

Sumario

SUMARIO	1
ANEXO B: MATERIALES Y MÉTODOS	3
B.1. INSTRUMENTACIÓN	3
B.2. DISOLVENTES Y REACTIVOS	5
B.3. ANÁLISIS TÉRMICO	7
B.3.1. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)	7
B.4. CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA	9
B.4.1. Espectroscopia de infrarrojo	9
B.4.2. Espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN)	14
B.4.3. Espectroscopia de ^1H -RMN	15



ANEXO B: MATERIALES Y MÉTODOS

B.1. INSTRUMENTACIÓN

A continuación se enumeran las técnicas instrumentales y los equipos utilizados en la realización del trabajo experimental del presente Proyecto Final de Carrera. La instrumentación pertenece al Departamento de Ingeniería Química de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Industrial de Barcelona.

Las medidas de peso se han realizado en una balanza electrónica Mettler XS 105 DU con precisión de 0,01 mg, en una Mettler AC 100 con precisión de 0,1 mg, o bien en una Mettler P1210 con precisión de 10 mg, en función de la cantidad de muestra a pesar y de la precisión requerida.

Las medidas de pH se han realizado con un pH-metro Crisol GLP 21.

El equipo utilizado para eliminar el agua de los productos de síntesis ha sido un liofilizador de HUCOA ERLÖS, mientras que el rotavapor usado es de la marca BÜCHI, modelo R-200 y se encuentra acoplado a un baño calefactor BÜCHI modelo B-490.

Los espectros de infrarrojo se han registrado en un espectrofotómetro de transformada de Fourier Jasco, de la serie FT/IR-4100. Este instrumento consta de un accesorio ATR Specac MKII Golden Gate con cristal de diamante para la medida de la reflectancia total atenuada (ATR) y con un controlador de temperatura automático Specac West 6100+ que permite calentar hasta los 200 °C. Se ha trabajado en un rango entre 4000 y 500 cm^{-1} . Las muestras no han requerido ningún tratamiento previo para su estudio mediante este instrumento.

Los espectros de ^1H -RMN se han registrado en un espectrómetro Bruker AMX-300 de transformada de Fourier, operando a 300,13 MHz.

Los análisis térmicos se han realizado en un calorímetro diferencial de barrido (DSC) Q100 de TA-Instruments, dotado con un sistema de refrigeración y control programado para ciclos de ascenso y descenso de temperatura (RSC) que permite alcanzar una temperatura entre -90 °C y 550 °C. El instrumento también consta de un sistema automático de recogida de muestra (DSC Autosampler) con capacidad para 50 muestras y 5 referencias. El equipo requiere tres calibraciones: sin muestras, con zafiros y con indio ($T_m = 429,75 \text{ K}$, $\Delta H_m = 3,267 \text{ kJ/mol}$)





B.2. DISOLVENTES Y REACTIVOS

Los disolventes y reactivos utilizados en el presente Proyecto fueron de calidad PA-ACS y se utilizaron sin purificación previa.

Los disolventes utilizados en la síntesis química han sido suministrados por Panreac y Scharlau mientras que los disolventes deuterados utilizados en los análisis de RMN han sido suministrados por MERCK o Aldrich, con un grado de deuteración mínimo del 99,8 %.

Los reactivos de síntesis han sido suministrados por Sigma-Aldrich-Fluka y Acros.





B.3. ANÁLISIS TÉRMICO

La denominación de análisis térmico engloba el conjunto de técnicas basadas en la medida de la relación dinámica entre alguna propiedad de la materia y la temperatura.

Este análisis resulta útil para estudiar sustancias que son sensibles a los cambios térmicos, absorbiendo o cediendo calor. De esta manera se puede obtener información sobre propiedades y transformaciones físicas y/o químicas de una muestra cuando es sometida a variaciones de temperatura. También permite la identificación y el control de pureza y estabilidad de las sustancias, ya que las transiciones de estado ocurren a temperaturas características.

