

ALGUNOS ASPECTOS QUE INFLUYEN SOBRE LA REACCIÓN DE COPOLIMERIZACIÓN POR INJERTO RADIOINDUCIDA DEL PAcV EN EL PHB

Beatriz Santos Carballal, Chavati Rozsa Galego, Norma Galego Fernández

Facultad de Química–Instituto de Ciencia y Tecnología de Materiales, Universidad de la Habana, Cuba. Correo electrónico: betty3sca@gmail.com

Recibido: Octubre 2012; Aceptado: Enero 2013

RESUMEN

Los polihidroxiálcanoatos son poliésteres microbianos, obtenidos a partir de fuentes renovables. Son polímeros termoplásticos y biodegradables, lo cual le confiere potenciales aplicaciones en el campo de los biomateriales. Su uso se ve limitado por su moderada hidrofiliidad. Para mejorar esta propiedad, en trabajos anteriores, fue estudiada la reacción de copolimerización por injerto radioinducida del PAcV sobre el PHB, tanto en masa como en presencia de disolventes. En este trabajo se analizan los principales factores que pudieran influir sobre el grado de injerto obtenido en la reacción de copolimerización, sobre la base de las reacciones de radiólisis del disolvente, las constantes relativas de la transferencia de los disolventes reportadas en la literatura y el por ciento de hinchamiento hallado experimentalmente para el PHB en los diferentes disolventes. Con los criterios obtenidos se puede concluir que el disolvente hincha al PHB, de forma tal que bloquea el acceso de los centros activos del PAcV y que este efecto del disolvente en la reacción de copolimerización por injerto es más acentuado que el de la constante relativa de la transferencia con el disolvente y de la radiólisis del disolvente.

Palabras Claves: Polihidroxi酪ato, radiólisis, reacción de injerto

ABSTRACT

Polyhydroxyalkanoates are microbial polyesters, obtained from renewable sources. They are thermoplastic and biodegradable polymers, which gives potential applications in the field of biomaterials. Its use is limited by its moderate hydrophilicity. To improve this property, in previous work, it was studied the radiation–induced reaction of graft copolymerization of PVAc onto PHB, in bulk and in the presence of solvents. This paper analyzes the main factors that may influence in the degree of grafting obtained in the copolymerization reaction, based on the reactions of solvent radiolysis, the transfer constant of the solvents reported in the literature and by swelling percent of the PHB found experimentally for the different solvents. With the criteria obtained it can be concluded that the solvent swells the PHB, and blocks the access to the active centers of PVAc and this effect of solvent in the graft copolymerization reaction is more accentuated than the relative constant transfer of the solvent and the radiolysis of the solvent.

Key Words: Polyhydroxybutyrate, radiolysis, graft reaction

INTRODUCCIÓN

Los polihidroxiálcanoatos (PHAs) son poliésteres bacterianos, que se encuentran entre materiales de gran interés por sus propiedades como termoplásticos, su biodegradabilidad, así como su biocompatibilidad. Son producidos por una amplia variedad de microorganismos, donde se acumulan en forma de gránulos discretos en la membrana citoplasmática de las células; con la finalidad de almacenar carbono y energía a nivel intracelular [1].

El PHB es el más común de los homo–poliésteres bacterianos sintetizados por el reino microbiológico, fue el primer miembro de esta familia descubierto en 1926 por *Maurice Lemoigne* como un constituyente de la bacteria *Bacillus megaterium* [1–3].

El PHB se caracteriza por ser un termoplástico semicristalino, con una temperatura de fusión (T_m) cercana a 180°C. Sus propiedades físicas se comparan frecuentemente con las del polipropileno isotáctico pues tienen similar T_m y cristalinidad. Este polímero se considera un material rígido, frágil, de baja elongación, que presenta una considerable inestabilidad térmica por encima de la temperatura de fusión [4–6].

Las ventajas fundamentales de esta familia de poliésteres son: la conjugación de sus propiedades físicas como termoplásticos y su condición de ser polímeros “amigables con el medioambiente”, o sea, se obtienen de fuentes renovables y a su vez son materiales biodegradables y biocompatibles. Estas propiedades le confieren potenciales aplicaciones en diferentes campos, se destacan en el campo médico como biomaterial: en suturas, clavos ortopédicos, matrices liberadoras de drogas, ingeniería de tejidos, entre otras [7].

