

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

Tesis presentada como parte de los requisitos de la Universidad Nacional del Litoral, para la obtención del Grado Académico de Doctor en Ingeniería Química en el campo de la Ingeniería de las Polimerizaciones

**“NANOPARTÍCULAS HÍBRIDAS ACRÍLICO/CASEÍNA
DISPERSAS EN AGUA PARA SU EMPLEO COMO
RECUBRIMIENTO DE BAJO IMPACTO AMBIENTAL”**

Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC), dependiente de la Universidad Nacional del Litoral (UNL) y del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

Ing. Matías Luis Picchio

Director de Tesis: Dr. Roque J. Minari

Codirector de Tesis: Dr. Luis M. Gugliotta

Miembros del Jurado: Dra. Mirta I. Aranguren

Dr. Javier I. Amalvy

Dr. Marcelo C. Murguía

A mis padres y a mis abuelos

Agradecimientos

Muchas son las personas que de una forma u otra han colaborado en la realización de este trabajo. Muy especialmente quiero agradecer:

A mis directores, Dres. Roque Minari y Luis Gugliotta, por su dedicación, paciencia, confianza y correcta dirección.

A las Dras. Verónica Gonzales y María Jesús Barandiaran, por su dedicación y constante colaboración a lo largo de esta Tesis.

A la empresa NUPLEX RESINS por su participación en parte del trabajo experimental de esta Tesis.

Al Dr. Mario Passeggi del IFIS y al Dr. Mariano Borrado del Polymat (España), por su colaboración en las observaciones por AFM y TEM, respectivamente, y al Sr. Daniel Depiante del Grupo de Ingeniería en Alimentos y Biotecnología del INTEC por los ensayos reológicos.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por la ayuda económica para poder realizar mi Doctorado.

A mis compañeros del Grupo de Polímeros de INTEC, Gregorio, Ludmila, Lis, Carlos C., Ana, Luis C., Valeria, Carolina, Leandro, Julio, Marcelo, Mariana, Molly, Natalia, Marisa, María Eugenia, Mara, Elangeni, Carlos B. y Yurany, por su amistad y apoyo.

A toda mi familia, y especialmente a mis padres, Adriana y Ariel, por su apoyo incondicional, estímulo y confianza; a mis abuelos, Norma, Nilo y Pepo, por su enorme cariño; a mis hermanos, Sofía y Juan Cruz, por estar siempre presentes.

Resumen

La producción de látex híbridos acrílico/proteína tiene un importante interés para la obtención de materiales sustentables y ecológicos que combinan las cualidades positivas de ambos polímeros en forma sinérgica, esperándose mejores propiedades en el material resultante como consecuencia del contacto íntimo entre sus componentes. La polimerización en emulsión se encuentra entre las principales estrategias empleadas actualmente para la síntesis de este tipo de materiales híbridos, debido a que permite la fácil incorporación del polímero sintético sobre las cadenas de proteína, a través de reacciones de injerto en medio acuoso.

En esta Tesis se investiga la polimerización por injerto de monómeros acrílicos [acrilato de n-butilo (n-BA) y metacrilato de metilo (MMA)] sobre caseína, para obtener látex híbridos nanoestructurados y con morfología controlada, como una alternativa sustentable para su aplicación como ligantes para recubrimientos en base acuosa. La producción de estos látex híbridos posee el atractivo de la sustitución parcial de monómeros acrílicos derivados del petróleo por una sustancia de origen natural como lo es la caseína. Además, la metodología de síntesis empleada cuenta con las ventajas de las polimerizaciones acuosas en medio disperso, que permiten mejorar los típicos problemas de agitación y transferencia de calor de los sistemas de polimerización en masa/solución, comúnmente empleados para la producción industrial de recubrimientos en base a solvente, y reducir la emisión de compuestos orgánicos volátiles, lo cual hace que el proceso sea más amigable con el medio ambiente.

En el Capítulo 1, se describen las características y propiedades de los principales componentes del sistema híbrido en estudio, introduciéndose además los conceptos relacionados con la polimerización en emulsión en cuanto a los posibles mecanismos de nucleación de partículas presentes durante la reacción. También se presenta una amplia revisión sobre compuestos híbridos nanoestructurados, focalizándose en las diferentes

estrategias de síntesis que permiten obtener este tipo de materiales y sus potenciales aplicaciones en distintos campos de la ciencia y la tecnología. Finalmente, se introducen conceptos fundamentales en el área de los recubrimientos, abarcando desde el proceso de formación de película, hasta las principales propiedades de su aplicación.

En el Capítulo 2, se incluye la descripción de los materiales y de los métodos de síntesis y caracterización, que se utilizan a lo largo del trabajo experimental de esta Tesis.

En el Capítulo 3, se estudió la polimerización en emulsión de MMA en presencia de caseína, trabajando con contenidos de sólidos bajos (10%), con el objeto de determinar los principales mecanismos de nucleación e injerto que intervienen durante la polimerización. Si bien el homo-poli(metacrilato de metilo) (PMMA) no tiene capacidad de formación de película, la adopción del MMA frente a otros monómeros se debe a que su homopolimerización produce polímeros lineales simples (en ausencia de caseína), simplificando la caracterización de los látex híbridos. Se evaluó la influencia de la concentración de caseína y del iniciador tert-butil hidroperóxido (TBHP) sobre la cinética de polimerización, el proceso de nucleación y la microestructura molecular de los látex. Además, se propuso un mecanismo global para la formación de las nanopartículas, el cual permite describir adecuadamente el comportamiento del sistema híbrido en el rango de concentraciones de caseína estudiado.

En el Capítulo 4, se consideró la síntesis de látex híbridos acrílico/caseína utilizando formulaciones monoméricas acordes a materiales formadores de película y trabajando con contenidos de sólidos moderados (20%). El estudio involucró el análisis del efecto de la concentración de proteína sobre la morfología y las propiedades de los materiales obtenidos a partir de los látex sintetizados. Estas propiedades se relacionaron con los principales requerimientos que deben cumplir los recubrimientos en base acuosa, tales como baja temperatura mínima de formación de película (MFFT), elevada dureza, y buena resistencia al bloqueo, agua y solventes orgánicos. Además, se justificó el desempeño de las películas

obtenidas con diferentes concentraciones de caseína, sobre la base del mecanismo de nucleación propuesto en el Capítulo 3.

En el Capítulo 5, se investigó la modificación química de la caseína mediante la incorporación de dobles enlaces vinílicos en su estructura, utilizando ácido acrílico (AA) como agente funcionalizante y 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) como activador, con el principal objetivo de promover el injerto del polímero acrílico e incrementar la compatibilidad del sistema. Se analizó el efecto de la utilización de caseína acrilada (AFC) sobre la cinética de polimerización, la microestructura molecular del polímero y la morfología de las partículas, empleando MMA como único monómero en la formulación. Además, se evaluó la influencia del uso de AFC sobre el desempeño de las películas híbridas obtenidas mediante formulaciones de n-BA/MMA.

En el Capítulo 6, se continuó con la metodología de incorporación de funcionalidades vinílicas sobre la caseína, empleando en este caso glicidil metacrilato (GMA) como monómero funcional y obteniendo caseína metacrilada (MFC). En este capítulo se estudió el control de la microestructura molecular de las nanopartículas y de las propiedades de las películas obtenidas a partir de los látex sintetizados, con el grado de metacrilación de la proteína. Se realizó un detallado análisis morfológico de los materiales, con el objeto de correlacionar la nanoestructura de los látex con las propiedades finales de aplicación de las películas. Se investigó además, la influencia de los grados de injerto proteico y acrílico alcanzados, mediante el uso de MFC, sobre las propiedades de aplicación como recubrimiento de los materiales obtenidos. Los resultados presentados en este capítulo abrieron un nuevo horizonte para una potencial aplicación de los látex híbridos a nivel industrial, como ligantes para recubrimientos de base acuosa.

En el Capítulo 7, se avanzó hacia la síntesis de látex híbridos con contenido de sólidos de 35%, acorde a los requerimientos necesarios para una aplicación industrial. Se prepararon dos dispersiones con diferentes contenidos de MFC, estudiándose la factibilidad de la implementación industrial de la estrategia de síntesis propuesta. Las dispersiones

sintetizadas fueron enviadas para su análisis a una de las empresas líderes a nivel mundial en la producción de resinas base para recubrimientos (NUPLEX RESINS, Holanda). Se realizó un análisis estadístico multivariable, donde se evaluó el efecto de la incorporación de diferentes aditivos tales como co-solventes, antiespumantes y agentes humectantes, sobre algunas de las propiedades de los recubrimientos, tales como brillo, apariencia, dureza y resistencia química. Además, se presentaron algunos análisis realizados en nuestros laboratorios, incluyendo la caracterización de la microestructura molecular de los látex, las propiedades mecánicas de las películas y sus grados de hinchamiento en diferentes medios.

Finalmente, en el Capítulo 8 se extrajeron las principales conclusiones del trabajo de investigación y se formularon algunas sugerencias para trabajos futuros.

Índice General

	Página
Resumen	v
Índice General	ix
Índice de Tablas	xvii
Índice de Figuras	xxi
Prólogo	1
Capítulo 1: Consideraciones generales	
1.1. INTRODUCCION	3
1.2. CASEÍNA	6
1.2.1. Estructura	6
1.2.2. Aplicaciones.....	10
1.3. POLIMERIZACIÓN EN EMULSIÓN	11
1.4. POLÍMEROS ACRÍLICOS	15
1.4.1. Polimetacrilato de metilo (PMMA)	15
1.4.1.1. Propiedades del PMMA.....	16
1.4.1.2. Aplicaciones del PMMA.....	17
1.4.2. Poliacrilato de n-butilo (n-PBA)	18
1.4.2.1. Propiedades del n-PBA	18
1.4.2.2. Aplicaciones del n-PBA	21
1.5. MATERIALES HÍBRIDOS NANOESTRUCTURADOS.....	22
1.5.1. Polimerización de injerto de monómeros vinílicos a partir de polímeros solubles en agua conteniendo grupos aminos.....	25
1.5.2. Aplicaciones de partículas anfifílicas núcleo-coraza.....	27

1.5.2.1. Liberación controlada de drogas y genes	27
1.5.2.2. Inmovilización de enzimas.....	29
1.5.2.3. Quimiosensores	30
1.5.2.4. Recubrimientos	32
1.6. CONCEPTOS BÁSICOS SOBRE RECUBRIMIENTOS.....	34
1.6.1. Definiciones y características esenciales	34
1.6.2. Reología de recubrimientos	36
1.6.3. Formación de película.....	38
1.6.4. Propiedades mecánicas.....	41
1.6.4.1. Ensayo tensión-deformación	41
1.6.4.2. Ensayo de fuerza	43
1.6.4.3. Adhesión al sustrato y resistencia al bloqueo	44
1.6.5. Resistencia química.....	46

Capítulo 2: Materiales, procesos y métodos de caracterización

2.1. MATERIALES.....	49
2.2. PROCESOS.....	50
2.2.1. Polimerización en emulsión.....	50
2.2.2. Funcionalización de la caseína	53
2.2.2.1. Funcionalización con EDC/AA.....	54
2.2.2.2. Funcionalización con GMA.....	54
2.3. MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN.....	55
2.3.1. Caracterización de los látex	55
2.3.1.1. Conversión de monómero por gravimetría	55
2.3.1.2. Tamaño medio de partículas por dispersión de luz dinámica	56
2.3.1.3. Tensión superficial del látex	56

2.3.1.4. Distribución de tamaños de partículas por fraccionamiento	
hidrodinámico capilar.....	59
2.3.1.5. Estudios reológicos de látices híbridos.....	61
2.3.2. Caracterización de la microestructura molecular de las nanopartículas	62
2.3.2.1. Eficiencia de injerto acrílico	62
2.3.2.2. Eficiencia de injerto de caseína.....	65
2.3.2.3. Pesos moleculares.....	68
2.3.3. Caracterización de la caseína funcionalizada (FC)	68
2.3.3.1. Resonancia magnética nuclear de protones (¹ H-RMN)	68
2.3.3.2. Determinación del porcentaje efectivo de dobles enlaces incorporados a la FC: Método del o-ftalaldehído (OPA).....	69
2.3.4. Morfología de las nanopartículas por microscopía electrónica de transmisión	70
2.3.5. Caracterización de los materiales	71
2.3.5.1. Caracterización de la morfología de los materiales por microscopía de fuerza atómica (AFM).....	71
2.3.5.2. Temperatura mínima de formación de película (MFFT).....	75
2.3.5.3. Opacidad de los materiales.....	76
2.3.5.4. Angulo de contacto (CA)	76
2.3.5.5. Ensayos de resistencia al bloqueo de las películas.....	77
2.3.5.6. Ensayos de tracción y dureza	78
2.3.5.7. Ensayos térmicos y termomecánicos	79
2.3.5.8. Ensayos de resistencia al agua y solventes orgánicos.....	80
2.3.5.9. Ensayo degradación en suelo	81

