



Centro de Investigación en Química Aplicada

**Tesis para obtener el grado de
Maestro en Tecnología de Polímeros**

**“Síntesis del Copolímero de Injerto de Estireno-
Anhídrido Maleico por NMRP en Quitosano,
usando CO₂ Supercrítico como medio de
reacción”**

Por: I.Q. Omar García Valdez

Asesor:
Dr. Enrique Saldívar Guerra

Saltillo, Coahuila

Octubre del 2010

Dedico este trabajo:

A Dios por estar conmigo a lo largo de toda mi vida y permitirme llegar hasta aquí.

A mis amados padres por todo su gran amor, enseñanzas y apoyo incondicional, por siempre estar ahí en cada momento de mi vida, son un gran tesoro para mí.

A Oscar y Lyly, su presencia es invaluable en mi vida.

A mis tíos Daniel y Marcela por abrirme las puertas de su hogar y hacerme sentir como alguien más de la familia. Gracias...

A Olga Lidia por todo su amor, comprensión, apoyo, por iluminarme cada día y ser mi más grande inspiración. Te Amo...

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para la realización de los estudios de maestría.

Al Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA) y a su director el Dr. Juan Méndez Nonell por las facilidades otorgadas a lo largo de estos 2 años.

Al Dr. Enrique Saldívar Guerra por su invaluable dirección en esta investigación así como darme la confianza de formar parte de su grupo de investigación.

Muy especialmente a la MC Diana G. Ramírez Wong por toda su paciencia, enseñanzas, regaños, apoyo técnico y moral y principalmente por su amistad a lo largo de todo este tiempo.

Al Dr. Gabriel Luna Bárcenas y la Dra. Zaira García del grupo de polímeros y biopolímeros del CINVESTAV-QRO por sus asesorías y apoyo para conocer mejor del quitosano y todas sus características.

A la Dra. Catalina Pérez de la Facultad de Ciencias Químicas de la UA de C por sus asesorías para la interpretación respecto a fenómenos de química orgánica que se presentaron a lo largo de esta investigación.

A los MC Karla Guadalupe Gutiérrez Cuevas y David Contreras López por la obtención de espectro de RMN ^1H . Al Dr. Luis Ernesto Elizalde Herrera por su colaboración e interpretación de los espectros de RMN ^{13}C CP-MAS.

A la MC Rosario Rangel Ramírez por su apoyo para la obtención e interpretación de los espectros de FT-IR.

A la MC Silvia Torres Rincón y MC Hortensia Maldonado Textle por su colaboración en la obtención de experimentos de GPC.

De igual manera a la L.C.Q. Guadalupe Méndez Padilla por su apoyo en la obtención de los análisis por TGA de los materiales obtenidos en esta investigación y a la T.L.Q. Marcelina Sánchez Adame por su apoyo en la obtención de los análisis por DSC de los materiales obtenidos.

Al Ing. Ricardo Mendoza Carrizales, MC Gladys Jaqueline Cortez Mazatán y MC Hened Saade Caballero por su apoyo en el laboratorio a lo largo de la realización de este trabajo de investigación.

A toda mi familia y amigos por todo su apoyo a lo largo de mi vida.

A todos los que colaboraron directa o indirectamente y no son mencionados aquí, gracias.

Índice General

Índice de figuras	iv
Índice de tablas	vi
Resumen	vii
Capítulo 1. Introducción	1
Capítulo 2. Antecedentes.....	3
2.1. Polímeros.....	3
2.2. Polimerización por radicales libres.....	4
2.2.1. Procesos de polimerización.....	6
2.3. Copolímeros.....	6
2.3.1. Tipos de copolímeros y su dependencia con la reactividad.....	8
2.4. Polimerización radicalica viviente-controlada.....	10
2.4.1. Principales diferencias entre FRP y CRP.....	11
2.5. Polimerización radicalica mediada por nitroxidos/NMRP.....	12
2.5.1. Nitroxidos.....	14
2.5.2. Estabilidad del enlace N-O·.....	15
2.5.3. Resonancia estructural del enlace N-O·.....	16
2.5.4. Sistema de iniciación bimolecular.....	17
2.5.5. Sistema de iniciación unimolecular/alcoxiaminas.....	18
2.6. Sales de N-Oxoamonio.....	19
2.7. Síntesis de macro iniciador a partir de sal de oxoamonio.....	21
2.8. Solvatación en fluidos supercríticos.....	22
2.8.1. Aplicaciones de fluidos supercríticos.....	24
2.8.2. Dióxido de carbono supercrítico (scCO ₂).....	24
2.8.3. Polimerizaciones en “scCO ₂ ”.....	27
2.9. Quitosano.....	28
2.9.1. Grado de desacetilación del quitosano.....	29
2.9.2. Disolución del quitosano.....	30
2.9.3. Propiedades del quitosano.....	31
2.9.4. Aplicación del quitosano.....	31
2.9.5. Reacciones de modificación al quitosano.....	32
2.9.5.1. Modificaciones al quitosano en el grupo amino.....	34
2.9.5.2. Modificaciones al quitosano en el grupo hidroxil.....	35
2.9.5.3. Quitosano en scCO ₂	36
Capítulo 3. Hipótesis y Objetivos	37
3.1. Hipótesis.....	37
3.2. Objetivos.....	37
3.3. Objetivos particulares.....	37

Capítulo 4. Desarrollo Experimental	38
4.1. Materiales y Reactivos.	38
4.2. Síntesis de la sal de bromo-hidroxi-TEMPO.....	39
4.3. Funcionalización de quitosano mediante sal de Br-OH-TEMPO.	40
4.4. Copolimerización de injerto controlado de SMA en quitosano en scCO ₂	41
4.5. Caracterización.	44
4.5.1. Espectroscopia de infrarrojo (FT-IR).	44
4.5.2. Determinación del grado de desacetilación.	45
4.5.3. Resonancia magnética nuclear (RMN).....	45
4.5.4. Análisis Termogravimétrico (TGA).	46
4.5.5. Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).....	46
Capítulo 5. Resultados y Discusión.	48
5.1. Sal de Br-OH-TEMPO.	48
5.1.1. Análisis por FT-IR de la sal de Br-OH-TEMPO.....	48
5.1.2. Análisis por ¹ H-RMN de la sal de Br-OH-TEMPO.	49
5.1.3. Análisis térmico de la sal de Br-OH-TEMPO.....	50
5.2. Funcionalización de quitosano mediante la sal de Br-OH-TEMPO.	52
5.2.1. Análisis por FT-IR del quitosano virgen y funcionalizado.	53
5.2.2. Determinación del grado de desacetilación.	55
5.2.3. Análisis por RMN de ¹ H del quitosano virgen y funcionalizado.	56
5.2.4. Análisis por RMN de ¹³ C en estado sólido.....	58
5.2.5. Análisis térmico del quitosano virgen y funcionalizado.	61
5.3. Análisis de la sal de trietilamina (Hidrobromuro de trietilamina).....	65
5.3.1. Análisis por FT-IR de la sal de TEA.	65
5.3.2. Análisis por RMN de ¹ H de la sal de trietilamina	66
5.4. Equilibrio químico entre quitosano, ácido acético y trietilamina.	67
5.4.1. Disolución de quitosano en ácido acético y su pH	67
5.4.2. Adición de trietilamina como especie intermediaria/captor de protones al medio de reacción.....	69
5.4.3. Adición de la sal de Bromo OH-TEMPO.....	70
5.5. El rol de la trietilamina	72
5.6. Quitosano-g-SMA-OH TEMPO.....	74
5.6.1. Análisis por FT-IR del quitosano-g-SMA-TEMPO.....	76
5.6.2. Análisis por RMN de ¹³ C CP MAS del Quitosano-g-SMA-TEMPO.....	78
5.6.3. Análisis térmico del Quitosano-g-SMA-TEMPO.....	79
5.6.4. Determinación de peso molecular.	80

Capítulo 6. Conclusiones y Trabajo a Futuro.....	82
6.1. Conclusiones.....	82
6.2. Trabajo a futuro.	83
Anexo I.....	84
Referencias	89

Índice de figuras

Figura	Nombre	Página
2.1	Átomo que se convierte en radical	4
2.2	Copolímero al azar	8
2.3	Copolímero alternado	9
2.4	Copolímero en bloque	9
2.5	Copolímero de injerto	9
2.6	Mecanismo de polimerización mediada con grupos nitroxido (NMRP)	13
2.7	Nitroxidos comúnmente utilizados en NMRP	15
2.8	Resonancia estructural del enlace N-O·	16
2.9	Sistema de iniciación bimolecular (estireno, TEMPO, BPO)	18
2.10	Sistema de Iniciación Unimolecular	19
2.11	Estructura de sal de oxoamonio	19
2.12	Aniones comunes de una sal de oxoamonio (X ⁻): Cl ⁻ , Br ⁻ , Br ₃ ⁻ , ClO ₄ ⁻ , BF ₄ ⁻ , NO ₃ ⁻ , ClO ₂ ⁻ , SbF ₆ ⁻ . Otros sustituyentes (D): H, OH ⁻ , O	20
2.13	Mecanismos de oxidación de alcoholes por sales de oxoamonio en diferentes medios de reacción	20
2.14	Mecanismo de funcionalización de sílice mediante sales de oxoamonio (bromo- TEMPO) y su uso en la polimerización de injerto controlado del copolímero de poli (estireno-co-anhídridomaleico)	21
2.15	PDMS-b-PS sintetizado por Ramírez-Wong y col	22
2.16	Diagrama de fases de una sustancia pura	23
2.17	Interacciones moleculares entre polímeros y monómeros y los fluidos supercríticos	23
2.18	Interacciones débiles del CO ₂ con diferentes grupos químicos: a) éter, b) carbonilo, c) anillo aromático	26
2.19	Estructuras de a) Quitina y b) Quitosano	28
2.20	Reacción de desacetilación de la quitina	29
2.21	Polaridad y reactividad de la amina primaria del quitosano	33
2.22	Mecanismo de reacción de la amina del quitosano como nucleófilo a), y b) como base	33
2.23	“Chitosan N-phtaloyl”	34
2.24	MPEG-g-Quitosano	34
2.25	Quitosano-N-poli(etilenglicol)	35
2.26	CTS/GMA	35
2.27	(CTS-g-GMA)-g-PMMA	35
2.28	Quitosano-graft-policaprolactona	36
2.29	Quitosano-formaldehido	36
4.1	Mecanismo de reacción de la sal de Br-OH-TEMPO	39
4.2	Reacción de funcionalización del quitosano por la sal de oxoamonio	40
4.3	Celda de alta presión	41
4.4	Fotografía de la celda de alta presión	42
4.5	Reacción de copolimerización de injerto del quitosano	43

5.1	Espectro de FT-IR de la Sal de Bromo-OH-TEMPO	49
5.2	RMN de ¹ H de Sal de Br-OH-TEMPO	50
5.3	Curva de TGA de la Sal de Br-OH-TEMPO	51
5.4	Curva de DSC de la Sal de Br-OH-TEMPO	51
5.5	Estado de los sustituyentes del quitosano al ser solubilizado	52
5.6	Espectro de FT-IR del quitosano virgen	53
5.7	Espectro de FT-IR del quitosano funcionalizado	54
5.8	Espectro de FT-IR del quitosano virgen, en absorbancia, para el cálculo del GD%	55
5.9	Espectro de RMN de ¹ H de quitosano virgen	57
5.10	Espectro de RMN de ¹ H de quitosano funcionalizado	57
5.11	Espectro de RMN de ¹³ C CP MAS de quitosano virgen.	59
5.12	Espectro de RMN de ¹³ C CP MAS de quitosano funcionalizado	60
5.13	Curva de TGA del quitosano virgen	61
5.14	Curva de TGA del quitosano funcionalizado	62
5.15	Curva de DSC del quitosano virgen	63
5.16	Curva de DSC del quitosano funcionalizado	63
5.17	Espectro de FT-IR de la sal de TEA	65
5.18	Espectro de RMN de ¹ H de la sal de TEA.	66
5.19	Comportamiento de la concentración de [H ₃ O ⁺] y [OH ⁻] al momento de la Solubilización del quitosano (1), la adición de la TEA (2) y la adición de la sal de Br-OH-TEMPO (3)	71
5.20	Mecanismo de reacción propuesto para la funcionalización del quitosano	72
5.21	Oxidación del grupo OH del quitosano mediante la sal de Bromo-OH-TEMPO en ausencia de TEA	73
5.22	Espectro de RMN ¹³ C CP MAS del quitosano oxidado mediante la sal de Br-OH-TEMPO	73
5.23	Espectro de FT-IR del quitosano virgen (a) y quitosano-g-SMA-OH-TEMPO (b), comparación entre ambos	77
5.24	Espectro de RMN de ¹³ C CP MAS del quitosano-g-SMA-TEMPO	78
5.25	Curva de TGA del Quitosano-g-SMA-TEMPO	79
5.26	Curva de DSC del Quitosano-g-SMA-TEMPO	80

Índice de tablas

Tabla 2.1 Comparación de valores típicos de propiedades físicas de gases, fluidos supercríticos y líquidos, donde ρ , η y D son la densidad, la viscosidad y la difusividad, respectivamente..... 24

Tabla 2.2 Propiedades críticas de diversos disolventes..... 25

Tabla 2.3 Propiedades físicas de diversos disolventes, donde α , μ y Q son la polarizabilidad, el momento dipolo y el momento cuadripolo respectivamente..... 26

Resumen

El desarrollar “materiales híbridos”, es una prioridad para muchos investigadores debido a las nuevas propiedades y potenciales usos y aplicaciones, una de ellas es en el área biológica, especialmente con polímeros y biopolímeros con grupos funcionales característicos. En éste ámbito se tiene al “quitosano” que es un biopolímero que presenta extraordinarias biodegradabilidad y biocompatibilidad con el cuerpo humano, además de actividad antibacteriana y nula toxicidad, además presenta una solubilidad limitada a medios acuosos ácidos ($\text{pH} < 6.5$), y que ha sido empleado con gran eficiencia y altos rendimientos en el área biomédica y farmacéutica, y que es comúnmente modificado con diversos grupos químicos en sitios específicos de la molécula. Debido a lo anterior, se planteó la posibilidad de funcionalizar el quitosano con el 4-hidroxi-TEMPO mediante una reacción de funcionalización en medio acuoso a partir de una sal de n-oxoamonio. Posteriormente, partiendo del quitosano funcionalizado, en presencia de monómeros polares se planteó incorporar copolímeros de injerto de estireno-co-anhídrido maleico en forma controlada mediante la polimerización mediada por nitróxidos, en dióxido de carbono supercrítico como medio de reacción, esperando que este nuevo material posea potenciales aplicaciones dentro del campo biomédico y farmacéutico.

Se sintetizó con éxito una sal de bromo hidroxi-TEMPO (sal de n-oxoamonio), comprobando su estabilidad química, la cual fue utilizada para funcionalizar el quitosano en presencia de trietilamina (TEA) en un medio acuoso ácido. El éxito de la reacción de funcionalización depende en gran medida de mantener un pH bajo, lo cual se consigue con un monitoreo preciso del pH durante la adición de los reactivos y a lo largo del tiempo de reacción. El quitosano funcionalizado con grupos nitróxido tiene la capacidad de actuar como macroiniciador. La reacción de copolimerización se llevó a cabo en dióxido de carbono supercrítico (scCO_2) como medio de reacción, el cual es un disolvente que presenta nula toxicidad y flamabilidad y es químicamente inerte; posee baja viscosidad, alta tasa de difusión y baja tensión superficial. Llevar a cabo la funcionalización en medio acuoso y la copolimerización en scCO_2 , además de ser una tecnología benigna con el medio ambiente, ofrece una alternativa ventajosa con respecto al uso de solventes orgánicos, evitando procesos posteriores de purificación del producto.

Capítulo 1. Introducción

En la actualidad, el desarrollar “materiales híbridos”, es una prioridad para muchos investigadores debido a que estos materiales poseen nuevas propiedades debidas principalmente a la sinergia de los compuestos utilizados en su síntesis, con potenciales usos y/o aplicaciones en la óptica, electrónica y muy ampliamente en el área biológica, especialmente con polímeros y biopolímeros con grupos funcionales característicos.

Simultáneamente, la preocupación por los problemas ecológicos que atraviesa nuestro planeta, ha enfocado la atención de las industrias y grupos de investigación hacia los polímeros naturales o biopolímeros, ya que son más versátiles y biodegradables que sus contrapartes sintéticas, conjuntándose con procesos que impliquen la reducción o eliminación de productos químicos peligrosos y sean amigables con el ambiente.

Enfatizando en los biomateriales y sus aplicaciones, se tiene que el “quitosano” es un biopolímero que presenta extraordinarias biodegradabilidad y biocompatibilidad con el cuerpo humano, además de actividad antibacteriana y nula toxicidad, por lo cual ha sido empleado con gran eficiencia y altos rendimientos en el área biomédica y farmacéutica, agricultura o en la industria del papel, por mencionar algunos ejemplos.

Para aprovechar dichas propiedades del quitosano, éste es comúnmente modificado con diversos grupos químicos en sitios específicos de la molécula. La presencia de grupos amina en la cadena polimérica ha hecho del quitosano uno de los materiales más versátiles que se estudian desde hace ya algún tiempo, por la posibilidad de realizar una amplia variedad de modificaciones, tales como la reacciones de anclaje de enzimas, reacciones de injerto, obtención de películas entrecruzadas, etc.

En este trabajo de investigación se propone la modificación del quitosano con la incorporación de injerto de polímero de estireno-*co*-anhídrido maleico en forma controlada utilizando la química de nitróxidos, en los grupos hidroxilo (-OH) presentes a lo largo de la cadena del biopolímero, mediante una previa reacción de funcionalización. La reacción de funcionalización es llevada a cabo en un medio acuoso ácido, y la reacción de copolimerización de injerto, es llevada a cabo en dióxido de carbono supercrítico (scCO₂). Este último, es considerado un solvente inflamable, inerte, de bajo costo y baja toxicidad,

además de una elevada pureza. El llevar a cabo estas reacciones en los medios mencionados que son benignos al ambiente y a la salud, nos permite conservar el quitosano en un ambiente limpio y no tóxico, para posibles aplicaciones en el área biomédica.

Capítulo 2. Antecedentes

El quitosano es un biopolímero muy atractivo desde el punto de vista científico e industrial por sus aplicaciones potenciales, es factible de modificaciones a lo largo de su cadena debido a la funcionalidad y reactividad de sus sustituyentes. Existen diversos pasos de síntesis para modificarlo, pero tal vez el más exitoso en aplicaciones es aquel donde una cadena de polímero se incorpora (polímero de injerto) covalentemente a la cadena del quitosano.

La química de nitróxidos nos permite funcionalizar sustratos poliméricos con grupos nitróxido y a partir de estos, crecer injertos poliméricos y controlar su crecimiento. Dichos injertos los cuales pueden contener grupos polares o reactivos como el anhídrido maleico, y el utilizar cadenas de polímeros de tamaño uniforme nos permitirá controlar, determinar y conocer mejor las propiedades de un quitosano modificado.

A continuación se describe el estado del arte sobre las modificaciones al quitosano con diferentes grupos funcionales y con injertos de polímeros, y se describe el gran potencial del quitosano a ser modificado vía polimerización controlada mediada con nitróxidos de una forma “verde”, es decir, evitando al mínimo el contacto del quitosano con solventes orgánicos durante su modificación. Finalmente se describe la eventual aplicación del nuevo material.

2.1. Polímeros.

Dentro del campo de los polímeros, existen los “polímeros sintéticos” y los “polímeros naturales o biopolímeros”. Según George Odian[1], un polímero es definido como la unión química de un gran número de moléculas pequeñas, llamadas monómeros, y las reacciones en donde estas moléculas son combinadas y unidas son referidas como polimerizaciones. Los biopolímeros son una especie de polímeros producidos por organismos vivientes, tales como las proteínas, celulosa, ADN y quitina, en los cuales su unidad repetitiva pueden ser azúcares, aminoácidos o nucleótidos.

2.2. Polimerización por radicales libres.

Un radical libre puede ser definido como un átomo con un electrón desapareado (electrón impar o electrón radica)[2]. Estos radicales son deficientes porque no alcanzan el octeto. Los electrones impares se combinan rápidamente con un electrón de otro átomo para formar un enlace.

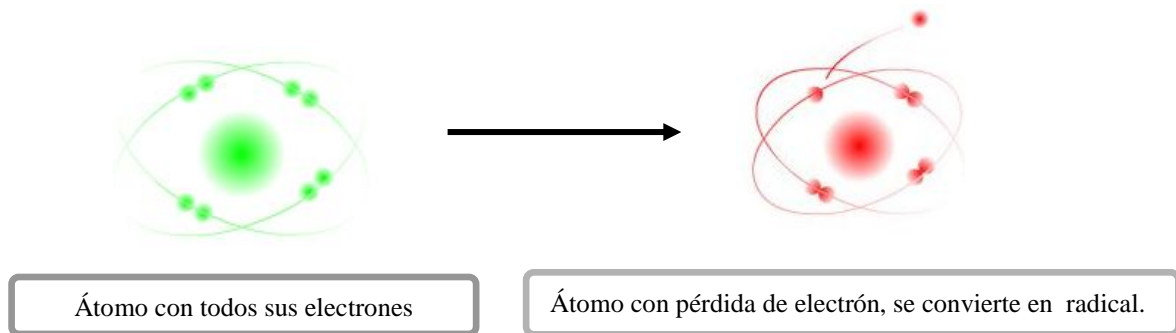


Figura 2.1 Átomo que se convierte en radical

Los monómeros que contienen dobles enlaces (monómeros vinílicos), pueden polimerizar en presencia de peróxidos, en condiciones en que éstos puedan generar radicales libres. El proceso de polimerización por radicales libres [3] (FRP, por sus siglas en inglés) es determinado por la adición de estos últimos al doble enlace presente en los monómeros vinílicos, y son tres etapas lo que determinan la polimerización:

- a) Iniciación.
- b) Propagación.
- c) Terminación.

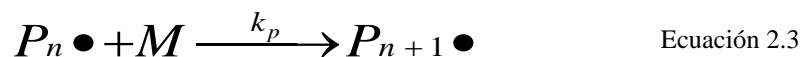
Cabe mencionar que puede ocurrir en algunas ocasiones una reacción llamada “reacción de transferencia”, que representa un desplazamiento de radicales.

a) Iniciación: En donde se forma un radical libre e inmediatamente se produce la fijación de este a una molécula de monómero, los radicales son capaces de iniciar la polimerización, La iniciación se ve representada por las siguientes reacciones:



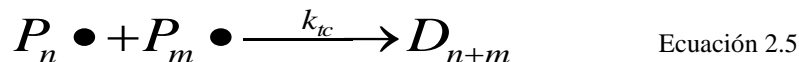
donde “I” representa el iniciador, “R•” es el radical formado, “M” el monómero, “P” el monómero con radical, f es la eficiencia del iniciador, k_d es la constante de descomposición del iniciador y k_i es la constante de iniciación.

b) Propagación: Esta etapa consiste en que las moléculas de monómero son adheridas con otro monómero después de la reacción de iniciación, como se representa a continuación:



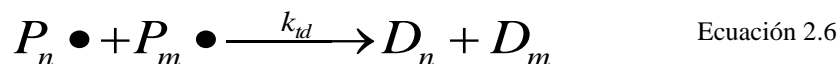
donde k_p es la constante de propagación.

c) Terminación: Existen dos tipos de terminación que son: terminación por combinación y terminación por desproporción. La *terminación por combinación* sucede cuando los electrones dispares de dos radicales en crecimiento se combinan de nuevo para formar un enlace covalente.



donde K_{tc} es la constate de velocidad para la terminación por combinación.

La *terminación por desproporción* sucede cuando el hidrógeno final de uno de los dos radicales en crecimiento y su electrón libre se fijan sobre el segundo radical.



K_{td} es la constante de velocidad para la terminación por desproporción.

Las reacciones de transferencia son las reacciones que producen igualmente la destrucción de un radical en crecimiento, pero, al contrario de las reacciones de terminación, ellas dan nacimiento a otro radical, capaz en ciertos casos, de reaccionar con el monómero, es una reacción de desplazamiento del radical.

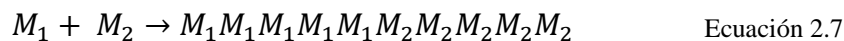
2.2.1. Procesos de polimerización.

Existen esencialmente cuatro procesos de polimerización que pueden ser en masa, solución, suspensión y emulsión.

La polimerización en masa se presenta cuando en una reacción sólo el monómero y posiblemente el iniciador son utilizados. El polímero que se obtiene es más puro y tiene algunas ventajas en la adsorción de aditivos porque no está contaminado. El proceso de polimerización en solución es aquel donde el monómero, el iniciador y un solvente están presentes. Una polimerización en emulsión está definida como una dispersión coloidal de partículas de polímero en un medio acuoso, es decir, el monómero se emulsifica, quedando estabilizado por un tensoactivo durante todo el proceso de la polimerización, formando un látex. La polimerización en suspensión tiene por características generales que los monómeros son escasamente solubles en agua, por lo tanto el iniciador debe ser soluble en la fase orgánica.

2.3. Copolímeros.

Cuando se polimerizan dos o más monómeros diferentes se obtiene un copolímero. El proceso de polimerización para la obtención de un copolímero (copolimerización) es generalmente representado de la siguiente manera:[1]



La constitución de la cadena de copolímero depende de los monómeros y su reactividad y de la concentración relativa en que se encuentren al momento de la reacción [3]. El mecanismo seguido en la copolimerización es análogo al de homopolimerización, pero es importante considerar la reactividad de los monómeros. Se ha propuesto un modelo de copolimerización terminal, que determina la composición de los copolímeros asumiendo que la reactividad química de la cadena en propagación depende solamente del tipo de unidad monomérica al final de la cadena. En este caso, para la copolimerización de dos monómeros, M1 y M2, serían posibles cuatro reacciones de propagación que se asumen irreversibles.[1]



Definiéndose así:

- ∅ k_{11} es la constante de velocidad de propagación para una cadena de polímero terminando en M_1 a la que se adiciona una unidad de M_1 .
- ∅ k_{12} es la constante de velocidad de propagación de una cadena de polímero terminado en M_1 a la que se adiciona una unidad de M_2 .
- ∅ k_{21} es la constante de velocidad de propagación para una cadena de polímero terminando en M_2 a la que se adiciona una unidad de M_1 .
- ∅ k_{22} es la constante de velocidad de propagación de una cadena de polímero terminado en M_2 a la que se adiciona una unidad de M_2 .

Las ecuaciones 2.8 y 2.11 se denominan reacciones de homopropagación o de autopropagación, mientras que las ecuaciones 2.9 y 2.10 se denominan reacciones de propagación cruzada. La composición del copolímero, $d[M_1]/d[M_2]$, es determinada por la siguiente ecuación [1]:

$$\frac{d[M_1]}{d[M_2]} = \frac{M_1(r_1[M_1] + [M_2])}{M_2([M_1] + r_2[M_2])} \quad \text{Ecuación 2.12}$$

donde la relación molar de los dos monómeros en el copolímero es función de sus concentraciones en la alimentación, $[M_1]$ y $[M_2]$, y sus relaciones de reactividad, r_1 y r_2 , estas últimas son definidas como:

$$r_1 = \frac{k_{11}}{k_{12}} \quad \text{Ecuación 2.13}$$

$$r_2 = \frac{k_{22}}{k_{21}} \quad \text{Ecuación 2.14}$$

Los valores de r_1 y r_2 pueden tomar valores mayores o menores que la unidad. Si r_1 es menor que la unidad indica que M_1 reacciona más rápido que con M_2 que con M_1 , mientras que si resulta mayor que la unidad, indica que M_1 reacciona preferentemente con M_1 . Si r_1 es igual a cero, significa que M_1 es incapaz de homopolimerizar.[1]

2.3.1. Tipos de copolímeros y su dependencia con la reactividad.

Como se ha mencionado con anterioridad, la constitución de los copolímeros depende de su relación de reactividad. Se ha establecido que según sea el valor resultante del producto de las dos relaciones de reactividad (r_1*r_2), se presentan tres diferentes tipos de copolimerización [1]:

*Copolimerización al azar: $r_1*r_2= 1$*

La copolimerización ideal ocurre cuando los dos tipos de especies propagantes, $M_1\bullet$ y $M_2\bullet$, muestran la misma preferencia para adicionarse a cualquiera de los dos monómeros y, las velocidades relativas de incorporación son independientes de la identidad de la unidad al final de las especies en propagación. Bajo esta condición, los dos monómeros muestran reactividades iguales hacia ambas especies en propagación. En este caso la composición del copolímero resulta en llamado “copolímero al azar”.



Figura 2.2 Copolímero al azar

*Copolimerización alternada: $r_1*r_2= 0$*

En la copolimerización alternada, los dos monómeros se adicionan a la cadena en cantidades equimolares con un acomodo alternado, independientemente de la composición

en la alimentación Una alternación inmejorable se presenta cuando r_1 y r_2 son iguales a cero.



Figura 2.3 Copolímero alternado

*Copolimerización en bloques: $r_1 * r_2 > 1$*

En el caso cuando r_1 y r_2 son mayores que la unidad, la tendencia es que se formará un copolímero en bloques. Esto solo ha sido observado en copolimerizaciones iniciadas por catálisis coordinada. Cuando r_1 y r_2 , son mucho mayores que la unidad, ocurre la homopolimerización simultánea independiente, aunque este caso solo ha sido observado en pocos sistemas.



Figura 2.4 Copolímero en bloque

Copolímeros de injerto:

En este caso la cadena principal de los polímeros está formada por un tipo de unidad estructural, pero presenta ramificaciones laterales formadas por cadenas que tienen unidades repetitivas del otro tipo, que aparecen como injertos en la cadena principal. Esta clase de copolímeros son comúnmente preparados a partir de prepolímeros que poseen grupos funcionales a lo largo de la cadena y que pueden ser activados para iniciar la polimerización de un segundo monómero, formando así ramificaciones sobre el prepolímero. Los grupos pueden ser activados de diferentes maneras dependiendo de la naturaleza del grupo funcional.

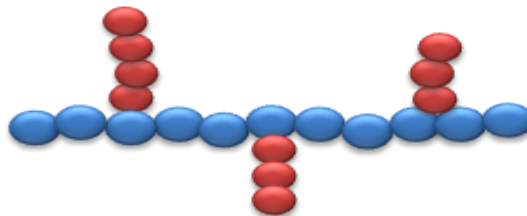


Figura 2.5 Copolímero de injerto

2.4. Polimerización radicalica viviente-controlada.

La polimerización radicalica viviente-controlada (CRP, por sus siglas en inglés), es una de las áreas de la química y de la ciencia de los polímeros de mayor desarrollo. La investigación en CRP abarca desde estudios de mecanismos muy fundamentales, química de polímeros sintéticos hasta la evaluación detallada de diversos materiales obtenidos por esta técnica y también la búsqueda de nuevas aplicaciones para comercializar productos obtenidos mediante la misma.