Los PHAs son moderadamente hidrofílicos [6, 8, 9], lo cual limita sus aplicaciones como biomateriales, ya que se obstaculiza el proceso de bioasimilación por el organismo, o sea, se impide la efectiva interacción que debe existir entre el material injertado y las células [10].

Se han desarrollado numerosas técnicas para modificar la hidrofilia de los PHAs y ampliar su escala de aplicación.

La copolimerización por injerto permite la modificación de diferentes propiedades en el polímero, convirtiéndose en un tema de gran interés para la obtención de materiales que pudieran tener variadas aplicaciones.

La copolimerización por injerto se puede llevar a cabo haciendo incidir radiación ionizante sobre una mezcla polímero–monómero. Ocurre por un mecanismo radical, generalmente se emplean sistemas heterogéneos donde el polímero se hincha en el monómero, pero no se llega a disolver, con el objetivo de mejorar la accesibilidad a los sitios de injerto. Para polímeros semicristalinos la región amorfa es la que se hincha y es por donde tiene lugar preferentemente la reacción de injerto. La velocidad de difusión del monómero a través del polímero es por lo general lenta, y limita el grado de injerto obtenido. La mayoría de estas polimerizaciones producen mezclas de copolímero injertado, polímero sin injertar y homopolímero proveniente de la polimerización del monómero [11].

El método de copolimerización por injerto inducido por radiaciones, brinda la posibilidad de iniciar la polimerización en un amplio rango de temperaturas, incluyendo bajas temperaturas y en varios estados del monómero, ya sea en masa, solución, emulsión e incluso en estado sólido.

En trabajos anteriores se ha reportado la obtención del copolímero por injerto PHB–g–PAcV bajo diferentes condiciones:

– Por irradiación simultánea del PHB y el acetato de vinilo (AcV) ($m_{AcV}/m_{PHB} = 6$), con una dosis de irradiación de 10 kG, a temperatura ambiente. El grado de injerto calculado por análisis termogravimétrico (W_{ATG}) obtenido fue de 42% [12, 13].

– Por irradiación simultánea del PHB y soluciones de AcV en diferentes disolventes ($m_{AcV}/m_{PHB} = 2,32$), con una dosis de 10 kG a temperatura ambiente, los resultados de W_{ATG} se muestran en la Tabla 1 [14].

Tabla 1. Grado de injerto obtenido en el PHB-g-PAcV en diferentes disolventes.

Disolvente	Acetona	éter dietílico	n-butanol	Acetato de etilo	n-Hexano	Masa
W_{ATG} (%)	6,5	7,7	13,1	13,2	26,3	69,8

González et al. [12, 13] reportan que está favorecida la homopolimerización del AcV con respecto a la copolimerización y no reportan evidencias de reacción de entrecruzamiento.

En la obtención del PHB-g-PAcV, el injerto ocurre por la reacción de acoplamiento del centro activo del PAcV en crecimiento con el radical formado en el carbono terciario de la cadena del PHB [12, 13], o sea, es una reacción de copolimerización por injerto sobre la cadena del polímero (ver Figura 1) [11].

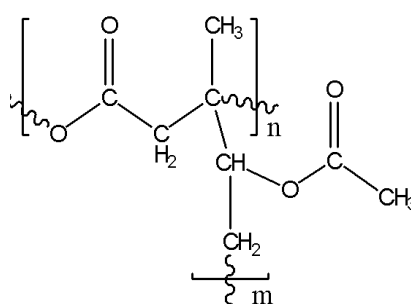


Figura 1. Estructura del PHB-g-PAcV.

En este trabajo se discuten aspectos que influyen sobre la reacción de copolimerización por injerto del PAcV en el PHB debido a la presencia del disolvente: las reacciones de radiolisis del disolvente, las reacciones de transferencia con el disolvente en la polimerización del AcV y la interacción polímero (PHB)-disolvente.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales. PHB suministrado por el Instituto de Investigaciones Tecnológicas de São Paulo, Sección Biotecnológica (Brasil). PHB-g-PAcV suministrado por González et al. [12-14],

cloroformo (*Merck*), acetato de etilo (*Merck*), n-butanol (*Merck*), n-hexano (*Aldrich*), éter etílico (UNI-CHEM), acetona (UNI-CHEM) y *etanol* comercial sin purificación previa.