La caracterización térmica de los polímeros estudiados en este Proyecto se han llevado a cabo mediante **calorimetría diferencial de barrido (DSC)**. Concretamente, el análisis del proceso de polimerización para el poli[(ácido glicólico)-*alt*-(ácido aminohexanoico)] y la obtención de la Temperatura de fusión en el equilibrio para este polímero. Además, mediante esta técnica también se han obtenido la temperatura de fusión (T_m), transición vítrea (T_g) y cristalización (T_c) tanto del poli[(ácido 4-hidroxibutírico)-*alt*-(ácido glicólico)] como del poli[(ácido glicólico)-*alt*-(ácido aminohexanoico)]. Por último, la polimerización de las mezclas de monómeros que dan paso a los copolímeros estudiados en el apartado 8.6. de este Proyecto se realizaron también mediante DSC.

B.3.1. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

La calorimetría diferencial de barrido es una técnica que mide el flujo de calor intercambiado en una muestra la variar su temperatura. Con esta técnica se pueden determinar, entre otras, las temperaturas a las que se produce un cambio de estado, un cambio estructural o un proceso degradativo, gracias a que los cambios físicos o químicos de una sustancia van asociados a un intercambio de calor. Además, la técnica permite determinar la magnitud energética de este cambio.

Los análisis térmicos se han efectuado en un calorímetro diferencial de barrido DSC Q-100 con muestreador automático y equipado con un dispositivo de enfriamiento por refrigeración (RCS). Este sistema, que consta de un compresor en dos etapas, consigue alcanzar temperaturas de hasta $-90\text{ }^{\circ}\text{C}$ y un funcionamiento continuado a temperaturas de hasta $550\text{ }^{\circ}\text{C}$. El instrumento, que opera con una purga de nitrógeno con un caudal de 50 ml/min , consta de dos celdas. En una de las celdas se coloca la cápsula que contiene la muestra a analizar mientras que en la otra celda se sitúa una cápsula vacía que conforma la referencia. Ambas celdas están equipadas con un sensor para la medida de la temperatura y una



resistencia de calentamiento. Puesto que las capacidades caloríficas de la muestra y la referencia van a ser diferentes, se necesita comunicar potencia térmica a través de la resistencia a la celda más fría para mantener ambas celdas a la misma temperatura. Dicha potencia es proporcional a la diferencia entre las capacidades caloríficas de las dos celdas siempre y cuando se calienten simultáneamente y a la misma velocidad. La energía suministrada (potencia) se mide como una función de la temperatura y del tiempo, teniendo como requisito el hecho de mantener en todo momento la igualdad de temperatura entre las dos celdas. De esta manera, el termograma obtenido muestra el flujo de calor frente al tiempo o a la temperatura.

En la Figura B.1. se presenta un esquema del instrumento.

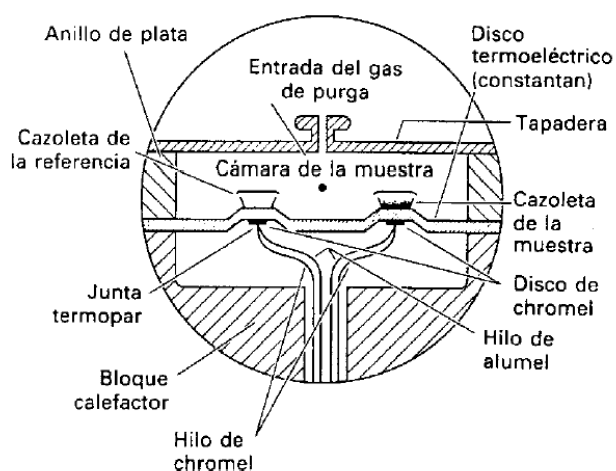


Figura B.1. Esquema de las celdas de un calorímetro de DSC.