Todos los métodos de CRP cuentan con un equilibrio dinámico entre minúsculas cantidades de radicales propagantes y varios tipos de especies durmientes. Las especies durmientes son típicamente especies paramagnéticas, también llamados radicales persistentes (PR, por sus siglas en inglés). La esencia del proceso es una desactivación reversible de radicales en crecimiento. Los radicales siempre terminan y por consiguiente CRP nunca es “viviente” en un sentido estricto de la definición de polimerización viviente. En un régimen de polimerización (cualquiera que sea por CRP o FRP), la misma concentración de radicales está presente y esencialmente el mismo número de cadenas que terminan (concentración). Sin embargo, en el proceso convencional, todas las cadenas son terminadas (e.g., 10^{-3} M), cuando por el contrario en CRP, como resultado de una alta concentración de cadenas durmientes y activas/terminadas (e.g., 10^{-1} M), la fracción de cadenas terminadas (10^{-3} M) es mucho más pequeña (típicamente entre 1 y 10%). Las cadenas remanentes están en estado inactivo, capaces de reactivarse, funcionalizarse, de ser una extensión en cadena del bloque de polímero, etc.

Para preparar polímeros de alto peso molecular ($M_n \sim 100,000$), la velocidad de propagación debe ser mil veces más alta que la velocidad de terminación. Consecuentemente, la velocidad de iniciación debe ser también mil veces más baja que la de propagación. Esto prevé la síntesis de polímeros con características bien definidas.

En la síntesis de polímeros con peso molecular controlado y una estrecha distribución de pesos moleculares, la velocidad de iniciación debe ser comparable a la de propagación. En sistemas controlados por efecto de radical persistente, tal como la

“polimerización radicalica mediada por nitróxidos” (NMRP, por sus siglas en inglés), el estado estacionario es alcanzado por un balance en la velocidad de activación y desactivación o iniciación y terminación.

En la polimerización radicalica controlada, se permite un desacoplamiento de las velocidades de iniciación y terminación. La terminación debe ser miles de veces más pequeña que la de propagación, pero la iniciación ahora puede ser tan rápida como la propagación. La clave para obtener control en los procesos de CRP es la desactivación reversible de radicales (o una activación intermitente de especies durmientes). Su interconversión debe ser rápida, para generar una probabilidad similar de crecimiento para todas las cadenas y, consecuentemente, generar polímeros con una angosta distribución de pesos moleculares. Un afinado intercambio de las velocidades ofrece la posibilidad de diseñar la distribución ya mencionada y con ello influir en las propiedades de los polímeros.

Por otra parte, debido a una terminación continua, los polímeros pueden perder funcionalidad y aun así mantener baja polidispersidad (especialmente si la terminación ocurre a altas conversiones y por desproporción). Así que, una correlación entre polidispersidad y funcionalidad en CRP es relativamente débil. [3, 4]

2.4.1. Principales diferencias entre FRP y CRP.

FRP y CRP funcionan con el mismo mecanismo radicalico, y muestran una similar química y estereoselectividad, además pueden polimerizar monómeros similares. Si FRP y CRP se llevan a cabo con la misma velocidad, las cadenas terminadas son similares, porque las concentraciones de radicales son similares. Sin embargo, en FRP todas las cadenas están esencialmente muertas pero en CRP las cadenas muertas son sólo unas cuantas (<10% de todas las cadenas) debido a una gran cantidad de especies inactivas. Otras diferencias importantes entre CRP y FRP se muestran a continuación: [3]

- ∅ El tiempo de vida de crecimiento de cadenas se extiende de 1s en FRP a más de 1 h en CRP, debido a la participación de especies durmientes y la activación reversible intermitente.
- ∅ En FRP, una concentración de radicales en estado estacionario se establece con velocidades similares de iniciación y terminación; en sistemas de CRP (NMRP), una concentración de radicales en estado estacionario se alcanza por el equilibrio de las velocidades de activación y desactivación.
- ∅ En FRP, la iniciación es lenta y algún radical libre del iniciador es a menudo no consumido hasta el final de la polimerización. En la mayoría de los sistemas de CRP, la iniciación es rápida y todas las cadenas empiezan a crecer al mismo tiempo.
- ∅ En FRP, la mayoría de las cadenas están muertas, mientras que en CRP, la proporción de cadenas muertas es usualmente menor al 10%.
- ∅ La polimerización en CRP es a menudo más lenta que en RP, pero esto no necesariamente tiene que ser el caso. Las velocidades pueden ser comparables, si el M_w objetivo en CRP es relativamente más pequeño.
- ∅ En FRP convencional, la terminación ocurre entre las cadenas largas y constantemente se generan nuevas cadenas. En sistemas de CRP, en las fases tempranas todas las cadenas son cortas, luego se vuelven más largas, la velocidad de terminación significativamente disminuye.

2.5. Polimerización radicalica mediada por nitróxidos/NMRP.

En cuanto a NMRP, este tipo de polimerización ofrece varias ventajas debido a su amplia tolerancia a impurezas tales como agua u oxígeno, además gracias a esto, no sigue rigurosos y costosos procedimientos de purificación de reactivos y solventes. La química de nitróxidos puede ser empleada en diversos procesos y tipos de polimerización: masa[5-8], solución[9], medios dispersos acuosos [10] y fluidos supercríticos [11], por mencionar algunos.

También en NMRP el equilibrio dinámico es el principal fundamento, el cual define la velocidad de reacción y la propiedad física de distribución de pesos moleculares en el polímero resultante[12] ; asimismo extiende hasta por algunas horas el tiempo de vida útil de un radical propagante, ya que la mayoría del tiempo se encuentra inactivo formado

Las polimerizaciones mediadas con nitróxido, en particular sistemas bimoleculares iniciados por un iniciador y radicales nitróxido, presentan lo que algunos investigadores llaman periodos de inducción[13]; los cuales se definen como el tiempo necesario para alcanzar el equilibrio dinámico entre especies durmientes ($P_n - N$) y vivientes ($P_n\bullet, N\bullet$). Un periodo de inducción es el tiempo que se requiere para generar una población de radicales ($P_n\bullet$), sin importar el origen de los radicales (iniciación térmica o por iniciación química), que iguale la concentración de radicales nitróxido ($N\bullet$) presentes desde un inicio en el sistema de reacción. Cuando se uniforman las concentraciones de $P_n\bullet$ y $N\bullet$ el equilibrio dinámico entre las especies durmientes y vivientes es alcanzado, propiciando la propagación de las especies en forma controlada (el equilibrio dinámico favorece la formación de especies durmientes), lo que permite obtener polímeros con peso molecular controlado. Durante el periodo de inducción, la conversión es prácticamente nula, la perdurabilidad del periodo es proporcional a la concentración de nitróxido presente en el sistema de reacción, estableciéndose que a mayor concentración de nitróxido, mayor será el periodo de inducción. Es por estas razones, que los nitróxidos son también considerados y utilizados como inhibidores de polimerización.

2.5.1. Nitróxidos

Los nitróxidos fueron inicialmente empleados como radicales libres estables en la polimerización de acrilatos[15], pero fue en 1993 que el campo de NMRP cobró fuerza, cuando *Georges y col.*[16], usaron el TEMPO (2,2,6,6-tetrametilpiperidino-1-oxyl) como agente de control y peróxido de benzoilo (BPO) como iniciador, en la polimerización controlada de estireno. Se demostró que los pesos moleculares evolucionaron linealmente con la conversión y que la polidispersidad resultante estuvo por debajo de 1.3 en una reacción efectuada a 130° C. También se han empleado el TEMPO y sus derivados en forma de alcoxiaminas los cuales al disociarse generan radicales nitróxido que tienen constantes de activación (k_a) y desactivación (k_d) ($k_d/k_c = K_{eq} = 2.0 \cdot 10^{-11}$)M a 120°C para el poliestireno.

Eventualmente se han sintetizado diferentes nitróxidos [17, 18] con fuertes enlaces C-O, tales como SG-1[19] ó TIPNO [19] (fig. 2.7). Se predijo que estos nitróxidos serán

inestables porque poseen un átomo de hidrogeno α -C y se descompondrían rápidamente.

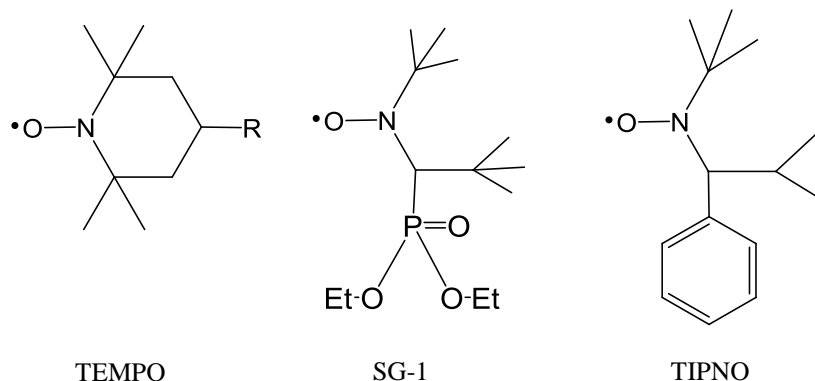


Figura 2.7 Nitroxidos comúnmente utilizados en NMRP.

Sin embargo, la estabilidad del SG-1 y el TIPNO, es suficiente para controlar la polimerización de algunos monómeros. El rango de monómeros polimerizables por NMRP incluye el estireno, diversos acrilatos, acrilamidas, dienos y acilonitrilo. Pero fue la relativa disponibilidad económica y comercial del TEMPO lo que motivó su utilización inicial como el nitroxido mediador en el campo de las polimerizaciones controladas en comparación de otros nitroxidos. Además, el TEMPO y sus derivados presentan una mayor estabilidad en su enlace.

2.5.2. Estabilidad del enlace N-O•

El radical nitroxido tiene un electrón desapareado ($S=1/2$) y posee dos sustituyentes en el sitio del nitrógeno. El paramagnetismo es originado por la ocupación de un electrón del orbital $2p_z$, que es un orbital π el cual se encuentra deslocalizado sobre los 2 átomos, N y O. Si los grupos sustituyentes en ambos lados del átomo de nitrógeno contienen orbitales tipo π , la deslocalización del electrón π será sobre toda la estructura molecular, entonces el radical gana una cantidad considerable de energía para su estabilización.

En contraste con esos nitroxidos de tipo π , existen otros donde el electrón desapareado es localizado exclusivamente en $N-O^{\bullet}$, donde también existen 2 enlaces N-C, los cuales no tienen orbitales π , y los enlaces forman orbitales híbridos sp^3 , causando la exclusiva localización del electrón en el grupo $N-O^{\bullet}$.

Debido a su bajo nivel de energía de deslocalización, la estabilidad del radical se debe alcanzar antes de que forme un enlace químico. De aquí la importancia de los otros sustituyentes del nitrógeno, dado que juegan un papel muy importante en la estabilidad del nitróxido. [20]

2.5.3. Resonancia estructural del enlace N-O·

La resonancia estructural de los radicales nitróxidos llega a ser posible en los enlaces que forman los átomos de N y O, que poseen electrones de valencia desapareados. El fenómeno es de gran significancia en los siguientes puntos: [20]

- 1) La estructura iónica es hidrofílica y soluble en agua y solventes polares, considerando que solventes orgánicos comunes disuelven los radicales más fácilmente en una forma neutral. Este carácter ambivalente de los radicales nitróxidos eleva su potencial de aplicaciones, particularmente en el área biológica.
- 2) El equilibrio de resonancia, puede cambiar dependiendo del medio polar o no polar en el que se encuentre el nitróxido: (figura 2.8)

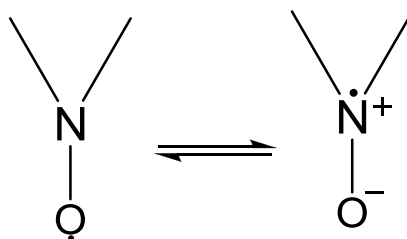


Figura 2.8 Resonancia estructural del enlace N-O·

donde el electrón desapareado es normalmente localizado en el átomo de oxígeno, en un ambiente no polar, e incrementa la posibilidad de encontrarse en el átomo de nitrógeno en un ambiente más polar.

- 3) La densidad electrónica del átomo de oxígeno es un poco más grande que la del átomo de nitrógeno.

2.5.4. Sistema de iniciación bimolecular.

Los iniciadores convencionales pueden ser usados en la presencia de un radical persistente (fig. 2.9.). Como ya se mencionó, *Georges y col.*[16], proponen el primer sistema de iniciación bimolecular (iniciador y radical nitróxido además de monómero), donde el iniciador se descompone en radicales primarios de alta reactividad que inician la polimerización del monómero. El nitróxido entonces se enlaza lábilmente (C-O) con la cadena radical, permitiendo la formación de alcoxiaminas in-situ.

La característica fundamental del trabajo de Georges fue el entendimiento de que los nitróxidos son inhibidores de polimerización a bajas temperaturas, de ahí el uso que les dio Solomon para atrapar intermediarios de la polimerización, mientras que a temperaturas elevadas pueden actuar como mediadores de la polimerización, no como inhibidores.

En el sistema de Georges, al aumentar la temperatura a 130°C y realizar la polimerización de estireno en masa, en un sistema que consta de peróxido de benzoilo (BPO) y un nitróxido estable (TEMPO) en la proporción molar de 1.3:1, se produjo poliestireno por un proceso viviente en el cual el peso molecular aumentó de forma lineal con la conversión (fig. 2.9.) [16]. Los resultados fueron inesperados, los valores de la polidispersidad para el poliestireno obtenido fueron de 1.2, los cuales fueron significativamente más bajos que el límite inferior teórico para un proceso de radicales libres de 1.5 y los valores típicos de 2.0 para sistemas de radicales libres [16].

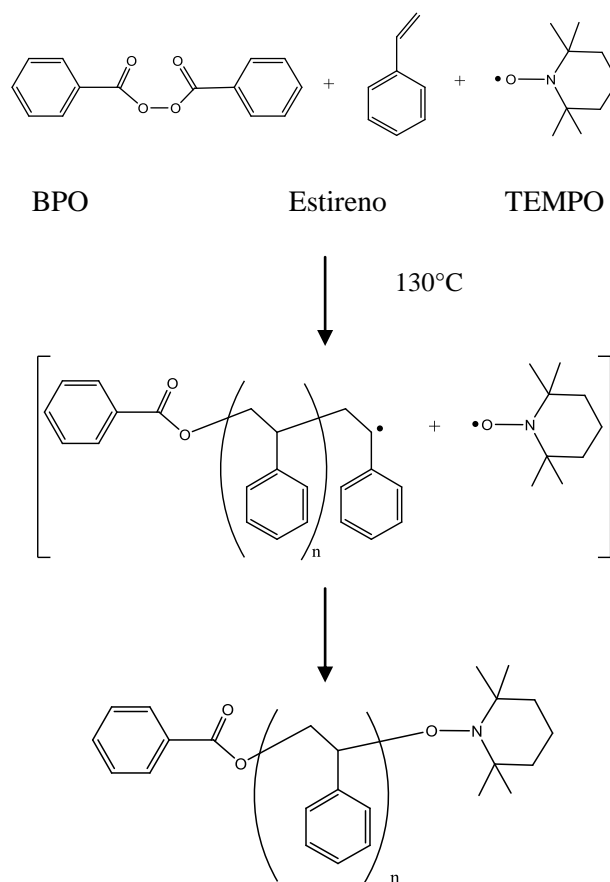


Figura 2.9 Sistema de iniciación bimolecular (estireno, TEMPO, BPO)

2.5.5. Sistema de iniciación unimolecular/alcoxiaminas.

El carácter pobremente definido de las especies de los iniciadores en los procesos bimoleculares incitó el desarrollo de sistemas de iniciación unimolecular. Basándose en el concepto de un iniciador para polimerizaciones vivientes aniónicas y catiónicas, se desarrollaron los iniciadores unimoleculares.

La estructura de estos iniciadores fue basada en la unión covalente de un grupo iniciante y un grupo controlador (enlaces C-O) (fig. 2.10). Los enlaces se esperan que sean termodinámicamente inestables y se descompongan por calentamiento para dar un radical capaz de actuar como iniciador en la polimerización. La ventaja de un iniciador unimolecular es que la estructura de los polímeros puede ser mejor controlada [21].

Puesto que el número de sitios de iniciación para la polimerización es conocido, el peso molecular puede ser controlado con precisión. El grupo iniciante clásicamente es un fragmento de un iniciador y/o halógeno, y el segundo grupo generalmente es un nitroxido de tipo TEMPO. Ambos grupos pueden estar modificados estructuralmente para fines diversos, siempre y cuando el enlace covalente que los une se pueda romper en el intervalo de temperaturas características de polimerización vía NMRP, las cuales se encuentran en el rango de 80 – 150 °C.

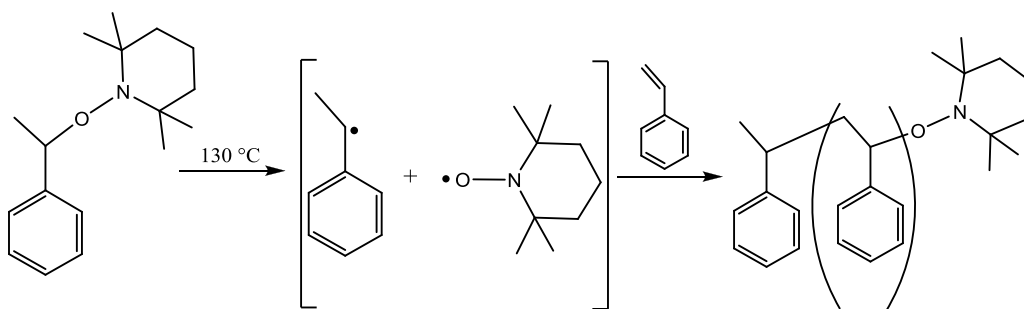


Figura 2.10 Sistema de Iniciación Unimolecular

2.6. Sales de N-Oxoamonio.

Las sales de oxoamonio han sido ampliamente usadas como agentes oxidantes [22] para la producción de polímeros funcionales con grupos terminales de tipo aldehído o cetona, o también como agentes iniciantes en polimerizaciones catiónicas en solución de monómeros vinílicos [23]. *Kobatake y col.* [24], reportan la síntesis de alcoxiaminas con este tipo de sales para la polimerización de estireno.

Este tipo de compuestos comparten un grupo nitroxido (catión) y un contranión, como se muestra en la figura 2.11.

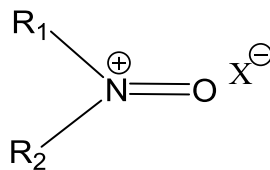


Figura 2.11 Estructura de sal de oxoamonio

El compuesto mejor conocido para la elaboración de una sal de oxoamonio es el TEMPO, ya que éste posee un oxígeno con radical estable. La remoción de un electrón del TEMPO en presencia de un anión apropiado produce una sal de oxoamonio (2,2,6,6-tetrametilpiperidino-1-oxoamonio o sal de 2,2,6,6-tetrametilpiperidino-1-oxopiperidino). Para la formación de la sal, el catión debe ser muy estable, para lo cual es necesario que los carbonos unidos al nitrógeno no tengan hidrógenos, para que estos últimos no formen enlaces tipo α , o de lo contrario será imposible formar el doble enlace entre el nitrógeno y uno de los carbonos adyacentes. Existen muchos ejemplos de sal, pero las más comunes son las que contienen piperidino como núcleo principal. [25]

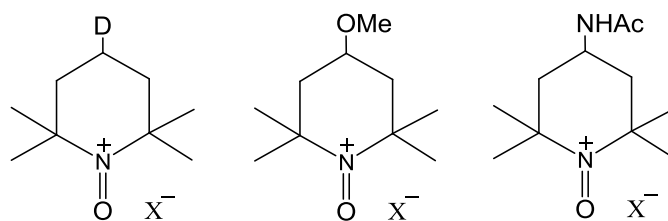


Figura 2.12 Aniones comunes de una sal de oxoamonio (X^-): Cl^- , Br^- , Br_3^- , ClO_4^- , BF_4^- , NO_3^- , ClO_2^- , SbF_6^- . Otros sustituyentes (D): H, OH, O

La oxidación con iones oxoamonio puede ser llevada a cabo en diversos medios, en oxidaciones estequiométricas, en medio ácido, básico o por reacción de desproporción ácida, tal como se muestra en el siguiente esquema: [25]

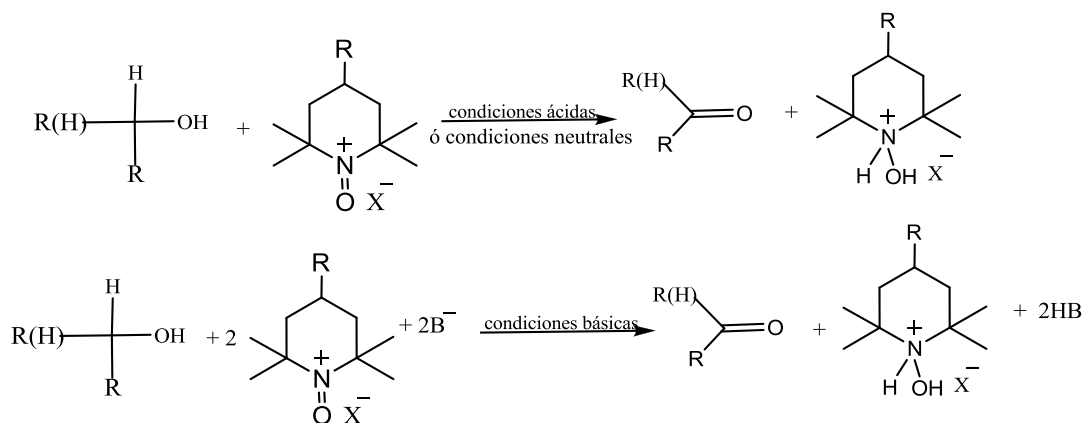


Figura 2.13 Mecanismos de oxidación de alcoholes por sales de oxoamonio en diferentes medios de reacción.

2.7. Síntesis de macro iniciador a partir de sal de oxoamonio.

José Bonilla y col. en 2007, proponen la funcionalización superficial de sílice con TEMPO, partiendo de la síntesis previa de una sal de oxoamonio, particularmente, sal de bromo-TEMPO (ver figura 2.14). En un siguiente paso, se hacen crecer cadenas de copolímeros desde la superficie funcionalizada. El sílice funcionalizado tiene la capacidad de actuar como un macro iniciador, porque el TEMPO está unido mediante un enlace peróxido, el cual se rompe con temperatura y los radicales que genera comienzan la polimerización. La sal de oxoamonio en presencia de trietilamina (TEA) actuará como extractora de hidrógenos de los grupos hidroxilo (-OH) del sílice, los cuales son sitios potenciales de funcionalización y por ende, de ataque de un nucleófilo como lo es el bromo. Además, se ha demostrado la existencia de un equilibrio químico entre la sal y las especies que la conforman mediante un mecanismo redox [26]. Ellos especulan que la sal provee un bromo radical ($\text{Br}\cdot$), el cual, mediante un mecanismo por radicales libres ataca el -OH para generar ácido bromhídrico (HBr) y un oxígeno radical ($\text{O}\cdot$), el cual es capturado por el radical nitróxido. El HBr es capturado por la TEA. [26]

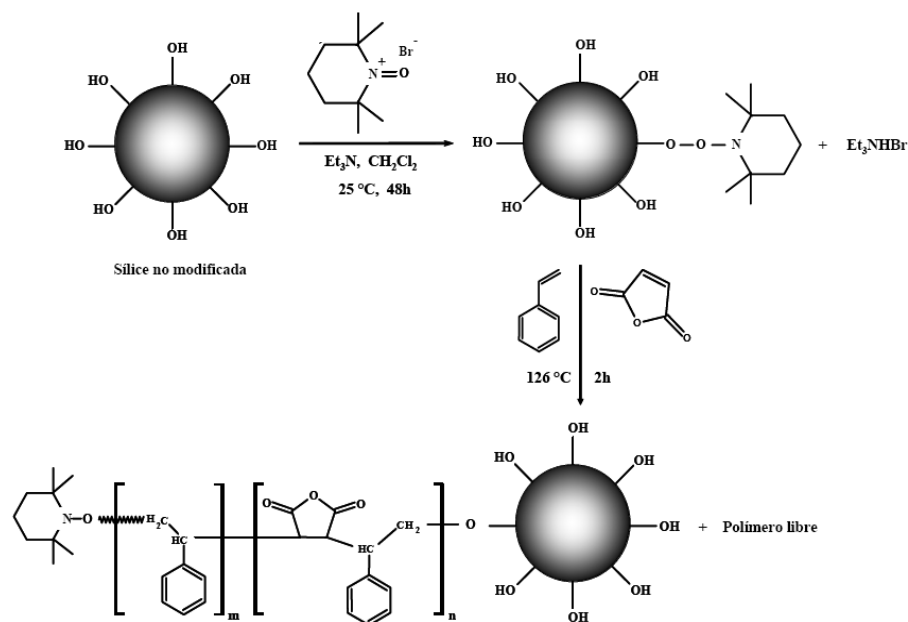


Figura 2.14 Mecanismo de funcionalización de sílice mediante sales de oxoamonio (bromo- TEMPO) y su uso en la polimerización de injerto controlado del copolímero de poli (estireno-*co*-anhídridomaleico) [26].

Recientemente, *Ramírez-Wong y col.* en 2009 [11], funcionalizan de igual manera los grupos $-OH$ del polidimetil siloxano (PDMS) con la sal de bromo-TEMPO; el PDMS funcionalizado actúa como un macroiniciador, y a partir de este material en presencia de estireno a $135^{\circ}C$ y 48 hr, sintetizan el copolímero de PDMS-*b*-PS (fig. 2.15).

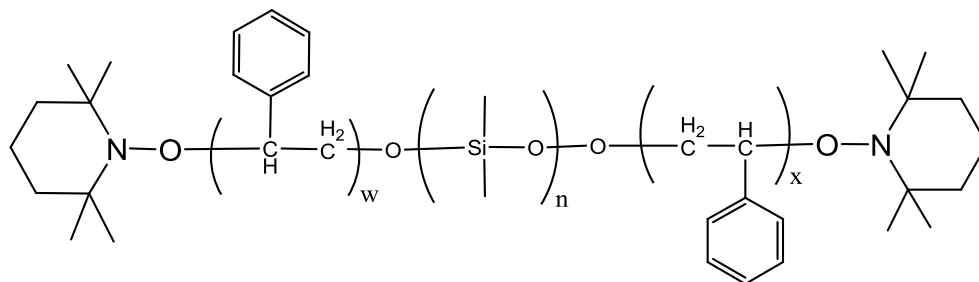


Figura 2.15 PDMS-*b*-PS sintetizado por *Ramírez-Wong y col.* [11]

2.8. Solvatación en fluidos supercríticos.

El estudio de los fluidos supercríticos se origina de la necesidad de reemplazar a los comúnmente utilizados solventes orgánicos, debido a que estos últimos contribuyen al calentamiento global por el llamado “efecto invernadero”, además de diversos efectos ambientales negativos [27]. Para definir el estado “supercrítico” primero se tiene que definir matemáticamente un punto crítico (PC), el cual se presenta cuando el gradiente de una función es equivalente a cero. Termodinámicamente un punto crítico para ecuaciones de estado se puede definir de la siguiente manera: [2]

$$\left(\frac{\partial P}{\partial V}\right)_{T=T_C} = 0 \quad \text{Ecuación 2.15}$$

$$\left(\frac{\partial^2 P}{\partial V^2}\right)_{T=T_C} = 0 \quad \text{Ecuación 2.16}$$

En un fluido, el punto crítico (PC) se encuentra cuando las densidades de la fase líquida y de vapor son iguales, el cual lo podemos ver un diagrama presión vs temperatura. El PC se encuentra en el límite de la curva líquido-gas (fig. 2.15.), donde estos dos estados se combinan en un único “estado supercrítico”, por encima de su temperatura y presión críticas. Un fluido que sobrepasa estas condiciones, exhibe un número específico de

propiedades tales como una mayor densidad y difusividad y menor viscosidad, los cuales los hacen muy atractivos para su estudio y diversas aplicaciones. [28]

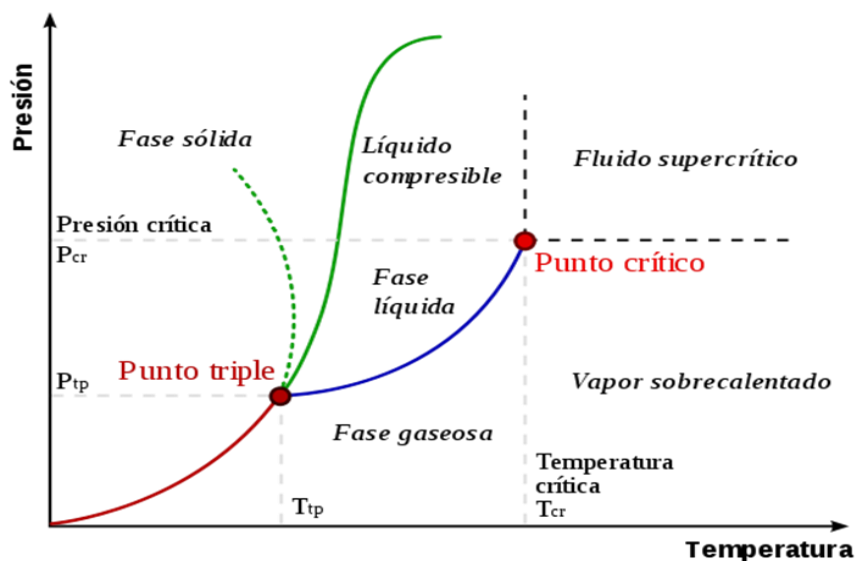


Figura 2.16 Diagrama de fases de una sustancia pura.

Cuando un gas se acerca a su PC, su compresibilidad isotérmica tiende a infinito, es decir, que la densidad del fluido cambia conforme se acerca a su PC. Si bien es cierto que un fluido supercrítico no es conformado de las fases líquida y gaseosa, posee las propiedades y características de ambas, lo que convierte a un FSC en un excelente solvente.

Es importante considerar las interacciones moleculares entre polímeros y monómeros y los fluidos supercríticos [28], las cuales son determinadas por las propiedades termodinámicas de éstos. Las interacciones más comunes son de dispersión, dipolo-dipolo, dipolo-cuadripolo y cuadripolo-cuadripolo (fig. 2.17). [28]

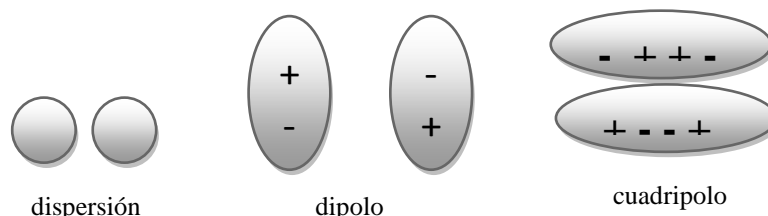


Figura 2.17 Interacciones moleculares entre polímeros y monómeros y los fluidos supercríticos

La contribución de las llamadas interacciones moleculares en moléculas de menor tamaño es dada por la polarizabilidad (α), el momento dipolo (μ) y el cuadrupolo (\mathcal{Q}), y en casos muy específicos por la formación de puentes de hidrógeno. Sin embargo, las fuerzas de atracción entre soluto y solvente se incrementan conforme se incrementa su densidad. La densidad de un FSC puede ser sintonizada con pequeños cambios en la presión. [28]

Tabla 2.1 Comparación de valores típicos de propiedades físicas de gases, fluidos supercríticos y líquidos, donde ρ , η y D son la densidad, la viscosidad y la difusividad, respectivamente.