Métodos y técnicas. Purificación. La purificación del PHB y sus copolímeros por injerto, se logró por disolución en cloroformo y precipitación en etanol (en una proporción 1–10). Se filtra y se lleva el precipitado a peso constante.

Preparación de la membrana. Se prepararon soluciones en cloroformo de concentración 2% en peso de los materiales de partida, previamente purificados y se formaron películas por la técnica de evaporación del disolvente sobre una placa Petry a temperatura ambiente. Las membranas obtenidas tenían un espesor de 0,03 mm a 0,12 mm.

Hinchamiento. Se tomaron películas de PHB de 1 cm² y se sumergieron en diferentes disolventes en recipientes tapados a temperatura ambiente. Se determinó el aumento de peso en el tiempo por pesadas de las películas previamente secadas con papel absorbente. Con estos datos se calculó el grado de hinchamiento (%H) a partir de la ecuación 1:

$$\%H = \frac{m - m_0}{m_0} \cdot 100 \quad (1)$$

donde m_0 es la masa del polímero sin hincharse y m la masa del polímero hinchado [12, 15].

Equipo: Balanza analítica *Sartorius* ADA 180

Se realizaron tres réplicas por experimento a temperatura ambiente. Los resultados que se reportan corresponden al hinchamiento máximo obtenido a las 94 horas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de la reacción de copolimerización por injerto radioinducida del PAcV sobre el PHB. La reacción de injerto radioinducida del PAcV sobre el PHB fue estudiada en trabajos anteriores y fueron discutidos los resultados en la introducción [12–14].

Previamente se señaló que la reacción de injerto fue exitosa y se caracterizó la mezcla obtenida de copolímero (PHB-g-PAcV) y polímero (PHB). Con los valores del grado de injerto obtenido por ATG, el porcentaje de cristalinidad hallado de experimentos de DRX y el criterio que la reacción está más favorecida en la fase amorfa, se estimó el largo promedio de las cadenas de PAcV injertadas, resultando un valor de cinco moléculas de AcV por injerto como promedio, o sea, que las cadenas de PAcV injertadas son oligoméricas.

Estos resultados llevaron a estudiar la reacción de injerto en presencia de disolventes, adecuados para el PAcV y no para el PHB, por lo que la reacción se desarrolló siempre en un

sistema heterogéneo [12–14].

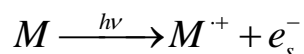
La presencia del disolvente introduce tres aspectos a evaluar:

– Las reacciones de radiólisis del disolvente, donde se originan especies activadas que pueden interactuar con los centros activos del polímero.

– Las reacciones de transferencia, características de las poliadiciones.

– La interacción del PHB–disolvente, que pudiera hacer más vulnerable los sitios de injerto en el polímero y que se evalúa por el grado de hinchamiento en el disolvente en cuestión.

Influencia de las reacciones de radiólisis de los disolventes. En las reacciones radioinducidas, los disolventes son afectados por la irradiación; el resultado de la interacción de las partículas de alta energía con las moléculas de disolvente, es la salida de un electrón, llamado electrón secundario, debido a que él posee la energía suficiente para provocar ionizaciones adicionales y la correspondiente formación de un radical libre [16]:



La probabilidad de que este electrón se recombine nuevamente con la especie activa se puede analizar según la expresión de *Onsager* [16]:

$$r_c = \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0\epsilon_r k_B T} \quad (2)$$

donde r_c es la distancia a la cual el potencial de *Coulomb* entre el electrón y M^+ es igual a la energía térmica (kT), e la carga del electrón ($e = 1,6 \cdot 10^{-19} C$), ϵ_0 es la permitividad en el vacío ($\epsilon_0 = 8,854 \cdot 10^{-12} C^2 \cdot J^{-1} \cdot m^{-1}$), ϵ_r la permitividad del medio, k_B es la constante de *Boltzman* ($k_B = 1,38 \cdot 10^{-23} J \cdot K^{-1}$) y T es la temperatura en *Kelvin*.