Capítulo 3: Estudio del mecanismo de nucleación e injerto de nanopartículas híbridas de polimetacrilato de metilo-caseína

3.1. INTRODUCCIÓN.....	83
3.2. TRABAJO EXPERIMENTAL.....	85
3.2.1. Polimerización.....	85
3.2.2. Caracterizaciones	86
3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	87
3.3.1. Efecto de la concentración de caseína.....	87
3.3.2. Efecto de la concentración de TBHP	95
3.3.3. Mecanismo propuesto para la nucleación de partículas	97
3.4. CONCLUSIONES.....	101

Capítulo 4: Síntesis de látex híbridos de poli(acrilato de n-butilo-co-metacrilato de metilo)-caseína y su aplicación en recubrimientos

4.1. INTRODUCCIÓN.....	103
4.2. TRABAJO EXPERIMENTAL.....	106
4.2.1. Polimerización.....	106
4.2.2. Caracterización de los látex	107
4.2.3. Caracterización de las películas.....	108
4.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	108
4.3.1. Cinética de polimerización y microestructura molecular	108
4.3.2. Morfología de las películas.....	112
4.3.3. Propiedades de las películas	115
4.3.4. Comportamiento mecánico de las películas	125
4.3.5. Propiedades termomecánicas de las películas.....	128
4.3.6. Resistencia al agua y a solventes orgánicos	129
4.3.7. Degradabilidad en suelo	132

4.4. CONCLUSIONES.....	134
Capítulo 5: Incremento en la compatibilidad de látex híbridos de acrílico-caseína mediante la utilización de ácido acrílico como agente funcionalizante	
5.1. INTRODUCCIÓN.....	137
5.2. TRABAJO EXPERIMENTAL.....	138
5.2.1. Síntesis de la caseína acrilada (AFC)	139
5.2.2. Polimerización.....	139
5.2.3. Caracterización de la caseína acrilada (AFC)	140
5.2.4. Caracterización de los látex	140
5.2.5. Caracterización de las películas.....	141
5.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	142
5.3.1. Síntesis de la caseína acrilada (AFC)	142
5.3.2. Síntesis de nanopartículas híbridas de PMMA-AFC.....	143
5.3.3. Síntesis de látex híbridos de poli(n-BA/MMA)-AFC	147
5.3.4. Evaluación de la compatibilidad de películas híbridas de poli(n-BA/MMA)-AFC	151
5.3.4.1. Morfología de las películas híbridas de acrílico-AFC	151
5.3.4.2. Propiedades de las películas híbridas de acrílico-AFC.....	152
5.3.4.3. Comportamiento mecánico de las películas híbridas de acrílico-AFC ...	155
5.3.4.4. Resistencia al agua y a solventes orgánicos de las películas híbridas de acrílico-AFC	157
5.4. CONCLUSIONES.....	160

Capítulo 6: Utilización de glicidil metacrilato para incrementar la compatibilidad de látex híbridos de acrílico-caseína

6.1. INTRODUCCIÓN.....	163
6.2. TRABAJO EXPERIMENTAL.....	164
6.2.1. Síntesis de la caseína metacrilada (MFC).....	164
6.2.2. Polimerización.....	165
6.2.3. Caracterización de la caseína metacrilada (MFC).....	166
6.2.4. Caracterización de los látex.....	166
6.2.5. Caracterización de las películas.....	167
6.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	168
6.3.1. Síntesis de la caseína metacrilada (MFC).....	168
6.3.2. Síntesis de nanopartículas híbridas de acrílico-MFC.....	171
6.3.3. Evaluación de la compatibilidad de las películas híbridas de acrílico-MFC.....	176
6.3.3.1. Morfología de las películas híbridas de acrílico-MFC.....	176
6.3.3.2. Propiedades de las películas híbridas de acrílico-MFC.....	179
6.3.3.3. Comportamiento mecánico de las películas híbridas de acrílico-MFC...	183
6.3.3.4. Resistencia al agua y a solventes orgánicos de las películas híbridas de acrílico-MFC.....	186
6.3.3.5. Degradación en suelo de las películas híbridas de acrílico-MFC.....	189
6.3.4. Incorporación de GMA en la formulación monomérica. Efecto sobre la microestructura molecular de los látex y sobre las propiedades de las películas.....	190
6.3.4.1. Cinética de polimerización y microestructura molecular de los látex.....	191
6.3.4.2. Propiedades de las películas híbridas.....	193
6.4. CONCLUSIONES.....	196

Capítulo 7: Factibilidad industrial de los látex híbridos de acrílico-caseína

7.1. INTRODUCCIÓN	199
7.2. TRABAJO EXPERIMENTAL	200
7.2.1. Síntesis de los látex híbridos de acrílico-MFC.....	201
7.2.2. Caracterización de los látex	201
7.2.3. Caracterización de las películas	202
7.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	204
7.3.1. Síntesis de los látex híbridos de acrílico-MFC con alto contenido de sólidos ..	204
7.3.1.1. Cinética de polimerización y microestructura molecular de los látex	204
7.3.1.2. Principales propiedades de las películas obtenidas con diferentes contenidos de MFC10 y de sólidos.....	206
7.3.1.3. Análisis estadístico multivariable del desempeño de las películas híbridas 209	
7.4. CONCLUSIONES.....	219

Capítulo 8: Conclusiones generales y sugerencias para trabajos futuros

8.1. CONCLUSIONES GENERALES.....	222
8.2. SUGERENCIAS PARA TRABAJOS FUTUROS.....	228
Referencias	231
Abreviaturas	247
Nomenclaturas	249

Índice de Tablas

Tabla

1.1. Características de los componentes peptídicos de la caseína bovina.....	6
1.2. Composición aminoacídica de la caseína bovina en número de residuos por molécula	8
1.3. Usos industriales, no alimenticios, de la caseína	11
1.4. Principales características del PMMA.	17
1.5. Principales características del n-PBA	19
1.6. Estrategias de síntesis para la preparación de partículas anfílicas núcleo-coraza	23
2.1. Descripción de los reactivos empleados durante el trabajo experimental.....	49
2.2. Escala de resistencia al bloqueo (ASTM D4946-89)	78
3.1. Receta general para la síntesis de látex híbridos de PMMA-caseína.....	86
3.2. Homopolimerización de MMA en presencia de diferentes concentraciones de caseína.....	88
3.3. Efecto de la concentración de TBHP sobre la polimerización de MMA en presencia de altas concentraciones de caseína.....	96
4.1. Receta general para la síntesis de látex híbridos de acrílico-caseína	106

4.2. Copolimerización de n-BA/MMA en presencia de diferentes concentraciones de caseína (3-50 pphm). Características finales de los látex y propiedades de microestructura molecular.....	109
4.3. Propiedades de las películas correspondientes a los látex híbridos de acrílico-caseína y homólogos puros. Resultados de MFFT, Tg, Td _{max} , Opacidad y CA	117
4.4. Resultados de los ensayos mecánicos de los materiales híbridos de acrílico-caseína con diferentes concentraciones de proteína. Comparación con los materiales puros	125
4.5. Resistencia a solventes orgánicos de películas híbridas conteniendo diferentes concentraciones de proteína.....	132
4.6. Degradación en suelo de películas híbridas de acrílico-caseína	133
5.1. Receta general para la síntesis de látex funcionalizados de acrílico-AFC.....	140
5.2. Polimerización de MMA en presencia de diferentes cantidades de caseína nativa y acrilada. Principales características de los látex finales	144
5.3. Polimerización de n-BA/MMA en presencia de diferentes cantidades de caseína nativa y acrilada. Principales características de los látex finales.....	148
5.4. Propiedades de las películas correspondientes a los látex híbridos de acrílico-AFC y homólogos puros. Resultados de MFFT, Tg, Opacidad y CA.....	153
5.5. Resultados de los ensayos mecánicos de tracción de los materiales híbridos de acrílico-caseína con diferentes concentraciones de proteína nativa y AFC. Comparación con los materiales puros	156
5.6. Resistencia al agua y a MEK de películas híbridas conteniendo diferentes concentraciones de proteína nativa y AFC.....	157

6.1.	Receta general para la síntesis de látex funcionalizados de acrílico-MFC	166
6.2.	Polimerización de n-BA/MMA en presencia de 25 pphm de MFC con diferentes grados de metacrilación. Principales características de los látex finales.....	171
6.3.	Propiedades de las películas correspondientes a los látex híbridos de acrílico-MFC con diferentes grados de metacrilación. Resultados de MFFT, Tg, Td _{max} , Opacidad y CA.....	180
6.4.	Resultados de los ensayos mecánicos de los materiales híbridos de acrílico-MFC con diferentes grados de metacrilación.....	184
6.5.	Efectos de la utilización de MFC sobre la microestructura molecular de los látex y sus contribuciones sobre las propiedades mecánicas de las películas	186
6.6.	Resistencia al agua y a MEK de películas híbridas de acrílico-MFC con diferentes grados de metacrilación	187
6.7.	Degradación en suelo de películas híbridas de acrílico-MFC con diferentes grados de metacrilación.....	190
6.8.	Polimerización de n-BA/MMA con adición de GMA en la formulación monomérica. Principales características de los látex finales y su comparación con el uso de MFC.....	191
6.9.	Principales propiedades de las películas obtenidas por la adición de GMA en la formulación monomérica.....	194
7.1.	Receta general para la síntesis de látex de acrílico-MFC con contenido de sólidos de 35%	201
7.2.	Copolimerización de n-BA/MMA en presencia de 25 y 50 pphm de MFC10 con diferentes contenidos de sólidos. Principales características de los látex finales	204

7.3. Principales propiedades de las películas obtenidas a partir de látex sintetizados con diferentes contenidos de MFC10 y de sólidos.....	207
7.4. DoE utilizado para la formulación de los ligantes híbridos de acrílico-MFC10.....	210
7.5. Resultados de brillo, velo y dureza obtenidos a partir de la metodología “DoE + HTE” para el ligante MFC10 ₂₅ MR _{80/20} [#]	211
7.6. Resultados de brillo, velo y dureza obtenidos a partir de la metodología “DoE + HTE” para el ligante MFC10 ₅₀ MR _{80/20} [#]	212
7.7. Formulaciones óptimas calculadas para maximizar el desempeño del ligante MFC10 ₂₅ MR _{80/20} [#] . Valores predichos y experimentales de las propiedades de interés.....	215
7.8. Formulaciones óptimas calculadas para maximizar el desempeño del ligante MFC10 ₅₀ MR _{80/20} [#] . Valores predichos y experimentales de las propiedades de interés.....	215
7.8. Valores optimizados de brillo, velo, dureza y resistencia química de los ligantes híbridos frente a las propiedades de una resina comercial.....	215

Índice de Figuras

Figura

1.1. Modelos de subunidades de la micela de caseína. A) Morr (1967); B) Slattery y Evard (1973), donde las superficies claras representan los polímeros de α -s1 y β -CN (áreas hidrofóbicas) y las superficies oscuras que cubren una quinta parte del área de la superficie representan los polímeros de κ -CN (área hidrofílica); C) Schmidt (1982); D) Walstra y Jenness (1984).....	7
1.2. Estructura molecular de los diferentes aminoácidos	9
1.3. Esquema del proceso de Polimerización en Emulsión	15
1.4. Representación esquemática de la polimerización radicalaria de MMA.	16
1.5. Unidad repetitiva del n-PBA.....	18
1.6. Mecanismos de generación de ramificaciones cortas (a) y largas (b) y de gel (c) en la polimerización de n-BA	20
1.7. Mecanismo de formación de partículas anfifílicas núcleo-coraza a través de la polimerización de injerto de monómeros vinílicos y polímeros solubles en agua que contienen grupos amino (Li et al., 2002).	26
1.8. Ilustración de un quimiosensor fluorescente para la detección selectiva de Cu (II).	32
1.9. Comportamiento pseudoplástico de un típico látex acrílico. Viscosidad dinámica (η) vs velocidad de deformación ($\dot{\gamma}$).	37

1.10. Comportamiento reológico de distintos tipos de flujo. Esfuerzo de corte (σ) vs velocidad de deformación ($\dot{\gamma}$).....	38
1.11. Determinación de MFFT en látex poliméricos.....	39
1.12. Etapas involucradas en el proceso de formación de película.....	40
1.13. Típicas curvas de esfuerzo-deformación para materiales poliméricos.....	42
1.14. Representación esquemática del “tape test”.....	46
2.1. Fotografías del sistema de polimerización empleado. Sistema completo (a), y reactor con sus conexiones (b).....	51
2.2. Fotografías del “polimerizador de botella”. Cuerpo completo (a), y vista interior (b).....	52
2.3. Representación esquemática de las rutas de síntesis de FC. Estrategias AA/EDC (a); y GMA (b).....	53
2.4. Curva esquemática de la tensión superficial de una solución de un emulsificante en función de su concentración.....	57
2.5. Imagen esquemática de la medición de tensión interfacial a través del método del anillo.....	58
2.6. Curva de tensión superficial (γ) vs concentración de caseína en solución acuosa.....	59
2.7. Esquema del principio de fraccionamiento por tamaños de un equipo CHDF.....	60
2.8. Curva de calibración para las mediciones por CHDF obtenida con 6 patrones angostos de PS con diámetro de partículas de 54, 119, 154, 201, 356, 456 nm.....	61
2.9. Determinación de la AGE. Esquema del método de extracción por soxhlet.....	63