Propiedades	Gas	Fluido Supercrítico	Líquido
ρ (kg m ⁻³)	1	100-800	1000
η (Pa s)	0.001	0.005-0.01	0.05-0.1
D (m ² s ⁻¹)	1· 10 ⁻⁵	1·10 ⁻⁷	1·10 ⁻⁹

2.8.1. Aplicaciones de fluidos supercríticos.

Los FSC han sido utilizados exitosamente para la extracción de ingredientes en la industria alimenticia y farmacéutica. En la cromatografía para la separación de sustancias no volátiles, además en uno muy importante como el de los polímeros. Uno de los principales inconvenientes en el uso de FSC es el alto costo del equipo. Por lo regular las reacciones son llevadas a presiones inferiores a 40 MPa (5801psi). Principalmente el dióxido de carbono y el etileno son los fluidos mayormente utilizados en el campo de las polimerizaciones. [29]

2.8.2. Dióxido de carbono supercrítico (scCO₂).

En el campo de los FSC, el dióxido de carbono ha sido de los más estudiados y ocupados en diversas investigaciones y procesos industriales, debido a que presenta diversas y atractivas características y/o propiedades, como se muestran a continuación: [29]

- ∅ el CO₂ presenta nula toxicidad, flamabilidad y es químicamente inerte posee baja viscosidad, alta tasa de difusión y baja tensión superficial.
- ∅ Las condiciones supercríticas del CO₂ son T = 304.1 K y Pc=7.38 MPa (1070 psi), las cuales son fácilmente de alcanzar. (Tabla 2.2)
- ∅ La densidad del solvente puede ser regulada por cambios en la presión.
- ∅ El CO₂ puede ser removido del sistema por despresurización.

Tabla 2.2 Propiedades críticas de diversos disolventes.

Fluido	Temperatura Crítica (°C)	Presión Crítica (bar)	Densidad Crítica (kg/cm³)
Etílono	9.3	50.4	220
Xenón	16.6	58.4	120
Dióxido de carbono	31.1	73.8	470
Etano	32.2	48.8	200
Óxido nitroso	36.5	71.7	450
Propano	96.7	42.5	220
Amoniaco	132.5	112.8	240
1-Propanol	235.2	47.6	270
Metanol	239.5	81	270
Agua	374.2	220.5	320
Tolueno	318.6	41.1	290

Diversos estudios llevados a cabo con la intención de revelar las interacciones entre los polímeros, demuestran que el CO₂, debido a su simetría molecular, no posee un momento dipolar.

En 1938 G. N. Lewis postula que las sustancias que pueden ceder pares de electrones son “bases de Lewis” y las que pueden aceptar pares de electrones son “ácidos de Lewis”. El ácido debe tener su octeto de electrones incompleto y la base debe tener algún par de electrones solitarios[2] , por lo tanto, debido a la falta de electrones del carbono en el scCO₂, éste puede actuar como un ácido de Lewis e interaccionar con una base de Lewis. Esto se ve demostrado cuando *Kazarian y col.* [30] demuestran mediante evidencia espectroscópica que existe un momento cuadrupolo e interacciones ácido-base de Lewis entre un polímero y el CO₂ . La figura 2.18 muestra algunas interacciones del CO₂ y diferentes grupos químicos.

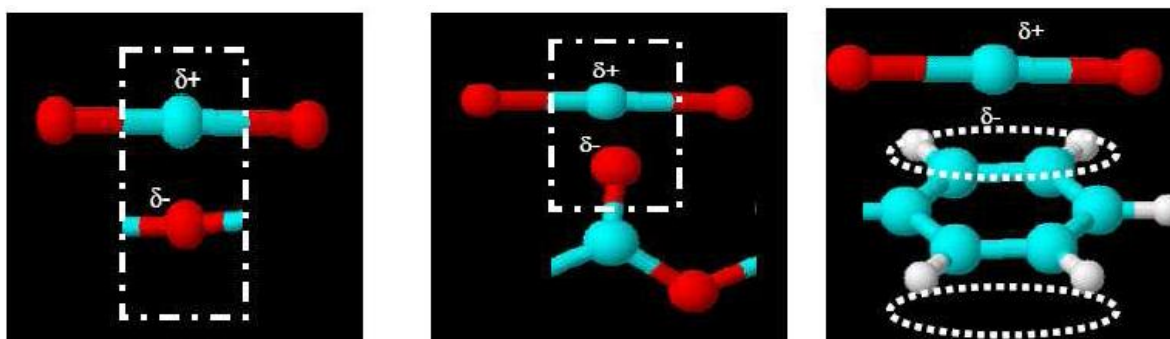


Figura 2.18 Interacciones débiles del CO₂ con diferentes grupos químicos: a) éter, b) carbonilo, c) anillo aromático

En un estudio realizado por *Saharay y Balasubramanian* en 2004 [31], donde estudian los momentos polares del CO₂ en condiciones supercríticas, reportan que el fluido posee una estructura lineal (180°), y que la disminución del ángulo a 174.2°, es debida a las contribuciones térmicas y las interacciones intermoleculares. La capacidad del dióxido de carbono supercrítico (scCO₂) como disolvente para solutos, está determinada por una baja polarizabilidad y un fuerte momento cuadrupolo (Tabla 2.3). El hecho de que el CO₂ sea de carácter ambivalente, hace complicada su comparación con disolventes tradicionales.

Tabla 2.3 Propiedades físicas de diversos disolventes, donde α , μ y Q son la polarizabilidad, el momento dipolo y el momento cuadrupolo respectivamente

Disolvente	$\alpha \cdot 10^{25} \text{ (cm}^3\text{)}$	$\mu \text{ (D)}$	$Q \times 10^{26} \text{ (erg}^{1/2}\text{cm}^{5/2}\text{)}$
Metano	26	0	
Etano	45	0	-0.7
Etino	33.3	0	+3.0
Hexafluoretano	47.6	0	-0.7
Dióxido de carbono	27.6	0	-4.3
n-hexano	118.3	0	
Metanol	32.3	1.7	
Acetona	63.3	2.9	

2.8.3. Polimerizaciones en “scCO₂”.

A pesar de que el scCO₂ ha sido muy utilizado en el campo de polímeros, también es conocido que la solubilidad de los polímeros en éste es limitada, que depende no solo de la temperatura y la presión, también de la concentración, de los grupos funcionales a lo largo de la cadena polimérica, y de manera muy importante del peso molecular y su distribución, es decir, si su índice de polidispersidad es mayor, las cadenas más grandes serán poco disueltas, mientras que las cadenas cortas al tener el efecto contrario, contribuyen co-disolviendo a las cadenas largas. [32, 33]

Las primeras polimerizaciones en condiciones supercríticas fueron las del etileno, pero no fue hasta varios años más tarde cuando se iniciaron estudios más especializados en la producción de polímeros, por ejemplo cuando se demostró la polimerización de monómeros en scCO₂ (PVC, poliacrilonitrilo (PAN), poli(ácido acrílico) PAA y poli(acetato de vinilo) PVAc [34]. También han sido probadas exitosamente las polimerizaciones radicálicas controladas en FSC, por ejemplo, en 2004 por RAFT, *Lacroix-Desmazes y col.*[35], presentan una serie de polimerizaciones de acrilatos y metacrilatos fluorados. *Odell y Hamer* en 1994 [36] publican referente a NMRP un sistema bimolecular (TEMPO-AIBN) para la polimerización de estireno en scCO₂, *Matyjaszewski* en 1999 [37] presenta vía ATRP en scCO₂ la polimerización de acrilatos fluorados.

Las polimerizaciones efectuadas en scCO₂ pueden proceder de forma heterogénea, ya sea por dispersión ó precipitación, o bien, de forma homogénea cuando el polímero formado es soluble. En el caso de la técnica de dispersión es necesario recurrir a un tensoactivo (caso similar a una emulsión) y por lo regular, al inicio es una fase homogénea y al final de la reacción el polímero se somete a una separación. Para la técnica por precipitación, al inicio se presenta una fase homogénea y conforme el polímero crece, al llegar a cierto peso molecular el polímero precipita.

2.9. Quitosano.

EL quitosano es un polisacárido lineal obtenido por la desacetilación de la quitina. Cuando la desacetilación no es completa se crea una mezcla de cadenas que tienen distintas proporciones de unidades $\beta(1-4)$ -2-acetamido-2-desoxi-D-glucosa y $\beta(1-4)$ -2-amino-2-desoxi-D-glucosa. La capacidad del quitosano de ser disuelto en disoluciones acuosas ácidas es comúnmente el criterio más aceptado para diferenciarlo de la quitina. [38]

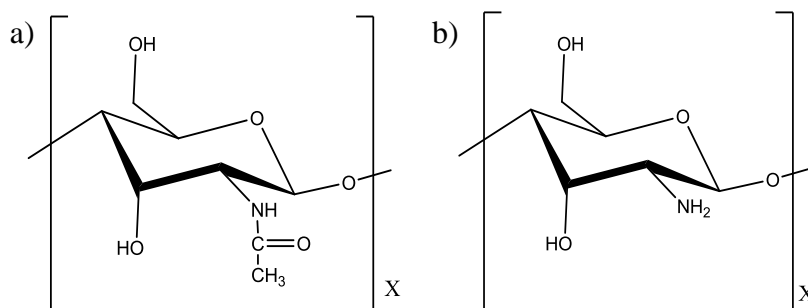


Figura 2.19 Estructuras de a) Quitina y b) Quitosano

La quitina fue descubierta por *Bracconot*, al aislar un material nitrogenado en sus estudios sobre la química de los hongos [39]. Después *Rouget* [39] descubrió que el tratamiento de la quitina con una solución concentrada de hidróxido potásico a ebullición la modificaba transformándola en un compuesto soluble en soluciones de ácidos diluidos, más tarde designado como quitosano por Hoppe-Seiler. La quitina es el componente orgánico de la estructura esquelética de diversos grupos de invertebrados, tales como artrópodos, moluscos y también constituye la mayor parte de la pared celular de los hongos y algas marinas.

El quitosano también se encuentra presente solo en algunos hongos (en mucha menor proporción que la quitina) [38, 39]. El quitosano y la quitina, poseen dos grupos hidroxilo, uno primario en el sexto carbono, y uno secundario en el tercer carbono y sólo difieren en el segundo carbono, donde se presenta una sustitución acetamida por un grupo amino[40].

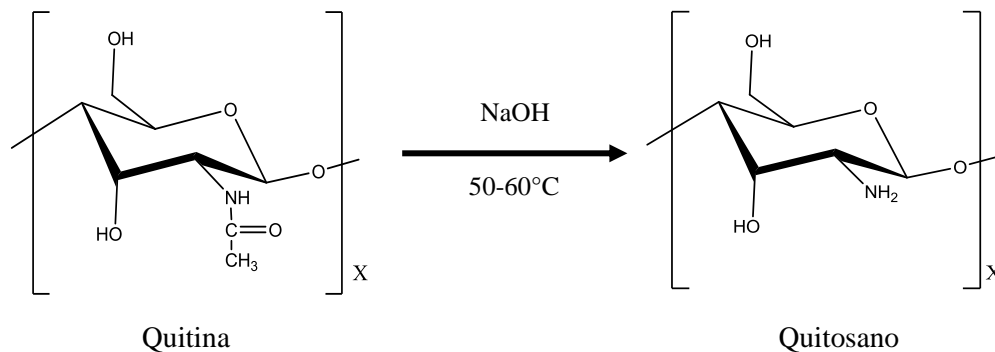


Figura 2.20 Reacción de desacetilación de la quitina.

La transformación de la quitina en quitosano modifica sustancialmente sus propiedades, de modo que éste es fácilmente soluble en soluciones acuosas de la mayor parte de los ácidos orgánicos e inorgánicos ($\text{pH} < 6.5$). El quitosano es también mucho más reactivo que la quitina, ya que sus grupos amino pueden ser acilados, alcoholados y reaccionar con las bases de Schiff[41].

El quitosano puede ser caracterizado en términos de su calidad, propiedades intrínsecas (pureza, masa molecular y grado de desacetilación) y formas físicas. Además, la calidad y propiedades de un lote de quitosano pueden variar significativamente debido a diversos factores involucrados en el proceso de obtención que pueden afectar el producto final[41].

Cuando el grado de desacetilación de la quitina alcanza más del 50%, ésta llega a ser soluble en medio ácido acuoso, y es llamado quitosano[41]. La disolución ocurre por la protonación del grupo $-\text{NH}_2$ en el carbono C2 de la unidad repetitiva, por medio del cual el polisacárido es convertido en un polielectrolito en medio ácido. El quitosano es el único bio-polímero pseudonatural catiónico[42].

2.9.1. Grado de desacetilación del quitosano.

El grado de desacetilación GD (ó acetilación, GA), invariablemente es uno de los parámetros más importantes para poder establecer la identidad del quitosano y por ende, es un parámetro que dictamina las propiedades funcionales, biológicas y fisicomecánicas, que

son esenciales para la aplicación del biopolímero. El GD es definido como la fracción o porcentaje de unidades no acetiladas a lo largo de la cadena de quitosano ($GA = 1 - GD$, $GA\% = 100 - GD\%$)[38].

Se ha reportado que existen diversas técnicas para la determinación del GD, dentro de las cuales se encuentran la espectroscopia de FT-IR, RMN de ^1H y ^{13}C y calorimetría diferencial de barrido (DSC), espectrofotometría de UV y análisis de HPLC, por mencionar algunos [38, 43].

La elección de la técnica para la determinación del GD, va de la mano de la solubilidad de la muestra y de la disponibilidad de instrumentación. Para un quitosano disuelto, el espectro de UV exhibe buenos resultados, y para una muestra en estado sólido la espectroscopia de infra rojo es de las técnicas más confiables. Es importante recalcar que la distribución de los grupos acetil en una muestra de quitosano varía con la preparación de la misma, por lo que se ha establecido que cuando el GD se encuentra en el rango de 0.51 y 0.96, la distribución de los grupos acetil es aleatoria.

2.9.2. Disolución del quitosano.

Las propiedades del quitosano en solución no solo dependen de su grado de acetilación promedio, sino también de la distribución de grupos acetilenos a lo largo de la cadena y de su peso molecular. La desacetilación usualmente realizada en estado sólido, da como resultado una estructura irregular debido al carácter semi-cristalino del polímero inicial. La solubilidad del quitosano en ácido acético o clorhídrico muestra que el grado de ionización depende del pH y del pK del ácido en cuestión. Se ha demostrado que la cantidad de ácido necesaria para disolver al quitosano, depende de la cantidad que ha de ser disuelta. La concentración de protones debe ser por lo menos equivalente a la concentración de $-\text{NH}_2$ involucradas. Realmente la solubilidad es un parámetro difícil de controlar, es relacionada con el grado de acetilación, la concentración iónica, el pH, la naturaleza del ácido usado para la protonación, la distribución de grupos acetilenos, además es muy importante considerar los puentes de hidrógeno que existen entre las cadenas involucrados en los grupos hidroxí. Comúnmente la disolución del quitosano es llevada a cabo en una solución de ácido acético al 1% ó 0.1 M y siendo nula en disolventes orgánicos [41, 42].

2.9.3. Propiedades del quitosano.

Las aplicaciones potenciales del quitosano, en gran medida, se debe a sus propiedades físicas y químicas. Sus más significantes características determinan sus diversos usos y aplicaciones, como se menciona a continuación:

- ⊗ *Carga eléctrica positiva:* El quitosano posee varios grupos amino ($-NH_2$), el cual posee una fuerte carga positiva. La presencia de este grupo hace que el quitosano difiera eléctricamente de la mayoría de los otros polisacáridos. En sí, el quitosano forma películas en superficies cargadas negativamente tales como el cabello o la piel, de ahí su aplicación en el área de los cosméticos.
- ⊗ *Habilidad ligante:* El quitosano tiene la característica de ligarse a los iones metálicos, así también a las grasas y colesterol.
- ⊗ *Biocompatibilidad y bioactividad:* La biocompatibilidad es función de la respuesta inmunológica y de las interacciones que presenta con el cuerpo humano.
- ⊗ *Potencial de modificación:* Debido a que el quitosano posee en su estructura grupos reactivos amino, así como alcoholes primarios y secundarios, se pueden obtener diversos derivados a partir de la modificación de estos grupos. La presencia de las diversas funcionalidades en el polisacárido, refuerza la propiedad de modificación química en la molécula.
- ⊗ *Formación de películas y membranas:* Las características de las películas y membranas de quitosano han sido reconocidas para el embalaje de alimentos debido a su biodegradabilidad en el medio ambiente y su actividad biológica, invitando a una nueva gama de aplicaciones del biopolímero.

2.9.4. Aplicación del quitosano.

El bajo costo, así como sus propiedades multifuncionales, hacen que el quitosano sea objeto de estudio en busca de nuevas aplicaciones de este biopolímero. El quitosano, al ser un biomaterial de carácter catiónico, presenta invaluable y únicas características.

Debido a la versatilidad de este biopolímero, se conocen una amplia gama de aplicaciones en distintas áreas, con gran eficiencia y altos rendimientos, entre las más destacadas son: [41, 44]

- ∅ *Biomedicina y farmacia.* Sus mayores usos han sido: la elaboración de membranas de hemodiálisis, suturas biodegradables, sustitutos artificiales de piel, agentes cicatrizantes en quemaduras, sistemas liberadores de fármacos, liberación de insulina, transporte de agentes anticancerígenos y paralizadores de hemorragias.
- ∅ *Tratamiento de aguas.* Sus principales funciones son: Floculante para clarificar el agua, remoción de iones metálicos, reductor de olores.
- ∅ *Industria alimenticia.* El quitosano es una fibra no digerible por el cuerpo humano, además de que captura las grasas (reductor de colesterol).
- ∅ *Agricultura y ganadería.* Se ha empleado en el recubrimiento de semillas para la conservación durante el almacenamiento, sistemas liberadores de fertilizantes, aditivo para alimento de animales, en la formulación de pesticidas, entre otros.
- ∅ *Industria.* Se usa en la fabricación de papel, textiles, en la industria alimenticia como soporte para la inmovilización de enzimas, en la producción de maltosa, espesante en alimentos, agente de oxidación controlada y agente conservante.
- ∅ *Química analítica.* Destacan sus aplicaciones cromatográficas, en intercambio de iones, absorción de metales pesados y adsorción de ácidos, fabricación de electrodos específicos para metales, entre otros.
- ∅ *Cosméticos.* Se utiliza en la fabricación de espumas de afeitar, cremas para la piel y cuerpo.

2.9.5. Reacciones de modificación al quitosano.

Para obtener un máximo potencial en la elaboración de materiales funcionales avanzados derivados del quitosano, este biopolímero ha sido sujeto a modificaciones químicas, como la incorporación de sustituyentes de manera controlada en sitios específicos de la molécula, por ejemplo, en los grupos $-\text{NH}_2$ (C2), o en los grupos $-\text{OH}$ (C3, C6).

En todas las reacciones donde se citan derivados del Quitosano, se pueden diferenciar reacciones específicas donde se involucran grupos del $-\text{NH}_2$ en la posición C2 u

otras donde refieren a los grupos -OH en la posición C3 y C6. La amina primaria de C2, es la principal diferencia entre el quitosano, quitina y la celulosa [41, 44]. El grupo (-NH_2) de C2, presenta una fuerte polaridad debido a el gran momento dipolar provocado por el par de electrones solitarios (fig. 2.21), además a los momentos dipolares de los enlaces C-N y H-N.

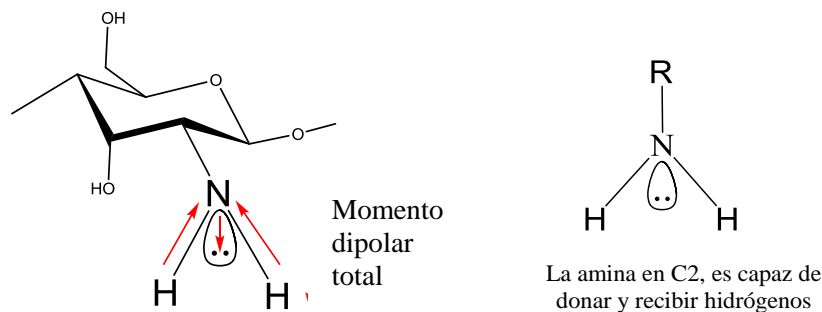


Figura 2.21 Polaridad y reactividad de la amina primaria del quitosano

El grupo -NH_2 puede actuar como un nucleófilo para formar un enlace N-C, además tiene la capacidad de actuar como una base para formar un enlace N-H. (fig. 2.22)

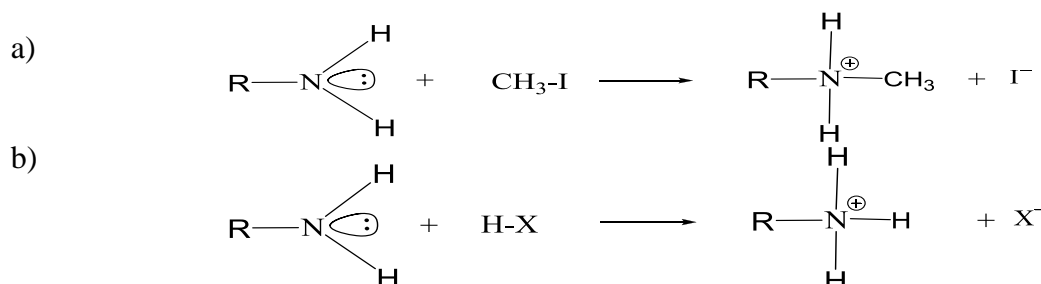


Figura 2.22. Mecanismo de reacción de la amina del quitosano como nucleófilo a), y b) como base

Como el nitrógeno es menos electronegativo, el enlace N-H es menos polar que el enlace O-H, por lo tanto, el grupo -NH_2 forma enlaces de hidrógenos más débiles que los grupos -OH , a pesar de tener masas moleculares similares. Por estas razones, el grupo -NH_2 en C2 presenta una mayor reactividad que los grupos -OH en C3 y C6, siendo el primero mayormente blanco de modificaciones en el polisacárido. Algunas de las reacciones que involucran la posición C2, es la cuaternización del grupo -NH_2 , o en la que un aldehído reacciona con un -NH_2 , para una eventual reducción de la amina. Esta última

reacción puede ser llevada a cabo en solución acuosa para obtener sustituyentes distribuidos de manera aleatoria en cantidad controlada a lo largo de la cadena del quitosano. [41]

2.9.5.1. Modificaciones al quitosano en el grupo amino.

Por mencionar algunos reportes sobre modificaciones en el grupo $-NH_2$, *Keisuke Kurita y col.*[45], sintetizan el llamado “*Chitosan N-phthaloyl*” (fig. 2.23), el cual funciona como precursor para eventuales reacciones controladas de modificación del quitosano.

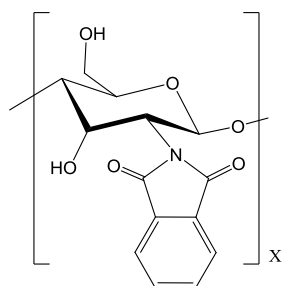


Figura 2.23 “*Chitosan N-phthaloyl*”

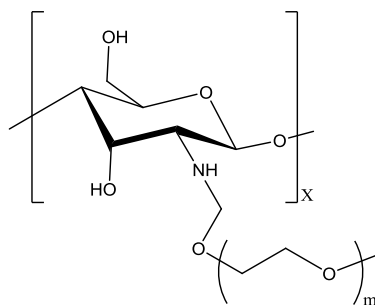


Figura 2.24 MPEG-g-Qitosano

XingYi Li y col.[46], recientemente en 2009 modifican el quitosano con metoxi-poli(etilenglicol) y lo llaman “MPEG-g-Qitosano” (fig. 2.24). Se forman películas de este material para estudiar sus propiedades térmicas, morfología, capacidad de absorción de agua y su degradación. El MPEG-g-Qitosano, posee potencial aplicación en la curación de heridas y la ingeniería de tejido.

Otra modificación en el grupo amino del quitosano fue hecha por, *N. Gorochoveva y col.* [47] en 2005, donde al igual que XingYi Li lo modifica con metoxi poli(etilenglicol), pero con una diferente ruta de síntesis, y lo llama “*quitosan-N-poli(etilenglicol)*” (fig. 2.25), donde prueban la capacidad de adsorción en la superficie de sílice, y concluyen que este nuevo quitosano se adsorbe favorablemente en las capas favorablemente hidratadas.

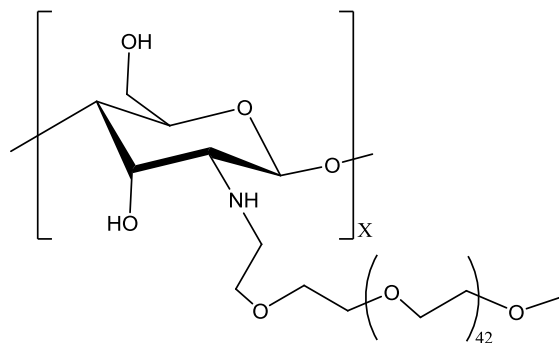


Figura 2.25 Quitosano-N-poli(etilenglicol)

2.9.5.2. Modificaciones al quitosano en el grupo hidroxilo.

Algunos autores reportan diversas modificaciones del quitosano por los grupos $-OH$, tal es el caso de *Flores-Ramírez y col.* [48] donde incorporan metacrilato de glicidilo en C6, creando un material híbrido llamado “CTS/GMA” (fig. 2.26) con diferencias en sus propiedades y características, en comparación al quitosano virgen.

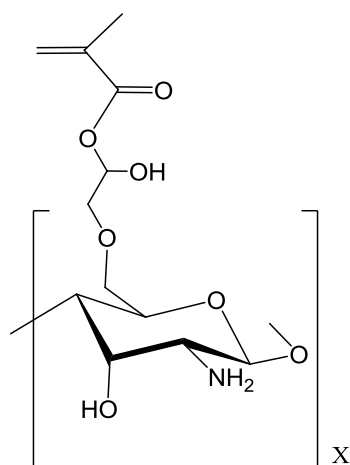


Figura 2.27 CTS/GMA

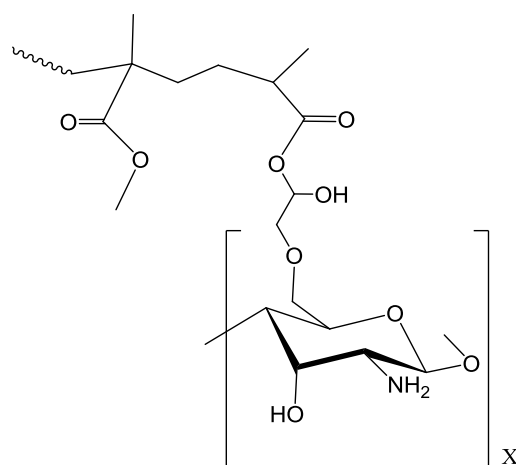


Figura 2.26 (CTS-g-GMA)-g-PMMA

Elizalde-Peña y col [49]., basándose en la modificación de *Flores-Ramírez* un polimetilmetacrilato al metacrilato de glicidilo, creando así el llamado “(CTS-g-GMA)-g-PMMA” (fig. 2.27), siendo este un material versátil para aplicaciones de relleno dental.

Otra modificación el grupo –OH en C6 la reporta *Li Liu y col.* en 2004 [50], donde incorpora polímeros de policaprolactona en C6, llamándolo “quitosano-graft-policaprolactona” (fig. 2.28) La síntesis de este material fue llevada a cabo usando la ruta de “protección-graft-desprotección” mediante el “*Chitosan N-phthaloyl*” antes mencionado. Este es un nuevo material híbrido anfotérico, y es de gran importancia debido a su diversa funcionalidad.

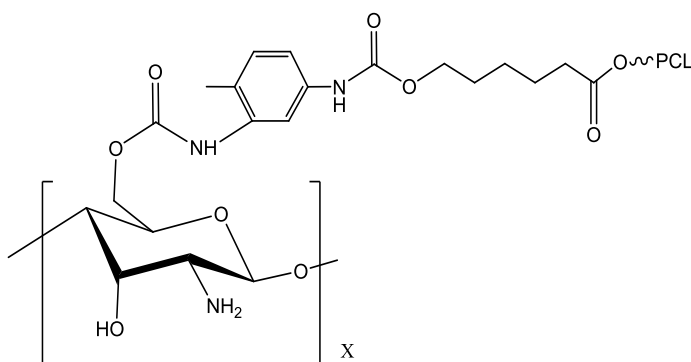


Figura 2.28 Quitosano-graft-policaprolactona

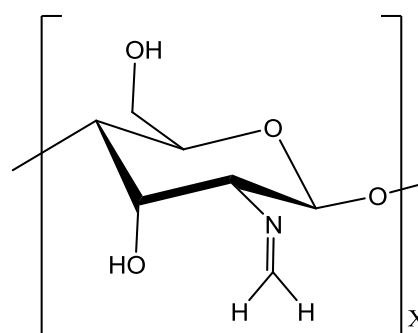


Figura 2.29 Quitosano-formaldehído

2.9.5.3. Quitosano en $scCO_2$.

Si consideramos que unas de las aplicaciones potenciales del biopolímero es en la medicina o industria farmacéutica, el evitar el uso de solventes tóxicos, contribuirá a la sencilla síntesis de estos materiales, cuya purificación será más sencilla o mas “limpia”, por lo cual, el quitosano ha sido estudiado y/o modificado en $scCO_2$. El uso del $scCO_2$ evita la dependencia del pH para la solubilidad del biopolímero.

Algunos autores ya han reportado estudios del quitosano en $scCO_2$; *Kumari Rinki y col.* [51], en 2009 reportan la modificación de los grupos amino con formaldehído a 200 bar y 40°C (fig. 2.29); *Marat O. Gallyamov y col.* [52], en 2008, deposita moléculas de quitosano en diversos sustratos.

Capítulo 3. Hipótesis y Objetivos

3.1. Hipótesis.

Se plantea que es posible en un primer paso funcionalizar el quitosano con el nitróxido 4-hidroxi-TEMPO (4-OH-TEMPO) en el grupo hidroxilo del sexto carbono del biopolímero en medio acuoso, y eventualmente evidenciar cualitativamente el éxito de este paso. Posteriormente y a partir del quitosano funcionalizado, en presencia de monómeros polares se plantea la posibilidad de incorporar copolímeros de injerto de estireno-co-anhídrido maleico en forma controlada mediante la polimerización mediada por nitróxidos, en dióxido de carbono supercrítico como medio de reacción. De igual manera se espera que este nuevo material híbrido posea potenciales aplicaciones dentro del campo biomédico y farmacéutico.

3.2. Objetivos.

El principal objetivo de esta investigación es modificar el quitosano con un copolímero de injerto de estireno-anhídrido maleico (SMA) en quitosano mediante NMRP, en dióxido de carbono supercrítico.

3.3. Objetivos particulares.

- 1) Sintetizar la sal de Bromo Hidroxilo-TEMPO (Bromuro de 1-oxo-4-hidroxi-2,2,6,6-tetrametilpiperidino). Caracterizar por FT-IR, ^1H RMN, DSC y TGA.
- 2) Funcionalizar el grupo $-\text{CH}_2\text{OH}$ del Quitosano con 4-hidroxi-TEMPO, mediante la sal de bromo previamente sintetizada. Demostrar la funcionalización por FT-IR, ^1H RMN, ^{13}C RMN, DSC y TGA.
- 3) Sintetizar el copolímero de injerto de estireno-anhídrido maleico (SMA) mediante NMRP en scCO_2 . Caracterizar por FT-IR, ^{13}C RMN, DSC, y TGA.