En el caso de los materiales poliméricos, las transiciones térmicas más importantes que pueden observarse en DSC son la temperatura de transición vítrea (T_g) y la temperatura de fusión (T_m). En los polímeros amorfos la T_g es la única transición que se registra y aparece como un cambio abrupto de la línea base. La fusión se manifiesta en un pico endotérmico con subida más o menos gradual y regular según la naturaleza e historia térmica de la muestra, y bajada brusca hasta recobrar la línea base. Cuando tras la fusión, la línea base se mantiene puede considerarse que el material es térmicamente estable respecto al proceso de fusión. Lo contrario es indicio de descomposición del material.

Para este Proyecto Final de Carrera, la caracterización térmica de los polímeros estudiados se realiza en cuatro barridos, tres de ellos de calentamiento y uno de enfriamiento de la muestra. Este protocolo se haya detallado en el apartado 6.2. *Análisis de los termogramas*. La cantidad de muestra analizada en cada ensayo se encuentra entre 5 y 10 mg.



B.4. CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA

B.4.1. Espectroscopia de infrarrojo

El espectro electromagnético comprende un amplio intervalo de radiaciones que van desde la radiación γ hasta las microondas. La zona de radiación infrarroja abarca las radiaciones con longitudes de onda desde $0.5 \mu\text{m}$ hasta 1mm pero únicamente la región entre 2 y $20 \mu\text{m}$, conocida como la de infrarrojo medio, es de interés en el análisis de los compuestos orgánicos.

La espectroscopia de infrarrojo constituye una técnica de caracterización fisicoquímica de amplio uso que se basa en la excitación de los modos de vibración de las moléculas por la absorción de la radiación infrarroja.

A cualquier temperatura por encima del cero absoluto, los enlaces químicos entre dos átomos se encuentran en estado de vibración. Estas vibraciones pueden ser de dos tipos: de **tensión** y de **flexión** (Figura B.2). Una vibración de tensión supone un cambio continuo en la distancia interatómica a lo largo del eje de enlace entre dos átomos. Las vibraciones de flexión se caracterizan por un cambio en el ángulo entre dos enlaces y son de cuatro tipos: de tijereteo, de balanceo, de aleteo y de torsión. Cualquier cambio en la amplitud de estas vibraciones da lugar a un pico de absorción del espectro.

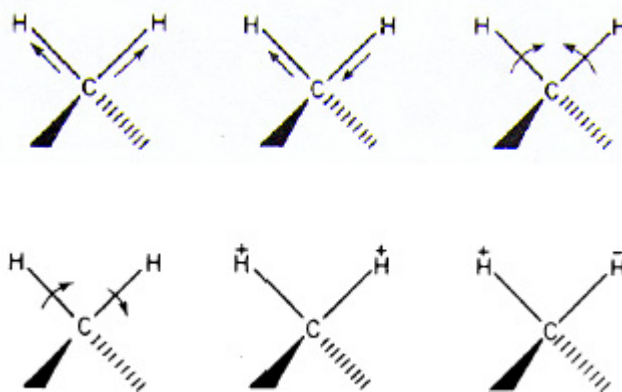


Figura B.2. Deformaciones de tensión y flexión del grupo metileno. Las flechas indican movimiento en el plano de la página y los signos + y -, movimientos en dirección del plano del papel hacia arriba y hacia abajo respectivamente.

La luz infrarroja se encuentra en el mismo rango de frecuencia que la molécula en vibración. En consecuencia, si se irradia una molécula con radiación IR, ésta absorberá aquellas frecuencias de la luz que sean exactamente iguales a las frecuencias de vibración de los distintos enlaces que la constituyen. Por lo tanto, la interacción de la radiación IR con los



compuestos orgánicos da lugar a una excitación de los electrones de los enlaces químicos que conlleva una absorción de energía a longitudes de onda específicas para cada enlace.

El espectro de IR de un compuesto es la representación de la absorción que ocurre en la región infrarroja en función de la frecuencia de radiación. La cantidad de radiación absorbida se mide como % de Transmitancia, T . Teniendo en cuenta que cada molécula o grupo funcional tiene una absorción característica, a una longitud de onda determinada, a partir del espectro de absorción es posible identificar los grupos funcionales de cada compuesto.