2.10. Porcentaje de material insoluble para acrílico puro (n-BA/MMA: 80/20) y material híbrido de acrílico/caseína	64
2.11. Espectro UV característico de la caseína (a) y curvas de calibrado en H ₂ O (b) y en solución al 1% de SLS (c) utilizadas para la determinación de la CGE	66
2.12. Análisis de sensibilidad de la técnica de CGE (a) y error relativo en la determinación de CGE empleando área o absorbancia para el cálculo	67
2.13. Espectro ¹ H-RMN de la AFC obtenido a partir de la muestra no dializada	69
2.14. Representación esquemática del equipo de Microscopía de Fuerza Atómica (AFM) (a), y su funcionamiento en modo fase (b).	72
2.15. Curva característica de Fuerza-Distancia generada en modo “Jumping”.	73
2.16. Imagen de corte transversal de película híbrida de acrílico-caseína.	74
2.17. Equipo utilizado para la determinación visual de la MFFT	75
2.18. Equipo utilizado para la determinación de los CA	77
2.19. Imagen ilustrativa del test de resistencia al bloqueo	78
2.20. Imágenes de los ensayos de tracción (a) y dureza (b)	79
2.21. Imagen ilustrativa del ensayo de resistencia al agua y a solventes	81
2.22. Imagen ilustrativa del ensayo de degradación en suelo	81
3.1. Evolución de la conversión (a) y del diámetro de partícula (b) para la homopolimerización en emulsión de MMA en presencia de diferentes concentraciones de caseína	89

3.2. Evolución del \bar{d}_p de látex híbridos PMMA-caseína antes (símbolos llenos) y después (símbolos huecos) de la eliminación de caseína no injertada	90
3.3. Generación de partículas a lo largo de la polimerización en emulsión de MMA en presencia de diferentes concentraciones de caseína.....	91
3.4. Polimerización en emulsión de MMA en presencia de diferentes concentraciones de caseína. Evolución de CGE con la conversión	92
3.5. Morfología de partículas obtenidas por polimerización de MMA con diferentes concentraciones de caseína: a) 3 pphm; b) 6 pphm; c) 25 pphm y d) 40 pphm.....	94
3.6. PSDs en masa para los látex finales producidos con diferentes concentraciones de caseína. (A efectos comparativos, las distribuciones fueron normalizadas a un mismo valor máximo.).....	95
3.7. Evolución de la conversión para la homopolimerización de MMA en presencia de caseína y diferentes concentraciones de TBHP.....	96
3.8. Mecanismo propuesto para la generación de partículas híbridas en la polimerización de MMA iniciada con TBHP y diferentes concentraciones de caseína	98
3.9. Imágenes de AFM (a) y TEM (b) de dos soluciones de caseína. c) Tamaño de los agregados micelares en función de la concentración de caseína.....	100
4.1. Películas híbridas con 25 pphm de caseína, sintetizadas con (a) KPS y (b) TBHP como iniciador	105
4.2. Copolimerización en emulsión de n-BA/MMA en presencia de distintas concentraciones de caseína: Evolución de (a) la conversión, (b) el número de	

partículas, y (c) CGE. (d) PSDs en masa finales (normalizadas para el mismo máximo)	110
4.3. Micrografía de TEM de las partículas obtenidas por polimerización en emulsión de n-BA/MMA con diferentes concentraciones de caseína: (a) C ₅₀ MR _{100/0} , (b) C ₁₂ MR _{70/30} , (c) C ₆ MR _{65/35} , y (d) C ₃ MR _{63/37}	112
4.4. Imágenes (3 μm x 3 μm) de topografía (a, c, e, g) y fase (b, d, f, h) obtenidas por AFM de la superficie de las películas C ₃ MR _{63/37} (a,b), C ₁₂ MR _{70/30} (c,d), C ₂₅ MR _{80/20} (e,f), y C ₅₀ MR _{100/0} (g,h)	113
4.5. Imágenes (3 μm x 3 μm) de topografía (a,c) y fase (b,d) obtenidas por AFM de los cortes transversales de las películas C ₃ MR _{63/37} (a,b), y C ₅₀ MR _{100/0} (c,d).....	115
4.6. Fotografía de las películas con diferentes concentraciones de caseína.....	116
4.7. Efecto de la concentración de caseína sobre la velocidad de descomposición térmica de los nanocompuestos híbridos C ₃ MR _{63/37} (a), C ₁₂ MR _{70/30} (b), C ₂₅ MR _{80/20} (c), y C ₅₀ MR _{100/0} (d)	118
4.8. Variación de la rugosidad superficial de diferentes materiales híbridos en función del contenido de caseína	120
4.9. Ensayos reológicos para látex con diferentes contenidos de caseína. (a) Módulo de almacenamiento (G') y (b) módulo de pérdida (G'').....	121
4.10. Imagen de la película C ₀ MR _{60/40} , ilustrando la mala capacidad del látex para formar película sin formulación	121
4.11. Resistencia al bloqueo de películas híbridas de acrílico-caseína con diferentes concentraciones de proteína.....	122

4.12. Módulo de almacenamiento (a) e histogramas de fuerza de adhesión (b) medidos por AFM sobre la superficie de las películas C ₅₀ MR _{100/0} , C ₁₂ MR _{70/30} , y C ₆ MR _{65/35} . Imágenes de rigidez de la superficie de las películas C ₅₀ MR _{100/0} (c), y C ₆ MR _{65/35} (d), obtenidas por AFM en modo “Jumping”.....	123
4.13. Resultados de los ensayos elongacionales para los materiales híbridos de acrílico-caseína con diferentes concentraciones de proteína	126
4.14. Respuestas del modulo de almacenamiento (E') y tan δ para películas híbridas con diferentes concentraciones de caseína: (a) C ₅₀ MR _{100/0} , (b) C ₂₅ MR _{80/20} , (c) C ₁₂ MR _{70/30} , (d) C ₆ MR _{65/35} , y (e) C ₃ MR _{63/37}	129
4.15. Resistencia al agua de las películas (a) C ₃ MR _{63/37} y (b) C ₅₀ MR _{100/0}	130
4.16. Imagen de hinchamiento en MEK de las películas híbridas (a) C ₃ MR _{63/37} y (b) C ₅₀ MR _{100/0}	132
4.17. Imagen de películas degradadas luego de 14 días de enterramiento en suelo.	134
5.1. Espectros de ¹ H-NMR de soluciones acuosas conteniendo D ₂ O, de (a) AFC8 dializada, (b) caseína nativa, y (c) ácido acrílico.	143
5.2. Polimerización de MMA en presencia de diferentes concentraciones de caseína nativa y acrilada. Evoluciones de: (a,b) conversión y (c,d) diámetro partícula.....	145
5.3. Evolución de CGE a lo largo de la polimerización de MMA en presencia de (a) 25 pphm y (b) 50 pphm de caseína nativa y acrilada	147
5.4. Micrografías de TEM de los látex híbridos (a) C ₂₅ MR _{0/100} y (b) AFC8 ₂₅ MR _{0/100}	147
5.5. Variación del \bar{d}_p de los látex C ₂₅ MR _{80/20} y AFC8 ₂₅ MR _{80/20} en función del pH	150
5.6. Micrografía de TEM de los látex híbridos (a) C ₂₅ MR _{80/20} y (b) AFC8 ₂₅ MR _{80/20}	151

5.7. Imágenes (5 μm x 5 μm) de topografía (a,c) y fase (b,d), obtenidas por AFM, de la superficie de las películas $\text{C}_{25}\text{MR}_{80/20}$ (a,b), y $\text{AFC}_{8_{25}}\text{MR}_{80/20}$ (c,d)	152
5.8. Fotografías de películas híbridas con diferentes concentraciones de caseína nativa y acrilada.....	154
5.9. Resultados de los ensayos elongacionales para los materiales híbridos de acrílico-AFC con 25 pphm de proteína.....	156
5.10. Fotografías de los experimentos de resistencia al agua para las películas (a) $\text{C}_{25}\text{MR}_{80/20}$ inmediatamente después de la inmersión y (b) $\text{AFC}_{8_{25}}\text{MR}_{80/20}$ después de 24 h de inmersión	158
5.11. Curvas de absorción de agua para las películas acriladas $\text{AFC}_{8_{25}}\text{MR}_{80/20}$, $\text{AFC}_{8_{12}}\text{MR}_{70/30}$, y $\text{AFC}_{8_6}\text{MR}_{65/35}$	159
6.1. Curva de tensión superficial (γ) vs. concentración de caseína nativa y metacrilada en solución acuosa.....	168
6.2. Espectros de $^1\text{H-NMR}$ de GMA (a), caseína nativa (b), mezcla GMA/caseína al comienzo (c), y al final (d) de la reacción de metacrilación para obtener MFC20.....	170
6.3. Copolimerización en emulsión de n-BA/MMA en presencia de caseína metacrilada (MFC) con diferente número de dobles enlaces: evolución a lo largo de la polimerización de (a) la conversión, (b) el número de partículas, y (c) la CGE; (d) PSDs en masa para los látex finales (normalizadas para el mismo máximo).....	173
6.4. Micrografías de TEM de los látex híbridos (a,b) $\text{C}_{25}\text{MR}_{80/20}$ y (c,d) $\text{MFC}_{40_{25}}\text{MR}_{80/20}$	175

6.5. Imágenes (3 μm x 3 μm) de fase de AFM de la superficie de películas híbridas obtenidas con caseína nativa (a); y MFC con diferente número de dobles enlaces incorporados: 2 (b), 10 (c), 20 (d) y, 40 (e).....	177
6.6. Imágenes (3 μm x 3 μm) de rigidez de AFM del interior de las películas híbridas $C_{25}MR_{80/20}$ (a) y $MFC40_{25}MR_{80/20}$ (b).	178
6.7. Análisis termogravimétrico de películas puras e híbridas sintetizadas con caseína nativa, MFC20 y MFC40.	181
6.8. Resistencia al bloqueo de películas híbridas de acrílico-MFC con diferente número de dobles enlaces incorporados.....	182
6.9. Comportamiento mecánico de las películas híbridas sintetizadas con caseína nativa y MFC, conteniendo diferente número de enlaces vínicos incorporados. (a) evolución de la fuerza de penetración en función de la distancia durante el ensayo de dureza y (b) ensayos de tracción.....	185
6.10. Imagen de la película $MFC40_{25}MR_{80/20}$ luego de la inmersión en agua por 7 días y antes del test	188
6.11. Curvas de absorción de agua para las películas metacriladas $MFC10_{25}MR_{80/20}$, $MFC20_{25}MR_{80/20}$, y $MFC40_{25}MR_{80/20}$	188
6.12. Copolimerización en emulsión de n-BA/MMA con adición de GMA y en presencia de 25 ppm de caseína nativa: Evolución a lo largo de la polimerización de (a) la conversión, (b) el número de partículas, y (c) la CGE	192
6.13. Comparación entre las propiedades mecánicas de las películas $C_{25}MR_{80/20}G_{20}$ y $MFC20_{25}MR_{80/20}$ (a) y; $C_{25}MR_{80/20}G_{40}$ y $MFC40_{25}MR_{80/20}$ (b)	195

7.1. Evolución de la conversión durante la copolimerización en emulsión de n-BA/MMA con diferentes contenidos de sólidos y en presencia de 25 y 50 pphm de MFC10.....	205
7.2. Fotografía de las películas híbridas MFC10 ₅₀ MR _{80/20} y MFC10 ₅₀ MR _{80/20} [#]	207
7.3. Comparación del desempeño mecánico de las películas MFC10 ₂₅ MR _{80/20} y MFC10 ₂₅ MR _{80/20} [#] (a); y MFC10 ₅₀ MR _{80/20} y MFC10 ₅₀ MR _{80/20} [#] (b)	208
7.4. Gráficas de superficie de las propiedades de brillo (a), velo (b) y dureza (c) obtenidas para el látex MFC10 ₂₅ MR _{80/20} [#] con la metodología “DoE + HTE” ..	213
7.5. Gráficas de superficie de las propiedades de brillo (a), velo (b) y dureza (c) obtenidas para el látex MFC10 ₅₀ MR _{80/20} [#] con la metodología “DoE + HTE” ..	214
7.6. Imagen del ensayo de resistencia química para el látex formulado MFC10 ₂₅ MR _{80/20} [#] : Etanol/agua (a) y Café (b)..	218
7.7. Imagen del ensayo de resistencia química para el látex formulado MFC10 ₅₀ MR _{80/20} [#] : Etanol/agua (a) y Café (b) ..	218

Prólogo

Actualmente, la industria de polímeros debe enfrentarse a grandes desafíos, como lo son el reemplazo de sustancias petroquímicas por materias primas renovables y el desarrollo de nuevos procesos ecológicos, impulsados por las cada vez más exigentes reglamentaciones medioambientales. Además, el empleo de sustancias renovables podría resultar en nuevos materiales con mayor valor agregado, menor toxicidad y alta biodegradabilidad. Algunas de las materias primas naturales ampliamente utilizadas en la industria química incluyen aceites vegetales, polisacáridos (principalmente celulosa, quitosano y almidón), proteínas y lignina, entre otros. Particularmente, las proteínas poseen un extraordinario potencial para la síntesis de nuevos materiales debido a su gran número de funcionalidades (amino, carboxilo, hidroxilo), que presentan ilimitadas oportunidades para introducir modificaciones en su estructura. En este sentido, la caseína bovina (principal proteína de la leche), es un material con muy buena biocompatibilidad y biodegradabilidad, fácilmente disponible en alta pureza y a bajo costo.