Capítulo 4. Desarrollo Experimental

En este capítulo se describen los materiales, equipos, métodos de purificación de reactivos y solventes, y se detallan los procedimientos de síntesis implementados en este trabajo.

4.1. Materiales y Reactivos.

- ⊗ 4-hidroxi-2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxil (4-hidroxi-TEMPO)
- ⊗ Estireno (St, 99.9 %),
- ⊗ Anhídrido maleico (MA, 99.9 %),
- ⊗ Bromo (Br₂, 99.9%)
- ⊗ Trietilamina (TEA, 99.5 %),
- ⊗ Hidróxido de sodio (NaOH, 99.9%)
- ⊗ Hidruro de calcio (CaH)
- ⊗ Sulfato de sodio anhidro (NaSO₄, 99.9%)
- ⊗ Quitosano extraído de camarón.
- ⊗ Cloroformo deuterado (CDCl₃)
- ⊗ Agua deuterada (D₂O)
- ⊗ Ácido Camforsulfónico
- ⊗ Ácido acético (CH₃COOH)
- ⊗ Ácido trifluoracético (CF₃COOH)
- ⊗ Bromuro de potasio (KBr)
- ⊗ Dióxido de carbono (CO₂, INFRA)
- ⊗ Tetrahidrofurano (THF, Biosolve),
- ⊗ Cloroformo (CHCl₃, Biosolve y J. T. Baker)
- ⊗ Acetona (Biosolve y J. T. Baker)
- ⊗ Dimetilformamida (DMF)
- ⊗ Metanol (Biosolve y J. T. Baker)
- ⊗ Tetracloruro de carbono (CCl₄).

Los reactivos en los que no se menciona la fuente fueron provistos por Aldrich.

4.2. Síntesis de la sal de bromo-hidroxi-TEMPO.

El 4-hidroxi-TEMPO (radical libre), el bromo (Br_2) y el tetracloruro de carbono anhidro (de Aldrich), fueron usados directamente del envase.

En un matraz se preparó una solución de 4-Hidroxi-TEMPO (0.032 mol en 100 mL de tetracloruro de carbono anhidro, CCl_4) para después añadir el bromo estequiométricamente determinado (0.032 mol), lentamente por goteo. Un sólido café es formado instantáneamente, para después ser separado de la solución por filtración. Es muy importante considerar que el bromo es muy volátil y que su adición es poco satisfactoria por lo que para obtener un mayor rendimiento, después de realizada la filtración, se repitió el procedimiento dos veces más, primero agregando un 60% y después un 40% de la cantidad estequiométrica requerida de bromo, para un exceso total del 100%.

Inmediatamente después la sal de bromo-hidroxi-TEMPO (sal de Br-OH-TEMPO) ó bromuro de 1-oxo-4-hidroxi-2,2,6,6-tetrametilpiperidino, se sometió a una extracción soxhlet en CCl_4 a 40°C por 24 horas para eliminar el TEMPO remanente. La sal fue liofilizada durante 24 horas, y analizada por FT-IR, ^1H RMN, DSC y TGA.

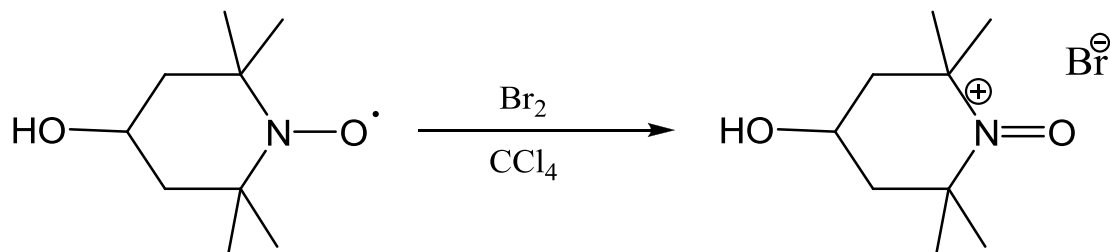


Figura 4.1 Mecanismo de reacción de la sal de Br-OH-TEMPO.

4.3. Funcionalización de quitosano mediante sal de Br-OH-TEMPO.

En una solución de 100 mL de ácido acético 0.1M se disolvió 0.5 gr de quitosano en agitación vigorosa por espacio de una hora, hasta que alcanza su completa disolución. Después se agregaron 0.0049 mol de trietilamina (TEA) e inmediatamente se comenzó la adición de 0.0042 mol de la sal de Br-OH-TEMPO (disueltos en 40 mL de ácido acético 0.1M). La reacción se satura de atmosfera inerte de argón. La reacción se mantiene en agitación vigorosa a temperatura ambiente durante 48 horas.

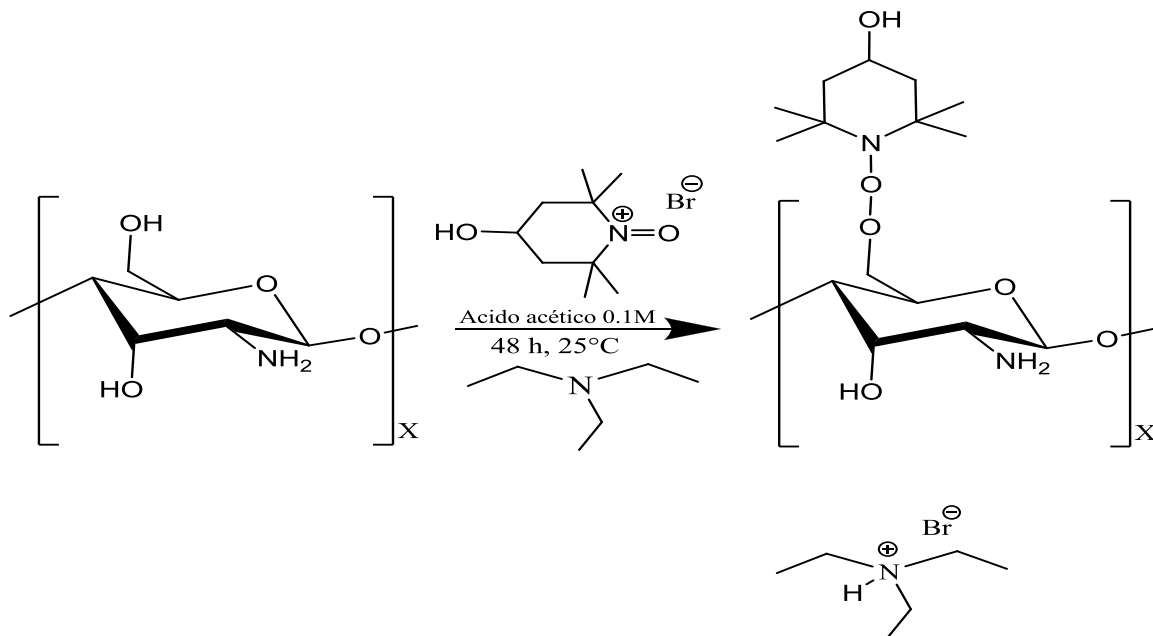


Figura 4.2 Reacción de funcionalización del quitosano por la sal de oxoammonio.

La cantidad de TEA adicionada corresponde a la cantidad estequiométrica de la sal de Bromo-OH-TEMPO que participa también en la reacción.

Transcurrido el tiempo, el biopolímero funcionalizado con grupos nitróxidos fue purificado 4 veces por precipitación en acetona (99%) y redisolución en ácido acético 0.1M para remover la sal de bromo remanente. Se liofilizó por 24 horas, junto con el quitosano virgen, se sometió a análisis de FT-IR, ^1H RMN, ^{13}C RMN, DSC y TGA para evidenciar la funcionalización. Para recuperar la sal de trietilamina, que es el producto secundario formado durante la reacción, la acetona en la cual se precipitó el quitosano, se sometió a precipitación en tetrahidrofurano (THF). Esta sal se filtró y liofilizó por 12 horas y se sometió a análisis de FT-IR y ^1H RMN.

El comportamiento del pH fue monitoreado a lo largo de cada uno de los pasos seguidos en la reacción de funcionalización; este parámetro es fundamental, puesto que la reacción es llevada en medio ácido para mantener la disolución del quitosano y es primordial evitar que el pH aumente y sea un medio básico. El parámetro es determinado mediante un pH-metro “*Hanna Instruments*”.

Las medidas del pH fueron establecidas en la solución de ácido acético 0.1M, cuando el quitosano fue agregado a la solución ácida hasta la que medición se mantuvo constante, al momento de agregar la trietilamina y la sal de bromo hasta alcanzar su estabilización y a partir de ahí, cada 8 horas hasta finalizar la reacción.

4.4. Copolimerización de injerto controlado de SMA en quitosano en $scCO_2$.

Las reacciones de copolimerización en $scCO_2$, se realizaron en una celda de alta presión de acero inoxidable con capacidad máxima de 25 mL. La celda es de volumen variable debido a la presencia de un pistón móvil al interior de la celda (fig. 4.3). Este pistón secciona la celda en 2 cámaras, una que contiene sólo CO_2 y una donde se lleva a cabo la reacción, la primera cámara controla la presión durante el transcurso de la reacción. La presión en el sistema es controlada mediante una bomba automática, y la temperatura se controla por una resistencia conectada a un reóstato.

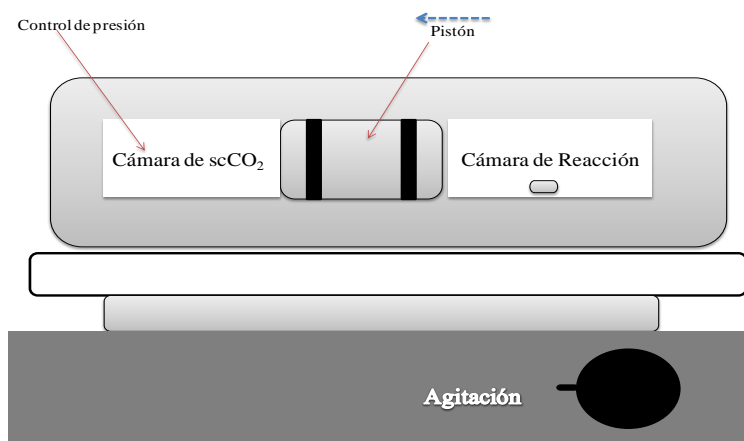


Figura 4.3 Celda de alta presión.



Figura 4.4 Fotografía de la celda de alta presión.

El CO₂ utilizado en la reacción, debió ser sometido a enfriamiento a 2°C por lo menos 12 horas, esto con la finalidad de comprimirlo y facilitar la elevación de la presión en el sistema.

Para los experimentos de copolimerización, el estireno fue lavado primeramente con una solución al 10% w/w de hidróxido de sodio (NaOH), posteriormente se adicionaron 2.5 g de sulfato de sodio anhidro (NaSO₃) para secar el monómero y se mantuvo en reposo por una hora para después ser filtrado. Enseguida se añadió hidruro de calcio (CaH₂) con el fin de asegurar la ausencia de agua, y finalmente se destiló a vacío. El anhídrido maleico y el ácido camforsulfónico (de Aldrich), fueron usados directamente del envase.

A la celda de alta presión se suministran 0.15 gr de quitosano funcionalizado (QF), 0.087 mol de estireno (St), 0.0045 mol de anhídrido maleico (AM) y 0.0016 mol de ácido camforsulfónico (CSA) para evitar la autoiniciación térmica de los monómeros [21, 53-55], bajo agitación vigorosa. Las condiciones de reacción son de 130 °C y 19 MPa (2750 psi) por 5 horas.

Al término de la reacción, se colocó en la celda una válvula de liberación para conectar directamente a un vaso de precipitados con metanol, se procedió a abrir lentamente la válvula para liberar la presión de la cámara de reacción y que el CO₂ liberado arrastrara material residual (monómero y copolímero libre si se llegase a presentar), y de esta forma en la cámara de reacción solo quedó el CSA mezclado con el quitosano-g-

SMA-OH-TEMPO. Para separar estos dos últimos, el producto se trasladó a un vaso de precipitados con agua en agitación magnética, donde el CSA se disolvió y el quitosano-g-SMA-OH-TEMPO precipitó, se sometió a filtración y se liofilizó por 24 horas.

Con la finalidad de eliminar por completo monómeros residuales y buscar un medio soluble para el nuevo material y por ende establecer una caracterización más completa, el Quitosano-g-SMA-OH-TEMPO se sometió a pruebas de solubilidad en cloroformo, tetrahidrofurano, dimetilformamida, cloruro de metileno, acetona y ácido acético 0.1M, y precipitación en metanol. Después de este último paso, el material se filtró y se liofilizó de nueva cuenta por 24 horas. El producto final (quitosano-g-SMA-OH-TEMPO) se caracterizó por ^{13}C -RMN, FT-IR, DSC y TGA.

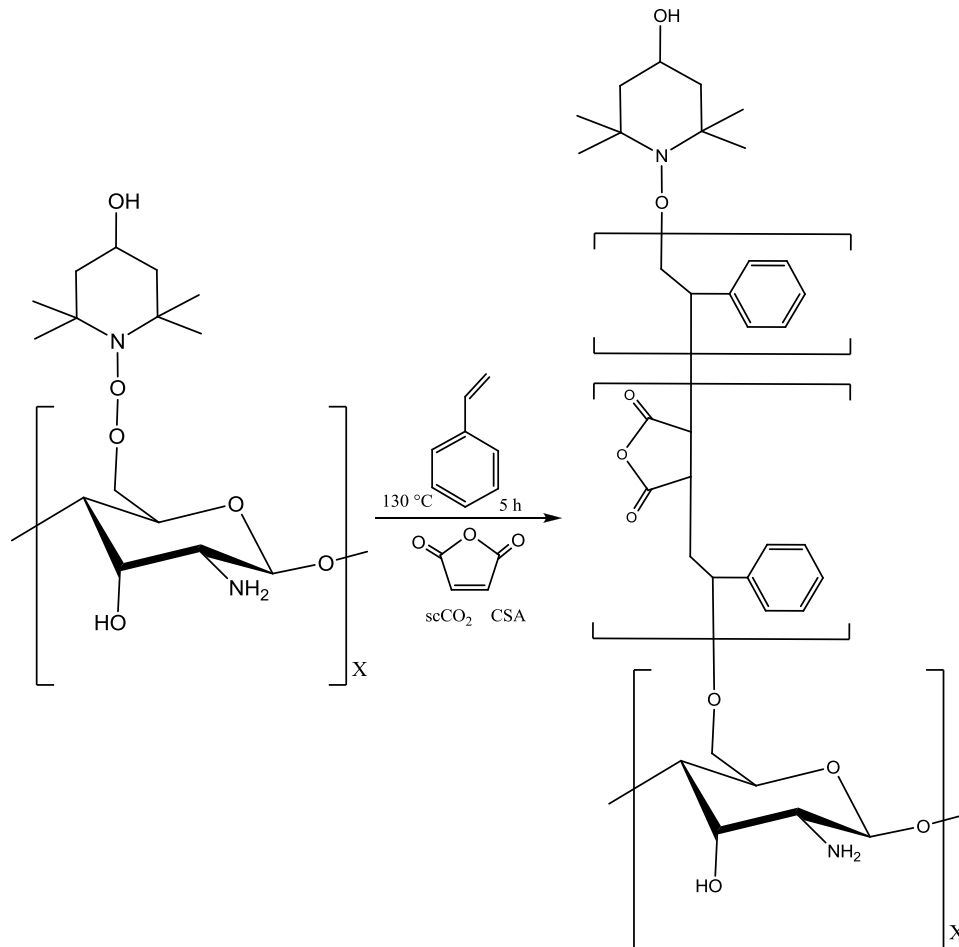


Figura 4.5 Reacción de copolimerización de injerto del quitosano.

El rendimiento de la reacción, se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$R\% = \left(\frac{W_F - W_0}{W_0} \right) * 100 \quad \text{Ecuación 4.1}$$

donde W_F corresponde al peso del producto final, y W_0 corresponde al peso inicialmente alimentado de los reactivos, excepto del ácido.

4.5. Caracterización.

4.5.1. Espectroscopia de infrarrojo (FT-IR).

La radiación infrarroja de frecuencias menores a 100 cm^{-1} es absorbida y convertida por una molécula orgánica en energía de rotación molecular. Esta absorción es cuantificada; por lo tanto, un espectro de rotación molecular consiste de líneas discretas. La radiación infrarroja en el rango de $10000\text{-}100 \text{ cm}^{-1}$ es absorbida y convertida por una molécula orgánica en energía de vibración molecular. Esta energía es también cuantificada, pero el espectro aparece más bien como bandas que como líneas, esto es debido a que el cambio en la energía vibracional es acompañado por un número de cambios en la energía rotacional. En específico las bandas de energía vibracional-rotacional aparecen entre 4000 y 400 cm^{-1} . La frecuencia o longitud de onda de absorción depende de la masa relativa de los átomos, la fuerza de los enlaces y la geometría de los átomos [56]. Las bandas a longitudes de onda características se pueden relacionar a grupos químicos, por lo tanto, se pueden seguir los cambios que puede presentar una molécula y cuantificar la presencia de un enlace en particular presentes en las estructuras de los materiales utilizados.

Los espectros de infrarrojo (FT-IR) fueron obtenidos en un equipo “Nexus 470 Spectrometer” en el rango del infrarrojo medio ($4000\text{-}400 \text{ cm}^{-1}$) usando 32 barridos y 4 cm^{-1} de resolución. Se utilizó la técnica de transmisión por pastilla de bromuro de potasio (KBr). Por esta técnica espectroscópica se analizaron la sal de Br-OH-TEMPO, el quitosano virgen, el quitosano funcionalizado, la sal de trietilamina y el quitosano-g-SMA-TEMPO. Las muestras fueron liofilizadas por lo menos 12 horas antes de su análisis.

4.5.2. Determinación del grado de desacetilación.

El grado de desacetilación (GD %) del quitosano fue calculado por espectroscopia de infrarrojo. Se trazaron dos líneas base en el espectro de FT-IR tal como lo propone *Baxter y col*; la ecuación utilizada para el cálculo se muestra a continuación: [57]

$$GD\% = 100 - \left[\left(\frac{A_{1652}}{A_{3448}} \right) * 115 \right] \quad \text{Ecuación 4.2}$$

donde A_{1655} y A_{3450} son la absorbancia en 1655 cm^{-1} de la señal de la amida del grupo acetil, y la de 3450 cm^{-1} de la banda de los grupos hidroxilo.

4.5.3. Resonancia magnética nuclear (RMN).

Los núcleos magnéticos pueden absorber energía de radiofrecuencia cuando se colocan en un campo magnético de una potencia específica. Cuando esa absorción ocurre, los núcleos se encuentran en un estado de *resonancia*. Diferentes núcleos atómicos dentro de una molécula resuenan a diferentes frecuencias de radio para la misma fuerza de campo magnética [56]. La observación de tales frecuencias resonantes magnéticas de los núcleos presentes en una molécula dará lugar a los desplazamientos químicos y a las constantes de acoplamiento, permitiendo así el estudio más detallado de la estructura de las moléculas.

Las pruebas de ^1H RMN para algunos reactivos y algunos de los productos se llevaron a cabo en un espectrómetro FT-NMR Jeol Eclipse de 300MHz, usando 16 “*scans*” de resolución. Para el análisis de la sal de Br-OH-TEMPO, se utilizó agua deuterada (D_2O) como disolvente a temperatura ambiente, el quitosano virgen y el quitosano funcionalizado se disolvieron en D_2O y ácido trifluoroacético, y finalmente las sales de TEA se disolvieron en cloroformo deuterado (CDCl_3) y se analizaron a temperatura ambiente. Las muestras se prepararon con una concentración aproximada de 10 mg/mL.

Las pruebas de ^{13}C RMN en estado sólido se llevaron a cabo en un espectrómetro *FT-NMR Bruker Avance* de 500 MHz y 18000 “*scans*” de resolución, soportado por la técnica de “spin de ángulo mágico” (MAS, por sus siglas en inglés) y polarización cruzada (CP, por sus siglas en inglés). Las muestras sometidas a esta caracterización

espectroscópica fueron el quitosano virgen, el quitosano funcionalizado y el quitosano-g-SMA-OH-TEMPO. Se utilizaron 300mg. de cada muestra a temperatura ambiente.

4.5.4. Análisis Termogravimétrico (TGA).

La estabilidad térmica de los materiales se puede conocer por medio de análisis termogravimétricos (TGA), los cuales se llevaron a cabo en un analizador termogravimétrico “*Q500 TGA*”. Todas las muestras a analizar fueron liofilizadas 12 horas para eliminar humedad adsorbida. Se analizaron por esta técnica la sal de Br-OH-TEMPO, el quitosano virgen, el quitosano funcionalizado y el quitosano-g-SMA, siendo la técnica de análisis diferente para cada muestra, como a continuación se muestra:

- ∅ Quitosano virgen y quitosano funcionalizado: El calentamiento fue con una rampa de 5°C/min, en un intervalo de 30°C a 130°C. Al alcanzar este punto, la temperatura se mantuvo durante 30 min en este valor para eliminar en lo más posible la humedad físicamente adsorbida, para después, incrementar la temperatura a una tasa de 5 °C/min hasta alcanzar 450°C, bajo un flujo de nitrógeno de 50 mL/h
- ∅ Sal de Br-OH-TEMPO y quitosano-g-SMA: El calentamiento fue con una rampa de 10°C/min en el intervalo de 30-650°C.

4.5.5. Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).

Las diferentes transiciones térmicas presentadas en la sal de Br-OH-TEMPO, el quitosano virgen, quitosano funcionalizado y quitosano-g-SMA fueron detectadas mediante un calorímetro diferencial de barrido “*DSC Q 200 TA Instruments*”. En este análisis se utilizaron muestras con un peso de 8 a 10 mg contenidas en portamuestras de aluminio. La metodología del análisis para los primeros 3 materiales mencionados se llevó a cabo de la siguiente manera: se calentó de 0-130°C a una velocidad de 5°C/min y se mantuvo la temperatura constante por 30 min, después se enfrió hasta 0°C, para después calentar hasta 350 °C a una velocidad de 5°C/min en atmósfera de nitrógeno con un flujo de 50 mL/h. Para el quitosano-g-SMA-OH-TEMPO, lo que cambió fue la velocidad de calentamiento (10°C/min) hasta los 350°C, bajo la atmosfera antes mencionada.

4.5.6. Determinación de peso molecular.

El peso molecular promedio viscosimétrico (M_v) para el quitosano virgen y el quitosano-g-SMA-OH-TEMPO se determinó por viscosimetría, donde la viscosidad intrínseca $[\eta]$ se precisó a partir de las mediciones de la viscosidad cinemática en un viscosímetro Anton Paar modelo AMVn, en un rango de concentración de la muestra de 0.0001-0.001 g/mL. Para el quitosano virgen se utilizó una solución de 0.5 M de ácido acético/0.25 M de cloruro de sodio en agua desionizada a 25 °C. El M_v , se obtuvo a partir de la ecuación de Mark-Houwink (ecuación 4.3), las constantes $\alpha=0.657$ y $K_m=2.14 \cdot 10^{-3}$ fueron tomados de la literatura [58]. La $[\eta]$ del quitosano-g-SMA-OH-TEMPO se determinó en una solución de acetona/ácido acético 0.1 M (3:1) a 25 °C. No se tienen reportes de las constantes α y K_m para este material en específico, por lo que se optó calcularlas en función de la contribución de grupos aditivos, método reportado por D.W. van Krevelen y K. Te Nijenhuis [59].

$$[\eta] = K_m(M_v)^\alpha$$

Ecuación 4.3

Capítulo 5. Resultados y Discusión.

Basándose en los objetivos de funcionalizar el quitosano con grupos nitróxido y que éste actúe como macroiniciador para la síntesis de copolímeros de injerto, a continuación se presentan los resultados y discusiones correspondientes a la caracterización química y comportamiento térmico de los compuestos sintetizados.

5.1. Sal de Br-OH-TEMPO.

A pesar de que las sales de oxoamonio han sido ampliamente utilizadas en la oxidación de alcoholes, generalmente el bromo (Br) no es el halógeno preferentemente utilizado por los investigadores en la síntesis de estas sales. Tal es el caso de *Yoshida y col.* [60], que prefiere utilizar cloro (Cl), debido a una mayor estabilidad que el Br y de una mayor facilidad al momento de prepararla. Pero a su vez, *Bonilla y col.* [26] reportan un método simple de sintetizar sal de Bromo-TEMPO, afirmando la estabilidad de trabajar con este halógeno, por lo cual se amplía el uso de esta sal, para diversos fines [11, 61].

En este trabajo de investigación se sintetizó una sal de bromo hidroxí-TEMPO (Bromuro de 1-oxo-4-hidroxí-2,2,6,6-tetrametilpiperidino ó Br-OH-TEMPO), en base al procedimiento utilizado en [11, 26], la que debido a la presencia del grupo OH en la cuarta posición del TEMPO, puede presentar diferentes propiedades (solubilidad en medio acuoso). Siguiendo los pasos reportados en la sección 5.1, se alcanzó un rendimiento del 90%.

5.1.1. Análisis por FT-IR de la sal de Br-OH-TEMPO.

En el espectro de FT-IR de la sal de Br-OH-TEMPO (fig. 5.1), se aprecian los estiramientos de los enlaces O-H ($\nu_{\text{O-H}}$) en 3332 cm^{-1} y de los enlaces C-H ($\nu_{\text{C-H}}$) en el rango de $2902\text{-}2987\text{ cm}^{-1}$; en 1463 y 1375 cm^{-1} se aprecian las flexiones de los carbonos secundarios y primarios respectivamente. En la región de los enlaces de heteroátomos, se aprecian los estiramientos de los enlaces C-N y C-O en 1098 y 1052 cm^{-1} respectivamente.

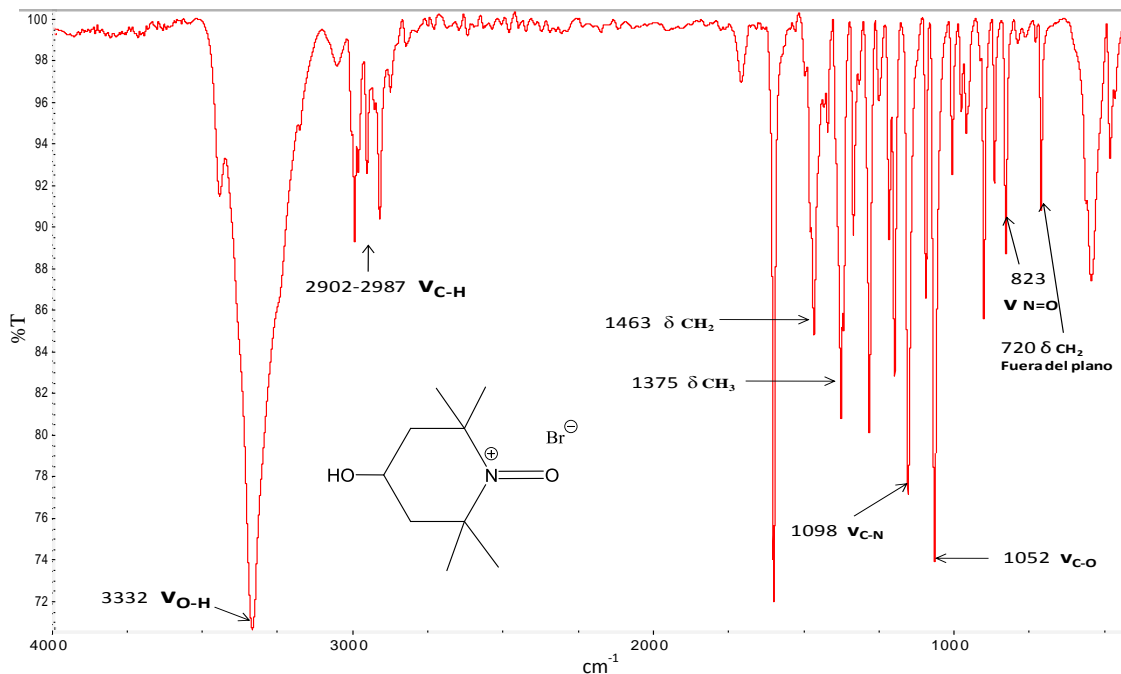


Figura 5.1 Espectro de FT-IR de la Sal de Bromo-OH-TEMPO

5.1.2. Análisis por ^1H -RMN de la sal de Br-OH-TEMPO.

El espectro de RMN de ^1H de la sal de bromo (fig. 5.2), se obtuvo en óxido deuterado (agua deuterada) (D_2O , $\delta=4.8$ ppm), se aprecia un singulete que integra para 12 protones, correspondientes a los metilos (β , $\text{N}=\text{O}$), a campos más altos, aparece una doble señal en 1.4-1.6 ppm, que integra para 4 protones correspondientes a los carbonos secundarios (β , OH). En 3 ppm, se aprecia el protón correspondiente al carbón terciario (α , OH). El protón del grupo $-\text{OH}$, se aprecia a 4.8 ppm. Se esperaría que los protones correspondientes a los metilos aparecerían a campos más altos ($\delta < 2$ ppm), y que los protones correspondientes a los carbonos secundarios aparecieran en campos más bajos ($\delta > 2$ ppm), pero la presencia del grupo OH ejerce un efecto inductivo sobre los protones de los metilos (β , $\text{N}=\text{O}$), ya que estos protones están más desprotegidos, y son más factibles a ser afectados por la nube electrónica del grupo $-\text{OH}$.

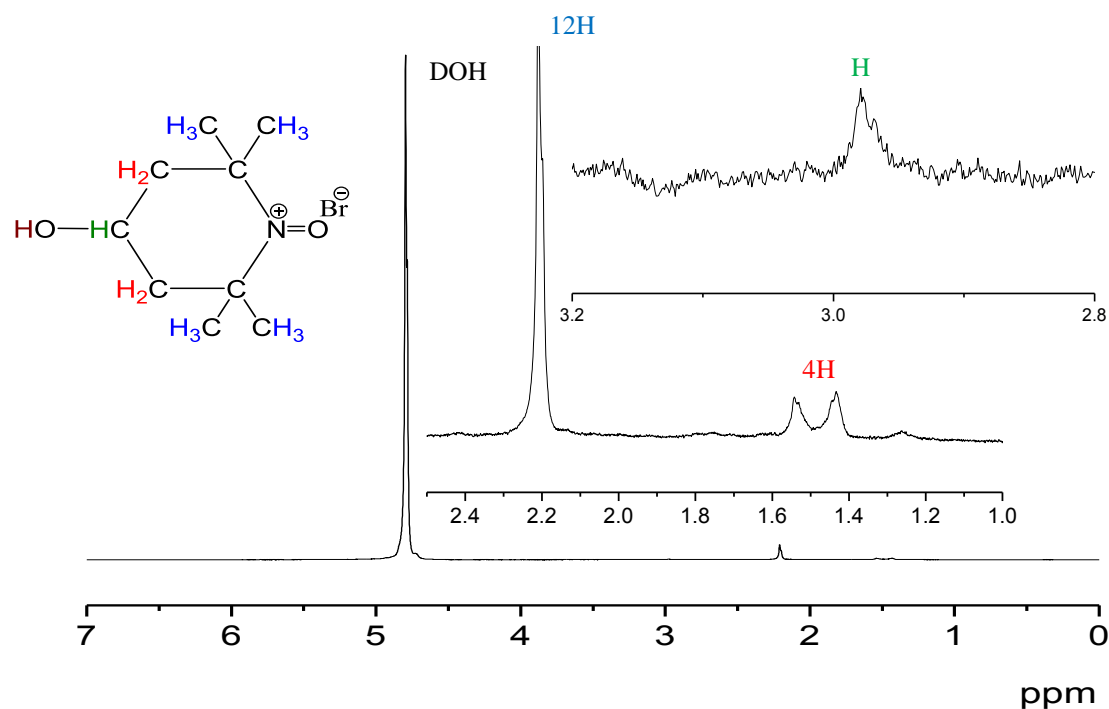


Figura 5.2 RMN de ^1H de Sal de Br-OH-TEMPO

Por medio de la espectroscopia de FT-IR y ^1H -RMN, se corroboró la estructura (así como su estabilidad) de la sal de Br-OH-TEMPO.

