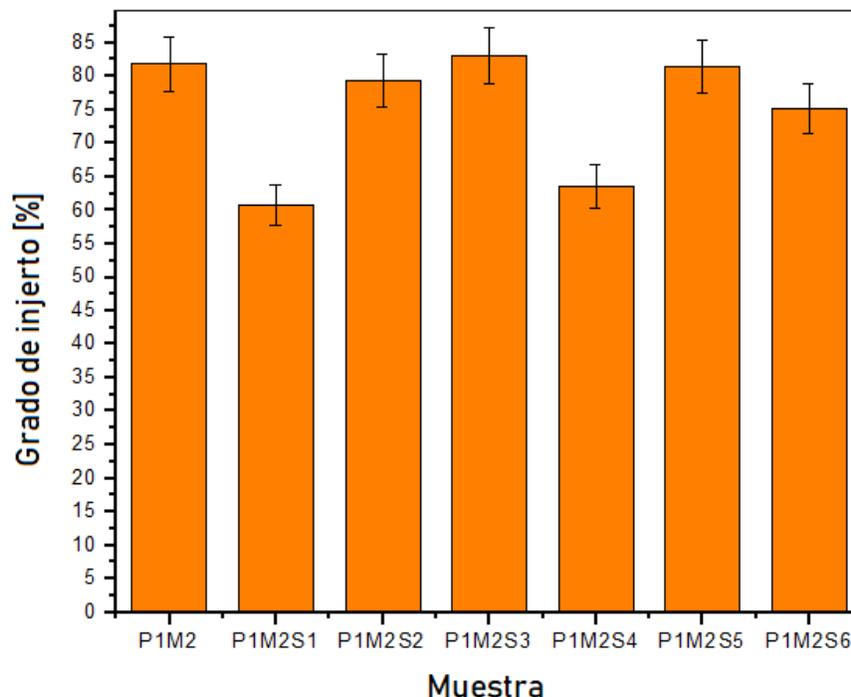


Figura 5: Determinación del grado de injerto W (%) de los copolímeros de P(3HB).

La Figura 5 muestra los espectros Raman del P(3HB) y los copolímeros P1M2, P1M2S1, P1M2S2, P1M2S3, P1M2S4, P1M2S5, y P1M2S6 respectivamente, en la región $3100-100\text{ cm}^{-1}$, divididos en 4 regiones ($3100-2800\text{ cm}^{-1}$, $1850-1600\text{ cm}^{-1}$, $1600-700\text{ cm}^{-1}$, y $800-100\text{ cm}^{-1}$) para una mejor comprensión de los cambios entre el polímero original y los productos obtenidos.

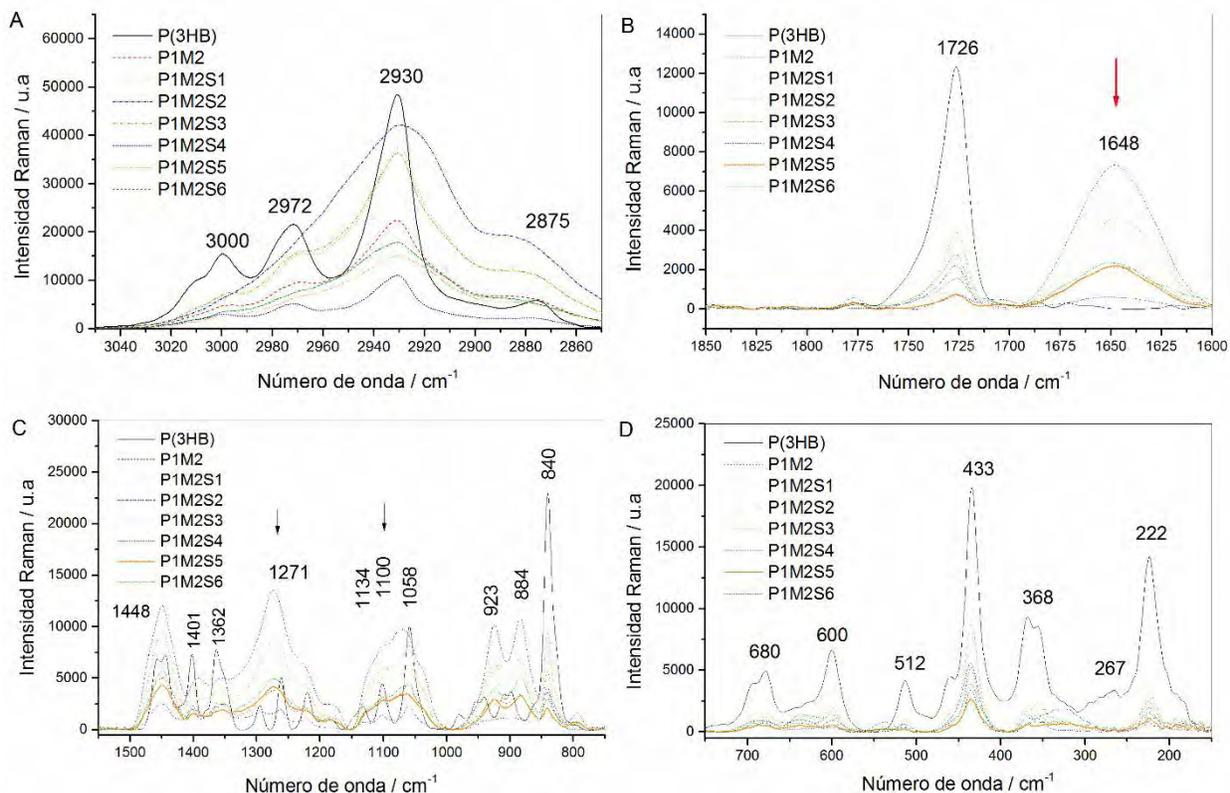


Figura 6: (A) Espectros Raman del P(3HB) y los copolímeros por injerto P(3HB-g-HEAAm) en la región de 3100–2800 cm^{-1} , (B) Espectros Raman en la región 1850–1600 cm^{-1} , (C) Espectros Raman en la región 1600–700 cm^{-1} y (D) Espectros Raman en la región 800–100 cm^{-1} .

La primera evidencia de injerto fue la determinación del grado de injerto. Ahora se realizará el análisis por diferentes técnicas para demostrar la formación del nuevo material (copolímero por injerto). La Figura 6 A, muestra las variaciones en las bandas 3000, 2972, 2930 y 2875 cm^{-1} , respectivamente, como una evidencia del injerto y de la variación de la estructura con el uso de diferentes disolventes en la reacción. En especial la banda a 3000 cm^{-1} , es considerada una banda importante para la determinación de puentes de hidrógeno $\text{CH}\cdots\text{O}=\text{C}$, que definen la cristalinidad del biopolímero lo que podemos afirmar por las variaciones de esta banda que la estructura helicoidal del P(3HB) se ha visto distorsionada por el injerto y por tanto se espera que el grado de cristalinidad de los copolímeros sea menor que el del material de partida, lo cual se analizará posteriormente por FTIR y DFRX²⁰.

La Figura 6 B muestra una segunda evidencia de formación del copolímero con la banda a 1648 cm^{-1} , que la cual no se encuentra en el P(3HB) y corresponde a la vibración de estiramiento del grupo carbonilo (amida I de PHEAAm). La señal muestra diferentes intensidades para cada tipo de material obtenido, siendo P1M2S2 quien tiene la señal más intensa. En la misma figura se observa la señal a 1726 cm^{-1} , que corresponde a la vibración de estiramiento de carbonilo de éster²⁵. El resto de las señales del espectro Raman (Figuras 6 C y 6 D), también mostraron diferencias en intensidades en cada muestra, pero no revelaron nuevas bandas como evidencia de injerto. Se esperaba una banda de vibración de doblaje N–H alrededor de 1558 cm^{-1} , la cual se mostró con muy poca intensidad y la banda ancha alrededor de los 3300 cm^{-1} , correspondiente a las vibraciones de valencia de N–H y O–H sí aparecieron (no se muestran en el gráfico). La espectroscopía Raman nos ayudó a corroborar la síntesis.

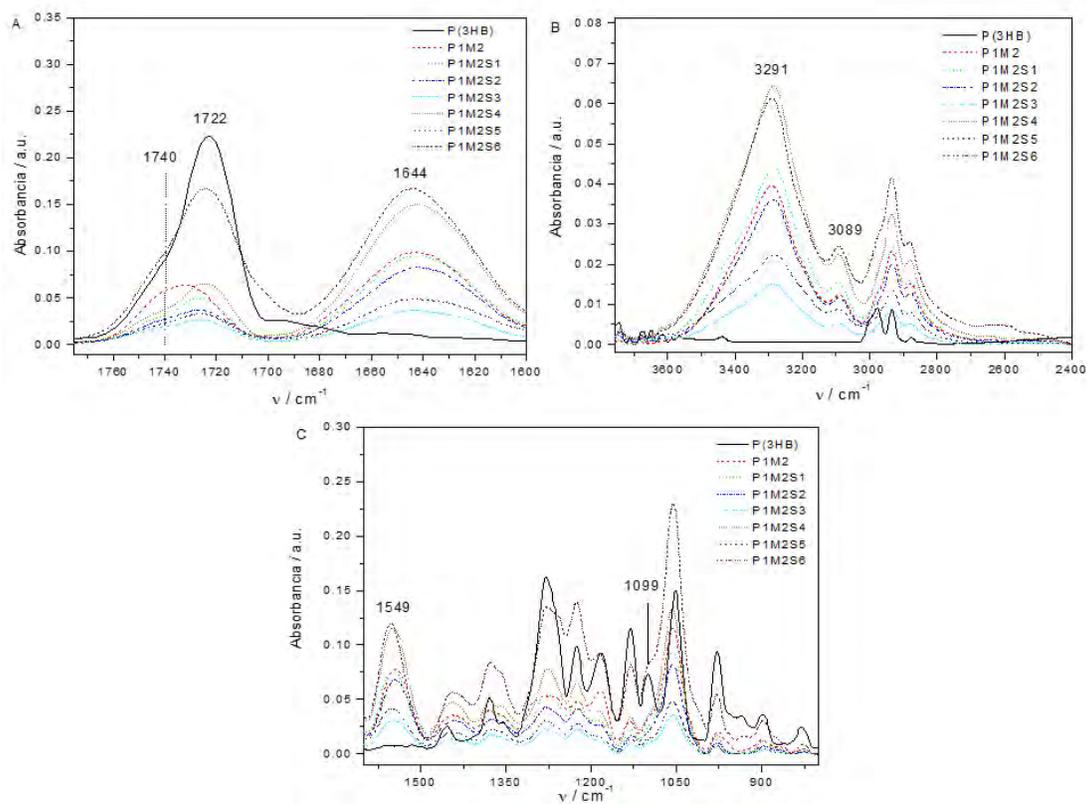


Figura 7: Espectros FTIR del P(3HB) y los copolímeros por injerto P(3HB-g-HEAAm).

Por su parte la espectroscopia FTIR nos mostró un comportamiento similar, solo que las bandas que se buscaban como evidencia de injerto fueron más intensas. La Figura 7 A muestra la vibración de estiramiento del grupo carbonilo (amida de la PHEAAm) en 1644 cm^{-1} . También se observan las variaciones entre las intensidades de las bandas en 1722 cm^{-1} y 1740 cm^{-1} , la cual será de utilidad para la determinación del estudio de cristalinidad del material. Se pudo observar con mayor claridad nuevas bandas a 3089 cm^{-1} , y 3291 cm^{-1} , correspondientes a las vibraciones de valencia de N–H y O–H y la banda 1549 cm^{-1} , de la vibración de doblaje N–H de PHEAAm (Figuras 7 B y 7 C). Por último, se observa que los copolímeros no presentan la banda a 1099 cm^{-1} , la cual es característica de la vibración de estiramiento antisimétrico de éster ($\nu_{as}(\text{C–O–C})$) del P(3HB), lo que indica una mayor rigidez en las cadenas del copolímero²¹.

El estudio por infrarrojo no solo se realizó para corroborar las bandas que no se observaron con claridad en la espectroscopía Raman y eran las evidencias que se buscaban de injerto del PHEAAm en el P(3HB) sino también para realizar el estudio de cristalinidad del material.