La espectroscopia de infrarrojo se ha empleado para caracterizar los compuestos sintetizados en este Proyecto Final de Carrera, identificando los grupos funcionales de cada monómero y polímero obtenido. Además, mediante esta técnica se ha seguido la evolución de las reacciones de polimerización para las sales de cesio y potasio del ácido N-cloroacetil-6-aminoheptanoico, constatándose la desaparición de los grupos carboxilo de los monómeros, así como la intensificación de los grupos éster del polímero formado durante la reacción. Finalmente, el análisis de la cristalización isotérmica de los polímeros poli[(ácido 4-hidroxibutírico)-*alt*-(ácido glicólico)] y poli[(ácido glicólico)-*alt*-(ácido aminoheptanoico)] se realizó también mediante espectroscopia de infrarrojo.

En la actualidad existen diferentes tipos de espectrofotómetros, de entre los cuales pueden destacarse los de barrido de doble haz y los de transformada de Fourier (FT-IR). También puede añadirse a este instrumento un sistema de ATR (Reflectancia Total Atenuada).

4.1.1. Espectrofotómetro de barrido de doble haz

Constan de una *fente emisora* que origina un haz de luz compuesto de todas las frecuencias de la radiación infrarroja. Este haz se hace pasar a través de la *muestra* y de un *monocromador*, en el cual se seleccionan las frecuencias de una en una y se hacen pasar al detector. El *detector* se encarga de emitir una señal electrónica proporcional a la intensidad de la luz que recibe. Esta señal se amplifica convenientemente antes de ser registrada. (En la Figura B.3 se presenta un esquema de este instrumento).

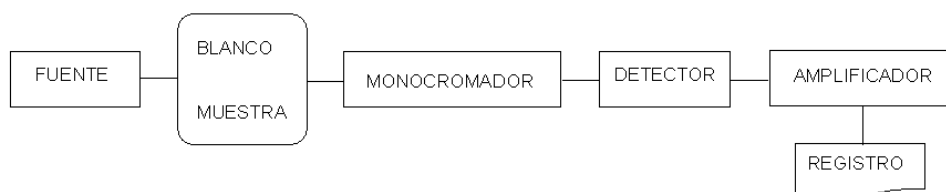


Figura B.3. Esquema general de un espectrofotómetro de barrido de doble haz.



En la práctica, el detector recibe dos haces: uno que ha atravesado la muestra y otro de referencia que sólo ha atravesado el disolvente (si la muestra se halla disuelta). De este modo, el espectrofotómetro mide directamente la fracción de luz absorbida o transmitida sólo por la muestra, que se refleja en una banda o pico de una longitud de onda determinada.

4.1.2. Espectrofotómetro de transformada de Fourier

En este tipo de espectrofotómetro se hace incidir todo el espectro de longitudes de onda sobre la muestra de forma que todas las frecuencias son detectadas simultáneamente. De esta manera no es necesaria la presencia de un monocromador.

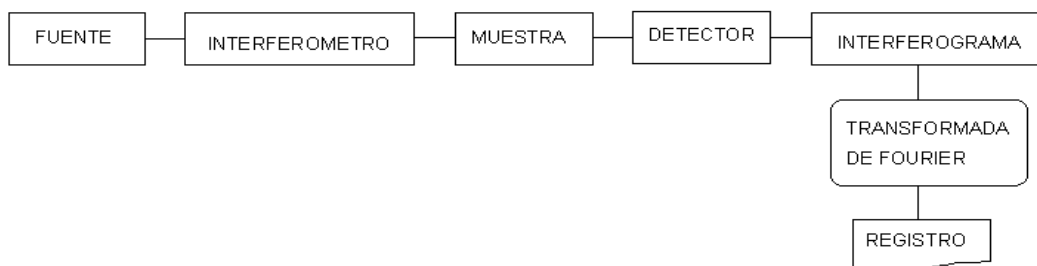


Figura B.4. Esquema general de un espectrofotómetro IR de transformada de Fourier.

