



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y BIODEGRADACIÓN A NIVEL
LABORATORIO DEL POLI-(TEREFTALATO DE
DIETILENGLICOL)**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
Q U Í M I C O**

P R E S E N T A :

URIEL CABRERA FRAUSTO



MÉXICO, D.F.

2007



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.

AGRADECIMIENTOS

A MI MADRE

Gracias por tu amor, paciencia, consejos pero sobre todo por enseñarme a luchar por lo que quiero y a decir yo puedo, por enseñarme a no flaquear nunca, en verdad mil gracias.

AGRADECIMIENTOS

A Dios primeramente por haberme dado el talento y la sabiduría para realizarme como profesionista y llegar hasta donde me encuentro ahora.

A mis abuelos por todo su amor, cariño y cobijo que ellos me han dado, por sus sabios consejos y el impulso que me dieron para lograr esto.

A mis tíos Hugo, Mary, David y Martha por su amor y apoyo moral que siempre he tenido en ellos.

A mis primos Erika, Ruth, Dana, Ami y Samuel por ser una gran inspiración para mis logros pero también ser yo un ejemplo para ellos de que sí se puede.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por abrirme sus puertas y haberme permitido estar en sus aulas, pasillos, jardines, etc y además por haberme dado el conocimiento suficiente para lograr este título.

Al Dr. M. Javier Cruz Gómez por haber creído en mi y por haberme dado la oportunidad de colaborar con el.

Al Dr. Néstor Noé López Castillo por su apoyo, su amistad incondicional y sus sabios consejos.

A la Dra. Evangelina Camacho Frías por todo el apoyo que me brindó, por su tiempo, sus enseñanzas y su gran preocupación porque terminara mi carrera.

Al M. en C. Felipe Pastrana Ramírez por su apoyo y amistad incondicional, consejos y la oportunidad de haber colaborado con el.

A Beto gracias por todo el apoyo que me diste, tu amistad y enseñanzas de matemáticas.

A Lupe por todo el apoyo y amistad que me ha dado, por tus consejos.

A Chucho por su amistad y todos los momentos que pasamos juntos en nuestros ratos libres.

A Poncho por su amistad incondicional, por todos los momentos que pasamos juntos en la Facultad.

A mí jurado toda mi admiración y respeto.

A todos mis amigos de la Facultad de Química por haberme brindado su amistad, por esos momentos inolvidables y su apoyo moral.

AGRADECIMIENTOS

A todos mis amigos de la infancia por su amistad incondicional y apoyo moral que siempre obtuve de ellos.

ÍNDICE

	PAG
ÍNDICE	i
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
ÍNDICE DE TABLAS	x
INDICE DE ESQUEMAS	xi
ABREVIATURAS	xii
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	1
1.2 OBJETIVO GENERAL	2
1.3 OBJETIVOS PARTICULARES	2
1.4 HIPÓTESIS	2
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1 POLÍMEROS	3
2.2 DESARROLLO HISTÓRICO DE LOS POLÍMEROS	5
2.3 PRODUCCIÓN DE POLÍMEROS	8
2.4 USOS DE LOS POLÍMEROS	13
2.5 POLIÉSTERES	19
2.6 TRANSESTERIFICACIÓN	20
2.6.1 POLIOLES – POLIÉSTER	21
2.7 MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN DE POLÍMEROS	22
2.7.1 ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO	22
2.7.2 CROMATOGRAFÍA DE PERMEACIÓN EN GEL	23
2.7.3 VISCOSIMETRÍA	24
2.7.4 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO	27
2.7.5 PESO MOLECULAR DE LOS POLÍMEROS	28
2.8 TIPOS DE DEGRADACIÓN POLIMÉRICA	31

2.8.1 BIODEGRADACIÓN DE POLÍMEROS	33
2.8.2 POLÍMEROS BIODEGRADABLES DE USO COMERCIAL	35
2.8.3 POLIÉSTERES BIODEGRADABLES	36
2.8.3.1 POLIÉSTERES ALIFÁTICOS BASADOS EN DIOLES Y DIÁCIDOS	40
2.8.3.2 POLIÉSTERES BASADOS EN MICROORGANISMOS	41
3. DESARROLLO EXPERIMENTAL Y RESULTADOS	42
3.1. SÍNTESIS DEL POLI(TEREFTALATO DE DIETILENGLICOL). METODOLOGÍA GENERAL	43
3.2 PESOS MOLECULARES PROMEDIO DEL POLI(TEREFTALATO DE DIETILENGLICOL)	45
3.3 CURVA UNIVERSAL PARA LA DETERMINACIÓN DE PESOS MOLECULARES	46
3.4 ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO	47
3.5 PRUEBAS DE BIODEGRADACIÓN	47
3.5.1 PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO	47
3.5.2 DETERMINACIÓN DEL CRECIMIENTO BACTERIAL	49
3.5.3 TÉCNICAS DE PREPARACIÓN DEL MATERIAL ANTES DE BIODEGRADAR	50
3.5.4 BIODEGRADACIÓN DEL POLI(TEREFTALATO DE DIETILENGLICOL) Y CARACTERIZACIÓN DE LOS SUBPRODUCTOS DEL PROCESO	50
3.6 RESULTADOS	51
3.6.1 OBTENCIÓN DEL POLI(TEREFTALATO DE DIETILENGLICOL)	52
3.6.1.1 METODOLOGÍA 1	52
3.6.1.2 METODOLOGÍA 2	65
3.6.1.3 METODOLOGÍA 3	76
3.7 CARACTERIZACIÓN DEL POLI(TEREFTALATO DE DIETILENGLICOL)	78
3.7.1 PRUEBAS DE BIODEGRADACIÓN DEL POLI(TEREFTALATO DE DIETILENGLICOL)	82
3.8 CARACTERIZACIÓN DE LOS SUBPRODUCTOS DEL PROCESO DE BIODEGRADACIÓN DEL POLI(TEREFTALATO DE DIETILENGLICOL)	87
3.9 PRUEBA DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO APLICADA A LA MORFOLOGÍA DEL POLI(TEREFTALATO DE DIETILENGLICOL)	124
3.10 CARACTERIZACIÓN POR CROMATOGRAFÍA DE PERMEACIÓN EN GEL DEL PRODUCTO BIODEGRADADO	127

3.11 PRUEBA DE IGNICIÓN PARA EL POLI(TEREFTALATO DE DIETILENGLICOL) BIODEGRADADO	129
4. CONCLUSIONES	130
4.1 SUGERENCIAS	133
5. BIBLIOGRAFÍA	134
APÉNDICE A TÉCNICAS DE PURIFICACIÓN	A - 1
APÉNDICE B MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS	B - 1

INDICE DE FIGURAS

	PAG
Figura 2.1. Gráfica de la producción y consumo de polipropileno del año 2000 al 2005.	12
Figura 2.2. Gráfica de la producción y consumo del poli(tereftalato de etileno), (PET) (grado botella) del año 2000 al 2005.	13
Figura 2.3. Gráfica de usos del poli(cloruro de vinilo) como homopolímero en el año 1999.	14
Figura 2.4. Gráfica de usos del poli(cloruro de vinilo) como homopolímero en el año 2005.	14
Figura 2.5. Gráfica de usos del poliestireno en el año 1999.	15
Figura 2.6. Gráfica de usos del poliestireno en el año 2005.	15
Figura 2.7. Gráfica de usos del polietileno de alta densidad en el año 1999.	16
Figura 2.8. Gráfica de usos del polietileno de alta densidad en el año 2005.	16
Figura 2.9. Gráfica de usos del polietileno de baja densidad en el año 1999.	17
Figura 2.10. Gráfica de usos del polietileno de baja densidad en el año 2005.	17
Figura 2.11. Gráfica de usos del poliuretano en el año 1999.	18
Figura 2.12. Gráfica de usos del poliuretano en el año 2005.	18
Figura 2.13. Cuadro de métodos de degradación.	31
Figura 3.1. Sistema de reacción para la obtención del poli(tereftalato de dietilenglicol).	44
Figura 3.2. Sistema para secar el poliéster obtenido.	45
Figura 3.3. Cromatograma perteneciente al pre-polímero obtenido en la metodología 1.	55
Figura 3.4. Cromatograma perteneciente al metanol obtenido en la metodología 1	56

Figura 3.5. Espectro de masas perteneciente al metanol obtenido en la metodología 1 y su estructura química.	56
Figura 3.6. Espectro de infrarrojo perteneciente al pre-polímero obtenido en la metodología 1.	58
Figura 3.7. Espectro de infrarrojo perteneciente al metanol obtenido en la metodología 1 como subproducto de la reacción.	59
Figura 3.8. Cromatograma perteneciente al dietilenglicol obtenido en la metodología 1.	61
Figura 3.9. Espectro de masas perteneciente al dietilenglicol obtenido en la metodología 1.	62
Figura 3.10. Espectro de infrarrojo perteneciente al poli(tereftalato de dietilenglicol) obtenido en la metodología 1 como subproducto de reacción.	63
Figura 3.11. Espectro de infrarrojo perteneciente al dietilenglicol obtenido en la metodología 1 como subproducto de la reacción de policondensación.	64
Figura 3.12. Cromatograma que pertenece al TDM como reactivo sin purificar.	65
Figura 3.13. Cromatograma que pertenece al TDM como reactivo purificado.	66
Figura 3.14. Espectro de masas teórico del TDM.	66
Figura 3.15. Espectro de IR obtenido para el producto de la primera fase de la reacción, es decir, para la reacción de transesterificación.	68
Figura 3.16. Espectro de IR obtenido para el metanol como subproducto en la reacción de transesterificación correspondiente a la reacción número 3.	69
Figura 3.17. Espectro de IR obtenido para el dietilenglicol como subproducto en la reacción de policondensación correspondiente a la reacción número 3.	70
Figura 3.18. Espectro de IR del tereftalato de dietilenglicol con el tratamiento del peróxido de hidrógeno.	71
Figura 3.19. Espectro de IR obtenido para el metanol como subproducto de reacción.	72
Figura 3.20. Espectro de IR obtenido para el dietilenglicol; subproducto de la reacción.	73

Figura 3.21. Poliésteres obtenidos en la metodología 2 purificados con peróxido de hidrógeno (H ₂ O ₂).	73
Figura 3.22. Estándares de poliestireno de pesos moleculares de 1,680, 28,500, 514,000 y 6,500,000 g/gmol.	74
Figura 3.23. Estándares de poliestireno de pesos moleculares de 2,530, 560,000 y 1,030,000 g/gmol.	75
Figura 3.24. Cromatograma para la reacción 3 de la metodología 2 con peso molecular de 188,163 g/gmol y un valor de polidispersidad de 2.8.	76
Figura 3.25. Poliéster obtenido en la metodología 3 purificado con peróxido de hidrógeno (H ₂ O ₂).	78
Figura 3.26. Espectro de IR del poliéster sintetizado con el tratamiento de purificación.	79
Figura 3.27. Espectro de IR del dietilenglicol obtenido para esta metodología.	80
Figura 3.28. Cromatograma que pertenece a la curva universal obtenida para la metodología 3.	81
Figura 3.29. Cromatograma que pertenece al producto obtenido en la reacción de la metodología 3.	81
Figura 3.30. Crecimiento bacteriano en una placa con el poliéster obtenido en la reacción 1 de la metodología 3 pero contaminado, correspondiente a la dilución 10 ⁻³ .	83
Figura 3.31. Matraces colocados en incubación a 37 °C y agitación vigorosa.	85
Figura 3.32. Matraces con el biofilm creciendo sobre la superficie del material a causa de la cepa bacteriana.	85
Figura 3.33. Cajas petri, a la izquierda se encuentran las que contienen el control y a la derecha las que tienen crecimiento bacteriano.	86
Figura 3.34. Cultivo con una concentración de poliéster de 3%, a la izquierda el matraz con la bacteria y a la derecha el matraz con el control, es decir, sin bacteria.	87
Figura 3.35. Cromatograma obtenido para la muestra 1 después del proceso de biodegradación extraído con cloroformo en el método cromatográfico <i>solpemr</i> .	88

Figura 3.36. Espectro de masas que pertenece al propano, primer subproducto de la biodegradación para la muestra 1 .	89
Figura 3.37. Espectro de masas que pertenece al oxirano, segundo producto de la biodegradación para la muestra 1.	90
Figura 3.38. Espectro de masas que pertenece al 2-metilbuteno tercer producto de la biodegradación para la muestra 1.	91
Figura 3.39. Cromatograma obtenido para la muestra 1 después del proceso de biodegradación obtenido por el método <i>solpem</i> .	92
Figura 3.40. Espectro de masas que corresponde al 1-etoxi-1-metoxietano por el método <i>solpem</i> .	93
Figura 3.41. Espectro de masas que corresponde al metiléter del tripropilenglicol por el método <i>solpem</i> .	94
Figura 3.42. Cromatograma que pertenece a la muestra 2, obtenido después del segundo día del proceso de biodegradación por el método <i>solpemr</i> .	95
Figura 3.43. Espectro de masas que corresponde al propano como subproducto de la biodegradación para la muestra 2.	96
Figura 3.44. Espectro de masas que corresponde al oxirano como subproducto de la biodegradación para la muestra 2.	97
Figura 3.45. Cromatograma que corresponde a la muestra 2 pero ahora con el método <i>solpem</i> .	98
Figura 3.46. Espectro de masas para el dipropilenglicol obtenido por el método <i>solpem</i> .	99
Figura 3.47. Espectro de masas para el 2-(2-hidroxipropoxi)-1-propanol obtenido por el método <i>solpem</i> .	100
Figura 3.48. Cromatograma obtenido para la muestra 6 extraída con cloroformo y utilizando el método <i>solpemr</i> .	101
Figura 3.49. Espectro de masas para el CO ₂ obtenido por el método <i>solpemr</i> para la muestra 6.	102
Figura 3.50. Espectro de masas para el 2-metilbuteno por el método <i>solpemr</i> para la muestra 6.	103

Figura 3.51. Cromatograma obtenido por la muestra 6 por el método <i>solpem</i> .	104
Figura 3.52. Espectro de masas correspondiente al 1-(1-metilpropoxi)9-2-propanol para la muestra 6.	104
Figura 3.53. Espectro de masas correspondiente al 2-(2-metoxi-1-metiletóxi)-1-propanol para la muestra 6.	105
Figura 3.54. Cromatograma obtenido por el método <i>solpemr</i> pero ahora para la extracción hecha con éter.	106
Figura 3.55. Espectro de masas obtenido del etanol que fue extraído con éter.	107
Figura 3.56. Cromatograma obtenido por el método <i>solpem</i> para la muestra 6 extraída con éter.	108
Figura 3.57. Espectro de masas que corresponde al monoetiléter del dietilenglicol.	109
Figura 3.58. Espectro de masas que corresponde al 2-(2-metoxi-1-metiletóxi)-1-propanol.	110
Figura 3.59. Cromatograma obtenido para la muestra 8 extraída con éter y empleando el método <i>solpemr</i> .	111
Figura 3.60. Espectro de masas correspondiente al dióxido de carbono que es subproducto de la biodegradación empleando el método <i>solpemr</i> .	112
Figura 3.61. Espectro de masas correspondiente al 2-metilbuteno que es subproducto de la biodegradación empleando el método <i>solpemr</i> .	113
Figura 3.62. Cromatograma obtenido para la muestra 8 extraída con cloroformo y analizada por medio del método <i>solpem</i> .	114
Figura 3.63. Espectro de masas correspondiente a la propanoamida en la muestra 8 por el método <i>solpem</i> .	115
Figura 3.64. Cromatograma obtenido para la muestra 8 extraída con éter y analizada por medio del método <i>solpemr</i> .	116
Figura 3.65. Espectro de masas correspondiente al propano obtenido por medio del método <i>solpemr</i> .	117
Figura 3.66. Espectro de masas correspondiente al oxirano obtenido por medio del método <i>solpemr</i> .	118

Figura 3.67. Cromatograma obtenido por el método <i>solpem</i> para la muestra 8 de los subproductos de la biodegradación.	119
Figura 3.68. Espectro de masas obtenido para el formiato de etilo extraído con éter a través del método <i>solpem</i> .	120
Figura 3.69. Espectro de masas obtenido para el 1, 2-dietoxietano extraído con éter a través del método <i>solpem</i> .	121
Figura 3.70. Espectro de masas obtenido para el etoximetil oxirano extraído con éter a través del método <i>solpem</i> .	122
Figura 3.71. Cromatograma correspondiente al control extraído con cloroformo en el cual solo se observa la señal del solvente, este hecho con el método <i>solpemr</i> .	123
Figura 3.72. Cromatograma correspondiente al control extraído con éter en el cual solo se observa la señal del solvente, este hecho con el método <i>solpemr</i> .	124
Figura 3.73. Imagen del microscopio electrónico al poliéster biodegradado a 500 veces aumentado su tamaño real.	125
Figura 3.74. Imagen del microscopio electrónico al poliéster biodegradado a 2,500 veces aumentado su tamaño real.	126
Figura 3.75. Imagen del microscopio electrónico al poliéster sin bacterias, es decir, el control a 500 veces aumentado su tamaño real.	126
Figura 3.76. Imagen del microscopio electrónico al poliéster sin bacterias, es decir, el control a 4,300 veces aumentado su tamaño real.	127
Figura 3.77. Cromatograma del material polimérico después de haberse sometido a la biodegradación.	128

ÍNDICE DE TABLAS

	PAG
Tabla 2.1 Descubrimiento más destacados de la ciencia de los polímeros ordenados cronológicamente.	7
Tabla 2.2 Producción, importación y exportación de resinas sintéticas.	10
Tabla 2.3 Participación relativa en el mercado de resinas sintéticas en México.	11
Tabla 3.1 Resumen de reacciones para la transesterificación en la metodología 1.	53
Tabla 3.2 Resumen de reacciones para la policondensación en la metodología 1.	60
Tabla 4.1 Subproductos encontrados después del proceso de biodegradación.	132

ÍNDICE DE ESQUEMAS

	PAG
Esquema 2.1. Reacción entre monómeros bifuncionales.	19
Esquema 2.2. Reacción de producción del lexán.	20
Esquema 2.3. Reacción de transesterificación.	20
Esquema 2.4. Reacción de condensación.	22
Esquema 2.5. Síntesis del poli(ácidoglicólico), (PAG).	37
Esquema 2.6. Síntesis del poli(ácido láctico).	39
Esquema 2.7. Síntesis de policaprolactona, (PCL).	40
Esquema 2.8. Constituyentes del BIONOLLE.	40
Esquema 2.9. Estructura molecular de los poliésteres que forman el copolímero BIOPOL.	41
Esquema 3.1. Reacción de transesterificación entre el tereftalato de dimetilo y el dietilenglicol.	54
Esquema 3.2. Reacción de policondensación entre el monómero obtenido con el (TBT) como catalizador, vacío y temperatura alta.	60
Esquema 3.3. Reacción de policondensación en un solo paso con el (TBT) como catalizador, vacío y alta temperatura.	77

ABREVIATURAS

PTE	Poli(tereftalato de etileno)
mm	Milímetros
PEBD	Polietileno de baja densidad
PEAD	Polietileno de alta densidad
€/Kg	Euro por kilogramo
Ton	Toneladas
PVC	Poli(cloruro de vinilo)
PS	Poliestireno
PP	Polipropileno
DOP	Ftalato de dioctilo
IR	Infrarrojo
GPC	Cromatografía de permeación en gel (siglas en inglés)
nm	nanómetros
Hz	Hertz
cm ⁻¹	Inverso del centímetro
η	Viscosidad
K	Constante de Mark - Houwink
M	Peso molecular
α	Exponente de la ecuación de Mark - Houwink
SEM	Microscopia electrónica de barrido (siglas en inglés)
Å	Angstrom
w	Suma de los pesos de cada especie molecular
M _n	Peso de la muestra por mol
M _w	Peso molecular peso promedio
PDO	Polidioxanona
D	Forma isomérica <i>dextro</i>
L	Forma isomérica <i>levo</i>
PHB	Polihidroxibutirato
PHV	Polihidroxivalerato
TDM	Tereftalato de dimetilo
DEG	Dietilenglicol
mL	Mililitro
R. A.	Reactivo analítico
°C	Centígrados
TBT	Terbutóxido de titanio
M _w /M _n	Polidispersidad
THF	Tetrahidrofurano
HP	Hewlett Packard
μ	Micras
ml/min	Mililitro por minuto
LB	Luria Bertani
10X	10 veces
100X	100 veces

1000X	1000 veces
g	gramos
UFC	Unidades Formadoras de Colonias
D.O. ₆₆₀	Densidad óptica a 660 nm
hrs	horas
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrógeno
UV	Ultravioleta
EMC	Etil metil cetona
CO ₂	Dióxido de carbono
g/gmol	Gramos por gramo mol
μJ/cm ²	Microjoules por centímetro cuadrado
G's	Gravedades
C ₁	Concentración 1
C ₂	Concentración 2
V ₁	Volumen 1
V ₂	Volumen 2
USAI	Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación



1. INTRODUCCIÓN

Los poliésteres son una familia de polímeros, los cuales, contienen el grupo funcional éster en su cadena principal. A pesar de que ellos existen en la naturaleza, el término poliéster generalmente se refiere a los polímeros sintéticos (también denominados plásticos), los cuales incluyen policarbonatos y especialmente el poli(tereftalato de etileno) (PTE). El PTE es uno de los poliésteres termoplásticos más importantes debido a sus múltiples aplicaciones. El poliéster está formado por moléculas de etilenglicol más moléculas de ácido tereftálico, que al unirse producen el polímero o poli(terftalato de etileno). Como resultado del proceso de policondensación, se produce el PTE con el cual se manufacturan fibras, láminas para rayos X, envases para alimentos y bebidas, etc.

Las resinas de poliéster son usadas también como matriz para la construcción de equipos o tuberías anticorrosivas. Para dar mayor resistencia mecánica suelen ir reforzados con fibra de vidrio.

Como se puede observar los poliésteres tienen diversas aplicaciones para la vida cotidiana, pero cuando la vida útil de ellos termina son desechados y pasan a ser una fuente de contaminación del medio ambiente, esto es debido a que no se degradan fácilmente, por lo que se quiere buscar un sistema de biodegradación y así obtener materias primas reutilizables o producir materiales que se degraden más fácilmente.

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad existen grandes cantidades de materiales poliméricos los cuales ya sobrepasan a los materiales reciclables. Por lo tanto, la biodegradación de materiales poliméricos puede ser una alternativa a este problema. En el departamento de bioquímica de la Facultad de Química del conjunto E, se han aislado algunas cepas que presentan actividad esterasa las cuales se pretenden utilizar en los sistemas poliméricos, en específico, en el tratamiento de poliésteres.



1.2 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el proceso de biodegradación en el poli-(tereftalato de dietilenglicol) con la bacteria *Alycyclophilus sp.* mediante la determinación de los cambios en las propiedades del polímero antes y después de dicho proceso.

1.3 OBJETIVOS PARTICULARES

Los objetivos que se han planteado para este trabajo son los siguientes:

- Sintetizar el poliéster a partir del tereftalato de dimetilo con dietilenglicol.
- Caracterizar el polímero sintetizado.
- Realizar pruebas *in vitro* de biodegradación de los polímeros sintetizados.
- Recaracterizar el polímero e identificar los subproductos obtenidos de este proceso.

1.4 HIPÓTESIS

Existe una bacteria aislada *Alycyclophilus sp.* que presenta actividad esterasa, lo que implica que puede ser capaz de biodegradar polímeros que contengan enlaces éster en su estructura.

El efecto de la biodegradación puede ser evaluado si se caracteriza el material polimérico antes y después de dicho proceso, principalmente al evaluar su peso molecular y su polidispersidad, además de caracterizar los subproductos obtenidos.



2. MARCO TEÓRICO

Hoy en día, la gran mayoría de los productos plásticos están hechos por polímeros, además, se están realizando muchos experimentos en donde se utilizan cepas bacterianas para ayudar a la biodegradación de estos materiales y poder reutilizar los productos que quedan de la biodegradación para su posterior uso como materias primas para nuevos productos.

Actualmente, a nivel mundial, se desarrollan un gran número de trabajos de investigación, encaminados a disminuir las cantidades de residuos plásticos y a fabricar productos menos agresivos con el medio ambiente.

2.1 POLÍMEROS

Los polímeros, provienen de las palabras griegas *poly* y *meros*, que significa muchas partes, son grandes moléculas o macromoléculas formadas por la unión de muchas pequeñas moléculas.

Como los polímeros se forman generalmente por la unión de un gran número de pequeñas moléculas o monómeros, tienen altos pesos moleculares. Es muy frecuente que los polímeros tengan pesos moleculares de 100,000 o mayores.

Los polímeros se caracterizan a menudo sobre la base de los productos de su descomposición. Así, si se calienta caucho natural (tomado del árbol *Hevea brasiliensis* del valle del Amazonas), hay destilación de hidrocarburos e isopreno.

Hay dos reacciones generales de polimerización: la de adición y la de condensación.

En las polimerizaciones de adición, todos los átomos de monómero se convierten en partes del polímero.

En las reacciones de condensación algunos de los átomos del monómero no forman parte del polímero, sino que son liberados como H_2O , CO_2 , ROH , etc.



Algunos polímeros, como el polietilenglicol pueden ser obtenidos por uno u otro tipo de reacción⁽¹⁾.

Por copolímero se entiende la polimerización conjunta de dos o varios monómeros de diferente estructura química, por lo que, la macromolécula del copolímero obtenido contiene como unidades estructurales los monómeros participantes⁽²⁾.

Existen polímeros naturales de gran valor comercial, como el algodón, formado por fibras de celulosa. La celulosa se encuentra en la madera y en los tallos de muchas plantas y se emplea para hacer telas y papel. La seda es otro polímero natural muy apreciado, es una poliamida semejante al nylon. La lana es la proteína del pelo de las ovejas. El hule de los árboles de *Hevea brasiliensis* y de los arbustos de Guayule son también polímeros naturales importantes.

Dentro de los polímeros naturales también se encuentran proteínas globulares y polícarbohidratos, cuyas moléculas individuales tienen el mismo peso molecular y la misma estructura molecular.

Sin embargo, la mayoría de los polímeros existentes se obtienen sintéticamente, para ello, se utilizan diferentes materias primas dependiendo el campo de aplicación.

Lo que distingue a los polímeros de los materiales constituidos por moléculas de tamaño normal, son sus propiedades mecánicas. En general, los polímeros tienen una excelente resistencia mecánica debido a que las grandes cadenas poliméricas se atraen. Las fuerzas de atracción intermoleculares dependen de la composición química del polímero y pueden ser de varias clases^(3,4).



Es importante señalar que existen diferentes procesos industriales de obtención de los polímeros, algunos de los cuales son:

- polimerización en masa
- polimerización en solución
- polimerización en suspensión
- polimerización en emulsión

Cada una de ellas tiene condiciones específicas y por supuesto, dan origen a polímeros con características diferentes.

2.2 DESARROLLO HISTÓRICO DE LOS POLÍMEROS

Desde la antigüedad, el hombre ha utilizado polímeros naturales como la madera, la resina, etc., en múltiples aplicaciones. Sin embargo, la necesidad de obtener nuevos tipos de materiales con propiedades particulares condujo al desarrollo de los primeros polímeros sintéticos.

Estos se fabricaron inicialmente a escala industrial, sin haber sido estudiados previamente. De esta forma, los científicos dedicados a los polímeros realizaron numerosos descubrimientos empíricos antes de que se desarrollase la ciencia de los polímeros. Así, Charles y Nelson Goodyear transformaron el caucho en un elastómero termoestable de utilidad (caucho vulcanizado) o en un plástico duro termoestable (ebonita), incluso antes de que Kekulé desarrollara técnicas de síntesis de diversos compuestos orgánicos para la obtención de polímeros.

Inicialmente, las propiedades de los polímeros (debidas a su estructura macromolecular) parecían anómalas respecto a las de los materiales conocidos, lo que condujo a rechazar algunos de los resultados experimentales obtenidos por considerarlos erróneos.



La baquelita, sintetizada por Leo Baekeland mediante cantidades controladas de fenol y formaldehído, se considera como el primer polímero realmente sintético en ser comercializado, cuya producción se inició en 1910.

Antes de la Primera Guerra Mundial, se encontraban a disposición del público una gran variedad de plásticos, como el celuloide, la laca, la baquelita y el caucho, entre otros. No obstante, la mayoría de las innovaciones adicionales en la tecnología de los polímeros no se produjeron sino hasta después de la Segunda Guerra Mundial, debido al escaso conocimiento de la naturaleza y química de los polímeros.

En los años veinte, el premio Nobel Hermann Staudinger estableció las bases de la ciencia moderna de los polímeros, al demostrar que los polímeros naturales y sintéticos no eran agregados, sino moléculas de cadena larga con grupos terminales característicos. Introdujo el concepto de macromoléculas para describir los polímeros.

Esta hipótesis fue posteriormente corroborada por Herman Mark y Kurt Meyer, mediante el estudio cristalográfico de la celulosa y el caucho natural. Así como por el trabajo de Wallace Carothers en la preparación de poliésteres y poliamidas, estas últimas conocidas con el nombre genérico de nylons.

Durante las dos décadas posteriores se incrementaron enormemente los estudios e investigaciones en el campo de los polímeros, estableciéndose los principios fundamentales de la ciencia de los polímeros. A partir de la década de los 40's, el desarrollo de la tecnología de los polímeros ha sido extremadamente rápido, sustituyendo, en pocas décadas, en un gran número de aplicaciones a otros materiales de naturaleza metálica y cerámica tradicionalmente utilizados.

Por otra parte, los polímeros sintéticos han ido reemplazando a los naturales, como el caucho y la celulosa, en numerosos campos debido a la facilidad de transformación, a sus mejores propiedades mecánicas y resistencia frente a la acción



de sustancias químicas agresivas. En la actualidad, la mayor parte de las actividades de la vida cotidiana dependen esencialmente del empleo de polímeros tales como el papel, la seda, el almidón, así como una gran diversidad de lacas, plásticos, pinturas, resinas y gomas.

En la tabla 2.1 se detallan algunos de los descubrimientos más destacados de la ciencia de los polímeros ordenados cronológicamente.

Tabla 2.1 Descubrimientos más destacados de la ciencia de los polímeros ordenados cronológicamente⁽⁵⁾.

FECHA	MATERIAL	AÑO	MATERIAL
Antes de 1800	Algodón, lino, lana, seda, vidrio, cementos hidráulicos y celulosa en láminas	1839	Vulcanización del caucho (Charles Goodyear)
1846	Nitración de la celulosa (Schönbein)	1851	Ebonita (caucho duro; Nelson Goodyear)
1860	Moldeado de la laca	1868	Celuloide (nitrato de celulosa plastificada; Hyatt)
1889	Películas fotográficas de nitrato de celulosa (Reichenbach)	1890	Fibras de rayón (Despeisses)
1892	Fibras de rayón viscosa (Cros, Bevan y Beadle)	1907	Resinas de fenol-formaldehído (baquelita; Baekeland)
1907	Soluciones de acetato de celulosa	1908	Películas fotográficas de acetato de celulosa
1912	Láminas de celulosa regenerada (celofán)	1920	Presentación de la hipótesis macromolecular (Staudinger)
1924	Fibras de acetato de celulosa	1926	Poliéster alquídic (Kienle)
1927	Recubrimientos de poli(cloruro de vinilo)	1927	Barras y láminas de acetato de celulosa
1929	Elastómero sintético de polisulfuro	1929	Resinas de melamina
1931	Elastómeros de poli(cloropreno)	1931	Plásticos de poli(metacrilato de metilo)
1935	Etilcelulosa	1936	Poli(acetato de vinilo)
1937	Poliestireno	1937	Elastómeros copolímeros de estireno-butadieno y estireno-acrilonitrilo



1938	Fibras de nylon-66 (Carothers)	1939	Resinas melamina-formaldehído
1940	Elastómeros de isobutileno-isopropeno	1941	Polietileno de baja densidad (LPDE)
1942	Poliésteres insaturados (Ellis y Rust)	1943	Resinas fluorocarbonadas (Teflón; Plunkett)
1943	Siliconas	1943	Poliuretanos (Bayer)
1947	Resinas Epóxicas	1948	Copolímeros de acrilonitrilo, butadieno y estireno (ABS)
1950	Fibras de poliacrilonitrilo	1950	Fibras de poliéster (Whinfield y Dickson)
1956	Polioximetileno	1957	Polietileno (lineal) de alta densidad (HDPE)
1957	Polipropileno	1959	Elastómeros de polibutadieno-cis y poliisopropeno-cis
1960	Elastómeros de copolímeros de etileno-propileno	1964	Poli(óxido de fenileno)
1965	Polisulfona	1965	Copolímeros de bloques estireno-butadieno
1970	Poli(tereftalato de butileno)	1971	Poli(sulfuro de fenileno)
1972	Aramidas, poliésteres moldeables	1973	Poliimididas segunda generación
1974	Bismaleimididas, poliamidas aromáticas	1976	Polifenilsulfona (RADEL)

2.3 PRODUCCIÓN DE POLÍMEROS

La producción de las empresas instaladas en México fabricantes de materiales plásticos en el año 2002 ha sido de 3,604,998 toneladas, dato que supone un incremento del 4.7% respecto a la del año anterior.

De la evolución de los cuatro grandes grupos de materiales en el año analizado se ha observado el siguiente comportamiento:

- La producción de termoplásticos de gran consumo ha sido de 2,161,158 toneladas. Este volumen es superior en un 3.7% a los resultados del año anterior. El porcentaje de participación de este grupo de materiales respecto a la producción total de materias plásticas es del 59,9%.



- Se han producido 675,878 toneladas de materias plásticas termoestables, lo que representa un alza anual de la producción del 4.2%. El porcentaje de participación de este tipo de materiales respecto a la producción total de materiales plásticos en el año 2002 asciende al 18.7%.
- Finalmente, la producción de los materiales recogidos en el grupo de las materias plásticas varias se cifra en 176,844 toneladas, un 4.9% sobre la producción total y es un 2.5% superior al año 2001. Los precios unitarios de las materias primas en el año 2002 han vuelto a experimentar un retroceso respecto a los existentes en años anteriores. La evolución, en su conjunto, ha venido marcada por una tendencia inicial bajista que se ha agudizado en el segundo trimestre. A lo largo del tercer trimestre, y especialmente en el último trimestre del año han presentado una tendencia al alza.
- La producción total de materiales plásticos se cifra en el año 2002 en los 3,093,710 millones de euros suponiendo un descenso del 3.4% respecto al ejercicio precedente.
- La producción de los plásticos de gran consumo se ha situado en 1,623.18 millones de euros, cayendo un 3.2%. El precio medio unitario de producción ha alcanzado los 0.75 €/Kg. registrándose un descenso del 6.6% respecto el año anterior.
- El grupo de los plásticos termoestables, cuya producción ha sido de 538,560 millones de euros, ha presentado una caída del 1.8% respecto a la del año anterior. El precio unitario de producción se ha situado en los 0.80 €/Kg, un 5.8% inferior al año anterior.
- La producción total de plásticos técnicos expresada en millones de euros ha caído a 693.45, lo que ha significado un descenso del 5.9% respecto al ejercicio anterior. El precio unitario de producción ha sido de 1.17 €/Kg., representado una disminución del 14.6% respecto al ejercicio anterior.



- Finalmente, el valor de producción de los materiales que se recogen en las materias plásticas varias ha alcanzado los 238.52 millones de euros, cayendo un 0.7%, con un descenso del valor unitario de producción del 3.1%, hasta 1.35 €/Kg.

En la tabla 2.2 se muestra la producción, importación y exportación de resinas sintéticas en México.

Tabla 2.2 Producción, importación y exportación de resinas sintéticas⁽⁶⁾.

Año	Resinas termoplásticos (Ton)	Resinas termoestables (Ton)	Total (Ton)
Producción			
1997	1,622,976	388,352	2,011,328
1998	1,761,946	418,377	2,180,323
1999	1,897,765	457,649	2,355,414
2000	1,964,734	460,970	2,425,704
Importación			
1997	719,169	22,579	741,748
1998	913,791	25,638	939,429
1999	1,172,587	24,631	1,197,218
2000	1,267,549	30,260	1,297,809
Exportación			
1997	448,300	33,732	482,032
1998	473,186	35,237	508,423
1999	523,690	42,573	566,263
2000	480,744	46,536	527,280
Consumo aparente			
1997	1,893,845	377,199	2,271,044
1998	2,202,551	408,778	2,611,329
1999	2,546,662	439,707	2,986,369
2000	2,751,539	444,694	3,196,233



En la tabla 2.3 se observa la participación relativa de las resinas sintéticas que se tiene en el mercado de nuestro país.

Tabla 2.3. Participación relativa en el mercado de resinas sintéticas en México⁽⁶⁾.

Resina	Consumo aparente (Ton)			
	1997	1998	1999	2001
<i>Resinas termoplásticas</i>	1 893 845	2 202 551	2 546 662	2 566 599
Poli(cloruro de vinilo) (PVC)	269, 705	293, 832	333,214	337, 679
Poliestireno (PS)	216, 131	240, 756	257,926	153, 346
Polipropileno (PP)	367, 939	443, 827	489, 165	575, 616
Polietileno de alta densidad (PEAD)	418, 839	472, 193	507, 506	552, 915
Polietileno de baja densidad (PEBD)	515, 300	585, 070	727, 675	649,852
Poli(tereftalato de etileno) (PET)	105, 931	166, 873	231, 176	297,191
Resinas termoestables	377 198	408 778	439 707	447 809
Breas esterificadas	6, 511	7,750	8, 861	8, 400
Ftalato de dioctilo (DOP)	53,150	59,510	60, 453	60, 617
Emulsiones PVA y acrílicas	85, 026	89, 933	97, 290	88, 527
Poliuretano	60, 992	65,091	74, 099	69, 152
Resinas alcídicas	30,500	34, 404	37, 892	38, 352



Resinas fenol formaldehído	17 499	19,023	19, 808	21,141
Resinas fumáricas	768	1, 027	1, 121	1, 067
Resinas melamina formaldehído	9, 212	9, 743	10, 485	12, 192
Resinas maléicas	3, 661	3, 894	4, 391	6, 242
Resinas poliéster	35,200	40, 565	42, 724	53, 536
Resinas urea formaldehído	74, 679	77, 838	82, 583	88, 583
Total	2, 271, 043	2, 611, 329	2, 986,369	3, 014, 408

En la figura 2.1 se observa la producción, importación, exportación y consumo del polipropileno en México desde el año 2000 hasta el año 2005.

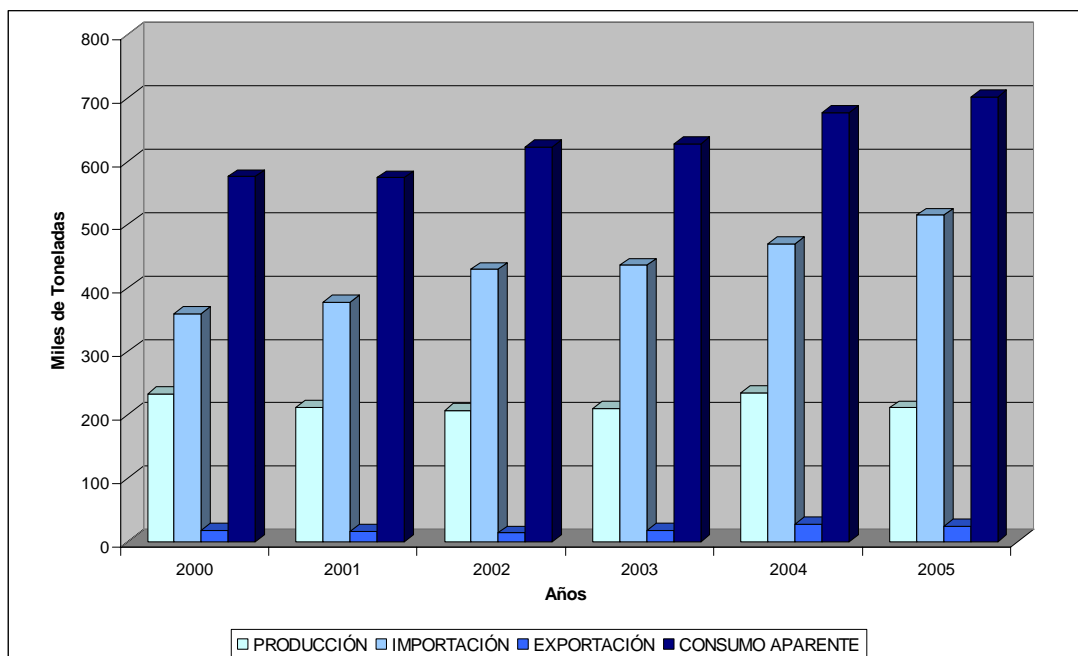


Figura 2.1 Producción y consumo de polipropileno.



En la figura 2.2 se observa la producción, importación, exportación y consumo aparente del poli(tereftalato de etileno) (PTE) (grado botella) del año 2000 al 2005.

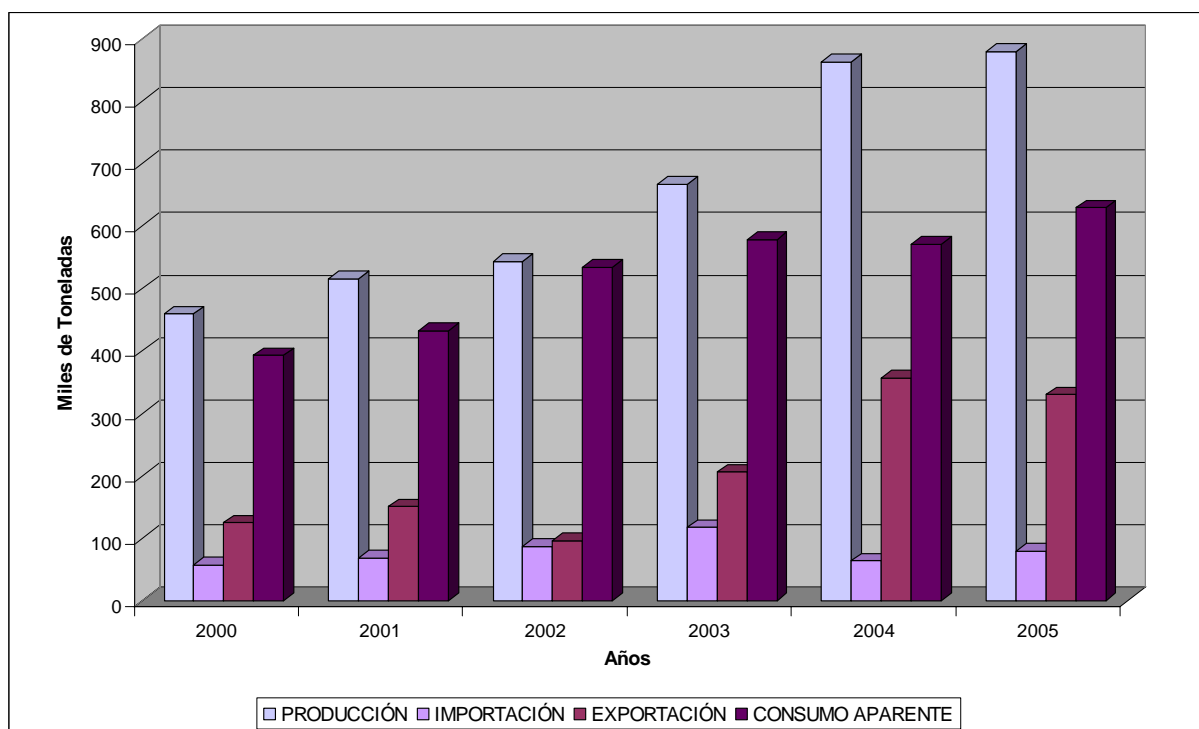


Figura 2.2 Producción y consumo del poli(tereftalato de etileno)(PET) (grado botella).

En las gráficas anteriores se observa el comportamiento que se tiene de la producción, importación y consumo aparente, tanto del polipropileno como del PET, en general, se puede observar que al paso de los años los rubros antes mencionados se han ido incrementando con lo cual, se concluye que se generan más desechos plásticos y por consiguiente, se están buscando técnicas de degradación o reciclaje de plásticos.

2.4 USOS DE LOS POLÍMEROS

En este apartado se mencionan los principales usos de los polímeros más usados en nuestro país dependiendo de la oferta y la demanda del mercado existente.

En el “Anuario Estadístico de la Industria Química Mexicana” publicado por la ANIQ, se muestran en las figuras 2.3 a la figura 2.12 los usos de distintos tipos de polímeros como homopolímeros del año 1999 al 2005.

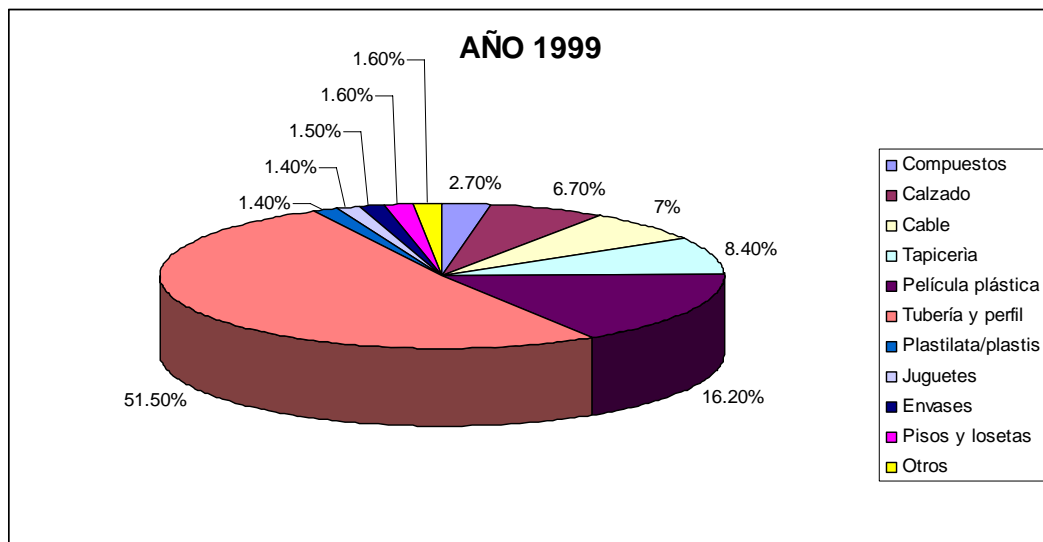


Figura 2.3. Usos del poli(cloruro de vinilo) como homopolímero⁽⁶⁾.