Este estudio se llevó a cabo a partir de las Ecuaciones 4 y 5, y se determinó el grado de cristalinidad relativa a través de la determinación del índice de cristalinidad y del criterio de cristalinidad (A_c y CC respectivamente) (ver Tabla 2).

Tabla 2: Análisis cualitativo y cuantitativo del grado de cristalinidad de los copolímeros.

	P(3HB)	P1M2	P1M2S1	P1M2S2	P1M2S3	P1M2S4	P1M2S5	P1M2S6
%A_c	62.00	32.00	41.00	37.00	38.00	34.50	37.40	43.50
CC	2.47	1.15	1.63	1.47	1.52	1.34	1.49	1.73
%X_c	65.00	36.70	18.40	29.00	5.40	11.60	23.00	34.00

Como se puede observar en la Tabla 2, los valores de índice de cristalinidad y del criterio de cristalinidad de los productos disminuyeron con relación al material de

partida, lo que indica que el copolímero es más amorfo, es decir, menos cristalino que el P(3HB).

Para obtener un criterio cuantitativo y absoluto de la cristalinidad de los materiales utilizamos la técnica de Difracción de rayos X y la ecuación 3. Los porcentajes de cristalinidad, $\%X_c$, obtenidos se muestran en la Tabla 2 y los patrones de difracción en la Figura 8. Se observa que los copolímeros muestran una reducción considerable en los máximos de difracción (110), (101), (121) con respecto al P(3HB). La muestra con mayor reducción en la cristalinidad fue P1M2S3 (5.4%) correspondiente al acetato de etilo (S3), lo que está en concordancia con la obtención de un mayor grado de injerto.

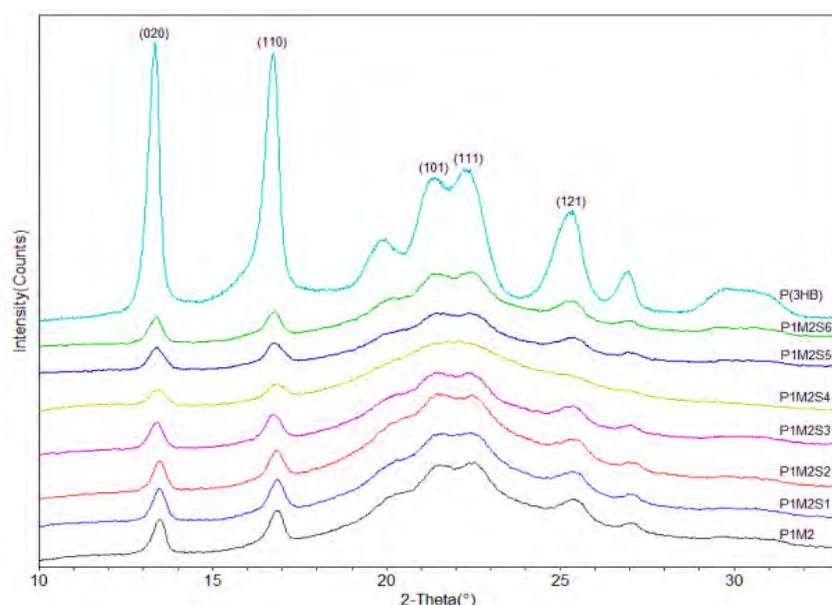


Figura 8: Patrones de difracción de rayos X del P(3HB) y los copolímeros.

Hasta el momento las evidencias experimentales indican que se obtuvo con éxito el copolímero. Sin embargo, se realizaron otros estudios para conocer mejor las propiedades fisicoquímicas del material y su estructura.

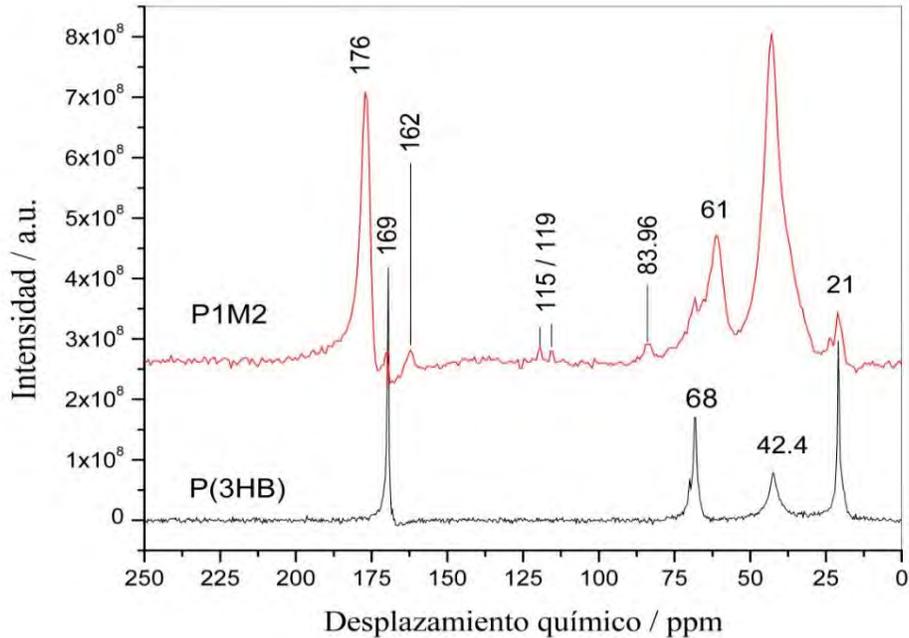


Figura 9: Espectro ^{13}C -CPMAS-NMR (RMN sólido) del P(3HB) y P(3HB-g-HEAAm).

La Figura 9 muestra los espectros de resonancia magnética nuclear de sólidos del P(3HB) y del copolímero, P(3HB-g-HEAAm), específicamente la muestra P1M2. La resonancia se llevó a cabo para buscar evidencias de injerto. Se encontraron cinco nuevas señales en el espectro de P1M2 con respecto al P(3HB), en 176, 162, 115, 119, y 83.96 ppm, respectivamente. La señal en 162 ppm se asignó al grupo carbonilo de la amida de la PHEAAm injertada y la señal en 176 ppm corresponde al grupo carbonilo del P(3HB) injertado. La señal del carbonilo del P(3HB) en 169 ppm, presente en el espectro del copolímero indica que hay una pequeña cantidad de P(3HB) sin injertar que no se pudo eliminar de la mezcla de injertos, probablemente este polímero se encuentre entrecruzado o reticulado.

El resto de las señales que se observan en el espectro son las señales características del poli(3-hidroxiбутирато) (CH_3 (21 ppm), CH_2 (42 ppm), CH (68 ppm))²².

El espectro también sirvió para descartar la presencia de monómero en la muestra purificada, ya que las señales del monómero corresponden a 126 y 130 ppm, y dichas señales no se encuentran en el espectro.

Por su parte las señales en 115 y 119 ppm se atribuyeron a la formación de carbonos cuaternarios sustituidos, mientras que la señal a 83.96 ppm se asignó a nuevos carbonos metínicos o carbonos terciarios que se forman como consecuencia del injerto. El resultado obtenido es de mucha utilidad para poder proponer un mecanismo de reacción de los nuevos materiales obtenidos²³.

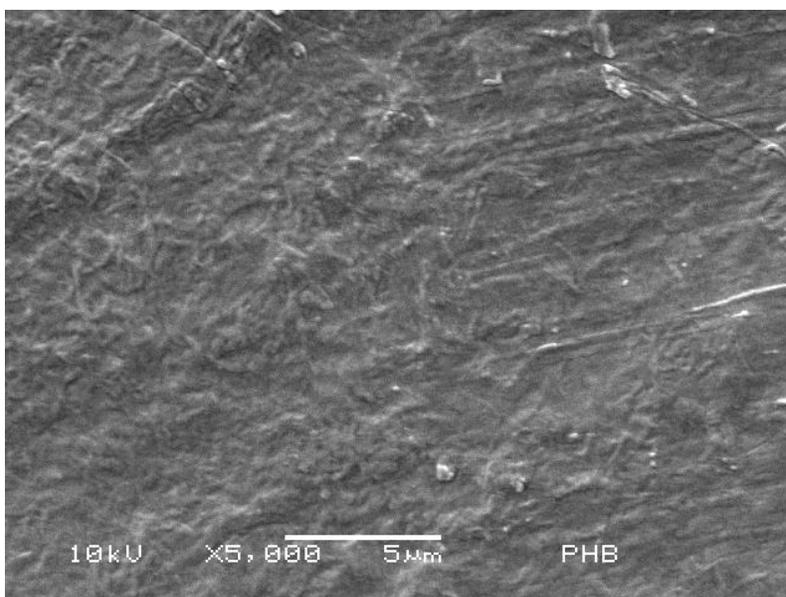


Figura 10: Imagen del P(3HB) vista con un microscopio electrónico de barrido.

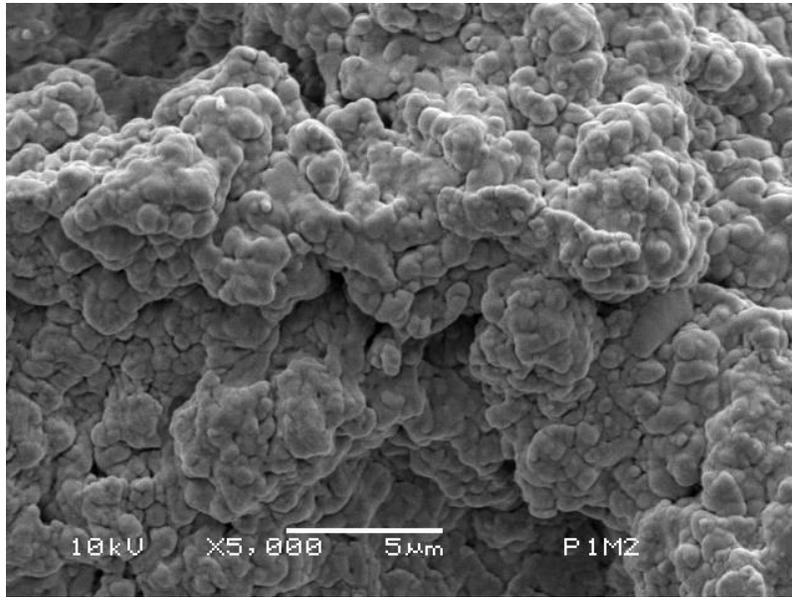


Figura 11: Imagen del P(3HB-g-HEAAm) vista con un microscopio electrónico de barrido.

Las Figuras 10 y 11 muestran las imágenes obtenidas por SEM del P(3HB) y del copolímero, respectivamente. Como se puede observar, la superficie del P(3HB) es completamente lisa, pero luego del injerto la superficie del biopolímero se torna rugosa. Esta última morfología es característica de polímeros injertados por polimerización radio-inducida²⁴.

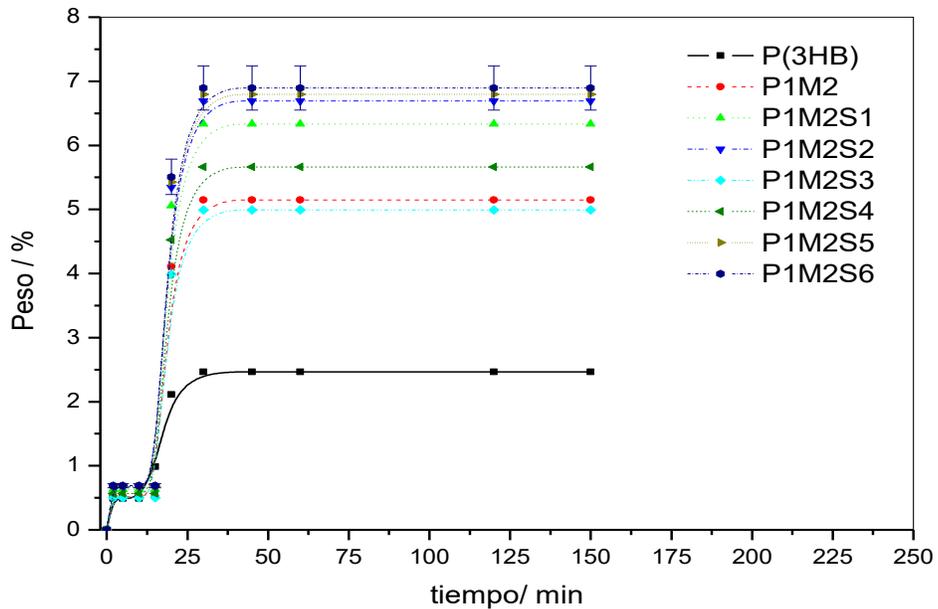


Figura 12: Estudio de hinchamiento realizado en el P(3HB) y los copolímeros por injerto.