Por otro lado, debido a las crecientes regulaciones a nivel mundial para sustituir los procesos basados en solventes orgánicos por aquellos más amigables con el medioambiente, los sistemas de polimerización en medio disperso presentan actualmente un gran interés industrial. Su principal ventaja se debe a que el empleo de agua abarata el proceso, reduce la contaminación ambiental y disminuye la toxicidad de los productos obtenidos. La polimerización en emulsión, se encuentra entre los métodos de polimerización en medio disperso acuoso, y representa una alternativa para la síntesis de látex híbridos. Además, la polimerización en emulsión permite controlar y/o diseñar estructuras a escala nanométrica, dando la posibilidad de obtener un material polimérico final donde los compuestos estén distribuidos en nanodominios más pequeños que las propias partículas donde están contenidos (50-500nm). De esta manera, los materiales nanoestructurados resultantes ofrecen la posibilidad de obtener un amplio rango de propiedades atractivas.

Los látex acrílicos son una familia importante de productos ampliamente utilizados en adhesivos, pinturas, recubrimientos, y barnices, entre otros. Durante las últimas décadas se ha estudiado la incorporación de sustancias de origen natural a polímeros acrílicos, para obtener materiales híbridos con mejores propiedades. Así por ejemplo, el injerto de polímeros acrílicos sobre proteínas, podría ser una estrategia eficiente para mejorar la pobre resistencia al ataque de microorganismos y al agua que presentan estos materiales naturales. En esta dirección, la polimerización en emulsión puede permitir la incorporación de proteínas en partículas acrílicas, para la producción de materiales nanoestructurados, con las ventajas medioambientales que presentan los procesos en medio disperso acuoso, pudiéndose trabajar a altas conversiones, sin dificultades de agitación y transferencia de calor, aún con alto contenido de sólidos.

Por lo tanto, el objetivo general del presente trabajo de Tesis Doctoral es la síntesis de nanopartículas híbridas de acrílico-caseína con nanoestructura y nanomorfología controladas, para su potencial aplicación en recubrimientos, sustituyendo parcialmente monómeros derivados del petróleo por una sustancia natural como la caseína y mediante un proceso de bajo impacto medio ambiental como la polimerización en emulsión. Para esto, se abordarán problemas ligados a la síntesis y caracterización de los látex, como: i) el empleo de diferentes concentraciones de caseína y el estudio de su influencia sobre la cinética de polimerización y la nucleación de partículas; ii) el empleo de formulaciones acrílicas conteniendo caseína, capaces de formar película, y la posterior caracterización de los materiales obtenidos; y iii) el desarrollo de nuevas estrategias de síntesis que permitan incrementar la compatibilidad del sistema acrílico/caseína y satisfacer los principales requerimientos de un recubrimiento de base acuosa. Finalmente, se realizará un estudio preliminar de las propiedades de los látex obtenidos para su aplicación a nivel industrial, como ligantes para recubrimientos decorativos, utilizando formulaciones con contenido de sólidos del 35%.

Capítulo 1: Consideraciones generales

1.1. INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, muchos productos de origen natural fueron sustituidos en varias aplicaciones por materiales de origen sintético. Un caso particular es el de los recubrimientos y adhesivos basados en proteínas, principalmente la caseína, que han sido ampliamente utilizados en adhesivos naturales para el etiquetado de envases y alimentos en general, en el acabado de papel, cueros y maderas, y como aditivos para mejorar las películas y emulsionantes. Las ventajas que ofrecen las proteínas provienen de su origen, su reducido impacto medioambiental, su alta degradabilidad, su buena aceptación al teñido y el aspecto glaseado que le otorga a los productos (Salzberg et al., 1961). Además, el valor industrial de las proteínas naturales, como el caso de la caseína, se basa en su elevada funcionalidad y polaridad, que imparten a los materiales excelentes propiedades de adhesión y emulsificación. Sin embargo, la falta de uniformidad de la materia prima natural, su baja resistencia mecánica, su elevada absorción de agua, y su baja resistencia al frotado en húmedo representan un serio inconveniente en la mayoría de las aplicaciones. Es por ello que, en muchos casos, han sido reemplazados por látex basados en polímeros de origen sintético, que son altamente versátiles y ofrecen mayor uniformidad en sus propiedades y mejor resistencia mecánica, resignándose la buena penetración y adhesión al sustrato, la degradabilidad, y el bajo impacto medioambiental que presentan los productos a base de proteínas naturales.

La síntesis de materiales poliméricos dispersos en agua o látex tiene gran interés industrial. Así por ejemplo se los emplea en la producción de cauchos sintéticos, plásticos, recubrimientos, adhesivos, aditivos para papel, fibras textiles, materiales de construcción, modificadores de impacto y materiales para el tratamiento de cueros (El-Aasser y Sudol, 1997). Los látex sintéticos se producen principalmente mediante polimerización en emulsión

convencional en medio acuoso y su principal ventaja se debe a que el empleo de agua abarata el proceso, reduce la contaminación ambiental y la toxicidad del producto. Este proceso permite además obtener látex con viscosidades moderadas aún a contenidos de sólidos elevados.

La síntesis de látex híbridos conteniendo proteínas tiene elevado interés tecnológico, ya que procura la modificación y mejora de las propiedades del componente natural, mediante la incorporación de un segundo material. Actualmente, la ciencia de materiales persigue diseñar productos que combinen la adaptabilidad de los polímeros sintéticos con la estructura y funcionalidad de los biopolímeros. En este sentido, la correcta sinergia entre polímero sintético/biopolímero se alcanza mediante una adecuada compatibilización en las partículas de látex híbridas resultantes, determinada principalmente por su microestructura molecular (en particular por el grado de unión de ambos materiales) y por la nanomorfología de las partículas (morfología intrapartícula a nivel de nanoescala), pudiéndose obtener propiedades superiores a las que resultan por simple mezcla física de los componentes (Currie et al., 2007). Además, con la incorporación de proteínas naturales se pretende reemplazar en parte la composición de monómeros de origen petroquímico, por un material proveniente de una fuente renovable y de elevada biodegradabilidad. Si bien las proteínas naturales, continúan empleándose en la formulación de algunos adhesivos y como aditivos en ligantes en muy bajas proporciones, la producción de un recubrimiento o adhesivo híbrido con nanoestructura controlada permitiría obtener productos con propiedades mejoradas, agregando valor a dicho recurso natural.

Existen diversas rutas de síntesis que permiten la conjugación de una proteína con un polímero sintético. Muchas de ellas han sido resumidas por Van Hest (2007), pero no todas conducen a la obtención de partículas híbridas dispersas en agua para su empleo en la formación de películas, acorde a una posible aplicación como adhesivo o recubrimiento. En dicha revisión se discuten los diferentes tipos de materiales híbridos, con componente

natural proteico, que se han desarrollado hasta el momento, abarcando desde polímeros sintéticos con unidades peptídicas laterales hasta sistemas conjugados proteína-polímero.

Las publicaciones en las que se ha considerado la inclusión de proteínas naturales se han centrado en la posibilidad de introducir la funcionalidad y estructuras de éstos biopolímeros dentro de los materiales híbridos (Mohan et al., 1984; Li et al., 2002; Zhu y Li, 2003; Liu et al., 2004), con muy diversas aplicaciones potenciales. Estos trabajos se enfocaron en el desarrollo de posibles vías de síntesis de los materiales híbridos, resultando la polimerización en emulsión el método más empleado. Aún así, algunos aspectos de la cinética de la polimerización en emulsión en presencia de proteínas, como la formación de las partículas in-situ, la absorción de los radicales por parte de las partículas, el reparto de los monómeros entre las fases, el efecto de la presencia de micelas/agregados proteicos y las posibles vías de nucleación a través de las mismas, entre otros, no han sido aún considerados. Además, los trabajos publicados no involucran formulaciones monoméricas, ni contenidos de sólidos (en las recetas de polimerización) que resulten acordes a aplicaciones tecnológicas para la producción de recubrimientos y/o adhesivos. Por todo ello, la investigación de la síntesis (en medio disperso) de nanopartículas híbridas acrílicas con la inclusión de proteínas naturales y el adecuado control de la microestructura molecular y de la nanomorfología de las partículas, resulta de interés, no sólo desde el punto de vista académico, sino también por su posible impacto tecnológico, relacionado a su aplicación final en adhesivos y recubrimientos.

La presente Tesis Doctoral pretende avanzar en el desarrollo de nuevos materiales híbridos, dispersos en agua, que tengan las propiedades adhesivas, de recubrimiento y de biodegradabilidad procedentes de la caseína bovina, junto con propiedades mecánicas y de resistencias al agua mejoradas, derivadas de la presencia del polímero acrílico. En éste sentido se busca desarrollar un proceso tecnológico que permita producir, con un sistema que no dañe al medio ambiente, nanomateriales poliméricos híbridos con microestructura y

morfología controladas, propiedades de uso final acordes a una aplicación en recubrimientos, y bajo impacto ambiental.

1.2. CASEÍNA

1.2.1. Estructura

La caseína es, cuantitativamente, la fracción proteica principal existente en la leche bovina (24-29 g/L) donde se encuentra formando micelas altamente hidratadas, basadas esencialmente en cuatro componentes fosfopeptídicos: α s1-CN (38%), α s2-CN (10%), β -CN (36%), κ -CN (13%), y un componente minoritario γ -CN (3%) (Manson, 1965). Estos constituyentes se pueden distinguir de acuerdo a su movilidad electroforética a pH 7.0, y cada uno se diferencia del resto por presentar variaciones en la composición aminoacídica, peso molecular, punto isoeléctrico (pI) y nivel de fosforilación. En la Tabla 1.1 se presentan las principales características de los componentes peptídicos de la caseína bovina. Vale la pena mencionar que la caseína utilizada a lo largo de la presente Tesis (Sigma, grado técnico), posee un peso molecular promedio de 30000 el cual fue determinado por electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico (SDS-PAGE) (Figueroa, 2012).

Tabla 1.1. Características de los componentes peptídicos de la caseína bovina (Eigel et al., 1984).

Tipo	Peso molecular promedio (Da)	pI	Fosfatos/mol	g/L en leche entera
α s1-CN	22896	4.2-4.76	8-10	12-15
α s2-CN	25230	-	10-13	3-4
β -CN	24018	4.6-5.1	4-5	9-11
κ -CN	19023	4.1-5.8	1	2-4

En la leche, las caseínas existen como una sal de calcio arreglada en partículas micelares rodeadas por κ -CN soluble, constituyendo esta última una capa hidrofílica y eléctricamente cargada que estabiliza las micelas debido a repulsiones electrostáticas y estéricas (Rasmussen et al., 1992). Si bien la estructura supramolecular exacta de las

micelas permanece en controversia, típicamente se cree que están conformadas por subestructuras estabilizadas por al menos dos tipos de interacciones: i) hidrofóbicas entre los péptidos anfífilos; y ii) iónicas entre los iones Ca^{2+} en la suspensión coloidal y los grupos fosfato presentes en los residuos de serina fosforilados en sus cadenas laterales (Figura 1.1).