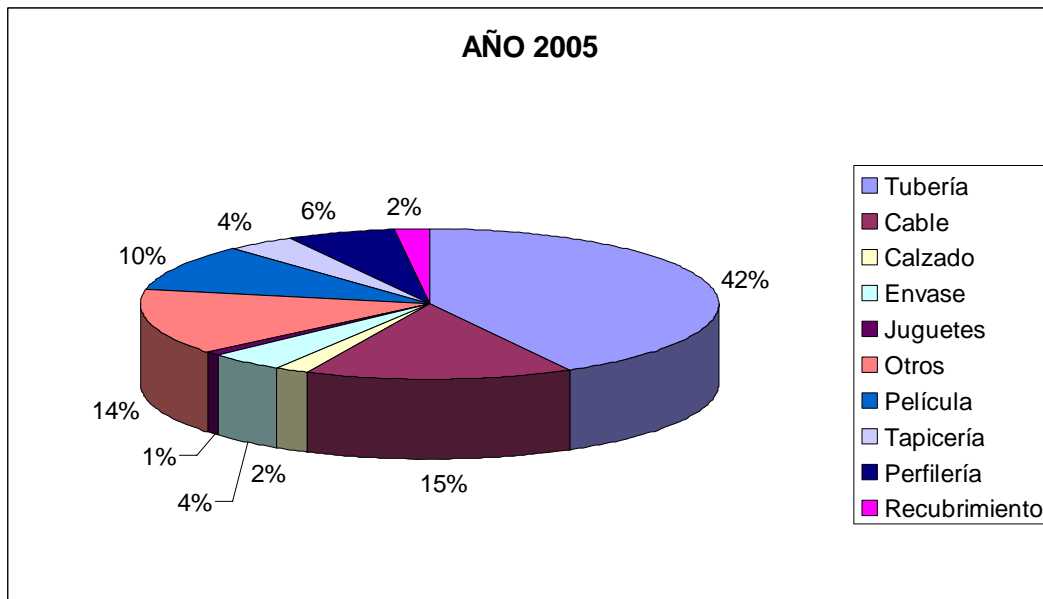


Figura 2.4. Usos del poli(cloruro de vinilo) como homopolímero⁽⁶⁾.

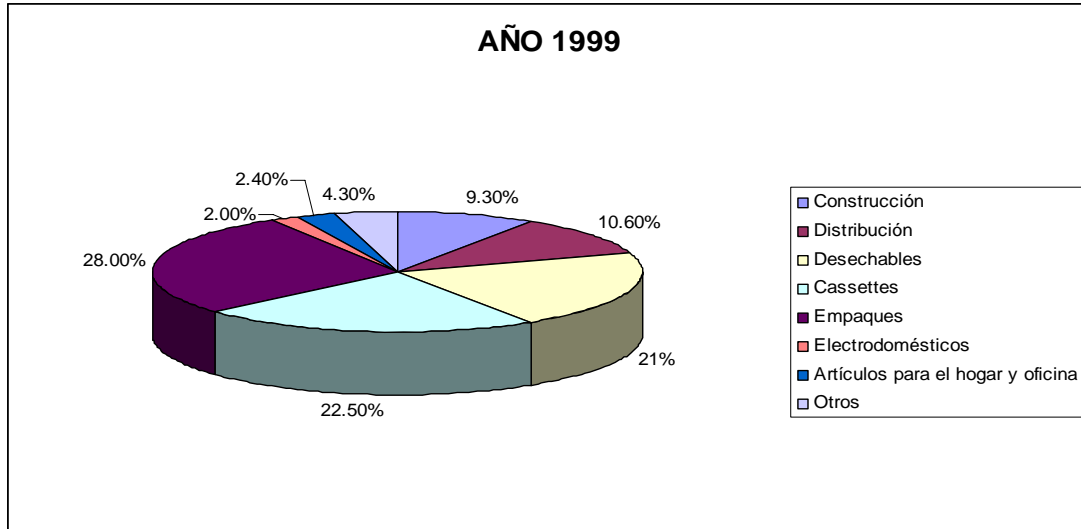


Figura 2.5. Usos del poliestireno⁽⁶⁾.

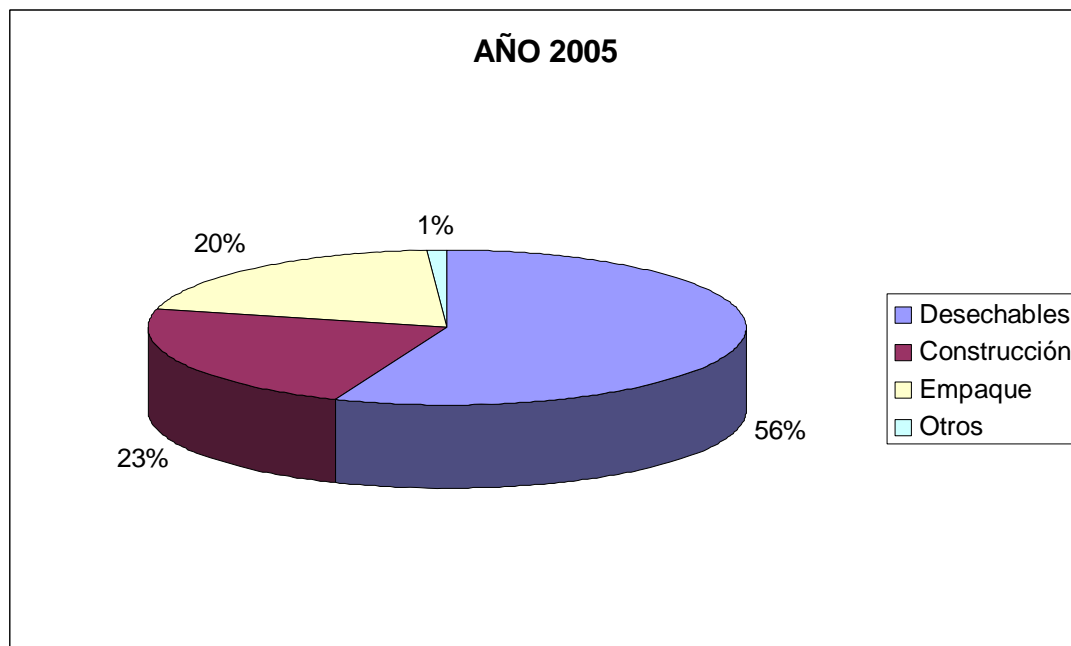


Figura 2.6. Usos del poliestireno⁽⁶⁾.

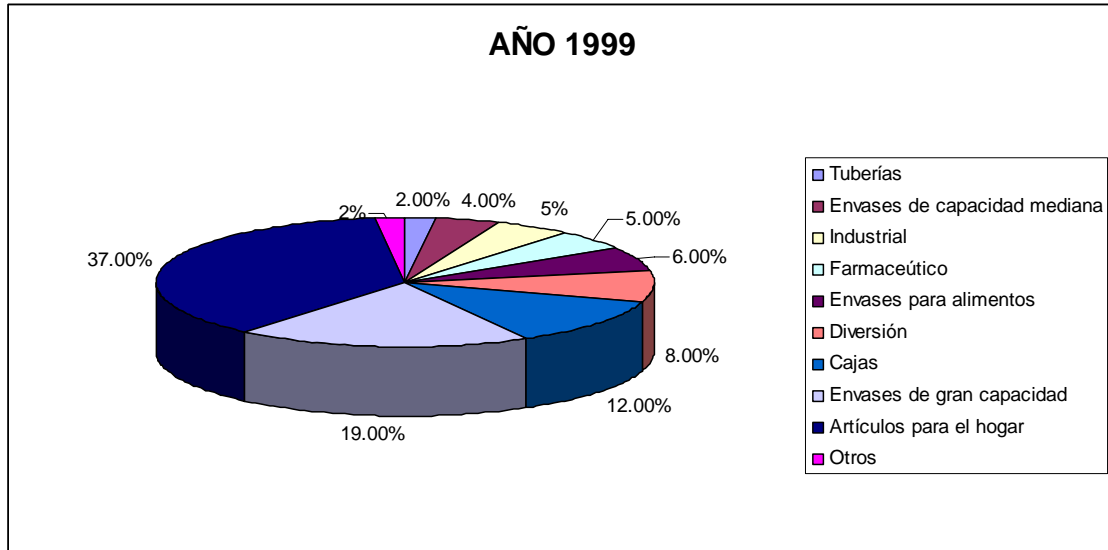


Figura 2.7. Usos del polietileno de alta densidad⁽⁶⁾.

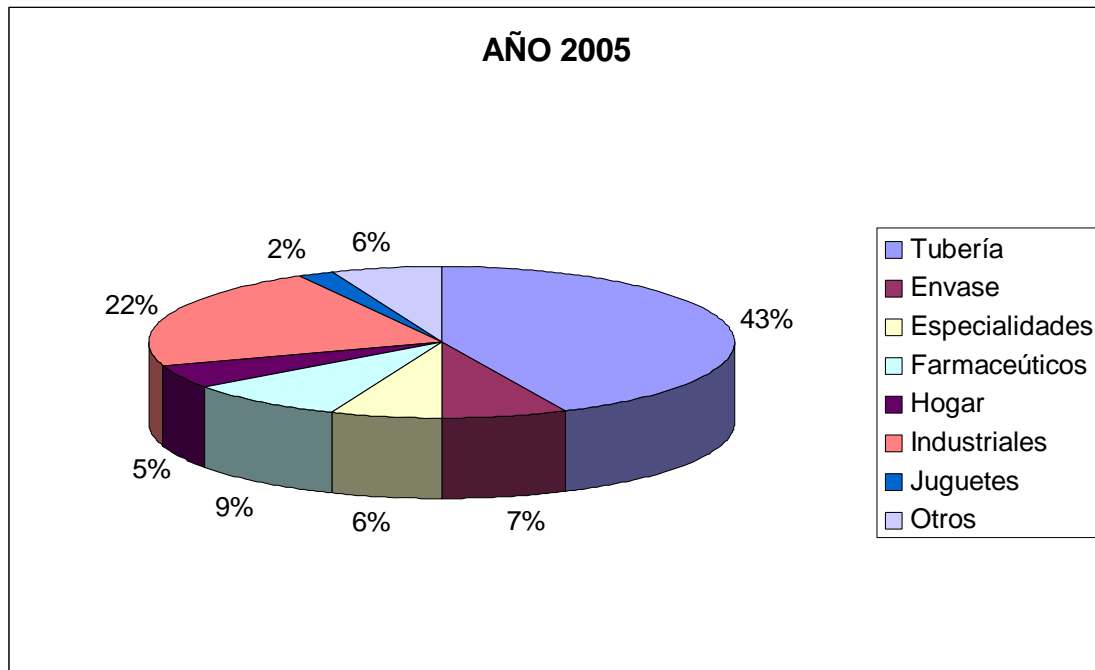


Figura 2.8. Usos del polietileno de alta densidad⁽⁶⁾.

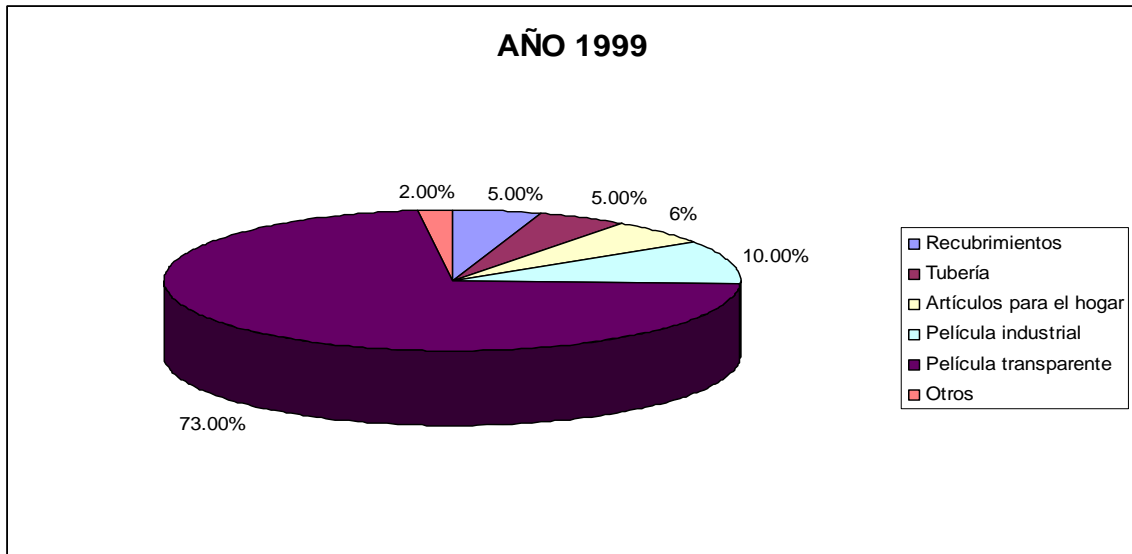


Figura 2.9. Usos del polietileno de baja densidad⁽⁶⁾.

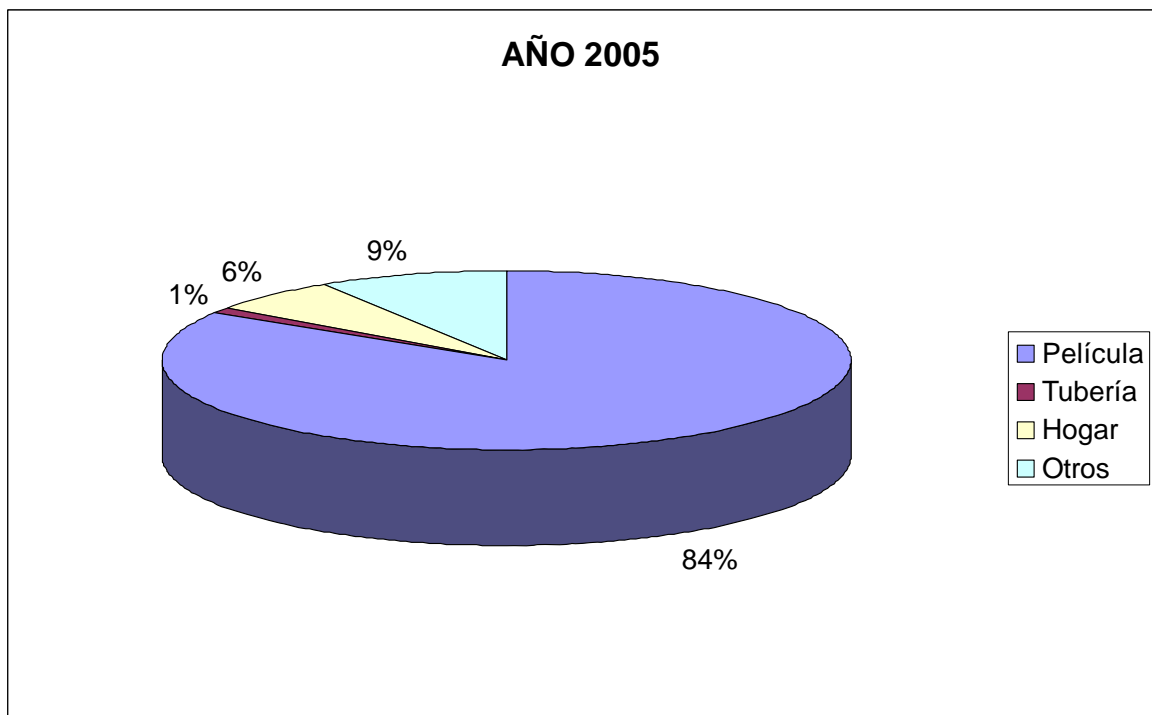
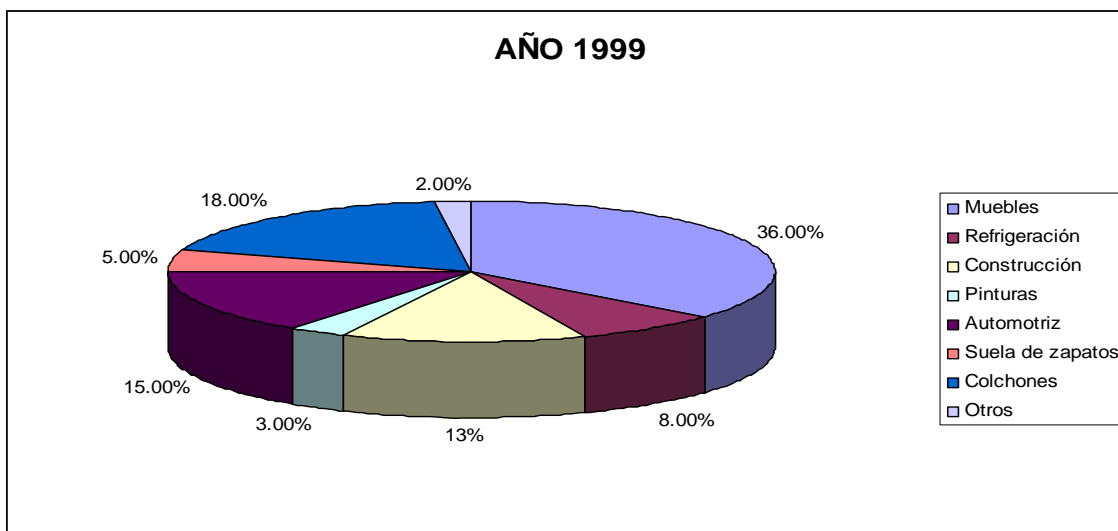
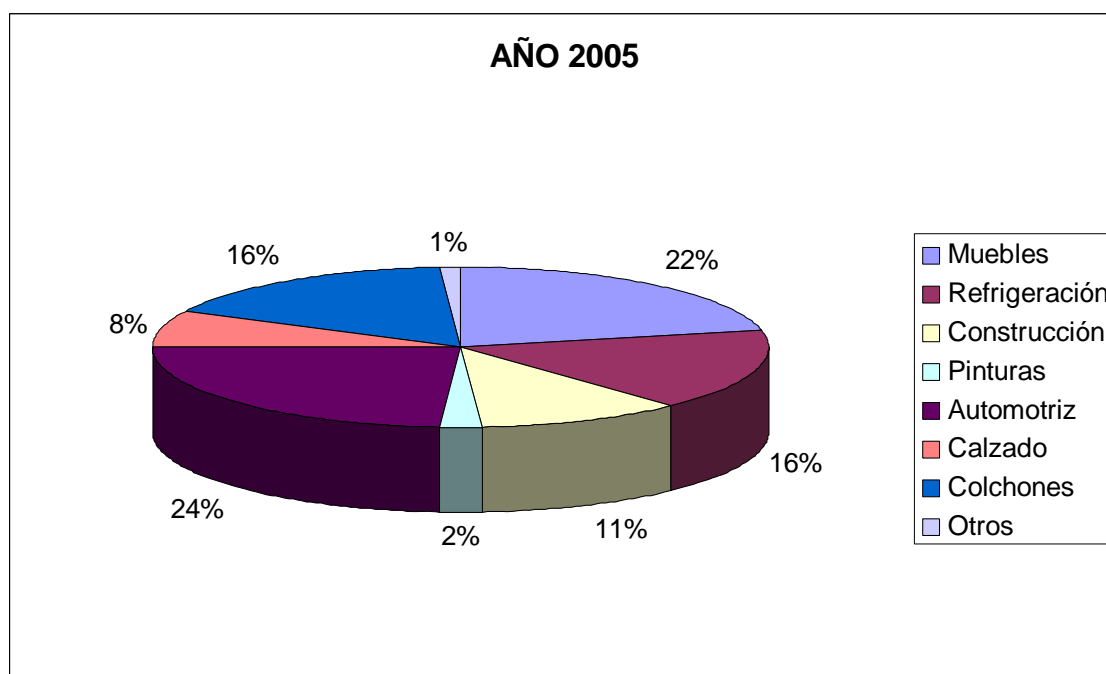


Figura 2.10. Usos del polietileno de baja densidad⁽⁶⁾.

Figura 2.11. Usos del poliuretano⁽⁶⁾.Figura 2.12. Usos del poliuretano⁽⁶⁾.

Con las gráficas mostradas se observa el uso de los distintos materiales plásticos en los años 1999 y 2005 y aunque han ido desapareciendo algunos mercados,



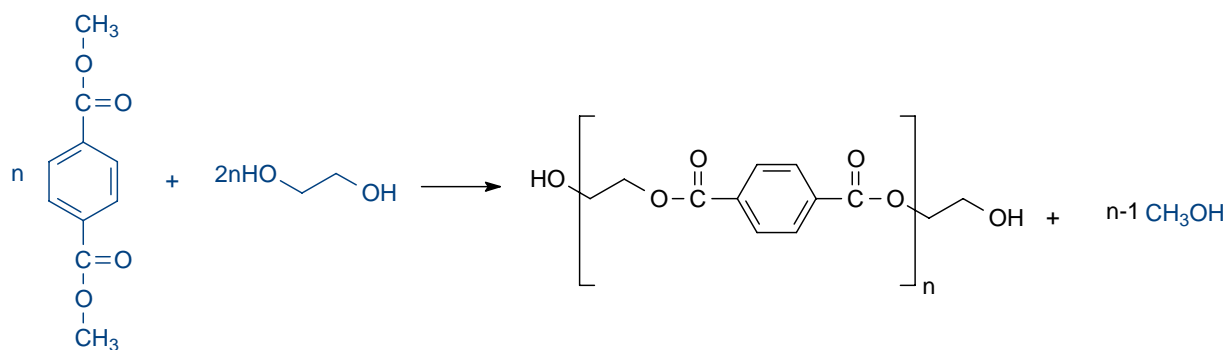
aparecen otros en los cuales se puede hacer uso de los mismos materiales para hacer otros productos, esto gracias al desarrollo de nuevos aditivos.

2.5 POLIÉSTERES

Los poliésteres son preparados entre un reactivo que contenga grupos éster y/o ácidos carboxílicos y un reactivo que contenga grupos hidroxilo que puede ser como en el caso de los dioles.

El poliéster más usado se fabrica mediante la reacción entre el tereftalato de dimetilo y el etilenglicol. El producto se usa con el nombre de Dacrón en la elaboración de fibras para ropas y cuerdas para llantas, y con el nombre Mylar en la fabricación de cintas para grabar. La resistencia a la tensión de la película de poli(tereftalato de etileno) es casi igual a la del acero.

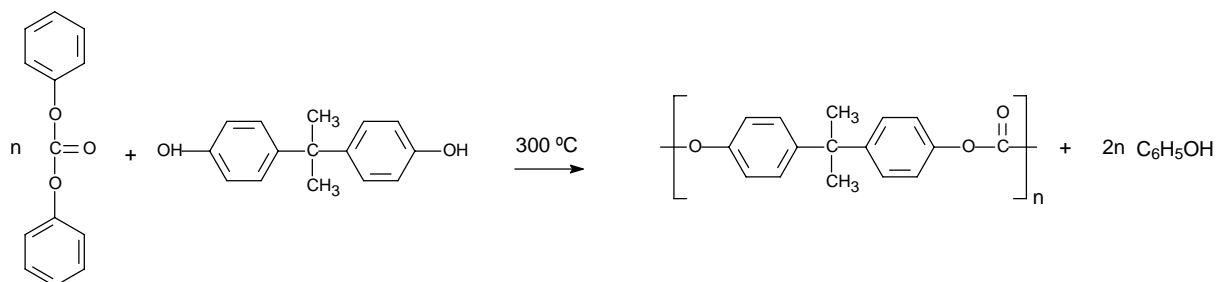
Cuando los monómeros son bifuncionales como el tereftalato de dimetilo y el etilenglicol, el polímero debe crecer en forma lineal. Como se observa en el esquema 2.1. Si hay más de dos lugares reactivos en uno de los monómeros, el polímero puede crecer en forma de red con enlaces transversales.



Esquema 2.1 Reacción entre monómeros bifuncionales⁽⁷⁾.

El lexán es un policarbonato preparado a partir de carbonato de difenilo y bisfenol A, como se puede ver en el esquema 2.2 es otro poliéster valioso en términos

comerciales. Lexán tiene una elevada resistencia al impacto, que lo vuelve muy útil en bastidores para maquinaria, teléfonos y cascos de seguridad para ciclistas.

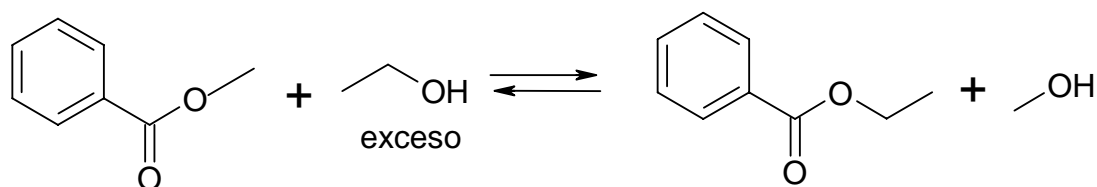


Esquema 2.2 Reacción de producción del lexán⁽⁷⁾.

2.6 TRANSESTERIFICACIÓN

Los ésteres reaccionan con alcoholes para producir un nuevo éster y un nuevo alcohol. Estas reacciones pueden ser catalizadas por ácidos o por bases y reciben el nombre de transesterificación.

Como ya se sabe, un éster consta de una parte que proviene de un ácido carboxílico llamada acilo y una parte derivada de un alcohol. La reacción de un éster con un alcohol en presencia de un catalizador, para generar un éster con un grupo alcóxido diferente es llamada reacción de transesterificación, como se observa en el esquema 2.3.



Esquema 2.3 Reacción de transesterificación⁽⁸⁾.



2.6.1 POLIOLES–POLIÉSTER

Los polioles poliésteres son producidos por la policondensación de un diácido con exceso de diol. Los monómeros difuncionales son utilizados para obtener polímeros lineales y los monómeros con funcionalidad mayor a 2, como la glicerina, se utilizan para formar cadenas ramificadas. Los ácidos más usados son el adípico y el ftálico.

Los polioles poliésteres basados en ácido adípico se utilizan en espumas flexibles y elastómeros, mientras que los basados en ácido ftálico o anhídrido ftálico se utilizan en la fabricación de espumas rígidas de alto desempeño.

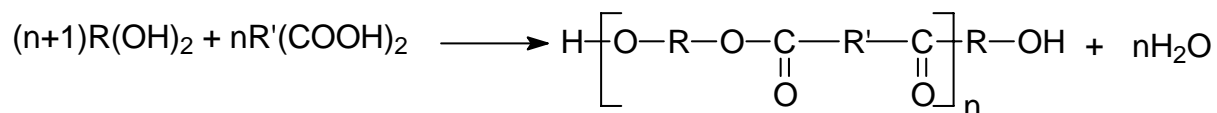
La preparación de poliésteres requiere de eliminar el agua producto de la reacción, para que esta se lleve a una velocidad adecuada, y obtener así el peso molecular requerido. La reacción generalmente se lleva a cabo a través del uso de alta temperatura y vacío o mediante el arrastre de un gas inerte. Una de las mejores formas de preparación de poliésteres es efectuar la reacción sin solventes.

El glicol (etileno, propileno, 1,3-butileno, 1,4-butileno, dietileno, etc) o triol (glicerina, 1,2,6-hexanotriol, trimetilolpropano, trimetiloletano, etc), según el caso, es adicionado al reactor y calentado con agitación hasta 60 – 90 °C.

El componente ácido es adicionado rápidamente, manteniendo la agitación; la mezcla es calentada a una rapidez tal que el agua se elimina por destilación. Se requiere además, adicionar un exceso de grupos hidroxilo para que todos los grupos ácidos reaccionen y poder controlar de esa manera el peso molecular en el intervalo deseado; la reacción genérica que se observa en el esquema 2.4. La reacción usualmente es forzada a completarse por medio de calentamiento hasta cerca de los 200 °C, mientras se adiciona un flujo de gas inerte como nitrógeno o dióxido de carbono, o se le mantiene en vacío.



La reacción se detiene cuando el número de ácido ha sido reducido entre 1 – 4, el contenido de agua es menor a 1% y el número de grupos hidroxilo está en el intervalo deseado.



Esquema 2.4 Reacción de condensación⁽⁷⁾.

Para hacer más corto el tiempo de esterificación se pueden utilizar catalizadores ácidos, por ejemplo, el ácido p-toluensulfónico u óxidos de metales, como el óxido de plomo.

2.7 MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN DE POLÍMEROS⁽⁹⁾

Existen diversas técnicas de caracterización de polímeros. En el caso de este estudio, la caracterización se realizó para determinar, por una parte la estructura del polímero y por otro lado el peso molecular y la distribución de éste en los polímeros obtenidos; las técnicas de caracterización de estructuras utilizadas fueron: espectroscopia de infrarrojo (IR), y para la determinación de los pesos moleculares se utilizó viscosimetría y cromatografía de permeación en gel (GPC).

2.7.1 ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO (IR)

Ésta es una técnica analítica complementaria que permite la identificación de los grupos funcionales de una muestra y su posible caracterización. Aunque la radiación infrarroja no tiene suficiente energía para ocasionar la excitación de los electrones, da lugar a que los átomos y grupos funcionales de los compuestos orgánicos vibren alrededor de los enlaces covalentes que los conectan, estas vibraciones son cuantificadas conforme ocurren, así los grupos funcionales de los compuestos absorben energía infrarroja en regiones específicas del espectro.



La porción de radiación infrarroja útil para el análisis de compuestos orgánicos se encuentra en el intervalo de longitud de onda de 2500 a 16000 nm, con frecuencia entre 1.9×10^{13} y 1.2×10^{14} Hz.

Los requisitos previos para que una absorción infrarroja ocurra son que la frecuencia de la radiación debe ser igual a la frecuencia de vibración de enlace entre 2 átomos de la molécula y que el momento bipolar de la molécula debe sufrir un cambio cuando tiene lugar esta vibración molecular. Si se reúnen estas condiciones, entonces la molécula absorberá la energía del haz infrarrojo que la atraviesa.

La complejidad de un espectro en la región de 1450 a 600 cm^{-1} dificulta la asignación de bandas de absorción y dado que en este intervalo se observan modelos únicos para cada compuesto, se le conoce como región de huella digital. La región de bandas de absorción entre 4000 y 1450 cm^{-1} se debe normalmente a las vibraciones por estiramiento de unidades biatómicas y por ello se reconoce como región de frecuencias de grupo.

La espectroscopia de IR es útil para la determinación de la concentración de grupos terminales en una muestra de polímero, también es de gran utilidad para determinar la naturaleza de los cambios estructurales en polímeros, por ejemplo, el proceso de degradación.

2.7.2 CROMATOGRAFÍA DE PERMEACIÓN EN GEL (GPC)

Cuando se trata con polímeros comunes no es posible hablar de un peso molecular único, sino de una distribución de pesos moleculares. Normalmente se habla de un peso molecular promedio y se describe la distribución de pesos moleculares alrededor del promedio. El principio de la técnica de GPC (de sus siglas en inglés Gel Permeation Chromatography) consiste en hacer pasar una solución que contiene el polímero de interés a través de una columna empacada con material poroso.



Debido a la difusión, el polímero intenta entrar en los poros del material del empaque, pero sólo las moléculas de menor tamaño pueden entrar en los poros. De esta manera, las moléculas grandes viajan rápidamente a través del volumen libre, mientras que las moléculas pequeñas viajan a través del material de empaque poroso, deteniéndose a lo largo de la columna por lo que, la abandonan más tarde que las moléculas grandes.

La cromatografía de permeación en gel no es un método absoluto, ya que no se mide la masa, sino el volumen hidrodinámico de las moléculas del polímero, es decir, cuanto espacio ocupa una molécula cuando se encuentra en solución en un determinado solvente.

Para relacionar el volumen hidrodinámico de una muestra de polímero con su peso molecular, es necesaria la construcción de una curva de calibración con estándares de peso molecular conocido y distribución estrecha; sin embargo, estos estándares existen sólo para ciertos polímeros cuya síntesis lo permite.

El peso molecular obtenido por GPC es relativo al estándar, para obtener los pesos moleculares corregidos se debe utilizar una curva de calibración universal, la cual requiere de los datos de viscosidad intrínseca del polímero a caracterizar. En la curva de calibración universal se traza el volumen de elusión contra el término $\log [\eta]^*M$.

2.7.3 VISCOSIMETRÍA

La viscosidad es una propiedad de los fluidos que caracteriza su resistencia a fluir, debido a las fuerzas de fricción entre capas de fluido que se desplazan a diferentes velocidades.

En el caso de una disolución, la viscosidad, al igual que muchas otras propiedades, depende no sólo de la naturaleza de los materiales mezclados, sino también de la cantidad presente de cada uno de ellos en la mezcla.



En particular, la variación de la viscosidad de una solución de un material polimérico en un solvente de moléculas pequeñas es de gran utilidad para la caracterización de polímeros.

En la práctica se puede describir la dependencia viscosidad – concentración de manera general a partir de la ecuación empírica de Mark – Houwink:

$$[\eta] = K * M^\alpha \quad \text{ecuación 2.1}$$

Donde K y α son dos parámetros que dependen del solvente, temperatura y polímero de estudio y $[\eta]$ es la viscosidad intrínseca.

Una vez que K y α se conocen para una combinación de polímero – solvente, es posible usar la viscosidad intrínseca para determinar el peso molecular promedio de un material (peso molecular viscosidad promedio M_v).

Para la determinación de la viscosidad intrínseca se utiliza un viscosímetro capilar, con el cual se registra el tiempo que le toma a un volumen de solución del polímero fluir a través del capilar y se compara con el tiempo de flujo del solvente puro a la misma temperatura.

El tiempo de flujo es proporcional a la viscosidad dinámica e inversamente proporcional a la densidad del fluido (ecuaciones 2.2 y 2.3).

$$\eta_{rel} = \frac{t_{solvente}}{\rho_{solvente}} \quad \text{ecuación 2.2}$$

$$\eta_{sol's} = \frac{t_{sol'n}}{\rho_{solvente}} \quad \text{ecuación 2.3}$$



Donde η es la viscosidad dinámica, t es el tiempo de escurrimiento del fluido en el viscosímetro y ρ es la densidad del fluido. El fluido puede ser el solvente o la solución del solvente con el polímero.

De lo anterior se define a la viscosidad relativa como se ve en la ecuación 2.4.

$$\eta_{rel} = \frac{\eta_{sol'n}}{\eta_{solvente}} \quad \text{ecuación 2.4}$$

Donde η_{rel} es la relación de la viscosidad de la solución que contiene el polímero con respecto a la viscosidad del solvente o viscosidad relativa, la cual es proporcional a una primera aproximación para soluciones diluidas a la proporción de los correspondientes tiempos de flujo.

Para la mayor parte de los polímeros a las concentraciones de interés, esta relación es cercana a 1, así que, en una muy buena aproximación la viscosidad relativa es una proporción del tiempo simple (ecuación 2.5).

$$\eta_{rel} = \frac{t_{sol'n}}{t_{solvente}} \quad \text{ecuación 2.5}$$

Donde la viscosidad relativa η_{rel} también se define como el cociente del tiempo de escurrimiento de la solución del polímero entre el tiempo de escurrimiento del solvente en el viscosímetro.

También se define una viscosidad específica, que se refiere al cambio fraccionario en la viscosidad por adición del polímero al solvente (ecuación 2.6).

$$\eta_{sp} = \frac{\eta_{sol'n} - \eta_{solvente}}{\eta_{solvente}} \quad \text{ecuación 2.6}$$



La viscosidad específica es el incremento fraccional en la viscosidad, este se representa por la diferencia de las viscosidades relativas de la solución del polímero y del solvente entre la viscosidad relativa del solvente.

Una vez determinada la viscosidad específica se puede obtener la viscosidad reducida que se representa en la ecuación 2.7⁽¹⁰⁾.

$$\eta_{red} = \frac{\eta_{sp}}{C}$$

ecuación 2.7

Donde la viscosidad reducida es la relación entre la viscosidad específica y la concentración de la solución del polímero

La viscosidad intrínseca se determina por medio de un método gráfico a partir de la viscosidad específica y la viscosidad inherente, mediante la relación que se muestra en la ecuación 2.8.

$$[\eta] = \lim_{C \rightarrow 0} \frac{\eta_{sp}}{C} = \lim_{C \rightarrow 0} \frac{\ln \eta_{rel}}{C}$$

ecuación 2.8

2.7.4 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

La microscopia electrónica de barrido (SEM por sus siglas en inglés), difiere de la microscopia de transmisión de electrones, en la cual se hace incidir un haz muy fino de electrones incidente sobre la superficie de una muestra en sincronización con un haz en un tubo de rayos catódicos.

Los electrones barridos son usados para producir una señal la cual modula el haz dentro del tubo de rayos catódicos, produciendo una imagen de gran profundidad de campo y una apariencia casi tridimensional. La microscopia electrónica de barrido está limitada en estudiar la morfología de las superficies, pero esta da una



información útil sobre la topología de las superficies con una resolución de alrededor 100 Å.

Las aplicaciones típicas incluyen estudios de dispersores de pigmentos en pinturas, fijadores o craqueo de recubrimientos, límites en la fase inmiscible de una mezcla de polímeros, en la estructura celular de espumas poliméricas y fallas en adhesivos. La microscopía electrónica de barrido es particularmente válida en evaluaciones para ver la reacción que hay en implantes poliméricos de uso quirúrgico a los cambios del medio ambiente.

2.7.5 PESO MOLECULAR DE LOS POLÍMEROS⁽¹¹⁾

El peso molecular es una variable importante porque se relaciona directamente con las propiedades físicas del polímero.

En general:

Alto peso molecular \longrightarrow polímero duro

Alto peso molecular \longrightarrow dificultad de procesamiento

¿Qué define un peso molecular óptimo?, esto depende en gran medida de la estructura química y la aplicación a la cual está enfocado.

En esta parte se verán las definiciones de peso molecular, métodos para determinar el peso molecular y métodos para determinar la distribución de pesos moleculares en una muestra de polímero. Además, se analizarán las propiedades de las soluciones de polímeros, porque es prerequisite en la determinación del peso molecular.

Lo que constituye un “bajo” peso molecular para una muestra de polietileno, puede ser ideal para una muestra de poliamida. Sin embargo, algunos polímeros son



deliberadamente preparados con bajo peso molecular para facilitar el procesamiento inicial, el peso molecular será incrementado en una subsecuente etapa de procesamiento.

Se piensa, en general, en el peso molecular de los polímeros que van de pocos cientos a millones. Los polímeros vinílicos con importancia comercial tienen peso molecular en un rango de 10^5 a 10^6 . Polímeros que tienen grupos funcionales (poliamidas y poliésteres) pueden tener peso molecular tan bajo como 15,000 a 20,000.

Para determinar el peso molecular de un compuesto (no polimérico) se emplean técnicas de espectrometría de masas, descenso del punto de congelación y elevación del punto de ebullición.

Determinar el peso molecular de polímeros, es considerablemente más complejo por dos sencillas razones:

- Los procesos de polimerización son imposibles de terminar obteniendo los polímeros del mismo tamaño.
- Las técnicas antes mencionadas son efectivas con polímeros de bajo peso molecular, métodos más sofisticados son usados para pesos moleculares mayores que 40,000.

Las técnicas más utilizadas para determinar pesos moleculares de polímeros son: osmometría, dispersión de luz y ultracentrifugación. El valor de peso molecular obtenido depende en gran medida del método usado.

Los métodos que dependen en el análisis de grupos terminales y propiedades coligativas es decir, una disminución en el punto de congelación así como un aumento del punto de ebullición y de la presión osmótica es conocido como el peso



molecular número promedio, ya que el número de moléculas de cada peso en la muestra son contadas.

El peso total de una muestra de polímero, w es la suma de los pesos de cada especie molecular presente como se observa en la ecuación 2.9:

$$W = \sum_{i=1}^n Wi = \sum_{i=1}^n NiMi \quad \text{ecuación 2.9}$$

Donde N =número de moles y M =peso molecular.

El peso molecular número promedio, \bar{M}_n , es el peso de la muestra por mol, como se puede ver en la ecuación 2.10.

$$\bar{M}_n = \frac{W}{\sum_{i=1}^n Ni} = \frac{\sum_{i=1}^n MiNi}{\sum_{i=1}^n Ni} \quad \text{ecuación 2.10}$$

La dispersión de luz y la ultracentrifugación son métodos de determinación de peso molecular basado en la masa o polarizabilidad de las especies.

En contraste con el peso molecular número promedio (que es la sumatoria de la fracción mol de cada especie de su peso molecular), estos métodos suman la fracción peso de cada especie de su peso molecular.

El valor aquí obtenido es llamado el peso molecular peso promedio, \bar{M}_w , y se expresa como se ve en la ecuación 2.11.


ecuación 2.11

$$\bar{M}_w = \frac{\sum_{i=1}^n W_i M_i}{\sum_{i=1}^n W_i} = \frac{\sum_{i=1}^n N_i M_i^2}{\sum_{i=1}^n N_i M_i}$$

En las propiedades coligativas, cada molécula contribuye igualmente al peso, sin embargo, con la difracción de la luz, las moléculas más grandes contribuyen más porque ellas dispersan la luz más efectivamente. Por esta razón, el \bar{M}_w es mayor que el \bar{M}_n excepto, cuando todas las moléculas son del mismo peso, entonces $\bar{M}_w = \bar{M}_n$. Los valores más cercanos de rango de peso molecular son \bar{M}_w / \bar{M}_n puede ser usada como una indicación de la anchura del rango del peso molecular de una muestra de polímero. Esta relación es llamada índice de polidispersidad.

2.8 TIPOS DE DEGRADACIÓN POLIMÉRICA

Existen diferentes maneras de clasificar los tipos de degradación de acuerdo con los factores que intervienen, como se puede observar en la figura 2.13.

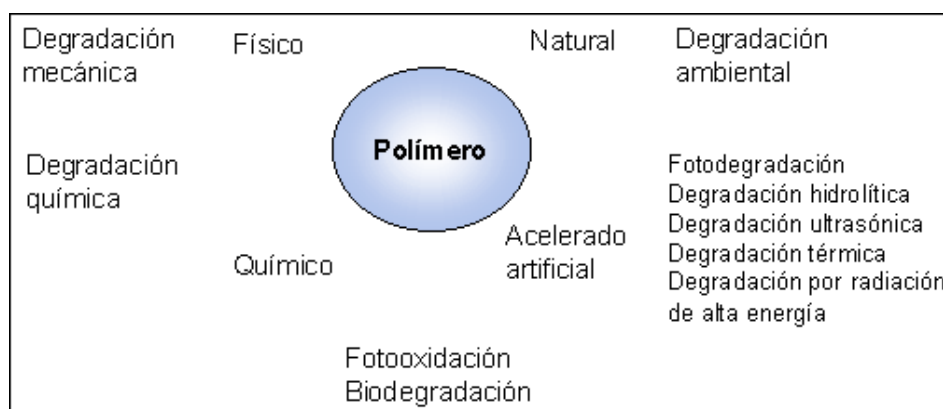


Figura 2.13 Métodos de degradación

Estos procesos se describen a continuación:



Degradación ambiental, considera al polímero sometido a la influencia de los elementos naturales o bien, toma en cuenta los efectos del uso o las condiciones de aplicación sobre su vida útil. Todos los polímeros sujetos a exposiciones a la atmósfera se degradan de diferente manera, dependiendo de su composición.

Degradación acelerada, consiste en someter al material polimérico a condiciones climatológicas más severas a las cuales fue diseñado, lo que va a repercutir en su tiempo de vida útil.

Degradación física, engloba a todos los fenómenos físicos que interaccionan con los polímeros sin modificar la estructura química de los mismos. En este tipo de envejecimiento se consideran dos fenómenos: uno que implica transferencia de masa y otro en el que no la hay.

Degradación química, implica la modificación estructural del material polimérico expuesto a determinadas condiciones como puede ser la luz, la temperatura en presencia o ausencia de oxígeno, los disolventes y los diferentes tipos de radiación.

Degradación térmica, es aquella que se origina por los efectos térmicos. Se caracteriza por la ruptura de enlaces químicos y, una vez que los enlaces químicos empiezan a romperse, se crean cadenas reactivas y/o radicales libres.

La degradación térmica se puede clasificar en dos grupos:

- Depolimerización o reacciones de ruptura de cadena
- Reacciones de sustitución o reordenamiento de cadena

Degradación mecánica, comprende los fenómenos de fractura así como los cambios químicos inducidos por esfuerzos mecánicos. Generalmente se refiere a efectos macroscópicos debidos a la influencia de esfuerzos cortantes, además de las rupturas de las cadenas del polímero.



Degradación biológica, es un tipo de degradación química fuertemente relacionada con un ataque microbiano debido a que los microorganismos producen una gran variedad de enzimas capaces de reaccionar con polímeros naturales y sintéticos.

La biodegradación de polímeros naturales es común en forma de degradaciones incompletas, tales como la degradación de combustibles provenientes del petróleo y las degradaciones completas de proteínas y lípidos para propósitos nutritivos.