La Figura 12 muestra los resultados del estudio de hinchamiento del P(3HB) y los copolímeros por injerto. Como se puede observar, tanto el P(3HB) como los productos incrementaron su humectabilidad aproximadamente a los 15-17 min de iniciar el proceso de hinchamiento. A partir de los 25-30 min el S (%) permaneció constante, lo que indica que los polímeros se hincharon completamente en agua. El valor obtenido para el hinchamiento en los copolímeros fue superior en todos los casos al del P(3HB) indicando que estos materiales son más hidrofílicos que el material de partida. Algunos disolventes favorecen un poco más que otros los valores de S (%) en los copolímeros, por ejemplo, se obtiene un mayor grado de humectabilidad si se utiliza S2 que en ausencia de disolvente. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los diferentes disolventes utilizados, ya que los valores de S (%) oscilaron entre 4.9-6.8 %, que son valores relativamente pequeños. Este resultado se debe a que el disolvente no tuvo mucha influencia en el grado de injerto del material (Tabla 3).

Tabla 3: Porcentaje de hinchamiento (S (%)) y grado de injerto (W (%)) para el P(3HB) y los copolímeros obtenidos. Los resultados son reportados como la media \pm la desviación estándar para cuatro experimentos realizados por separado.

Muestra	W (%)	S (%)
P(3HB)	0 \pm 0	2.4 \pm 0.4
P1M2	81.8 \pm 1	5.2 \pm 0.4
P1M2S1	60.8 \pm 1	6.3 \pm 0.4
P1M2S2	79.3 \pm 1	6.6 \pm 0.4
P1M2S3	83.1 \pm 1	4.9 \pm 0.4
P1M2S4	63.6 \pm 1	5.6 \pm 0.4
P1M2S5	81.4 \pm 1	6.7 \pm 0.4
P1M2S6	75.2 \pm 1	6.8 \pm 0.4

Las evidencias experimentales obtenidas por técnicas espectroscópicas y los estudios morfológicos concuerdan con la obtención del copolímero por injerto P(3HB-g-HEAAm) con una estructura bien definida. Sin embargo, aún conocemos

muy poco sobre las propiedades termodinámicas del material. Por esa razón se decidió realizar el estudio por análisis termogravimétrico (TGA), derivada del TGA (DTGA) y calorimetría diferencial de barrido (DSC).

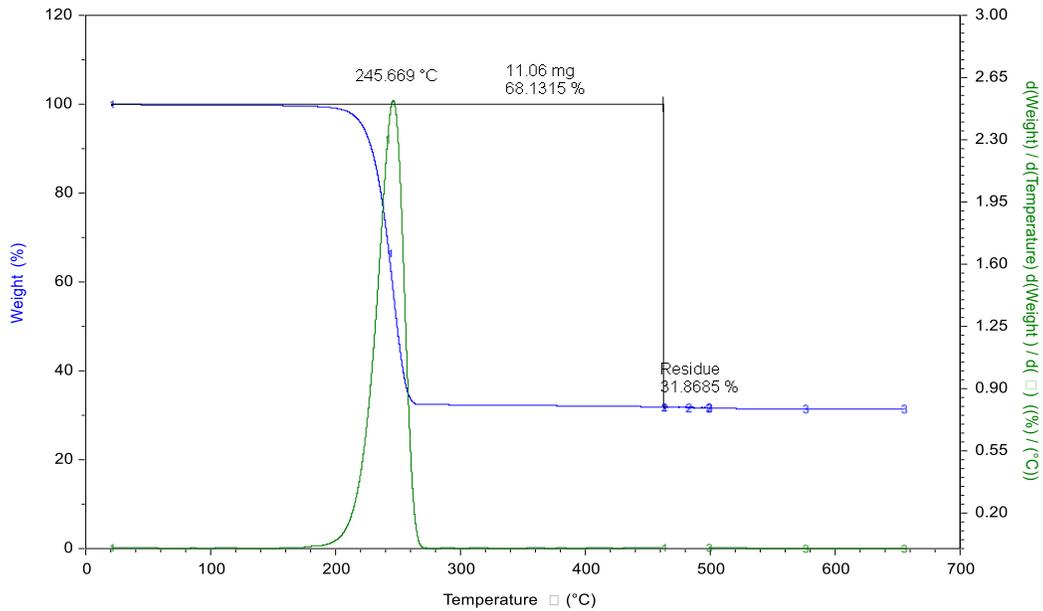


Figura 13: TGA y DTGA del P(3HB).

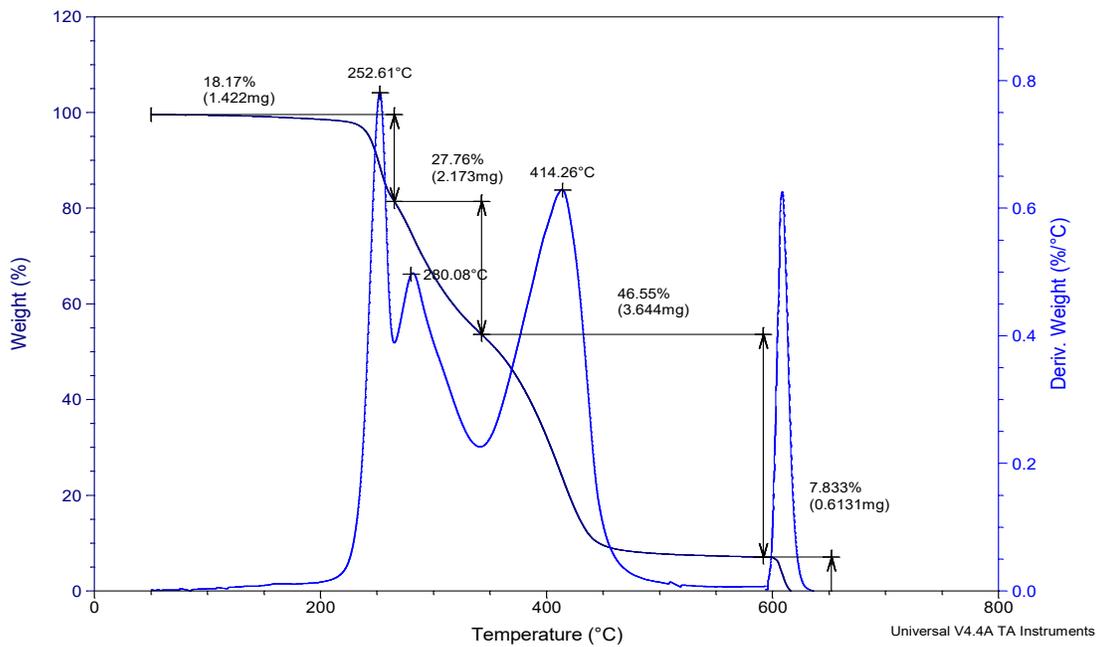


Figura 14: TGA y DTGA de la muestra P1M2.

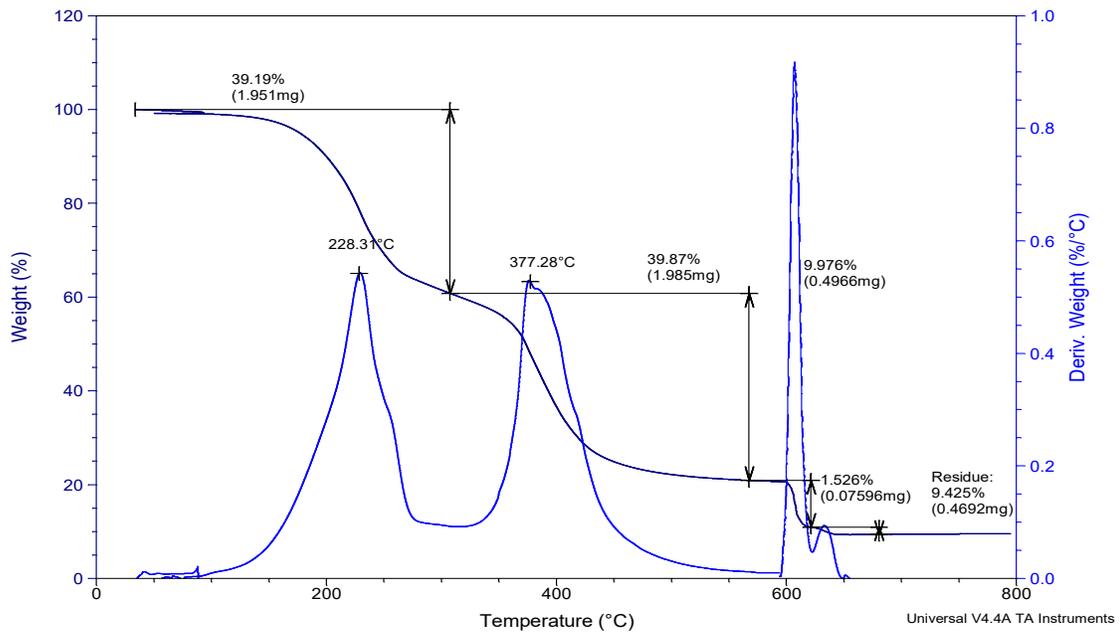


Figura 15: TGA y DTGA de la muestra P1M2S1.

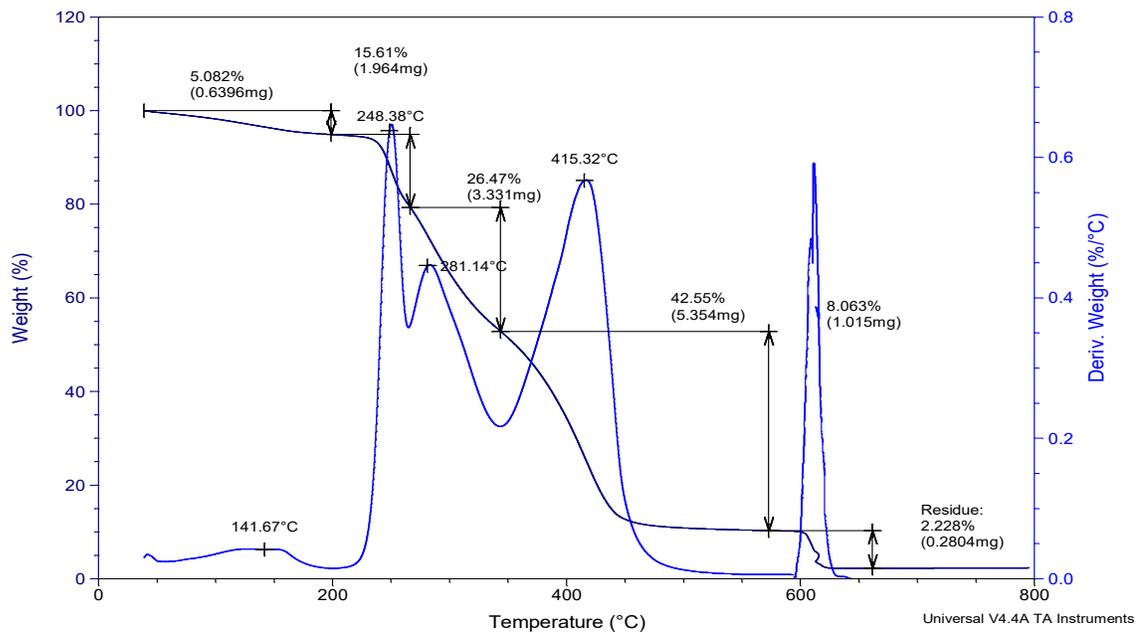


Figura 16: TGA y DTGA de la muestra P1M2S2.