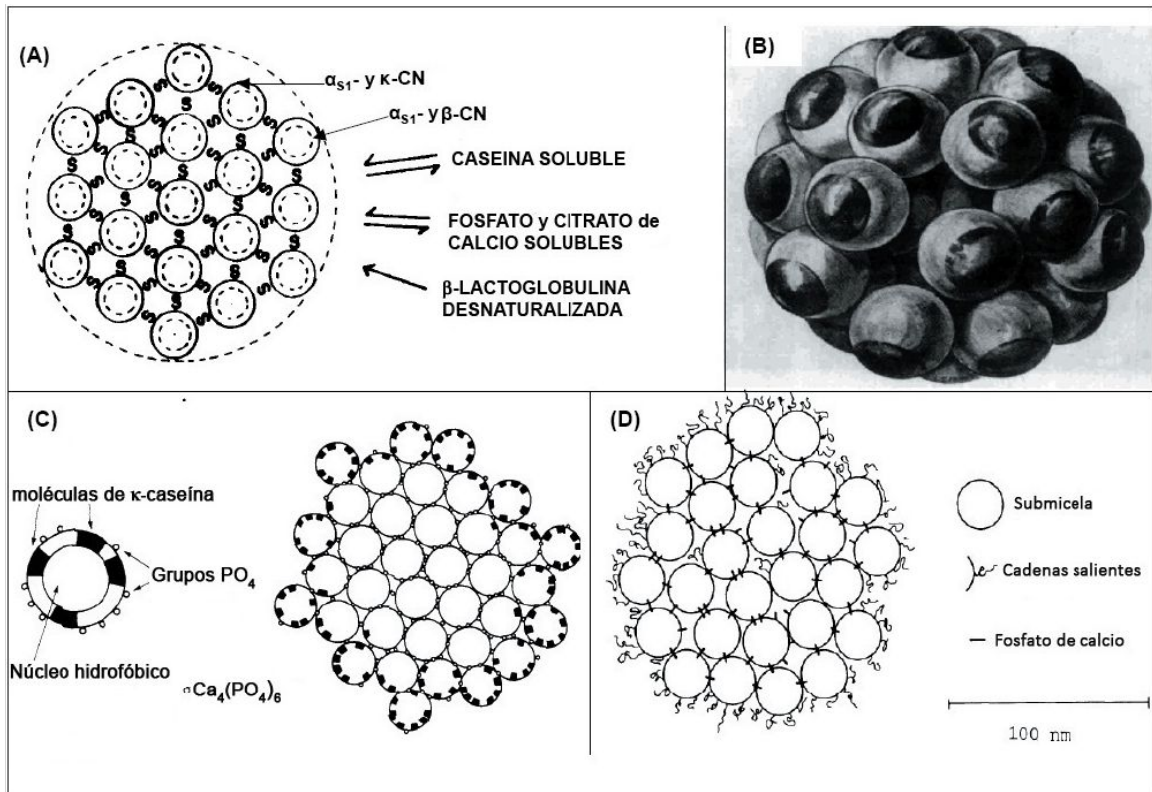


Figura 1.1. Modelos de subunidades de la micela de caseína. A) Morr (1967); B) Slattery y Evard (1973), donde las superficies claras representan los polímeros de α -s1 y β -CN (áreas hidrofóbicas) y las superficies oscuras que cubren una quinta parte del área de la superficie representan los polímeros de κ -CN (área hidrofílica); C) Schmidt (1982); D) Walstra y Jenness (1984).

En cuanto a su composición, más del 55% de los aminoácidos en la caseína contienen grupos polares, donde 25,8% poseen grupos carboxilo (Glutamato, Aspartato), 15,1% poseen grupos amino (Lisina, Arginina) y un 14,6% contienen grupos hidroxilo (Serina, Treonina, Tirosina). La Tabla 1.2 presenta una descripción detallada de la composición en aminoácidos de la caseína, mientras que la Figura 1.2 muestra la estructura de cada uno de

ellos. Los diferentes colores de la Figura 1.2 indican la clasificación de los aminoácidos en no polares (naranja), polares (verde), ácidos (fucsia) y básicos (celeste).

En soluciones puras, a pH neutro y en ausencia de calcio las caseínas presentan tendencia a asociarse en grados variables según el tipo de caseína de que se trate, interviniendo interacciones de Van der Waals (hidrofóbicas) y electrostáticas. Esta tendencia es mayor en el caso de las caseínas β -CN y κ -CN, en las que la el reparto desigual de cargas les confiere características surfactantes (Brule y Lenoir, 1989). En medio acuoso se asocian a través de enlaces hidrofóbicos, lo que se traduce en repulsión de las zonas hidrofílicas hacia el exterior de los agregados caseínicos.

Tabla 1.2. Composición aminoacídica de la caseína bovina en número de residuos por molécula (Alais, 1985).

	α 1-CN (a)	α 2-CN (b)	β -CN (c)	κ -CN (d)	γ -CN
Acido aspártico (g)	15 (8)	18 (14)	9 (5)	11 (3)	7 (3)
Treonina	5	15	9	14	8
Serina (e)	16 (8)	17 (10-13)	16 (5)	13 (2)	11 (1)
Acido glutámico (f)	39 (14)	40 (15)	39 (22)	27 (17)	32 (22)
Prolina	17	10	34	20	33
Glicina	9	2	5	2	4
Alanina	9	8	5	15	5
Cisteina	0	2	0	2	0
Valina	11	14	19	11	17
Metionina	5	4	6	2	6
Isoleucina	11	11	10	13	7
Leucina	17	13	22	9	19
Tirosina	10	12	4	8	4
Fenilalanina	8	6	9	4	9
Triptófano	2	2	1	1	1
Lisina	14	24	11	9	10
Histidina	5	3	5	3	5
Arginina	6	6	4	5	2

a) Variante B
 b) Variante A
 c) Variante A₂
 e) Variante A
 e) (...): fosfoserina
 f) (...): glutamina
 g) (...): asparagina

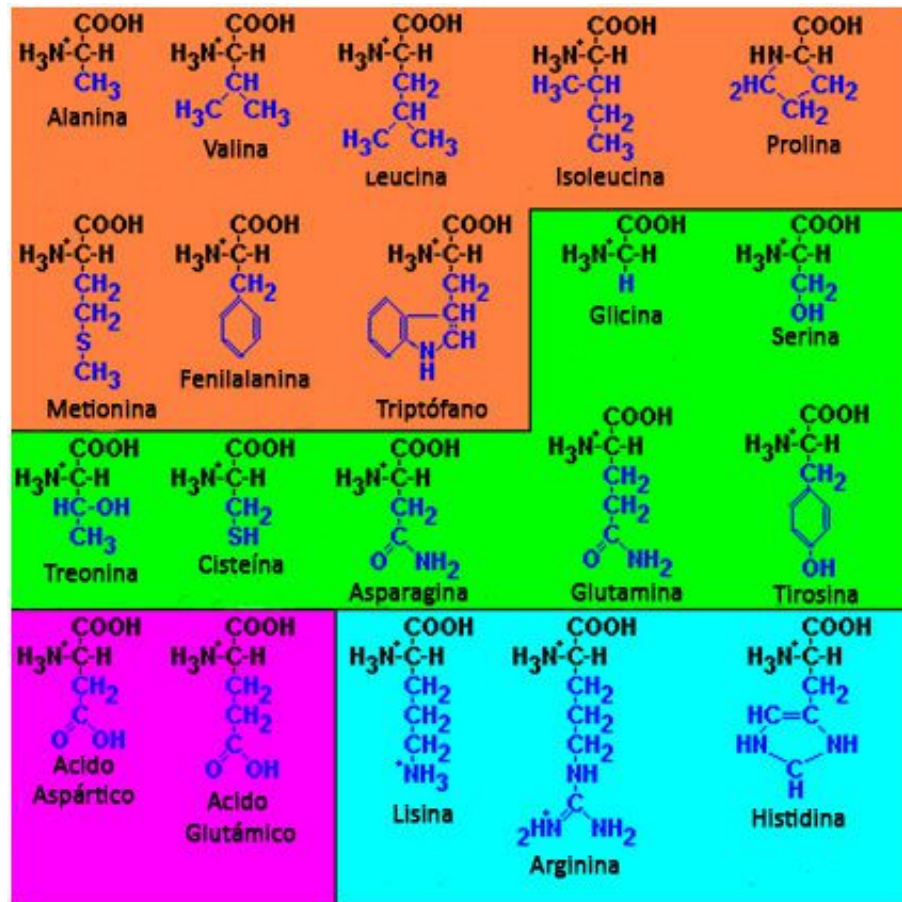


Figura 1.2. Estructura molecular de los diferentes aminoácidos.

La secuencia aminoacídica de la caseína contiene un número inusual de residuos de prolina y tienen muy pocos o ningún puente disulfuro. Como resultado, las caseínas son relativamente hidrofóbicas (poco solubles en agua) y carecen de estructura secundaria o terciaria bien definidas. Esta amplia libertad conformacional que poseen en solución, determina que sean relativamente termoestables, capaces de resistir la pausterización baja a 62-71 °C durante 30 min (contrario a lo que ocurre con los restantes componentes del suero que desnaturalizan a esas temperaturas).

La solubilidad de la caseína depende del pH y también es afectada por la fuerza iónica y composición salina (Konstance y Strange, 1991). Es así que un método usual para su obtención es la acidificación de la leche entera a pH 4.6 mediante ácidos minerales (como ser el ácido hidroc্লórico o sulfúrico).

1.2.2. Aplicaciones

Debido a su baja frecuencia de estructuras secundarias, las caseínas se encuentran en solución como péptidos de conformación aleatoria (“randomcoil”), con alto grado de flexibilidad molecular y capacidad de establecer interacciones intermoleculares típicas (puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas y electrostáticas). Estas últimas características imparten a la caseína buenas capacidades como material cubritivo y para formar películas (Dickinson, 1999). En particular, la naturaleza anfipática de las caseínas, proveniente del balance entre sus residuos polares y apolares, es responsable del fenómeno de formación de películas, al conferirles la capacidad de concentrarse en las interfaces. Esta última característica también les otorga buenas propiedades de emulsificante y estabilizante.

Por otro lado, debido a su gran cantidad de residuos con grupos polares, las caseínas también presentan buena adhesión y penetrabilidad a diferentes sustratos como la madera, vidrio o papel, y su hidrofiliidad hace que sus películas actúen como excelentes barreras frente a sustancias no polares como el oxígeno y el dióxido de carbono, entre otros.

La modificación química de la caseína puede alterar las interacciones proteína-proteína y proteína-sustrato, con el objetivo de controlar algunas propiedades específicas. Así, se suelen emplear agentes de entrecruzamiento para generar enlaces covalentes entre las cadenas proteicas y de esa manera formar redes tridimensionales. Teniendo en cuenta que los materiales entrecruzados generalmente exhiben propiedades mecánicas y físicas mejoradas, los polímeros basados en caseína podrían ser usados en varias aplicaciones técnicas, como revestimientos protectores y espumas, recubrimiento de papel, adhesivos, pinturas, etc. En la Tabla 1.3 se resumen los principales usos no alimenticios de la caseína.

Uno de los usos tecnológicos tradicionales de la caseína ha sido como adhesivo; siendo su primer implementación a principios del siglo XIX, principalmente en aplicaciones de carpintería. Hoy en día, los pegamentos basados en caseína fueron suplantados por adhesivos sintéticos en la mayoría de sus aplicaciones, pero continúa siendo usada en

adhesivos para etiquetado de botellas de vidrio, en carpintería para interiores y en adhesivos para papel o en formulaciones sensibles a la presión.

Tabla 1.3. Usos industriales, no alimenticios, de la caseína (Audic et al., 2003).

Producto	Propiedad	Aplicaciones	Relevancia
Recubrimiento	Capacidad de formar películas Adhesión	Pinturas	En uso en algunas pinturas
		Tinta	En uso
		Papel	En uso
	Buena penetración	Acabados de cueros	Histórica
		Recubrimientos textiles	Histórica
Adhesivo	Fuerza de unión		
	Resistencia al agua obtenida por entrecruzamiento	Pegamentos en base acuosa	Histórica/En uso en algunas aplicaciones
	Buena procesabilidad		
Plástico	Resistencia Buenas propiedades mecánicas	Plásticos rígidos	Histórica
		Descartables	Histórica
		Fibras	Histórica
	Resistencia al agua obtenida por entrecruzamiento	Películas cubritivas para embalaje	Escala laboratorio
	Surfactante	Tensión superficial	Emulsificante, detergente
Estabilidad de interfaz			

Otra rama industrial en la que la caseína ha encontrado aplicación es en el acabado del papel: el balance hidrofílico/hidrofóbico de la caseína incrementa su afinidad por los pigmentos, sus propiedades de unión a las tintas, y su adhesión a varios sustratos, determinando su empleo en los papeles de alta calidad para otorgarles brillo.

1.3. POLIMERIZACIÓN EN EMULSIÓN

La polimerización por radicales libres es una técnica extensamente empleada para la producción de materiales poliméricos comerciales, que puede ser aplicada a una amplia variedad de monómeros en diferentes condiciones de reacción.