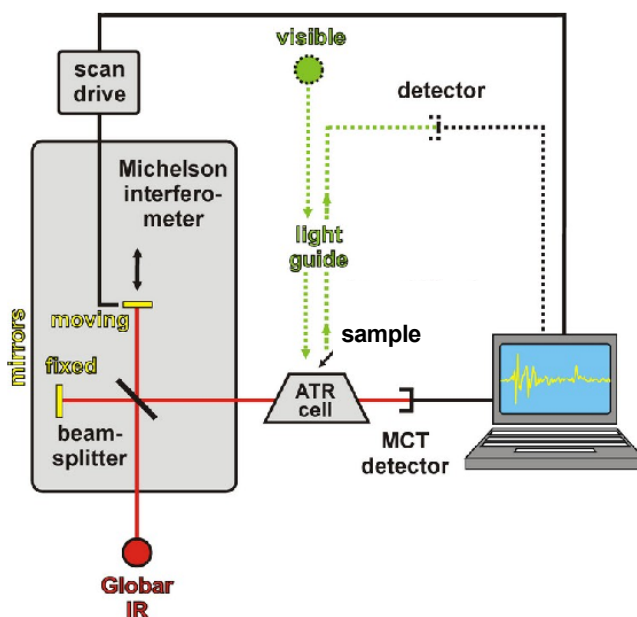


Figura B.5. Esquema de un espectrofotómetro IR de transformada de Fourier, detallando la estructura del interferómetro. En este caso el espectrofotómetro lleva incorporado un sistema ATR.



El haz de luz que entra en el *interferómetro* incide en el *beamsplitter* (o separador del haz) y se divide en dos haces, uno dirigido al espejo fijo y otro al móvil (ver Figura B.5). Una vez reflejados en los espejos, ambos haces se recogen de nuevo en el *beamsplitter* y el haz resultante se envía al compartimiento que contiene la muestra. La radiación transmitida se recoge entonces como una señal de interferencias (interferograma) a la que se le aplica la operación matemática de Transformada de Fourier para obtener el espectro.

4.1.3. Espectrofotómetro de FTIR-ATR

El sistema de Reflexión Total Atenuada (ATR) es de gran utilidad para la caracterización de materiales que son demasiado gruesos o tienen una absorción demasiado fuerte para ser analizados mediante espectroscopia de transmisión.

El método se basa en el hecho de que cuando un haz de radiación pasa a través de un prisma de alto índice de refracción tiene lugar una reflexión total en la cara posterior del prisma. Si se coloca una muestra en la cara posterior del prisma, la radiación penetrará unos pocos micrómetros más allá de la interfase, en el material de la muestra de bajo índice de refracción, antes de ser reflejada totalmente. Esta radiación puede ser absorbida selectivamente por la muestra y el espectro resultante presentar un aspecto muy similar al de absorción. Un esquema de este tipo de instrumentos se muestra en la Figura B.6.

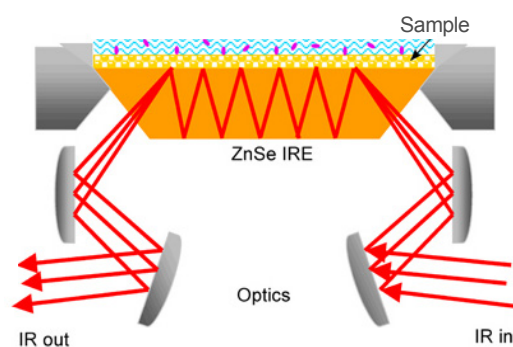


Figura B.6. Esquema de un sistema de ATR.