Los productos naturales que son susceptibles al ataque biológico son:

- Plásticos industriales: hidrolizables por bacterias y hongos.
- Goma natural: parcialmente consumible por microorganismos de suelo.
- Almidón: degradado fácilmente por bacterias y hongos.
- Celulosa: atacada por agentes biológicos, mediante hidrólisis enzimática.

Degradación de polímeros por inducción de luz o fotodegradación. La fotodegradación es el proceso por el cual la luz solar afecta a las sustancias poliméricas y otros compuestos orgánicos, reduciendo principalmente el peso molecular de los mismos, lo que ocasiona que éstos pierdan sus propiedades físicas y mecánicas de una manera irreversible, lo que se manifiesta en: decoloración y/o coloración, formación de grietas y ampollas sobre la superficie, fragilidad, pérdida de propiedades de resistencia e incremento en la conductividad eléctrica, por mencionar sólo algunos efectos.

2.8.1 BIODEGRADACIÓN DE POLÍMEROS⁽³⁾

La biodegradación consiste en una degradación química causada por reacciones bioquímicas, especialmente, aquellas catalizadas por enzimas producidas por microorganismos bajo condiciones aeróbicas o anaeróbicas.



Las enzimas son catalizadores muy eficientes y específicos, éstas son sintetizadas por las células a partir de su información genética.

Estructuralmente, las enzimas son proteínas complejas y altamente especializadas producidas por las células con la finalidad de catalizar tipos específicos de reacciones químicas de importancia biológica.

Las enzimas pueden ser altamente específicas para un cierto tipo de estructura química o sustrato y pueden incrementar la rapidez de transformación del sustrato mediante un factor de 10^6 a 10^{20} , sin crear productos indeseables de reacción.

Se ha descrito que la biodegradabilidad de los polímeros está influenciada por varios factores, entre los más importantes están la estructura química de los polímeros, especialmente la presencia de determinados grupos funcionales, el balance de hidrofiliidad–hidrofobicidad en la cadena de polímero y también la estructura ordenada tal como la cristalinidad, la orientación y otras propiedades morfológicas.

La biodegradación de polímeros involucra primeramente reacciones químicas catalizadas por enzimas; tales reacciones pueden ocurrir por medio de un ataque aleatorio a lo largo de la cadena del polímero o en determinados grupos funcionales internos de la molécula, o bien, mediante ataque específico a las terminaciones de la cadena del polímero. En el primer caso, el resultado son escisiones en la cadena con un sustancial decremento en el peso molecular del polímero, mientras que para el segundo caso resulta sólo en la remoción de las unidades terminales, las cuales, pueden ser monómeros, dímeros y quizás hasta trímeros; en este caso, el efecto inmediato en el peso molecular del polímero residual es mucho menor.

Entre los microorganismos que pueden proveer las enzimas para tales procesos incluyen bacterias, hongos, levaduras, algas y otros.



Tales microorganismos pueden también secretar agentes reactivos al ambiente, los cuales pueden causar reacciones de degradación (especialmente ácidos), y similarmente algunas enzimas pueden catalizar la formación de agentes reactivos en el ambiente (tales como peróxidos), que pueden degradar al polímero, incluso cuando las enzimas no están involucradas directamente en la degradación, se llevan a cabo otras reacciones de los productos bioquímicos que de alguna manera también generan degradación.

La degradación por microorganismos de los sustratos de los polímeros que contienen grupos funcionales hidrolizables en la cadena principal ocurre en dos pasos principales; el primero es la hidrólisis de la cadena en pequeños fragmentos solubles, la cual es llevada a cabo por los microorganismos, por un agente químico o por ambos. El segundo paso es el relacionado a la hidrólisis de los fragmentos solubles.

Para los polímeros, la degradación puede ser descrita en términos tanto de cambios en la estructura molecular y/o en propiedades físicas o químicas.

Los cambios estructurales deben incluir una disminución en el peso molecular y este decremento dependerá del polímero y del proceso. El último requerimiento para satisfacer la definición de biodegradación es por medio de la escisión de la cadena en donde ocurre fragmentación de la molécula del polímero⁽¹⁰⁾.

2.8.2 POLÍMEROS BIODEGRADABLES DE USO COMERCIAL

Los polímeros biodegradables son un nuevo campo emergente. Recientemente se han sintetizado un número considerable de polímeros biodegradables, al mismo tiempo que se han identificado varios microorganismos y enzimas capaces de degradarlos.



Según su constitución química, los polímeros biodegradables pueden clasificarse básicamente en cuatro categorías principales:

- a) Polímeros naturales: como la celulosa, el almidón y las proteínas.
- b) Polímeros naturales modificados: como el acetato de celulosa o los polialcanoatos.
- c) Materiales compuestos que combinan partículas biodegradables (por ejemplo, el almidón, la celulosa regenerada o gomas naturales) con polímeros sintéticos (por ejemplo, mezclas de almidón y poliestireno, o almidón y policaprolactona),
- d) Polímeros sintéticos: como los poliésteres, las poliesteramidas y los poliuretanos, entre otros.

En general, los polímeros sintéticos ofrecen mayores ventajas sobre los materiales naturales y los compuestos porque pueden ser diseñados según las propiedades requeridas. Además, estas pueden ser estimadas o predecidas teóricamente.

2.8.3 POLIÉSTERES BIODEGRADABLES

Los grupos funcionales de los poliésteres son degradables hidrolíticamente, lo que les confiere un gran interés en el campo de los biomateriales. Los polímeros preparados a partir de ácido glicólico (PGA) y ácido láctico (PLA) tienen una aplicación muy extensa en medicina, por ejemplo, en las suturas biodegradables que se han venido comercializando desde los años 60's. Desde entonces, diversos productos basados en los ácidos láctico y glicólico (incluyendo otros materiales, como homopolímeros y copolímeros de policaprolactona (PCL), y copolímeros de polidioxanona (PDO) y poli(trimetilcarbonato) han sido aceptados para su uso en dispositivos médicos.

Otra aplicación usual de los poliésteres son las bolsas de compostaje y envasado.

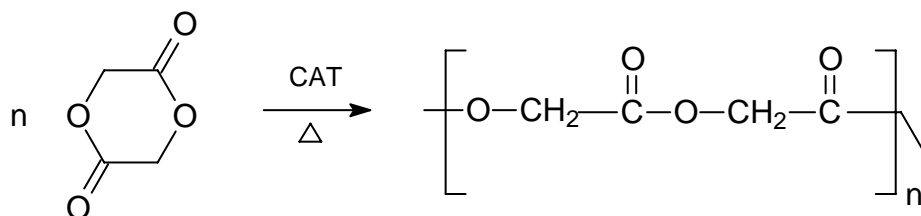


Actualmente, empresas multinacionales como Danone y McDonald's están interesadas en el desarrollo de este tipo de productos.

Se analizarán las propiedades comunes de los polímeros biodegradables que en este momento presentan un mayor interés para la sociedad.

Poli(ácido glicólico) (PAG), es el poliéster alifático lineal más simple. Fue utilizado para desarrollar la primera sutura sintética totalmente absorbible y se comercializó como DEXON en los años 60's por Davis & Geck, Inc. (Danbury, CT). Mediante un proceso de dimerización del ácido glicólico, se sintetiza el monómero, el cual por polimerización de apertura de anillo (como se observa en el esquema 2.5), produce un material de alto peso molecular y con un porcentaje de 1-3% de monómero residual. El polímero resultante se caracteriza por una elevada cristalinidad (45-55%), un alto punto de fusión (220-225°C) y una temperatura de transición vítrea de 35-40°C.

No es soluble en muchos solventes orgánicos, a excepción de organofluorados como el hexafluoroisopropanol.



Esquema 2.5. Síntesis del poli(ácidoglicólico), (PAG).

Las fibras obtenidas a partir del PAG tienen un elevado módulo de Young y resistencia. Se le denomina módulo de elasticidad a la razón entre el incremento de esfuerzo y el cambio correspondiente a la deformación unitaria.

Si el esfuerzo es una tensión o una compresión, el módulo se denomina módulo de Young y tiene el mismo valor para una tensión que para una compresión, siendo una



constante independiente del esfuerzo siempre que no exceda de un valor denominado límite elástico.

Su rigidez dificulta su uso para suturas, excepto cuando se emplea como material trenzado. Las suturas de PGA pierden alrededor del 50% de su resistencia después de 2 semanas, el 100% en 1 mes, y son completamente absorbidas en 4-6 meses.

El poli(ácidoglicólico) ha sido copolimerizado con otros monómeros para reducir la rigidez de sus fibras.

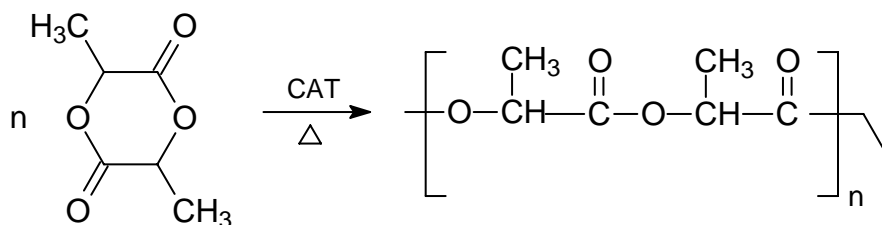
Poli(ácido láctico) (PAL): se obtiene mediante polimerización por apertura de anillo del dímero cíclico del ácido láctico (como se ve en el esquema 2.6).

El monómero tiene un carbono asimétrico, por lo que es factible preparar polímeros con diferentes tacticidades.

El homopolímero derivado del monómero natural, ácido L-láctico (L-PAL), presenta un elevado grado de cristalinidad (37%) debido a su estereoregularidad.

El material tiene alta resistencia a la tensión y baja elongación, y consecuentemente tiene un módulo de Young elevado.

El polímero es muy adecuado para aplicaciones que tienen que soportar una carga como son las suturas y fijaciones ortopédicas. Sus características térmicas están definidas por un elevado punto de fusión (175-178 °C) y una temperatura de transición vítrea de 60-65 °C.

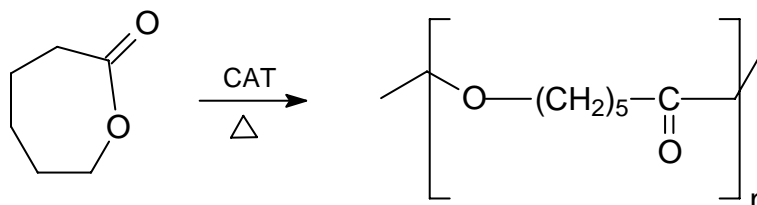


Esquema 2.6. Síntesis del poli(ácido láctico).

El ácido D-liláctico y el ácido L-liláctico forman un polímero amorfo, ya que está constituido por las dos formas isoméricas (D y L) del ácido láctico. En ese caso, el polímero tiene baja resistencia a la tensión, alta elongación y una elevada velocidad de degradación que hace que sea un material muy atractivo para los sistemas de liberación de fármacos. Se preparan también copolímeros de ácido L-PLA y ácido D-PLA para disminuir la cristalinidad del polímero quiral y acelerar el proceso de degradación.

El poli(ácido láctico-co-ácido glicólico) son copolímeros de ácido glicólico con ácido L-láctico y ácido D-láctico que han sido desarrollados para aplicaciones en sistemas liberadores de fármacos. Por ejemplo, un copolímero con 50% de D,L-láctico se degrada más rápidamente que sus homopolímeros puros. El copolímero más importante presenta un 90% de glicólico y un 10% de L-láctico.

La policaprolactona (PCL), se prepara mediante la polimerización por apertura de anillo de la ϵ -caprolactona (como se observa en el esquema 2.7). El polímero es semicristalino, presenta un punto de fusión de 59-64 °C y una temperatura de transición vítrea de - 60 °C. Además se comporta como material biocompatible y utilizado como sutura biodegradable. Debido a que la PCL tiene un intervalo de degradación elevado, del orden de 2 años, se han preparado copolímeros con ácido D y ácido L-láctico para aumentar la velocidad de bioabsorción. También se utilizan copolímeros en bloque de PCL-co-PGA, por ofrecer una menor rigidez comparada con el homopolímero PGA puro.

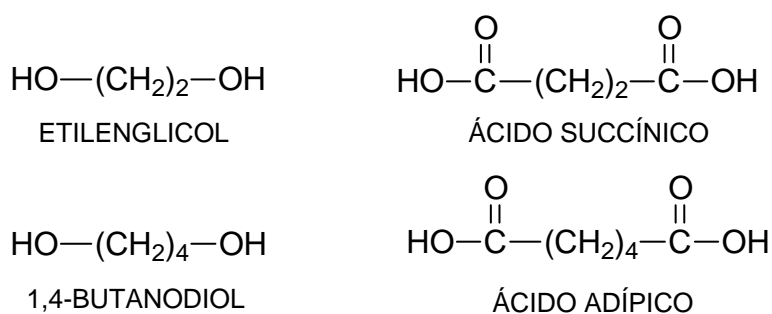


Esquema 2.7. Síntesis de policaprolactona, (PCL).

2.8.3.1 POLIÉSTERES ALIFÁTICOS BASADOS EN DIOLES Y DIÁCIDOS.

El interés hacia los poliésteres alifáticos derivados de dioles y ácidos dicarboxílicos está aumentando desde la presentación del polímero BIONOLLE comercializado por Showa Highpolymer Co. en 1990. Este polímero es sintetizado mediante una reacción de policondensación de etilenglicol, 1, 4-butanodiol y ácidos dicarboxílicos tales como el succínico y el adípico (como se observa en el esquema 2.8).

Debido a las facilidades de procesado y a las buenas propiedades que presenta, el polímero puede ser manufacturado como fibra textil o como plástico mediante inyección y extrusión. Sus aplicaciones abarcan bolsas de basura y compostaje, envases para cosméticos y alimentos, y espumas.



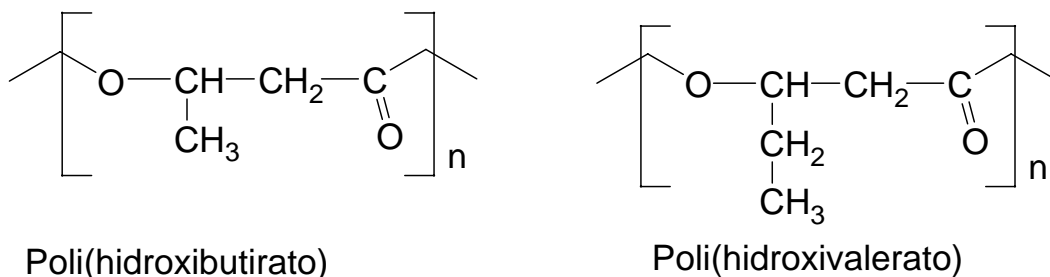
Esquema 2.8. Constituyentes del BIONOLLE.

2.8.3.2 POLIÉSTERES BASADOS EN MICROORGANISMOS

Muchas compañías buscan alternativas para disminuir los costos de fabricación de polímeros biodegradables, un método empleado es la síntesis de polímeros usando microorganismos (bioingeniería). Los principales polímeros obtenidos por este método son los llamados poli(hidroxicanoatos). Actualmente se comercializa un copolímero compuesto por poli(hidroxi butirato) (PHB) y poli(hidroxi valerato) (PHV), con el nombre de BIOPOL, que ha sido estudiado para la aplicación en medicina y cuyas estructuras se pueden ver en el esquema 2.9.

El homopolímero puro de PHB es cristalino y muy frágil, mientras que el copolímero de PHB con PHV es menos cristalino, más flexible y fácil de procesar.

Estos polímeros normalmente requieren la presencia de enzimas para su degradación, pero se podrían degradar en una variedad de medios, que están siendo estudiados para diversas aplicaciones biomédicas.



Esquema 2.9. Estructura molecular de los poliésteres que forman el copolímero BIOPOL.

Los poliésteres constituyen el grupo de polímeros más extensamente estudiados en cuanto a la degradación enzimática. De este modo, se ha demostrado que los poliésteres alifáticos, con una cadena flexible, son más fácilmente degradados en sistemas biológicos que el poli(tereftalato de etileno), que dispone de una cadena más rígida debido a la presencia de grupo aromático.



3. DESARROLLO EXPERIMENTAL

En este capítulo se mostrarán los trabajos experimentales que se llevaron a cabo para esta investigación y los resultados que de ellos se obtuvieron.

El desarrollo experimental nos permite establecer las instrucciones que se deben de llevar a cabo para la producción de un producto deseado o la obtención de un objetivo establecido. Por lo que, llevarlo a cabo permite realizar mejoras y/o en algunos casos modificaciones importantes a los métodos o técnicas ya establecidas, así mismo como el desarrollar otras nuevas.

En primer lugar, se describirán las metodologías utilizadas para determinar las condiciones que permiten llevar a cabo la síntesis del poli(tereftalato de dietilenglicol) a partir del tereftalato de dimetilo (TDM) y del dietilenglicol (DEG), de ahí que para cada una de las reacciones se partió de técnicas establecidas en la bibliografía y que fueron cambiando según los resultados obtenidos, con ello se establecieron los sistemas y las condiciones que permiten la obtención del polímero⁽¹²⁾.

Con el poliéster obtenido se llevó a cabo la caracterización del mismo y antes de la biodegradación, primero, con ayuda de la espectroscopia de infrarrojo y de la cromatografía de permeación en gel, posteriormente, después de la biodegradación analizando también los subproductos de dicho proceso, esto con ayuda de la cromatografía de gases y espectrometría de masas.

El siguiente paso es someter el material polimérico obtenido al proceso de biodegradación para corroborar que efectivamente la cepa aislada en el departamento de bioquímica es capaz de biodegradar el poliéster para así extraer los subproductos de dicho proceso para posteriormente analizarlos y verificar que efectivamente el polímero fue biodegradado.



SÍNTESIS DEL POLI(TEREFTALATO DE DIETILENGLICOL). METODOLOGÍA GENERAL

Se llevaron a cabo las reacciones de TDM con DEG, siendo así una reacción de transesterificación de un diéster con un diol. Se buscó obtener polímeros lineales con grupos aromáticos de alto peso molecular, por cada molécula de tereftalato de dimetilo se ponían dos de dietilenglicol esto para asegurar que se unieran a cada uno de los extremos del tereftalato, por lo tanto, se adicionó un exceso de dietilenglicol para este proceso. ⁽¹³⁾

La metodología para la reacción de síntesis del poli(tereftalato de dietilenglicol) es la siguiente:

1. Se pesan 250 gramos de tereftalato de dimetilo grado R. A. (1.28 moles) purificado, (la técnica de purificación se encuentra en el apéndice A), se colocan en un matraz de tres bocas, con agitación magnética; en una boca se pone un termómetro y en otra boca se conecta una T de destilación, esta a su vez, va conectada a un refrigerante, el cual en la parte final tiene conectado un colector con conexión al sistema de vacío. El esquema del sistema utilizado se presenta en la figura 3.1.
2. Se adiciona al matraz el dietilenglicol (240 mL), en proporción molar 1:1.2 con respecto al tereftalato de dimetilo. Se utiliza un 20% de exceso del glicol con el fin de favorecer la reacción de transesterificación.
3. Se coloca un flujo de nitrógeno para eliminar el aire presente en el sistema y así obtener un medio inerte.
4. Se coloca una parrilla de calentamiento para elevar la temperatura a un rango de 110 – 115 °C para garantizar la eliminación de la humedad del sistema y

poder agregar el terbutóxido de titanio (TBT) que funcionará como catalizador en la reacción.

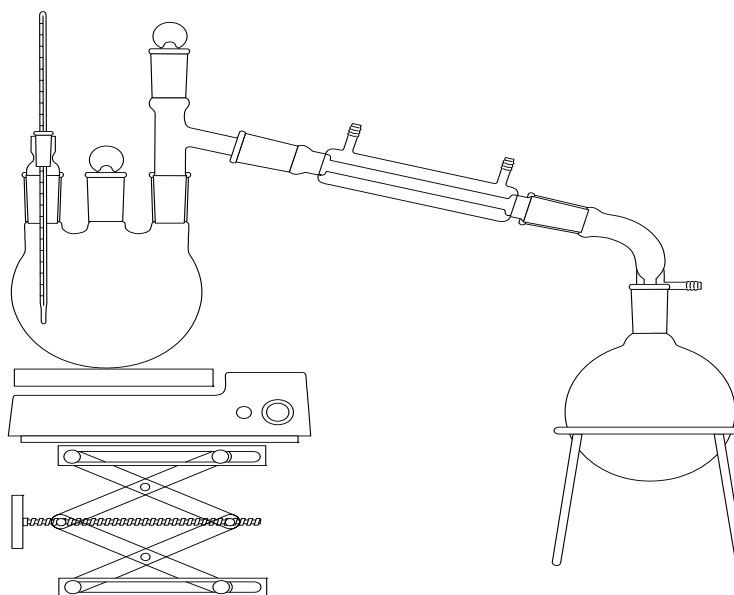


Figura 3.1 Sistema de reacción para la obtención del tereftalato de dietilenglicol⁽¹⁴⁾.

5. Se deja la reacción 15 minutos antes de colocar el vacío e ir elevando paulatinamente la temperatura hasta un rango de 250 – 260 °C.
6. La reacción se deja por tres horas con una rapidez de calentamiento controlada por el reóstato entre 60 y 70%, durante este tiempo es cuando se observa el cambio en la viscosidad y color de la mezcla de reacción.
7. Se deja enfriar la mezcla aproximadamente hasta 100 °C manteniendo el vacío del sistema.
8. Se deja enfriar hasta temperatura ambiente y se adiciona peróxido de hidrógeno al 70%, aproximadamente 4 mL, al polímero obtenido colocándolo nuevamente en una parrilla de calentamiento con agitación magnética y elevando la temperatura en un rango de 60 – 70 °C, hasta que el color de la mezcla se aclare y se obtenga un color entre amarillo y blanco.



9. El poliéster ya decolorado con el peróxido de hidrógeno, se lava con tres porciones de agua destilada de aproximadamente 10 mL cada una para eliminar el exceso de peróxido y así evitar la hidrólisis del polímero.
10. El polímero se coloca en el desecador para eliminar la humedad presente, como se observa en la figura 3.2.

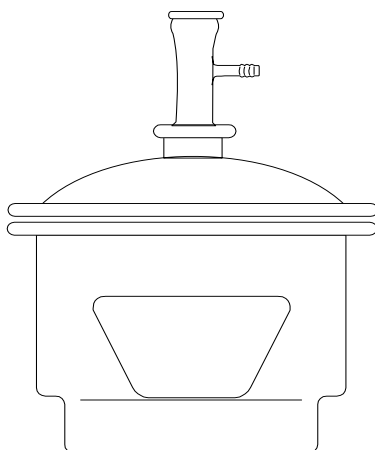


Figura 3.2 Sistema para secar el poliéster obtenido.

Cabe señalar que la metodología antes descrita es de forma general, en realidad se utilizaron 3 procedimientos de obtención del producto pero fué esta última la que arrojó los mejores resultados.

PESOS MOLECULARES PROMEDIO DEL POLI(TEREFTALATO DE DIETILENGLICOL)

Se obtuvo el peso molecular promedio M_n y la polidispersidad M_w/M_n de los polímeros sintetizados, mediante cromatografía de permeación en gel (GPC). La polidispersidad se obtuvo con la finalidad de comparar los efectos de la biodegradación de las bacterias sobre los poliésteres y el peso molecular como una variable de caracterización de cada poliéster.



Las estimaciones de peso molecular aparente para los poliésteres se realizaron a partir de una curva de calibración con estándares de poliestireno de pesos moleculares entre 1680 y 200,000 g/gmol, los cuales fueron disueltos en tetrahidrofurano (THF) a una concentración de 1000 ppm (partes por millón, es decir 1 mg/mL), de los cuales se inyectó un volumen de 10 μ L a un equipo Waters 2695 con una columna HP PLgel 5 μ 500 Å, para rangos de peso molecular de 100 a 100,000 g/gmol; la temperatura de la columna fue de 40 °C y el detector Waters 2414 que es un detector de índice de refracción (Refractive Index Detector). El eluyente fue THF y se utilizó un flujo de 1 mL/min⁽¹⁵⁾.

CURVA UNIVERSAL PARA DETERMINACIÓN DE PESOS MOLECULARES

Para la obtención de la viscosidad de los poliésteres se utilizó un equipo de viscosidad Viscotek acoplado al equipo de cromatografía de permeación en gel, el cual con ayuda de una curva universal hecha con estándares de poliestireno de diversos pesos moleculares se pudo obtener el peso molecular de los poliésteres obtenidos.

Para la obtención de una curva universal se parte de la viscosidad y la concentración de algunas muestras de polímeros estándar generalmente de poliestireno de diversos pesos moleculares en un equipo de viscosidad Viscotek, esta curva es de mucha importancia para la obtención de los pesos moleculares de las muestras de los poliésteres sintetizados en el laboratorio, para verificar dichos pesos antes y después del proceso de biodegradación y así comprobar que en efecto la bacteria si haya degradado o no los polímeros obtenidos.

La temperatura de la columna fue de 40 °C.⁽¹⁵⁾

ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO



El análisis mediante infrarrojo de los poliésteres obtenidos se llevó a cabo con la finalidad de identificar la vibración de los grupos funcionales esperados en los poliésteres. Los -OH terminales que se esperan, deben de aparecer en la región de 3500 a 3100 cm^{-1} , confirmando la presencia de estos -OH primarios en la región de 1100 a 1000 cm^{-1} , los grupos éter R-CO-R', que se esperan, deberán aparecer en la región de 1300 a 1200 cm^{-1} , los grupos éster R-COO-R', deben de estar en la región de 1750 a 1700 cm^{-1} , ya que se trata de un éster aromático, también se tiene la presencia de la banda característica de los -CH₂- poliméricos, ésta se encuentra en la región de 800 a 700 cm^{-1} .⁽¹⁶⁾

Las determinaciones se llevaron a cabo por el método de ATR, en un equipo Varian 800 FT-IR Scimitar Series.

PRUEBAS DE BIODEGRADACIÓN

Se prepararon distintos tipos de cultivos para someter a cada uno de los materiales sintetizados con la cepa 1 ó también denominada por el departamento de Bioquímica *Alicyclophilus sp.* Con el propósito de determinar si estas bacterias son capaces de crecer en un medio cuya única fuente de carbono fuera uno de los poliésteres preparados sintéticamente. Para lograr lo anterior se llevaron a cabo los siguientes procedimientos para la prueba.

PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO

Con base en los medios de cultivo utilizados en microbiología, se prepararon distintos medios donde la fuente de carbono para la cepa 1 o llamada *Alicyclophilus sp.* fuera alguno de los materiales sintetizados; para llevar a cabo este trabajo todos los medios de cultivo fueron preparados en condiciones asépticas, es decir, con la mayor esterilidad posible, esto se logra preparando las soluciones alrededor de un mechero cuyo radio de flama oscila entre los 10 y 15 cm de diámetro.



Para la preparación del Medio Basal (MB) que sirve como fuente de nitrógeno y de sales minerales para la bacteria, consiste de una solución acuosa que contiene 3 tipos de soluciones y las composiciones son por litro de agua estéril de las siguientes sales: para la solución A que está diluída 10 veces o (10X), está compuesta por 20.0 g de KH_2PO_4 y 70.0 g de K_2HPO_4 , para la solución B está diluida 100 veces o (100X) y está compuesta por 100.0 g de NH_4NO_3 y 10.0 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y para la solución C también denominada solución de elementos traza, está diluída 1000 veces o (1000X), está compuesta por 1.0 g de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.1 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 10.0 g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y 2.0 g de $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{-}6\text{H}_2\text{O}$ con el cual se obtiene un pH cercano a 7 y condiciones isotónicas⁽¹⁷⁾.

Cabe señalar que el MB no tiene una fuente de carbono sino que es una fuente rica es sales minerales y que el nitrato de amonio es la única fuente de nitrógeno que tiene el medio de cultivo⁽¹⁷⁾.

El medio Luria–Bertani (LB) es un medio de cultivo al cual se le ha adicionado al igual que al medio anterior concentraciones por litro de agua estéril diversas fuentes de carbono y nitrógeno, que son de fácil disponibilidad para las bacterias y son 5.0 g de extracto de levadura, 10 g de peptona, 10 g de NaCl y 16 g de agar bacteriológico^(18, 19). Al término de juntar todos los compuestos necesarios para el medio sólido se ponen a esterilizar en el autoclave a 121 °C, temperatura a la cual se mueren todo tipo de microorganismos presentes en el medio y durante un tiempo de 15 minutos.

El medio LB, al ser un medio no selectivo, permite el crecimiento de cualquier grupo de hongos y bacterias, por lo que este medio fue utilizado para la cuantificación de las bacterias capaces de formar una colonia en una placa de LB en rangos de 3 a 24 hrs, con las cuales se hacían diluciones del medio tanto del control como del medio que tenía la muestra, desde 10^{-1} hasta 10^{-9} a partir de 1 μL de muestra para así hacer el conteo de las **U**nidades **F**ormadoras de **C**olonias (UFC).



Uno de los parámetros más importantes en la medición de los cultivos en microbiología es la concentración de bacterias por mL de cultivo líquido; para la determinación de este parámetro es necesario determinar la absorbancia a 660 nm (Densidad Óptica D.O.₆₆₀) de una muestra de LB sin bacterias y uno con bacterias, al paso de algunas horas (mínimo 24 hrs); la correlación de esta lectura se hace mediante una curva de crecimiento patrón, elaborada por el seguimiento del cambio de la absorbancia de la muestra con el tiempo⁽²⁰⁾.

DETERMINACIÓN DEL CRECIMIENTO BACTERIAL

Se determinó el crecimiento de la cepa *Alicyclophilus sp.*, utilizando como sustrato al MB junto con los poliésteres sintetizados en el laboratorio, para observar las tendencias de crecimiento de las bacterias sobre el medio con los materiales. Esto se logra poniendo 5 diferentes concentraciones de poliéster en el medio líquido, las cuales se pueden observar en la tabla 3.1.

Tabla 3.1. Concentraciones tanto en % peso así como en peso del poliéster obtenido.

Concentración en % peso	Concentración en gramos de poliéster
0.3	0.15
0.78	0.39
1.5	0.75
2.25	1.125
3	1.5

Estas concentraciones se esterilizaban por las técnicas más adelante descritas y se disponían diluciones de las mismas en las cajas petri con el medio Luria-Bertani sólido.

TÉCNICAS DE PREPARACIÓN DEL MATERIAL ANTES DE BIODEGRADAR



Los materiales sintetizados, antes de ser sometidos al proceso de biodegradación, se purificaron con peróxido de hidrógeno (H_2O_2) para evitar cualquier contaminación con otro microorganismo que pudiera afectar en dicho proceso y entrara en competencia con la cepa *Alicyclophilus sp.* por la fuente de alimento.

Esto se llevaba a cabo adicionando a la muestra de polímero 10 gotas de H_2O_2 durante medio minuto, inmediatamente después, se enjuagaba con agua destilada cuatro veces para garantizar la eliminación del H_2O_2 , y realizado a temperatura ambiente para evitar hidrólisis en el material.

Debido a que al utilizar H_2O_2 y no tener certeza de eliminarlo por completo del polímero, este podía afectar el crecimiento de la bacteria y por consiguiente desechar el lote.

Al presentarse este problema, se optó por utilizar otra técnica de esterilización, que para este sistema fue la irradiación por medio de una cámara de UV.

BIODEGRADACIÓN DEL POLI(TEREFTALATO DE DIETILENGLICOL) Y CARACTERIZACIÓN DE LOS SUBPRODUCTOS DEL PROCESO

Se realizó un cultivo con medio LB líquido, se dispuso de una concentración del 3% en peso de los poliésteres sintetizados, teniendo un control y uno con el cual se inoculó la cepa *Alicyclophilus sp.*, en este experimento ya no fue necesario plaquear debido a que en el experimento anterior se plaqueó, pero el número de UFC fueron incontables, por lo que con esta prueba se fueron sacando alícuotas de 1 mL por día tanto del medio con la bacteria así como del blanco para ver que efectivamente el blanco no estaba siendo consumido por algún organismo de este tipo, durante 10 días con los cuales 0.5 mL se extraían con 0.5 mL de éter y 0.5 mL del resto de la muestra se extraían con 0.5 mL de cloroformo para su posterior caracterización tanto por cromatografía de gases por dos métodos para el análisis de estas muestras teniendo también el espectrómetro de masas acoplado al equipo, así como por la



cromatografía de permeación en gel para observar los cambios en el peso molecular y en la polidispersidad que haya sufrido el polímero.

Cabe señalar que ambas muestras estuvieron en incubación con agitación a 200 rpm y 37 °C de temperatura por 10 días que duró la prueba para observar que efectivamente la bacteria haya degradado el material disponible en el cultivo.

Al término de estos análisis se llevaron a cabo dos pruebas más, la primera fue que el material ya biodegradado y el control se extrajeron del medio líquido para someterlos a una microscopia electrónica de barrido y la otra prueba fue sacar 3 mL de medio líquido de ambas muestras para hacerles una prueba de flama con la finalidad de saber si existía la presencia de sustancias inflamables en los medios de cultivo líquidos.

RESULTADOS

En esta parte del trabajo, es donde se presentarán los resultados obtenidos de la parte experimental y los análisis que de esos datos se realizaron para poder llegar a establecer la metodología de obtención del poli-(tereftalato de dietilenglicol) por este método.

Por otro lado es importante señalar que las técnicas de purificación de los reactivos se presentan en el apéndice A y los métodos de análisis cromatográficos en el apéndice B.

Los resultados se irán presentando conforme se desarrollaron las metodologías y sus análisis se harán una vez que estos fueron presentados para cada una de las etapas de la investigación y así, poder generar una discusión de ellos. Por lo tanto, se comenzará con los resultados de la reacción de síntesis para obtener el polímero, que es el poli-(tereftalato de dietilenglicol), posteriormente los resultados de la caracterización y por último, los resultados de la biodegradación, los efectos



obtenidos de dicho proceso y el análisis de los subproductos recuperados de dicho proceso.

3.6.1 OBTENCIÓN DEL POLI-(TEREFTALATO DE DIETILENGLICOL)

Esta reacción parte del tereftalato de dimetilo y del dietilenglicol, los cuales al inicio solo se pensaba seguir una técnica ya establecida en la literatura⁽¹³⁾, por lo que se fueron desarrollando una serie de reacciones y con ello obtener las diversas metodologías de obtención del producto deseado, hasta llegar a la más adecuada.

3.6.1.1 METODOLOGÍA 1

Anteriormente ya se había mencionado el desarrollo del proceso de la obtención del poliéster de interés, por lo que en esta parte del trabajo se desarrollan cada una de las metodologías que se realizaron en la parte experimental, hasta llegar a la más adecuada.

En esta metodología se realizaron 4 reacciones en las cuales se colocaron los reactivos antes mencionados, pero la reacción se realizó en dos fases, es decir, se hizo primero la reacción de transesterificación, en la cual se colocaba un flujo de nitrógeno muy pequeño durante toda la reacción para eliminar el aire del sistema y evitar la oxidación de los reactivos o bien del producto, posteriormente se colocaba el catalizador que iba a activar la reacción al 0.5% con respecto al reactivo limitante que es el TDM, el cual fue el ácido p-toluensulfónico⁽¹⁰⁾, con agitación vigorosa y elevando la temperatura lentamente controlándola con el reóstato hasta llegar a un rango de 190 – 210 °C.

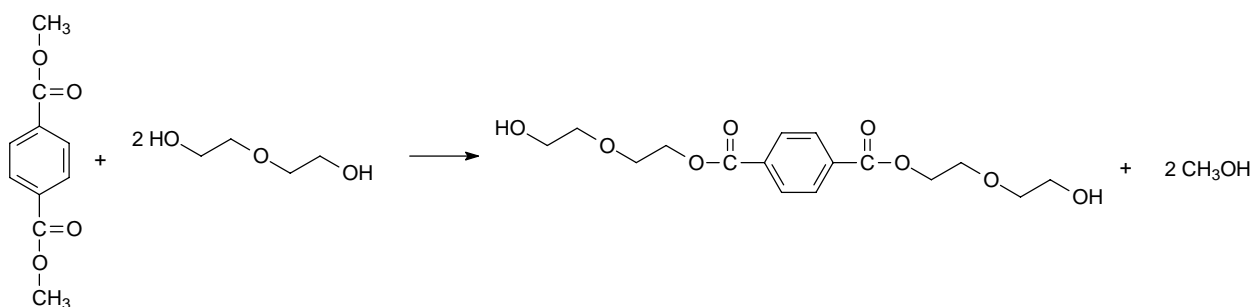
Se detenía la reacción pero el producto obtenido, llamado tereftalato de dietilenglicol, comenzaba a ponerse de color amarillo y de un aspecto viscoso y pegajoso, cabe señalar que se obtuvo como subproducto metanol, ambos productos se

caracterizaban por IR y cromatografía de gases. A continuación se presenta en la tabla 3.2 los diferentes resultados que se obtuvieron en las cuatro reacciones realizadas por esta metodología.

Tabla 3.2 Resumen de reacciones para la transesterificación en la metodología 1.

Condiciones					
Reacción	Condiciones	Catalizador	Temperatura	Tiempo	Producto
1	N ₂	Cloruro p-toluensulfónico 0.5%	230 – 240 °C	2 hr 35 min	Textura pegajosa café oscuro
2	N ₂	Cloruro p-toluensulfónico 0.5%	190 – 210 °C	2 hr 15 min	Textura pegajosa café
3	N ₂	Cloruro p-toluensulfónico 0.5%	180 – 200 °C	3 hr 15 min	Textura pegajosa café claro
4	N ₂	Cloruro p-toluensulfónico 0.5%	150 – 160 °C	2 hr 30 min	Textura pegajosa café claro

En el esquema 3.1 se aprecia la reacción de transesterificación hecha para esta primera fase con la obtención del pre – polímero sintetizado.



Esquema 3.1 Reacción de transesterificación entre el tereftalato de dimetilo y el dietilenglicol.

En la figura 3.3 se presenta el cromatograma que pertenece a la mezcla de reacción obtenida de la transesterificación y en el que se pueden apreciar los picos que pertenecen a diferentes especies obtenidas de la reacción, por ejemplo a 7 minutos sale la primera señal ancha que pertenece al dietilenglicol, a los 12 minutos aparece el pico que corresponde al tereftalato de dimetilo, estos dos primeros picos pertenecen a los reactivos que no reaccionaron; el pico que aparece a 16 minutos puede ser el correspondiente al grupo tereftalato transesterificado solo de un lado. Y finalmente la señal que aparece a los 20 minutos es la que pertenece al tereftalato de dietilenglicol que se formó, las señales que aparecen entre 17 y 18 minutos corresponden a impurezas de alguno de los reactivos y a subproductos formados durante la reacción.

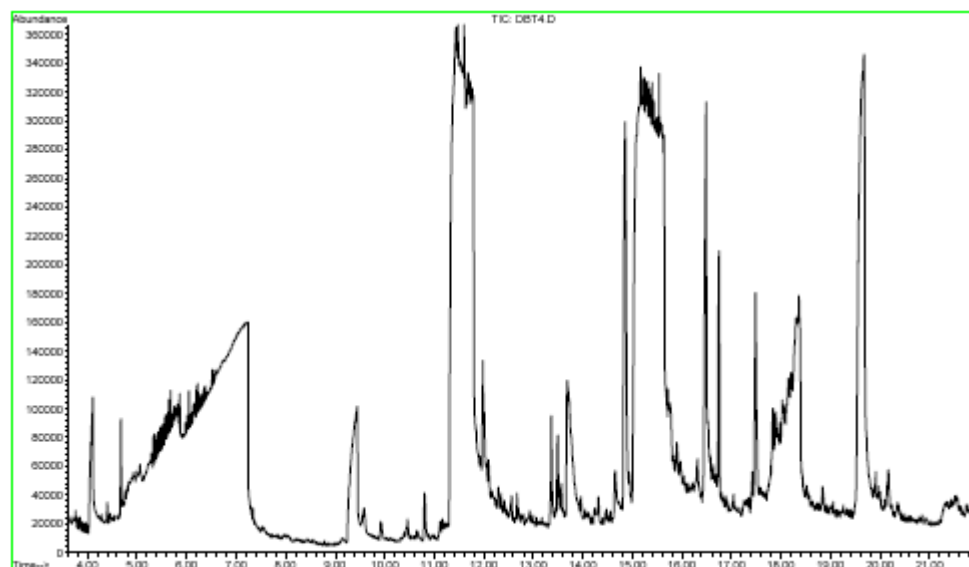


Figura 3.3 Cromatograma de la mezcla de reacción de la transesterificación en la metodología 1.

Cabe mencionar que para los picos obtenidos en el cromatograma se obtuvieron los espectros de masas, los cuales se compararon en todo momento con la librería de compuestos que tiene el equipo, y así poder identificarlos.

A continuación, en la figura 3.4 se muestra el cromatograma obtenido para el metanol desprendido durante la reacción de transesterificación, en el cual se aprecia que a los 2 minutos sale una señal muy fina la cual corresponde al solvente que en este caso es el metanol y desde 44 minutos comienza a aparecer un pico ancho de la base y fino de la punta el cual pertenece a la materia prima que fue arrastrada en el proceso y que se puede corroborar esto con el análisis del espectro de masas obtenido y mostrado en la figura 3.5.

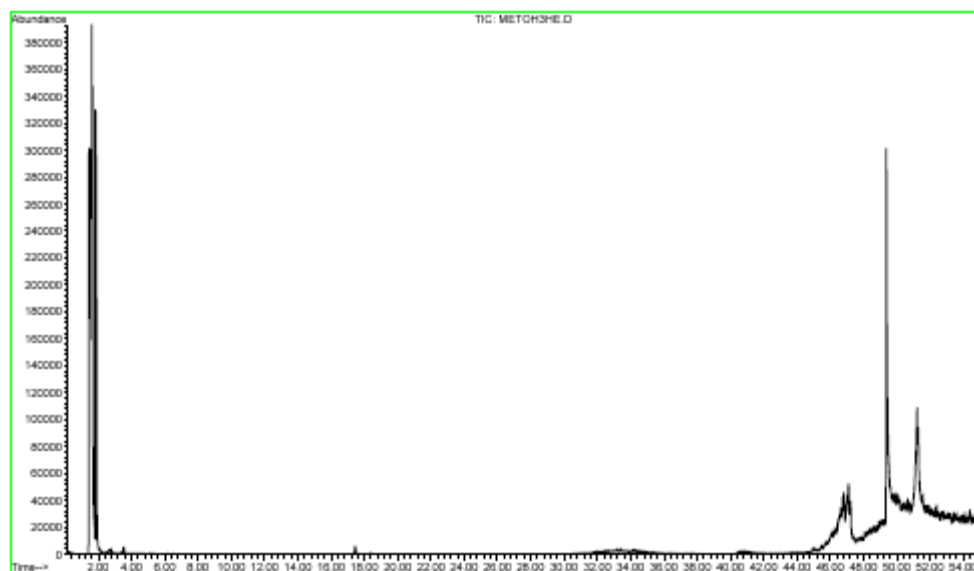


Figura 3.4 Cromatograma del metanol obtenido de la reacción de transesterificación en la metodología 1.

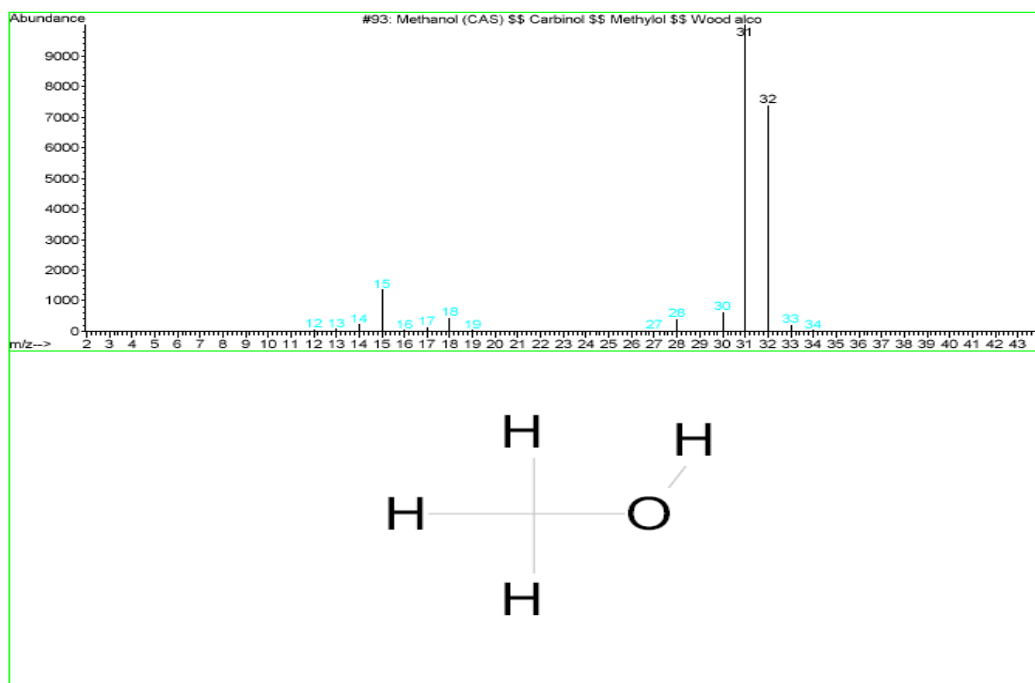


Figura 3.5 Espectro de masas perteneciente al metanol obtenido en la metodología 1, y su estructura química.

Como ya se mencionó la figura 3.5 presenta el espectro de masas del metanol con relación masa/carga en el cual se aprecia la señal del ión molecular en 32 y sus fracciones, así como la estructura de la molécula.