La polimerización en masa es la más simple de las polimerizaciones radicalarias. En esta técnica los únicos reactivos son el monómero y un iniciador soluble en éste. Ambos están en una única fase, no se incluyen otros medios de disolución o dispersión, y si el polímero formado es soluble en el monómero, la polimerización es homogénea. Sin embargo, la naturaleza altamente exotérmica de las polimerizaciones y la tendencia al aumento de la viscosidad con la generación de polímero, se combinan para dificultar tanto la transferencia de calor como la agitación del sistema de reacción, aún a conversiones relativamente bajas. Esta situación podría provocar una autoaceleración y disparo térmico de la reacción de polimerización, por lo que se requiere de equipos de agitación poderosos, de un cuidadoso control de la temperatura y trabajar a conversiones finales moderadas. El monómero no polimerizado debe posteriormente ser separado y recirculado al sistema de reacción. Estas dificultades de operación pueden ser en parte superadas mediante la polimerización en solución, ya que la adición de un solvente reduce considerablemente la viscosidad del sistema de reacción, y disminuye la cantidad de monómero por unidad de volumen del mismo, limitando la velocidad de polimerización y el calor generado. Sin embargo, la estructura molecular del polímero obtenido en solución normalmente difiere del producido en masa. Además, la eliminación del solvente del producto final y su posterior recuperación dificulta el proceso y trae aparejado problemas medioambientales y de salud.

Debido a las crecientes regulaciones a nivel mundial para sustituir los procesos y productos basados en solventes orgánicos por otros en base acuosa, los procesos de polimerización en medio disperso presentan actualmente un gran interés industrial. Su principal ventaja se debe a que el empleo de agua abarata el proceso, y reduce la contaminación ambiental y la toxicidad del producto (Asua, 2004). Así por ejemplo, se producen cauchos sintéticos, plásticos, pinturas, adhesivos, aditivos para papel y textiles, materiales de construcción, y modificadores de impacto. Estos productos se sintetizan principalmente por polimerización en emulsión.

En los procesos en emulsión, el monómero (fase orgánica) se encuentra disperso en una solución acuosa de emulsificante con una concentración que excede la Concentración Micelar Crítica (CMC). Una parte del emulsificante está adsorbido sobre las gotas de monómero estabilizándolas, otra parte permanece disuelta en la fase acuosa y el resto forma agregados que reciben el nombre de “micelas”. El monómero también se encuentra particionado entre las distintas fases; la mayor fracción forma gotas que quedan dispersas en el medio acuoso, una pequeña parte está disuelto en el agua, y otra hincha las micelas de emulsificante.

Mediante el agregado de un iniciador, comúnmente soluble en fase acuosa, se generan radicales libres que comienzan la polimerización y la formación de partículas de polímero, denominada “nucleación”. Como los radicales generados por el iniciador en la fase acuosa generalmente son sustancias iónicas muy solubles en agua, rara vez se absorben directamente en la fase orgánica. Por tanto, antes de absorberse, los radicales reaccionan con el monómero disuelto en fase acuosa hasta ser suficientemente hidrofóbicos como para poder entrar a la fase orgánica.

Los mecanismos de nucleación ampliamente aceptados para las polimerizaciones en emulsión incluyen las nucleaciones “micelar (ó heterogénea)”, “homogénea”, y “coagulativa”.

- Nucleación micelar (ó heterogénea): En ella los radicales oligoméricos formados en fase acuosa entran en las micelas hinchadas con monómero, con el cual siguen polimerizando dando origen a nuevas partículas de polímero. El número de micelas presentes en el medio se ve reducido debido a que éstas se convierten en partículas poliméricas (sólo una pequeña fracción), y se desintegran para proporcionar emulsificante que estabiliza las partículas en crecimiento (Harkins, 1947).
- Nucleación homogénea: En esta los radicales generados en fase acuosa reaccionan con el monómero disuelto formando radicales oligoméricos que crecen hasta un tamaño crítico en el cual se hacen insolubles y precipitan, formando partículas que se estabilizan con emulsificante (Priest, 1952; Fitch et al., 1971, 1973, 1975). Este

mecanismo permite explicar la formación de partículas de polímero en ausencia de micelas (es decir, con una concentración de emulsificante $< \text{CMC}$).

- Nucleación coagulativa: En ella las partículas precursoras formadas por entrada de los radicales a las micelas o por precipitación de oligorradicales, crecen por coagulación entre ellas hasta alcanzar un tamaño que les proporcione estabilidad y se conviertan en verdaderas partículas de polímero (Lichti et al., 1983).

Debido a que las gotas de monómero son relativamente grandes (1-10 μm), el área de micelas es varios órdenes de magnitud mayor que el área de gotas, y por lo tanto es poco probable la entrada de radicales a las gotas y la formación de partículas a partir de estas últimas.

En la Figura 1.3 se representa el proceso de formación de partículas mediante los mecanismos más comúnmente encontrados (nucleación micelar y homogénea) y su crecimiento durante una polimerización en emulsión. Las gotas de monómero actúan como reservorio, desde donde difunden las moléculas de monómero a través de la fase acuosa, hacia las partículas en crecimiento, en las cuales se consume mayoritariamente por la reacción de propagación. El producto resultante es una dispersión de partículas poliméricas en un medio acuoso, que se denomina "látex".

La polimerización en emulsión ocupa un lugar destacado entre las técnicas de síntesis de polímeros por vía radicalaria ya que permite:

- a- producir dispersiones coloidales poliméricas de alto peso molecular; debido a la compartimentalización de la polimerización en las partículas, lo que genera una baja concentración de radicales en las mismas y por lo tanto baja velocidad de terminación;
- b- altas velocidades de polimerización por el elevado número de sitios de reacción;
- c- un adecuado control de la temperatura de reacción, debido a la baja viscosidad y alta capacidad calorífica del medio acuoso de reacción; y
- d- trabajar a altas conversiones sin dificultar los procesos de mezclado y transferencia de energía en el reactor, reduciendo la recuperación de monómero.

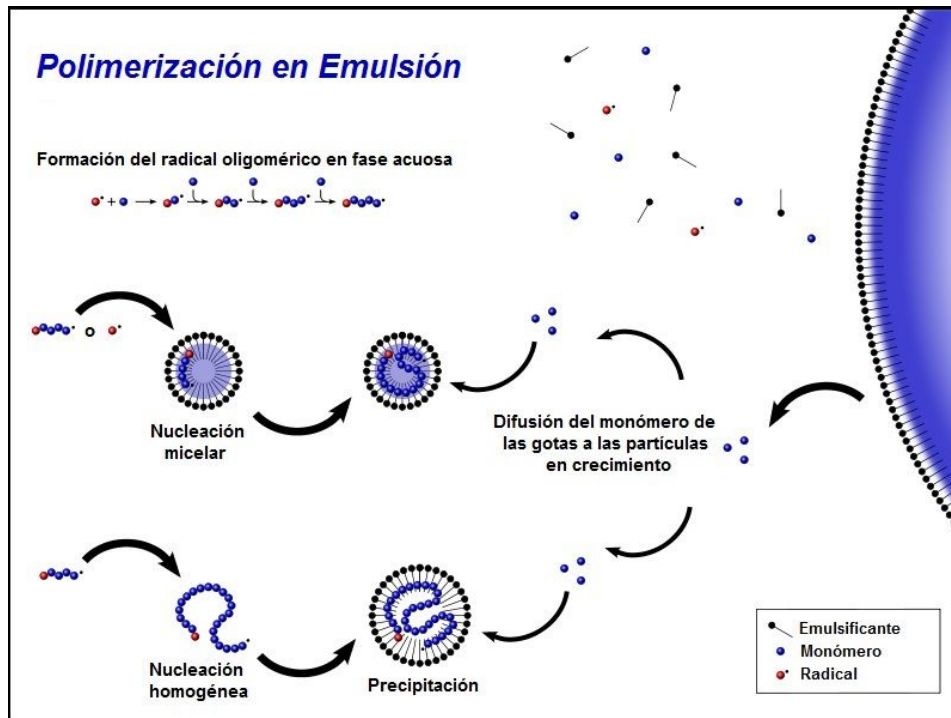


Figura 1.3. Esquema del proceso de Polimerización en Emulsión

1.4. POLÍMEROS ACRÍLICOS

Los polímeros acrílicos pueden ser considerados estructuralmente como derivados del ácido acrílico y sus homólogos. La familia de los acrílicos incluye una serie de polímeros comerciales a base de ácido acrílico, ácido metacrílico, ésteres del ácido acrílico y metacrílico, acrilonitrilo, acrilamida, y copolímeros de estos compuestos. Las aplicaciones más conocidas de los acrílicos son las fibras acrílicas y copolímeros de acrilonitrilo tales como NBR, SAN y ABS.

1.4.1. Polimetacrilato de metilo (PMMA)

Los polimetacrilatos son polímeros de ésteres derivados del ácido metacrílico (MAA). El más comúnmente utilizado entre ellos es el polimetacrilato de metilo (PMMA) o poli (metil 2-metilpropanoato) con fórmula química $(C_5H_8O_2)_n$. Es un polímero claro e incoloro disponible en el mercado en forma de gránulos y láminas.

El PMMA se produce normalmente por polimerización radicalaria de metacrilato de metilo (MMA) bajo procesos en masa, solución, suspensión o emulsión, de acuerdo al siguiente esquema:



Figura 1.4. Representación esquemática de la polimerización radicalaria de MMA.

1.4.1.1. Propiedades del PMMA

El PMMA es un termoplástico amorfo (temperatura de transición vítrea, $T_g = 105\text{ }^{\circ}\text{C}$), cuyas principales características se muestran en la Tabla 1.4. Como puede observarse el PMMA posee una alta resistencia mecánica, alto módulo de elasticidad (módulo de Young) y baja elongación a la rotura. Es uno de los termoplásticos más duros y resistentes al rayado, con una alta transparencia (transmisión visible superior al 80%) y baja densidad, razón por la cual ha reemplazado al vidrio en varias aplicaciones. Exhibe una baja capacidad de absorción de agua, debido a su hidrofobicidad (ángulo de contacto = 80°) y buena estabilidad dimensional (habilidad para mantener sus dimensiones específicas). Dicha característica se incrementa a medida que aumenta la temperatura. Por otra parte, la estabilidad térmica del PMMA es elevada, con una temperatura máxima de descomposición de 370°C , posee una excelente resistencia a los cambios de temperatura y baja conductividad térmica. El PMMA no se ve afectado por soluciones acuosas de ácidos inorgánicos diluidos, álcalis e hidrocarburos alifáticos; sin embargo es atacado por hidrocarburos clorados o aromáticos, ésteres o cetonas. Se disuelve completamente en cloroformo, tetrahidrofurano (THF) y di- y tricloroetano, que se utilizan para la producción de adhesivos. Su resistencia química varía con el nivel de estrés, la temperatura y la duración

de la exposición. Además, es un material resistente a la intemperie y a los rayos ultravioleta (no apreciándose envejecimiento luego de diez años de exposición a la intemperie).

Tabla 1.4. Principales características del PMMA (Mark, 2007).

Propiedades	Valor
Densidad	1.19 g/cm ³
Absorción de Agua	2 %
Módulo de Young	3.2 GPa
Resistencia Tensil	47 - 79 MPa
Elongación a la Rotura	30%
Dureza Rockwell M	63 - 97
Módulo de Flexión	3.5 GPa
Energía de Impacto	0.41 – 1.68 J
Calor Específico	1.47 J/g. °C
Conductividad Térmica	0.24 W/m.K
Temperatura de Transición Vítre	105 °C
Temperatura máxima de Descomposición	370 °C
Índice de Refracción	1.49
Transmisión Visible	80 - 93 %
Ángulo de Contacto (Agua)	80°

1.4.1.2. Aplicaciones del PMMA

Las aplicaciones del PMMA son múltiples, como protecciones en maquinaria, mamparas separadoras decorativas, acuarios y piscinas, y ópticas entre otras. Las principales ventajas de este material, que lo diferencian del vidrio, son bajo peso, mayor transparencia, inferior fragilidad (su resistencia al impacto es 10-20 veces superior a la del vidrio). La posibilidad de obtener fibras continuas de gran longitud mediante un proceso de fabricación relativamente barato hace, junto con su elevada transparencia, que sea un material muy empleado para la fabricación de fibra óptica. Últimamente se encuentran muchos diseños, colores y acabados en las láminas que amplían las posibilidades de su uso en arquitectura y decoración, sectores en los que cada vez se emplea más frecuentemente. Si bien el MMA es tóxico en

fase líquida, el PMMA no lo es, razón por la cual se lo utiliza en la fabricación de prótesis óseas y dentales.

1.4.2. Poliacrilato de n-butilo (n-PBA)

Los poliacrilatos son polímeros de ésteres derivados del ácido acrílico (AA). El polímero acrílico más importante para la elaboración de pinturas, recubrimientos y adhesivos es el poliacrilato de n-butilo (n-PBA, Figura 1.5), debido principalmente, a su baja Tg (Sajjadi y Brooks, 1999). Esto ocasiona que el polímero sea elástico a temperatura ambiente, lo cual amplía su uso como materia prima para la elaboración de los productos antes mencionados.