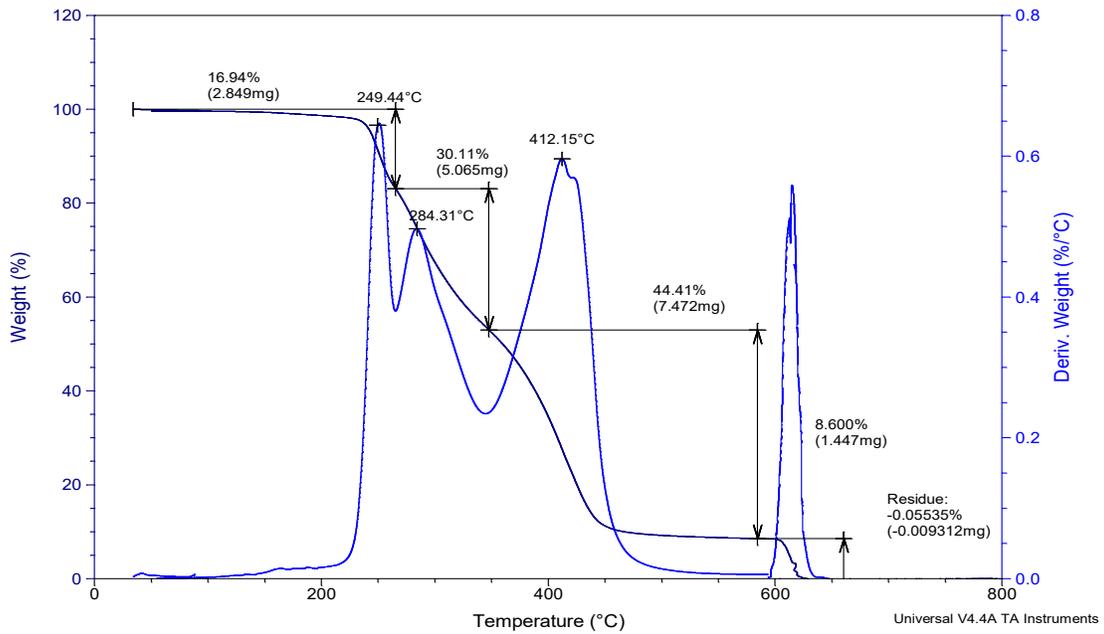


Figura 17: TGA y DTGA de la muestra P1M2S3.

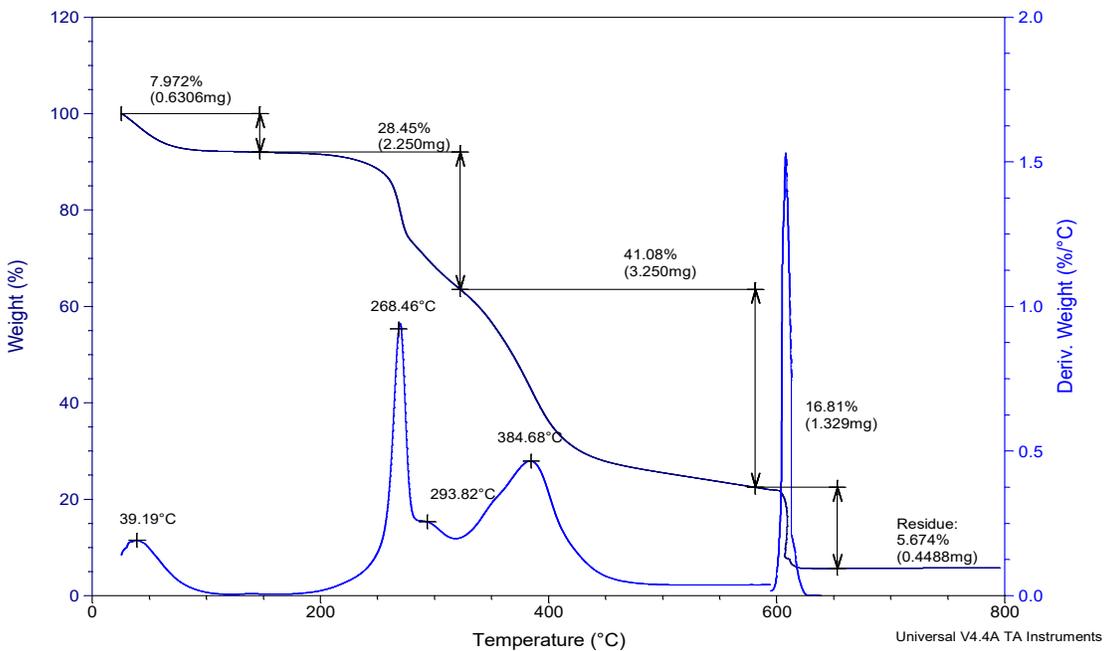


Figura 18: TGA y DTGA de la muestra P1M2S4.

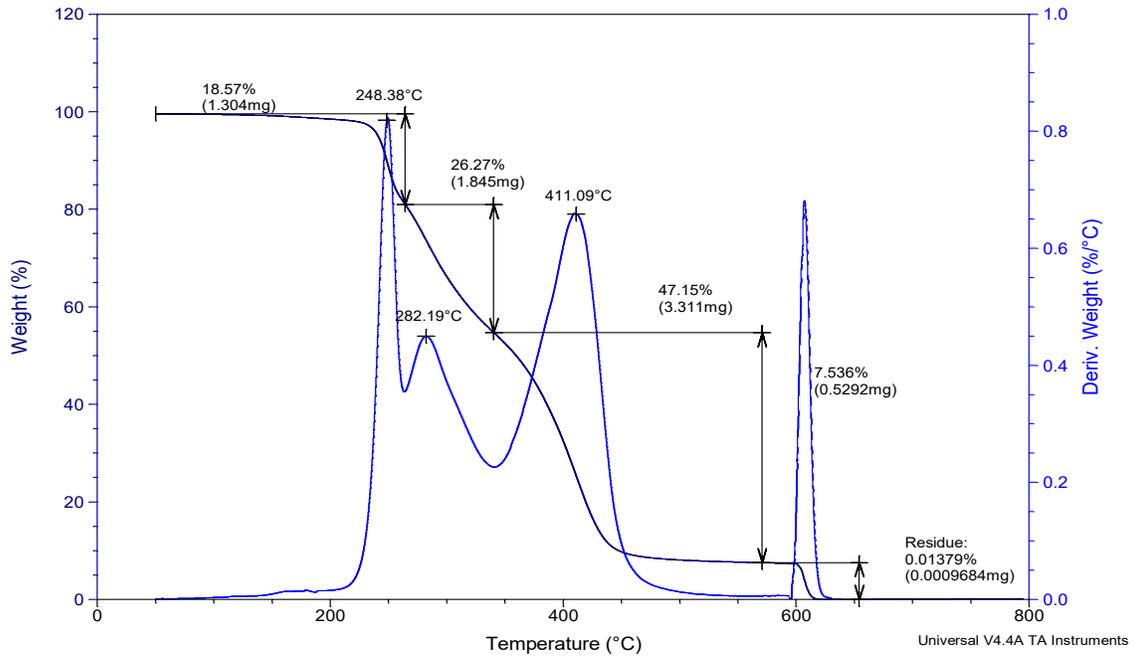


Figura 19: TGA y DTGA de la muestra P1M2S5.

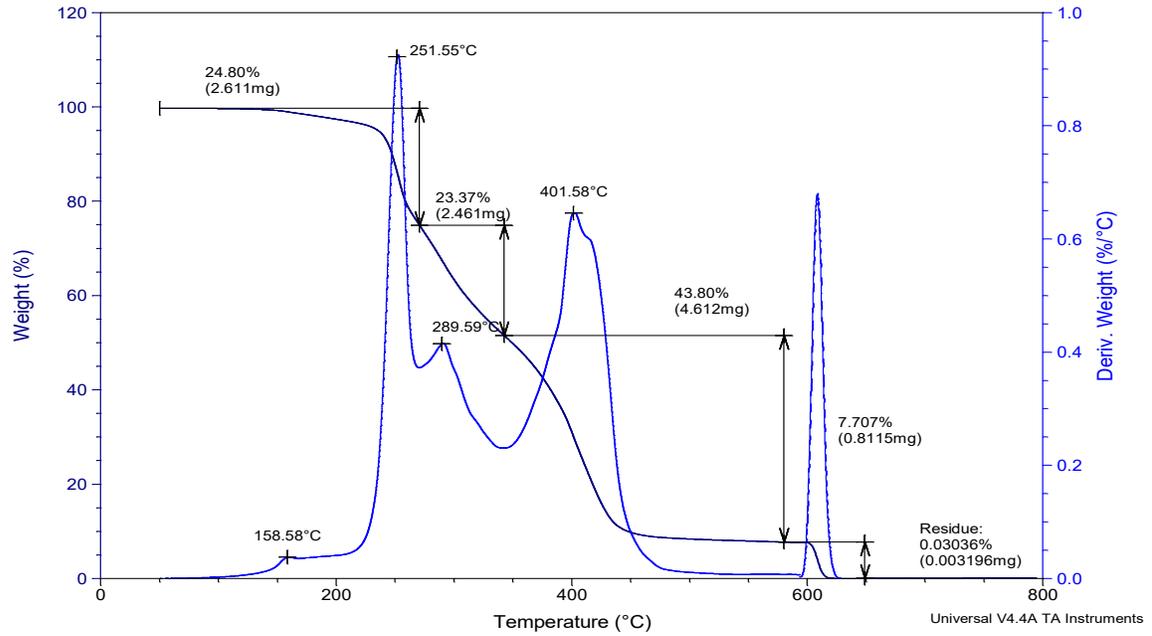


Figura 20: TGA y DTGA de la muestra P1M2S6.

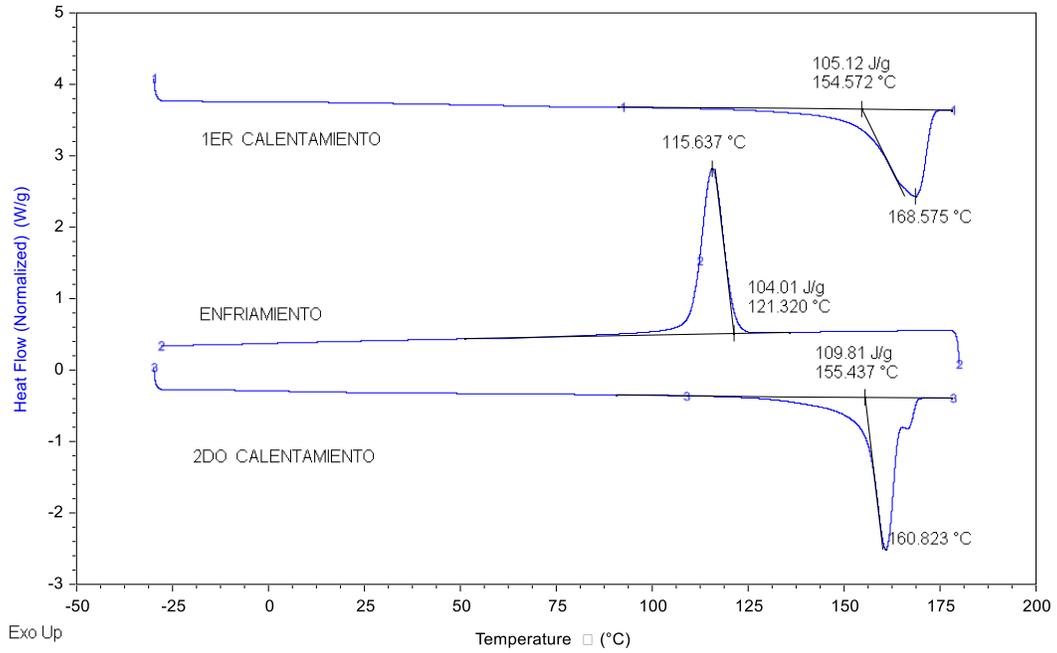


Figura 21: DSC del P(3HB).