Todas las reacciones llevadas a cabo en diferentes disolventes fueron a la misma temperatura de trabajo e igual a la temperatura ambiente; por lo cual, r_c solo depende del inverso de la permitividad del medio. Por tanto, al trabajar con disolventes con menor permitividad, r_c alcanzará valores mayores y la mayoría de los radicales producidos en la reacción de radiólisis del disolvente se recombinarán con los electrones minimizando el número de centros activos del disolvente capaces de combinarse con los centros activos del polímero, favoreciendo de esta forma la reacción de injerto [16].

En la Figura 2 se han representado los valores obtenidos de grado de injerto para cada reacción en función de la permitividad de los diferentes medios [17].

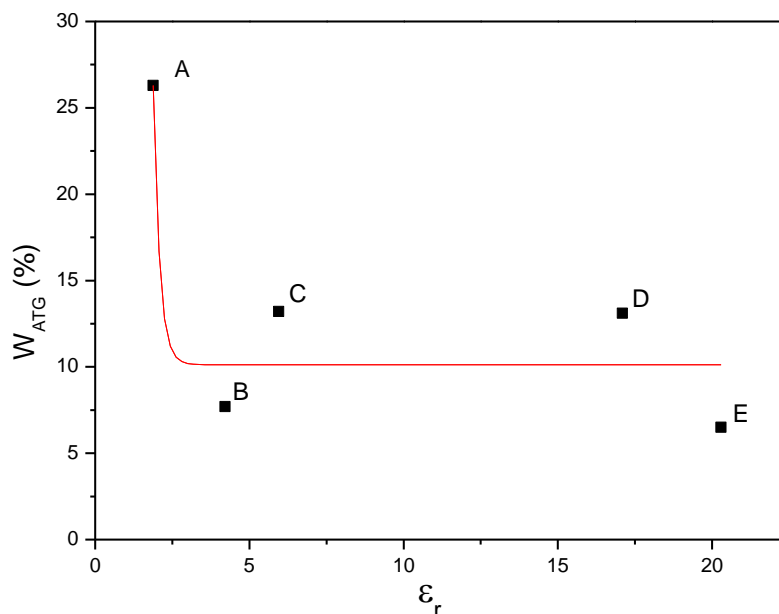


Figura 2. Comportamiento del W_{ATG} en función de la permitividad de diferentes disolventes (ϵ_r). A: n-hexano, B: éter dietílico, C: acetato de etilo, D: n-butanol, y E: acetona

Mediante la Figura 2 se pudiera estimar que el grado de injerto en función de la permitividad relativa de los disolventes empleados solo depende de estos para sistemas con permitividades relativas menores de cuatro; y a partir de valores tan bajos de permitividad, el grado de injerto se hace prácticamente independiente del disolvente utilizado.

Estos resultados permiten suponer que el efecto de las radiaciones sobre el disolvente no es determinante en la reacción en estudio, ni aún en el caso del disolvente de mayor permitividad utilizado (acetona) donde la probabilidad de recombinación del electrón con el ión molecular liberados por la radiación incidente (ecuación de *Onsager*) debe ser menor.

Influencia de las reacciones de transferencia con los disolventes. En cualquier poliadición, los disolventes constituyen agentes de transferencia, que reducen la longitud de la cadena polimérica, lo que se traduce en disminución de la masa molecular [11, 18].

En los trabajos referidos, los disolventes escogidos presentan constantes relativas de las transferencias (C_S) bajas, de manera que la reacción de transferencia no está favorecida; no obstante, resulta conveniente un análisis de cómo estos valores pudieran influir en el grado de injerto obtenido.

El análisis de la variación del W_{ATG} obtenido para las reacciones en los diferentes disolventes en función de la C_S [19] se muestra en la Figura 3, donde se observa el comportamiento de una exponencial decreciente de primer orden, este resultado es de esperar.