La metodología que se utiliza para la realización de la espectroscopia infrarroja depende del tipo de muestra utilizada. Para la espectroscopia IR o FTIR con muestras líquidas, el espectro se adquiere con el líquido colocado entre dos ventanas transparentes de una sal que no absorba en el infrarrojo (normalmente NaCl). En el caso que las muestras sean sólidas, el espectro puede hacerse en disolución, con un disolvente que absorba poco en el IR, o también en dispersión sólida en bromuro potásico (KBr). En el caso del FTIR-ATR las muestras no requieren de tratamiento previo para ser analizadas pero se debe conseguir un contacto total con la superficie del prisma durante el análisis.



La detección de los grupos funcionales presentes en la muestra es la principal aplicación de esta técnica. A continuación se detalla el número de onda de las bandas de absorción más características de las poliesteramidas y poliésteres (Tabla B.1)

Tabla B.1. Principales bandas de absorción de los poliésteres y poliesteramidas.

$\bar{\nu}$ (cm ⁻¹)	Grupo	Tipo de vibración
3300	Amida A	Vibración de tensión del N-H
3100	Amida B	Sobretono de la amida II
2940	Enlace C-H	Tensión asimétrica del C-H
2860	Enlace C-H	Tensión simétrica del C-H
1740	Éster	Vibración de tensión de C=O
1650	Amida I	Vibración de tensión de C=O
1550	Amida II	Vibración de torsión del N-H y tensión del C-H
1460	Enlace C-H	Deformación asimétrica del C-H
1380	Enlace C-H	Deformación simétrica del C-H
1300-1250	Amida III	Interacciones entre vibración, tensión y torsión N-H, vibraciones de tensión del C-C y torsión del CH ₂ y CH.
1100	Éter	Vibración de tensión del C-O
725	Enlace C-H	Deformación simétrica del C-H
700	Amida V	Vibración de torsión fuera del plano del N-H
627	Amida IV	Vibración de torsión O=C-N
600	Amida VI	Vibración de torsión fuera del plano del C=O

Como se puede observar, las bandas más características son las de los enlaces éster, amida y los enlaces C-H. Por otro lado, las bandas amida A, B y de I a IV son vibraciones del enlace amida en el plano, mientras que las bandas V y VI corresponden a vibraciones perpendiculares al plano.

Es importante destacar que los números de onda expresados en la Tabla B.1 son orientativos, ya que pueden variar según la constitución y conformación del polímero, aportando a la técnica cierta capacidad de caracterización estructural.



B.4.2. Espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN)

La espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN) representa una de las técnicas más importantes en la determinación estructural de compuestos orgánicos. En este Proyecto Final de Carrera ha permitido identificar y comprobar la pureza de los compuestos sintetizados, así como ofrecer una primera aproximación de la estructura química de los compuestos.

La técnica espectroscópica de RMN se basa en la medida de absorción de radiación electromagnética en la región de radiofrecuencias de 4 a 600 MHz aproximadamente. La técnica tiene su origen en las propiedades magnéticas de los núcleos atómicos, puesto que la interacción del momento magnético nuclear con un campo magnético externo B_0 induce al núcleo atómico a orientarse según este campo externo y permanecer en este estado de mínima energía. Estos cambios de orientación conducen a la generación de un diagrama formado por diferentes niveles energéticos y la transición entre estos niveles puede ser detectada, amplificada y registrada en lo que sería una línea espectral o señal de resonancia.

Los espectros de RMN se generan para compuestos con núcleos de momento magnético distinto de cero, como son el protón (^1H) y el carbono 13 (^{13}C). Es importante saber que para un mismo tipo de núcleo, las frecuencias de resonancia son distintas ya que los entornos químicos son diferentes. La posición, que está asociada a la identidad de los diferentes grupos vecinos, se expresa como desplazamiento químico en ppm respecto a la señal de un grupo de referencia (cuya señal aparece a 0 ppm).