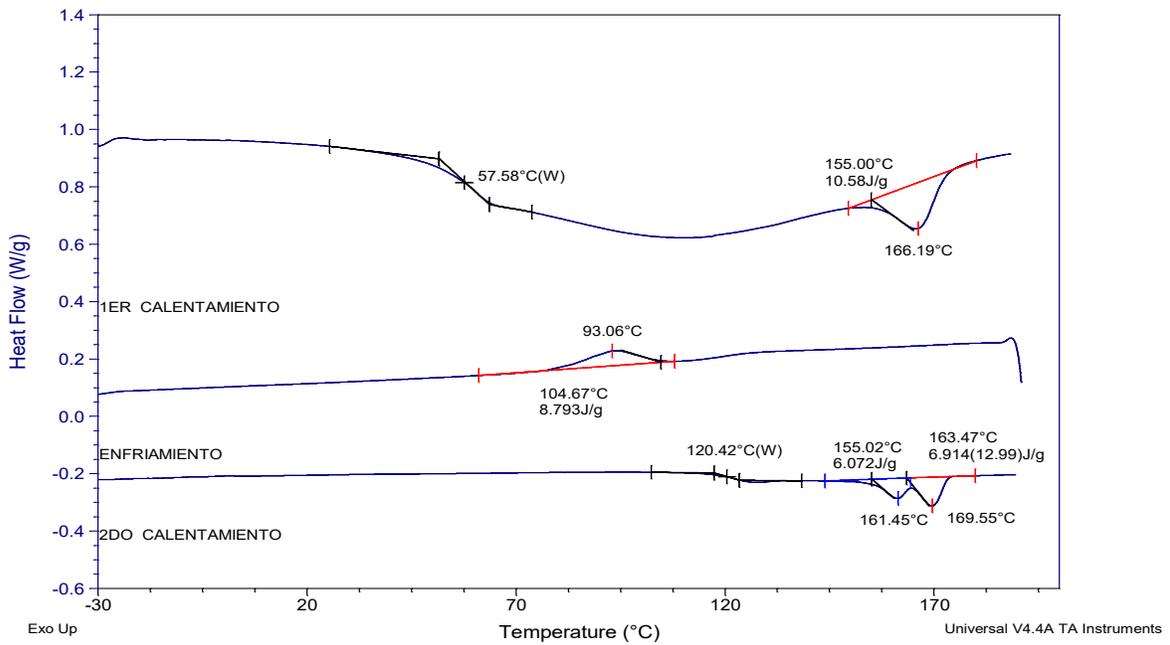


Figura 22: DSC de la muestra P1M2.

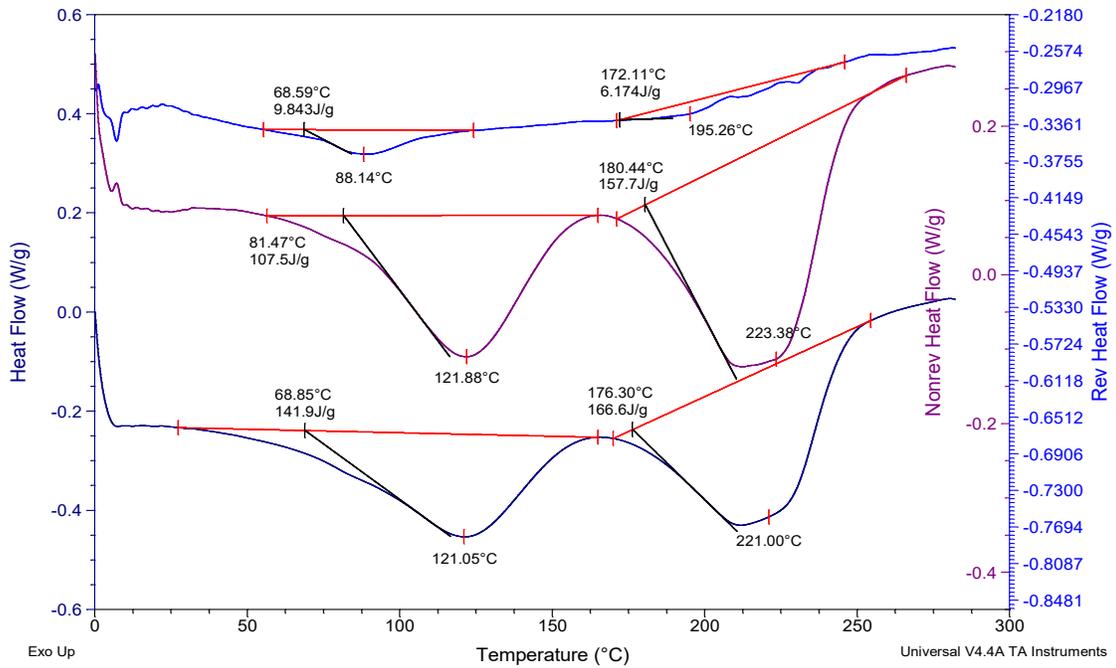


Figura 23: DSC de la muestra P1M2S1.

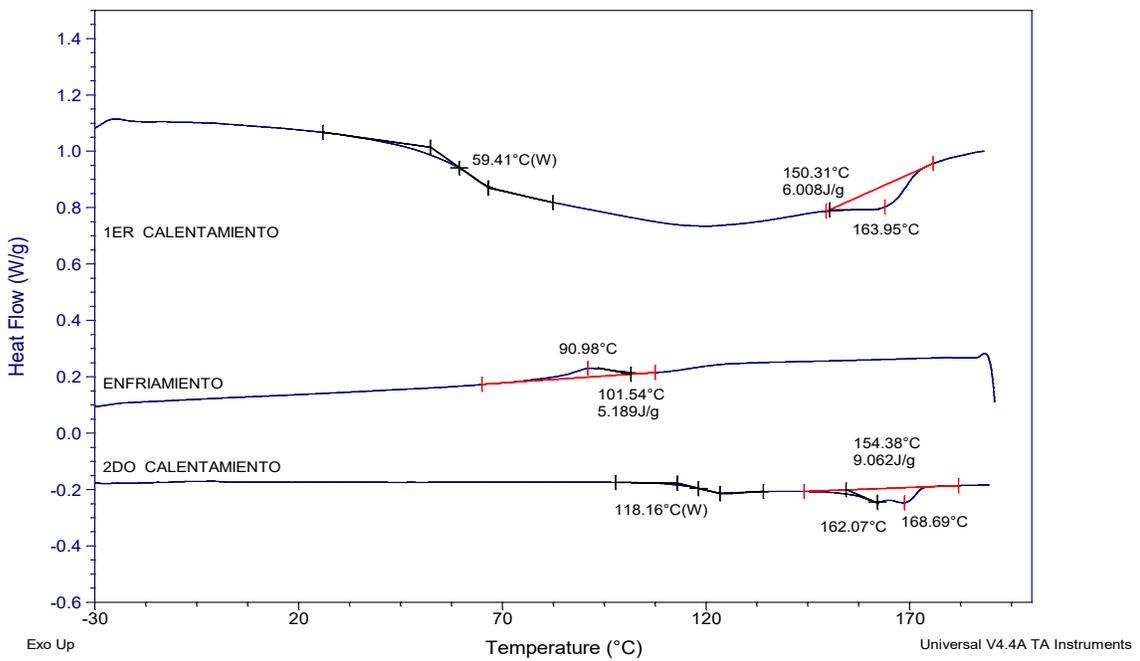


Figura 24: DSC de la muestra P1M2S2.

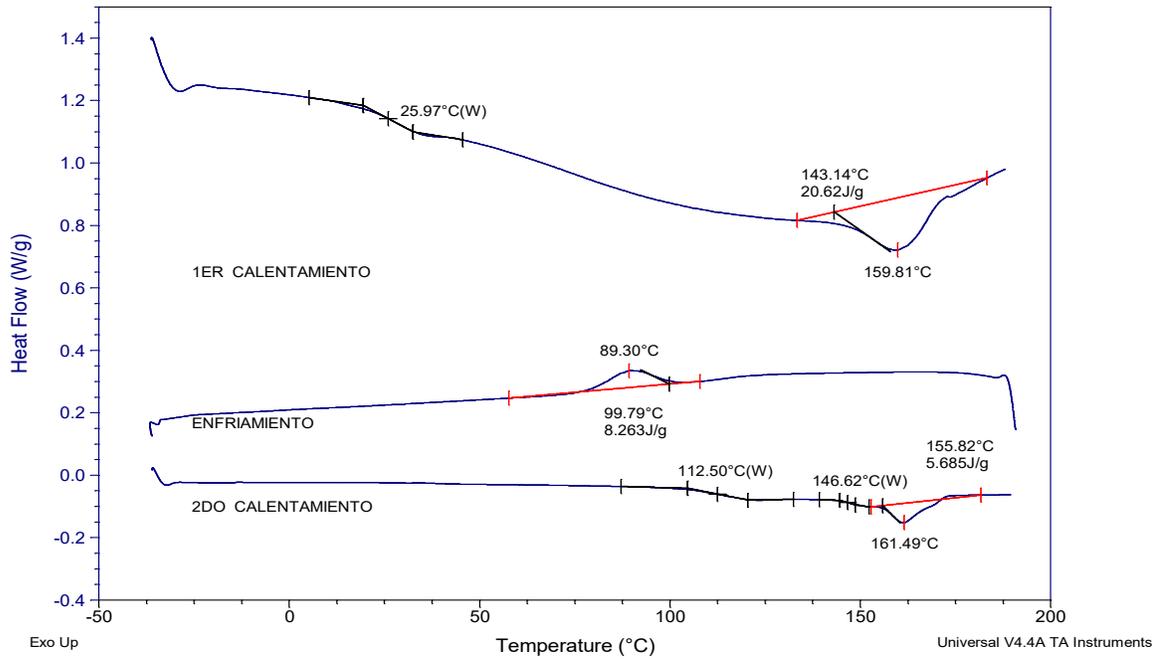


Figura 25: DSC de la muestra P1M2S3.

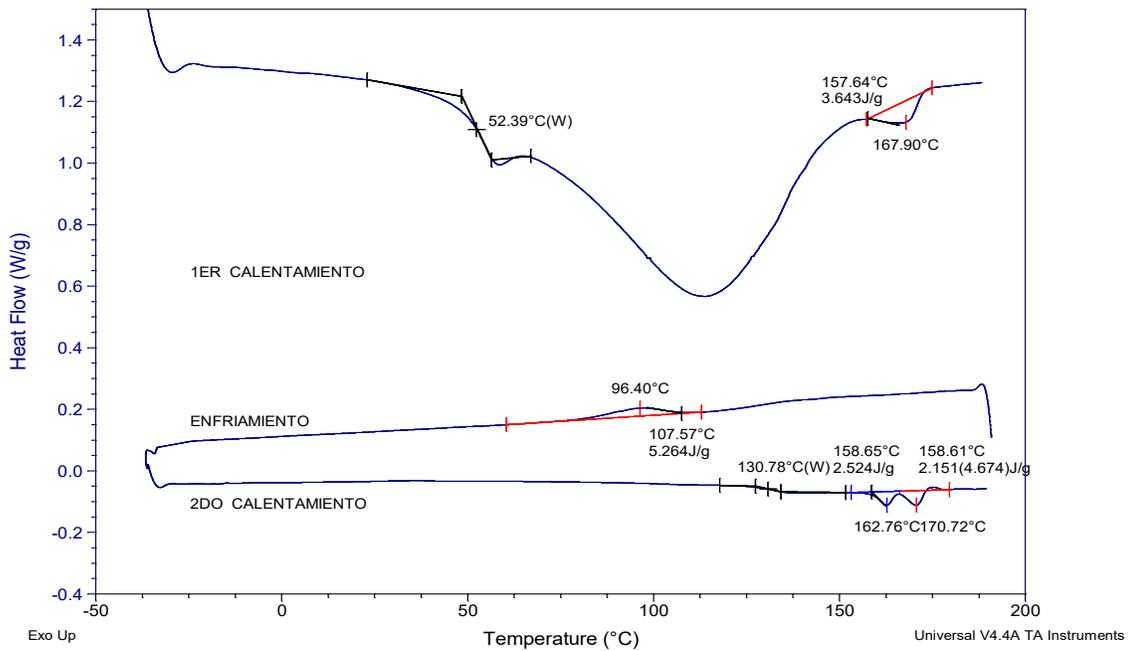


Figura 26: DSC de la muestra P1M2S4.