5.1.3. Análisis térmico de la sal de Br-OH-TEMPO.

En la curva de TGA correspondiente a la sal de Br-OH-TEMPO (fig. 5.3), en 178°C se observa un fuerte incremento en la derivada, lo cual sugiere la ruptura del enlace iónico entre el nitróxido y el Br. Posteriormente, con las pérdidas de 15.94 y 28.11% en 214 y 260°C respectivamente, se puede observar la descomposición del anillo del 4-OH-TEMPO. En la curva de DSC (fig. 5.4), solo es posible apreciar una temperatura de fusión en 161°C .

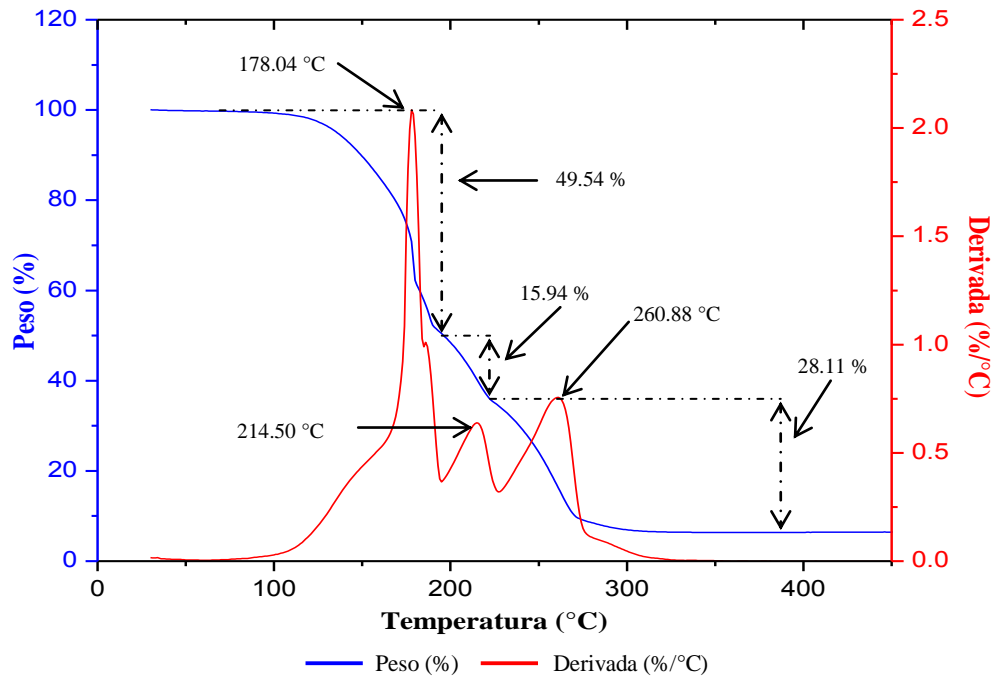


Figura 5.3 Curva de TGA de la Sal de Br-OH-TEMPO.

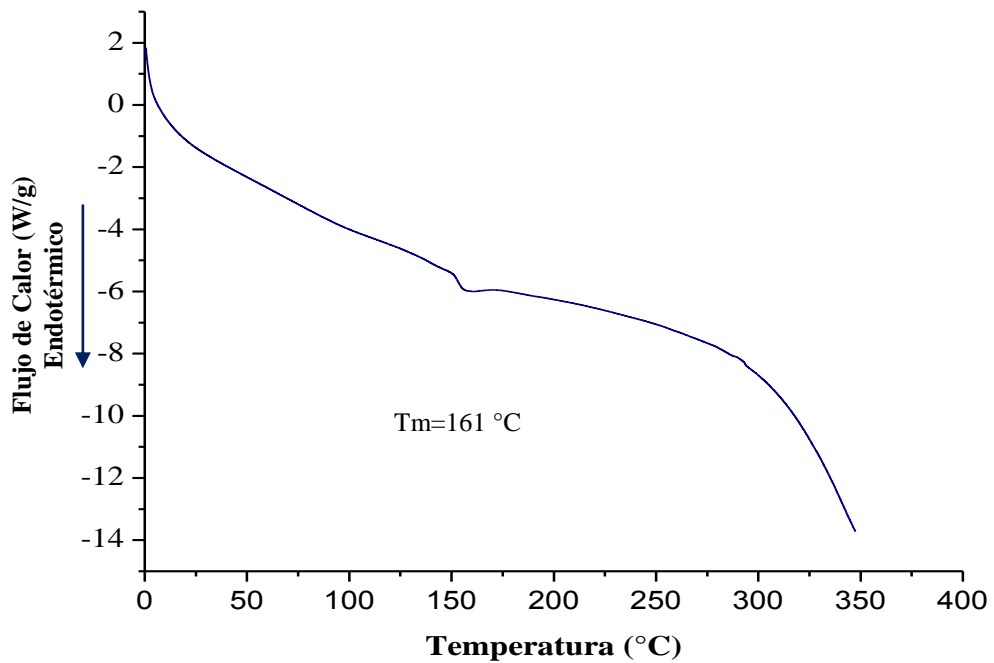


Figura 5.4 Curva de DSC de la Sal de Br-OH-TEMPO.

5.2. Funcionalización de quitosano mediante la sal de Br-OH-TEMPO.

En la búsqueda de una técnica para la funcionalización del quitosano, se optó por llevar a cabo la reacción en un medio acuoso ácido para tenerlo soluble en un medio homogéneo; así, los grupos amino del biopolímero se encuentran bloqueados u ocupados con los protones del medio ácido, y se expone a los grupos -OH del sexto carbono (C6) a ser blanco del ataque nucleofílico por la sal de Br-OH-TEMPO (Fig. 5.5).

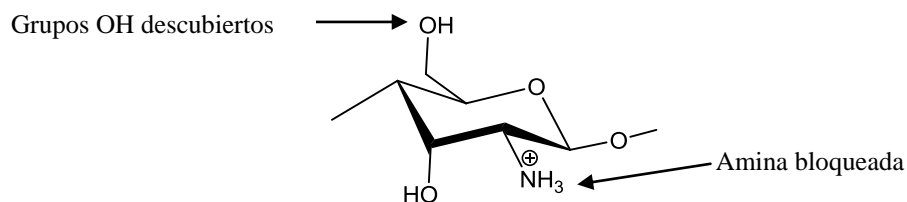


Figura 5.5 Estado de los sustituyentes del quitosano al ser solubilizado.

Uno de las principales variables a considerar durante la reacción, fue la interacción de la TEA con el medio ácido y el equilibrio químico en el proceso de funcionalización, lo cual se detalla en la sección 5.4.

El quitosano, debido a su naturaleza y por lo tanto a sus propiedades, principalmente por su solubilidad (soluble en medio ácido), es un material que presenta una especial dificultad de caracterización, requiriendo una metodología muy específica en comparación a otros polímeros y una mayor sensibilidad de los instrumentos, limitándose así a una caracterización principalmente cualitativa más que cuantitativa. El quitosano utilizado en este trabajo de investigación, proviene de la quitina de camarón y, debido a que es una fuente natural, puede presentar una amplia biodiversidad (incluso en el mismo lote), por lo que se decidió caracterizar el quitosano precursor para así establecer sus características y eventualmente observar de una forma más clara la funcionalización del biopolímero.

Son pocos los autores que reportan una distribución del peso molecular del quitosano, en su mayoría sólo se limitan a reportar el peso molecular promedio viscosimétrico (M_v), esto se debe principalmente a la limitante de equipos disponibles y de dominio de técnicas para su obtención. Para este trabajo, el M_v del quitosano utilizado se determinó por viscosimetría el M_v en de 343000g/mol con una $[\eta]=9.2847$ dL/gr, obtenido

como se explica en la sección 4.5.6. Se funcionalizaron 0.59 mmol de un total de 3.1 mmol de -OH posibles de funcionalizar lo que equivale al 18.9 % (determinado en función de la sal de trietilamina recuperada).

5.2.1. Análisis por FT-IR del quitosano virgen y funcionalizado.

Los análisis por FT-IR del quitosano virgen, como el del funcionalizado, se realizaron por transmisión en pastilla de KBr. Es muy importante mencionar que al momento del análisis la muestra debe estar lo más seca posible, puesto que la presencia de humedad interfiere con las señales propias del biopolímero. El quitosano utilizado no presenta un 100% de desacetilación, puesto que presenta señales relativas al grupo acetyl, por lo tanto el obtener un espectro bajo condiciones adecuadas permitió determinar el grado de desacetilación en función de la intensidad de determinadas señales y la presencia de enlaces y grupos químicos característicos de la molécula.

El espectro (fig. 5.6) corresponde al quitosano virgen, donde se muestran una gama de señales intensas; en 3448 cm^{-1} correspondientes a los estiramientos de los enlaces

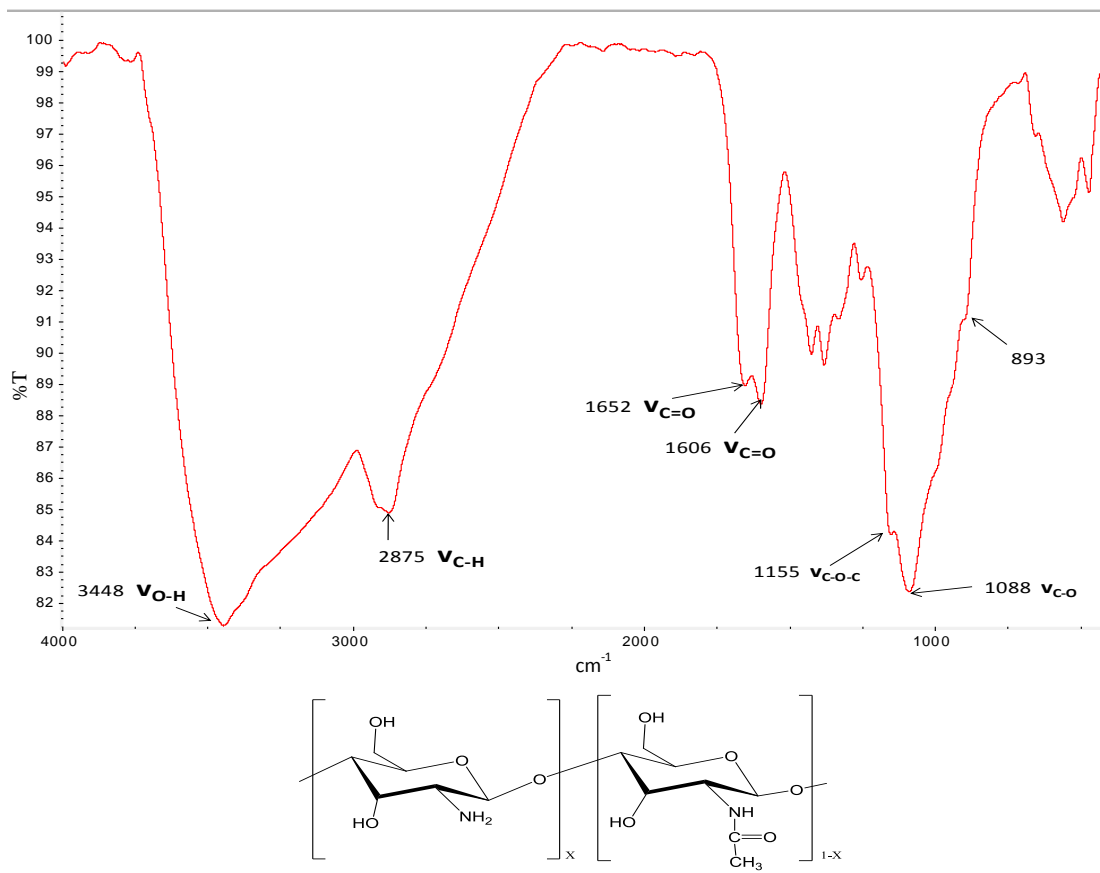


Figura 5.6 Espectro de FT-IR del quitosano virgen.

O-H (ν_{OH}) de los grupos $-\text{CH-OH}$ y $-\text{CH}_2\text{-OH}$ del quitosano. La intensidad de estas señales no depende del grado de desacetilación (GD), pero sí depende de que las muestras no estén bien secas. Cabe mencionar que alrededor de 3269 cm^{-1} aparece el estiramiento referente al enlace N-H (ν_{NH} variable con el GD), pero sufre interferencia por la señal de ν_{OH} [62]. En el espectro se observan por lo menos cinco estiramientos simétricos y asimétricos de los enlaces C-H (ν_{CH}) en 2875 cm^{-1} de los grupos $-\text{CH-}$ del anillo, del grupo $-\text{CH}_2\text{-OH}$, y del CH_3- del grupo acetyl. También se observa un doblete en 1652 y 1606, las cuales se asignan a los estiramientos del carbonilo del grupo acetyl ($\nu_{C=O}$), por lo tanto estas señales sí son sensibles al grado de desacetilación y también las flexiones de los grupos OH (δ_{OH}) del agua (en caso de que la muestra no se encuentre adecuadamente libre de humedad). Entre 1160 y 1150 cm^{-1} , se aprecian señales correspondientes a los estiramientos $-\text{C-O}$ (ν_{CO}). En 1155 cm^{-1} , se observan las vibraciones relacionadas al enlace C-O-C (ν_{C-O-C}).

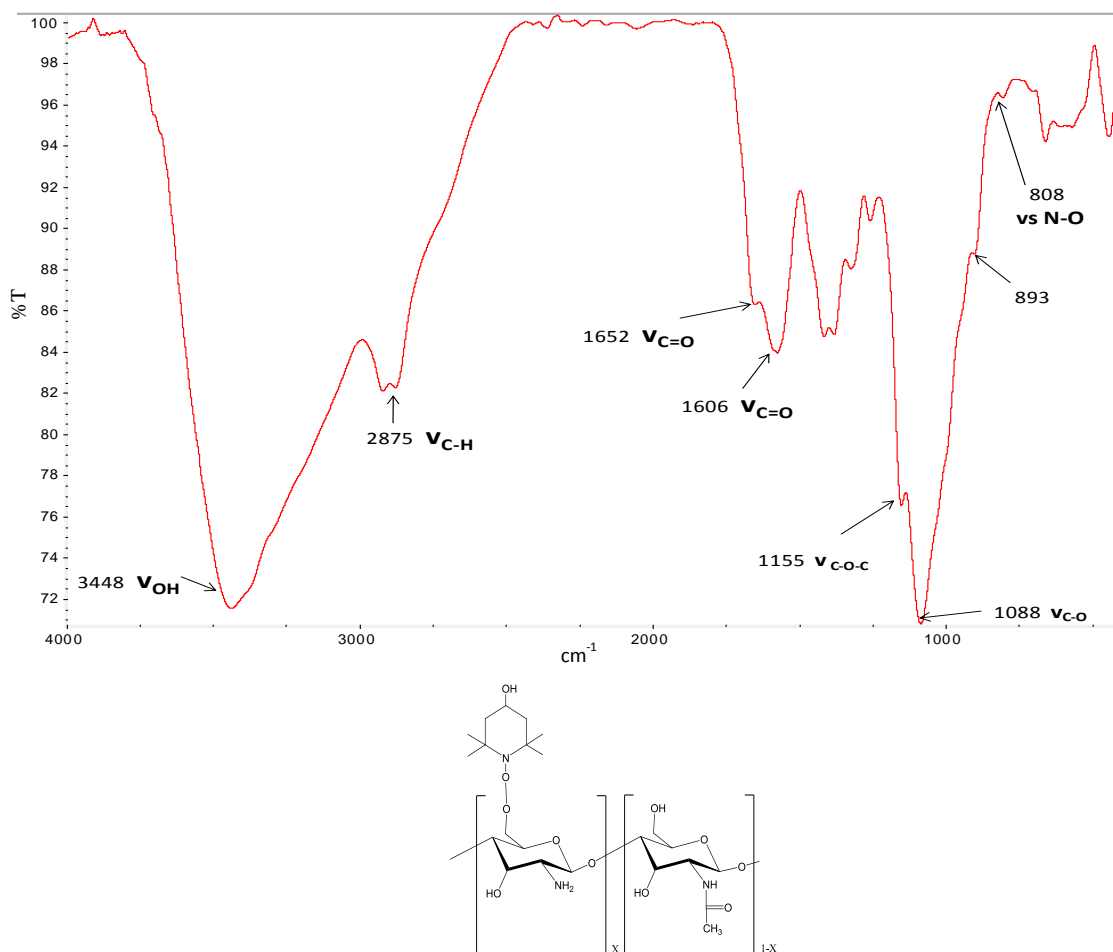


Figura 5.7 Espectro de FT-IR del Quitosano funcionalizado

La señal más intensa en 1088 cm^{-1} , se asigna a los estiramientos de los enlaces C-O (ν_{CO}) en el anillo, correspondientes a los grupos $-\text{COH}$, y $-\text{CH}_2\text{-OH}$. No se encuentran reportes correspondientes a respecto a la señal en 893 cm^{-1} , ya que presenta variabilidad en su intensidad. [49, 62]. En el espectro correspondiente al quitosano funcionalizado (fig. 5.7), además de las señales ya discutidas, se aprecia una nueva en 808 cm^{-1} que se atribuye al estiramiento del grupo nitróxido ($\nu_{\text{N-O}}$) del 4-Hidroxi TEMPO [63]. Considerando que las muestras fueron analizadas en el mismo equipo de infrarrojo bajo las mismas condiciones de prueba, se puede inferir que la señal referente al grupo peróxido unido al carbono C6 ($-\text{C-O-O-}$) aparece en la zona de 1075 a 1100 cm^{-1} , sin embargo, no es posible apreciarla como tal, debido a que en esa zona aparece la señal del estiramiento del enlace C-O (ν_{CO}), en cambio, se aprecia que la intensidad en la señal aumenta con respecto al espectro del quitosano virgen, por lo que se especula que el estiramiento del enlace peróxido aparece en la zona en discusión.

5.2.2. Determinación del grado de desacetilación.

El cálculo del grado de desacetilación (GD %) se realizó por medio de la espectroscopia de infrarrojo, tal como se menciona en la sección 4.5.2.

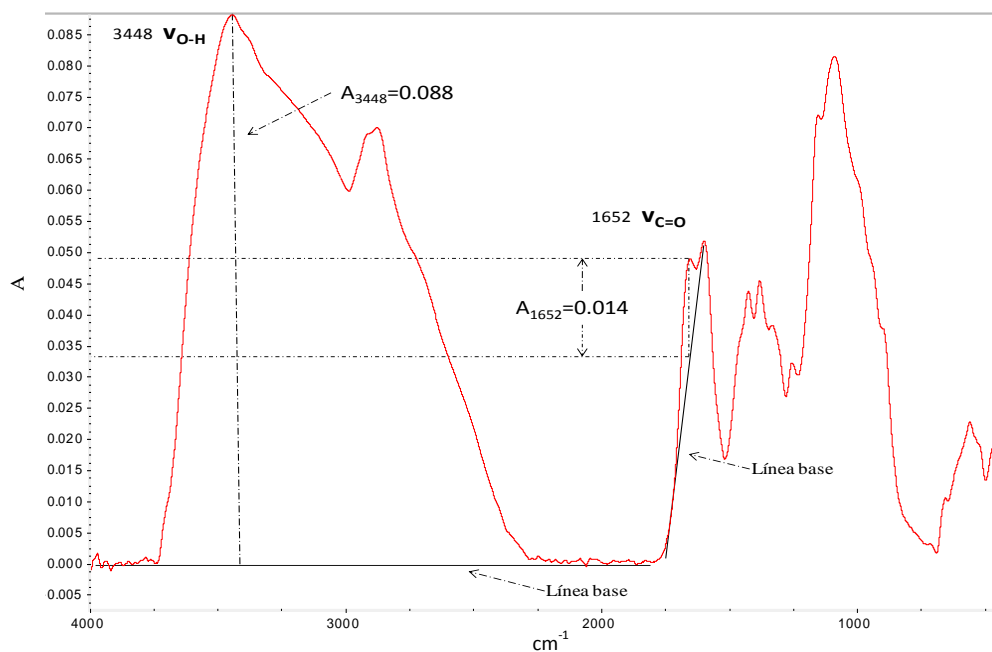


Figura 5.8 Espectro de FT-IR del quitosano virgen, en absorbancia, para el cálculo del GD%

Se trazaron dos líneas base para las señales de 3448 y 1652 cm^{-1} , y se midió la absorbancia respecto a las líneas base, como se muestra en la fig. 5.8. Según la ecuación 4.2 y en base en las mediciones de la absorbancia de las señales antes mencionadas, se procedió al cálculo del GD %:

$$GD\% = 100 - \left[\left(\frac{A_{1652}}{A_{3448}} \right) * 115 \right] = 100 - \left[\left(\frac{0.014}{0.088} \right) * 115 \right]$$

$$GD\% = 81.70$$

El GD % del quitosano proporcionado por Sigma-Aldrich fue del 81.70%, lo cual nos dice que el 18.3 % (grado de acetilación) de una cadena de quitosano posee grupos acetil.

5.2.3. Análisis por RMN de ^1H del quitosano virgen y funcionalizado.

Lo más complicado para la preparación de una muestra para el análisis de ^1H por RMN del quitosano, es su limitada solubilidad. Además de todos los factores ya mencionados que limitan la disolución, para este particular análisis, los desplazamientos del disolvente no deben traslaparse con los del quitosano. Los solventes más comunes para el análisis son el dióxido deuterado (D_2O) con ácido que contenga como máximo un protón en su estructura, ya sea como el ácido clorhídrico o el ácido trifluoroacético (TFA), o mejor aún, utilizar un ácido deuterado, como DCl ó CD_3COOD . Recientemente *Novoa-Carballal* [64] reporta que no sólo el TFA puede disolver más rápido al quitosano, sino que también se evita un traslape como podría ocurrir con el CD_3COOD , además presenta un mayor estabilidad con el paso del tiempo.

En el espectro del quitosano virgen (Fig. 5.9), el desplazamiento en 2.2-2.3 ppm representa 3 protones de la unidad de acetyl-glucosamina (GlcNAc, que se encuentra aproximadamente en un 18 % en la cadena del biopolímero). La señal en 2.9-3.2 ppm representa los protones H-2 de la glucosamina (GlcN). Los protones del metilo, en 2.0 - 2.1 ppm, poseen una resolución más alta. Los protones de H-1 (GlcNAc en 4.8 ppm y GlcN en 4.6 ppm) poseen una menor resolución [43]. En el espectro correspondiente al quitosano funcionalizado (Fig.5.10) se aprecian además de los desplazamientos correspondientes al quitosano, 3 señales entre 0.5 y 0.7 ppm que pueden atribuirse a los protones de los

carbonos primarios y secundarios del nitróxido. También en 3.6 ppm, se aprecia un desplazamiento de baja intensidad correspondiente a los protones α al enlace peróxido en el sexto carbono del quitosano. Los desplazamientos correspondientes a los grupos $-OH$ y NH_2 no son visibles debido al uso de óxido deuterado como disolvente.

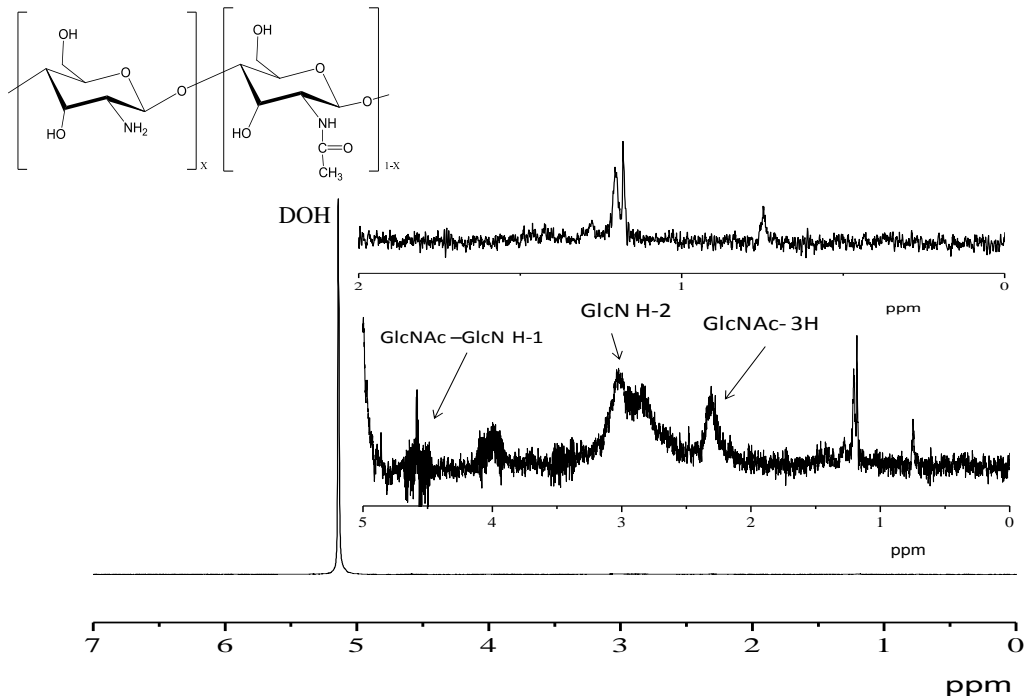


Figura 5.9 Espectro de RMN de 1H de quitosano virgen

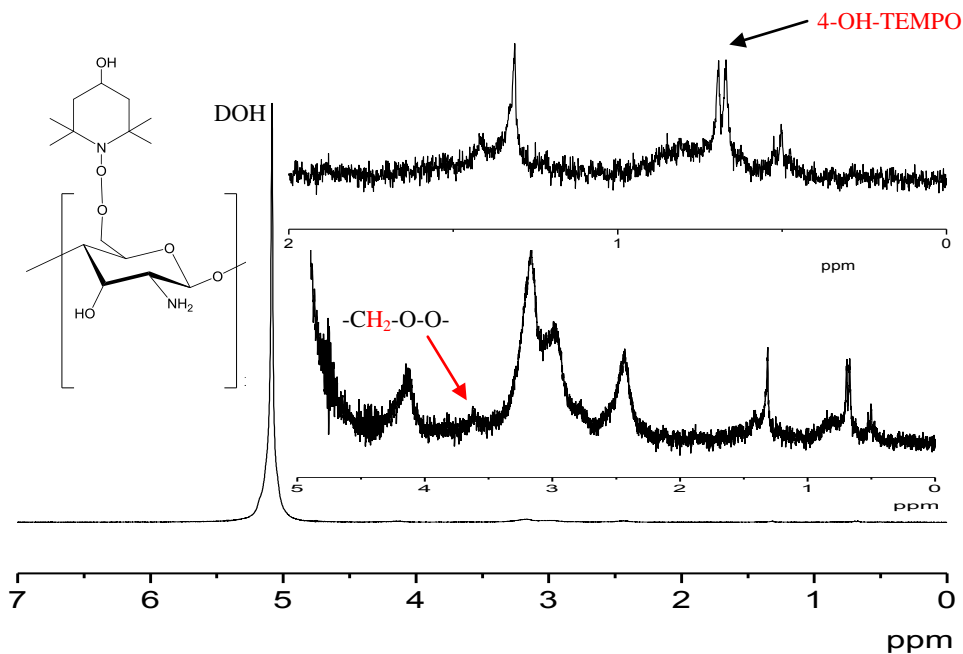


Figura 5.10 Espectro de RMN de 1H de quitosano funcionalizado

5.2.4. Análisis por RMN de ^{13}C en estado sólido.

La técnica de resonancia magnética nuclear en estado sólido, brinda la oportunidad de estudiar cadenas de polímeros de baja solubilidad mediante esta rama de la espectroscopia. Tal es el caso del quitosano, que a pesar de ser un biopolímero soluble en medio ácido, se necesitan dos disolventes deuterados (agua y ácido) lo cual puede elevar el costo, y se tiene que considerar en el espectro las señales emitidas por los disolventes.

Un espectro de RMN convencional de un líquido o una disolución está formado por señales muy estrechas y bien resueltas que contienen información molecular. Sin embargo, un experimento similar con un sólido produce señales muy anchas, que pueden llegar a ser de varios kHz o incluso MHz, lo que impide la obtención de información de manera fácil. La diferencia en la forma de línea de sólidos y líquidos proviene de la diferente movilidad de las moléculas. En estado líquido o en disolución, las moléculas se reorientan muy rápidamente promediando las interacciones anisotrópicas, que están presentes en muestras sólidas. De este modo, la obtención de espectros de alta resolución de sólidos exige la aplicación de técnicas especiales. Una de las técnicas utilizadas para aumentar la resolución de los espectros, es la llamada “Rotación de Angulo Mágico” (MAS por sus siglas en inglés), mediante la cual, al rotar la muestra (a una frecuencia de 1 a 70 kHz) a un “ángulo mágico” $\theta_m = 54.74^\circ$ ($\cos^2 \theta_m = 1/3$) con respecto a la dirección del campo magnético, las líneas normalmente anchas se vuelven más angostas, aumentando la resolución para una mejor identificación de las señales y por consiguiente un buen análisis del espectro [56].

Otra técnica complementaria es la polarización cruzada, la cual se basa en la tendencia de la magnetización para fluir de núcleos muy polarizados a núcleos menos polarizados cuando los dos se ponen en contacto. La secuencia de polarización cruzada se puede aplicar a una muestra para obtener información acerca de la proximidad relativa de los spines S e I en una muestra sólida. En general, cuanto más próximos estén los núcleos I y S, mayores serán los acoplamientos dipolares, y más eficaz la transferencia de polarización entre ellos, y antes (tiempos de contacto más cortos) se alcanzará el máximo en la polarización cruzada.

En el espectro de ^{13}C CP MAS del quitosano virgen (fig. 5.11), en 108.4 ppm se observa el desplazamiento correspondiente al carbono terciario alfa al oxígeno y beta al grupo amino C1. Debido a que el grado de acetilación del quitosano utilizado es del 18.3%, éste presenta grupos acetil unidos a C2 (fig. 5.11), por lo cual el espectro muestra dos desplazamientos de baja intensidad, esto por el carbonilo C7 y el metil C8 en 177.89 y 28.03 ppm respectivamente.