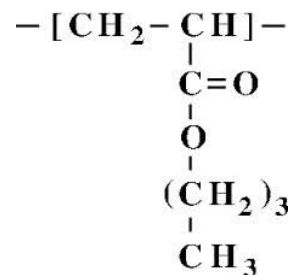


Figura 1.5. Unidad repetitiva del n-PBA.

El n-PBA se produce normalmente por polimerización radicalaria del acrilato de n-butilo (n-BA) bajo procesos en masa, solución o medio disperso. Las polimerizaciones en emulsión convencional y en miniemulsión del n-BA son particularmente utilizadas en la producción de adhesivos sensibles a la presión (PSA).

1.4.2.1. Propiedades del n-PBA

El n-PBA es un material transparente (opacidad = 150 UA×nm/mm) que se encuentra en estado gomoso a temperatura ambiente debido a su baja Tg (-54 °C). En la Tabla 1.5 se presentan algunas propiedades de interés del n-PBA. El n-PBA posee excelentes propiedades de formación de película, con una temperatura mínima de formación menor a 2 °C. Si bien sus propiedades mecánicas son limitadas (pobre módulo elástico, resistencia tensil, y dureza), posee una buena pegajosidad pero una muy baja resistencia al corte. Por

esta razón comúnmente se utilizan copolímeros de n-BA/MMA. Típicamente se emplean copolímeros con una composición 50/50 p/p de n-BA/MMA en recubrimientos, y con al menos 90% en peso de n-BA en adhesivos. El n-PBA presenta muy buenas propiedades elongacionales a temperatura ambiente, requeridas para aplicaciones en recubrimientos. A diferencia del PMMA, el n-PBA carece de estabilidad estructural, razón por la cual presenta una considerable absorción de agua (25%), a pesar de ser un material hidrofóbico (ángulo de contacto = 80°).

Tabla 1.5. Principales características del n-PBA (Peacock y Calhoun, 2006).

Propiedades	Valor
Densidad	1.08 g/cm ³
Absorción de Agua*	25%
Módulo de Young*	0.13 MPa
Resistencia Tensil *	0.14 MPa
Elongación a la Rotura*	800%
Tenacidad*	0.82 MJ/m ³
Dureza*	2.4 N
Calor Específico	0.56 J/g. °C
Conductividad Térmica	0.206 W/m.K
Temperatura de Transición Vítrea	-54 °C
Temperatura Máxima de Descomposición*	403 °C
Índice de Refracción	1.46
Opacidad*	150 UA×nm/mm
Ángulo de Contacto (Agua)*	80°
Temperatura Mínima de Formación de Película*	<2 °C

*determinado en la presente Tesis.

Por otra parte, el n-PBA es muy estable térmicamente con una temperatura máxima de descomposición de 403 °C, y presenta una excelente capacidad de aislación térmica (conductividad térmica = 0.206 W/m.K).

Es conocido el hecho de que el n-PBA o los macroradicales de n-BA, por poseer un hidrógeno unido al carbono terciario de su cadena principal, pueden sufrir reacciones de transferencia intramolecular o “backbiting” (lo que produce ramificaciones de cadena corta,

SCB) y de transferencia intermolecular o transferencia al polímero (produciendo ramificaciones de cadena larga, LCB), de acuerdo a como se esquematiza en la Figura 1.6.a y b. González et al. (2007) establecieron que el mecanismo predominante de formación de ramificaciones es el “backbiting”. Además, los radicales formados por transferencia al polímero pueden terminar por combinación formando una estructura polimérica insoluble, denominada gel, según se esquematiza en la Figura 1.6.c.

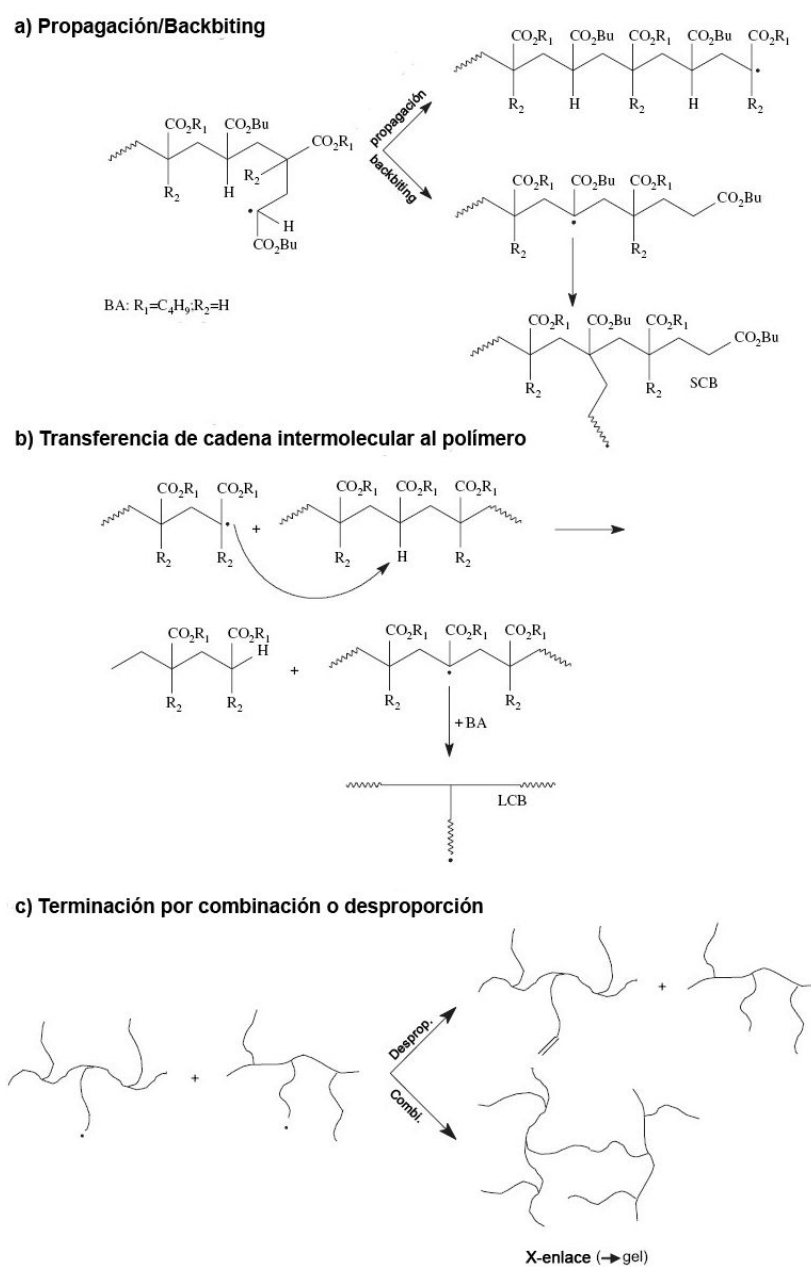


Figura 1.6. Mecanismos de generación de ramificaciones cortas (a) y largas (b) y de gel (c) en la polimerización de n-BA (González et al., 2007).

González et al. (2007) demostraron que en la copolimerización en emulsión de n-BA/MMA, el incremento de MMA en la formulación monomérica, reduce sustancialmente el contenido de gel del látex, encontrando que los copolímeros con un contenido de MMA superior al 25% no contienen gel. Así la microestructura, y por lo tanto las propiedades de los materiales híbridos, podría ser controlada variando la relación n-BA/MMA.

1.4.2.2. Aplicaciones del n-PBA

Como se mencionó oportunamente, el n-PBA se emplea principalmente en la fabricación de fibras sintéticas y en dispersiones utilizadas en la fabricación de textiles, cueros, adhesivos, pinturas, barnices y recubrimientos para papel. Se utiliza también en la preparación de polímeros y copolímeros junto con el ácido acrílico y sus derivados, metil acrilatos, cloruros de vinilo, butadieno, estireno, poliésteres no saturados y aceites secantes.

En cuanto a aplicaciones textiles, en particular se puede señalar la copolimerización de n-PBA con quitosano para la producción de recubrimientos antibacteriales utilizados en la fabricación de fibras de algodón (Ye et al., 2005).

Los copolímeros de n-BA/MMA poseen una excelente compatibilidad con materiales inorgánicos, razón por la cual han sido utilizados en la preparación de recubrimientos (con adición de nanopartículas de sílica) para su utilización en aplicaciones de construcción (Ramos-Fernández et al., 2011).

Los PSA son una clase de adhesivos que instantáneamente forman una unión adhesiva mediante la aplicación de una ligera presión. El n-PBA es el componente de preferencia de la mayoría de los PSA y sus aplicaciones abarcan desde cintas autoadhesivas y etiquetas, hasta “adhesivos inteligentes” utilizados para la liberación transdermal de drogas (Jovanovic et al., 2004). Sistemas híbridos n-PBA/PMMA/Poliuretano han sido exitosamente sintetizados para su utilización como PSA (Udagama, et al., 2011; Lopez et al., 2011).

1.5. MATERIALES HÍBRIDOS NANOESTRUCTURADOS

Los materiales híbridos poliméricos nanoestructurados presentan mejores propiedades físicas y químicas que sus componentes por separado, en aplicaciones tan diversas como biomedicina y recubrimientos. En las últimas décadas, se han realizado enormes esfuerzos en la producción de materiales coloidales nanoestructurados. Entre ellos, las partículas anfífilas de tipo núcleo-coraza han atraído un gran interés debido a su amplia aplicabilidad en la ciencia moderna de materiales y su importancia tecnológica en el área de coloides y la ciencia de interfases (Caruso, 2002). Éste tipo de partículas poseen las siguientes características atractivas: i) Las corazas hidrofílicas no sólo proporcionan diferentes grupos funcionales superficiales, sino que también permiten realizar modificaciones químicas y bioconjugaciones sobre la superficie de las partículas. Son capaces de encapsular moléculas activas tales como agentes terapéuticos y de formación de imágenes. Las corazas hidrofílicas también pueden proporcionar estabilidad coloidal a las partículas; ii) Los núcleos de las partículas pueden proporcionar propiedades mecánicas apropiadas (por ejemplo, un núcleo duro o blando) que se requieran para la aplicación deseada. Algunos materiales altamente reactivos (metales o proteínas) también pueden ser encapsulados dentro de los núcleos, protegiéndolos así de cambios físicos y químicos indeseables.

En la Tabla 1.6 se resumen diversas estrategias de síntesis para la preparación de partículas poliméricas anfífilas con morfologías núcleo-coraza.

La metodología basada en el *“injerto sobre partículas funcionalizadas”* involucra la utilización de siembras de partículas poliméricas que contienen grupos aminos o carboxilos en su superficie, los cuales son capaces de reaccionar con grupos funcionales/terminales (oxidrilo o amino) de cadenas poliméricas preformadas. De ésta forma, el polímero preformado puede ser anclado a la superficie de las partículas, obteniéndose una morfología de tipo corona. Comúnmente, se suelen utilizar diisocianatos como agentes de acoplamiento entre grupos NH_2 y OH , y carbodiminas para acoplar grupos COOH y NH_2 .

Tabla 1.6. Estrategias de síntesis para la preparación de partículas anfifílicas núcleo-coraza.

Metodología	Morfología	Referencia
Injerto sobre partículas funcionalizadas	Tipo corona	Meng et al., 2004
Injerto a partir de siembras de partículas reactivas	Tipo cepillo	Hritcu et al., 1999
Copolimerización de macromonómeros hidrofílicos con monómeros hidrofóbicos	Tipo corona	Akashi et al., 1985
Polimerización en emulsión en presencia de copolímeros de bloque o tipo peine conteniendo restos de radicales libres vivientes	Multicapa	Ferguson et al., 2005
Auto-ensamblado de copolímeros de bloque anfifílicos seguido por entrecruzamiento iónico o covalente de la coraza o el núcleo	Tipo Knedel	Huang et al., 1997
Deposición capa por capa de polielectrolitos sobre la superficie de partículas cargadas	Tipo frambuesa	Caruso y Mohwald, 1999
Polimerización de injerto de monómeros vinílicos a partir de polímeros solubles en agua conteniendo grupos aminos	Con vellosidades	Li et al., 2002

Por su parte, la estrategia de “*injerto a partir de siembras de partículas reactivas*”, consiste en la preparación inicial de partículas poliméricas a las que se les incorporan grupos funcionales o iniciadores en su superficie. Luego estas partículas son capaces de iniciar la polimerización de injerto superficial de monómeros hidrofílicos, obteniéndose una morfología de tipo cepillo.

El enfoque de “*copolimerización de macromonómeros hidrofílicos con monómeros hidrofóbicos*”, se basa en la utilización de oligómeros hidrofílicos que actúan como un surfactante reactivo en la polimerización radicalaria de monómeros hidrofóbicos. Esta estrategia permite obtener fácilmente partículas con morfología tipo corona.