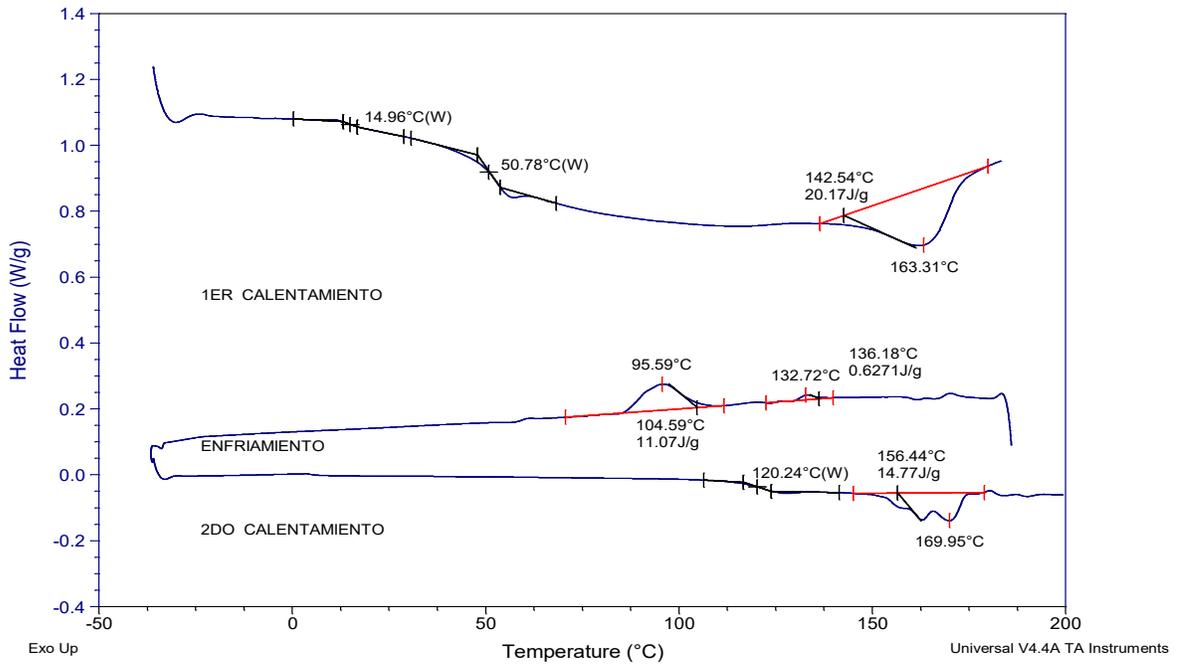


Figura 27: DSC de la muestra P1M2S5.

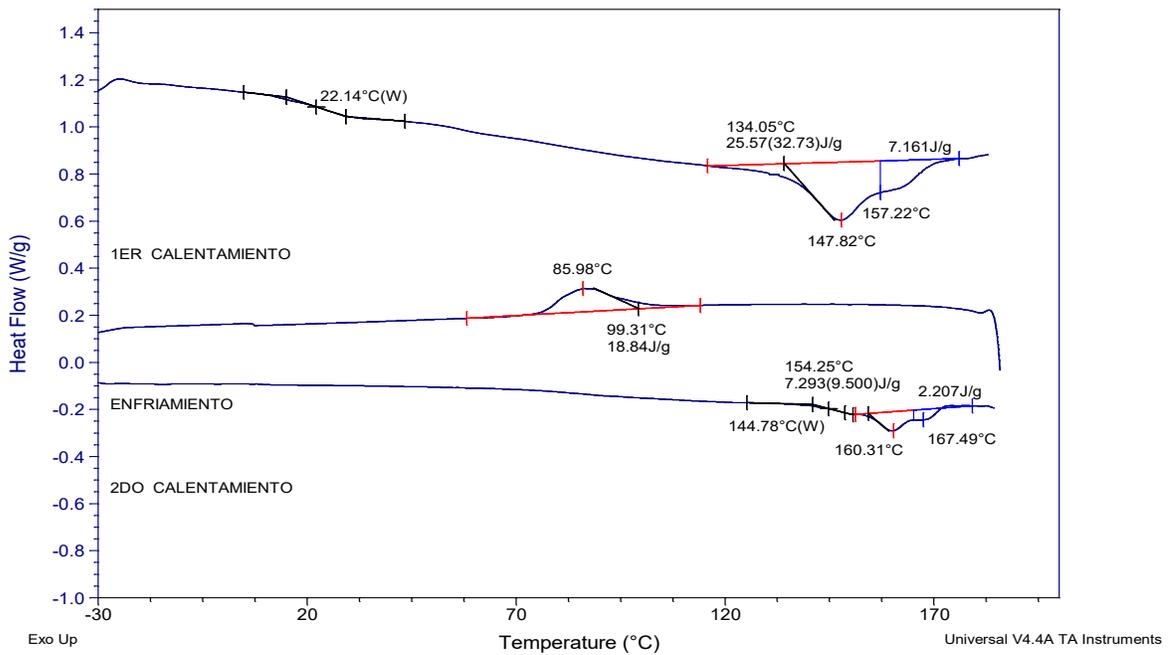


Figura 28: DSC de la muestra P1M2S6.

Tabla 4: Datos de las propiedades termodinámicas obtenidas del TGA y DSC de los copolímeros.

Donde: T_d (°C) - Temperatura de descomposición obtenida de la DTGA; ΔH_m (J/g) - Entalpía de fusión; T_m (°C) - Temperatura de fusión; T_c (°C) - Temperatura de cristalización; ΔH_c (J/g) - Entalpía de cristalización; T_g (°C) - Temperatura de transición vítrea.

Muestra	T_d (°C)	ΔH_m (J/g)	T_m (°C)	ΔH_c (J/g)	T_c (°C)	T_g (°C)
P(3HB)	245	109	160	104	115.6	-5
P1M2	252, 280, 414	6.1, 6.9	162, 169	8.79	93.06	57.6
P1M2S1	228, 377	142, 166	121, 221	107, 157	121, 223	68.5
P1M2S2	248, 281, 415	9.1	162, 168	5.18	91	59.4
P1M2S3	249, 284, 412	5.7	161.5	8.26	89	26
P1M2S4	268, 293, 384	4.7	162, 170	5.26	96	52.3
P1M2S5	248, 282, 411	14.8	156, 169	11.07	95.6	15
P1M2S6	251, 289, 401	9.5	160, 167	18.84	86	22

En la Tabla 4 se muestra el resumen de los datos de las propiedades termodinámicas extraídas de las Figuras 13-28. Los estudios por análisis termogravimétrico y sus derivadas (Figuras 13-20) indican que el P(3HB) presenta un solo paso (salto) en la curva de pérdida de peso (Figura 13), mientras que los productos presentan un termograma característico de copolímero por injerto con tres saltos correspondientes a la descomposición del nuevo material. La primera descomposición corresponde al P(3HB), la segunda a los grupos hidroxietilo de (PHEAAm) y la tercera descomposición corresponde a la cadena carbonada de poliacrilamida²⁹. En el caso de P1M2S1 se observa que presenta dos pasos en la descomposición lo que sugiere una mayor distorsión en el material, es decir hubo un mayor número de átomos de P(3HB) que se han injertado y las cadenas de homopolímeros injertados es más corta comparado con los demás materiales, lo que la contribución de la descomposición de poliacrilamida está integrada con la descomposición de los grupos hidroxietilo.

El análisis del diferencial gravimétrico define la temperatura máxima de la rapidez máxima de descomposición de estos tres pasos. Como se puede observar, la T_{d1} de P(3HB) se incrementa al injertarse a valores entre 258–268 °C. Los valores de

T_{d2} y T_{d3} , oscilan entre 282 y 410 °C respectivamente. Estos valores son superiores a los valores de T_d reportados en la literatura para el PHEAAm²⁹ (249 °C; 352 °C). Por su parte, las Figuras 21-28, muestran la calorimetría diferencial de barrido de los materiales obtenidos. La Tabla 4 resume las entalpías de fusión, temperaturas de fusión, entalpías de cristalización, temperaturas de cristalización y temperaturas de transición vítrea de los mismos. En términos generales se observa una disminución de estos valores en los copolímeros con respecto al P(3HB), excepto para la temperatura de transición vítrea, la cual incrementó su valor.

Se observaron picos de desdoblamiento en la temperatura y entalpía de fusión de los copolímeros por injerto obtenidos los cuales son probablemente causados por recristalización del copolímero. Es decir, la introducción de HEAAm en el P(3HB) dificulta su cristalización disminuyendo el grado de cristalinidad del material, lo que es consistente con los estudios realizados anteriormente sobre la cristalinidad de estos materiales.

Por último, el incremento de la temperatura de transición vítrea es una fuerte evidencia de la formación del injerto, ya que la T_g del PHEAAm es de aproximadamente 100 °C, y la T_g del P(3HB) es de 5 °C. Sin embargo, los valores de T_g obtenidos para los nuevos materiales P(3HB-g-HEAAm) oscilan entre 14–68 °C. Estos valores son de mucha utilidad para la aplicación de estos materiales. De momento conocemos que son materiales semicristalinos y termoplásticos con potencial aplicación biotecnológica.

Con los datos experimentales obtenidos, nos encontramos en condiciones de plantear el mecanismo de la reacción del copolímero por injerto inducido por radiaciones de alta energía P(3HB-g-HEAAm). Para esto, vamos a establecer un medio ideal en ausencia de disolvente. El mecanismo de la polimerización por injerto radio-inducido, conlleva los pasos de iniciación, propagación y terminación característicos de polimerización por radicales libres. En una primera etapa de iniciación las radiaciones gamma inciden sobre el P(3HB) para formar los radicales

libres que se muestran en la estructura 1, correspondiente a los radicales de los carbonos metínicos y metilénicos del P(3HB) obtenidos por abstracción del hidrógeno por acción de las radiaciones gamma. Por su parte, el monómero también es afectado por las radiaciones para formar cuatro posibles radicales libres. Estos radicales pueden reaccionar con la estructura 1, por acoplamiento radicalico para formar la estructura 2, que son radicales libres poliméricos intermedios (reacciones de propagación), los cuales continúan el proceso de polimerización.

Además, tanto los radicales libres como el doble enlace del HEAAm pueden abstraer protones de otros monómeros o recombinarse para formar homopolímeros (PHEAAm), los cuales se representan en la Figura 29 como estructura 3, y denominaremos “homopolímeros radicalicos” (radicales libres homopoliméricos).

Las cadenas de injerto creciente obtenidas en la estructura 2 reaccionan con las cadenas de homopolimerización creciente, para formar el copolímero por injerto (reacción de terminación) por acoplamiento radicalico (estructuras 4 y 5). De acuerdo con las evidencias experimentales obtenidas la reacción de injerto puede ocurrir por los carbonos metínicos y metilénicos del P(3HB).