En la figura 3.6 se observa el espectro de infrarrojo obtenido para el primer producto de la transesterificación de la reacción número 3, en el cual, se observan las bandas de los grupos funcionales presentes en el material obtenido antes de la reacción de policondensación, se tiene en primer lugar la señal ancha característica de los alcoholes, es decir, de los grupos -OH terminales presentes en la molécula la cual está en 3386 cm^{-1} , teniendo en cuenta la confirmación de estos grupos con la banda que se encuentra en 1060 cm^{-1} . Posteriormente está la señal que nos indica la presencia de los grupos saturados la cual está en 2871 cm^{-1} , teniendo la confirmación de estos grupos con la señal que está en 1408 cm^{-1} .

También se encuentra una banda larga y fina en 1715 cm^{-1} que pertenece al grupo carbonilo del éster de la molécula y en la señal que se encuentra en 876 cm^{-1} es la que nos confirma la presencia del oxígeno pegado al grupo carbonilo del éster, en la zona que se encuentra en 1267 cm^{-1} está una señal larga y fina y es la que nos confirma la presencia del grupo éter que pertenece al del dietilenglicol insertado en la molécula. La señal que aparece en 782 cm^{-1} es la que nos indica la presencia de los primeros grupos $-\text{CH}_2-$ poliméricos en la molécula.

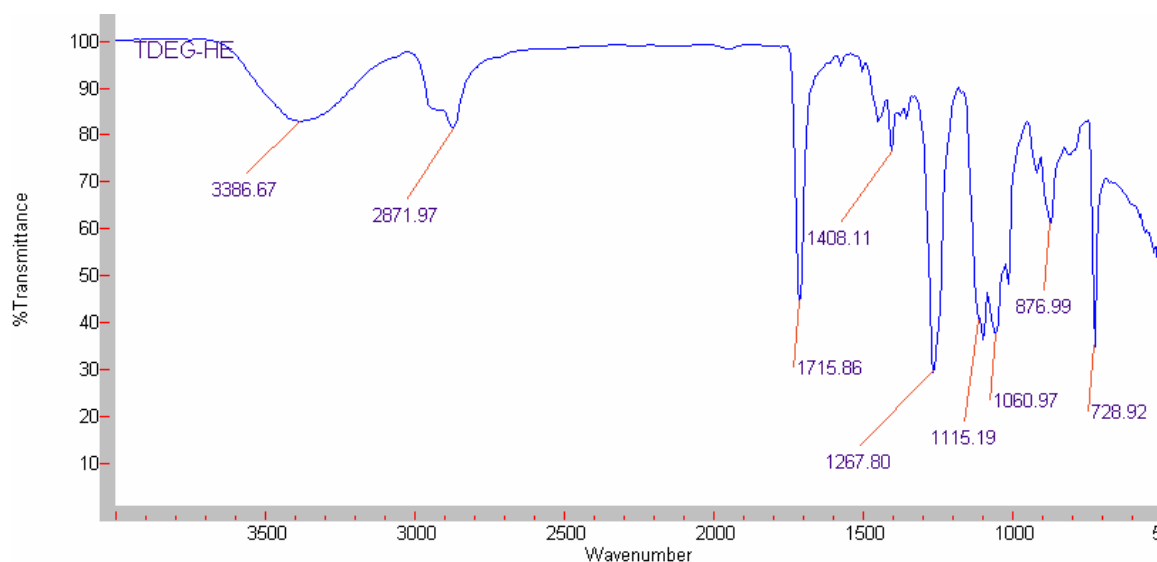


Figura 3.6 Espectro de Infrarrojo perteneciente al pre-polímero obtenido en la metodología 1.

A continuación se presenta en la figura 3.7 el espectro de infrarrojo del metanol obtenido como subproducto de la reacción de transesterificación, en el cual se observan las señales de los grupos funcionales presentes en esta molécula.

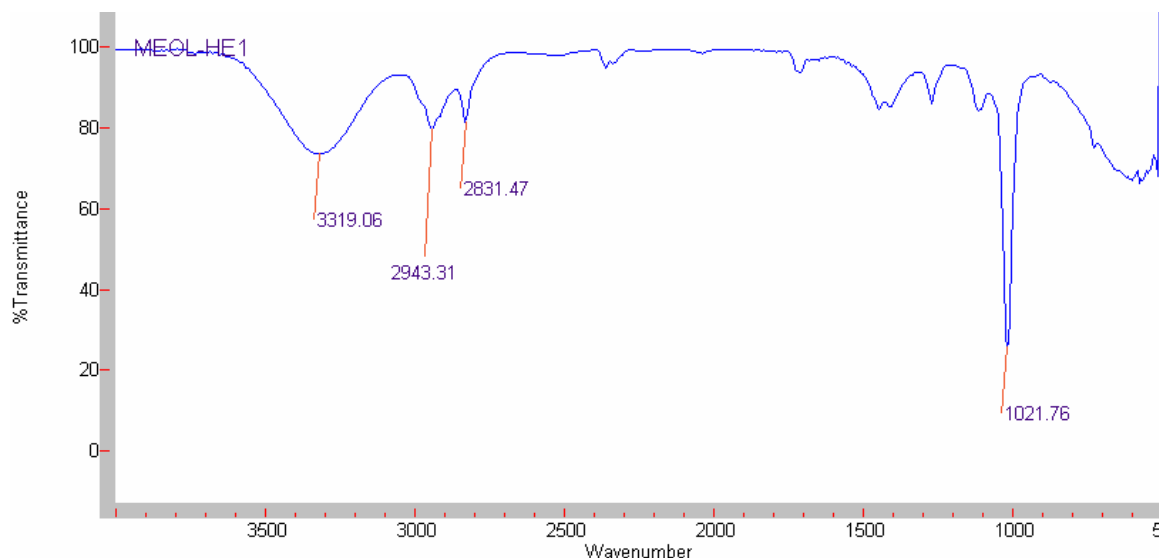


Figura 3.7 Espectro de Infrarrojo perteneciente al metanol obtenido en la metodología 1 como subproducto de la reacción.

En primer lugar se tiene la banda característica que pertenece a los alcoholes, la cual se encuentra en 3319 cm^{-1} , teniendo la confirmación de este grupo funcional con la banda larga y delgada que aparece en 1021 cm^{-1} debido a que es un alcohol primario y la presencia del $-\text{CH}_3$ con las bandas que están en 2943 y 2831 cm^{-1} ya que esta es la zona donde aparecen los grupo saturados de la molécula.

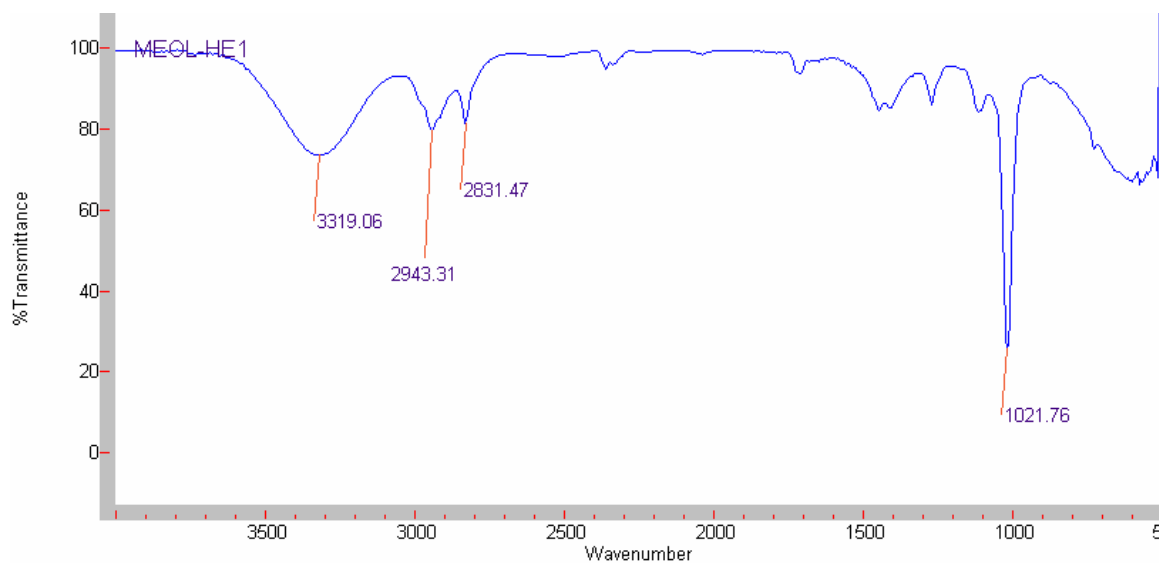


Figura 3.7 Espectro de Infrarrojo perteneciente al metanol obtenido en la metodología 1 como subproducto de la reacción.



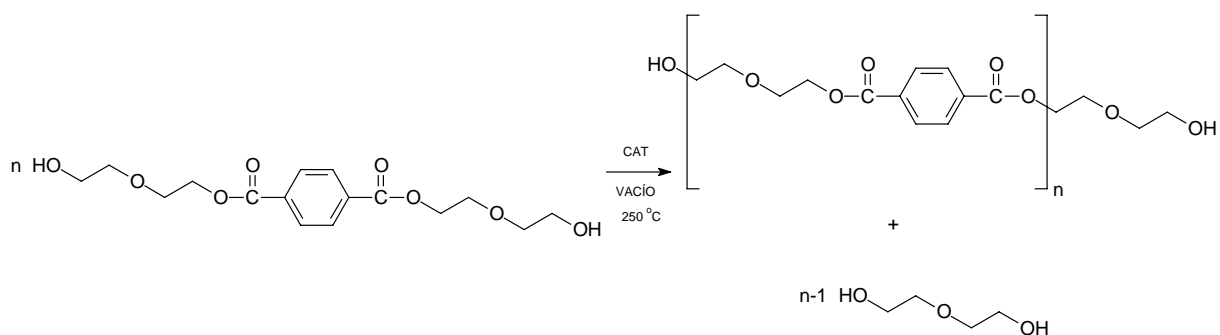
Posteriormente se llevó a cabo la reacción de policondensación en la cual se colocaba nuevamente el tereftalato de dietilenglicol, colocando un flujo de nitrógeno para eliminar el aire del sistema, al término de este flujo se ponía una agitación fuerte y se elevó la temperatura lentamente hasta llegar a un rango de la misma de entre 250–260 °C, conforme se llevaba a cabo el incremento de la temperatura se conectaba el sistema al vacío, al momento de ir destilando el dietilenglicol y trazas de metanol el producto se tornaba a un color café muy oscuro y de una textura muy pegajosa que incluso olía a quemado.

En la tabla 3.2 se mencionan las condiciones de las reacciones, así como los resultados de los productos obtenidos en esta metodología.

Tabla 3.2 Resumen de reacciones para la policondensación en la metodología 1.

Condiciones					
Reacción	Condiciones	Catalizador	Temperatura	Tiempo	Producto
1	Vacío	Cloruro p-toluensulfónico 0.5%	250 – 260 °C	2 hr 35 min	Textura pegajosa café oscuro
2	Vacío	Cloruro p-toluensulfónico 0.5%	210 – 240 °C	2 hr 15 min	Textura pegajosa café
3	Vacío	Cloruro p-toluensulfónico 0.5%	250 – 260 °C	3 hr 15 min	Textura pegajosa café claro
4	Vacío	Cloruro p-toluensulfónico 0.5%	250 – 260 °C	2 hr 30 min	Textura pegajosa café claro

En el esquema 3.2 se observa la reacción de policondensación que se lleva a cabo después de la de transesterificación.



Esquema 3.2 Reacción de policondensación entre el monómero obtenido con el (TBT) como catalizador, vacío y temperatura alta.

En la figura 3.8 se observa el cromatograma obtenido para el dietilenglicol desprendido después del proceso de policondensación, en el cual se puede ver que de 2 a 4 minutos aparece la señal que pertenece al producto antes mencionado y que a partir de los 9 minutos se observa la señal que corresponde a materia prima que no reaccionó y que fue arrastrada hacia donde estaba el glicol destilado.

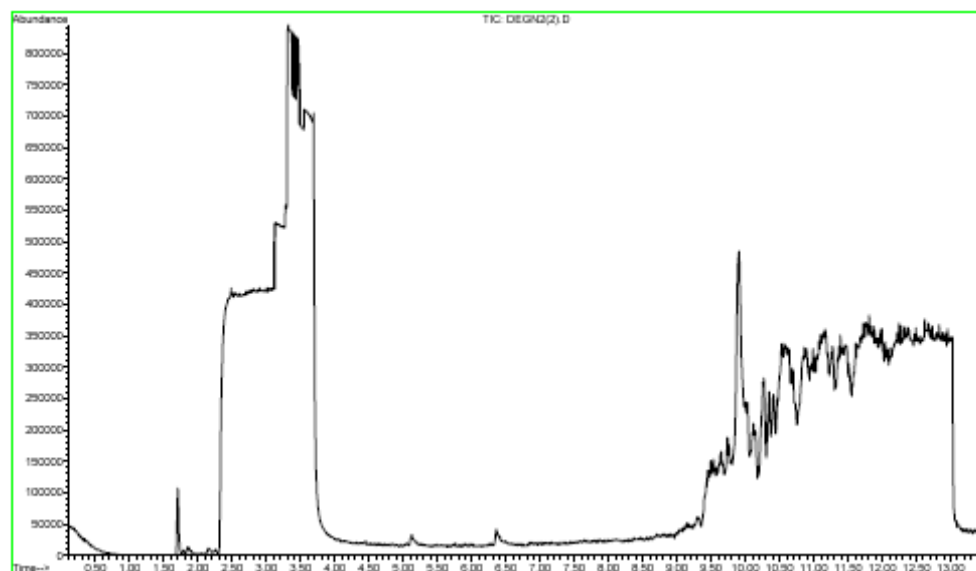


Figura 3.8 Cromatograma perteneciente al dietilenglicol obtenido en la metodología 1.

En la figura 3.9 se observa el espectro de masas que corresponde al dietilenglicol obtenido como subproducto de la reacción de policondensación, sabiendo que su peso molecular es de 106 g/mol el espectro tiene la señal del ión molecular en 106 que se va fragmentando la molécula formando los correspondientes iones de valor más pequeños.

En la figura 3.10 se muestra el espectro de infrarrojo del poli(tereftalato de dietilenglicol) obtenido en la reacción de policondensación, en el cual se observan las diferentes señales características de los grupos funcionales que están presentes en la molécula.

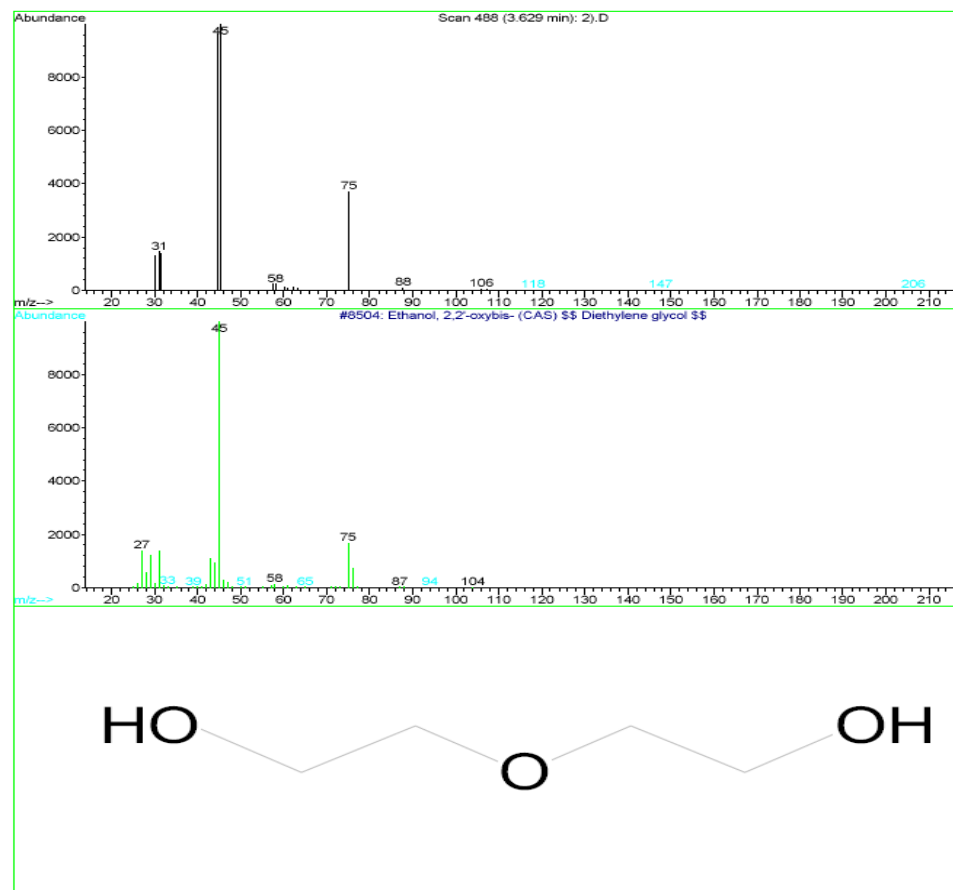


Figura 3.9 Espectro de masas perteneciente al dietilenglicol obtenido en la metodología 1.

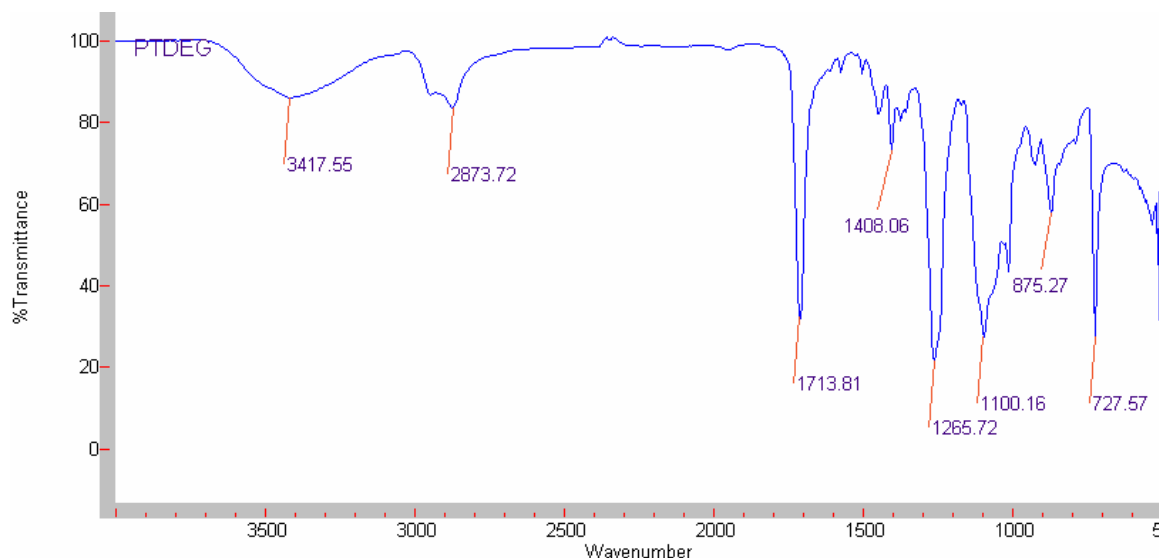


Figura 3.10 Espectro de infrarrojo perteneciente al poli(tereftalato de dietilenglicol) obtenido en la metodología 1 como subproducto de la reacción.

En primer lugar se encuentra la señal ancha que pertenece a los alcoholes y que se encuentra en 3417 cm^{-1} y por tratarse de un alcohol primario la señal correspondiente a este tipo es la que está en 1100 cm^{-1} , posteriormente se encuentra la señal que corresponde a la zona saturada la cual se encuentra en 2873 cm^{-1} y que se confirma la presencia de los $-\text{CH}_3$ Y $-\text{CH}_2-$ con la señal que se encuentra en 1408 cm^{-1} y para el caso de los $-\text{CH}_2-$ poliméricos la señal correspondiente se encuentra en 727 cm^{-1} .

Para el caso del grupo carbonilo presente en el grupo éster de la molécula la señal característica que le corresponde es la de 1713 cm^{-1} , se confirma la presencia del oxígeno enlazado al carbonilo del éster con la señal que aparece entre $890\text{--}870\text{ cm}^{-1}$ después está la señal que pertenece al grupo éter del dietilenglicol presente en la molécula la cual es la que está en 1265 cm^{-1} .

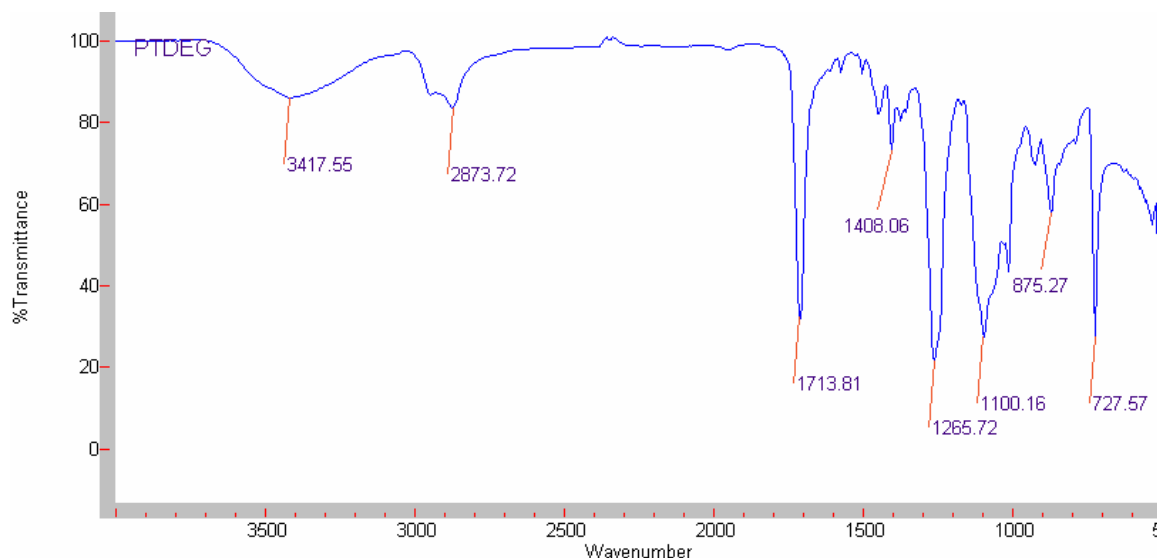


Figura 3.10 Espectro de infrarrojo perteneciente al poli(tereftalato de dietilenglicol) obtenido en la metodología 1 como subproducto de la reacción.

Como subproducto de la reacción de policondensación se obtuvo el dietilenglicol, el cual también fue caracterizado por espectrometría de infrarrojo y cromatografía al igual que los productos anteriores.

Se puede apreciar en la figura 3.11 el espectro de infrarrojo obtenido para el dietilenglicol obtenido en esta reacción, la señal ancha que se encuentra en 3343 cm^{-1} pertenece al grupo alcohol, pero como el DEG es un diol de tipo primario entonces encontramos la señal característica para este tipo en 1053 cm^{-1} , después para los $\text{-CH}_2\text{-}$ presentes en esta molécula se encuentran las señales que están en 2926 y 2871 cm^{-1} y que se confirman con las señales que están en 1454 y 1353 cm^{-1} y por último, la banda del grupo éter que está presente en esta molécula y la cual pertenece a la de 1123 cm^{-1} , teniendo en cuenta también para este grupo la señal más pequeña que está en 890 cm^{-1} .

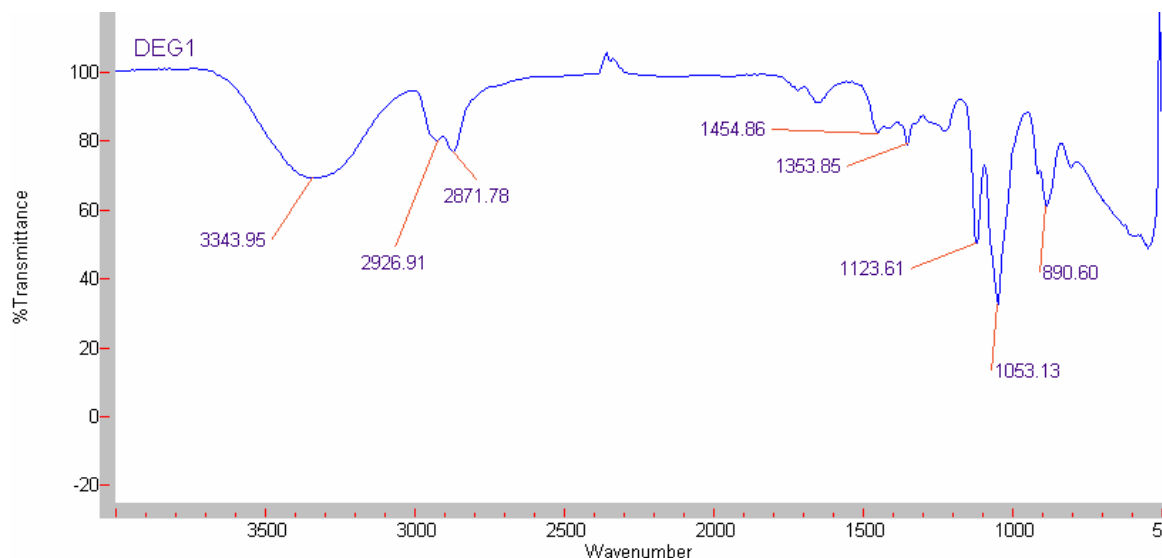


Figura 3.11 Espectro de infrarrojo perteneciente al dietilenglicol obtenido en la metodología 1 como subproducto de la reacción de policondensación.

Después de estos resultados se decidió buscar una técnica de purificación de los reactivos ya que se pensaba que las impurezas podrían estar influyendo en la reacción, así como probar otro catalizador y otras condiciones de reacción para la obtención del polímero.

3.6.1.2 METODOLOGÍA 2

En esta metodología es donde se llevó a cabo la purificación del TDM, primero se verificó el grado de pureza del reactivo por medio del punto de fusión, el cual es de 139–141 °C^(21, 22), el reportado en la literatura pero el reactivo que se usó en las reacciones tuvo un punto de fusión de 145 – 147 °C por lo que se buscó una técnica adecuada para purificarlo y en la figura 3.12 se muestra el cromatograma para el tereftalato de dimetilo sin purificar como reactivo disuelto en etanol.

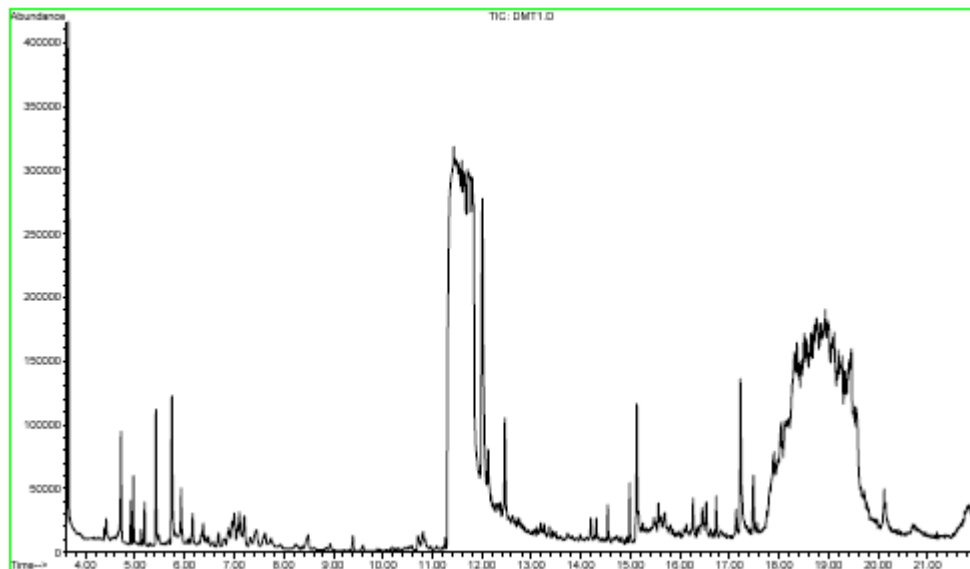


Figura 3.12 Cromatograma que pertenece al TDM como reactivo sin purificar.

Como se aprecia en el minuto 12 es donde aparece la señal para el TDM y se pueden apreciar las impurezas a partir de los 17 minutos, por lo que se decidió buscar una técnica para purificarlo.

Se muestra a continuación en la figura 3.13 el cromatograma con el TDM ya purificado con un solvente, el cual es la 2-butanona o también llamado etilmetil cetona (EMC), con el cual se puede apreciar la desaparición de las impurezas.

Se puede observar que el pico del tiempo en donde sale el TDM es entre 9.5 a 10.5 minutos, y el otro pico largo y fino no es más que el del solvente utilizado.

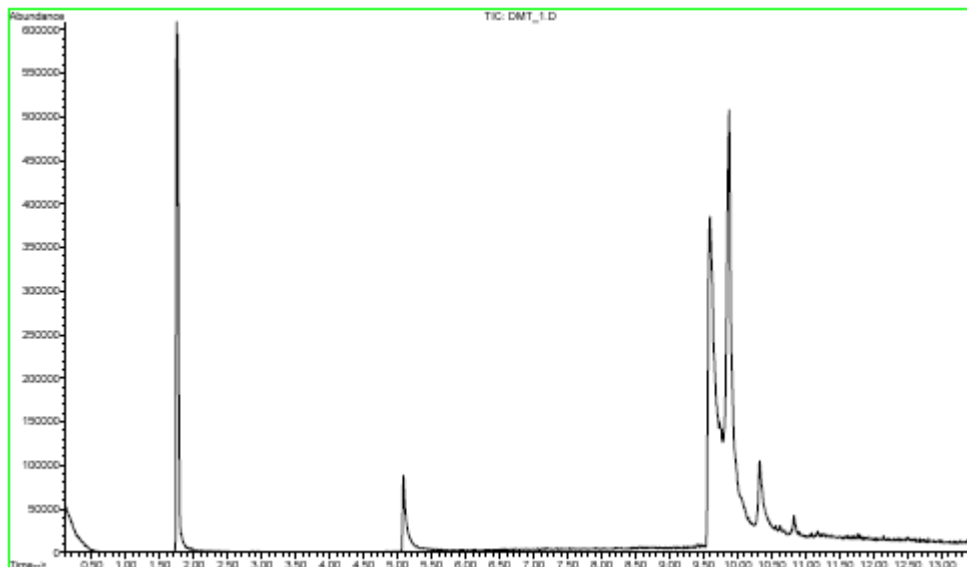


Figura 3.13 Cromatograma que pertenece al TDM como reactivo purificado.

A continuación se presenta el espectro de masas para el TDM en la figura 3.14, para observar la señal del pico del ión molecular que aparece en proporción de 194 su relación masa/carga de dicha molécula y de ahí se derivan los fragmentos que se pueden dar durante el proceso de ionización.

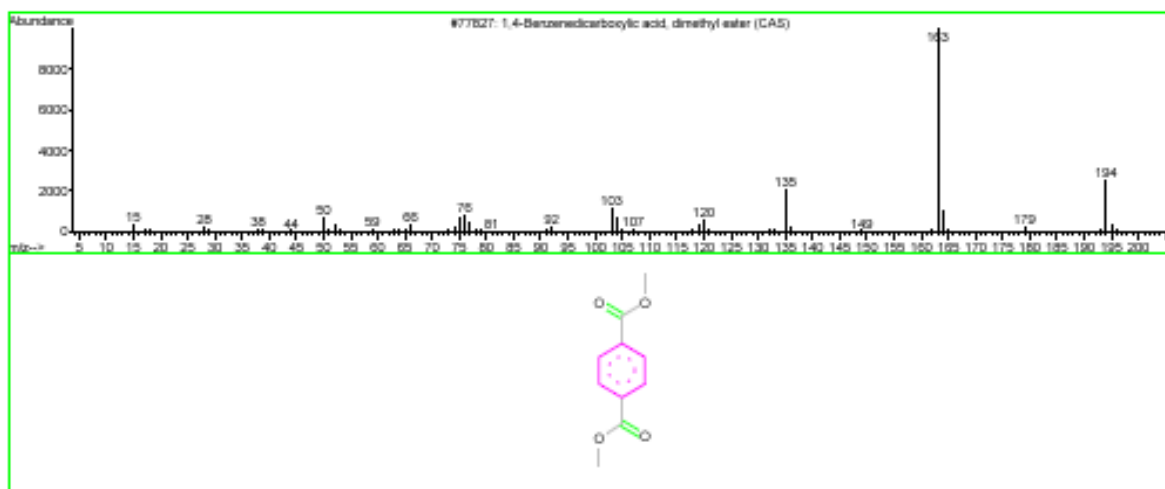


Figura 3.14 Espectro de masas del TDM.

Una vez purificado el TDM, se realizaron 4 reacciones, en las cuales en un matraz se colocaban los reactivos y el catalizador, que en este caso se añadió el TEGOKAT 256⁽²³⁾, que es el óxido del monobutil estaño y que es un catalizador específico para



ésteres; después se puso un flujo de nitrógeno al igual que en la metodología anterior, que sirve como atmósfera inerte al desplazar el aire del sistema, esto se hizo durante toda la reacción, una vez hecho esto se comienza a elevar la temperatura controlándola con el reóstato, la reacción se detiene entre 110–120 °C, temperatura en la cual comienza a destilar el metanol que es un subproducto de la reacción de transesterificación y en la cual se agrega el segundo catalizador que es el terbutóxido de titanio (TBT), para activar la reacción de policondensación con ayuda del vacío y del aumento de temperatura, la cual alcanzó un rango de 250 – 260 °C, obteniéndose un material de apariencia muy viscosa y pegajosa y con un color café oscuro.

Con el polímero obtenido se buscó una técnica de purificación del producto para que, además de purificarlo también se le quitara el color y obtenerlo entre amarillo y blanco, esto se realizó calentando nuevamente hasta una temperatura entre 40 y 50 °C al poliéster sintetizado y agregando 10 gotas de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) tratando de evitar la hidrólisis del producto, posteriormente se metía el recipiente con el producto purificado en un baño de hielo y después se hacían 3 lavados de agua destilada con 10 mL cada uno para eliminar la presencia de H_2O_2 ⁽¹²⁾.

La caracterización de los poliésteres sintetizados antes y después de la purificación se hizo por medio de espectroscopia de infrarrojo, por lo que a continuación se presentan los espectros que corresponden a un ejemplo de la reacción sin todavía utilizar el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), pero ya con el TDM purificado.

En la figura 3.15 se observa el espectro de infrarrojo del producto obtenido en la primera fase de la reacción, es decir de la reacción de transesterificación y que pertenece a la reacción número 3, en el cual se pueden observar las bandas características del pre-polímero obtenido, el cual es el tereftalato de dietilenglicol, empezando con la banda ancha característica de los alcoholes en 3406 cm^{-1} , teniendo la confirmación del mismo en 1101 cm^{-1} , después se tiene la señal de los saturados, es decir, $-CH_2-$ y $-CH_3$ donde las bandas características están en 2872

cm^{-1} y teniendo su confirmación en 1408 cm^{-1} , posteriormente se encuentra la banda característica del carbonilo ya que es una señal muy larga y fina y es la que está en 1715 cm^{-1} , confirmando este grupo funcional con la banda que se encuentra en 876 cm^{-1} , después se tiene la banda del éter correspondiente al glicol introducido durante la reacción de esterificación en 1266 cm^{-1} , la señal que se encuentra en 728 cm^{-1} es la que pertenece a los $-\text{CH}_2-$ que empiezan a polimerizar en la reacción.

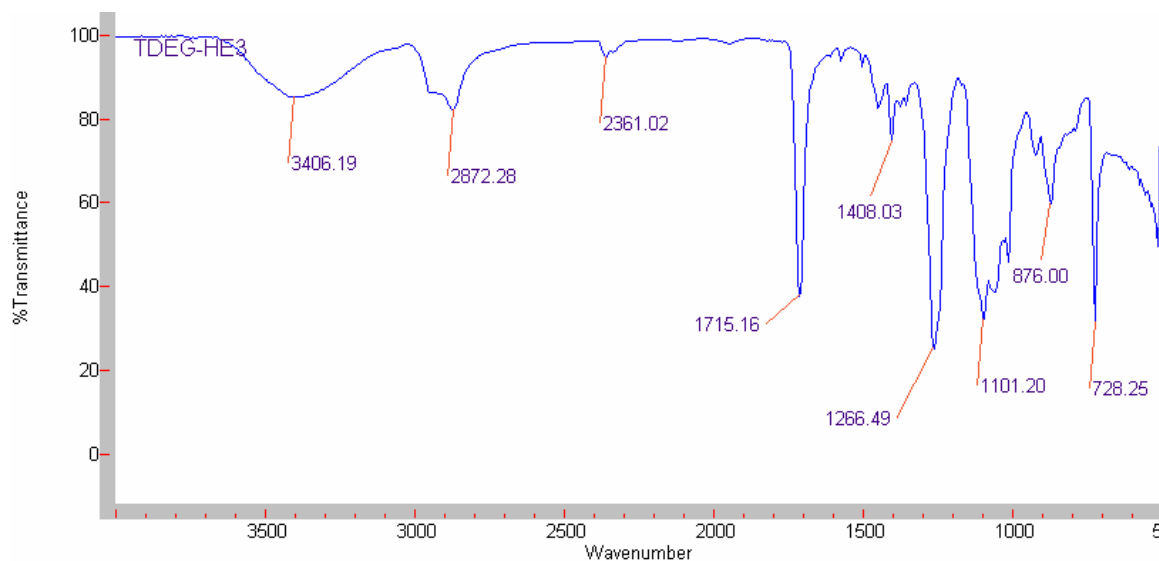


Figura 3.15 Espectro de IR obtenido para el producto de la primera fase de la reacción, es decir, para la reacción de transesterificación.

En la figura 3.16 se muestra el espectro de IR que se obtuvo para el metanol recuperado como subproducto de la reacción de transesterificación en la reacción número 3, en el cual se pueden observar las dos bandas pertenecientes al metanol ya que es un alcohol del tipo primario y que se encuentran primero en 3324 cm^{-1} y teniendo la confirmación en 1021 cm^{-1} , posteriormente se tienen las señales que pertenecen a los $-\text{CH}_3$ del alcohol y que están en 2944 y 2832 cm^{-1} , por último una señal pequeña que está en 1651 cm^{-1} y que pertenece al CO_2 que se encontraba dentro del equipo al momento del análisis.

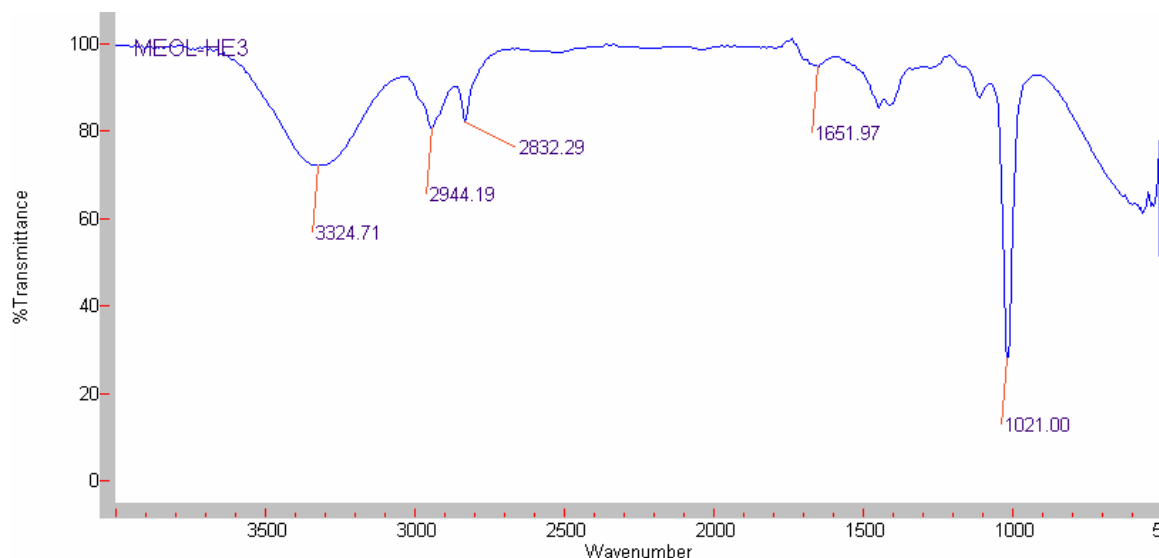


Figura 3.16 Espectro de IR obtenido para el metanol como subproducto en la reacción de transesterificación correspondiente a la reacción número 3.

En la figura 3.17 se puede apreciar el espectro de dietilenglicol obtenido como subproducto de la reacción número 3, apreciándose las bandas características a las vibraciones que corresponden a los grupos funcionales presentes en el DEG, por ejemplo, en 3349 cm^{-1} aparece la banda perteneciente a los alcoholes y que se puede confirmar con la señal que está en 1053 cm^{-1} que pertenece a un alcohol primario, en 2925 cm^{-1} aparece la banda característica a los grupos saturados, es decir, metilos y metilenos y que su confirmación se encuentra en 1458 cm^{-1} , en 1739 cm^{-1} se puede apreciar la banda que corresponde al grupo éter del dietilenglicol y confirmando la señal con otra que aparece en 1121 cm^{-1} y por último la señal que se encuentra en 883 cm^{-1} es la que pertenece también al oxígeno del éter del dietilenglicol.

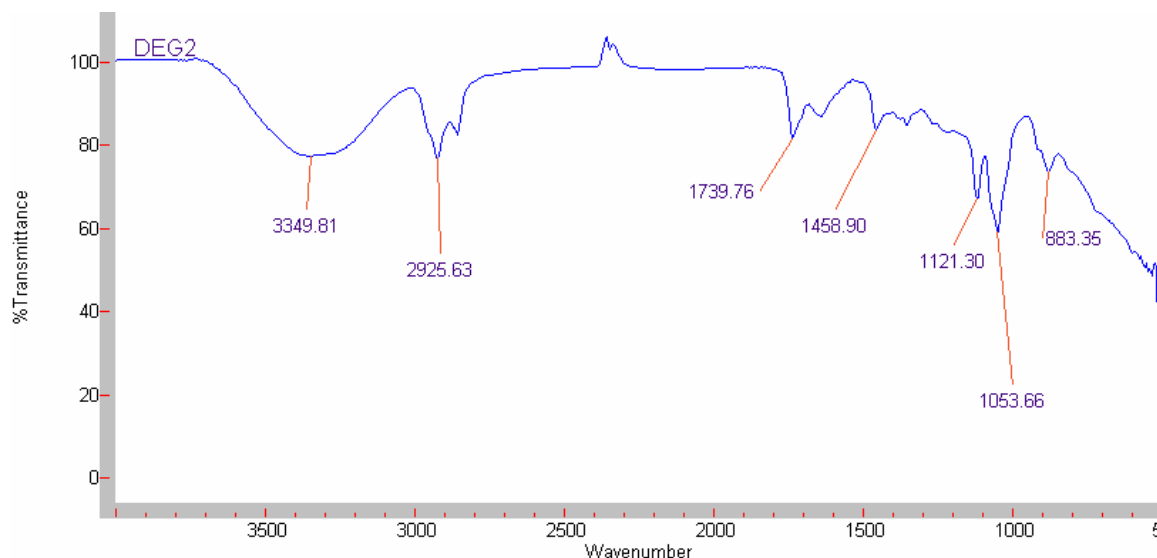


Figura 3.17 Espectro de IR obtenido para el dietilenglicol como subproducto en la reacción de policondensación correspondiente a la reacción número 3.

A continuación se presentan los espectros de infrarrojo para uno de los polímeros obtenidos, pero al cual se le aplicó el tratamiento de purificación con el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), así como también los espectros con los subproductos obtenidos.

En la figura 3.18 se tiene el espectro de infrarrojo que pertenece a una de las reacciones en donde al producto sintetizado se le hizo un tratamiento de purificación y decoloración, teniendo en 3417 cm^{-1} la señal ancha que es característica de los alcoholes, teniendo la confirmación de este grupo funcional en la banda larga de 1100 cm^{-1} y estos grupos se encuentran en la parte terminal de la molécula sintetizada.

Posteriormente se tienen las señales de los grupos saturados, es decir, para este caso son los $-CH_2-$ y las señales características para estos metilenos son las de 2874 cm^{-1} , la que se encuentra en 1408 cm^{-1} , también se encuentra la señal característica de los $-CH_2-$ poliméricos la cual está en 727 cm^{-1} , para el grupo carbonilo del éster se tiene la banda larga y fina en 1713 cm^{-1} , así como también la banda que se encuentra en 875 cm^{-1} .

También está la señal que aparece en 1265 cm^{-1} , la cual pertenece al oxígeno del éter del dietilenglicol inmerso en la molécula.