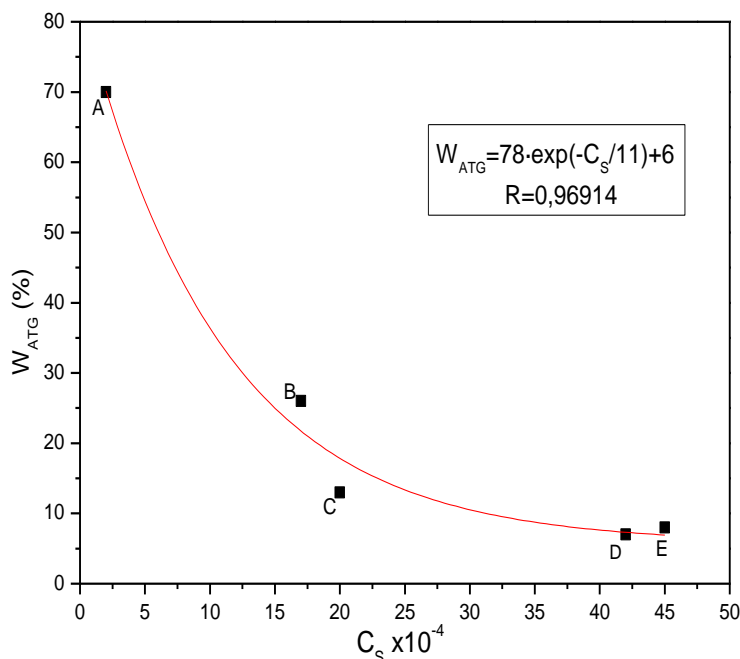


Figura 3. Comportamiento del W_{ATG} como función de la C_s . A: acetato de vinilo, B: n-hexano, C: n-butanol, D: acetona, E: éter dietílico (excepto el acetato de etilo).

Sólo la reacción en solución de acetato de etilo se escapa a este comportamiento. Este hecho se puede explicar por el valor extremadamente bajo de su constante relativa de transferencia ($C_{s(\text{Acetato de Etilo})} = 1 \cdot 10^{-4}$) [19].

Como se puede observar en la reacción en masa el grado de injerto es mayor que el obtenido al realizar la reacción en presencia de disolventes, este resultado experimental pudiera explicarse por las reacciones de transferencia del disolvente con los centros activos; pero como se puede observar estos valores de constantes de transferencia son bastante bajos, por lo cual se espera que exista otro factor influyendo sobre los valores del grado de injerto.

Influencia del grado de hinchamiento del PHB en diferentes disolventes. El criterio precedente de la acción del disolvente en este sistema, consiste en la idea de que el disolvente favorecería el acceso de los centros activos de PAcV en crecimiento hacia la superficie del polímero, debido a la disminución de la viscosidad del medio que aumenta la movilidad de los centros activos. El disolvente fue escogido por *González et al.* de forma favorable para el PAcV y no para el PHB, en este trabajo se estudia la capacidad que estos puedan tener de hinchar al PHB, pues de esta forma un mayor grado de hinchamiento del PHB debería hacer más vulnerable los sitios de injerto en la macromolécula y favorecer el desarrollo de la reacción de injerto [12, 14]. Indudablemente no es el factor que prevalece, pues la reacción de injerto está más favorecida en ausencia de disolvente como se observa en la Figura 4.

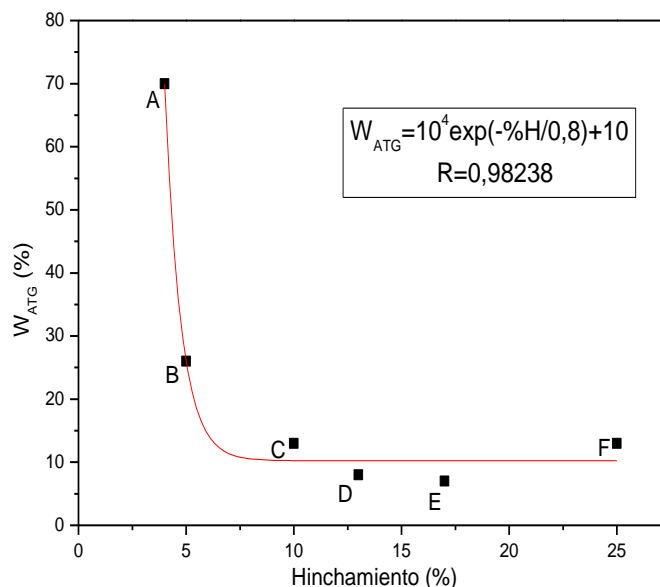


Figura 4. Comportamiento del W_{ATG} como función del % H. A: acetato de vinilo; B: n-hexano, C: n-butanol, D: éter dietílico, E: acetona, y F: acetato de etilo.