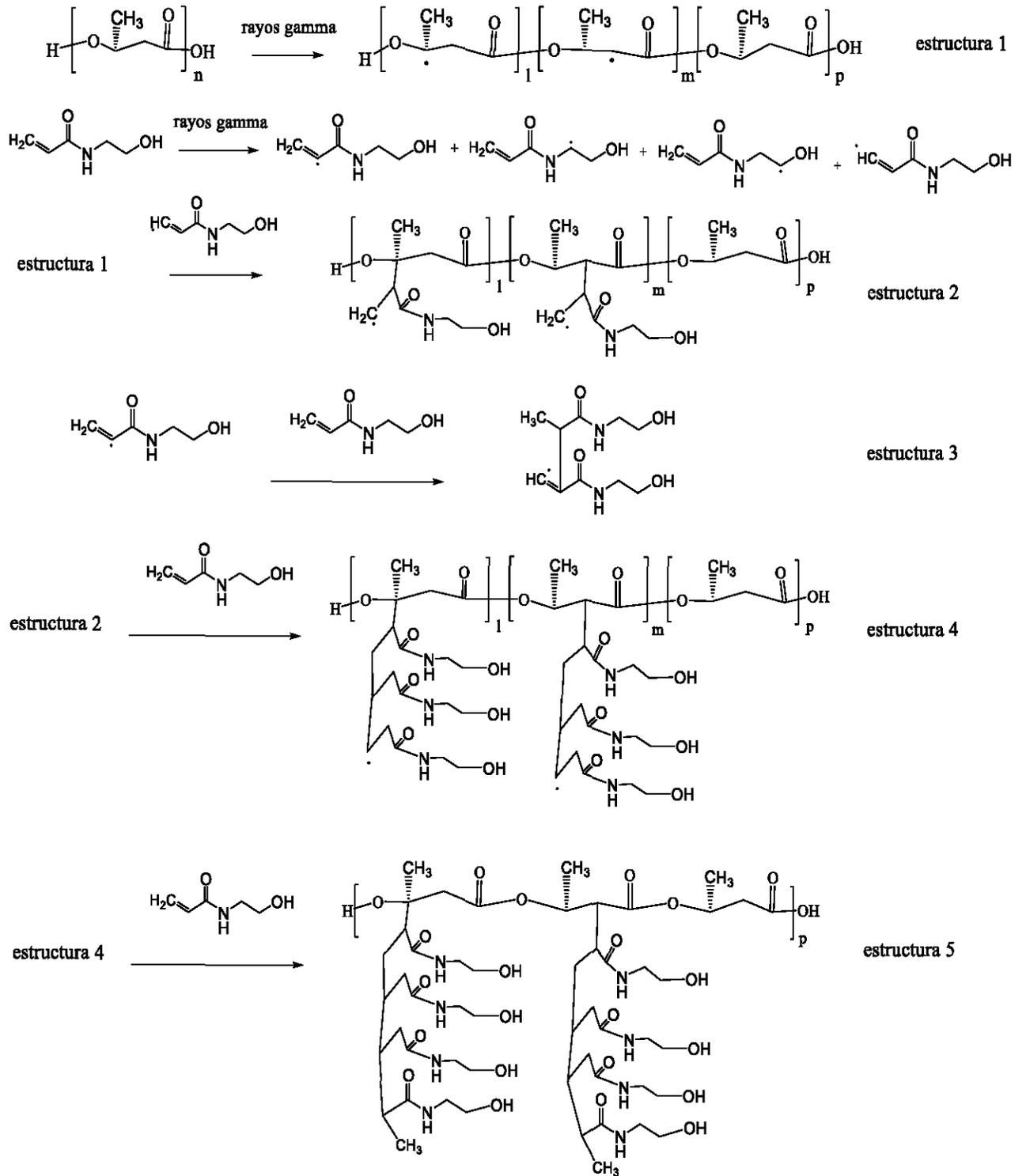


Figura 29: Propuesta del mecanismo de reacción de la HEAAm con P(3HB) por polimerización de injerto radio-inducido.

Ahora que ya conocemos las características fisicoquímicas de los nuevos copolímeros por injerto estamos en condiciones de sondear posibles aplicaciones biotecnológicas. Una de las aplicaciones que ha despertado un creciente interés de los científicos en la actualidad es la preparación de andamios tridimensionales para ingeniería de tejidos. Se utilizará el material obtenido para la síntesis de un material con estas características.

Se propone el mecanismo por el cual se obtiene el poliuretanoato. Primero se utiliza una resina a base de disocianato, que se mezcla con un endurecedor (poliol) que en este caso es a base de polietilenglicol (PEG). En este paso del mecanismo el PEG se combina con el 1,4-butano diisocianato (BDI) para dar como resultado una especie iónica intermediaria (molécula i en Figura 30). En esta etapa el hidrógeno del PEG es abstraído por el átomo de nitrógeno del BDI para formar la especie ii, la cual se recombina con otro BDI para generar un prepolímero intermediario que contiene dos grupos isocianato en cada extremo (especie iii). El siguiente paso del mecanismo ocurre cuando el prepolímero reacciona con el copolímero por injerto P(3HB-g-HEAAm) que actúa como extensor de cadena para formar el grupo uretano. El prepolímero también puede reaccionar con el 1,4-butanodiol (iv) para formar uretanos de cadena lineal, mientras que el copolímero (v) forma uretanos con cadena rígida (vi). La Figura 30 muestra al final de la reacción una posible estructura de la poliurea.

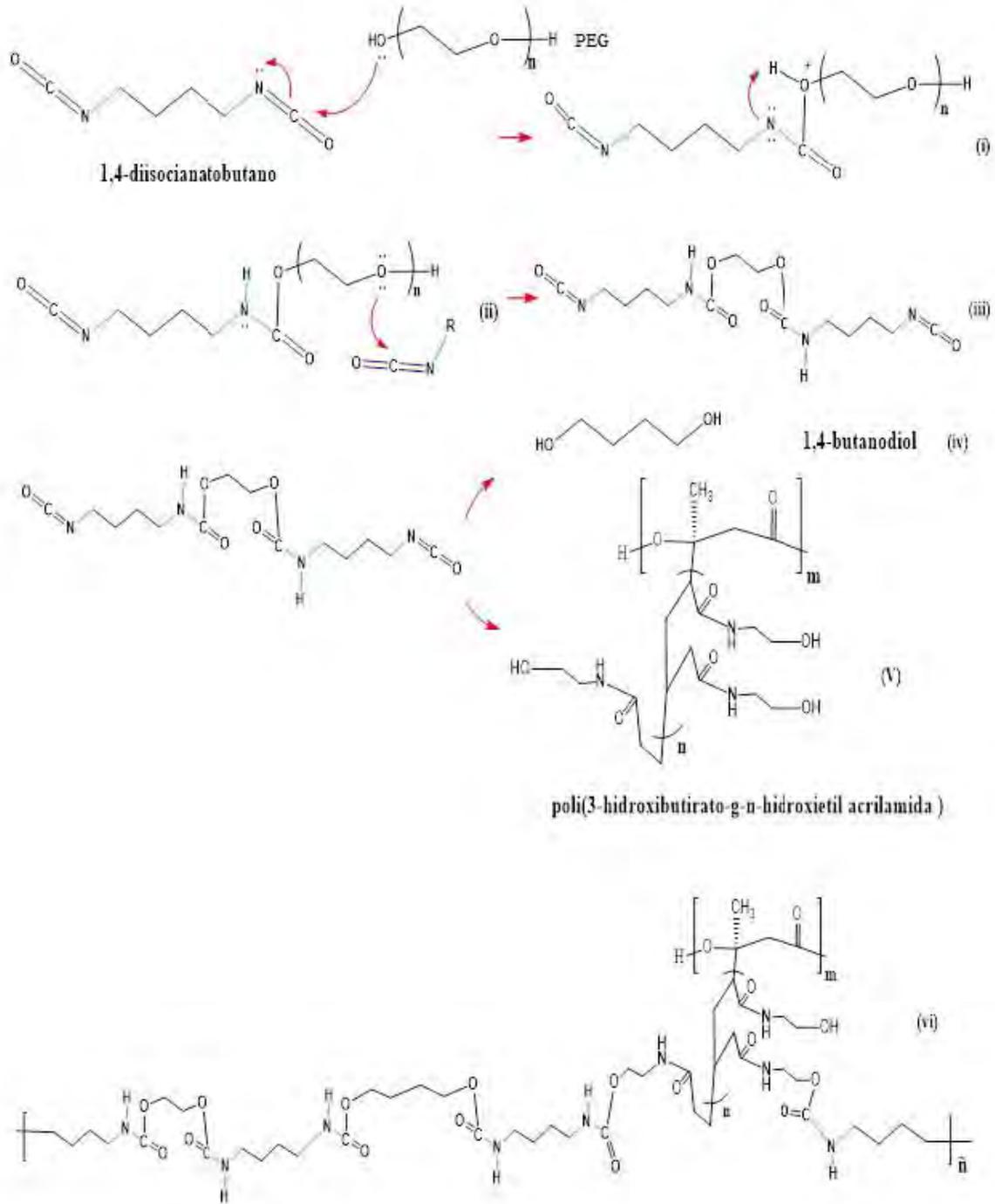


Figura 30: Propuesta del mecanismo de reacción del poliuretano obtenido con el copolímero por injerto P(3HB-g-HEAAm).

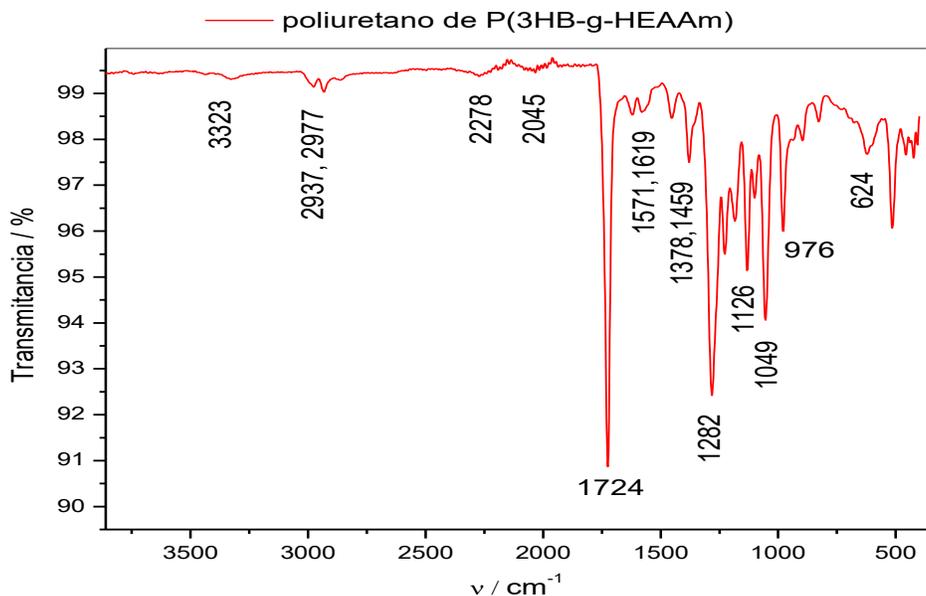


Figura 31: FTIR del poliuretano obtenido a partir del copolímero por injerto P(3HB-g-HEAAm).

Tabla 5: Principales señales del espectro infrarrojo del poliuretano obtenido.

Pico (cm ⁻¹)	Asignación
3185–3500 (intensidad baja)	Tensión N–H
2937, 2977	Estiramiento CH ₃ , CH ₂
1724	Estiramiento carbonilo de éster y uretano
1459	N–H de uretano
1378	C–O–C (éster)
1282	C–O–C (éster)
1221	C–O–C (éster)
1181	C–O–C (éster)
1126	C–O–C (éster)
1095	C–N
1049	C–O–C (éster)
976	C–O–C (éster)
624	N–H doblaje fuera del plano
2275–2250 (baja intensidad)	N=C=O
1571, 1619	N–H de uretano

La Figura 31 y la Tabla 5 muestran el espectro infrarrojo y las principales asignaciones de las señales del mismo. Como se puede observar, la señal en 3323 cm^{-1} , corresponde a la vibración de tensión de grupo N–H. Por otra parte, la señales a 2937 y 2977 cm^{-1} , son identificadas como la vibración de estiramiento de los grupos metílicos y metilénicos del material compuesto. La señal a 1724 cm^{-1} es del estiramiento del grupo carbonilo, mientras que la señal a 1459 cm^{-1} se asignó a estiramiento N–H de uretano. También se detectaron las señales en 624 cm^{-1} (N–H doblaje fuera del plano), $2275\text{--}2250\text{ cm}^{-1}$ (grupo N=C=O), en 1571 y 1619 cm^{-1} (estiramiento N–H de uretano), y en 1095 cm^{-1} que corresponde a la vibración de valencia del grupo C–N, que son una prueba irrefutable de que se formó el poliuretanoato. Múltiples señales en el rango de $976\text{--}1378\text{ cm}^{-1}$, se muestran en la Tabla 5 y son asignadas a vibraciones de los grupos ésteres (C–O–C) del P(3HB) reticulado.