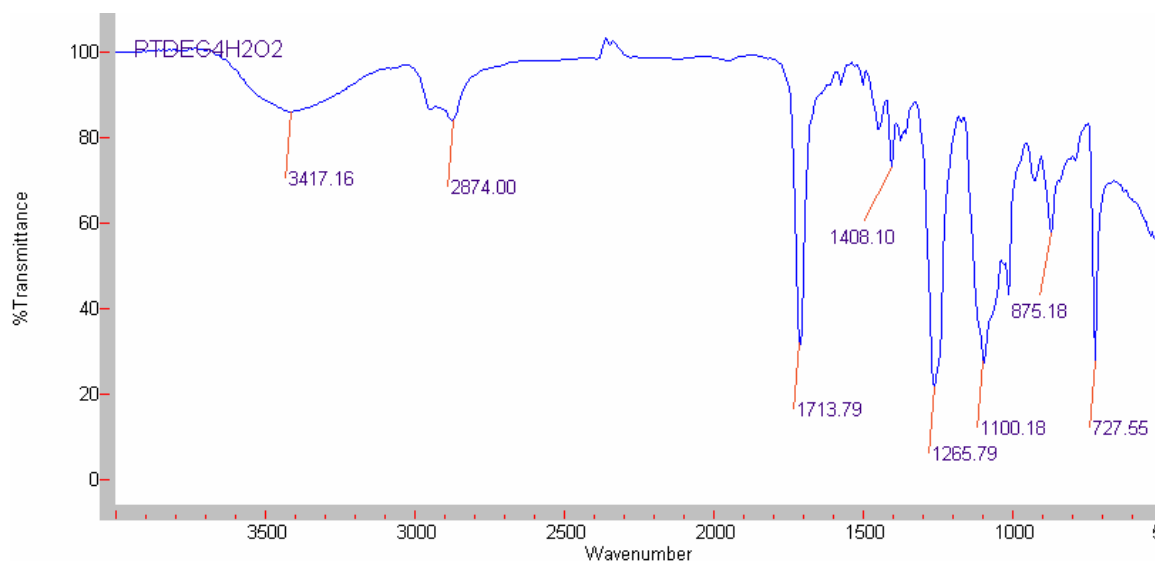


Figura 3.18 Espectro de IR del poli-(tereftalato de dietilenglicol) con el tratamiento del peróxido de hidrógeno.

Se muestra en la figura 3.19 el espectro de infrarrojo del metanol como subproducto de esta reacción, el cual presenta las bandas características del grupo alcohol primario con la señal que está en 3323 cm^{-1} , teniendo la banda larga y fina para un alcohol primario en 1021 cm^{-1} y las bandas características para los grupos saturados, es decir, los $-\text{CH}_3$ del metanol en 2943 y 2832 cm^{-1} .

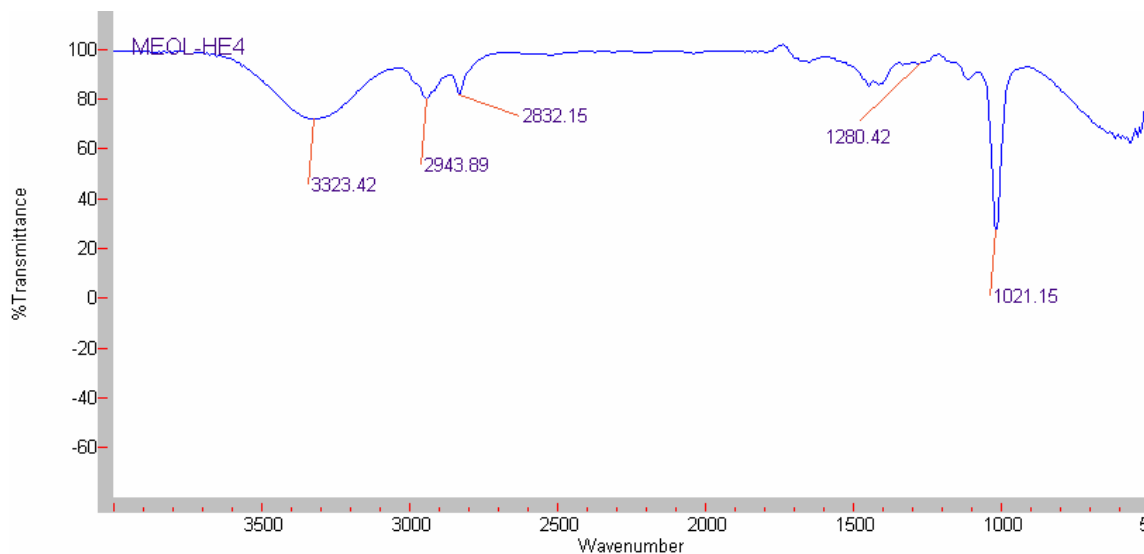


Figura 3.19 Espectro de IR obtenido para el metanol como subproducto de reacción.

A continuación se presenta el espectro de infrarrojo para el dietilenglicol obtenido de esta reacción, el cual se observa en la figura 3.20, en donde se presentan las señales características para el diol del dietilenglicol, la cual es la de 3337 cm^{-1} , confirmando con la banda de un alcohol primario con la de 1052 cm^{-1} , también se encuentran las señales que pertenecen a los metilenos de este compuesto las cuales son primero la de 2869 cm^{-1} , y las de 1454 y 1353 cm^{-1} .

Y por último, las bandas que pertenecen al grupo éter de la molécula, las cuales son la de 1125 cm^{-1} y la de 890 cm^{-1} .

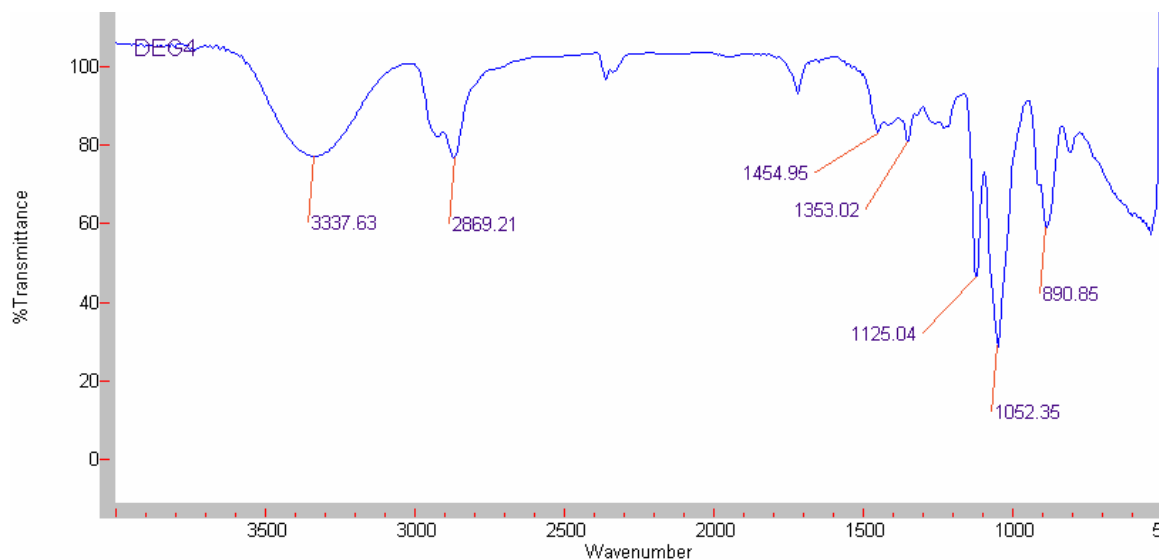


Figura 3.20 Espectro de IR obtenido para el dietilenglicol, subproducto de la reacción.

Los materiales obtenidos ya decolorados y caracterizados se pueden observar en la figura 3.21, en los cuales se pueden observar diferencias en los colores de estos materiales e incluso se tuvieron cambios en la consistencia y textura de los mismos.



Figura 3.21 Poliésteres obtenidos en la metodología 2 purificados con peróxido de hidrógeno (H_2O_2).

Para la caracterización por GPC de estos productos se necesita antes que nada obtener la curva de calibración con los estándares de poliestireno de diversos pesos moleculares y poder así correlacionarla con los resultados obtenidos para las muestras, los cromatogramas se observan en las figuras 3.22 y 3.23 para dos curvas con diferentes pesos moleculares, los cuales tienen un rango desde 1,680 hasta 6,500,000 g/gmol para el primer cromatograma y para el segundo cromatograma tiene un rango de 2,350 hasta 1,030,000 g/gmol.

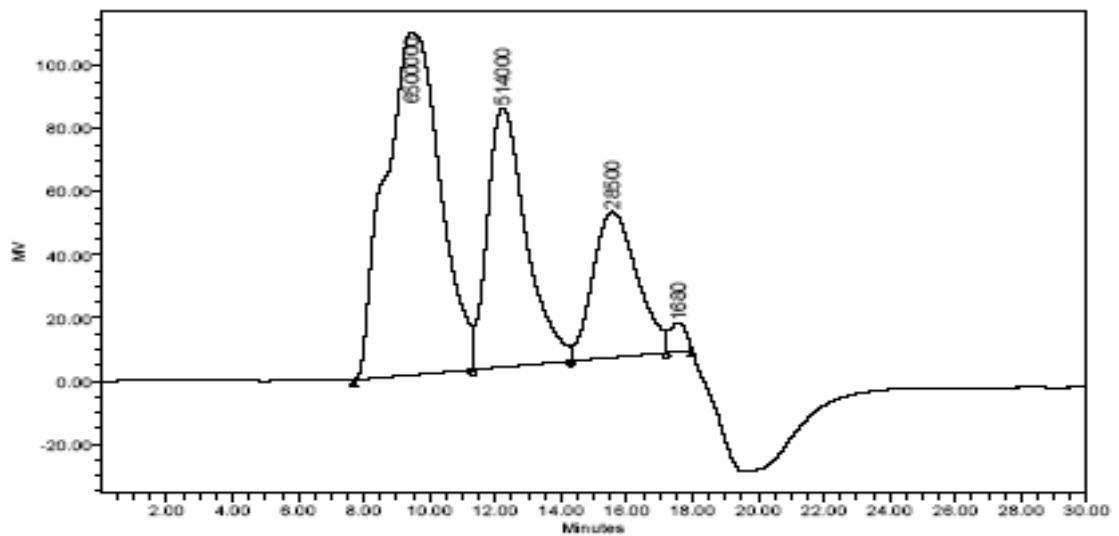


Figura 3.22 Estándares de poliestireno de pesos moleculares de 1,680, 28,500, 514,000 y 6,500,000 g/gmol.

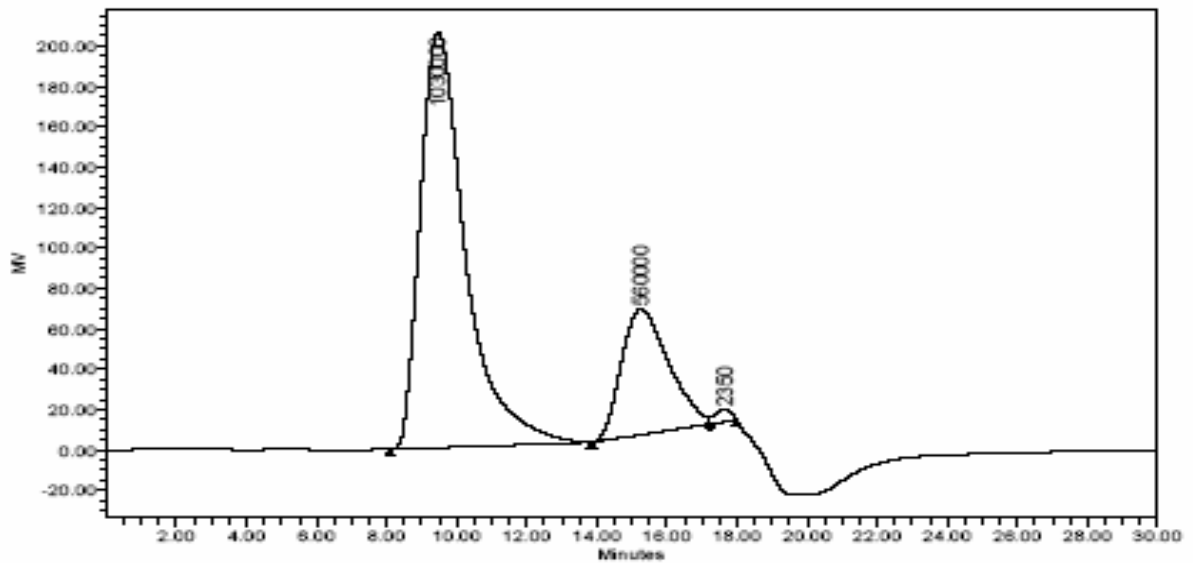


Figura 3.23 Estándares de poliestireno de pesos moleculares de 2,350, 560,000 y 1,030,000 g/gmol.

Con estos estándares utilizados se obtuvo el peso molecular promedio para el producto de la reacción 3, el cual fue de 18,000 g/gmol así como el valor de la polidispersidad el cual fue de 2.8.

En la figura 3.24 se observa el cromatograma obtenido por la técnica de (GPC) para el producto de la reacción 3.

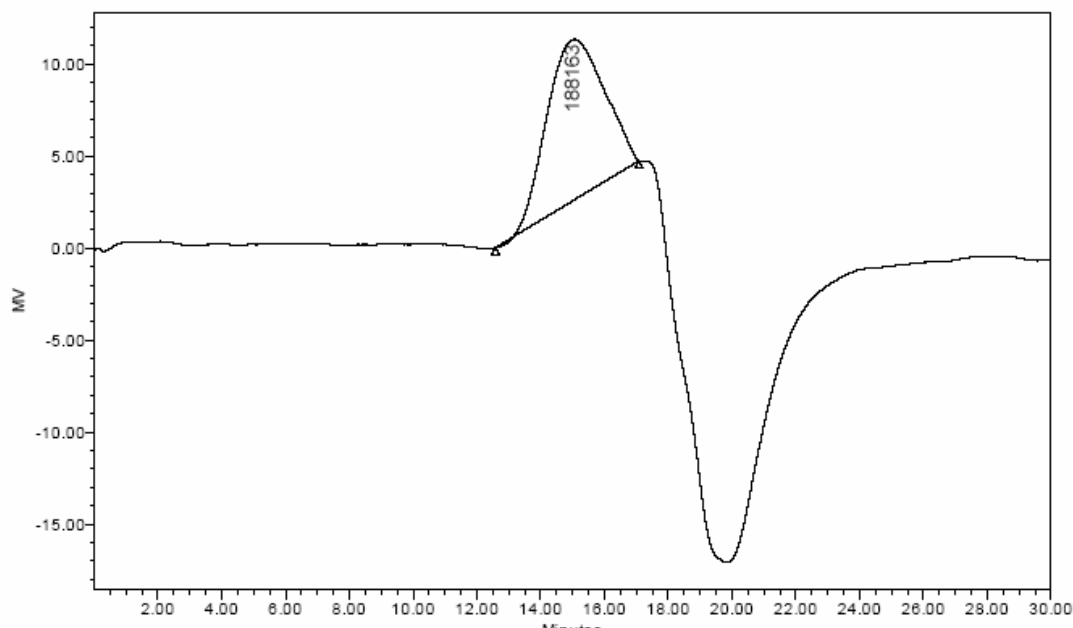


Figura 3.24 Cromatograma para la reacción 3 de la metodología 2 con peso molecular de 18,000 g/gmol y un valor de polidispersidad de 2.8.

Este producto se sometió al proceso de biodegradación, el cual se contaminó debido a la presencia de otros microorganismos que entraron en competencia por el material dispuesto en los cultivos hechos en el departamento de bioquímica.

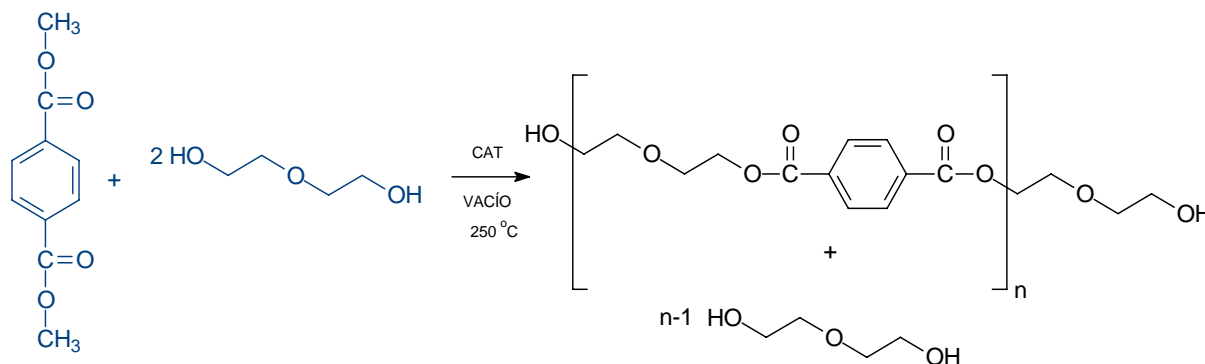
3.6.1.3 METODOLOGÍA 3

Con esta metodología se realizaron 3 reacciones, en las cuales se obtuvieron mejores resultados, en este caso las cargas de los reactivos fueron mayores para así obtener mayor cantidad de producto con la finalidad de tener más poliéster para disponerlo en los cultivos con la cepa bacteriana, además de que se mejoró la técnica de obtención del poliéster ya que la síntesis se realizó en un solo paso, con un solo catalizador y en menos tiempo de reacción.

Al igual que en las dos metodologías anteriores se coloca una atmósfera inerte de nitrógeno para eliminar el aire presente del sistema, después de 15 minutos se detiene el flujo del nitrógeno para comenzar a agitar y calentar el sistema hasta llegar

a un rango de temperatura de entre 110 a 120 °C para asegurar que el catalizador utilizado que es el terbutóxido de titanio (TBT) no se descomponga con la humedad y se distribuya adecuadamente para llevar a cabo la reacción por 15 minutos y después de este tiempo se conectó al sistema el vacío con la finalidad de que comenzara a eliminar el dietilenglicol y así favorecer el crecimiento del polímero, esto además de ir aumentando la temperatura de la reacción hasta 250–260 °C.

En el esquema 3.3 se observa la reacción de policondensación directa o de un solo paso ya sin dividir el proceso en dos fases, optimizando la calidad del producto así como el tiempo de reacción.



Esquema 3.3 Reacción de policondensación en un solo paso con el (TBT) como catalizador, vacío y alta temperatura.

Al término de la reacción se dejó enfriar para posteriormente llevar a cabo el proceso de purificación y decoloración del polímero obtenido.

El material sintetizado se volvió a calentar con un rango de temperatura de entre 40 y 50 °C, agregando 15 gotas de peróxido de hidrógeno (H₂O₂), con agitación vigorosa esto también para evitar la hidrólisis del material sintetizado, ya que se tuvo el color deseado del polímero se realizaron 3 lavados con agua destilada para eliminar el exceso de peróxido que pudiera haber dentro del material obtenido. A continuación se presenta en la figura 3.25 la imagen del poliéster obtenido y purificado.



Figura 3.25 Poliéster obtenido en la metodología 3 purificado con peróxido de hidrógeno (H_2O_2).

3.7 CARACTERIZACIÓN DEL POLI-(TEREFTALATO DE DIETILENGLICOL)

Como ya se mencionó, la técnica que se utilizó para sintetizar al material fue la de un solo paso, es decir, el proceso no se detuvo para hacer primero la reacción de transesterificación y después la de policondensación sino que ya la reacción no se detuvo por partes y fue en una sola etapa obteniendo mayor rendimiento en cuanto al tiempo, calidad y cantidad de reacción.

Por lo que a continuación se presentan los espectros de IR de la última reacción, que arrojó los mejores resultados, en primer lugar se tiene el espectro que se muestra en la figura 3.26, para el poliéster obtenido mejorando considerablemente sus características y propiedades con los productos de los métodos obtenidos anteriormente, una vez purificado y decolorado con el peróxido de hidrógeno.

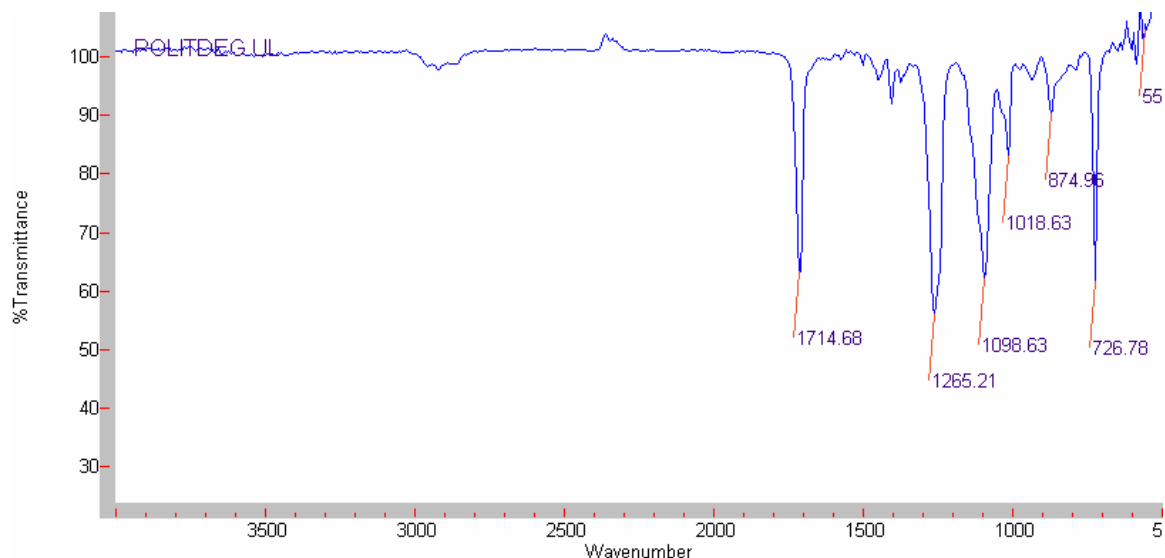


Figura 3.26 Espectro de IR del poliéster sintetizado con el tratamiento de purificación.

Como se puede observar la señal del grupo funcional alcohol en la que generalmente aparece en un rango de $3400\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$, prácticamente desapareció y esto se debe a que la bomba de vacío utilizada no estaba ejerciendo mayor vacío para poder eliminar las moléculas de dietilenglicol que se deseaban recuperar y esta diferencia se observa en los espectros del poliéster de las metodologías anteriores en la que si aparecía esa señal ancha, pero se confirma la presencia de los OH's terminales del polímero y además que son del tipo de un alcohol primario con la banda que está en 1098 cm^{-1} .

La banda que se sigue conservando y que a comparación de las dos técnicas anteriores es la del grupo carbonilo del éster ya que se volvió más fina y esta se observa en 1714 cm^{-1} , confirmando este grupo funcional con la que se encuentra en 874 cm^{-1} , por otra parte, la banda de los grupo saturados también desapareció casi por completo debido a que se logró tener un mejor grado de polimerización en este producto.

Posteriormente se muestra el espectro de infrarrojo en la figura 3.27 para el subproducto de la policondensación en este caso se obtuvieron dietilenglicol y metanol debido a que el proceso de reacción se llevó solo en un paso.

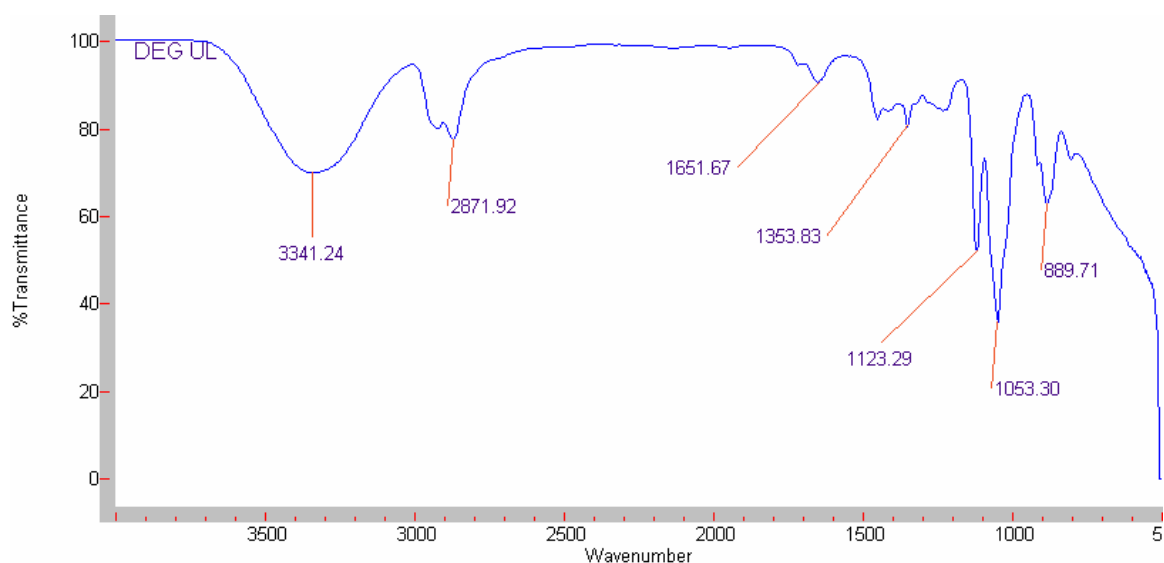


Figura 3.27 Espectro de IR de la mezcla de productos recuperados de la reacción 3 obtenido con la metodología 3.

Se observan las bandas características del grupo de los alcoholes tanto la banda ancha que aparece en 3341 cm^{-1} así como la banda que corresponde a un alcohol primario y que se encuentra en 1053 cm^{-1} , después aparecen las bandas que corresponden a los grupos saturados, es decir, a los $-\text{CH}_2-$ de la molécula la cual es la de 2871 cm^{-1} , y la otra banda es la que se encuentra en 1353 cm^{-1} , posteriormente se tiene las bandas del éter que corresponden, la primera aparece en 1123 cm^{-1} y la segunda que confirma este grupo funcional es la de 889 cm^{-1} .

A continuación se tendría la caracterización por cromatografía de permeación en gel para el poliéster obtenido, teniendo así la curva universal que se observa en la figura 3.28, en la cual se utilizaron diferentes pesos moleculares de poliestireno; así como los cromatogramas del material sintetizado que se observan en la figura 3.29. El peso molecular obtenido fue de $7,914\text{ g/gmol}$ y el valor de polidispersidad fue de 2.17.

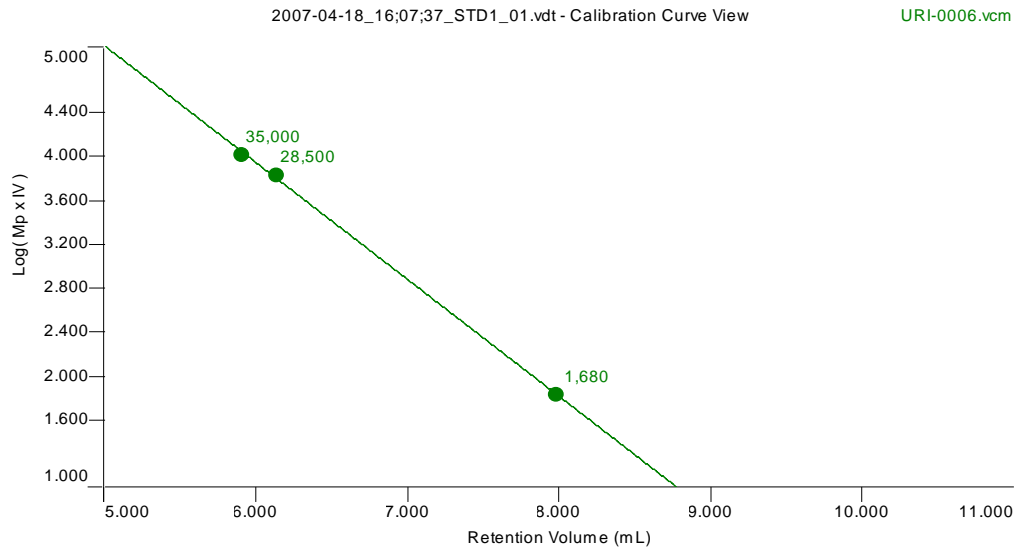


Figura 3.28 Cromatograma que pertenece a la curva universal obtenida para la metodología 3.

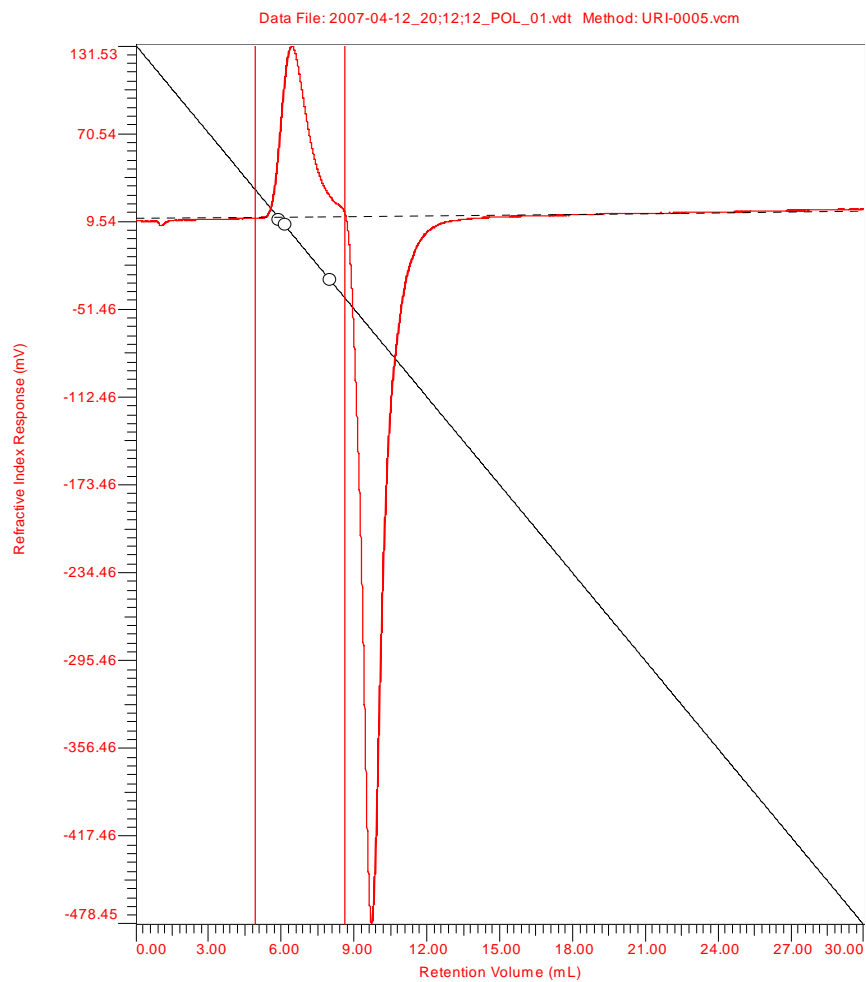


Figura 3.29 Cromatograma que pertenece al producto obtenido en la reacción de la metodología 3.



3.7.1 PRUEBAS DE BIODEGRADACIÓN DEL POLI-(TEREFTALATO DE DIETILENGLICOL)

En el proceso de biodegradación del poliéster sintetizado se pusieron a inocular y cultivar las últimas 3 muestras obtenidas con la metodología 3, esto porque se requería que los tres polímeros obtenidos fueran de pesos moleculares y características muy similares para poder tener cierta repetibilidad en el proceso y así poder obtener resultados muy similares al momento de caracterizar los subproductos de la biodegradación.

Con el primer poliéster obtenido en la metodología 3, ya esterilizado con peróxido de hidrógeno y enjuagado con agua estéril, se realizaron pruebas de crecimiento con la cepa 1 o también denominada *Alicyclophilus sp.*, tomando en cuenta que se hacían diluciones a partir de 1 μL , es decir, de 10^{-1} hasta 10^{-7} , para ponerlas en las placas con el medio sólido y así poner a incubar tanto el polímero así como el control en una incubadora marca THELCO por 24 horas a 37 °C, habiendo en esta prueba crecimiento en donde se puso la bacteria pero desafortunadamente también hubo crecimiento de otros microorganismos, los cuales pudieron entrar en competencia por las fuentes de alimento del medio y este análisis fue rechazado por contaminación, esto se puede apreciar en la figura 3.30. Por tal motivo fue imposible realizar el conteo de las UFC.

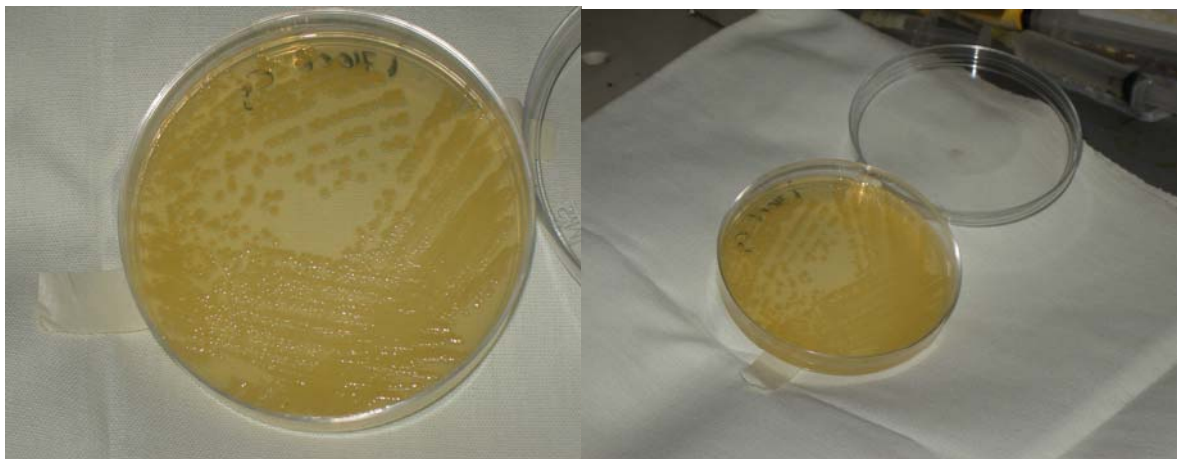


Figura 3.30 Crecimiento bacteriano en una placa con el poliéster obtenido en la reacción 1 de la metodología 3 pero contaminado, correspondiente a la dilución 10^{-3} .

El material obtenido en la reacción 2 de la metodología 3 se esterilizó con peróxido de hidrógeno para evitar alguna contaminación con otro microorganismo presente en el ambiente y que pudiera interferir con la prueba, lavándose posteriormente con agua estéril para tratar de quitar el exceso de H_2O_2 que pudiera estar como excedente en el polímero, después se dispuso el material estéril en el medio LB sólido de la placa, tanto en el que se puso la bacteria como en el que solo servía de control, haciendo lo mismo que en el caso anterior, las diluciones que se hacían a partir de $1 \mu L$ desde 10^{-1} hasta 10^{-7} , tomando solo en cuenta para plaquear tres, es decir, las de 10^{-3} , 10^{-5} y 10^{-7} . Las diluciones se incubaron por 24 horas a $37^\circ C$ por triplicado, observándose sólo en la más diluida un crecimiento de la bacteria. El primer día se hicieron dos siembras y en el segundo día solo una, ya que solo se encontró crecimiento en las cajas donde se había colocado la dilución de 10^{-7} y en algunas que crecieron en las que tenían la dilución de 10^{-3} . Por lo anterior, se decidió no continuar plaqueando con las demás diluciones.

Al tener el material necesario así como los compuestos que servirán de alimento para las bacterias, se puso a esterilizar el poliéster obtenido en la reacción 3 de la metodología 3 en una cámara de UV⁽²⁵⁾, ya que se observó que si se esterilizaban con peróxido de hidrógeno este podía evitar el crecimiento de la bacteria.



Para la esterilización por radiación se utilizó un equipo marca UVP, Ultraviolet Crosslinker modelo CL – 1000 con energía máxima de emisión de $99,999 \mu\text{J}/\text{cm}^2$.

Se sabe que la energía ultravioleta puede degradar un polímero, aumentar el grado de polimerización e incluso activar la polimerización pero en este caso los rangos de tiempos de exposición y de emisión de energía fueron de 1 minuto por cada una de las concentraciones que se prepararon del poliéster, los cuales no afectaron de ninguna manera la estructura de los materiales sintetizados. Los tiempos de irradiación calculados para una energía de $20 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ fueron de 90 s, que con respecto a los reportados para activar una polimerización o degradar un polímero son muy cortos (al menos de 100 veces).⁽²⁶⁾

Al tener el poliéster en sus diferentes concentraciones en peso, ya estériles, se pasaron a los medios líquidos para de ahí ir tomando alícuotas de $1 \mu\text{L}$ y hacer al igual que en los casos anteriores diferentes diluciones que iban desde 10^{-1} hasta 10^{-7} , tomando en cuenta solo tres de estas, es decir, las de 10^{-3} , 10^{-5} y 10^{-7} , en las cuales al plaquearlas e incubarlas a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 horas se encontró un crecimiento en las tres sin encontrar contaminación sólo el crecimiento del microorganismo de interés, por lo que se decidió llevar las diluciones hasta 10^{-10} y en esta ocasión haciendo las diluciones, por lo cual, el muestreo de las diluciones se hizo tres veces por día durante 7 días en los cuales se seguía observando un crecimiento potencial que nunca permitió el conteo de las colonias formadas.

A continuación se muestra en la figura 3.31 los matraces que contenían el medio líquido junto con las diferentes concentraciones del poliéster sintetizado en incubación a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ y con agitación constante.



Figura 3.31 Matrices colocados en incubación a 37°C y agitación vigorosa.

En la figura 3.32 se muestran los matraces que contenían a la cepa bacteriana creciendo sobre el poliéster sintetizado y las cuales formaron un biofilm sobre la superficie del polímero, el cual aumentaba de tamaño al aumentar el tamaño de la superficie del material sintetizado.



Figura 3.32 Matraces con el biofilm creciendo sobre la superficie del material a causa de la cepa bacteriana.

En seguida se muestra en la figura 3.33 las cajas petri en las cuales existía un crecimiento bacteriano donde había material polimérico y en otras no debido a que pertenecían al control.



Figura 3.33 Cajas petri, a la izquierda se encuentran las que contienen el control y a la derecha las que tienen crecimiento bacteriano.

En vista de lo anterior se puso un cultivo líquido de medio mínimo con la concentración más grande de poliéster, es decir de 3%; habiendo un control y otro matraz con la cepa; como se trataba de un cultivo de mayor volumen, las cantidades se modificaron, por lo que ahora se tuvo una cantidad de 250 mL, ya que para el anterior era de 50 mL y por esto se tomó en cuenta la activación de la bacteria para después tomar la lectura de la densidad óptica y así saber que cantidad del inóculo se colocó en el cultivo, la cual se obtiene haciendo los cálculos correspondientes con la ecuación 3.1 y fue de 33 mL, centrifugando las células a 5000 G's.

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

ecuación 3.1

En la figura 3.34 se observan los 2 cultivos que se pusieron a incubar a 37 °C durante 10 días.



Figura 3.34 Cultivo con una concentración de poliéster de 3%, a la izquierda el matraz con la bacteria y a la derecha el matraz con el control, es decir, sin bacteria.

Posteriormente cada día durante los 10 días se tomaba una alícuota de 1 mL tanto del matraz con el control así como del matraz que contenía a la cepa bacteriana en crecimiento cuidando de no disminuir el volumen del medio por más del 20%, estas muestras fueron tratadas para analizar subproductos obtenidos, esto se describe en el siguiente procedimiento.

3.8 CARACTERIZACIÓN DE LOS SUBPRODUCTOS DEL PROCESO DE BIODEGRADACIÓN DEL POLI-(TEREFTALATO DE DIETILENGLICOL)

Cada alícuota mencionada en el procedimiento anterior se extrajo con cloroformo, la fase orgánica se inyectó en el cromatógrafo de gases una vez hecha la extracción y obteniendo el espectro de masas de cada muestra para saber que subproductos se obtuvieron como consecuencia de la biodegradación y fue hasta la sexta muestra donde la mitad se extraía con cloroformo y la otra mitad con éter y se inyectaba 1 μL de cada una de las muestras, ya que con ambos solventes se extraían algunos subproductos y al inyectar cada parte orgánica de la extracción salieron diferentes subproductos como consecuencia de la biodegradación.

A continuación se muestran los cromatogramas y espectros de masas obtenidos para cada una de los subproductos obtenidos en la biodegradación, estos se irán presentando conforme se fueron obteniendo.

En la figura 3.35 se muestra el cromatograma obtenido de la primera muestra de biodegradación que se extrajo con cloroformo y se utilizó un método denominado *solpemr* cuyas características se muestran en el apéndice B, el cual sirve para detectar si hay compuestos que puedan aparecer antes del tiempo de retención donde aparece la señal del solvente; en este se muestra el pico principal a los 2 minutos que es el que pertenece al cloroformo como solvente, pero antes de este aparecen dos pequeñas señales que están en 1.45 minutos y 1.6 minutos, las cuales cada una de ellas corresponde a un subproducto de la biodegradación, mientras que la señal de 1.9 minutos corresponde al dicloroetano que es una impureza del cloroformo.

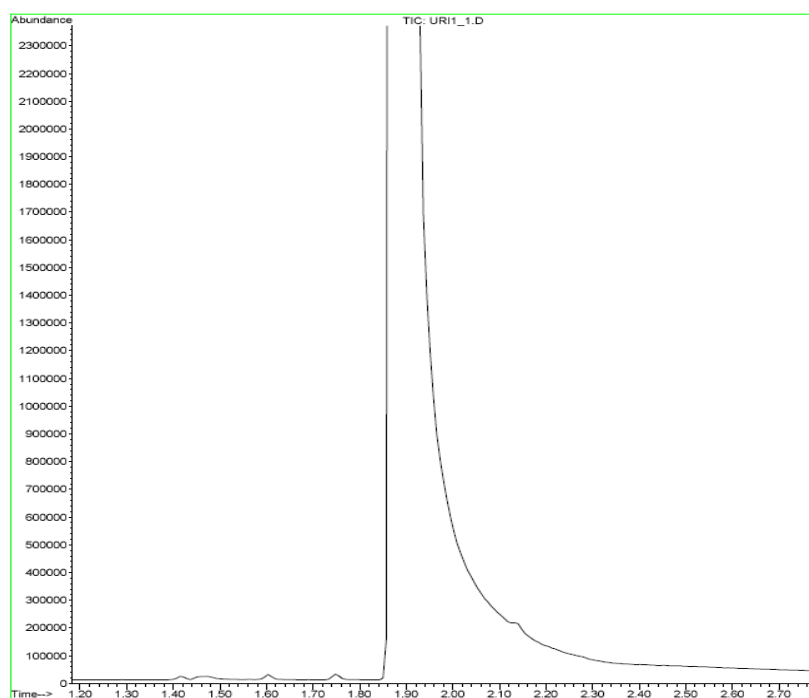


Figura 3.35 Cromatograma obtenido para la muestra 1 después del proceso de biodegradación extraído con cloroformo en el método *solpemr*.

La primera señal pequeña que sale en 1.45 minutos corresponde al propano que se formó como primer producto del proceso de la biodegradación como se puede apreciar el espectro de masas y un diagrama de la molécula en la figura 3.36.

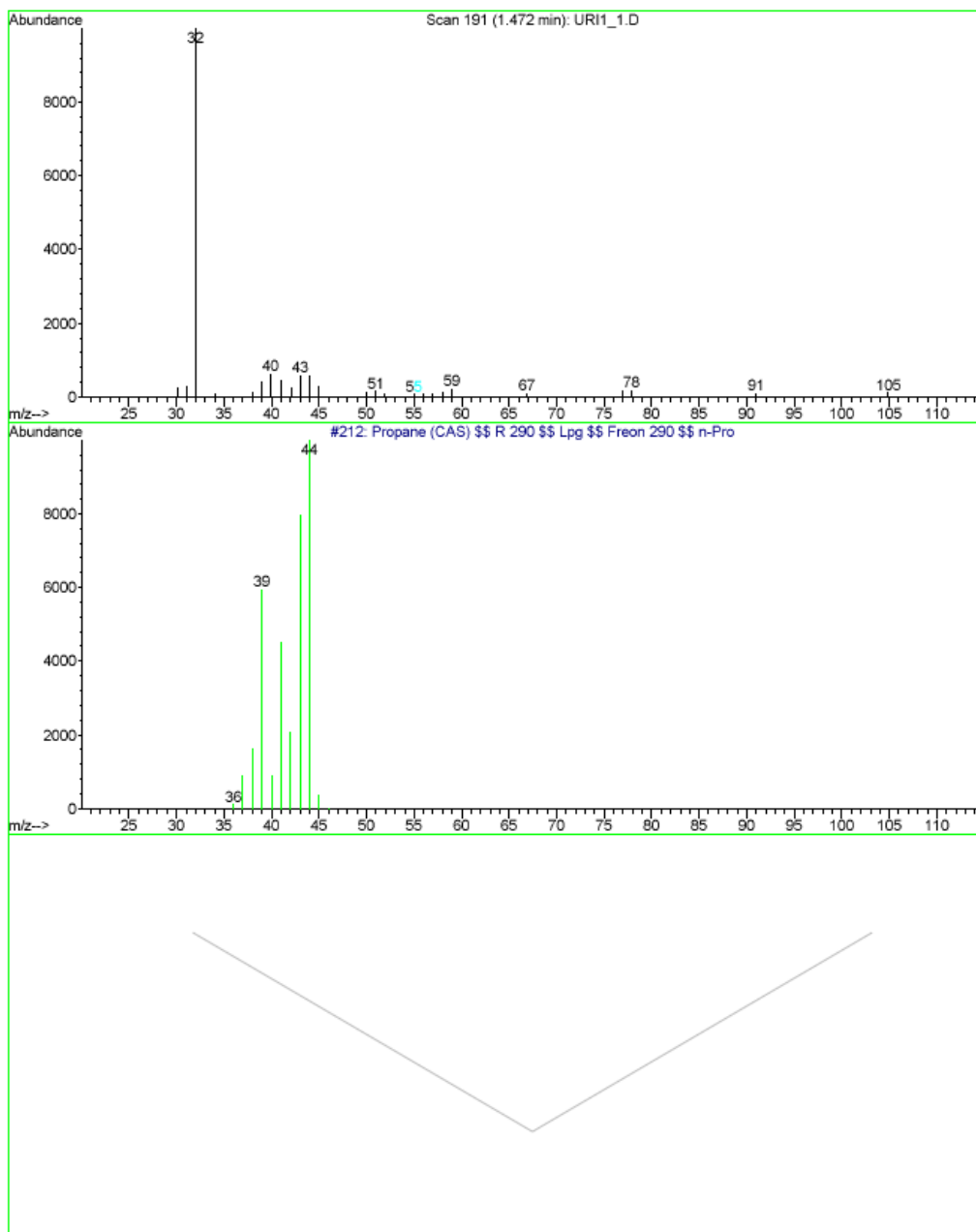


Figura 3.36 Espectro de masas que pertenece al propano primer subproducto de la biodegradación para la muestra 1.