Los instrumentos conocidos como espectrómetros de resonancia magnética nuclear consisten en superconductores que producen un campo magnético de elevada intensidad (50-100 kG), dentro de los cuales se coloca la muestra. Este instrumento utiliza magnetos muy potentes e irradia la muestra con radiación electromagnética en la región de radiofrecuencia. La Figura B.7 presenta un esquema general de este tipo de instrumentos.

Generalmente, se irradia al compuesto con energía electromagnética de frecuencia constante mientras se varía la fuerza del campo magnético. Cuando el campo magnético alcanza una determinada fuerza, los núcleos absorben energía y se produce la resonancia. Esto genera una pequeña corriente eléctrica en una bobina que rodea la muestra; el instrumento amplifica esta corriente y la presenta como una señal en el espectro.



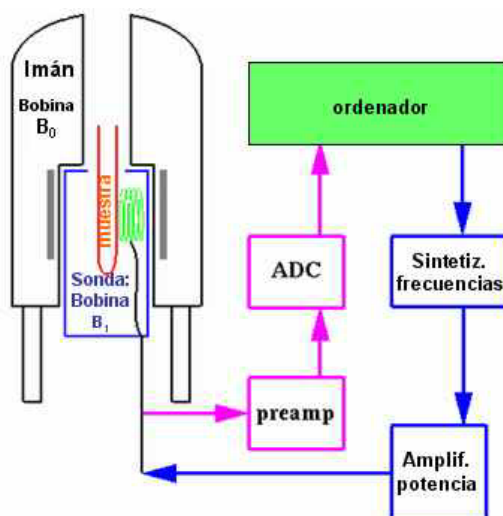


Figura B.7. Componentes de un espectrómetro de RMN.

B.4.3. Espectroscopia de ^1H -RMN

El protón o núcleo de hidrógeno posee propiedades magnéticas de forma que si se coloca en un campo magnético fuerte y simultáneamente se le irradia energía electromagnética podrá absorber energía mediante el proceso de resonancia magnética. Esta energía absorbida está cuantificada, obteniéndose para valores específicos del campo magnético y de la frecuencia de la radiación electromagnética aplicados.

Dentro de la estructura química de un compuesto con varios hidrógenos, algunos núcleos se encuentran en regiones de mayor densidad de electrones que otros, en función de los átomos circundantes. También resultan diferentes los campos magnéticos procedentes de otros protones cercanos. Como resultado, cada protón absorbe a una intensidad de campo magnético ligeramente diferente que el resto, provocando un desplazamiento distinto en el espectro.

Las características de los espectros de resonancia magnética de protón que proporcionan información sobre la estructura de un compuesto comprenden, además de los desplazamientos específicos para cada grupo de protones, los siguientes puntos:

- a) El número de señales en cada espectro corresponde al número de diferentes tipos de protón en cada compuesto.
- b) Las áreas relativas de los picos son proporcionales al número de hidrógenos que producen la señal. Esta circunstancia permite facilitar la asignación de los picos asociados a cada grupo de átomos de hidrógeno.



c) El acoplamiento de señales es un fenómeno que se produce por las influencias magnéticas de los hidrógenos presentes en átomos adyacentes. Este hecho provoca que las señales se dividan en $n+1$ picos donde n es el número de protones vecinos equivalentes químicamente, pero distintos al núcleo observado. Así, pueden surgir dobletes cuando hay un protón vecino, tripletes cuando son dos, etc. Si el núcleo observado tiene protones vecinos distintos entre sí, los acoplamientos de ambos se multiplican.

En este Proyecto se ha utilizado la espectroscopia de ^1H -RMN para confirmar la estructura química de los productos sintetizados. La técnica resulta útil para la identificación de productos de degradación, la presencia de grupos terminales y posibles ramificaciones. Además, la presencia de grupos terminales en el espectro puede utilizarse para determinar el peso molecular (M_n) de los polímeros. Por último, también resulta útil en el seguimiento de la degradación de polímeros: la aparición de nuevas señales o la disminución de la intensidad de otras existentes en el espectro inicial sirve para conocer el avance de la degradación.