Figura 32: Fotografía de los andamios obtenidos a partir del poliuretano sintetizado.

La Figura 32 muestra una fotografía de los andamios que se obtuvieron a partir del poliuretanoato. Los andamios tienen un aspecto cilíndrico, con un diámetro de 5 mm, y una altura de 3 mm aproximadamente. El peso promedio de los andamios está alrededor de los 350 ± 5 mg y el grado de porosidad fue de 75 ± 5 %. El módulo

de compresión y la tensión en la carga máxima fueron de 22 ± 3 y 3 ± 0.5 MPa respectivamente, lo que indica que los materiales no son muy resistentes. Este resultado se debe a que el grado de porosidad del material es muy elevado. La microscopía electrónica de barrido nos ayudó a caracterizar la superficie de los andamios (Figura 33). Se observa que la superficie del material es rugosa y porosa, con una elevada interconectividad. La porosidad en la superficie se encuentra en el rango de 1-10 μm . Sin embargo, es necesario realizar estudios más rigurosos como micrografía computarizada y Brunauer–Emmett–Teller (BET) para poder hacer una determinación más acertada de la porosidad de la superficie. No obstante, por las características del material, y la porosidad que se observa por SEM, así como sus propiedades mecánicas, el material compuesto obtenido es un buen candidato para aplicaciones en ingeniería de tejidos.

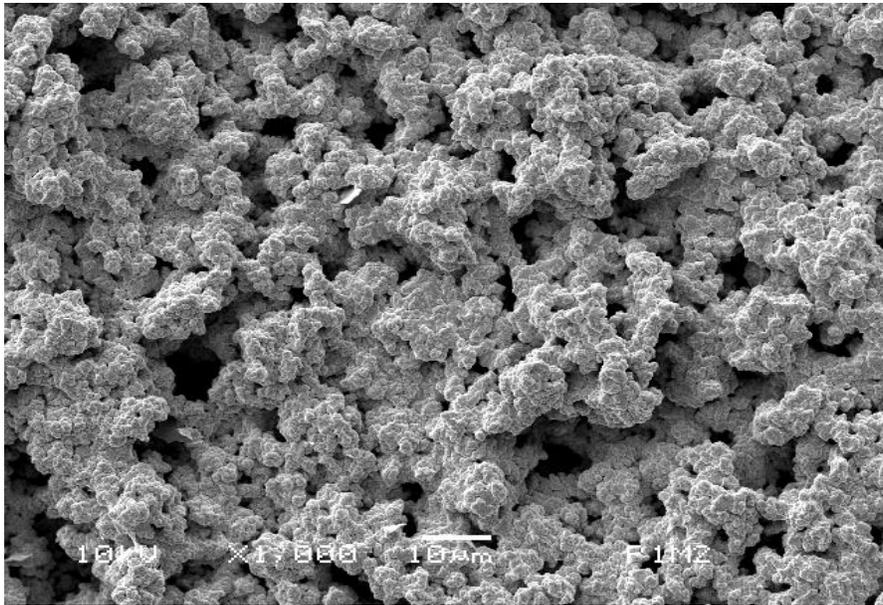


Figura 33: Micrografía del poliuretano obtenido.

5. Conclusiones

- Con base en los resultados obtenidos por las técnicas espectroscópicas y los estudios morfológicos, se puede concluir que se realizó la síntesis del copolímero P(3HB-g-HEAAm) por el método de copolimerización por injerto inducido por radiaciones gamma.
- Se estudió el efecto del disolvente en la síntesis y se encontró que el acetato de etilo fue el solvente más adecuado, ya que con éste se obtuvo el mayor grado de injerto.
- Con la información obtenida a partir de las pruebas de caracterización se pudo proponer el mecanismo de reacción para la obtención del copolímero P(3HB-g-HEAAm).
- Se sintetizó el poliuretano del copolímero utilizando una resina hidroxilada y poliisocianato, esto fue comprobado por medio de espectroscopía FTIR.
- Se propuso el mecanismo de reacción para la obtención del poliuretano.
- Se caracterizó por microscopía electrónica de barrido la superficie de los andamios obtenidos y se observó un alto grado de porosidad, interconectividad y propiedades mecánicas y químicas adecuadas para uso biológico, lo que les confiere potencial aplicación en ingeniería de tejidos en el crecimiento y proliferación celular para regeneración tisular.

6. Referencias

1. Bhattacharya, A., Rawlins, J. M. and Ray, P. (2009). *Polymer Grafting and Crosslinking* (pp. 1, 2). USA: Wiley.
2. Bhattacharya, A. and Misra, B.N. (2004). Grafting: a versatile means to modify polymers techniques, factors and applications. *Progress in Polymer Science*, 29(8), 767–814.
3. Meléndez Ortiz, H., Burillo, G. y Bucio, E. (2015). *Biomateriales aplicados al diseño de sistemas terapéuticos avanzados* (pp. 457, 458, 460-463, 466-469, 472-475). Portugal: Universidad de Coimbra.
4. Albella, J. (2003). *Láminas delgadas y recubrimientos: preparación, propiedades y aplicaciones* (pp. 383-385). España: Editorial CSIC.
5. Pasto, D., y Johnson, C. (2003). Espectroscopía infrarroja: Problemas espectrales infrarrojos. En D. Pasto y C. Johnson, *Determinación de estructuras orgánicas* (p. 169). España: Editorial Reverté.
6. Freifelder, D. (2003). Espectroscopía de absorción. En D. Freifelder, *Técnicas de bioquímica y biología molecular* (p. 455). España: Editorial Reverté.
7. Fried, J. R. (2003). Polymer synthesis. En J. R. Fried, *Polymer Science and Technology* (2nd Edition, p. 75). USA: Pearson Education, Inc.
8. De los Santos Villareal, G. and Elizalde, E. (2013). Polymer spectroscopy and compositional analysis. En E. Vivaldo Lima y E. Saldivar Guerra (Eds.) *Handbook of Polymer Synthesis, Characterization, and Processing* (p. 343). USA: Wiley.
9. Seymour, R. y Carraher, C. (2002). *Introducción a la química de los polímeros* (2^a Edición, pp. 162, 163). España: Editorial Reverté.
10. Callister, W. (2007). *Introducción a la ciencia e ingeniería de los materiales* (Vol. 1, pp. 56, 58). España: Editorial Reverté.
11. Adeva Ramos, P. (2000). Microscopía electrónica de barrido y microanálisis. En A. Vázquez Vaamonde. y J. De Damborenea González (Eds.) *Ciencia e ingeniería de la superficie de los materiales metálicos* (p. 485). España: CSIC.

12. Segura, D., Noguez, R. y Espín, G. (2007). Contaminación ambiental y bacterias productoras de plásticos biodegradables. *Biotecnología*, 14, 361-371.
13. González García, Y., Meza Contreras, J., González Reynoso, O. & Córdova, López J. (2013). Síntesis y biodegradación de polihidroxicanoatos: plásticos de origen microbiano. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 29(1), 77-115.
14. Barham, P., Keller, A., Otun, E. & Holmes, P. (1984). Crystallization and morphology of a bacterial thermoplastic: poly-3-hydroxybutyrate. *Journal of Materials Science*, 19(9), 2781-2794.
15. Kunioka, M. & Doi, Y. (1990). Thermal Degradation of Microbial Copolyesters: Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) and Poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate). *Macromolecules*, 23(7), 1933-1936.
16. Niaounakis, M. (2015). *Biopolymers: Applications and Trends* (pp. 17, 19). USA: Elsevier.
17. Carswell-Pomerantz, T., David, H., O'Donnell, H. & Peter, P. (1995). An electron spin resonance study of the radiation chemistry of poly(hydroxybutyrate). *Radiation Physics and Chemistry*, 45(5), 737-744.
18. González, M., Ortiz del Toro, P., Rapado Paneque, M. & Galego Fernández, N. (2009). Effect of Solvents on Gamma Radiation-Induced Graft Copolymerization of Vinyl Acetate onto Poly(3-hydroxybutyrate). *International Journal of Polymer Analysis and Characterization*, 14(3), 231-245.
19. González Torres, M., Ortiz del Toro, P., Rapado Paneque, M. & Galego Fernández, N. (2008). Radiation-Induced Graft Copolymerization of Vinyl Acetate onto Poly(3-hydroxybutyrate): Synthesis and Characterization. *International Journal of Polymer Analysis and Characterization*, 13(5), 376-392.
20. Sato, H., Murakami, R., Mori, K., Ando, Y., Takahashi, I., Noda, I. & Ozaki, Y. (2009). Specific crystal structure of poly(3-hydroxybutyrate) thin films studied by infrared reflection-absorption spectroscopy. *Vibrational Spectroscopy*, 51(1), 132-135.

21. Qin, X., Chen, A., Cao, L., Zhang, Y., Li, L. & Guo, X. (2017). Antifouling performance of nano-sized spherical poly(N-hydroxyethyl acrylamide) brush. *Colloids Surfaces B: Biointerfaces*, 155, 408-414.
22. Chen, Y., Yang, G. & Chen, Q. (2002). Solid-state NMR study on the structure and mobility of the noncrystalline region of poly(3-hydroxybutyrate) and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate). *Polymer*, 43(7), 2095-2099.
23. Zhang, L., Tang, H., Hou, G., Shen, Y. & Deng, F. (2007). The domain structure and mobility of semi-crystalline poly(3-hydroxybutyrate) and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate): A solid-state NMR study. *Polymer*, 48(10), 2928-2938.
24. González Torres, M., Rodríguez Talavera, R., Vargas Muñoz, S., González Perez, M., Carreón Castro, M. P., Cerna Cortes, J. & Esparza Muñoz, A. (2015). Effects of solvents on the radiation grafting reaction of vinyl compounds on poly (3-hydroxybutyrate). *Radiation Physics and Chemistry*, 108, 87-94.
25. Narumi, A., Chen, Y., Sone, M., Fuchise, K., Sakai, R., Satoh, T., Duan, Q., Kawaguchi, S. & Kakuchi, T. (2009). Poly(N-hydroxyethylacrylamide) prepared by atom transfer radical polymerization as a nonionic, water-soluble, and hydrolysis-resistant polymer and/or segment of block copolymer with a well-defined molecular weight. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 210(5), 349-358.
26. Izumi, C. & Temperini, M. (2010). FT-Raman investigation of biodegradable polymers: Poly(3-hydroxybutyrate) and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate). *Vibrational Spectroscopy*, 54(2), 127-132.
27. Kann, Y., Shurgalin, M. & Krishnaswamy, R. (2014). FTIR spectroscopy for analysis of crystallinity of poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate) polymers and its utilization in evaluation of aging, orientation and composition. *Polymer Testing*, 40, 218-224.
28. González Torres, M., González Perez, M., Perez González, A., Reyes Cervantes, Eric. & Solís Rosales, S.. (2011). Síntesis y caracterización de una

- red semi-interpenetrada de poli (3-hidroxibutirato) y acrilamida obtenida por polimerización de injerto radio-inducido. *Superficies y Vacío*, 24(3), 96-103.
29. González Torres, M., Vargas Muñoz, S., Solís Rosales, S., Carreón Castro, M. P., Esparza Muñoz, R., Olayo González, R., Estévez González, M., & Rodríguez Talavera, R. (2015). Radiation-induced graft polymerization of chitosan onto poly(3-hydroxybutyrate). *Carbohydrate Polymers*, 133, 482-492.
30. González Torres, M., Rodríguez Talavera, R., Vargas Muñoz, S., Carreón Castro, M. P., Rivera Muñoz, E., Hernández Padrón, G. & Quintanilla Guerrero, F. (2015). Crystalline and spectroscopy characterization of poly(2-aminoethylmethacrylate hydrochloride) chains grafted onto poly[(R)-3-hydroxybutyric acid]. *Vibrational Spectroscopy*, 76, 55-62.
31. Škrbić, Ž. & Divjaković, V. (1996). Temperature influence on changes of parameters of the unit cell of biopolymer PHB. *Polymer*, 37(3), 505-507.