En la figura 4 se tiene que el grado de injerto en función del por ciento de hinchamiento cumple con una exponencial decreciente de primer orden, hay una disminución brusca de W_{ATG} con la presencia del disolvente y a partir de valores tan bajos como $\%H = 7$, el grado de injerto se hace prácticamente independiente del disolvente utilizado.

El efecto del disolvente de disminución del valor del W_{ATG} con el aumento de $\%H$, contrario a lo que se esperaba, se puede interpretar como producto de un volumen “excluido” mayor debido a la mayor interacción PHB–disolvente, es decir, un volumen que es ocupado por el disolvente y que impide la entrada de los centros activos del PAcV a la cadena del PHB, lo que produce una disminución del grado de injerto en el material final.

Es de notar que el efecto PHB–disolvente, evaluado por el $\%H$ y determinado por el ajuste exponencial realizado, es mayor que el efecto de las reacciones de transferencia, también analizado y de los criterios de la radiolisis del disolvente.

CONCLUSIONES

En este trabajo se estudió el efecto del disolvente sobre el grado de injerto obtenido en la reacción de copolimerización radioinducida del PAcV sobre el PHB. Este análisis se realizó sobre la base de las reacciones de radiolisis del disolvente, las constantes relativas de la transferencia de los disolventes reportadas en la literatura y el por ciento de hinchamiento hallado para el PHB en los diferentes disolventes.

Con los criterios obtenidos se tiene que el disolvente hincha al PHB, de forma tal que bloquea

el acceso de los centros activos del PACV y que este efecto del disolvente en la reacción de copolimerización por injerto es más acentuado que el de la constante relativa de la transferencia con el disolvente y también de la posible radiolisis del disolvente.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Doi Y., Sudesh K., *Polym. Ad. Technol.*, **11**, 865 (2000)
- [2] Lenz R., Marchessault R., *Biomacromolecules*, **6**, 1, (2005)
- [3] Poirier Y., Nawarath C., Somerville C., *Biotechnology*, **13**, 142, (1995)
- [4] Doi Y., *Microbial Polyesters*. VCH Publishers: New York, 1990
- [5] Loo C., Sudesh K., *Malaysian Polym. J.*, **2**, 31, (2007)
- [6] Asrar J., Valentin H., Berger P., Tran M., Padgette S., Garbow J., *Biomacromolecules*, **3**, 1006, (2002)
- [7] Chen G., Wu Q., *Biomaterials*, **26**, 6565, (2005)
- [8] Torun G., Osea K., Kenar H., Hasirc N., Hasirc V., *Biomaterials*, **24**, 1949, (2003)
- [9] Tesema Y., Raghavan D., Stubbs J., *J. Ap. Polym. Sc.*, **93**, 2445, (2004)
- [10] Thire R., Meiga T., Dick S., Andrade L., *Macromolecular Symp.*, **258**, 38, (2007)
- [11] Odian G., *Principles of Polymerization*, John Wiley & Sons, Inc: New York, 2004
- [12] González M., *Síntesis y Caracterización química-física del poli (3-hidroxibutirato-g-acetato de vinilo), obtenido por copolimerización de injerto inducido por radiaciones*, Tesis de Maestría. Ciudad de La Habana, Cuba. Universidad de la Habana, 2007
- [13] González M., Ortiz P., Rapado M., Galego N., *Int. J. Polym. Anal. Charact.*, **13**, 1, (2008)
- [14] González M., Ortiz P., Rapado M., Galego N., *Int. J. Polym. Anal. Charact.*, **14**, 231, (2009)
- [15] Neogi P., *Diffusion in Polymers*, Marcel Dekker Inc: New York, 1996
- [16] Spothheim-Maurizot M., *Radiation chemistry: from basics to applications in material and life sciences*, France, EDP Sciences, 2008
- [17] *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 84ª edición, 2004
- [18] Cowie J., *Polymers: Chemistry and Physics of Modern Materials*. Edinburgo (Escocia): Blackie Academic & Professional, 1991
- [19] *Polymer Handbook*, 3ª Edición. New York (USA): John Wiley and Sons, 1989