La segunda señal que aparece en 1.5 minutos es la que corresponde al compuesto llamado oxirano y cuyo espectro de masas así como la molécula aparece en la figura 3.37.

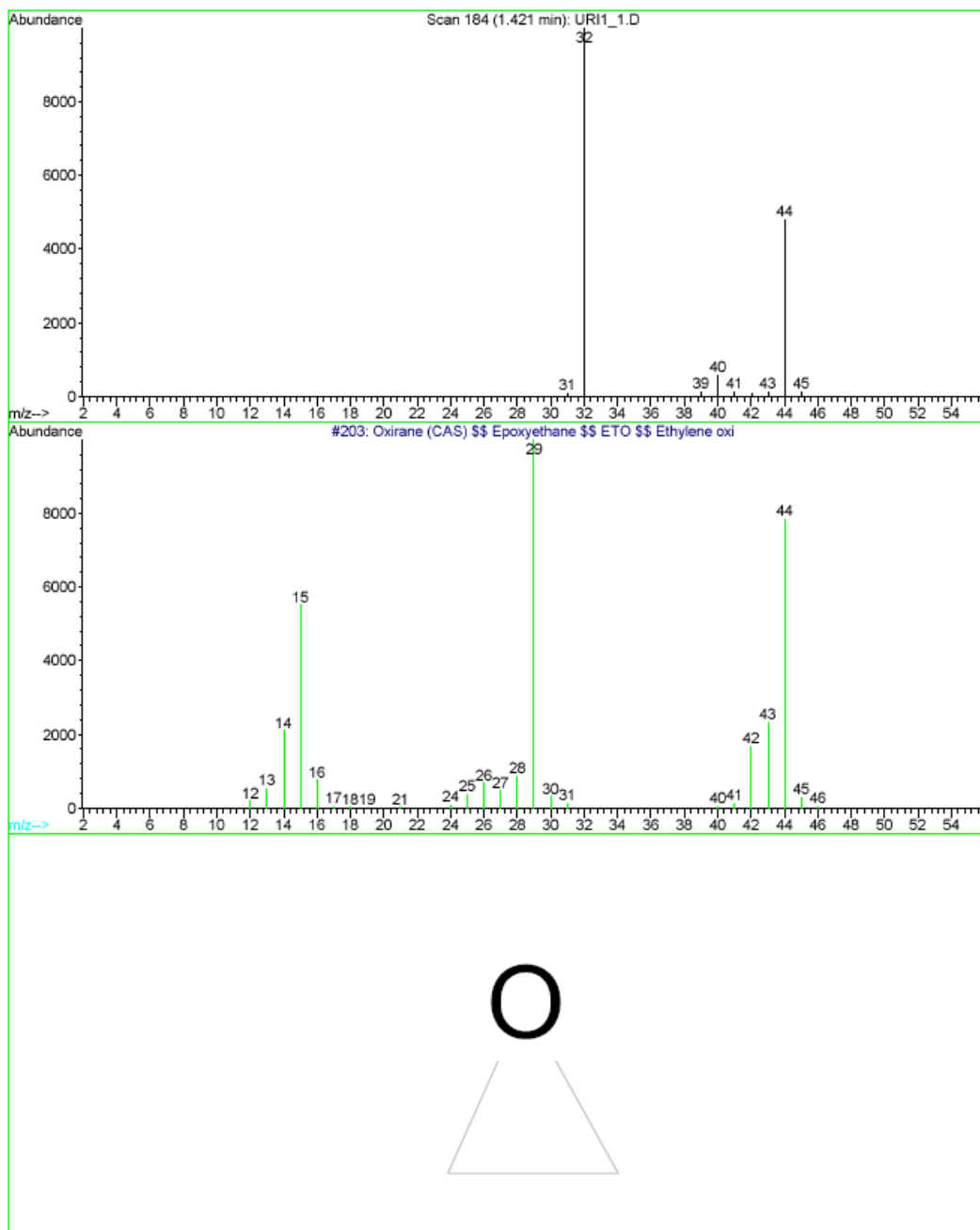


Figura 3.37 Espectro de masas que pertenece al oxirano segundo subproducto de la biodegradación para la muestra 1.

La tercera señal que aparece en el cromatograma en 1.75 minutos es la que corresponde al 2-metilbuteno y cuyo espectro de masas se muestra en la figura 3.38.

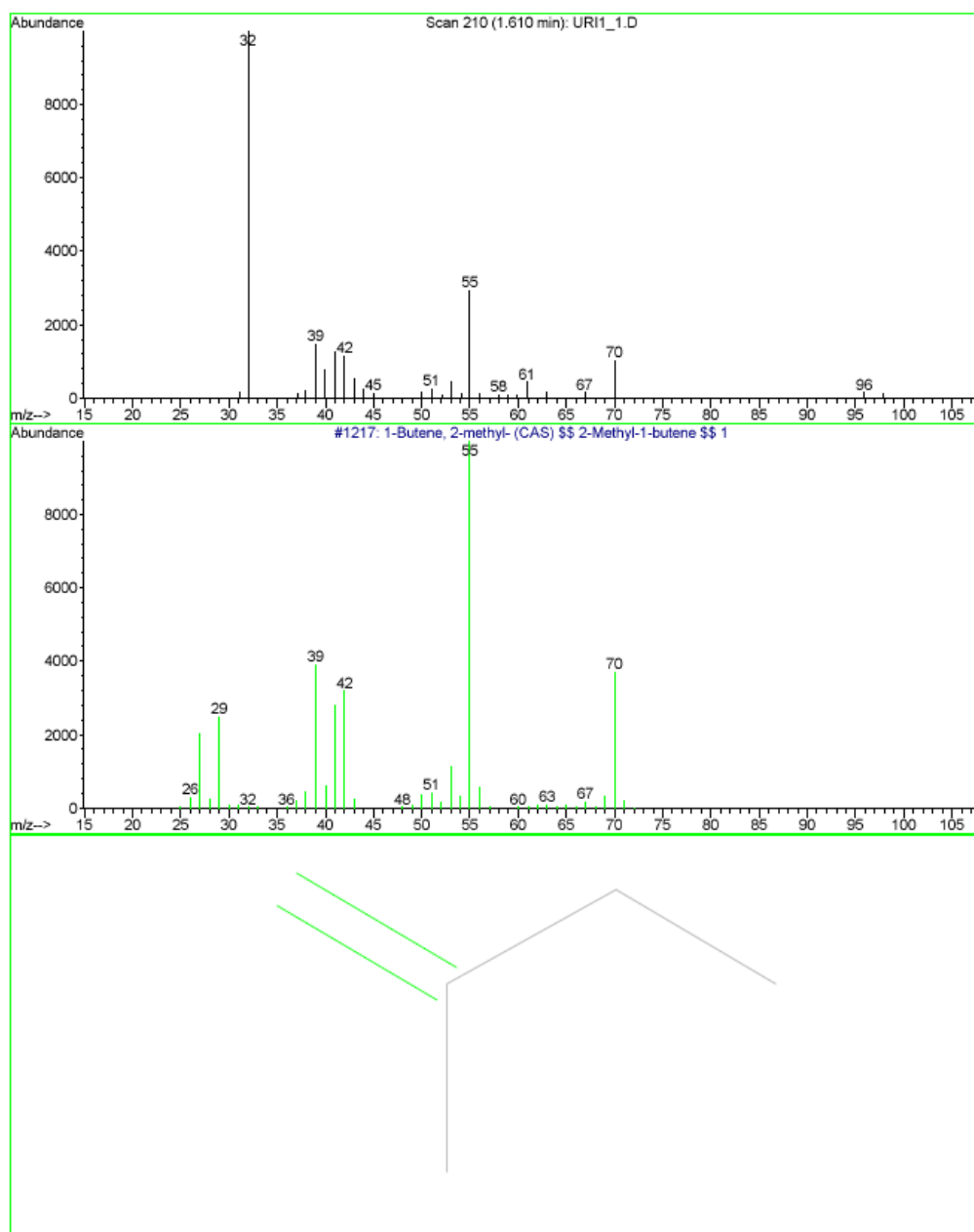


Figura 3.38 Espectro de masas que pertenece al 2-metilbuteno tercer subproducto de la biodegradación para la muestra 1.

Como se mencionó anteriormente, la muestra 1 también se le hizo el análisis con otro método de cromatografía, el cual se llama *solpem* y sus características se muestran en el apéndice B, en este solo se observan las señales que aparecen después de la del solvente, el cromatograma correspondiente se muestra en la figura 3.39, en el cual a los 2 minutos aparece la señal que corresponde al solvente que es el cloroformo y a los 16 minutos una señal ancha y que corresponde a una mezcla de éteres los cuales se muestran posteriormente sus espectros de masas.

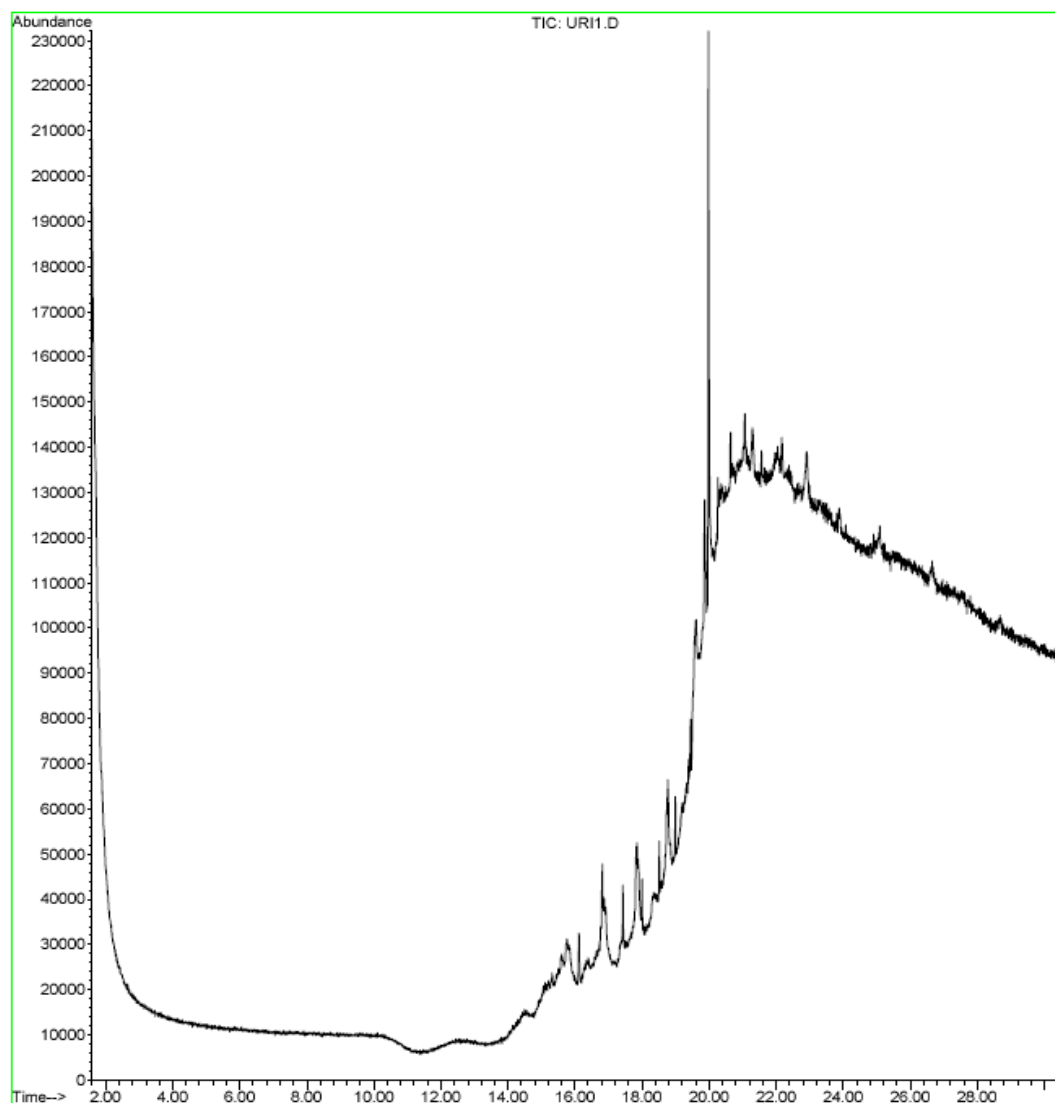


Figura 3.39 Cromatograma obtenido para la muestra 1 después del proceso de biodegradación obtenido por el método *solpem*. En la figura 3.40 se presenta el espectro

de masas que corresponde al primer subproducto obtenido en el cromatograma anterior por el método *solpem* y que corresponde al 1-etoxi-1-metoxietano.

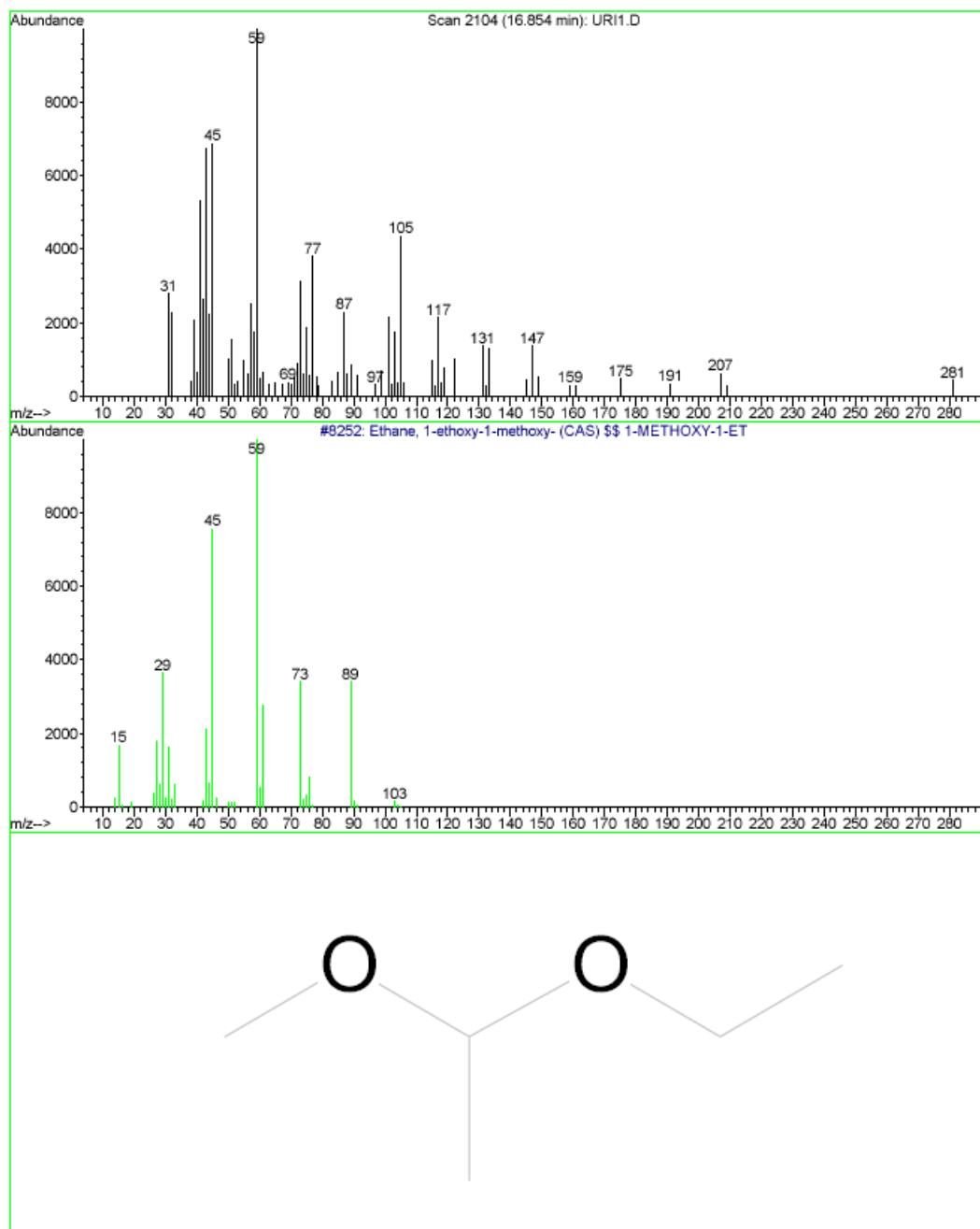


Figura 3.40 Espectro de masas que corresponde al 1-etoxi-1-metoxietano por el método *solpem*.

También se obtuvo el espectro de masas que corresponde a otro éter, el cual se presenta en la figura 3.41 y que pertenece al metiléter del tripropilenglicol.

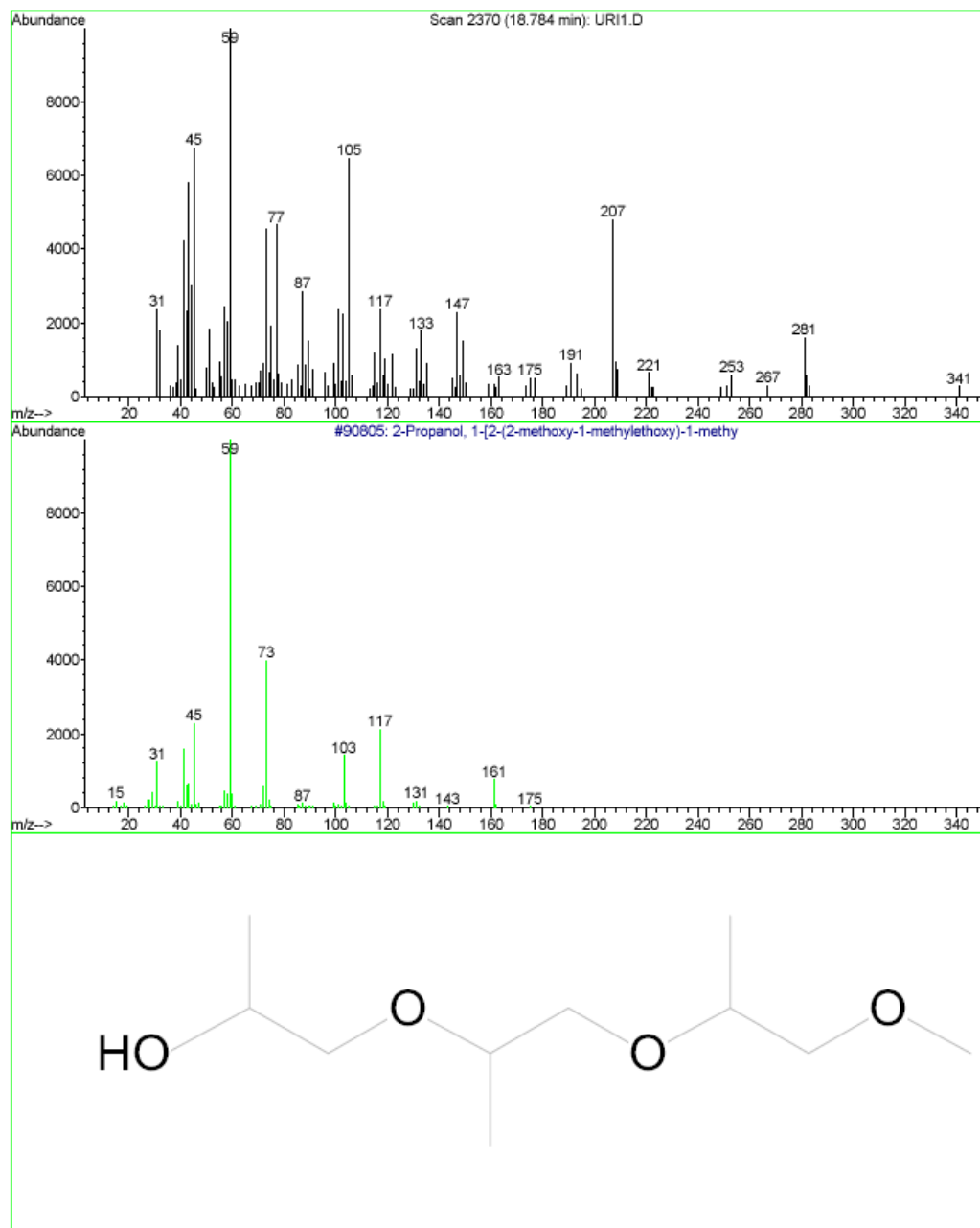


Figura 3.41 Espectro de masas que corresponde al metiléter del tripropilenglicol por el método *solpem*.

En la muestra 2 también se obtuvieron resultados del proceso de la biodegradación, los cuales fueron analizados por cromatografía de gases y espectrometría de masas, a continuación se muestra en la figura 3.42 el cromatograma obtenido para el método *solpembr*.

En el cromatograma se observan tres señales pequeñas que aparecen antes de la señal que pertenece al solvente y cuyos tiempos de aparición están en 1.40 minutos, el primero, el segundo en 1.60 minutos y por último en 1.80 minutos, para después a los 2 minutos dar lugar a la señal del solvente que es cloroformo.

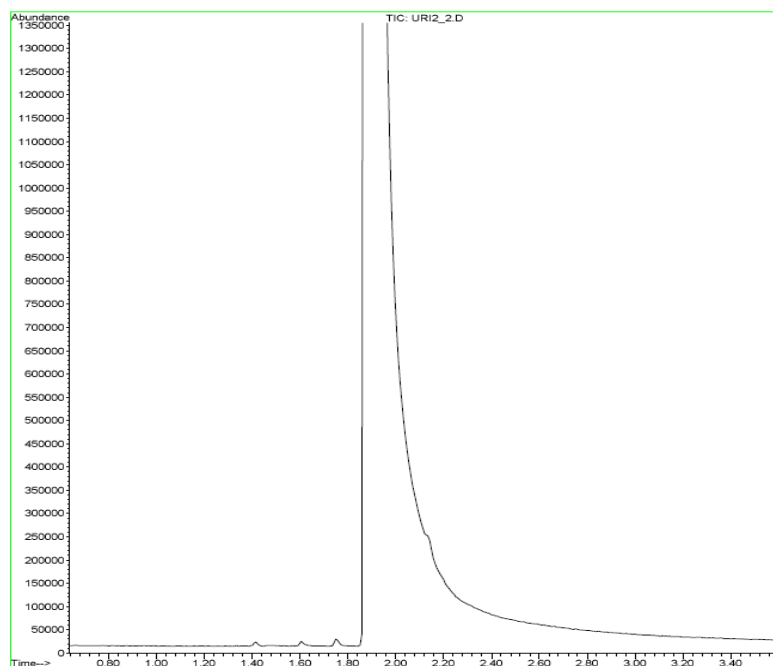


Figura 3.42 Cromatograma que pertenece a la muestra 2, obtenido después del segundo día del proceso de biodegradación por el método *solpembr*.

A continuación se presenta en la figura 3.43 el espectro de masas obtenido para el compuesto que pertenece a la señal que aparece en 1.4 minutos y que corresponde nuevamente al propano.

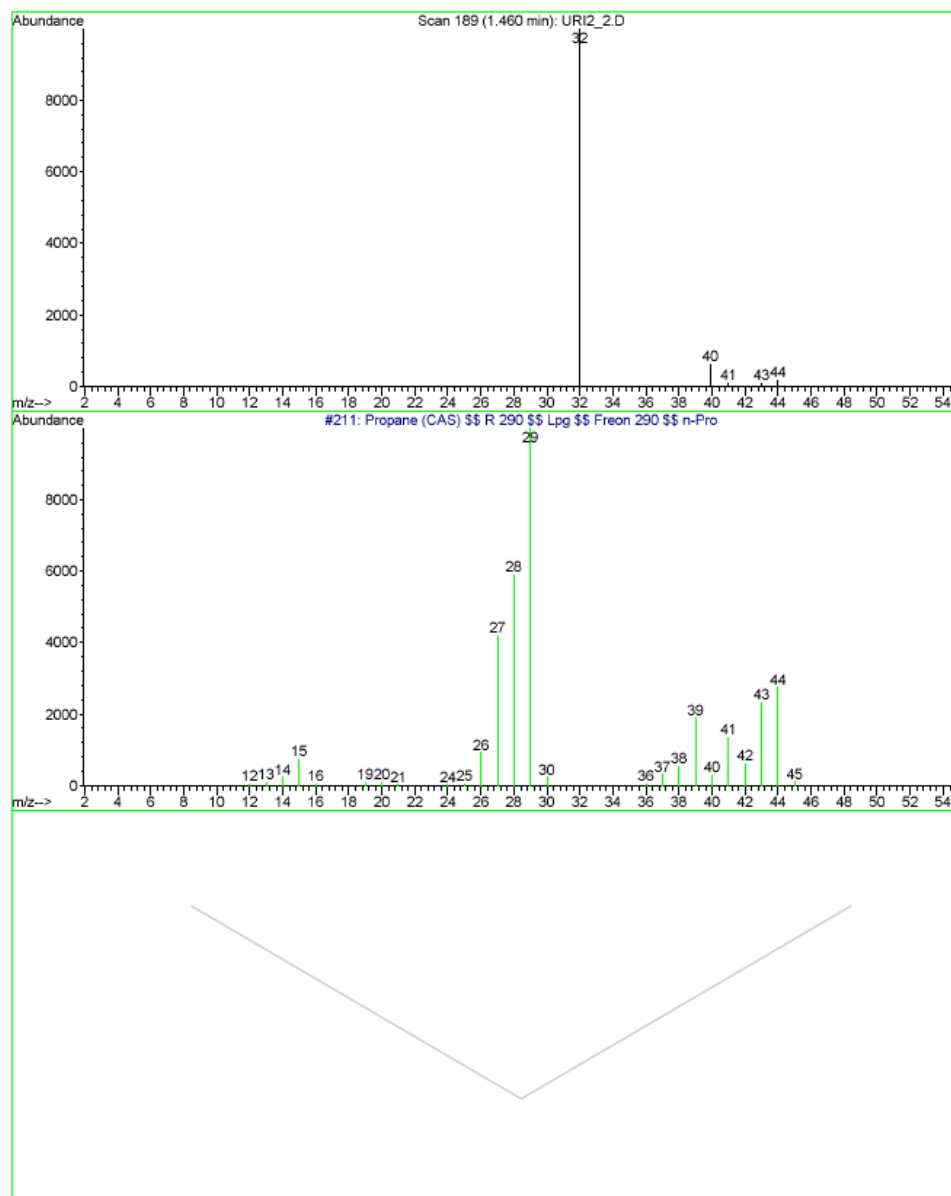


Figura 3.43 Espectro de masas que corresponde al propano como subproducto de la biodegradación para la muestra 2.

En seguida se observa en la figura 3.44 el espectro de masas que corresponde al oxirano y que aparece en 1.6 minutos en el cromatograma correspondiente a la muestra 2.

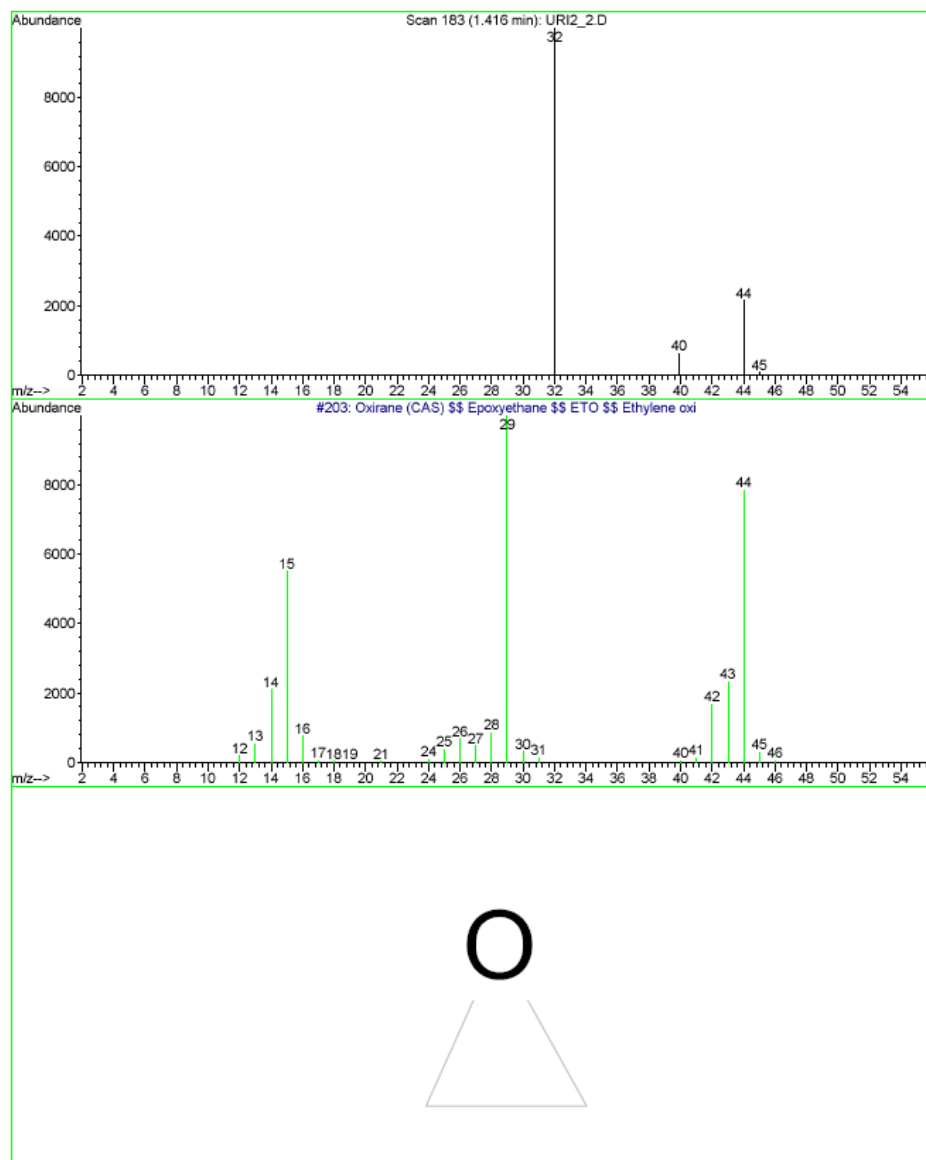


Figura 3.44 Espectro de masas que corresponde al oxirano como subproducto de la biodegradación para la muestra 2.

La tercera señal que aparece en el cromatograma en 1.8 minutos pertenece a una impureza del solvente, el cual es el cloroformo y dicha impureza corresponde al dicloroetano.



Posteriormente se hizo la cromatografía para la muestra 2 pero ahora con el método *solpem*, en el cual a los 2 minutos aparece la señal para el solvente y aproximadamente en 20 minutos sale la señal que corresponde a una mezcla de éteres presentes en la muestra. A continuación el cromatograma correspondiente para el método *solpem* se muestra en la figura 3.45.

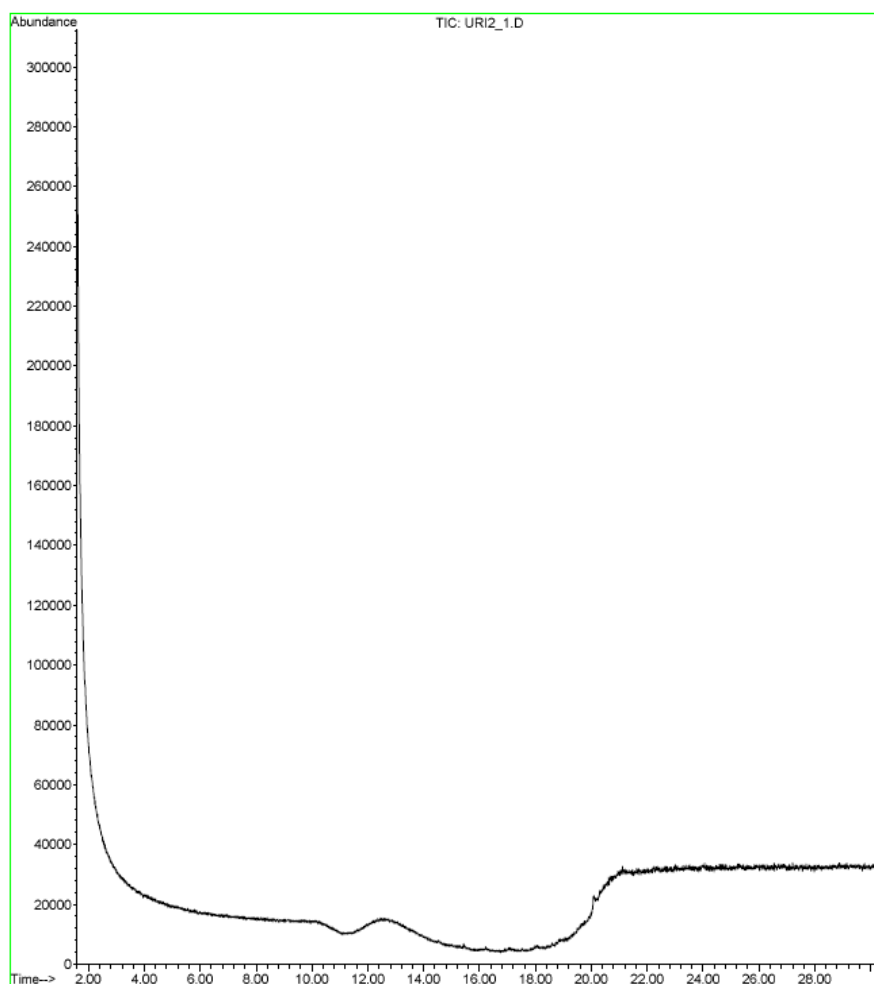


Figura 3.45 Cromatograma que corresponde a la muestra 2 pero ahora con el método *solpem*.

Ahora se muestran los espectros de masas que se obtuvieron para la muestra 2 pero con el método *solpem*, el primero se observa en la figura 3.46 y corresponde al dipropilenglicol.

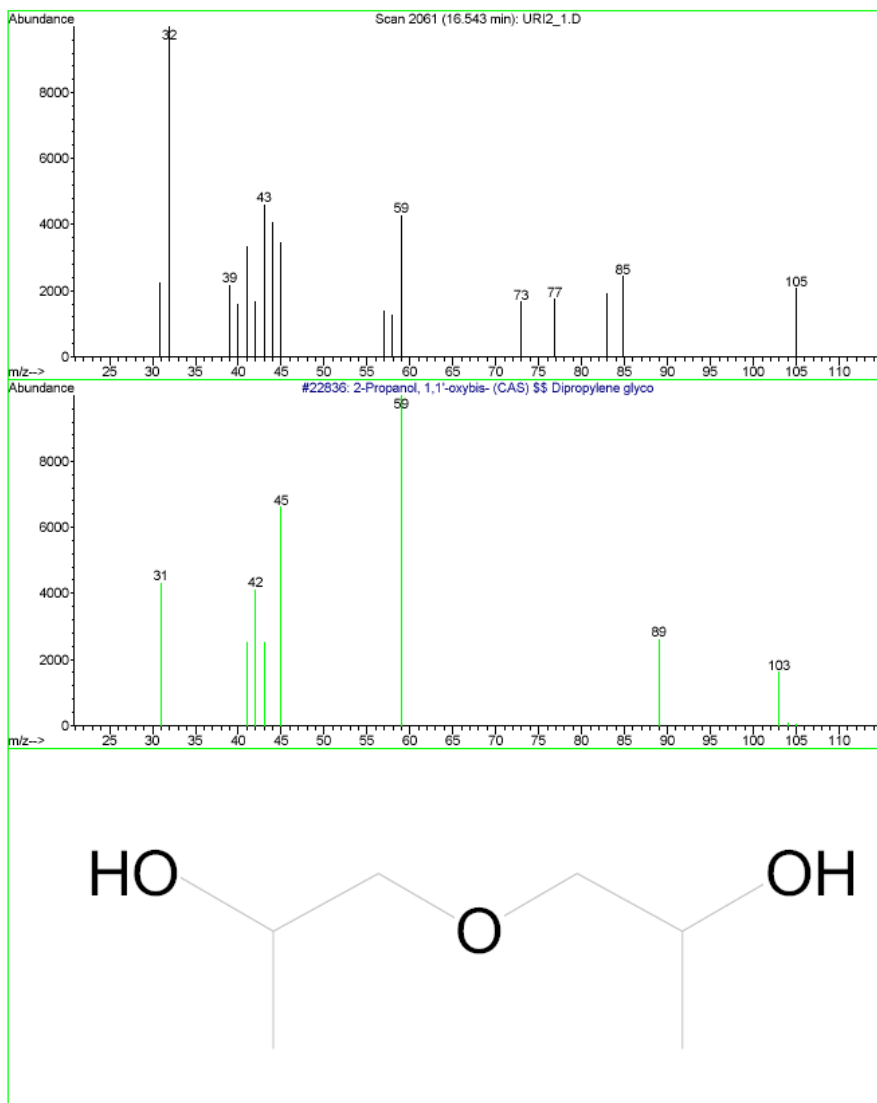


Figura 3.46 Espectro de masas para el dipropilenglicol obtenido por el método *solpem*.

En seguida en la figura 3.47 se observa el espectro de masas para otro éter el cuál es el 2-(2-hidroxipropoxi)-1-propanol.

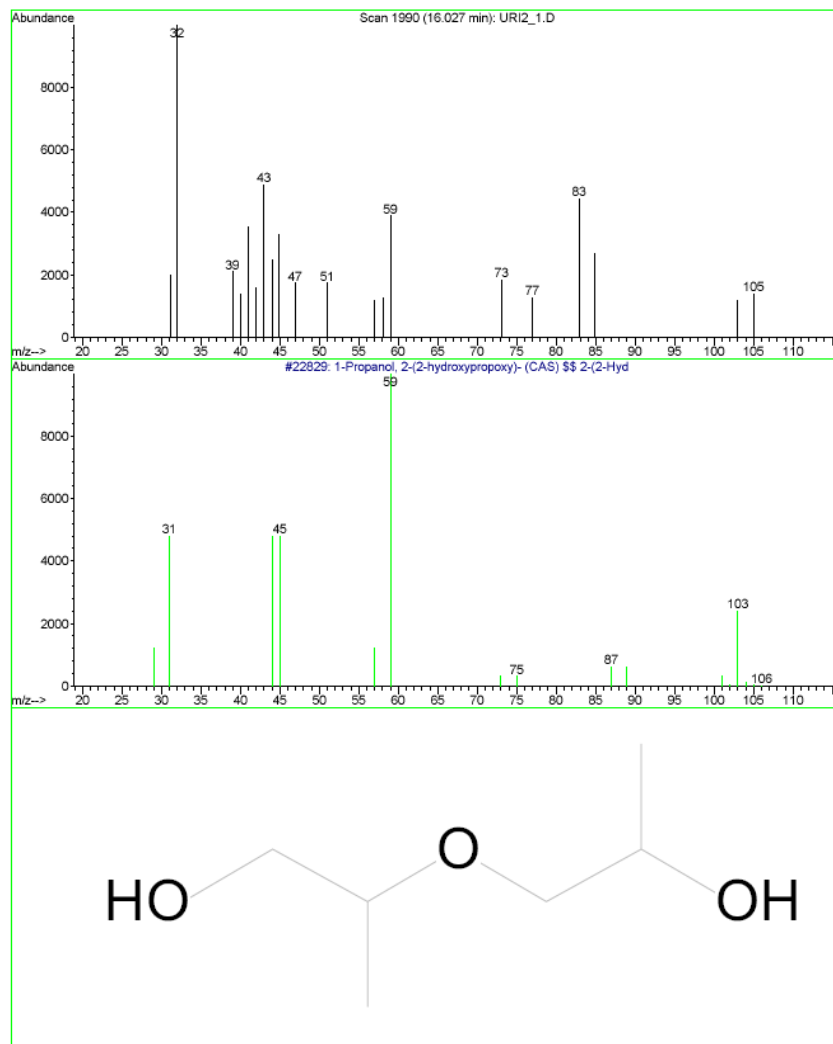


Figura 3.47 Espectro de masas para el 2-(2-hidroxiopropoxi)-1-propanol obtenido por el método *solpem*.

En la figura 3.48 se muestra el cromatograma correspondiente a la muestra 6 extraída con cloroformo, cabe señalar que a partir de esta muestra ya se hicieron las extracciones con los dos solventes tanto con cloroformo como con el éter, presentando algunas diferencias en los compuestos extraídos con cada uno de los solventes utilizados, pero siguiendo los dos métodos anteriores tanto el *solpemr* y el *solpem*. En 1.4 se observa la primera señal que corresponde al dióxido de carbono, la siguiente señal que está en 1.6 minutos corresponde al 2-metilbuteno y por último la señal que está cerca de 1.8 minutos corresponde al dicloroetano que es una impureza presente en el cloroformo como solvente.

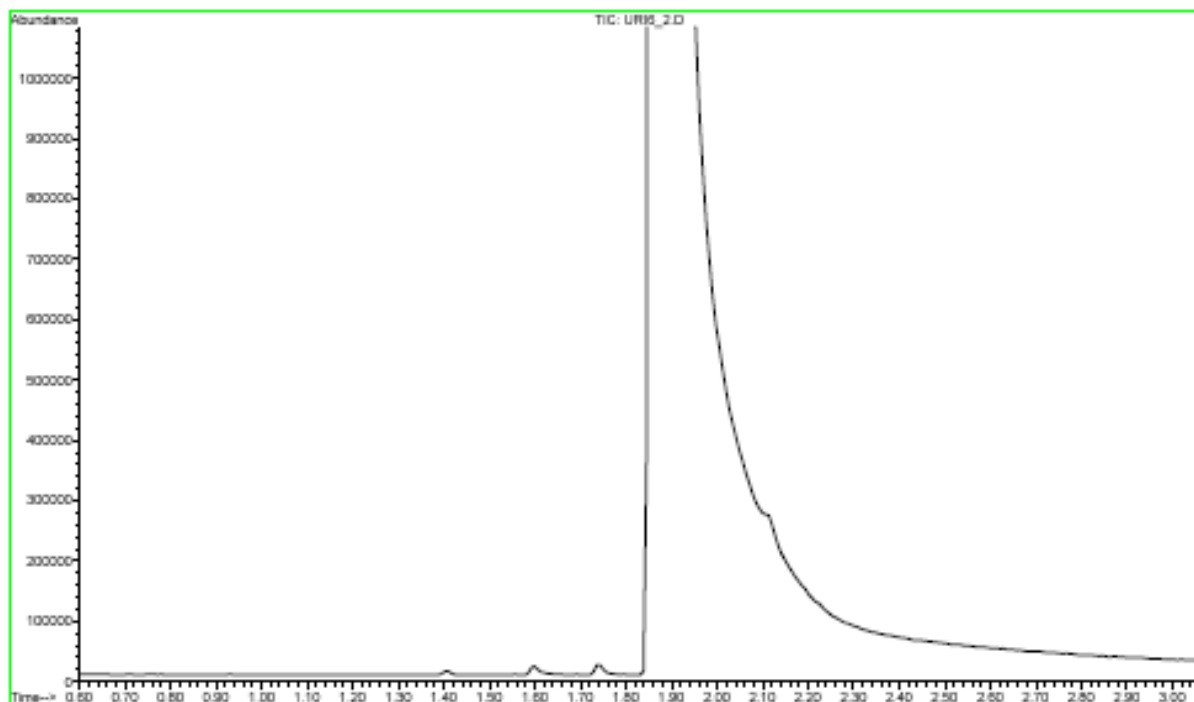


Figura 3.48 Cromatograma obtenido para la muestra 6 extraída con cloroformo y utilizando el método *solpembr*.

A continuación se presentan los espectros de masas de los compuestos obtenidos durante el análisis de la muestra 6, en la figura 3.49 se observa el espectro de masas obtenido por el método *solpembr* para el dióxido de carbono, que es el primer compuesto que aparece en 1.4 minutos del tiempo de corrida.