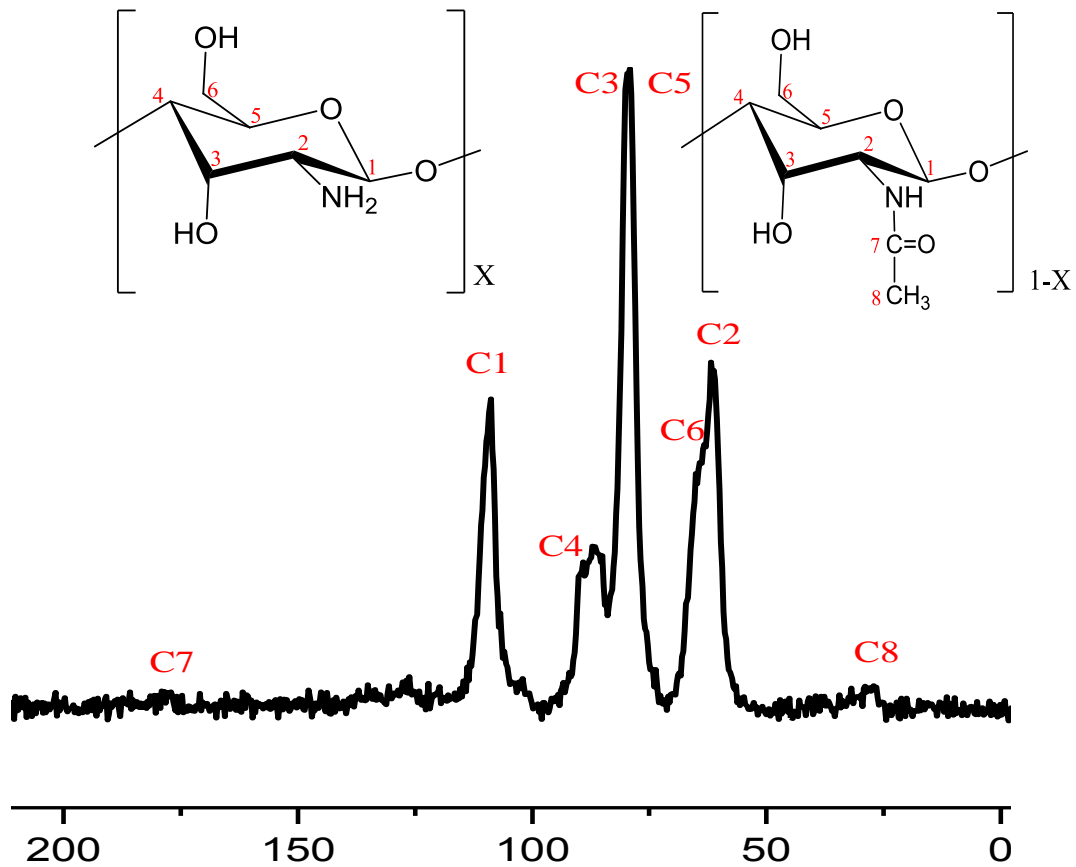


Figura 5.11 Espectro de RMN de ^{13}C CP MAS de quitosano virgen.

El carbono C2 se desplaza en 61.26 ppm, mientras que el desplazamiento seguido corresponde a C6 en 65.13. En 79.32 ppm, aparecen las señales traslapadas de C3 y C5. Con respecto a la resonancia de C4, aparecen dos señales en el rango de 86.39 a 89.27 ppm, estas señales separadas se pueden deber a diferencias de acomodo de las cadenas poliméricas o también a los diferentes ángulos de torsión, por lo regular con separaciones

de 1-3 ppm. En este caso, esto es debido a ambos efectos [65, 66] . De hecho, es bien conocido que el quitosano exhibe polimorfismo.

El espectro de ^{13}C CP MAS correspondiente al quitosano funcionalizado (fig. 5.12) exhibe, además de las señales ya discutidas del quitosano virgen, una nueva gama de desplazamientos, correspondientes a los carbonos del 4-Hidroxi-TEMPO, el cual posee nueve carbonos, cuatro de ellos son primarios, dos secundarios, dos cuaternarios y uno terciario.

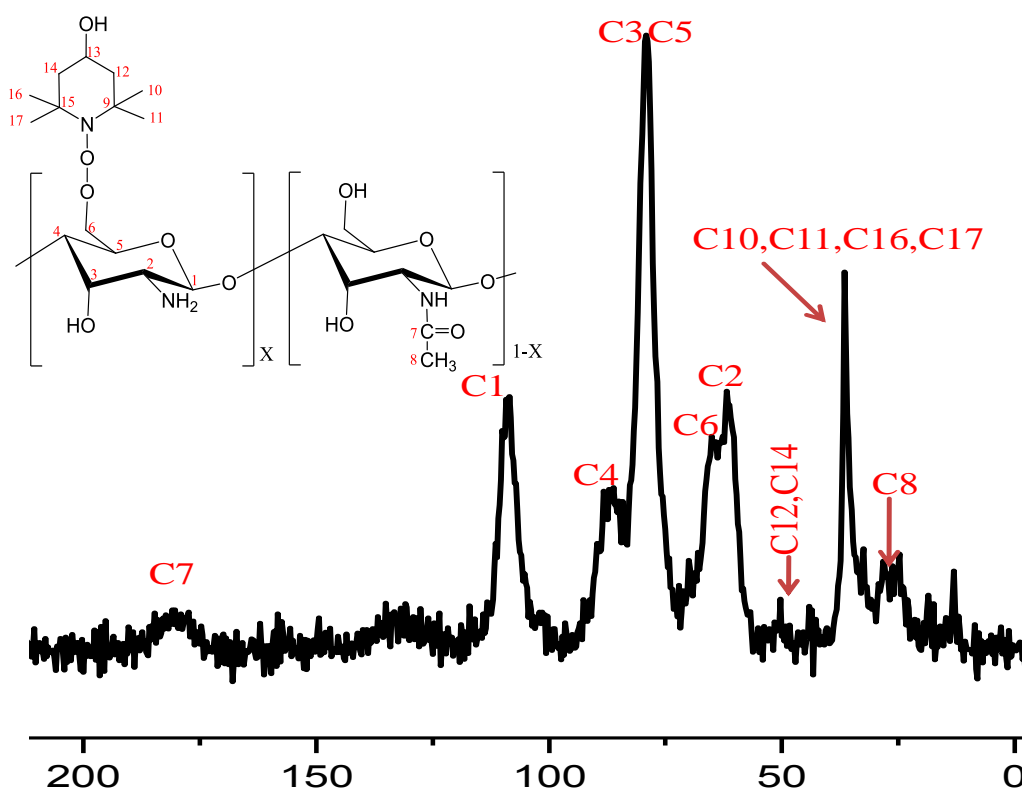


Figura 5.12 Espectro de RMN de ^{13}C CP MAS de quitosano funcionalizado.

Alrededor de 36.52 ppm se aprecian nuevos desplazamientos correspondientes a los cuatro carbonos de los metilos del TEMPO (C10, C11, C16 y C17). Las resonancias de los carbonos secundarios (C12 y C14) del nitróxido aparecen en 50 ppm [63]. Respecto a los carbonos cuaternarios de los grupos TEMPO (C9 y C15), existen reportes de que desplazan

alrededor de 63-64 ppm [63], por lo que se especula que aparecerían traslapados con los del C2.

5.2.5. Análisis térmico del quitosano virgen y funcionalizado.

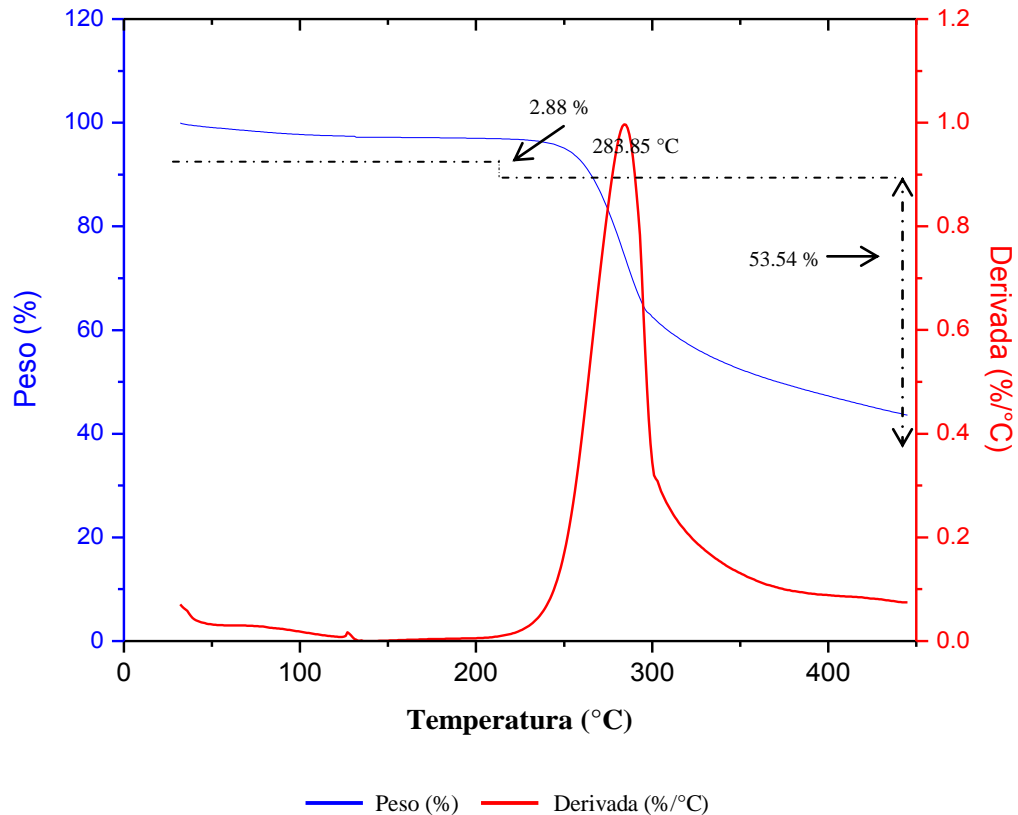


Figura 5.13 Curva de TGA del quitosano virgen.

La curva de TGA (fig.5.13) correspondiente al quitosano virgen revela principalmente 2 distintas pérdidas de peso, la primera de 2.88 % peso es principalmente atribuida al agua físicamente adsorbida, debido a que el quitosano es un material higroscópico en demasía ya que la humedad se encuentra unida al biopolímero por puentes de hidrógeno con los grupos -OH. Con la isoterma de 30 min se busca eliminar en lo más posible la humedad físicamente adsorbida. A partir de 200 °C, la segunda pérdida de peso, corresponde con la pirólisis del biopolímero, que comienza con la división de los enlaces glucosídicos seguida por el proceso de degradación del quitosano.

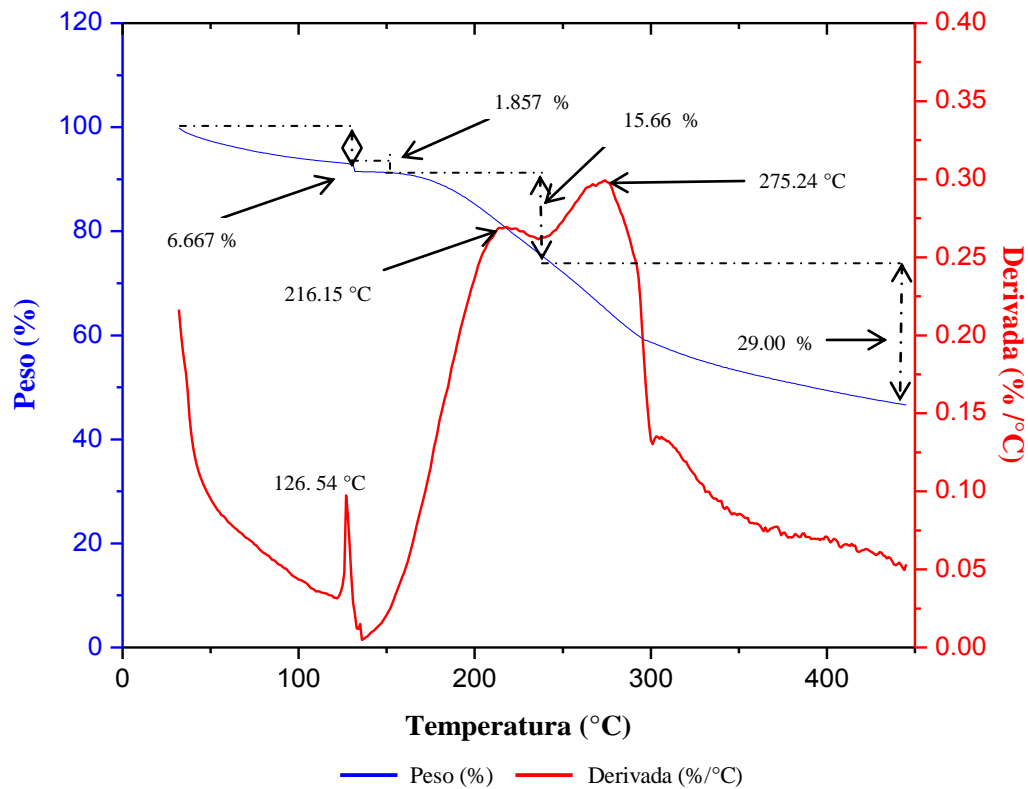


Figura 5.14 Curva de TGA del quitosano funcionalizado

La curva de TGA (fig. 5.14) correspondiente al quitosano funcionalizado, muestra la pérdida de peso agua físicamente adsorbida en el intervalo de 30 °C a 100 °C. Después de este valor ocurre un cambio positivo en la pendiente de la derivada, alcanzando un máximo local a los 126 °C. Este valor de temperatura fue atribuido a la ruptura del enlace peróxido -O-O- por el cual solo se unen covalentemente el quitosano y el nitróxido. La pérdida de peso en este intervalo 1.857% peso sugiere la remoción del 4-Hidroxi-TEMPO, ya que es conocido que este tipo de nitróxidos exhiben alta volatilidad con tendencias a sublimarse a temperatura ambiente. A partir de 140°C y hasta 275°C, un nuevo cambio se observa correspondiente a la subsecuente descomposición del biopolímero [26].

La técnica de DSC es comúnmente el método utilizado para la determinación de la temperatura de transición vítrea (T_g), la temperatura de cristalización (T_c) y la temperatura de fusión (T_m) y por lo tanto, para producir diagramas de fase en materiales poliméricos [67].

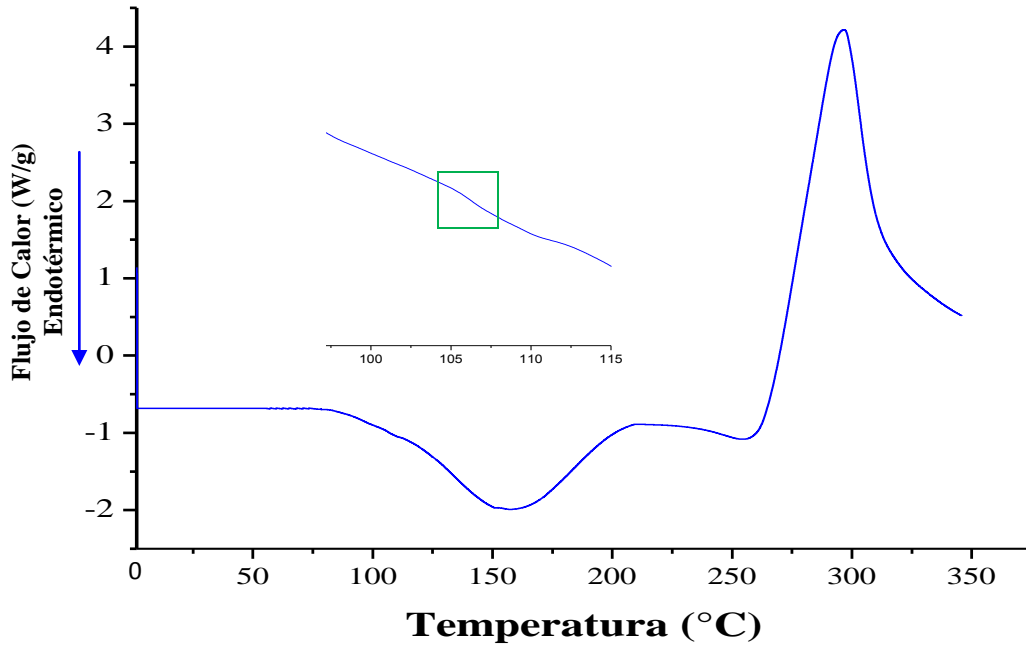


Figura 5.15 Curva de DSC del quitosano virgen.

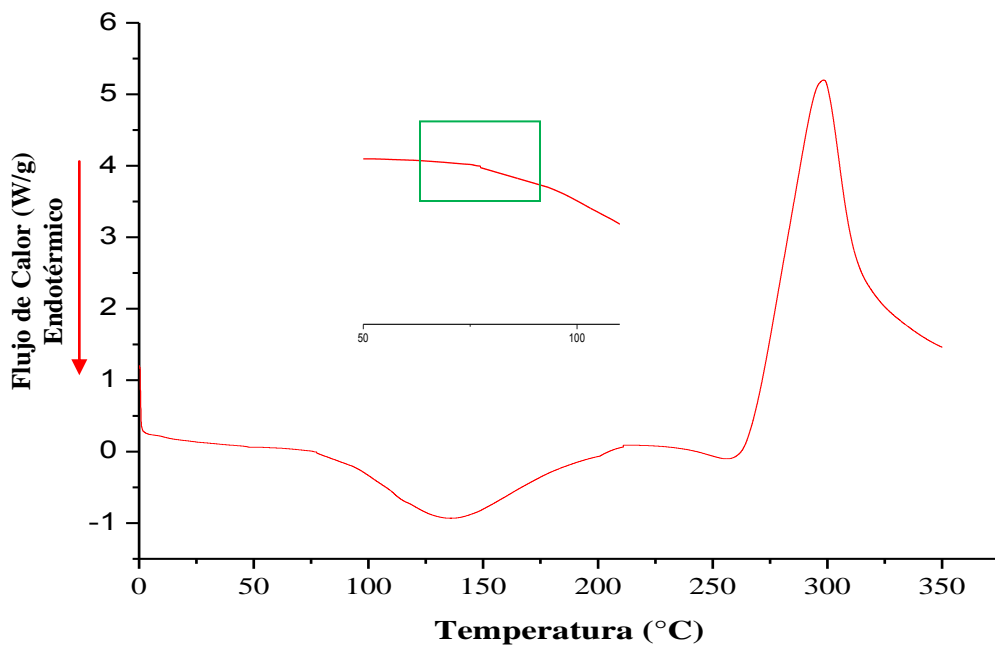


Figura 5.16 Curva de DSC del quitosano funcionalizado.

Existen algunos materiales poliméricos que no exhiben claramente la Tg, como la quitina, quitosano y celulosa [67], esto puede ser relacionado a la ineficiente eliminación del agua, la técnica de preparación de la muestra a evaluar, la sensibilidad del equipo así como la técnica de medición. El proceso de fusión resulta evidenciado por un pico endotérmico en la curva DSC. La capacidad para determinar temperaturas de transición y entalpías hace de las curvas DSC una herramienta valiosa para producir diagramas de fase para diversos sistemas químicos

También existe controversia sobre la influencia del GD en la Tg, puesto que mientras *Dong Yanming y col.* en 2004 [68], reportan que este no influye, el mismo año *Maria Mucha* [69] y más tarde *Betzabé González y col.*, en 2009 [67] reportan que es la humedad la causante de la disconformidad en los valores de Tg.

En los análisis por DSC, se determinó una Tg de 110°C para el quitosano virgen y de 73°C para el funcionalizado. Estas determinaciones se pueden prestar a escepticismo, principalmente la Tg del quitosano virgen, además de por los motivos antes mencionados, porque a pesar de existir numerosos estudios acerca de la Tg de este biopolímero y su método de obtención, en todos éstos no se ha establecido un valor determinado, aunque en promedio va desde los 130°C hasta los 160°C.

El caso de la temperatura de fusión (Tm) no es similar al caso de la Tg, donde si bien es muy importante tomar en cuenta la metodología de análisis, esta transición si es claramente evidenciada por un pico endotérmico en la curva. El termograma de DSC del quitosano virgen muestra su temperatura de fusión (Tm) en 155°C y una temperatura de degradación en 293°C, la cual se puede atribuir a la descomposición de la glucosamina [49]. Para el quitosano funcionalizado, la Tm disminuye 20°C y aparece en 135°C, la T_D en 295 °C. La incorporación del 4-OH-TEMPO a la estructura del biopolímero en C6, impide un mejor acomodo de las cadenas provocando el decremento en la Tm y en la Tg del quitosano funcionalizado. Otra teoría pudiera ser en base a que el nitróxido en estado puro posee una baja Tm (69-71°C) [70], y por ende, la sinergia de estos dos materiales puede contribuir a la disminución de la Tm en el quitosano funcionalizado. Este comportamiento de la Tm ha sido reportado en diversas modificaciones del quitosano. La disminución de la

T_g y la T_m indica que el quitosano pierde estabilidad térmica al ser sometido a la funcionalización.

5.3. Análisis de la sal de trietilamina (Hidrobromuro de trietilamina).

Una prueba alusiva a la funcionalización de quitosano, es la formación de la sal de trietilamina (hidrobromuro de trietilamina ó sal de TEA), producto secundario formado a raíz de la captura del ácido bromhídrico y la TEA. Se recuperaron de esta sal 0.58 mmol la cual se sometió a análisis de FT-IR y ¹H RMN, para comprobar su estructura molecular.

5.3.1. Análisis por FT-IR de la sal de TEA.

En el espectro de FT-IR (fig. 5.17), se puede apreciar los estiramientos de los enlaces N-H (ν_{N-H}) en 3460 cm^{-1} , este enlace corresponde a la unión del hidrogeno del ácido, con el nitrógeno de la TEA. Entre 2975 y 2485 aparecen los estiramientos de los enlaces C-H (ν_{C-H}), y entre 1476 y 1393 cm^{-1} se aprecian las flexiones de los carbonos secundarios y primarios correspondientes a los etilos. Finalmente el estiramiento del enlace C-N (ν_{C-N}) se aprecia en 1040 cm^{-1} .

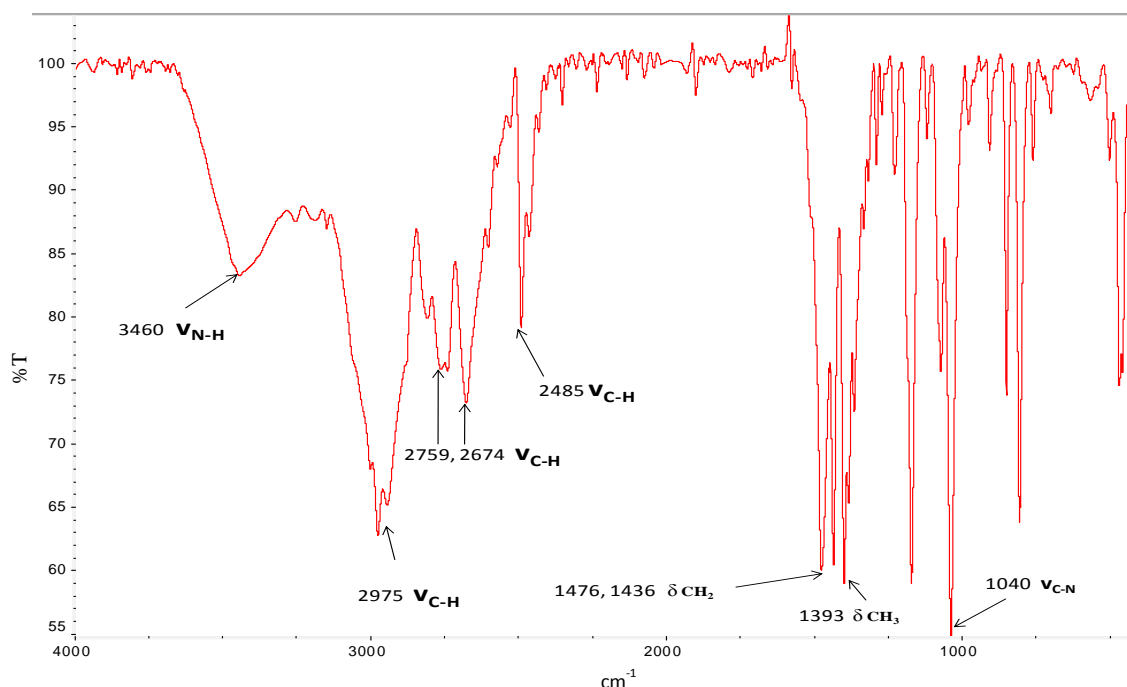
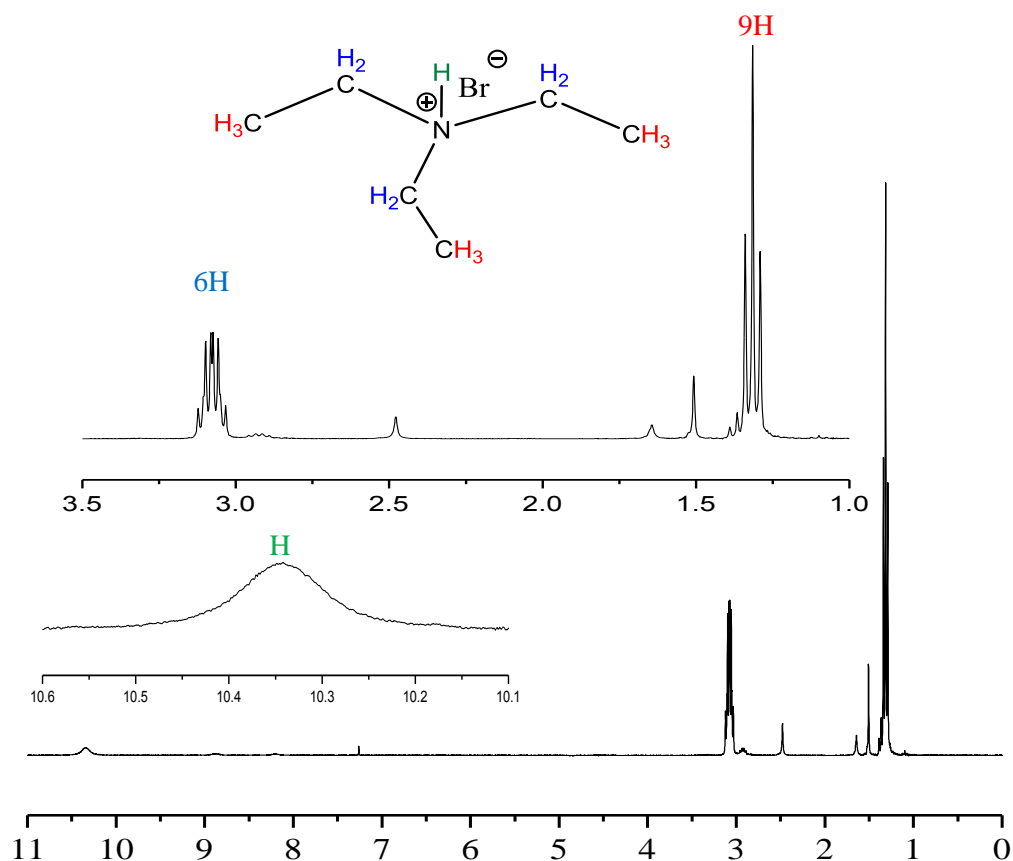


Figura 5.17 Espectro de FT-IR de la sal de TEA.

5.3.2. Análisis por RMN de ^1H de la sal de trietilaminaFigura 5.18 Espectro de RMN de ^1H de la sal de TEA.

Se analizó por RMN de ^1H la sal de trietilamina, que es el producto secundario formado durante la reacción de funcionalización y una evidencia indirecta del éxito de la misma (fig. 5.18). En 1.25 ppm se aprecia un triplete con una integral de 9, dicho desplazamiento corresponde a los hidrógenos β al nitrógeno. Así mismo, los hidrógenos α al nitrógeno, se desplazan químicamente a 3.1 ppm con un quintuplete con una integral de 6. El protón procedente del ácido bromhídrico que interacciona con el nitrógeno de la TEA se desplaza en 10.35 ppm.

5.4. Equilibrio químico entre quitosano, ácido acético y trietilamina.

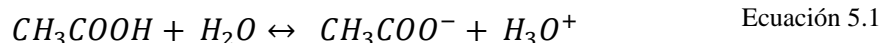
En la reacción de funcionalización, uno de los principales factores fue mantener un pH ácido durante el tiempo de reacción para conservar un medio homogéneo. La naturaleza de las especies reaccionantes así como su interacción con el medio (acuoso ácido) provocaron un estudio detallado sobre su estado de disociación y su posterior equilibrio químico, los cuales se determinaron por mediciones de pH, como se detalla en la sección 4.3.1.

Como se mencionó con anterioridad, se ha logrado la funcionalización de sustratos con grupos nitroxidos en presencia de sales de oxoamonio y TEA en medios neutros (disolventes orgánicos), siendo éste el primer estudio que se realiza en un medio acuoso ácido, de ahí la importancia de este estudio.

En esta sección se detalla la disociación y equilibrio químico seguido por el quitosano al ser solubilizado, la TEA al ser añadida al medio de reacción y la sal de bromo OH-TEMPO.

5.4.1. Disolución de quitosano en ácido acético y su pH

La disolución del quitosano (0.55 gr) se llevó a cabo en una solución (100 mL) de ácido acético al 1% (0.1 M) y se mantuvo en agitación vigorosa por espacio de una hora, durante ese tiempo el pH se mantuvo en variación hasta establecerse constante en 4.09 ($[H_3O^+] = 8.12 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l}$) a partir de los 60 minutos. *M. Rinaudo y col.*, en 1999 [42] hacen un estudio extensivo sobre la interacción del ácido acético y el mencionado biopolímero, donde plantean que la protonación de los grupos $-NH_2$ vuelve al quitosano un polielectrolito y describen su ionización con las siguientes ecuaciones:



donde α'' es el grado de disociación del ácido acético en presencia del quitosano, α es el grado de protonación del quitosano, C_A y C_P son las concentraciones totales de ácido y polímero respectivamente. K es la constante de disociación del ácido acético. La concentración efectiva de $[H_3O^+]$ es determinada por mediciones experimentales de pH, para así calcular α'' :

$$K = \frac{(C_A \alpha'')}{C_A(1 - \alpha'')} (H_3O) = \frac{(\alpha'')}{(1 - \alpha'')} (H_3O) \quad \text{Ecuación 5.3}$$

de aquí se despeja para α'' :

$$\alpha'' = \frac{K}{(K + [H_3O^+])} \quad \text{Ecuación 5.4}$$

el grado de protonación del quitosano (α) se determina a partir de:

$$C_A \alpha'' = C_P \alpha + [H_3O^+] \quad \text{Ecuación 5.5}$$

$$\alpha = \frac{(C_A \alpha'' - [H_3O^+])}{C_P} \quad \text{Ecuación 5.6}$$

y la constante de disociación del quitosano protonado se calcula a partir de:

$$K_a = [H_3O^+] \left(\frac{1 - \alpha}{\alpha} \right) \quad \text{Ecuación 5.7}$$

Basándose en las ecuaciones anteriores y en la medición del pH, se procedió a calcular α'' , para después establecer α y K_a . C_A y C_P se determinan en 0.1 M y 0.034 monomol/L respectivamente.

$$\alpha'' = \frac{K}{(K + [H_3O^+])} = \frac{1.77 * 10^{-5}}{(1.77 * 10^{-5}) + [8.12 * 10^{-5}]} \quad \text{Ecuación 5.8}$$

$$\alpha'' = 0.178$$

Ecuación 5.9

$$\alpha = \frac{(C_A \alpha'' - [H_3O^+])}{C_P} = \frac{([0.1](0.178)) - [8.12 * 10^{-5}]}{[0.034]}$$

$$\alpha = 0.5211$$

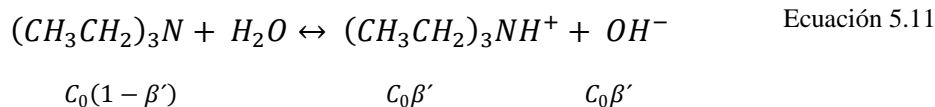
$$K_a = [H_3O^+] \left(\frac{1-\alpha}{\alpha} \right) = [8.12 * 10^{-5}] \left(\frac{1-0.5211}{0.5211} \right) \quad \text{Ecuación 5.10}$$

$$K_a = 7.4624 * 10^{-5}$$

El grado de protonación calculado ($\alpha = 0.5211$) nos dice que a este grado se obtiene la completa solubilidad del quitosano y es similar al reportado por Rinaudo ($\alpha \sim 0.5$) [42].

5.4.2. Adición de trietilamina como especie intermediaria/captor de protones al medio de reacción

Por otro lado la trietilamina, al ser una base, y ser adicionada (0.0049 mol) a un medio acuoso ácido en presencia de quitosano, se disocia y entra en equilibrio como se muestra a continuación:



donde β' es el grado de disociación de la trietilamina en presencia de quitosano.

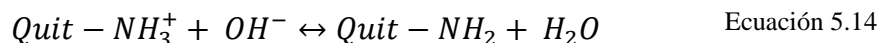
Su constante de disociación se establece a partir de:

$$K_B = \frac{[(CH_3CH_2)_3NH^+][OH^-]}{[(CH_3CH_2)_3N]} = [OH^-] \left(\frac{\beta'}{1-\beta'} \right) \quad \text{Ecuación 5.12}$$

La medición del pH fue en el instante que se añadió la TEA, y se toma el primer valor que arroja el potenciómetro, el cual fue de 4.5 ($[H_3O^+] = 3.16 * 10^{-5}$ mol/l, $[H_3O^+][OH^-] = 10^{-14}$; $[OH^-] = 3.16 * 10^{-10}$ mol/l). La concentración de $[OH^-]$ es calculada a partir de mediciones experimentales de pH. A partir de la ecuación anterior podemos conocer β' como se expresa a continuación:

$$\beta' = \frac{K_B}{K_B + [OH^-]} \quad \text{Ecuación 5.13}$$

Cabe resaltar que estas ecuaciones solo son aplicables cuando el equilibrio se ha alcanzado, y permitir que éste se alcance es una situación perjudicial para la reacción, porque el añadir trietilamina (TEA) a un medio ácido, propicia la interacción entre los iones H_3O^+ presentes y los iones OH^- provenientes de la disociación de la TEA. Conforme avanza la disociación la concentración de OH^- aumenta de tal forma que se presentan cambios de pH que pueden cambiar el carácter del medio ácido a básico, y consecuentemente, provocar la precipitación del polisacárido.



5.4.3. Adición de la sal de Bromo OH-TEMPO

Con el fin de mantener un pH ácido, se recurre a la adición inmediata de la sal de Bromo-Hidroxi TEMPO disuelta en ácido acético 0.1M después de la TEA. La medición del pH se tomo hasta que éste alcanzó su estabilización y a partir de ahí, cada 8 horas hasta finalizar la reacción 48 hrs después manteniéndose constante en 3.1 ($[H_3O^+] = 7.94 * 10^{-4}$ mol/l, $[OH^-] = 1.28 * 10^{-11}$ mol/l)

El pH durante la reacción se ve afectado por las concentraciones variables de $[H_3O^+]$ (calculadas a partir de las mediciones del pH), que se presentan a lo largo de toda la reacción, lo cual se detalla a continuación:

En la gráfica representativa del comportamiento del pH a lo largo de la reacción (Fig. 5.19), se puede observar que la $[H_3O^+] = 8.12 * 10^{-5}$ M en el punto 1 (cuando solo se tiene el quitosano disuelto en ácido acético 0.1 M) y disminuye a $3.16 * 10^{-5}$ M en el punto 2 (momento en el que se adiciona la TEA), esto porque la TEA contribuye con una concentración de $[OH^-] = 1.93 * 10^{-10}$ M. Como no se permite que el equilibrio se establezca, no se considera como la concentración total que la TEA pudiera contribuir. Finalmente al añadir la sal de Br-OH-TEMPO en ácido acético, este ultimo contribuye con

$[\text{H}_3\text{O}^+] = 7.62 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, para finalmente concluir con una $[\text{H}_3\text{O}^+] = 7.94 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, la cual se mantuvo hasta finalizar la reacción.

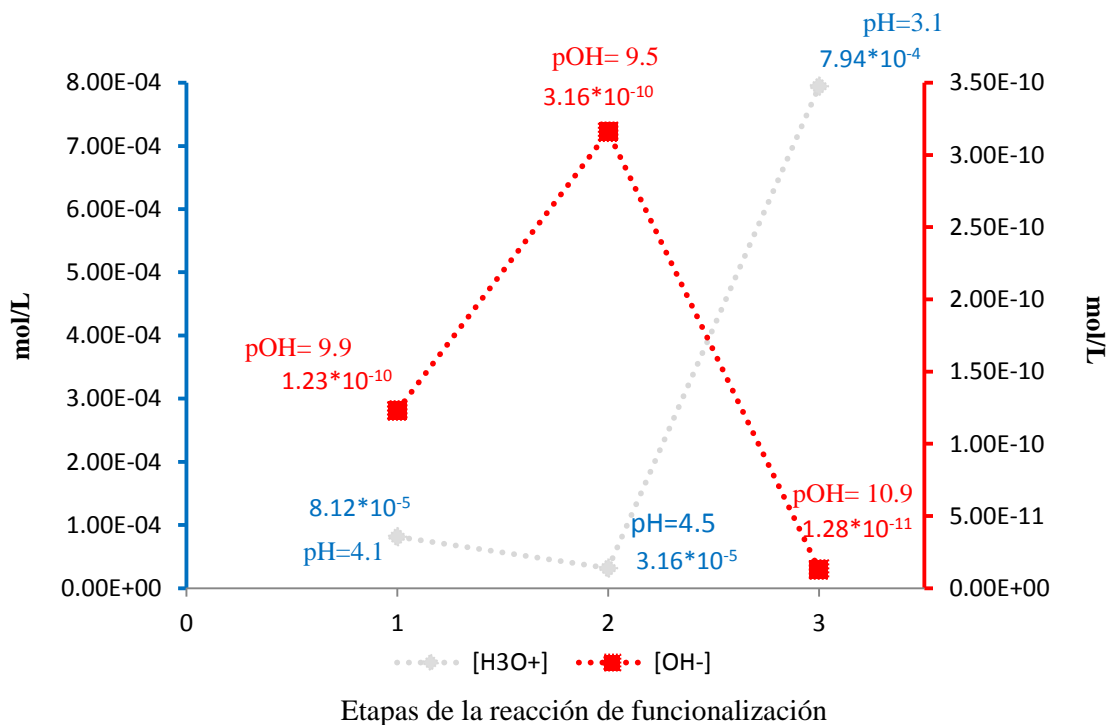


Figura 5.19 Comportamiento de la concentración de $[\text{H}_3\text{O}^+]$ y $[\text{OH}^-]$ al momento de la Solubilización del quitosano (1), la adición de la TEA (2) y la adición de la sal de Br-OH-TEMPO (3).

Es importante conocer el comportamiento del pH, porque se esperaría que la TEA se disociara y cambiara el medio de ácido a básico afectando así la homogeneidad del medio, pero esto no llega a suceder debido a que la cinética de disociación de la trietilamina es lenta, comparada con del ácido acético y que la inmediata adición de la solución de sal de Br-OH-TEMPO en ácido acético contribuye con un exceso en la concentración de iones H_3O^+ , siendo nula la contribución de los iones OH^- de la TEA, por lo tanto, se evita que la TEA participe en una reacción de disociación y se favorece su participación en la reacción de funcionalización.

5.5. El rol de la trietilamina

Cuando el bromo extrae el hidrógeno del grupo Hidroxi del C6, forma ácido bromhídrico (HBr), y se expone un oxígeno radical (O[•]) en C6 como en el grupo nitróxido, lo que permite la formación de un enlace peróxido, mientras que el ácido es capturado por la TEA, como se muestra en la figura 5.20. Este mecanismo de reacción sugerido es especulativo porque aun no se cuenta con la evidencia necesaria para soportarlo.

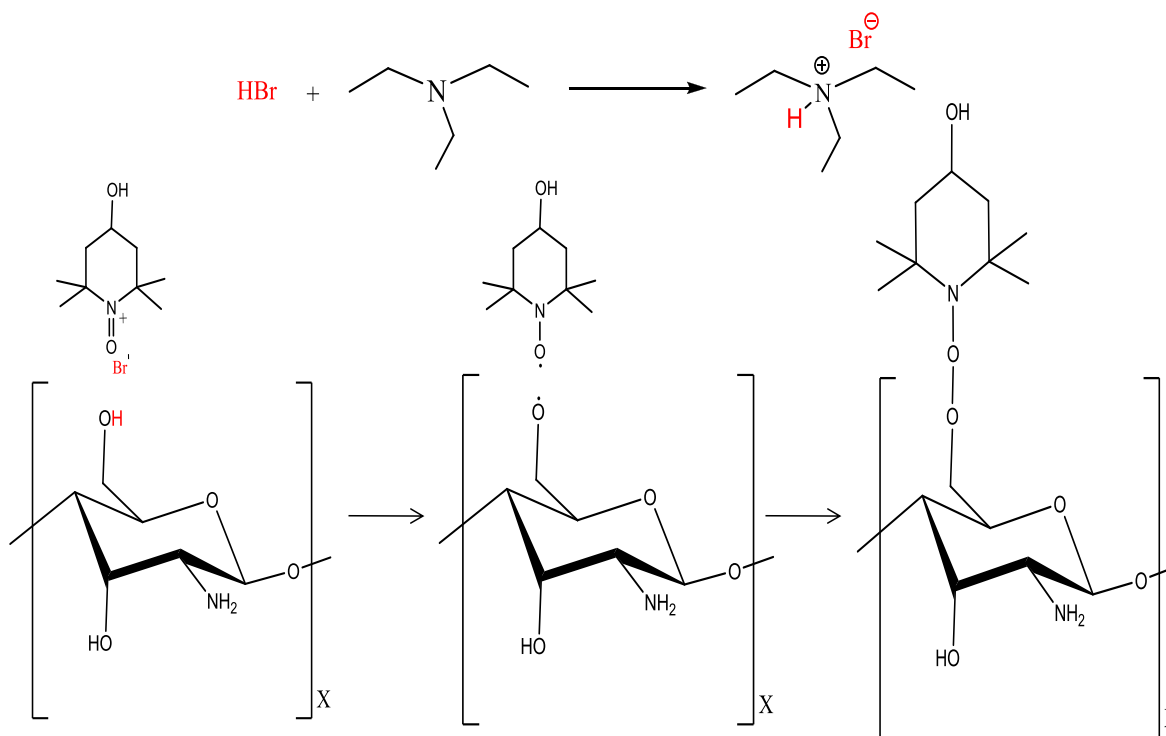


Figura 5.20 Mecanismo de reacción propuesto para la funcionalización del quitosano.

Una de las razones para explicar el porqué es necesaria la participación de la TEA en la reacción de funcionalización es que el HBr (producto secundario en la reacción de funcionalización) al ser producido y no existir la TEA en el medio, simplemente el ácido se disociaría al permanecer en un medio acuoso ácido, por lo que la presencia de la TEA no sería estrictamente necesaria. En ausencia de TEA, el Br extraería el hidrógeno del grupo -OH y otro hidrogeno α al OH, es decir, el del CH₂ al cual está unido el OH, el ácido bromhídrico (HBr), junto con los dos hidrógenos entrarían de nuevo en contacto con el nitróxido formando una molécula de hidroxiamina, como se muestra en la fig.

5.21. El proceso anterior, da como resultado la oxidación del -OH del quitosano en un aldehído [25].

En resumen la unión química del quitosano con el TEMPO no sería posible en ausencia de TEA. Esto último se confirmó sometiendo quitosano a una reacción de funcionalización sin añadir la TEA, y el producto se analizó por RMN de ^{13}C CP MAS. El espectro (fig. 5.22) confirma la oxidación del grupo -OH de C6 con una señal intensa en 166.95 ppm.

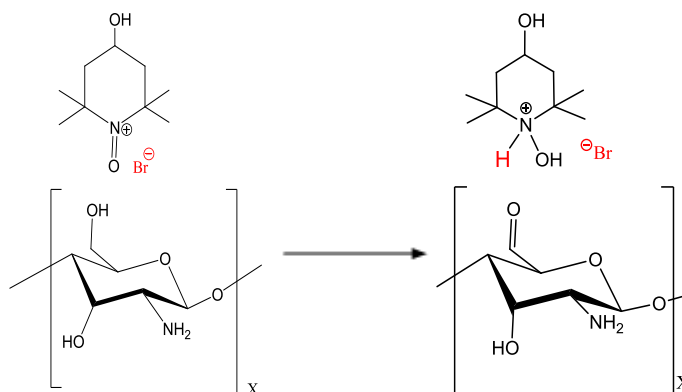


Figura 5.21 Oxidación del grupo OH del quitosano mediante la sal de Br-OH-TEMPO en ausencia de TEA

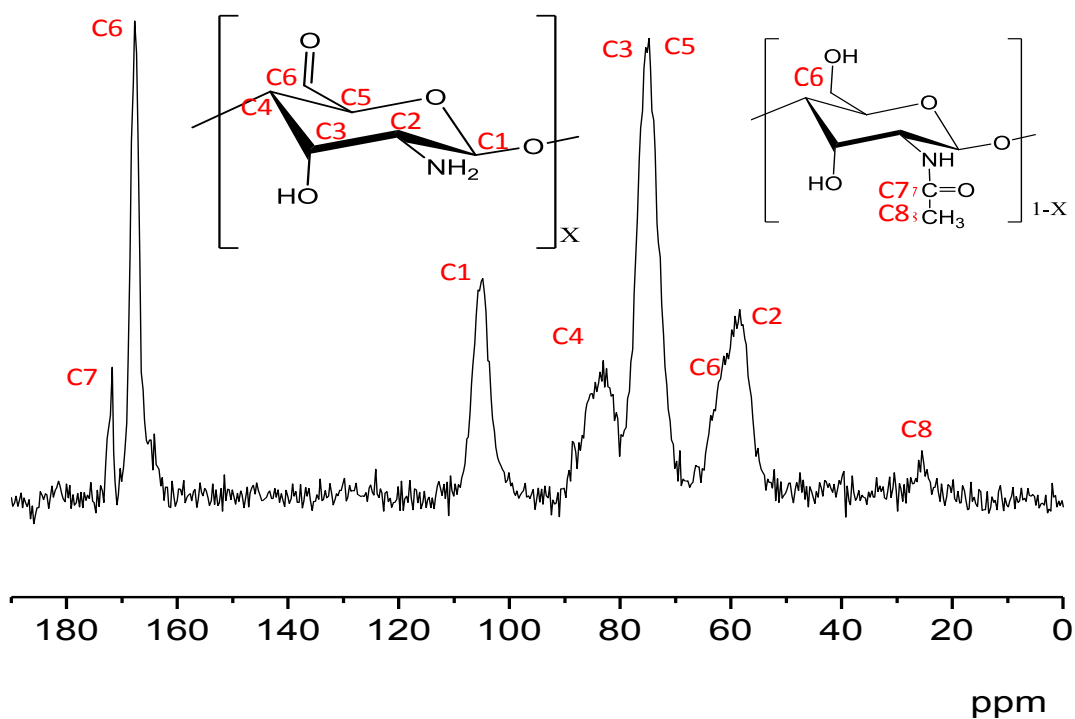


Figura 5.22 Espectro de RMN ^{13}C CP MAS del quitosano oxidado mediante la sal de Br-OH-TEMPO

5.6. Quitosano-g-SMA-OH TEMPO

Como ya se ha mencionado con anterioridad, una de las áreas potenciales de aplicación es la industria farmacéutica y la biomedicina, por lo que la modificación del biopolímero proporciona un biomaterial con nuevas propiedades para aplicaciones específicas.

Las unidades de anhídrido maleico que presenta el copolímero de injerto, son sitios activos capaces de reaccionar con grupos amino de un fármaco, y unirse covalentemente al quitosano-g-poli(estireno-co-anhídrido maleico)-TEMPO para formar un “polímero terapéutico” (polímero-fármaco) [71], el cual se puede utilizar en sistemas de liberación controlada de fármacos en el cuerpo humano. El controlar el peso molecular del copolímero de injerto, permite cuantificar las unidades reactivas en la cadena polimérica ya que es bien conocido que el poli(estireno-co-anhídrido maleico) forma copolímeros alternados, es decir, los monómeros reaccionan uno a uno hasta que uno de ellos se termina [7, 26].

Los materiales administrados en el cuerpo humano (fármacos, implantes, etc.) suelen ser moléculas orgánicas complejas, que deben ser purificadas de forma extensiva para evitar la contaminación con posibles agentes tóxicos que puedan ocasionar daño en el organismo. Por ello se decidió llevar a cabo la síntesis del quitosano-g-poli(estireno-co-anhídrido maleico)-TEMPO en scCO₂, y evitar desde un inicio el contacto con disolventes orgánicos.

Se ha reportado que el quitosano es soluble en scCO₂ [51, 72], por lo que se establece que al inicio de la reacción (presión y temperatura determinadas), el medio es homogéneo, y cuando alcanza cierto peso molecular el copolímero precipita. Se afirma que la reacción se llevó a cabo por la técnica de precipitación. Se sabe que la difusión en scCO₂ aumenta conforme se incrementa la presión, obteniéndose una mayor dispersión en el medio de reacción, y permitiendo que las cadenas en crecimiento incrementen su peso molecular crítico de precipitación, sin embargo, en el presente trabajo, la celda de alta presión no se operó a su máxima capacidad (5000 psi). Es importante considerar que la temperatura de reacción es otro factor relevante que contribuye al aumento en la presión del sistema; NMRP requiere temperaturas de 120 a 130°C cuando el nitróxido utilizado es de la familia del TEMPO, sin embargo, para este proceso de polimerización se mantuvo un

intervalo de temperatura de 128-130 °C al exterior de la celda de reacción y una presión de 2750 psi, por un tiempo de 5 horas.

EL quitosano previamente funcionalizado actúa como un macroiniciador debido a que el enlace peróxido se rompe con el incremento en la temperatura, produciendo radicales, los cuales tienen la capacidad de iniciar la copolimerización con los monómeros presentes. El copolímero crece en el sitio de la funcionalización, a partir del esqueleto (cadena principal) del quitosano (“*grafting from*”). Como ya es bien conocido, el estireno es un monómero que puede producir radicales iniciantes de su propia polimerización, o copolimerización en este caso. Para evitar la “autoiniciación” del estireno, se añadió el ácido camforsulfónico (CSA) en la cantidad mencionada en la sección 4.4, por lo tanto, el único monómero consumido es el que se encuentra en las cadenas de copolímero. Además, con la incorporación de este ácido en la reacción, se evitó una purificación extensiva para la eliminación del copolímero de autoiniciación.

Cabe mencionar que se realizó una segunda reacción de copolimerización, en la cual se disminuyó la cantidad de CSA a la mitad de la que se menciona en la sección 4.4, con la finalidad de observar si la cantidad de CSA previamente establecida era adecuada. En esta reacción, se presentó una cantidad considerable de copolímero libre. En la autoiniciación térmica del estireno, propuesta por *Mayo* [53], se da la formación de un dímero y un trímero, que son los precursores de la polimerización autoiniciada de este monómero, y la función del CSA es desactivar estas especies precursoras, por lo que se especula que en esta segunda reacción la proporción de ácido no era la adecuada para evitar la formación de estos precursores, por lo tanto no se evitó la autoiniciación de la copolimerización. Además, el tiempo de calentamiento en la celda para alcanzar la temperatura de reacción (130 °C) es de aproximadamente de 45 a 50 min, tiempo necesario para promover y alcanzar considerables conversiones en copolimerización por autoiniciación térmica de estireno-anhídrido maleico, alrededor del 12%, como lo reporta *Mota y col.*, [7]. La presencia del CSA en polimerizaciones mediadas por nitróxidos, acelera la velocidad de reacción, manteniendo control sobre el peso molecular [73]. Por esto, la importancia de la adición del CSA, en la cantidad antes mencionada.

El rendimiento de la reacción en función del quitosano que posee injertos fue del 76 % calculado con la ecuación 4.1, la conversión de los monómeros fue del 2.6 %; partiendo de ésta conversión y la concentración molar de nitróxido que poseen los 0.15 gr de quitosano funcionalizado (0.14 mmol) se calculó un M_n teórico de una cadena de copolímero de injerto en los 1726 g/mol. El quitosano-g-SMA-OH-TEMPO se sometió a caracterización por FT-IR, RMN ^{13}C CP MAS, DSC y TGA.

5.6.1. Análisis por FT-IR del quitosano-g-SMA-TEMPO

Como se muestra en el espectro de FT-IR (fig. 5.23a) correspondiente al Quitosano-g-SAM-OH-TEMPO; en 3448 cm^{-1} se aprecian los estiramientos de los enlaces O-H ($\nu_{\text{O-H}}$) de los grupos $-\text{CH-OH}$ y $-\text{CH}_2\text{-OH}$ del quitosano que no fueron funcionalizados, así como del $-\text{CH-OH}$, del hidroxil-TEMPO. En la región de $3000\text{-}3100\text{ cm}^{-1}$ correspondientes a las vibraciones aromáticas de los enlaces C-H ($\nu_{\text{C-H}}$) y de $2980\text{-}2850\text{ cm}^{-1}$ se aprecian las vibraciones de los enlaces C-H ($\nu_{\text{C-H}}$) de los metilenos del poliestireno, y en 750 y 704 cm^{-1} aparecen las vibraciones fuera del plano de estos últimos enlaces. También se observan cuatro bandas localizadas en 1601 , 1543 , 1494 , 1451 cm^{-1} que se atribuyen a estiramientos de los enlaces C=C ($\nu_{\text{C=C}}$) del anillo bencénico.

Con respecto al anhídrido maleico, se observan dos bandas características del grupo éster: una intensa que se localiza en 1786 cm^{-1} y otra de baja intensidad en 1857 cm^{-1} , debidas a las vibraciones del enlace C=O ($\nu_{\text{C=O}}$); también se considera la señal de 1741 cm^{-1} debida al estiramiento del carbonilo ($\nu_{\text{C=O}}$).

Una zona importante en el espectro es la zona de $1000\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$, debido a la aparición de las señales de los enlaces de un carbono con un heteroátomo [74, 75]. Para nuestro caso, la apreciación del estiramiento del enlace C-O ($\nu_{\text{C-O}}$) en 1155 cm^{-1} , se puede asignar a los grupos hidroxil del quitosano, del anhídrido maleico, al hidroxil-TEMPO, y muy importante, al enlace entre el oxígeno del quitosano y el carbono del estireno.

En la figura 5.23, se muestra una comparación de espectros del quitosano virgen y el quitosano-g-SMA-OH-TEMPO, con la finalidad de observar la gradual modificación del polisacárido.

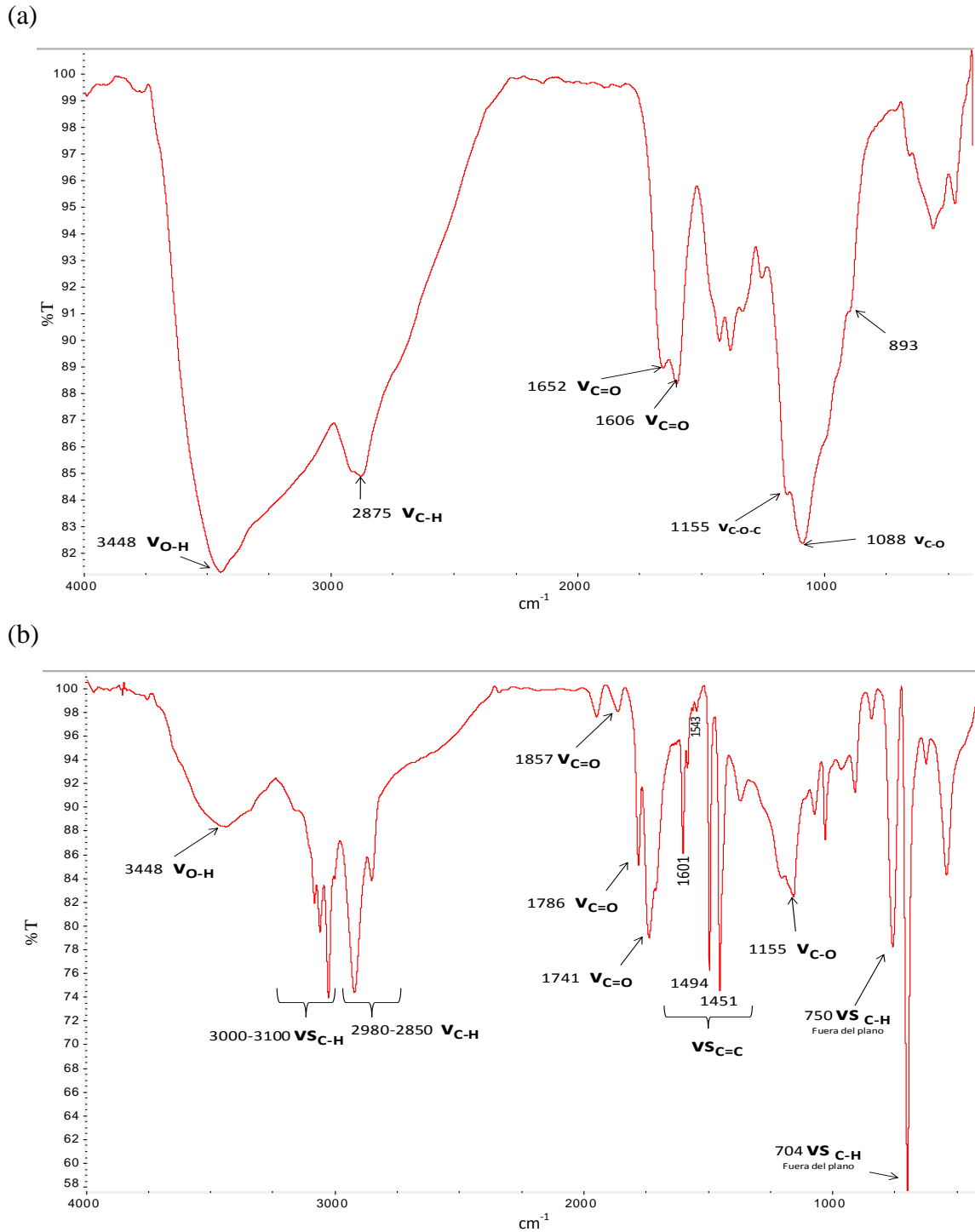


Figura 5.23 Espectro de FT-IR del quitosano virgen (a) y quitosano-g-SMA-OH-TEMPO (b), comparación entre ambos.

5.6.2. Análisis por RMN de ^{13}C CP MAS del Quitosano-g-SMA-TEMPO

Con el fin de confirmar la estructura química del Quitosano-g-SMA-TEMPO, este se sometió a análisis de RMN ^{13}C CP MAS, el cual muestra los desplazamientos del quitosano en 104 ppm para Q1, 81 ppm para Q4, 75 ppm para Q3 y Q5, 61 ppm para Q6 y 56 ppm para Q2; las características de estas señales se discutieron en la sección 5.1.4. Los desplazamientos correspondientes a la unidad monomérica se observan en 127 ppm asignados a los carbonos S4, S5, S6, S7 y S8 del anillo bencénico y el carbono restante de este anillo, S3, se observa en 144 ppm. Los carbonos α y β al anillo aromático (S1 y S2 respectivamente) se desplazan en 40 ppm aproximadamente. Respecto a la unidad del anhídrido maleico, los grupos carbonilos (A2 y A3) resuenan en 173 ppm, y los carbonos terciarios (A1 y A4) se desplazan a 51 ppm.

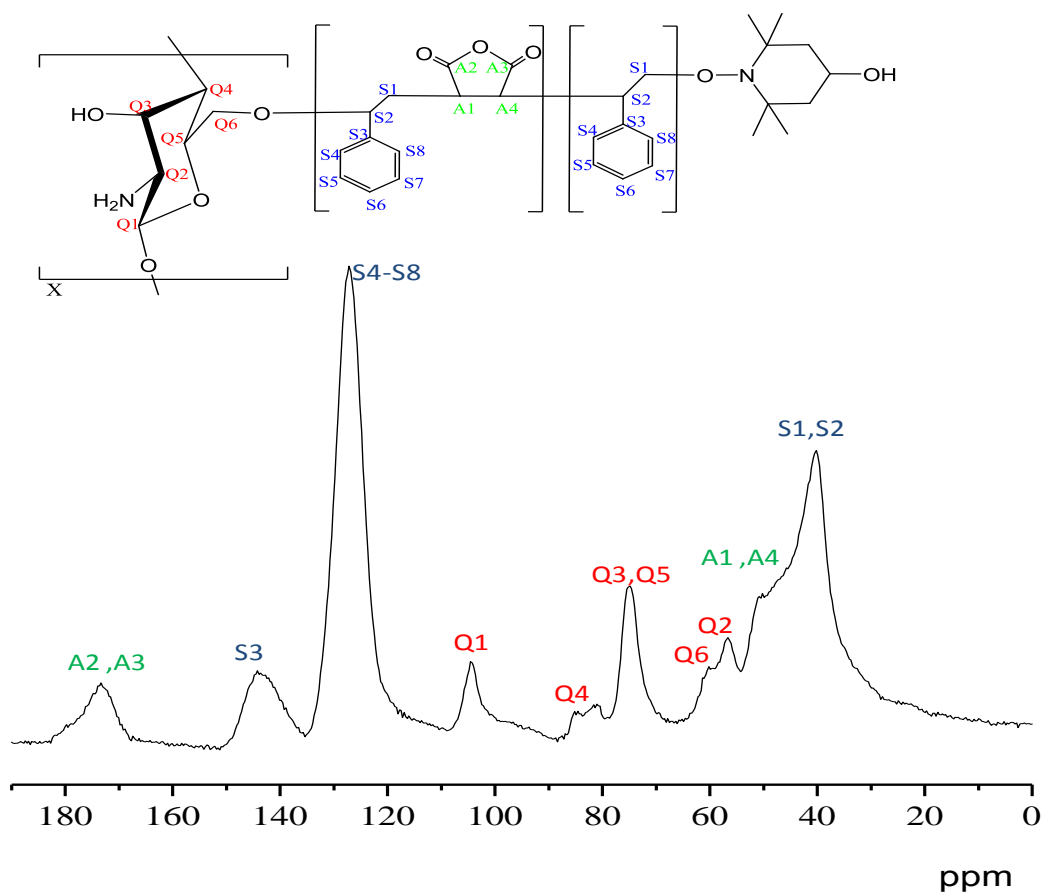


Figura 5.24 Espectro de RMN de ^{13}C CP MAS del quitosano-g-SMA-TEMPO

5.6.3. Análisis térmico del Quitosano-g-SMA-TEMPO

La Figura 5.25 corresponde al Quitosano-g-SMA-TEMPO, el cual fue analizado hasta 600 °C; la pérdida de 2.04% correspondiente al agua físicamente adsorbida. Se observa un incremento en la derivada en 178.04 °C principalmente atribuida a la separación del copolímero del quitosano y/o también a la apertura del anillo del anhídrido maleico presente en el SMA. En 373.45 °C, se muestra una pérdida en peso, la cual es atribuida a la completa degradación del material [26].