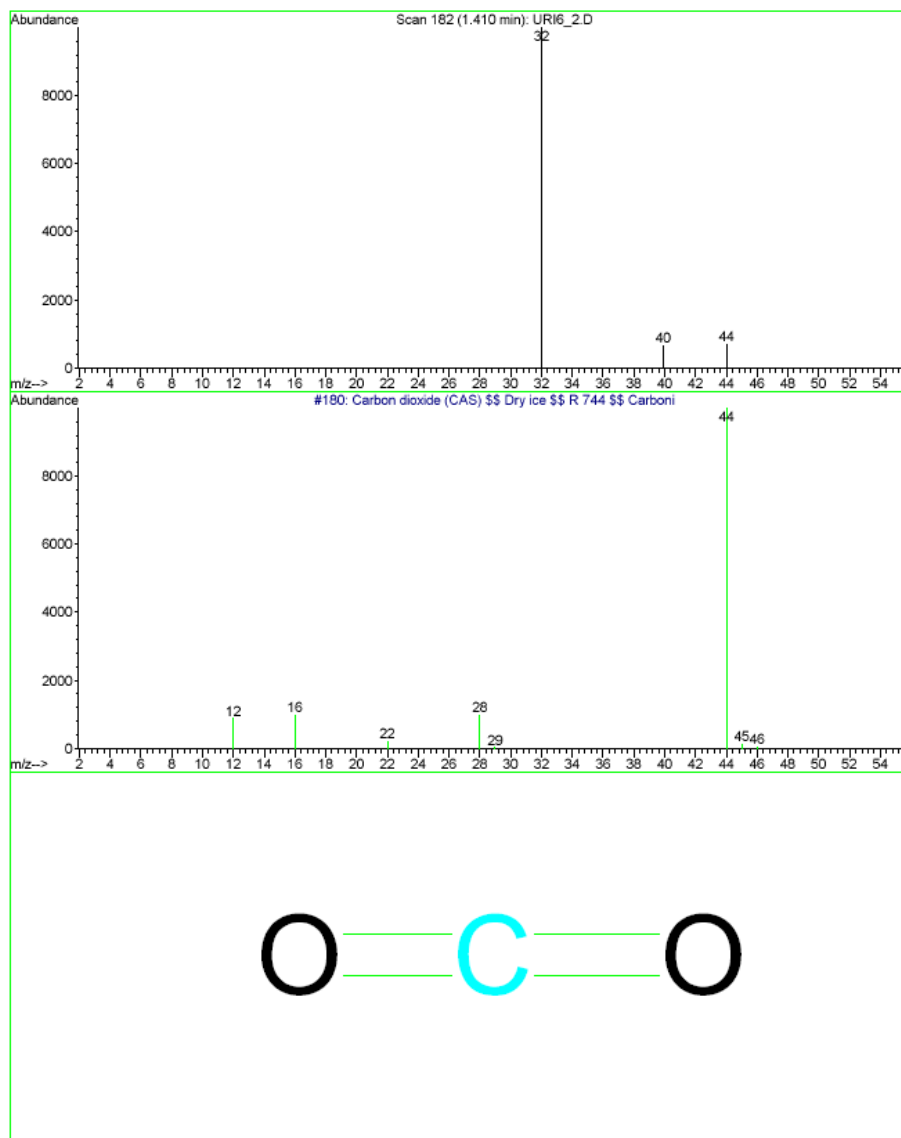


Figura 3.49 Espectro de masas para el CO₂ obtenido por el método *solpemr* para la muestra 6.

A continuación se presenta en la figura 3.50 el espectro de masas para el 2-metilbuteno, cuya señal aparece en 1.6 minutos del tiempo de corrida y es el segundo subproducto obtenido por el proceso de biodegradación.

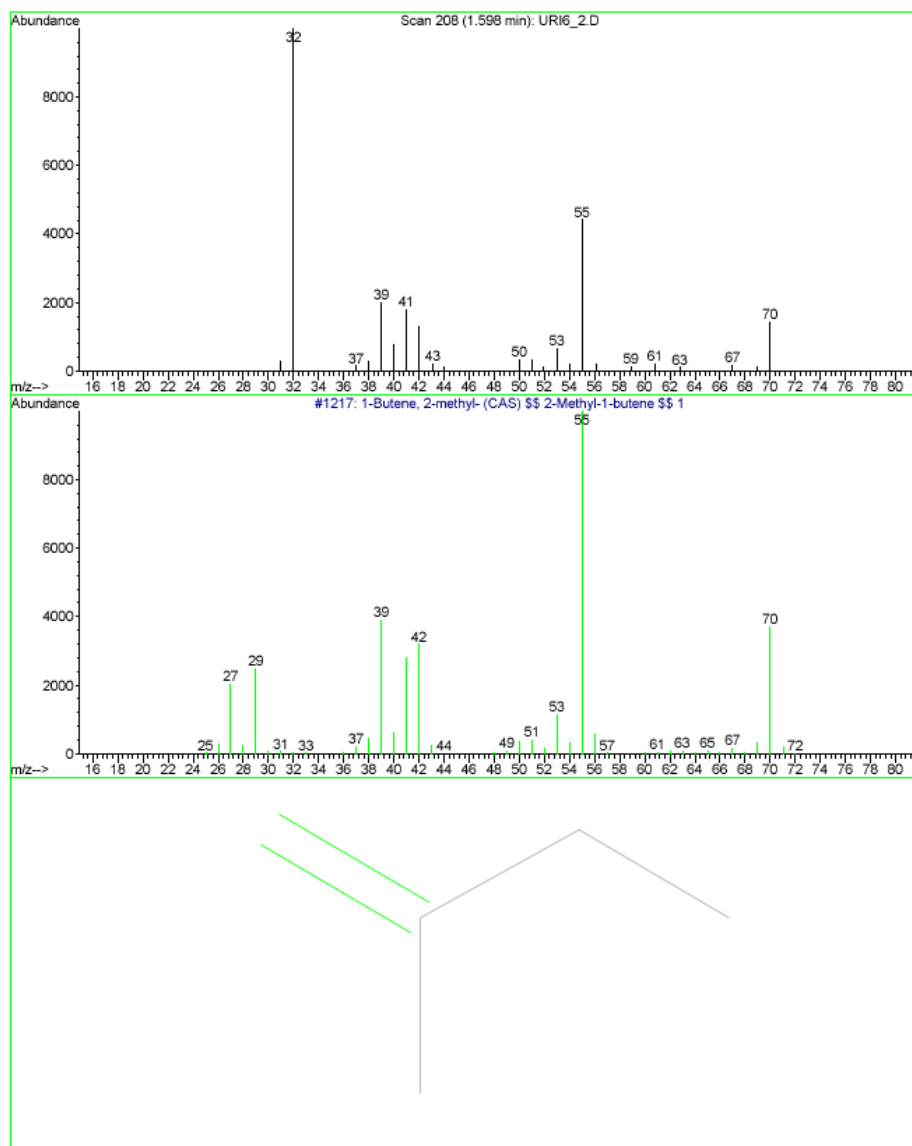


Figura 3.50 Espectro de masas para el 2-metilbuteno obtenido por el método *solpemr* para la muestra 6.

En la figura 3.51 se observa el cromatograma obtenido por el método *solpem* para la muestra 6 extraída con cloformo, en el cual se observa que a los 2 minutos se obtuvo una señal la cual corresponde al solvente empleado, sin embargo, a los 14 minutos aparece la señal que corresponde a una mezcla de éteres obtenidos en el proceso de biodegradación.

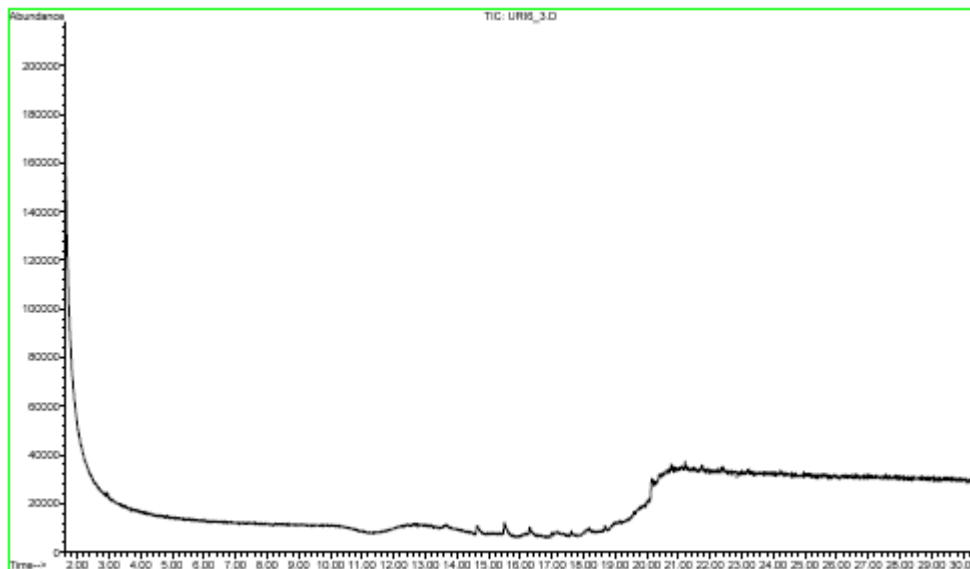


Figura 3.51 Cromatograma obtenido para la muestra 6 por el método *solpem*.

En la figura 3.52 se observa el espectro de masas correspondiente al primer éter obtenido el cual es 1-(1-metilpropoxi)-2-propanol en el cromatograma.

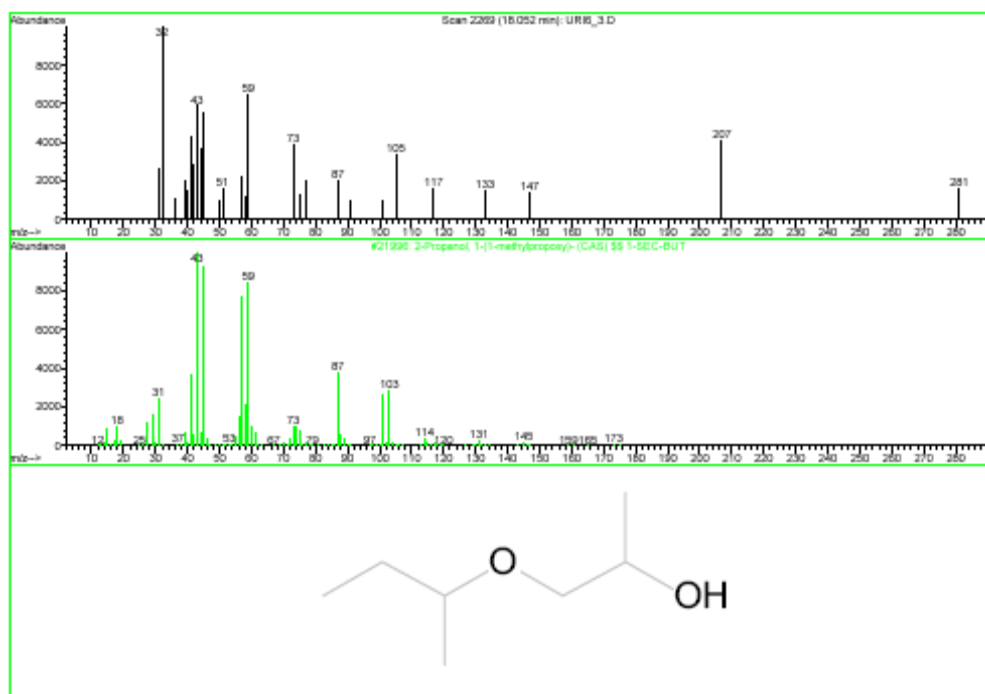


Figura 3.52 Espectro de masas correspondiente al 1-(1-metilpropoxi)-2-propanol para la muestra 6.

En la figura 3.53 se muestra el espectro de masas que corresponde al 2-(2-metoxi-1-metiletoxi)-1-propanol, obtenido en el método *solpem* como segundo producto de biodegradación para este método.

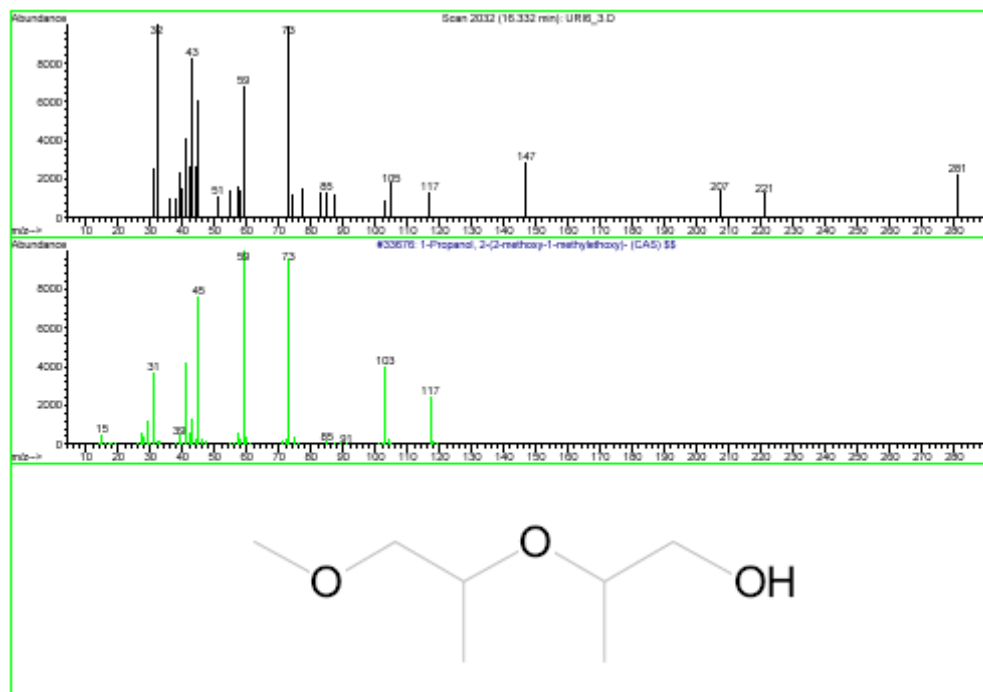


Figura 3.53 Espectro de masas correspondiente al 2-(2-metoxi-1-metiletoxi)-1-propanol para la muestra 6.

En la figura 3.54 se muestra el cromatograma obtenido para la muestra 6 pero ahora extraída con éter por el método *solpemr*, en el cual las señales obtenidas son muy pequeñas pero que si presentan subproductos obtenidos en el proceso de biodegradación.

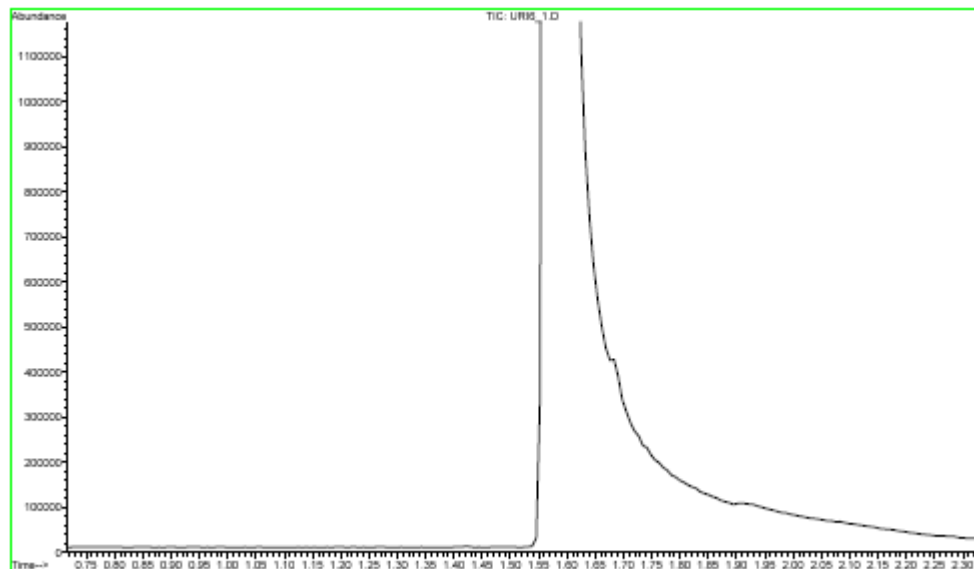


Figura 3.54 Cromatograma obtenido por el método *solpemr* pero ahora para la extracción hecha con éter.

En la figura 3.55 se muestra el espectro de masas que se obtuvo para la especie obtenida por la biodegradación y la cual pertenece al etanol.

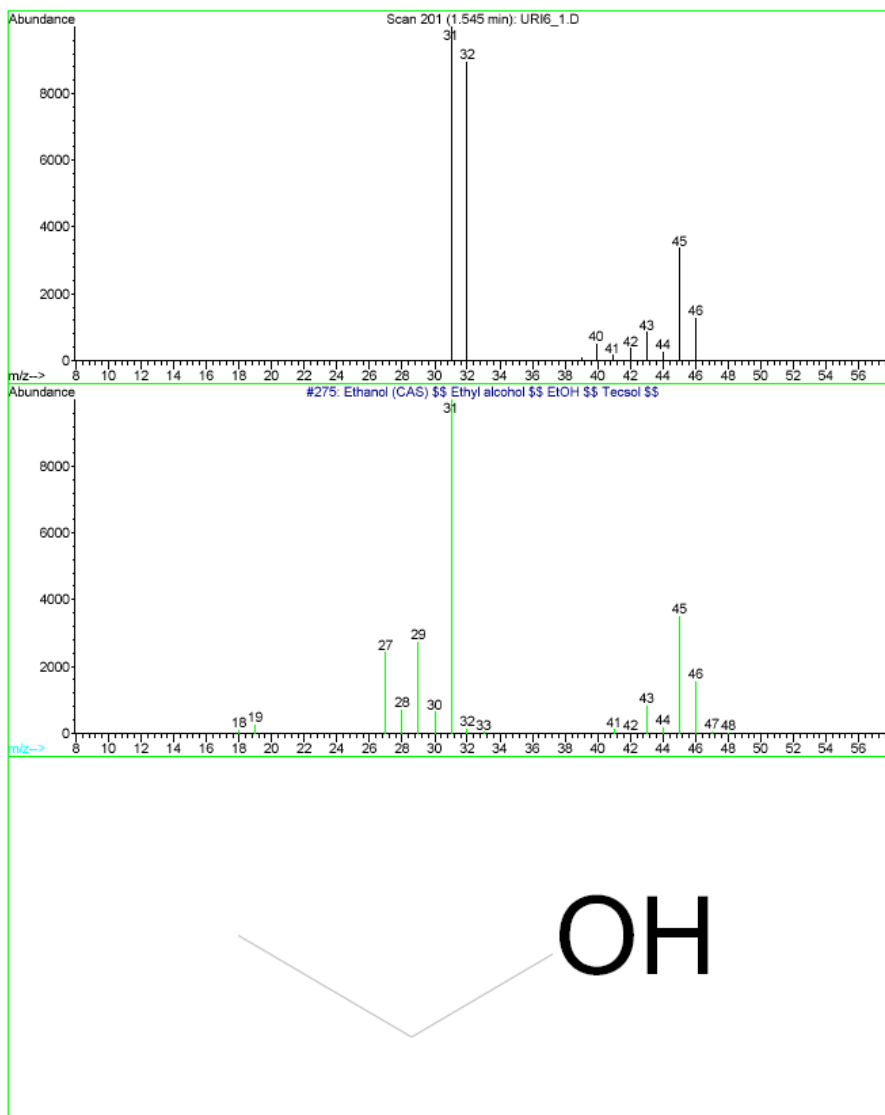


Figura 3.55 Espectro de masas obtenido del etanol que fue extraído con éter.

Para el método *solpem* para la extracción con éter también se obtuvo un cromatograma el cual se observa a continuación en la figura 3.56, en el cual se muestra que a los 2 minutos del tiempo de la corrida aparece la señal correspondiente al solvente y aproximadamente en 20 minutos aparece una señal ancha que corresponde a una mezcla de compuestos con grupo funcional éter.

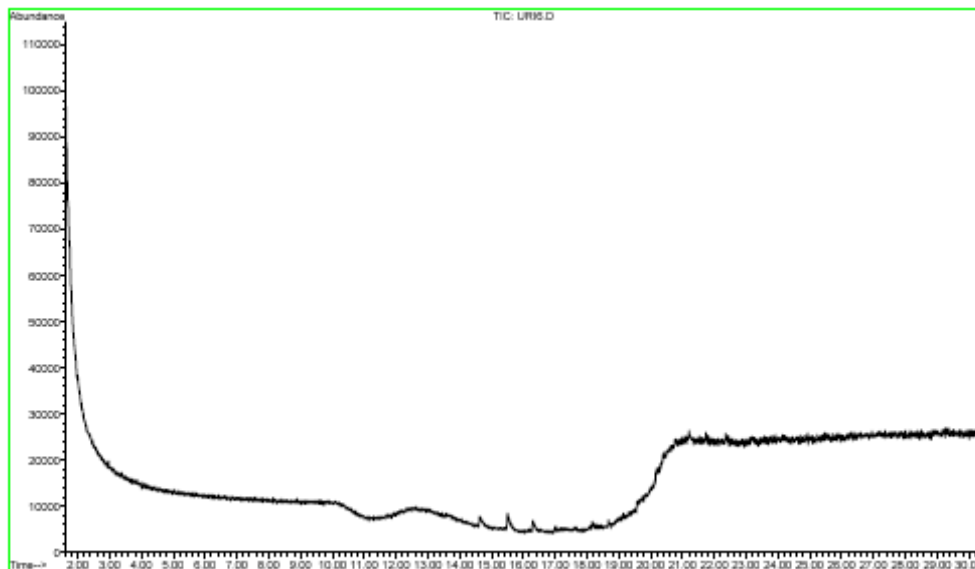


Figura 3.56 Cromatograma obtenido por el método *sol/pem* para la muestra 6 extraída con éter.

En la figura 3.57 se observa el espectro de masas que corresponde a la primera molécula, la cual es el monoetiléter del dietilenglicol como subproducto del proceso de biodegradación.

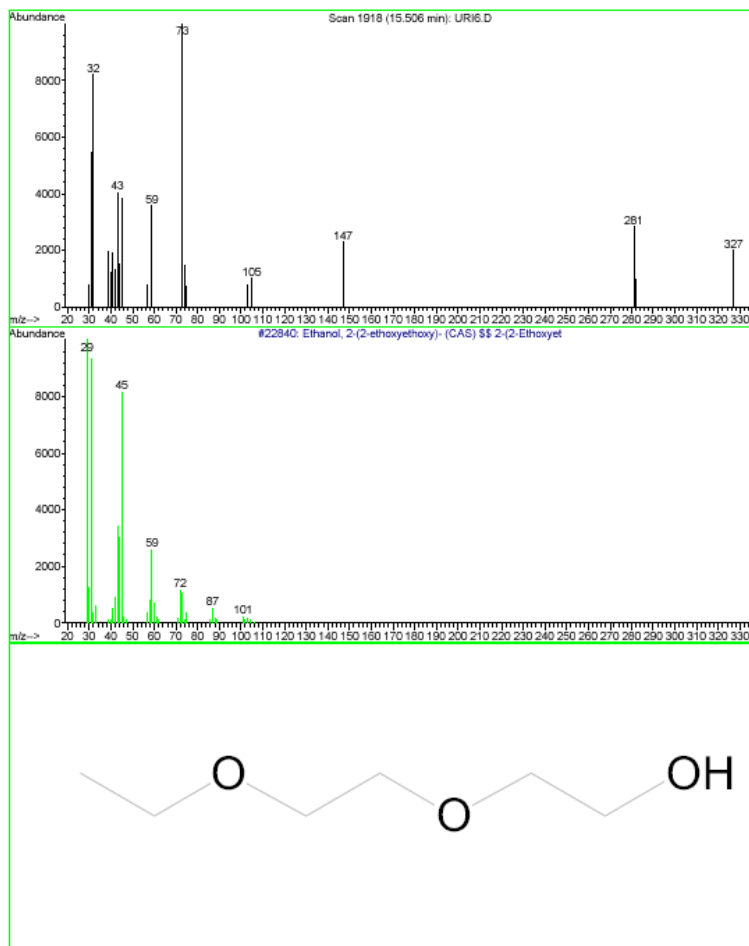


Figura 3.57 Espectro de masas que corresponde al monoetiléter del dietilenglicol.

En la figura 3.58 se muestra el espectro de masas que corresponde a otro subproducto de la biodegradación identificado por éste método cromatográfico y que pertenece al 2-(2-metoxi-1-metiletóxi)-1-propanol.

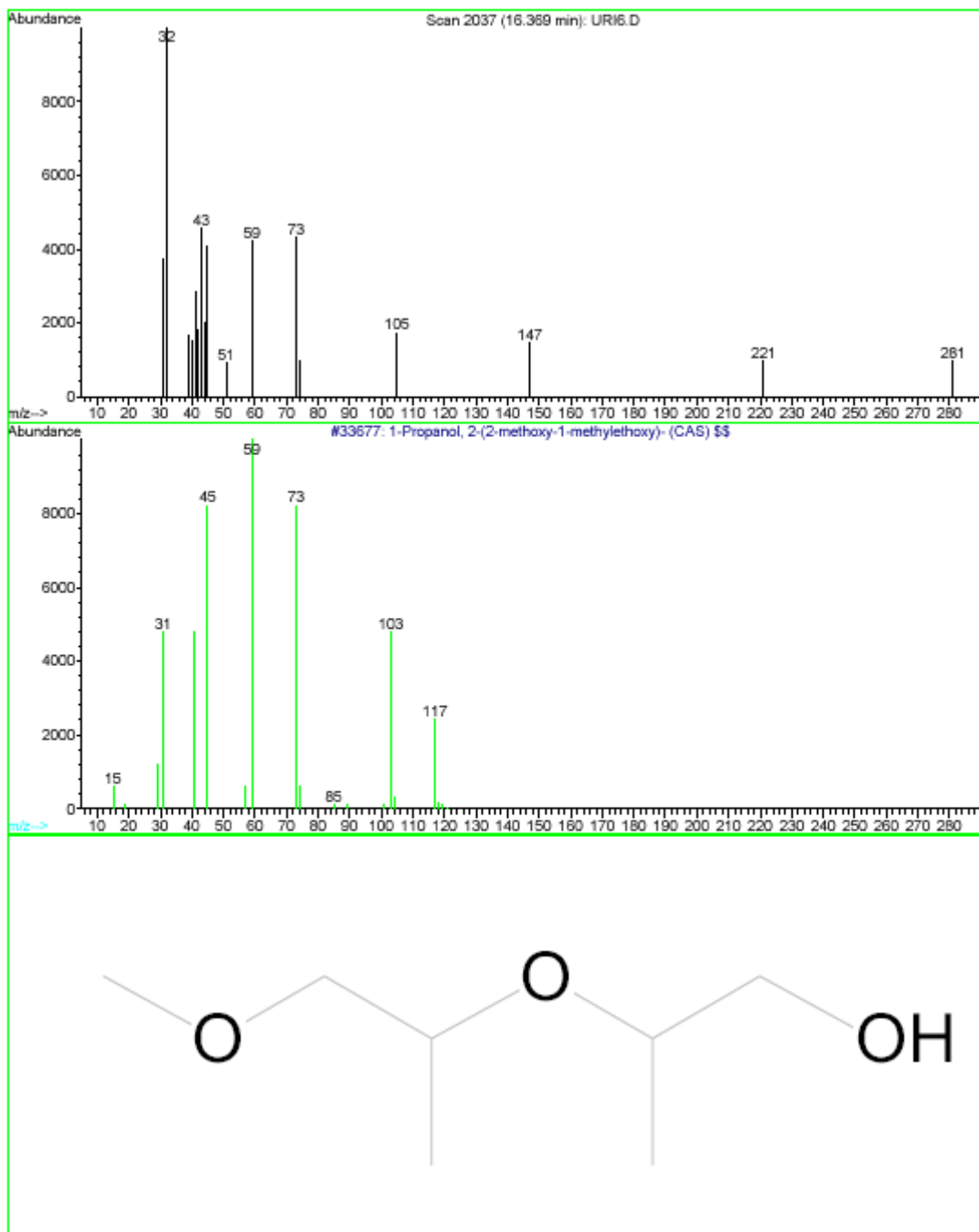


Figura 3.58 Espectro de masas que corresponde al 2-(2-metoxi-1-metiletóxi)-1-propanol.

En la figura 3.59 se observa el cromatograma obtenido para la muestra 8 empleando el método *solpemm* y observando las 3 señales pequeñas típicas de éste método entre 1.5 y 1.9 minutos de la corrida, para posteriormente dar paso a la señal que aparece en 2 minutos y que corresponde al solvente empleado que es cloroformo.

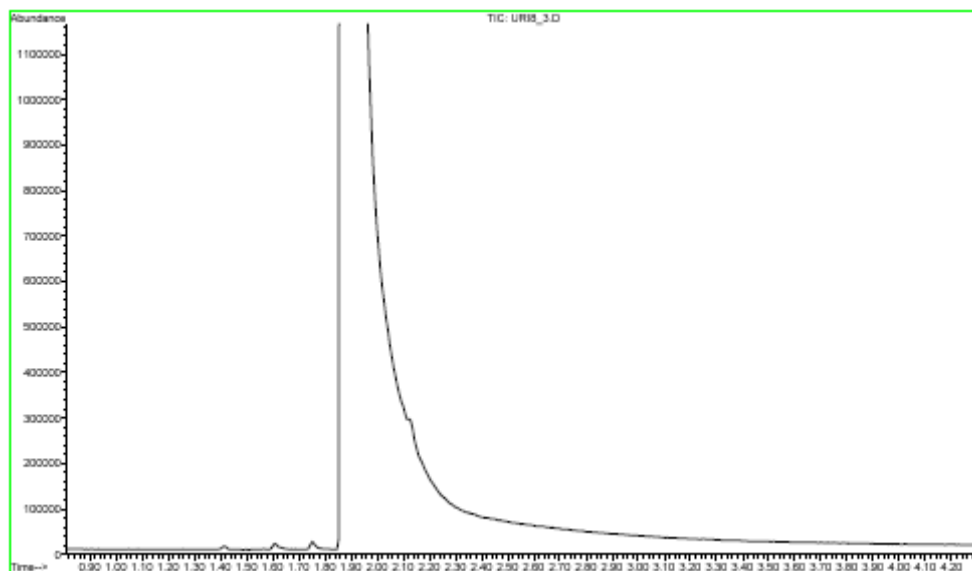


Figura 3.59 Cromatograma obtenido para la muestra 8 extraída con éter y empleando el método *solpemr*.

A continuación en la figura 3.60 se presenta el espectro de masas de la primera especie obtenida después del proceso de biodegradación, la cual es el dióxido de carbono.

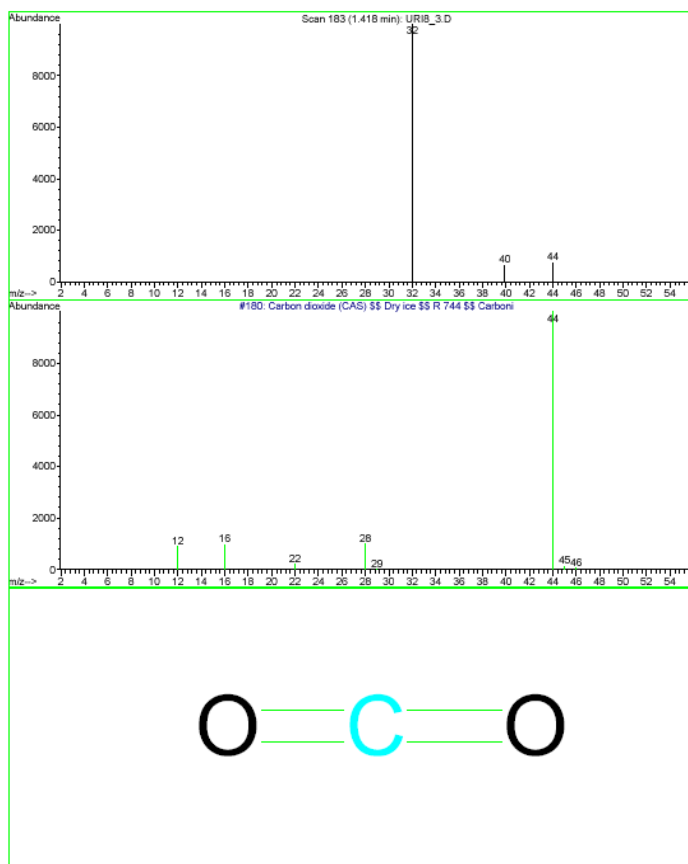


Figura 3.60 Espectro de masas correspondiente al dióxido de carbono que es subproducto de la biodegradación empleando el método *solpemm*.

En la figura 3.61 se muestra el espectro de masas correspondiente a la segunda especie encontrada empleando este método cromatográfico y que corresponde a la segunda señal encontrada en el cromatograma, esta especie es el 2-metilbuteno.

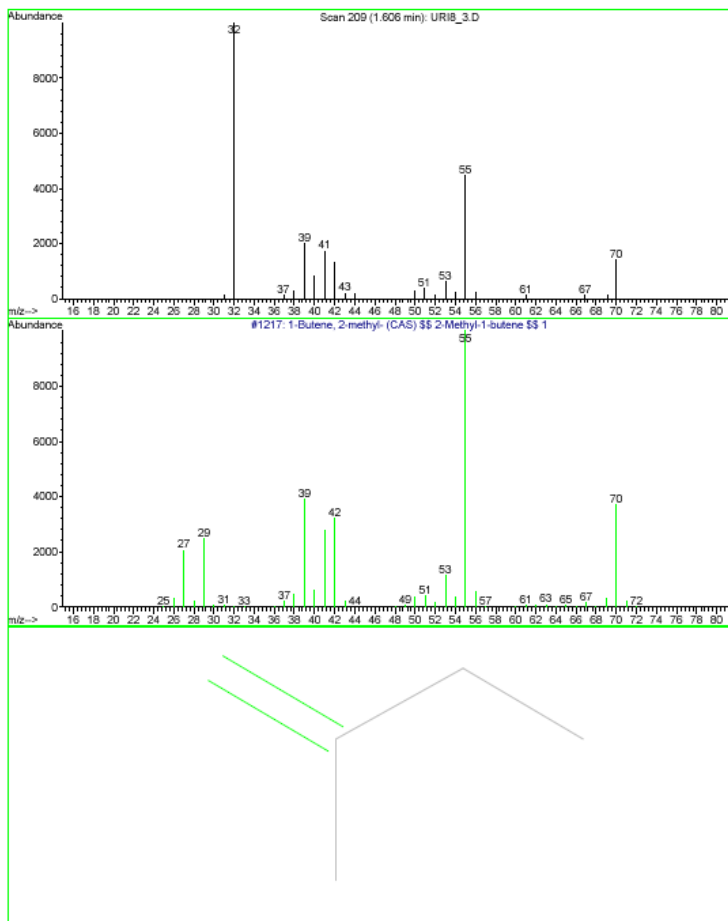


Figura 3.61 Espectro de masas correspondiente al 2-metilbuteno que es subproducto de la biodegradación empleando el método *solpemr*.

La tercera señal encontrada corresponde al dicloroetano que como ya se había mencionado anteriormente es una impureza del cloroformo.

En la figura 3.62 se observa el cromatograma obtenido para la muestra 8 extraída con cloroformo pero ahora analizada con el método *solpem*, en el cual se muestra que a los 2 minutos se obtiene la señal que corresponde al solvente empleado y aproximadamente a los 19 minutos comienza a aparecer la señal que corresponde a las especies presentes en la muestra.

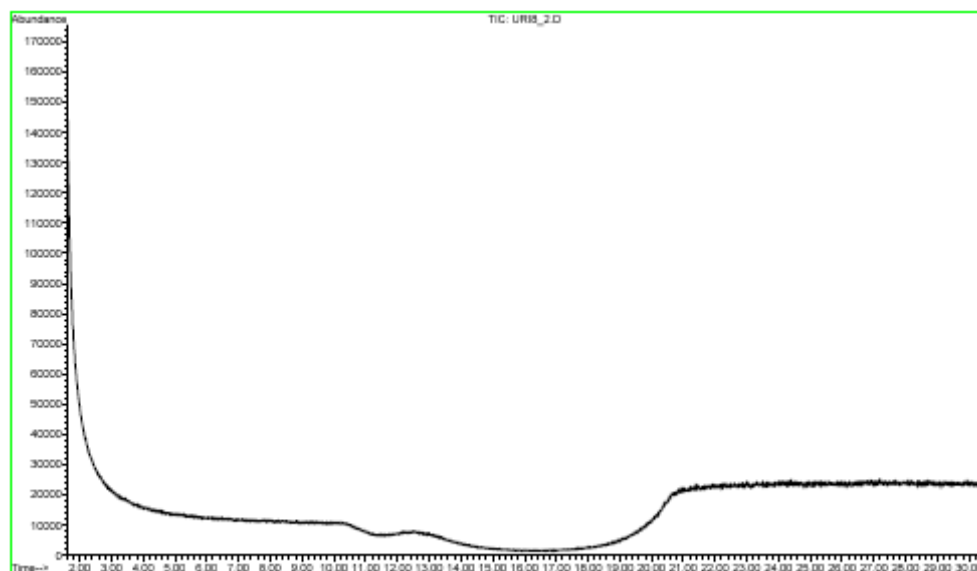


Figura 3.62 Cromatograma obtenido para la muestra 8 extraída con cloroformo y analizada por medio del método *solpem*.

A continuación en la figura 3.63 se observa el espectro de masas obtenido para el primer subproducto de la biodegradación obtenido por el método *solpem* y que corresponde a la propanoamida.

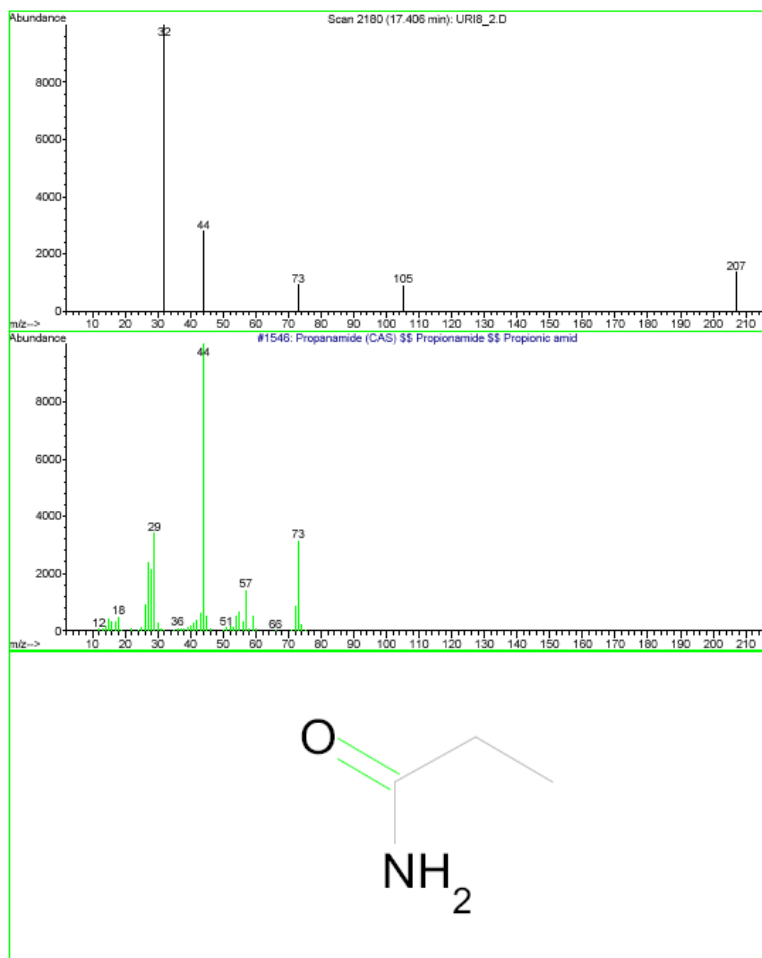


Figura 3.63 Espectro de masas correspondiente a la propanoamida en la muestra 8 por el método *solpem*.

En la figura 3.64 se muestra el cromatograma obtenido para la muestra 8 pero ahora extraída con éter por el método *solpemr* y en el cual, se muestra casi la nula aparición de señales presentes en el cromatograma, pero no quiere decir que no exista alguna especie extraída de la biodegradación como subproductos de dicho proceso.

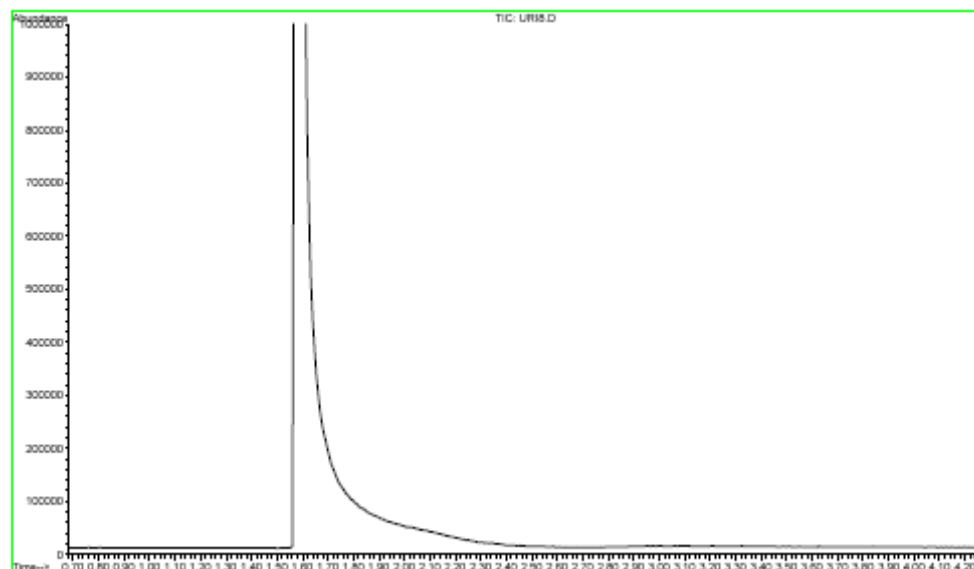


Figura 3.64 Cromatograma obtenido para la muestra 8 extraída con éter y analizada por medio del método *solpemr*.

A continuación en la figura 3.65 se muestra el espectro de masas obtenido para el propano como primer subproducto del proceso de biodegradación analizado por el método *solpemr* y extraído con éter.

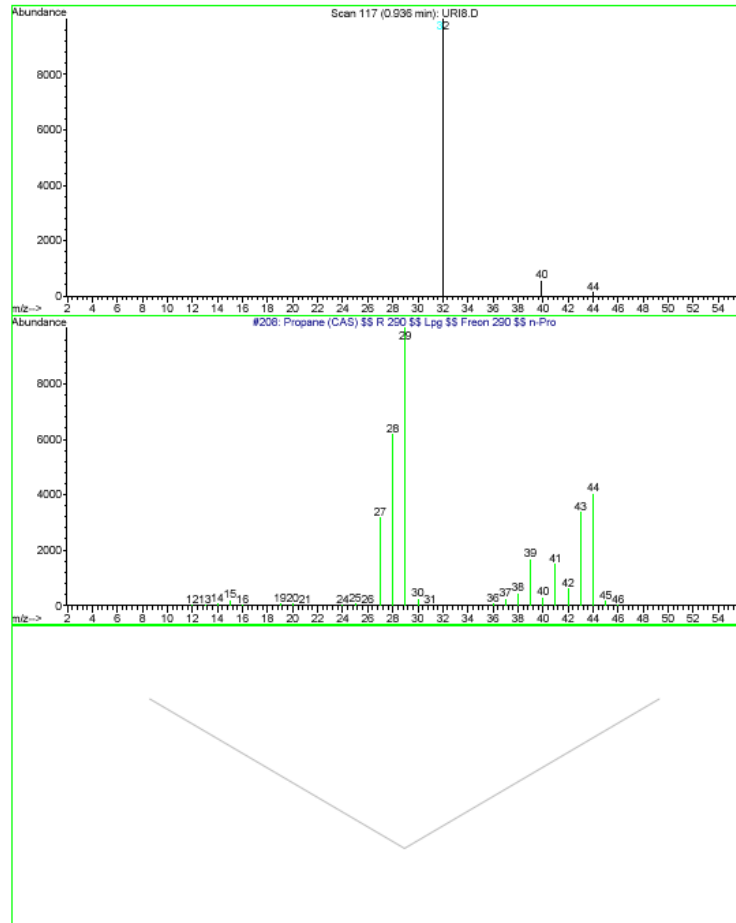


Figura 3.65 Espectro de masas correspondiente al propano obtenido por medio del método *solpemr*.

A continuación se muestra en la figura 3.66 el espectro de masas que corresponde al oxirano como segundo subproducto de la biodegradación.

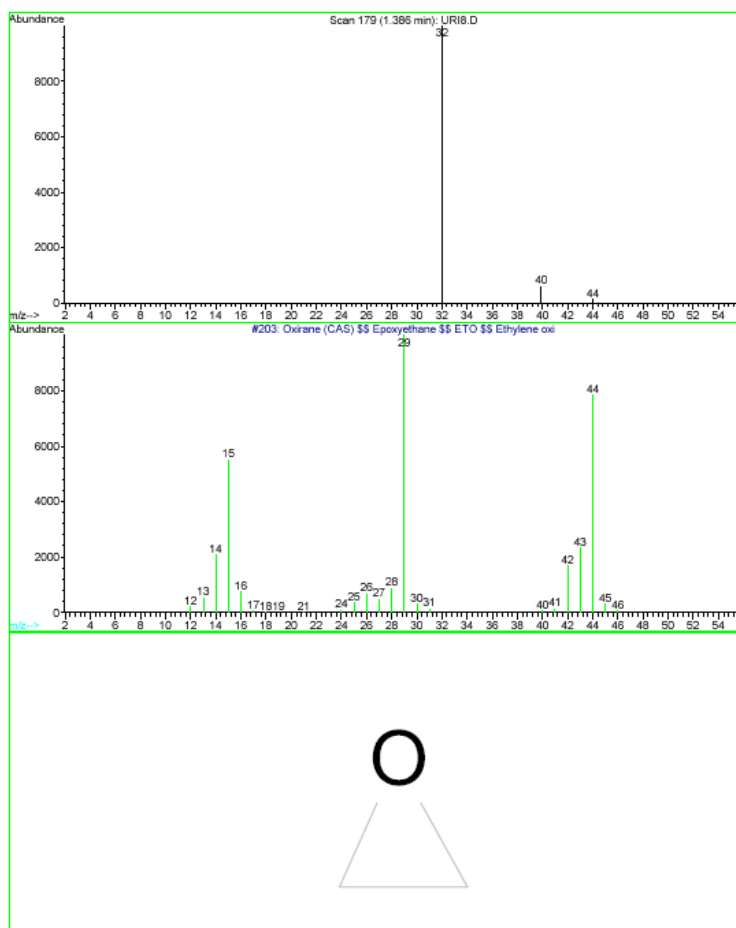


Figura 3.66 Espectro de masas correspondiente al oxirano obtenido por medio del método *solpemr*.

En la figura 3.67 se observa el cromatograma obtenido para la muestra 8 ahora analizada con el método *solpem* y extraída con éter, en el cual a los 2 minutos del tiempo de corrida se tiene la señal que corresponde al solvente y aproximadamente a los 19 minutos sale una señal la cual corresponde a una mezcla de compuestos que contienen al grupo éter.

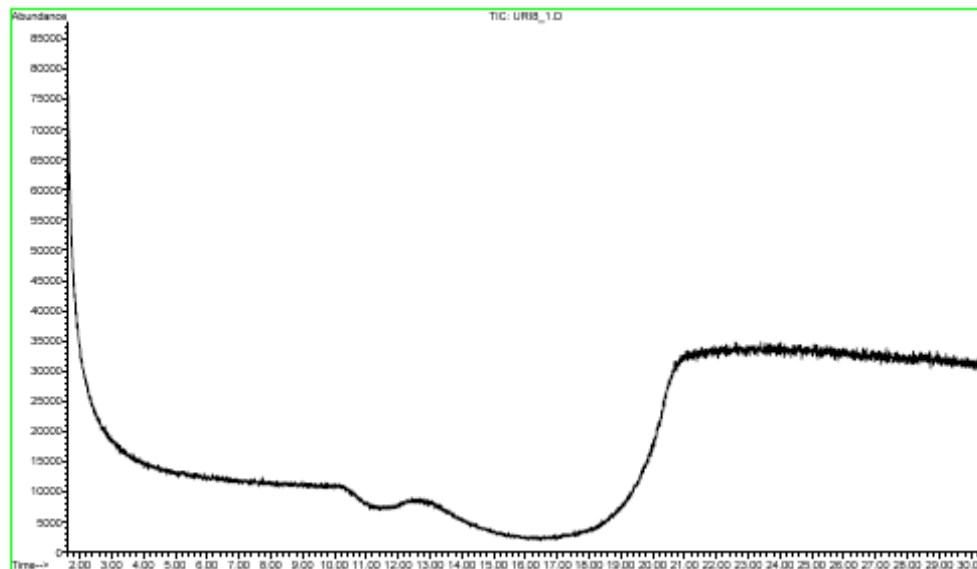


Figura 3.67 Cromatograma obtenido por el método *solpem* para la muestra 8 de los subproductos de la biodegradación.

A continuación en la figura 3.68 se muestra el espectro de masas para el primer compuesto obtenido y analizado por este método cromatográfico y que pertenece al formiato de etilo.

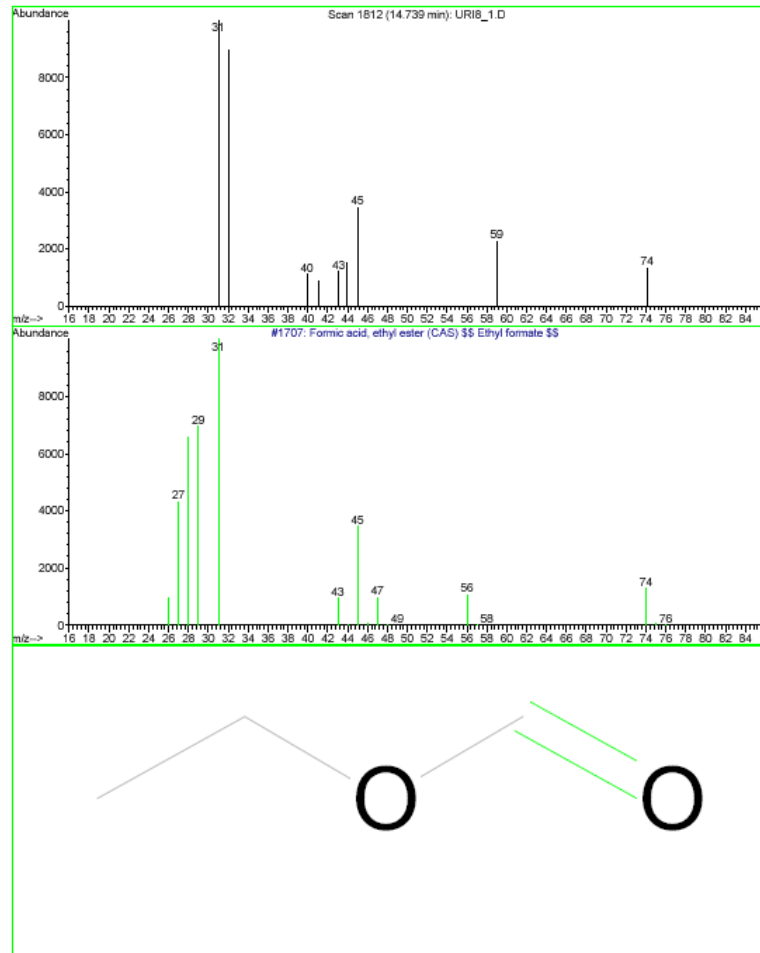


Figura 3.68 Espectro de masas obtenido para el formiato de etilo extraído con éter a través del método *sol/pem*.

En la figura 3.69 se observa el espectro de masas correspondiente a otra especie obtenida como subproducto de la biodegradación, analizada con el método antes mencionado y que corresponde al 1,2-dietoxietano.

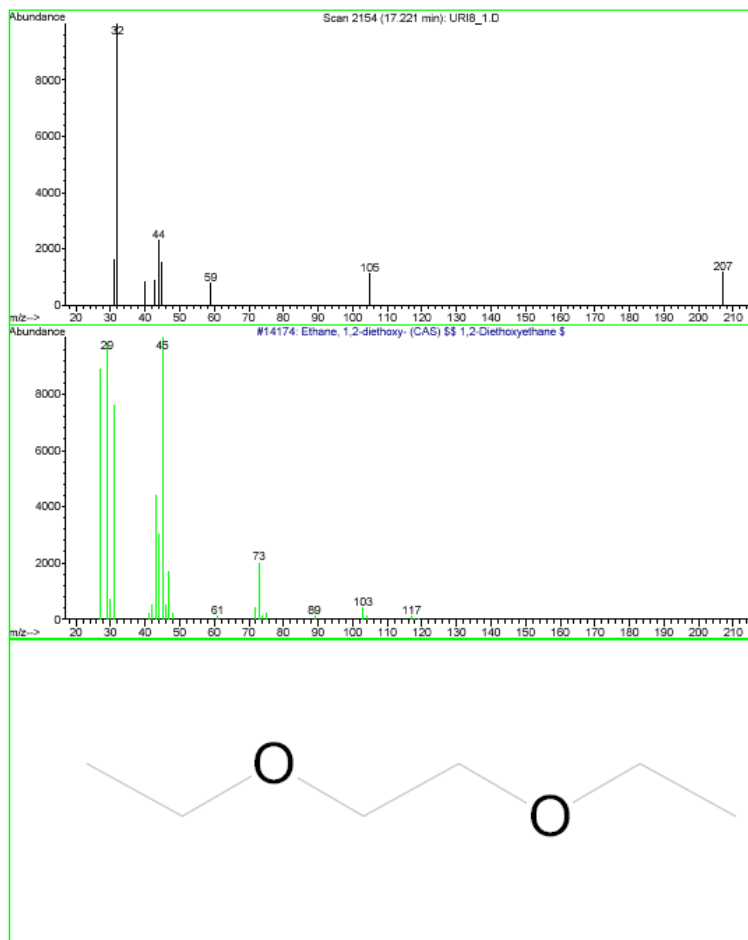


Figura 3.69 Espectro de masas obtenido para el 1, 2 - dietoxietano extraído con éter a través del método *solpem*.

En la figura 3.70 se observa el espectro de masas para otro compuesto de la familia de los éteres el cual corresponde al etoximetil oxirano

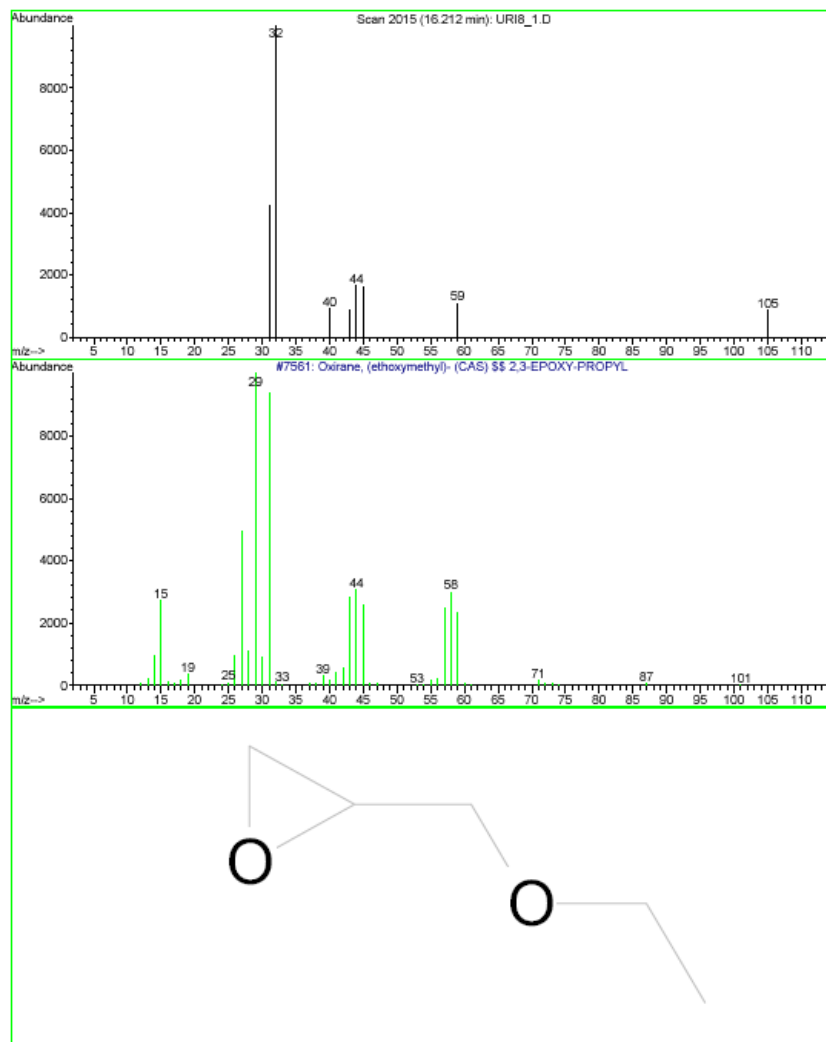


Figura 3.70 Espectro de masas obtenido para el etoximetil oxirano extraído con éter a través del método *solpem*.

Como ya se había mencionado anteriormente para comprobar que solo creció la bacteria en la muestra polimérica, se necesitaba la ayuda de un control, con el cual se verificó que en este no existió crecimiento bacteriano alguno y al cual también se le practicaron los dos métodos cromatográficos, es decir, el método *solpem* y *solpemr* y extraídos con ambos solventes los cuales fueron éter y cloroformo.

En la figura 3.71 se muestra el cromatograma obtenido para el control extraído con cloroformo con el método *solpemr* y en el cual solo se observa la señal que

corresponde al solvente sin que aparezcan otras señales que indiquen la presencia de alguna otra especie química en el control.

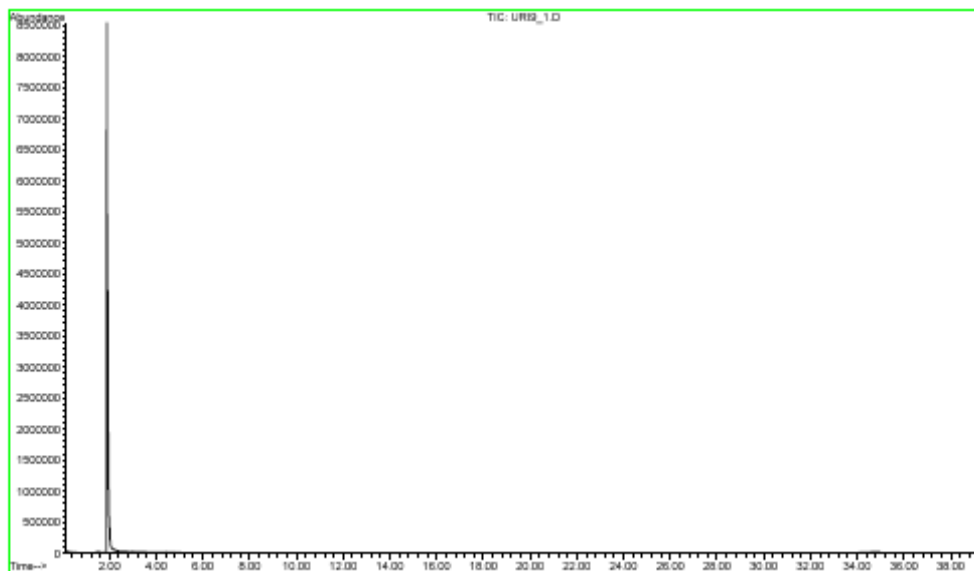


Figura 3.71 Cromatograma correspondiente al control extraído con cloroformo en el cual solo se observa la señal del solvente, este hecho con el método *solpemm*.

En la figura 3.72 se muestra el cromatograma obtenido para el control pero en esta ocasión extraído con éter con el método *solpemm* y en el cual tampoco se observa algún otro compuesto químico.

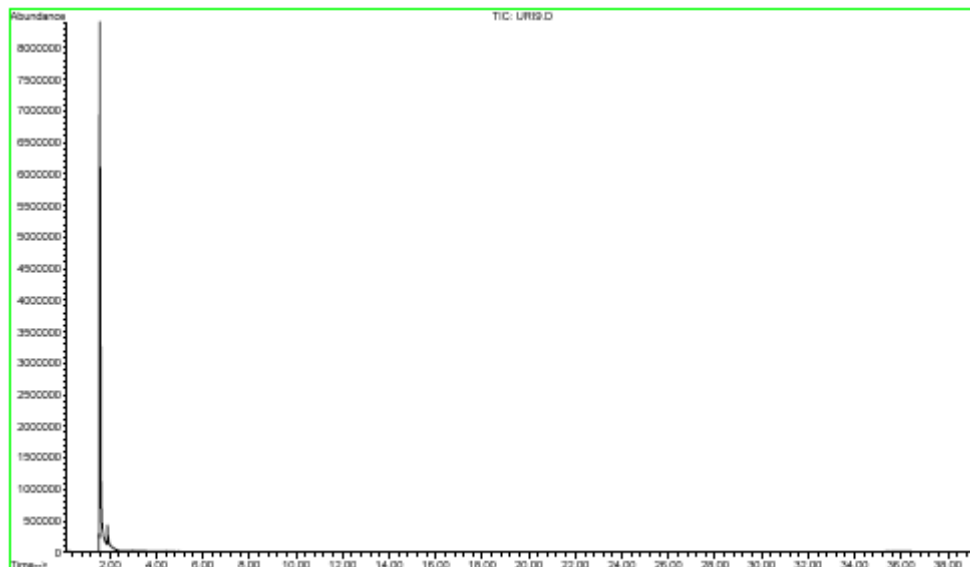


Figura 3.72 Cromatograma correspondiente al control extraído con éter en el cual solo se observa la señal del solvente, este hecho con el método solpembr.

3.9 PRUEBA DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO APLICADA A LA MORFOLOGÍA DEL POLI(TEREFTALATO DE DIETILENGLICOL)

Al haber concluido la identificación de los subproductos obtenidos por el proceso de la biodegradación se procedió a realizar la microscopia electrónica de barrido que se realizó en la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI), lo primero que se hizo fue lavarlas con agua destilada para así proceder a ponerlas en la microscopia, encontrando cambios en la superficie del material sintetizado en la muestra que se puso a biodegradar, en cambio para la muestra que se colocó como control no presentó cambio alguno ya que con esto se confirmó que no había presencia de algún microorganismo y en específico de la bacteria en estudio.

A continuación se presentan las imágenes tomadas a distintos aumentos a los materiales a los cuales se les hizo la prueba.

En la figura 3.73 se observa la imagen del material biodegradado, la cual tiene un aumento de 500 veces su tamaño real y en la cual se observan algunas agujas blancas las cuales son cristales formados en la superficie pero en la parte oscura se observa el desgaste en la morfología ya que fue biodegradada por la bacteria en estudio.

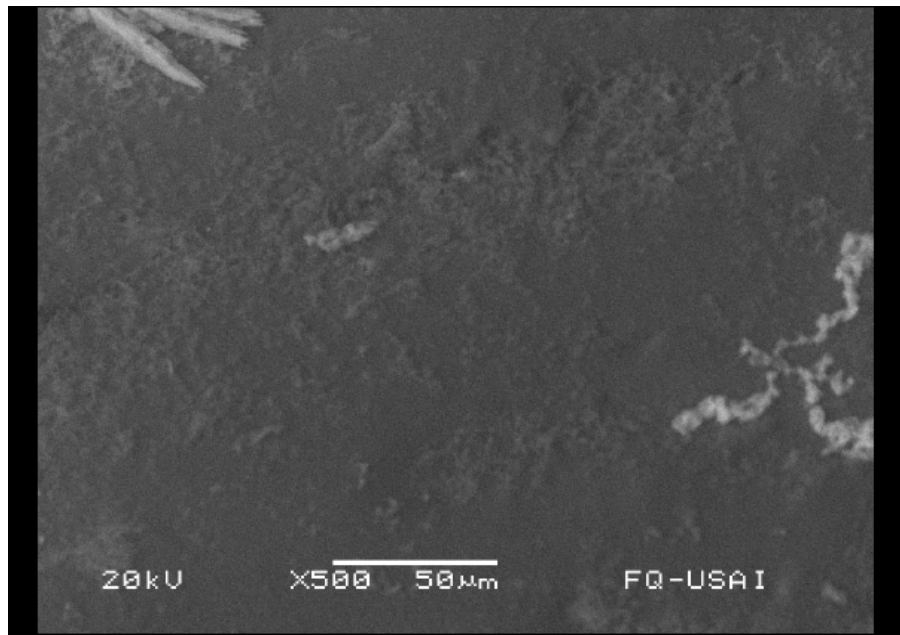


Figura 3.73 Imágenes del microscopio electrónico al poliéster biodegradado a 500 veces aumentado su tamaño real.

En la figura 3.74 se observa la imagen del poliéster biodegradado pero ahora a 2,500 veces aumentado su tamaño real y en el cual se aprecia el desgaste provocado por la acción de la bacteria que modificó la morfología del poliéster sintetizado.

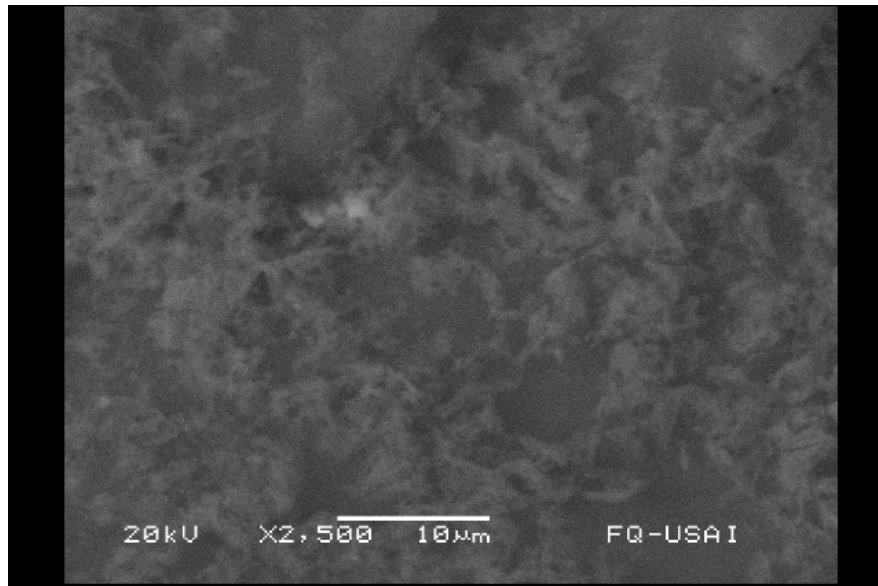


Figura 3.74 Imágenes del microscopio electrónico al poliéster biodegradable a 2,500 veces aumentado su tamaño real.

En la figura 3.75 se observa la imagen captada para el control, es decir, la muestra a la cual no se le puso ninguna concentración de bacterias y la cual fue tomada a 500 veces su tamaño real.

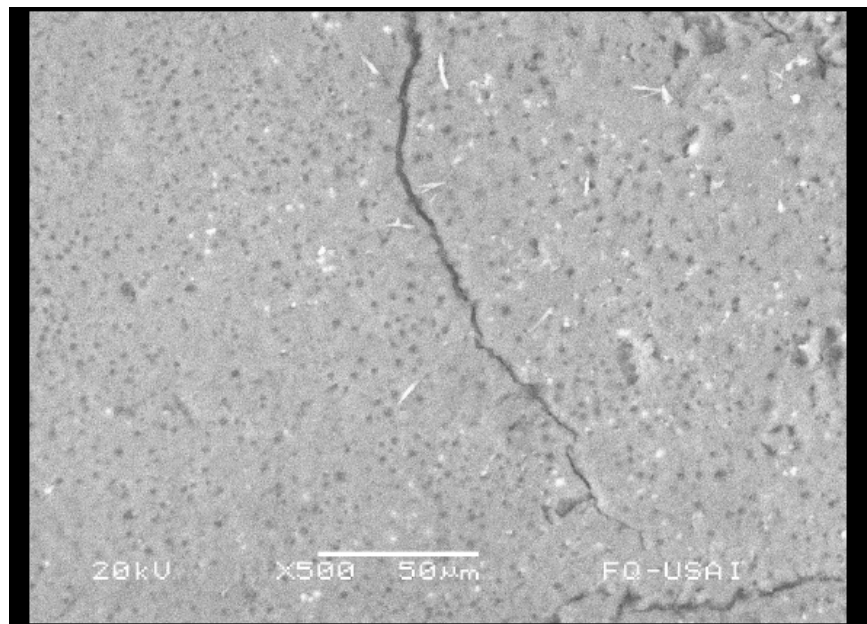


Figura 3.75 Imágenes del microscopio electrónico al poliéster sin bacterias, es decir, el control a 500 veces aumentado su tamaño real.



En la figura 3.76 se presenta la imagen con un aumento de 4,300 veces el tamaño del poliéster que sirvió como control en la cual se observa que no hubo cambios en la morfología del material, esos cráteres son los normales del material sin biodegradar.

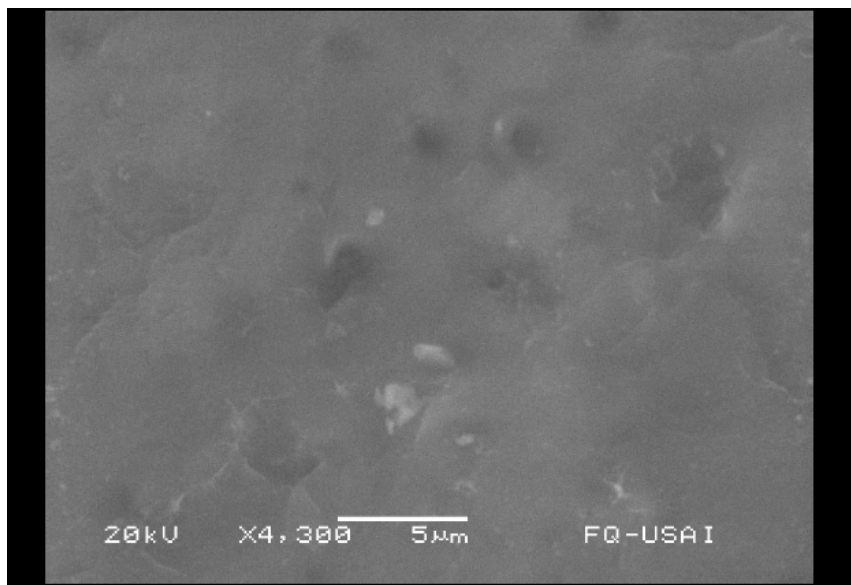


Figura 3.76 Imágenes del microscopio electrónico al poliéster sin bacterias, es decir, el control a 4,300 veces aumentado su tamaño real.

3.10 CARACTERIZACIÓN POR CROMATOGRAFÍA DE PERMEACIÓN EN GEL DEL PRODUCTO BIODEGRADADO

Una vez concluida la biodegradación, el material polimérico fue lavado y vuelto a caracterizar por cromatografía de permeación en gel observando si había existido algún cambio en el material. El cromatograma obtenido de este análisis se muestra en la figura 3.77.

Este análisis dio como resultado que el material ahora tiene un peso molecular de 4,850 g/gmol y evidentemente un corrimiento en su volumen de retención, ya que para la muestra antes de ser biodegradada fue de 6.38 y después fue de 6.40, lo que indica que el peso molecular disminuyó; además la polidispersidad es ahora de 3.039.

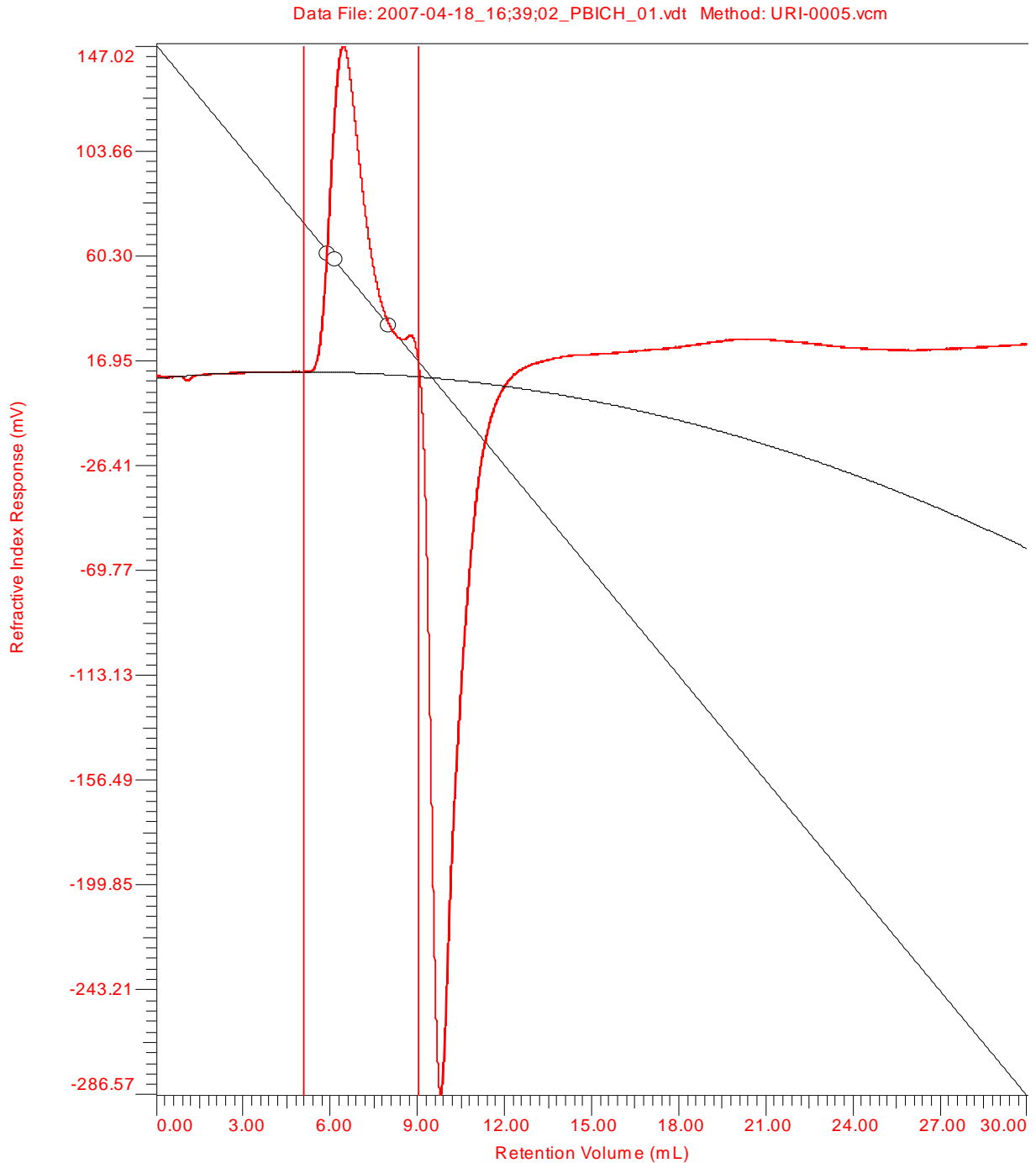


Figura 3.77. Cromatograma obtenido para la muestra después de la biodegradación.

Por otro lado es también importante hacer notar que se observa la aparición de un nuevo pico posterior al pico más grande, lo que implica que ya hay presencia de compuestos de peso molecular más pequeño que comienzan a estar presentes en la muestra, evidenciando los efectos de la biodegradación.



3.11 PRUEBA DE IGNICIÓN PARA EL POLI(TEREFTALATO DE DIETILENGLICOL) BIODEGRADADO

Al término de los 10 días se hizo la prueba de ignición a una muestra del cultivo con el poliéster con bacteria y a otra muestra con el control y con un encendedor se le prendió fuego a las dos. En la muestra que tenía bacterias se llevó a cabo el proceso de combustión que se dio de manera inmediata debido a la presencia de algunos compuestos volátiles que provocaron este fenómeno, con el cual se comprobó que efectivamente hubo descomposición del medio gracias a la bacteria formando algunos gases como subproductos de la biodegradación.

Se efectuó la misma prueba al control pero en esta no se encontró concentración alguna ya que no presentó el mismo fenómeno, lo que confirmó que no hubo ningún cambio en este sistema.



4 CONCLUSIONES

Se hizo la síntesis del poli(tereftalato de dietilenglicol) a través de 3 metodologías implementadas, donde sólo la última, es decir la marcada con el número 3 fue la que se implementó como la mejor forma de síntesis para el polímero ya que se obtenía en un tiempo menor, usando solo un catalizador y en un solo paso.

Se sintetizaron 3 poliésteres por esta metodología, los cuales tuvieron un peso molecular muy semejante y al realizarles los análisis espectroscópicos muestran los grupos funcionales característicos que están presentes en los polímeros sintetizados, cabe señalar que en el último material se obtuvo una consistencia más elástica que la de los dos materiales anteriormente sintetizados dándole un aspecto adhesivo a este poliéster; el color amarillo se conservó en los 3 materiales sintetizados por la metodología 3.

Los materiales fueron caracterizados por espectroscopia de infrarrojo y cromatografía de permeación en gel y al haber hecho el proceso de la biodegradación se utilizaron además las técnicas de cromatografía de gases y espectrometría de masas.

En la espectroscopia de infrarrojo se observa la casi nula aparición de la banda característica de los grupos -OH y el aumento en las señales tanto del carbonilo del éster así como de la señal de los grupos saturados, es decir, los metilenos poliméricos presentes en el material sintetizado.

En la cromatografía de permeación en gel se sacaron los pesos moleculares de los 3 materiales sintetizados pero tomando en cuenta solo el del mejor polímero su peso molecular antes de ser biodegradado fue de 7,914 g/gmol y el valor de la polidispersidad fue de 2.17, después de haberlo biodegradado su peso disminuyó a 4,850 g/gmol y la polidispersidad fue de 3.039.



Una vez sintetizados y caracterizados los polímeros, se procedió a llevar a cabo el proceso de biodegradación con la cepa aislada en el departamento de bioquímica, la cual lleva por nombre *Alicyclophilus sp.*, y con ella se inocularon los cultivos teniendo diferentes resultados; en el primer cultivo hubo crecimiento de la bacteria pero a su vez se contaminó con otro microorganismo que entró en competencia por las fuentes de alimento tanto de carbono como de nitrógeno.

En el segundo cultivo solo hubo crecimiento en las concentraciones menor y mayor del cultivo, por lo que se desechó este análisis.

Para el tercer caso, el crecimiento fue constante, se hicieron placas en cajas petri por 7 días tanto con medio Luria-Bertani sólido que es el que proporciona la fuente de nitrógeno y como fuente de carbono el polímero sintetizado.

Posteriormente se puso un medio mínimo en estado líquido, en el cual se colocó una muestra de poliéster en su concentración mayor y usándose tanto un control como una muestra para observar el crecimiento el que tenía la bacteria, teniendo éxito en el crecimiento de la misma, este experimento se realizó durante 10 días y en los cuales se observó la formación de un biofilm sobre la superficie del polímero lo que significó que en efecto hubo crecimiento del microorganismo sobre el material sintetizado.

Durante los 10 días que se tuvo el cultivo en crecimiento se fueron tomando alícuotas de 0.5 mL y se extraían tanto con éter así como con cloroformo para poder inyectar la mezcla de reacción en el cromatógrafo de gases y poder observar si existían subproductos del material biodegradado a través de la espectrometría de masas, sacando los respectivos espectros para los materiales encontrados durante el proceso de la biodegradación.



Una vez realizada la cromatografía de gases se encontraron los siguientes subproductos obtenidos después del proceso de biodegradación, en la tabla 4.1 se nombran dichos compuestos.

Tabla 4.1 Subproductos encontrados después del proceso de biodegradación.

propano	1-(1-metilpropoxi)-2-propanol
oxirano	2-(2-metoxi-1-metiletóxi)-1-propanol
2-metilbuteno	etanol
1-etoxi-1-metoxietano	monoetiléter del dietilenglicol
metiléter del tripropilenglicol	propanoamida
dipropilenglicol	formiato de etilo
2-(2-hidroxi-propoxi)-1-propanol	1, 2-dietoxietano
dióxido de carbono	etoximetil oxirano

Después de haber obtenido los subproductos anteriores, a la muestra que se sometió a la biodegradación y a la muestra que sirvió como control se le sacó cromatografía de permeación en gel observando que en el cromatograma biodegradado efectivamente hubo un aumento en el valor de polidispersidad que era lo que se esperaba mientras que en el no biodegradado permaneció prácticamente sin cambio alguno.

Al término del proceso de la biodegradación se extrajeron los poliésteres puestos en el cultivo del medio líquido y se les realizó un estudio de microscopia electrónica de barrido teniendo como resultado que en la muestra que se sometió a la biodegradación por la bacteria se observa el desgaste en la superficie del material formando como erupciones o huecos en el mismo, mientras que en el no biodegradado se observa una superficie sin ningún cambio de morfología.

También a las dos muestras se les realizó una prueba de flama para comprobar que efectivamente existieron subproductos de biodegradación encontrando que al prender una flama sobre el cultivo que contenía a la muestra biodegradada hubo



presencia de gases como, propano y seguramente metano que provocaron la combustión con el cerillo, mientras que en la muestra no biodegradada no hubo combustión alguna.

4.1 SUGERENCIAS

Comparar el proceso de biodegradación en poliésteres con distintas estructuras químicas, es decir, si es de la misma forma llevar a cabo el proceso en una estructura lineal con compuestos saturados o con ramificaciones en su estructura, esto para observar si el crecimiento de la bacteria es el mismo en polímeros con distintas estructuras.



5 BIBLIOGRAFÍA

1. www.monografias.com/trabajos11/polim/polim.shtml
2. Uribe, Velasco M. *“Los polímeros, síntesis y caracterización”*, Noriega Editores, 1990.
3. Armelín, Elaine Aparecida., *“Síntesis y caracterización de nuevas poliésteramidas: estudio de sus propiedades”*, Tesis de Doctorado en Ingeniería Química, UPC, 2002.
4. www.jorplast.com.br/cbipep/cbip5ep.html
5. <http://biblioteca.upc.es/PFC/arxiu/quirurgicos/migrants/34111-4.pdf>
6. Anuario de la Asociación Nacional de la Industria Química 2006.
7. McMurry, John. *“Química orgánica”*, 5ª. Edición, Internacional Thomson Editores.
8. Fessenden, Ralph J. y Fessenden, Joan S. *“Química orgánica”*, 2a. edición, Grupo Editorial Iberoamérica, 1982.
9. Pérez Lara, L.F., *“Síntesis y estudio de biodegradación de dos familias de poliuretanos de estructura conocida”*, Tesis de Maestría en Ingeniería Química, UNAM, 2005.
10. Stevens M., *“Polymer chemistry. An introduction”*, Second edition, Oxford, UK, 1990.
11. Rodríguez F., *“Principles of polymer systems”*, Second edition, McGraw Hill, 1982.
12. López Castillo, N. *“Reciclaje terciario de poli-(tereftalato de etileno). Técnicas químicas de depolimerización”*, Tesis de Maestría en Ingeniería Química, Facultad de Química, UNAM, 1995.
13. Fradet A. Tessier M., *“Synthetic Methods in Step – Growth Polymers”*, Willey Interscience. Chapter 2. 2003.
14. BIO RAD Laboratories, *“ChemWindow Spectroscopy 6.0”*, Sadtler Division, PHILADELPHIA, eeuu, 1998-1999.



15. Grubisic Z., Rempp P. and Benoit H., Vol.5: “*A universal calibration curve for gel permeation chromatography*”, Journal of Polymer Science, Part B. Polymer Letters., 1967. Pag. 573 – 738.
16. Pretsch E., Bühlmann P. and Affolter C., “*Structure determination of organic compounds. Tables of spectral data*”, Third edition, Springer, Berlin, Germany, 2000.
17. Nakajima – Kembe T., Onuma F., Kimpara N. and Nakahara T. Vol. 83: “*Determination of the polyester polyurethane breakdown products and distribution of the polyurethane degrading enzyme of Comamonas acidovorans strain TB – 35*”, Journal of Fermentation and Bioengineering, 1997.
18. Nakajima – Kembe T., Onuma F., Kimpara N. and Nakahara T. Vol. 129: “*Isolation and characterization of a bacterium which utilizes polyester polyurethane as a sole carbon and nitrogen source*”, FEMS Microbiology Letters, 1995.
19. Assubel F. M. and Coeditors, “*Current protocols in molecular biology*”, John Wiley & Sons, Vol. I, EEUU, 1997.
20. Sambrook J., Fritsch E. F. and Maniatis T., “*Molecular cloning A laboratory manual*”, 2a edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, EEUU, 1989.
21. Carrillo García, A. “*Identificación de una esterasa extracelular cuya actividad está relacionada con el crecimiento de Acinetobacter sp. en poliuretano*”, Tesis de Maestría en Ciencias Bioquímicas, Facultad de Química, UNAM, 2004.
22. www.sigmaaldrich.com
23. www.mtas.es/insht/ipcsnnp/nspn0262.htm
24. www.wonjinchem.com/product/gold/goldmain.htm
25. Chang J., Ossoff S., Lobe D., Dorfman M., Dumais C., Qualls R. and Johnson D., “*UV inactivation of pathogenic and indicator microorganisms*”, Applied and Environmental Microbiology, Vol. 49, No. 6, 1985.
26. Gritz D., Lee T., McDonell P., Shih K. and Baron N., “*Ultraviolet radiation for the sterilization of contact lenses*”, Clao Journal, Vol. 16, 1990, Pag. 294 – 198.
27. Kirk Raymond E, “*Encyclopedia of Chemical Technology*”, John Wiley., Vol. 18, pag 1006 – 1008, 1992.



APÉNDICE A⁽²⁷⁾ TÉCNICAS DE PURIFICACIÓN

A1. TEREFTALATO DE DIMETILO

En esta parte del trabajo se describe la forma en la que fue llevada a cabo la purificación del reactivo utilizado en la reacción de policondensación, el cual fue el tereftalato de dimetilo (TDM), dicha técnica consiste en la recristalización con un solvente en el cual fuera soluble, con el fin de disminuir las impurezas presentes en dicho reactivo y con ello los efectos negativos que causaba en las reacciones de síntesis del poliéster.

- Se pone una carga de 400 gramos de (TDM) en un matraz Erlenmeyer de 2000 mL.
- Se disuelve dicha cantidad en 500 mL de 2-butanona o también llamada etil-metil-cetona (EMC).
- Se eleva la temperatura hasta 80 °C en un baño María, esto debido a que la temperatura de ebullición de la (EMC) se encuentra entre 78 y 79 °C.
- Al haberse disuelto todo el sólido (TDM) se deja enfriar hasta temperatura ambiente y se observan la formación de unos cristales en forma de agujas, posteriormente se coloca el matraz en un baño de hielo para que cristalice todo la materia prima.
- Una vez enfriado el matraz, se separan los cristales a través de una filtración a vacío con ayuda de un matraz kitazato y un embudo Büchner, para eliminar el solvente del sistema.
- El solvente se recupera por medio de un proceso de destilación para volverlo a utilizar y evitar que se desperdicie.
- El (TDM) se seca y se guarda en envases de plástico para utilizarlo en el momento que se requiera.



APÉNDICE B MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

B1. PRODUCTOS Y SUBPRODUCTOS DE LA REACCIÓN DE POLICONDENSACIÓN ASÍ COMO LOS SUBPRODUCTOS DEL PROCESO DE BIODEGRADACIÓN

En esta sección del trabajo se presentan los métodos utilizados tanto en cromatografía de gases para los subproductos obtenidos de la reacción de policondensación así como los subproductos obtenidos después del proceso de biodegradación y también el método utilizado en la cromatografía de permeación de gel este para caracterizar los productos obtenidos de la reacción de policondensación así como los subproductos obtenidos del proceso de biodegradación.

B1.1 MÉTODO *GLICOL 2* DE CROMATOGRAFÍA DE GASES UTILIZADO PARA EL ANÁLISIS DE LOS PRODUCTOS OBTENIDOS DE LA REACCIÓN DE POLICONDENSACIÓN

Este método consiste de las siguientes condiciones de operación:

1. Horno

- Temperatura inicial del horno: 100 °C.
- Temperatura final del horno: 300 °C.
- Tiempo inicial de la rampa de calentamiento: 0.5 minutos.
- Cada minuto se aumentan 20 °C hasta llegar a 300 °C y se mantiene ahí por 3 minutos.
- Tiempo de corrida: 13.50 minutos.



2. Inyector

- El modo: split.
- Temperatura inicial: 250 °C.
- Presión: 2.6 psi.
- Relación del split: 100:1.
- Gas de arrastre: Helio.

3. Columna

- El tipo de columna: capilar.
- La composición: metil-fenilsiloxano.
- Temperatura máxima: 325 °C.
- Longitud de la columna: 30 metros.
- Diámetro de la columna: 250 μ
- Modo: flujo constante.
- Flujo inicial: 0.5 mL/min.

B1.2 CONDICIONES DEL MÉTODO *SOLPEM* DE CROMATOGRAFÍA DE GASES UTILIZADO PARA EL ANÁLISIS DE LOS SUBPRODUCTOS OBTENIDOS DEL PROCESO DE BIODEGRADACIÓN

Este método consiste de las siguientes condiciones de operación:

1. Horno

- Temperatura inicial del horno: 40 °C.
- Temperatura final del horno: 300 °C.
- Tiempo inicial de la rampa de calentamiento: 10 minutos.
- Cada minuto se aumentan 25 °C hasta llegar a 300 °C y se mantiene ahí por 10 minutos.



- Tiempo de corrida: 39.33 minutos.

2. Inyector

- El modo: split.
- Temperatura inicial: 250 °C.
- Presión: 14.5 psi.
- Relación del split: 100:1.
- Gas de arrastre: Helio.

3. Columna

- El tipo de columna: capilar.
- La composición: metil-fenilsiloxano.
- Temperatura máxima: 325 °C.
- Longitud de la columna: 30 metros.
- Diámetro de la columna: 250 μ
- Modo: flujo constante.
- Flujo inicial: 1.8 mL/min.

B1.3 CONDICIONES DEL MÉTODO *SOLPEMR* DE CROMATOGRAFÍA DE GASES UTILIZADO PARA EL ANÁLISIS DE LOS SUBPRODUCTOS OBTENIDOS DEL PROCESO DE BIODEGRADACIÓN

Este método consiste de las siguientes condiciones de operación:

1. Horno

- Temperatura inicial del horno: 40 °C.
- Tiempo inicial de la rampa de calentamiento: 10 minutos.



- Primera rampa de calentamiento consiste en aumentar 10 °C por minuto hasta llegar a 100 °C y permanecer ahí 5 minutos.
- Segunda rampa de calentamiento consiste en aumentar 15 °C por minuto hasta llegar a 300 °C y permanecer ahí 5 minutos.
- Tiempo de corrida: 39.33 minutos.

2. Inyector

- El modo: split.
- Temperatura inicial: 250 °C.
- Presión: 0.9 psi.
- Relación del split: 400:1.
- Gas de arrastre: Helio.

3. Columna

- El tipo de columna: capilar.
- La composición: metil-fenilsiloxano.
- Temperatura máxima: 325 °C.
- Longitud de la columna: 30 metros.
- Diámetro de la columna: 250 μ
- Modo: flujo constante.
- Flujo inicial: 0.5 mL/min.

B1.4 CONDICIONES DEL MÉTODO *POLIMERO* DE CROMATOGRAFÍA DE PERMEACIÓN EN GEL UTILIZADO PARA LA CARACTERIZACIÓN DE LOS MATERIALES POLIMÉRICOS

Las características de este método son las siguientes:

Fase móvil: Tetrahidrofurano (THF)

Flujo: 1 mL por minuto



Temperatura de la columna: 40 °C

Detector: índice de refracción y viscosidad

Temperatura del detector: 40 °C

Volumen de inyección: 100 µL

Tiempo de corrida: 30 minutos