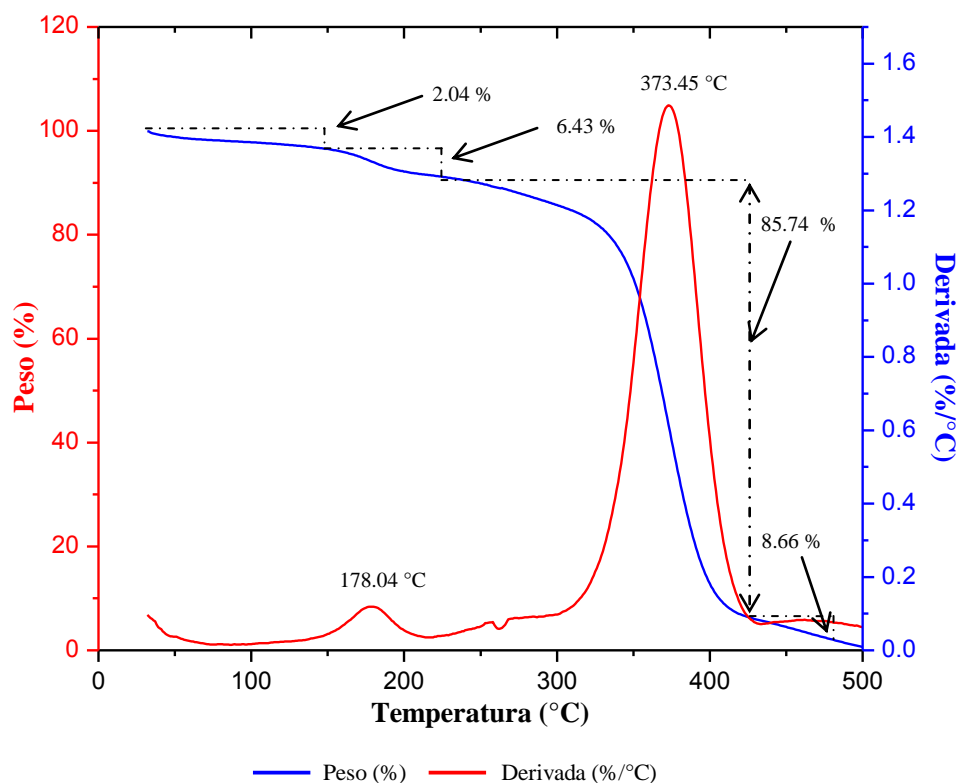


Figura 5.25 Curva de TGA del Quitosano-g-SMA-TEMPO

En el termograma de DSC correspondiente al quitosano-g-SMA-TEMPO, se muestran solo dos temperaturas de transiciones térmicas, una de fusión a 175°C y una de descomposición a 340 °C. Estas temperaturas se asemejan a las presentadas en el TGA. El hecho de presentar solo estas transiciones, pudieran indicar una fuerte interacción entre el quitosano y el copolímero de injerto.

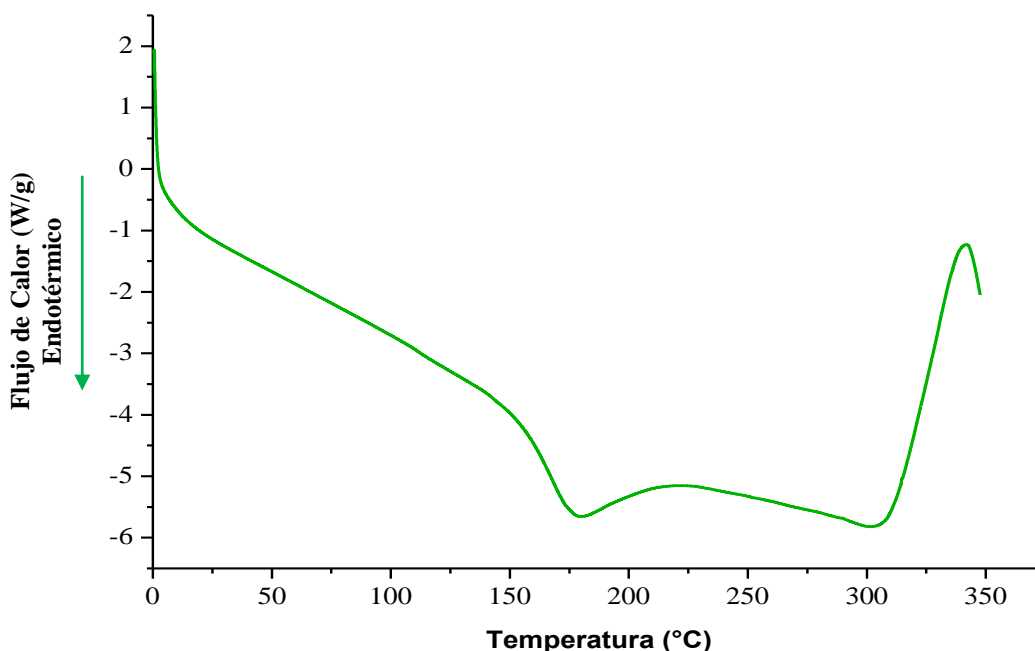


Figura 5.26 Curva de DSC del Qitosano-g-SMA-TEMPO

5.6.4. Determinación de peso molecular.

Como se menciona en la sección 4.4 el quitosano-g-SMA-OH-TEMPO se sometió a pruebas de solubilidad con diversos disolventes orgánicos, dando como resultado solo un hinchamiento del material. La total solubilidad del material se consiguió con la preparación de una solución de acetona/ ácido acético 0.1 M (3:1), con un pH=4.5. El hecho de que aun sea necesaria la presencia de ácido para solubilizar, es una manera indirecta de asegurar la presencia del grupo $-NH_2$, el cual, como ya se ha mencionado con anterioridad, necesita ser protonado para llevar a cabo la solubilidad del biopolímero. Se eligió a la acetona de entre los otros disolventes por presentar fuertes interacciones con el agua.

Mediante viscosimetría se determinó la viscosidad intrínseca $[\eta]=57.235 \text{ cm}^3/\text{gr}$ (0.57 dL/gr). Al no existir reportes de las constantes α y K_m de la ecuación de Mark-Houwink, se decidió hacer un cálculo relativo de estas constantes mediante el método reportado por D.W. van Krevelen y K. Te Nijenhuis [69], a partir del cual se calcularon los parámetros de disolución del quitosano-g-SMA-OH-TEMPO (δ_p) y de solubilidad de la solución de acetona/ácido acético 0.1 M (δ_s), las constantes K_θ y α , así como un peso

molecular crítico (M_{cr}) y una viscosidad intrínseca relativa ($[\eta]_R$). Los cálculos detallados se muestran en el anexo I.

Una vez calculados M_{cr} , $[\eta]_R$, α y $[\eta]$ obtenido a partir de mediciones experimentales mediante una gráfica de $\log(M/M_{cr})$ vs $\log([\eta]/[\eta]_R)$ (Figura AI), se pudo conocer el valor del $\log(M/M_{cr})$, y por ende se determinó M , que representa el peso molecular del polímero, el cual fué de 490292 gr/mol

Es muy importante mencionar que este método es aproximado, porque no considera el grado de protonación para disolver la cadena del quitosano, así como la concentración de polielectrolito y la fuerza iónica del medio ácido, por lo que el único fin de utilizarlo es tener una noción del peso molecular del quitosano-g-SMA-OH-TEMPO, ya que de nueva cuenta, la solubilidad del material impide obtener una distribución completa de su peso molecular.

Capítulo 6. Conclusiones y Trabajo a Futuro

6.1. Conclusiones.

Se sintetizó la sal de bromo hidroxí-TEMPO. Se comprobó su estabilidad respaldándose en análisis de FT-IR, ^1H RMN, TGA. A diferencia de la sal de Br-TEMPO, la sal de Br-OH-TEMPO se solubilizó totalmente en un medio acuoso, favoreciendo la homogeneidad de la reacción de la funcionalización.

Se llevó a cabo la funcionalización del quitosano mediante la sal de Br-OH-TEMPO en un medio acuoso, mediante un mecanismo de sustitución nucleofílica por radicales libres, respaldándose en las evidencias de FT-IR, ^1H RMN, ^{13}C RMN, TGA y DSC. La trietilamina resulta ser esencial en el proceso de funcionalización, y se comprobó que a pesar de ser una base, no afecta en el pH del medio, siempre y cuando su adición sea de manera controlada en momentos específicos de la reacción. El quitosano funcionalizado con grupos hidroxí-TEMPO se considera un precursor de materiales híbridos con injertos poliméricos controlados.

Se efectuó la copolimerización de estireno-anhídrido maleico vía radicalica mediada por nitroxidos por un sistema de iniciación unimolecular, el quitosano funcionalizado actúa como macroiniciador y controlador a la vez. La reacción se llevó a cabo en dispersión, siendo scCO_2 el medio continuo, evidenciándose la síntesis de copolímeros de injerto por estudios de FT-IR, ^{13}C RMN, TGA y DSC. La presencia del CSA evitó la copolimerización espontánea de los monómeros.

Hasta el momento no ha sido posible determinar el nivel de control de la reacción de copolimerización debido a la dificultad de caracterización de derivados del quitosano, dada su pobre solubilidad en disolventes comunes.

Llevar a cabo la copolimerización en scCO_2 , además de ser una tecnología benigna con el medio ambiente, ofrece una alternativa ventajosa con respecto al uso de solventes orgánicos, evitando procesos posteriores de purificación del producto.

6.2. Trabajo a futuro.

Con el fin de continuar con el desarrollo de este nuevo material para la obtención de mejores resultados, se plantean los siguientes puntos:

- ∅ Con el fin de corroborar el crecimiento del copolímero de injerto, se propone investigar métodos para desprenderlo del quitosano, evitando siempre la modificación de la cadena polimérica.
- ∅ Realizar copolimerizaciones en $scCO_2$, en presencia de un tensoactivo, con el fin de tener un medio totalmente disperso durante toda la reacción, y buscar mejorar la conversión.
- ∅ Buscar hacer reaccionar un fármaco con las unidades del anhídrido maleico presentes en el quitosano-g-SAM-TEMPO, y obtener un “polímero terapéutico”.

Anexo I

La estimación de K_m y α , que son constantes de la ecuación de Mark-Houwink para el Quitosano-g-SMA-OH-TEMPO, se calcularon según el método reportado por van Krevelen y K. Te Nijenhuis [59].

El parámetro de solubilidad del Quitosano-g-SMA-OH-TEMPO se calcula a partir de la siguiente ecuación:

$$\delta_P = \left(\frac{E_{coh}}{V} \right)^{1/2}$$

donde E_{coh} es la energía cohesiva que presenta la molécula según los grupos la conforman y V es el volumen molar, también depende de los grupos que la conforman (tabla AI), también se presenta el cálculo de J del Quitosano-g-SMA-OH-TEMPO.

Tabla AI. Cálculo de E_{coh} , J y V totales del quitosano-g-SMA-OH-TEMPO

	Grupo	n	E_{coh}	$n \cdot E_{coh}$	J_i	$n \cdot J_i$	V	$n \cdot V$
4-OH-TEMPO	CH ₃	4	4710	18840	3.55	14.2	33.5	134
	>C<	2	1470	2940	0	0	-19.2	-38.4
	>CH ₂	2	4940	9880	2.35	4.7	16.1	32.2
	>CH-	1	3430	3430	1.15	1.15	-1	-1
	-OH	1	21850	21850	8	8	13	13
Anhídrido M.	>CH-	2	3430	6860	1.15	2.3	-1	-2
	>C=O	2	17370	34740	9	18	10.8	21.6
	-O-	1	3350	3350	0.1	0.1	3.8	3.8
Estireno	>CH ₂	1	4940	4940	2.35	2.35	16.1	16.1
	>C<	1	1470	1470	0	0	-19.2	-19.2
Quitosano	Fenil	1	31940	31940	25.51	25.51	71.4	71.4
	>CH-	5	3430	17150	1.15	5.75	-1	-5
	-NH ₂	1	0	0	0	0	0	0
	-OH	1	21850	21850	8	8	13	13
	>CH ₂	1	4940	4940	2.35	2.35	16.1	16.1
	-O-	3	3350	10050	0.1	0.3	3.8	11.4
Total				194230		92.71		267

con los valores de $E_{coh} = 194230$ y $V = 267$ obtenemos:

$$\delta_P = \left(\frac{194230}{267} \right)^{1/2} = 26.9713$$

Para el cálculo de solubilidad del disolvente (δ_s) se ponderó según la composición de la solución que es acetona/ácido acético 0.1M 3:1, (tomando los reportados en la tabla IV de la referencia [59]) como se muestra en la tabla AII, por lo tanto:

Tabla AII. Cálculo δ_s de la solución de acetona/ácido acético 0.1M 1:3

Disolvente	δ_s
Agua	48
Ácido Acético	20.1
Ácido acético 0.1 M	45.21
Ácido acético 0.1 M	45.21
Acetona	20.25
$\delta_s =$	26.49

como $|\delta_P - \delta_S| = 0.4813$, por lo tanto;

$$\alpha \approx 0.8 - (0.1)(|\delta_P - \delta_S|)$$

$$\alpha \approx 0.8 - (0.1)(0.4813) = 0.75$$

$$\alpha \approx 0.75$$

En seguida, se calculó una K_θ y un peso molecular crítico M_{cr} , de la tabla I se determino:

$$\mathbf{J} = \sum_i n_i j_i = 92.71$$

y a partir de la siguiente ecuación se determino K_θ con $Z=2$:

$$K_\theta^{1/2} M = \sum_i n_i j_i + 4.2Z$$

$$K_\theta^{1/2} M = 92.71 + 8.4 = 101.11$$

$$K_{\theta} = \left(\frac{101.11}{534}\right)^2 = 0.035 \text{ cm}^3/\text{gr}$$

$$K_{\theta} = 0.035 \text{ cm}^3/\text{gr}$$

conociendo K_{θ} , se puede determinar el peso molecular crítico, a partir de la siguiente ecuación:

$$M_{cr} = \left(13/K_{\theta}\right)$$

$$M_{cr} = \left(13/0.035\right)$$

$$M_{cr} = 131484.72$$

Con el M_{cr} determinado, y la $[\eta]=57.235 \text{ cm}^3/\text{gr}$ obtenida experimentalmente, mediante una grafica de $\log(M/M_{cr})$ vs $\log([\eta]/[\eta]_R)$, con $[\eta]_R = 13 \text{ cm}^3/\text{gr}$ y $\alpha=0.75$, tal como se muestra a continuación:

$$\frac{[\eta]}{[\eta]_R} = 4.40 \qquad \log \frac{[\eta]}{[\eta]_R} = 0.64$$

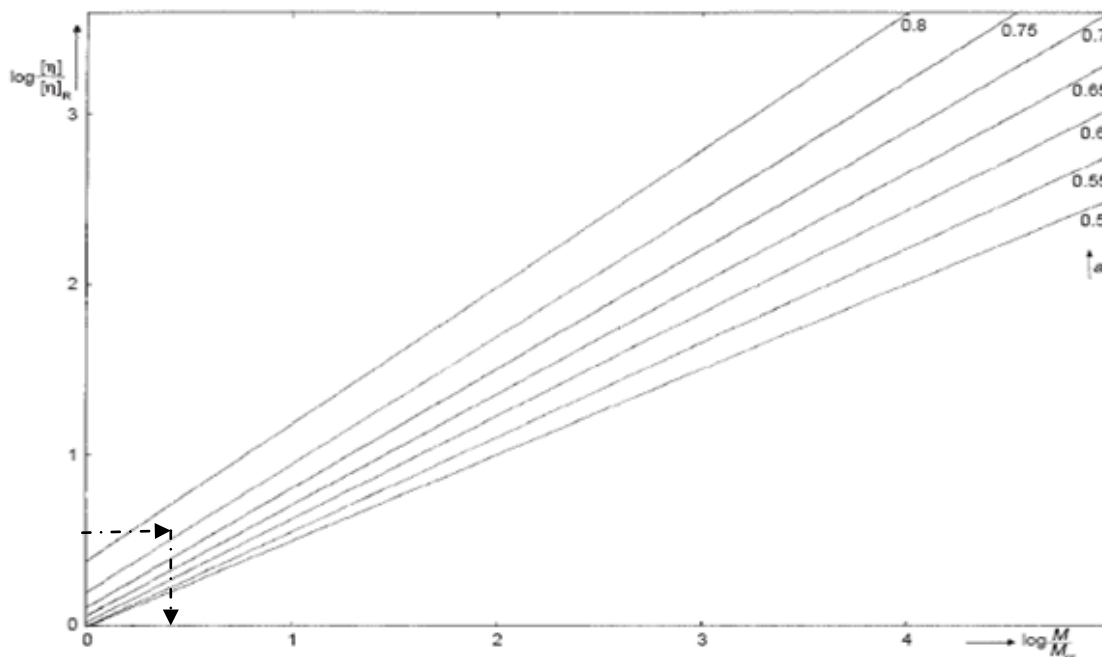


Figura AI. $\log([\eta]/[\eta]_R)$ vs $\log(M/M_R)$ en un rango de valores de α de 0.5-0.8.

se obtiene que:

$$\log \frac{M}{M_{cr}} = 0.57$$

$$\frac{M}{M_{cr}} = 3.72$$

despejando para M con $M_{cr}=131484.72$

$$M = 490292 \text{ gr/mol}$$

La constante K se determinó a partir de la siguiente ecuación:

$$\log K = \log K_{\theta} - (\alpha - 0.5) \log M_{cr} + \log \alpha_{h,cr}^3$$

donde $\log \alpha_{h,cr}^3$ se obtuvieron de una gráfica de correlación entre $\alpha_{h,cr}^3$ y α ,

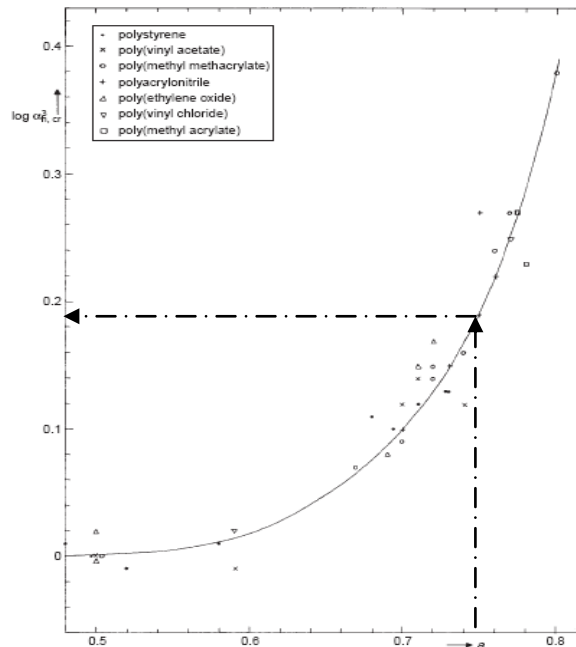


Figura AII. Correlación entre $\alpha_{h,cr}^3$ y α

dando como resultado con $\alpha = 0.75$, el $\log \alpha_{h,cr}^3 = 0.1818$, y por lo tanto

$$\log K = -1.16$$

y $K = 0.0678$

En resumen, se obtuvieron las constantes del quitosano-g-SMA-OH-TEMPO $\alpha=0.75$ y $K=0.067$, con peso molecular de 490292 gr/mol.

Referencias

1. Odian, G., *Principles of polymerization*. Wiley-Interscience. **2004**.
2. Wade, L. *Química Orgánica*. 5 ed. **2006**.
3. Matyjaszewski, K; Davis, T. *Handbook of Radical Polymerization*. Wiley-Interscience, **2002**.
4. Matyjaszewski, K.; Controlled / Living Radical Polymerization: State of the Art. *ACS Symposium*, **2003**.
5. Deng, J.; Yang, W. *Eur. Polym. J.*, **2005**. 41(11): p. 2685-2692.
6. Jian-Ping, D.; Wan-Tai, Y. *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.*, **2001**. 39(19): p. 3246-3249.
7. Mota, J.; Quintero, I.; Saldívar, E.; Luna, G.; Albores, M.; Percino, J.; Chapela, V.; Ocampo, M. *Macromol. Reac. Eng.*, **2010**. 4(3-4): p. 222-234.
8. Wantai, Y.; Bengt, R. *J. Appl. Polym. Sci.*, **1996**. 62(3): p. 533-543.
9. Sakurai, K.; Kondo, Y.; Miyazaki, K.; Okamoto, T.; Irie, S.; Sasaki, T. *J. Polym. Sci. Part B: Polym. Phys.*, **2004**. 42(13): p. 2595-2603.
10. Teare, D.O.; Schofield, W. C.; Garrod, R. P.; Badyal, J. P.; Langmuir, S. **2005**. 21(23): p. 10818-10824.
11. Ramírez, D.G.; Posada, C. A.; Saldívar, E.; Luna, G.; Ott, C.; Ulrich, S. *Macromol. Sym.*, **2009**. 283-284(1): p. 120-129.
12. Minaux, E., “*Controlled Radical Polymerization at Pressures up to 2000 bar*” Tesis Doctoral. **2001**, Universität zu Göttingen.
13. Saldívar, E.; Bonilla, J.; Becerril, F.; Zacahua, G.; Albores, M.; Alexander, R.; Flores, L.; Alexandrova, L. *Macromol. Th. Sim.*, **2006**. **15**(2): p. 163-175.

14. Saldívar, E.; Bonilla, J.; Zacahua, G.; Albores, M. *J. Polym. Sci. Part A: Polym Chem.*, **2006**. 44(24): p. 6962-6979.
15. Solomon, D.H.; Rizzardo, E.; Cacioli, P. *Eur. Pat. Appl.*. **1985**.
16. Georges, M.; Veregin, R.; Kazmaier, P.; Hamer, M.; Gordon, K. *Macromolecules*, **1993**. 26(11): p. 2987-2988
17. Hawker, C.J.; Bosman, A. W.; Harth, E. *Chem. Rev.*, **2001**. 101(12): p. 3661-3688.
18. Siegenthaler, K.O.; Studer, A. *Macromolecules*, **2006**. 39(4): p. 1347-1352.
19. Benoit D.; Robin S. ; Finet J. P. ; Tordo P.; Gnanou Y. *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**. 122(25): p. 5929-5939.
20. Gertz I.; Likhtenshtein, J.Y.; Shin'ichi Nakatsuji; Alex I.; Smirnov, R. T. *Nitroxides Applications in Chemistry, Biomedicine, and Materials Science*. **2009**: Wiley-VCH.
21. Braunecker, W.A.; Matyjaszewski, K. *Prog. Polym. Sci.*, **2007**. 32(1): p. 93-146.
22. Yamaguchi, M.; Takata, T.; Endo, T. *J. Org. Chem.*, **1990**. 55(5): p. 1490-1492.
23. Eri, Y.; Kazuaki, N.; Toshikazu, T.; Takeshi, E.; *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.*, **1993**. 31(6): p. 1505-1512.
24. Kobatake, T.H.; Roderic, J. H.; Quirk, P. D.; Priddy, B. *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.*, **1998**. 36(14): p. 2555-2561.
25. Bobbitt, J.M., *Oxoammonium Salt Oxidations of Alcohols*. **2010**.
26. Bonilla, J.; Lara, T.; Saldívar, E.; Jiménez, E. *Macromol. Rapid Commun.*, **2007**. 28(13): p. 1397-1403.
27. Fernández, D.; Fernández, P. R. *Revista Ciencia Hoy*. **1997**.
28. Nalawade, S. *Polymer Melt Micronisation using Supercritical Carbon Dioxide as Processing Solvent*. Tesis Doctoral. Universidad de Groningen. Groningen, Holanda. **2005**.

29. Fahmy, S.M. *Solubility of Fluorinated Polymers in Supercritical Carbon Dioxide* Tesis Doctoral. **2005**, Universidad Técnica de Rheinisch-Westfälischen.: Aachen, Alemania.
30. Kazarian, S.; Brantley, S. G.; West, B. L.; Vincent, M. F. *Appl. Spectrosc.* **1997**. 51: p. 491-494..
31. Saharay, M.; Balasubramanian M. *Chem. Phys.* **2004**. 5(9): p. 1442-1445.
32. DeSimone, J. M.; Menciloglu, Y. Z.; McClain, J. B.; Romack, T.J.; Combes, J.R. *J. Polym. Sci.*, **1994**. 265: p. 356-359.
33. Tomasko, D.L.; Li, H.; Liu, D.; Han, X.; Maxwell, J.; Wingert, L.; Koelling, K. *Ind. Eng. Chem. Res.*, **2003**. 42(25): p. 6431-6456.
34. Canelas, D.; DeSimone, J. M. *Adv. Polym. Sci.*, **1997**. 133: p. 103-140.
35. Ma, Z.; Lacroix-Desmazes, P. *J. Polym. Sci. Part A: Polym Chem.*, **2004**. 42(10): p. 2405-2415.
36. Odell, P.G.; Hamer, G.K. *Polym. Mat. Sci. Eng.*, **1996**. 74 p. 404-405.
37. Matyjaszewski, K.; Gaynor, J.; Scott, G. DeSimone, J. *Macromolecules*, **1999**. 32(15): p. 4802-4805.
38. Mohamed, N.B.; Alessandro, G.; Monomers, *Polym. Comp. Ren. Res.* Elsevier. **2008**.
39. Lárez, Algunos Usos del Quitosano en Sistemas Acuósos. *Revista Iberoamericana de Polímeros*. **2003**. Venezuela.
40. Gacén, J., Gacén, I. *Quitina Y Quitosano. Nuevos Materiales Textiles. Boletín Intexter*, **1996**.
41. Rinaudo, M. *Prog. Polym. Sci.*, **2006**. 31(7): p. 603-632.
42. Rinaudo, M.; Pavlov, G.; Desbrières, J. *Polymer*, **1999**. 40(25): p. 7029-7032.
43. Kasaai, M.R. *J. Agric. Food Chem.*, **2009**. 57(5): p. 1667- 1676.

-
44. Hyunmin Wu, Y.; Bentley, L. Q.; Ghodssi, W. E.; Rubloff, R.; Culver, G. W.; Payne, J. N.; Gregory, F. *Biomacromolecules*, **2005**. 6(6): p. 2881-2894.
 45. Kurita, K.; Ikeda, H.; Yoshida, Y.; Shimojoh, M.; Manabu, H. *Biomacromolecules*, **2001**. 3(1): p. 1-4.
 46. Li, X., Kong, X. Shi, S. Gu, Y. Yang, L. Guo, G. Luo, F. Zhao, X. Wei, Y. Qian, Z. *Carbohydr. Polym.*, **2009**. 79: p. 429–436.
 47. Gorochovceva, N.; Naderi, A.; Dedinaite, A.; Makuska, R. *Eur. Polym. J.*, **2005**. 41(11): p. 2653-2662.
 48. Flores, N.; Elizalde, E.; Vásquez, S.; González, J.; Martínez, A.; Sanchez, I.; Luna, G.; Gupta, R. B. *J. Biom. Sci.*, **2005**. 16: p. 473-488.
 49. Elizalde, E.A.; Flores, N.; Luna, G.; Vásquez, S. R.; Arámbula, G.; García, B.; Rutiaga, J. G.; González, J. *Eur. Polym. J.*, **2007**. 43(9): p. 3963-3969.
 50. Liu, L.; Li, Y.; Liu, H. ; Fang, Y. *Eur. Polym. J.*, **2004**. 40(12): p. 2739- 2744.
 51. Kumari, R.; Pradip, K. D.; Andy, J.; Clark, J.; Macquarrie, D. *Macromol. Symp.*, **2009**. 277(1): p. 36-42.
 52. Marat, O.; Gallyamov, I.; Chaschin Arif, S.; Gamzazade, I.; Khokhlov, R. *Macromol. Chem. Phys.*, **2008**. 209(21): p. 2204-2212.
 53. Buzanowski, W.C.; Graham, J.D.; Priddy, D.; Shero, E.; *Polymer*, **1992**. 33(14): p. 3055-3059.
 54. Cunningham, M.; Georges, M.; Marcus, T.; Lin Barkev, K. *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.*, **2002**. 40(16): p. 2828-2841.
 55. Sejin Oh, G.K.; Narae Ko, S.; Soonja, C. *Macromol. Res.*, **2005**. 13(3): p. 187193.
 56. Silverstein, R.M., Webster, F. X. Kiemle, D., *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 7ed. **2005**, John Wiley and Sons.
 57. Baxter, A.; Dillon, M.; Taylor, K. D.; Roberts, K.; George, A. F.; *Int. J. Biol. Macromol.*, **1992**. 14(3): p. 166-169.

-
58. Rege, P.R.; Block, L. H. *Carbohydr. Res.*, **1999**. 321(3-4): p. 235-245.
 69. van Krevelen, D., Te-Nijenhuis, K., *Properties of Polymers their Correlation with Chemical Structure; Their Numerical Estimation and Prediction From Additive Group Contributions*. **2009**, Elsevier B.V. p. 245-283.
 60. Yoshida, E. T.; Takata, T.; Endo, T. *Macromolecules*, **1993**. 26(3): p. 554-556.
 61. Endo, T.; Miyazawa, T.; Shiihashi, S.; Okawara, M. *J. Am. Chem. Soc.*, **1984**. 106(13): p. 3877-3878.
 62. Duarte, M.L.; Ferreira, M. C.; Marvão, M. R.; Rocha, J. *Int. J. Biol. Macromol.*, **2002**. 31(1-3): p. 1-8.
 63. Bonilla, J.; Saldívar, E.; Torres, R.; Guerrero, R.; López, B.; Luna, G. *Macromol. Chem. Phys.*, **2008**. 209(21): p. 2268-
 64. Novoa, R.; Fernandez, E.; Riguera, R. *Biomacromolecules*, 2010. **11**(8): p. 2079-2086.
 65. Heux, L.B.; J. Desbriares, J.; Versali, M. F.; Rinaudo, M. *Biomacromolecules*, **2000**. 1(4): p. 746-751.
 66. De Angelis, A. A.; Capitani, D.; Crescenzi, V. *Macromolecules*, **1998**. 31(5): p. 1595-1601.
 67. Campos, J.B. *Relajaciones Térmicas en Quitina y Quitosano*. Tesis de Doctorado. **2009**, CINVESTAV-Querétaro, Querétaro, México.
 68. Yanming, D., Yonghong, R. Huiwu, W. Yaging, Z. Danxia, B., *J. Appl. Polym. Sci.*, **2004**. 93(4): p. 1553-1558.
 69. Mucha, M.; Pawlak, A. *Thermochim. Ac.*, **2005**. 427(1-2): p. 69-76.
 70. Aldrich, S., <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/Product> **2009**.
 71. Duncan, R. *Nat. Rev. Drug. Discov.*, **2003**. 2(5): p. 347-360.

72. Marat, O.; Gallyamov, I.; Chaschin, S.; Gamzazade, I.; Khokhlov, R. *Macromol. Chem. Phys.*, **2008**. 209(21): p. 2204-2212.
73. Veregin, R.P.; Odell, P. G.; Michalak, L. M.; Georges, M. *Macromolecules*, **1996**. 29(11): p. 4161-4163.
74. Fahmina, Z.E.; Sharmin, S. M.; Sharif, A. *J. Appl. Polym. Sci.*, **2004**. 92(4): p. 2538-2544.
75. Sang-Soo, L.; Tae Oan, A. *J. Appl. Polym. Sci.*, **1999**. 71(7): p. 1187-1196.