La “*polimerización en emulsión en presencia de copolímeros de bloque conteniendo restos de radicales libres vivientes*”, involucra la síntesis de bloques hidrofílicos por

polimerización radicalaria controlada, con la subsiguiente adición de un monómero hidrofóbico, de modo de obtener un copolímero dibloque anfifílico. Cuando la longitud del segmento hidrofóbico permite alcanzar un adecuado balance hidrofílico/hidrofóbico, el copolímero dibloque es capaz de auto-ensamblarse para formar una micela polimérica. Luego la adición de un nuevo monómero hidrofóbico y su posterior polimerización, conduce a la formación de partículas núcleo-coraza que consisten en un copolímero tribloque.

La estrategia de *“auto-ensamblado de copolímeros de bloque anfifílicos seguido por entrecruzamiento iónico o covalente de la coraza o el núcleo”*, se basa en la formación de una micela polimérica anfifílica (obtenida del mismo modo que en la metodología anterior), seguido de la adición de una molécula bifuncional capaz de entrecruzar alguno de los segmentos del dibloque (hidrofílico o hidrofóbico). De esta manera se obtienen nanoesferas unimoleculares anfifílicas, con morfologías tipo “knedel”.

La metodología de *“deposición capa por capa de polielectrolitos sobre la superficie de partículas cargadas”* consiste en la adsorción sucesiva de policationes y polianiones (sales poliméricas de carga opuesta) sobre la superficie de partículas poliméricas cargadas (poseen una alta densidad de grupos SO_4^- , provenientes del iniciador). El procedimiento involucra la interacción de látex diluidos con soluciones saturadas o sobresaturadas de dichos polielectrolitos, seguido por ciclos de lavado por centrifugación para eliminar las moléculas de polielectrolito no adsorbidas. Las múltiples deposiciones de policationes y polianiones conducen a morfologías de tipo frambuesa.

Nos detendremos particularmente en la *“Polimerización de injerto de monómeros vinílicos a partir de polímeros solubles en agua conteniendo grupos aminos”*, puesto que dicha estrategia fue utilizada a lo largo de la presente Tesis Doctoral para la síntesis de las nanopartículas híbridas acrílico/caseína.

1.5.1. Polimerización de injerto de monómeros vinílicos a partir de polímeros solubles en agua conteniendo grupos aminos

Li et al. (2002) se ha centrado en el desarrollo de rutas simples y versátiles para la síntesis de partículas anfifílicas núcleo-coraza, basadas en la iniciación redox entre un hidroperóxido de alquilo y los grupos amino de polímeros solubles en agua. La Figura 1.7 ilustra el mecanismo de formación de partículas híbridas núcleo-coraza, propuesto por Li et al. (2002).

Los hidroperóxidos de alquilo (ROOH), tal como el hidroperóxido de tert-butilo (TBHP), inicialmente interactúan con los grupos amino de la cadena polimérica soluble en agua, formando un par redox. Durante la reacción redox, un electrón se transfiere desde el nitrógeno amino al hidroperóxido, dando lugar a la formación de un radical amino catiónico ($^+\text{NH}_2\bullet$) y un radical alcoxilo ($\text{RO}\bullet$). La subsiguiente pérdida del protón del nitrógeno, mediante la eliminación de una molécula de agua, genera un radical amino capaz de iniciar la polimerización de injerto del monómero vinílico disuelto en agua, formando macroradicales anfifílicos, de acuerdo a la etapa **(1)** de la Figura 1.7. Al mismo tiempo, el radical $\text{RO}\bullet$ puede iniciar la homopolimerización del monómero vinílico disuelto en agua [etapa **(2)**, de la Figura 1.7] o abstraer un átomo de hidrógeno de la cadena principal del polímero (dada la alta reactividad del radical $\text{RO}\bullet$), originando un nuevo macroradical polimérico que también puede iniciar la copolimerización de injerto, según se muestra en el paso **(3)** de la Figura 1.7. Los macroradicales anfifílicos generados “in situ” son capaces de auto-ensamblarse para formar microdominios de tipo micela polimérica, que se convierten en el principal sitio para la posterior polimerización del monómero (similar al mecanismo de polimerización en emulsión convencional). Como resultado, se generan partículas anfifílicas núcleo-coraza, en ausencia de emulsificante [paso **(4)** de la Figura 1.7].

Así, se han preparado una gran variedad de partículas núcleo-coraza a través de la selección de diferentes materiales para la coraza, monómeros vinílicos y de las condiciones de reacción apropiadas para este enfoque (Ho et al., 2010). Por ejemplo, las corazas

hidrofílicas pueden variar desde biopolímeros naturales, tales como albúmina de suero bovino, caseína, quitosano, celulosa, y gelatina, hasta polímeros sintéticos tales como polietilenimina, polialilamina, y polivinilamina. Los monómeros vinílicos frecuentemente utilizados han sido estireno, MMA, n-BA, n-isopropil acrilamida, y 2-hidroxipropil metacrilato.

Éste enfoque tiene la característica de combinar en un solo proceso, la polimerización de injerto, el autoensamblado “in situ” de micelas precursoras de partículas (a partir del copolímero de injerto anfifílico), y la polimerización en emulsión. Es un método versátil y simple que permite preparar una amplia variedad de partículas anfifílicas núcleo-coraza con diferentes estructuras químicas, composición, tamaño y funcionalidad.

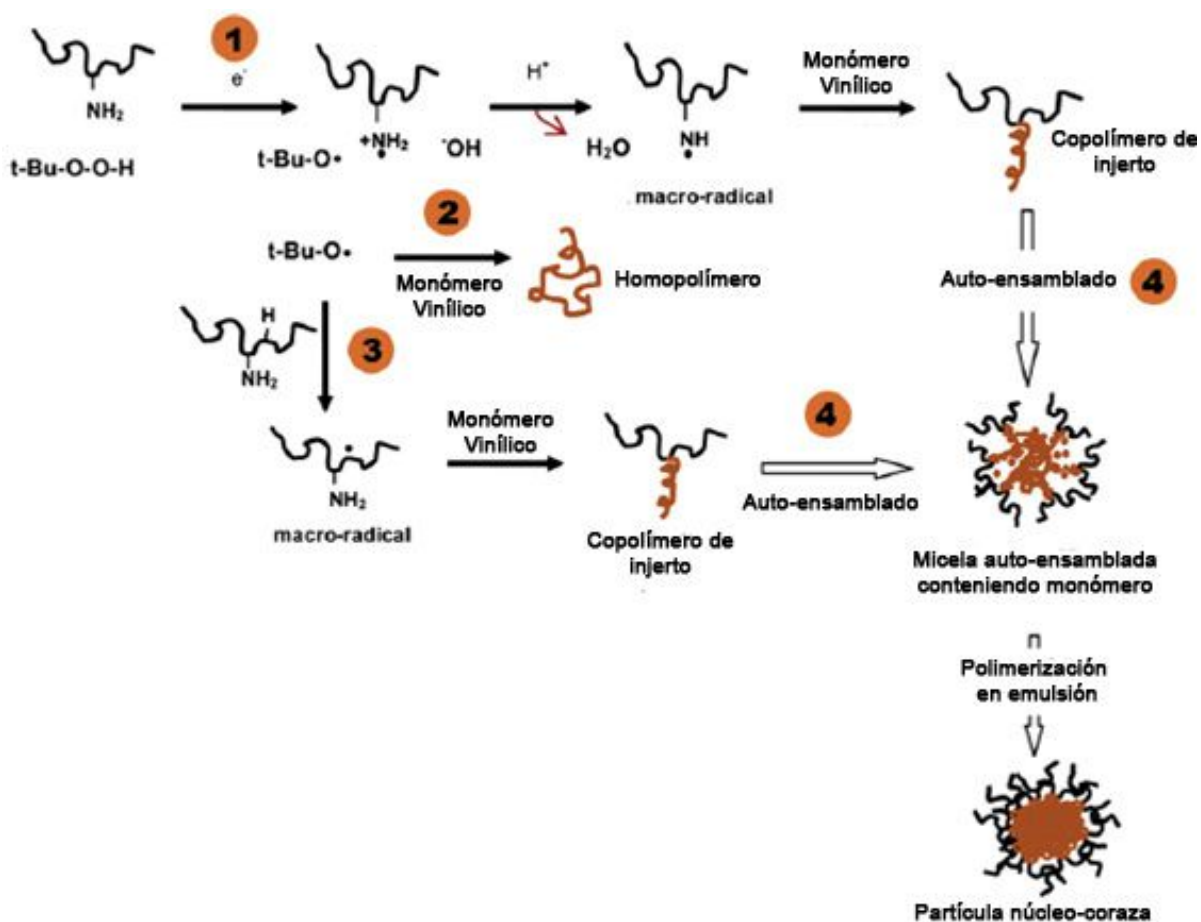


Figura 1.7. Mecanismo de formación de partículas anfifílicas núcleo-coraza a través de la polimerización de injerto de monómeros vinílicos y polímeros solubles en agua que contienen grupos amino (Li et al., 2002).

También es un proceso muy simple para llevar a cabo a escala comercial. Algunas de las ventajas distintivas de esta ruta sintética y sus productos incluyen los siguientes aspectos: i) las partículas se producen en ausencia de emulsificante, lo cual significa una ventaja desde el punto de vista de su aplicación final; ii) las partículas presentan una nanomorfología núcleo-coraza bien definida, con tamaños que varían desde 60 hasta 500 nm de diámetro y una estrecha distribución de tamaños; iii) el diámetro del núcleo, espesor de la coraza, y la funcionalidad de la superficie se pueden modificar fácilmente a través del control de las condiciones de reacción; iv) las propiedades mecánicas del núcleo pueden variar, pudiendo ser duro, blando, hueco y hasta sensible a la temperatura; v) para la formación de la coraza se puede utilizar una amplia gama de polímeros solubles en agua que contienen grupos amino, algunos de los cuales se encuentran disponibles comercialmente a bajo costo, en particular biopolímeros; vi) el proceso utiliza la química de base acuosa, la cual es amigable con el medio ambiente; y vii) se han obtenido látex con contenidos de sólidos de hasta 30%, en ausencia de emulsificante.

1.5.2. Aplicaciones de partículas anfífilas núcleo-coraza

Cada vez existen más aplicaciones para las partículas anfífilas núcleo-coraza en diversos campos, debido a las ventajosas propiedades químicas y físicas que éstas presentan, tales como alta relación superficie/volumen, funcionalidad superficial, y buena dispersabilidad en agua. A continuación se presentan las principales aplicaciones de las partículas núcleo-coraza.

1.5.2.1. Liberación controlada de drogas y genes

Las partículas anfífilas núcleo-coraza se han utilizado como nanovehículos en la liberación controlada de drogas y genes, ya que éstas poseen una gran relación superficie/volumen y una importante funcionalidad superficial.

En este sentido, Sakuma et al. (1997, 2002) sintetizaron partículas anfífilas consistentes de un núcleo de poliestireno (PS) y dos corazas de polímeros hidrofílicos

diferentes (poli n-isopropil acrilamida y polivinilamina) a través de la copolimerización en dispersión de estireno con una mezcla de macromonómeros de n-isopropil acrilamida y vinil amina, iniciada por 2,2'-azobisisobutironitrilo. Las partículas resultaron con diámetros que van desde 380 hasta 850 nm y fueron capaces de inmovilizar eficazmente fármacos peptídicos de administración oral, como la calcitonina de salmón, comúnmente utilizada en el tratamiento de la osteoporosis.

El grupo de la profesora Li exploró la aplicación de partículas anfífilas como nanovehículos para la liberación de genes (Zhu et al., 2005; Feng et al., 2006; 2007). Ellos sintetizaron nanopartículas con núcleos de PMMA y corazas de polietilenimina ramificada (PEI; polímero catiónico), siguiendo el método de copolimerización de injerto propuesto por Li et al. (2002). Las nanopartículas presentaron cargas superficiales altamente positivas (mayores a +40 mV, determinado por potencial zeta) y resultaron con tamaños menores a 200 nm y una distribución casi uniforme. El ADN de plásmidos (pADN), el cual contiene grupos funcionales cargados negativamente, puede condensarse eficientemente vía interacciones electrostáticas, sobre las corazas de PEI, formando complejos estables en agua. Estos complejos permiten proteger a las moléculas de pADN de la degradación enzimática y favorecen su absorción por endocitosis. La capacidad complejante de estas nanopartículas resultó fuertemente dependiente del peso molecular y el espesor de la coraza de PEI. Se encontró que la utilización de PEI de alto peso molecular ($M_w = 750$ kDa), condujo a mayores cantidades de pADN unido a las nanopartículas, en comparación a la que se obtuvo con PEI de bajo peso molecular (25 kDa). Sin embargo, las PEI con pesos moleculares superiores a 25 kDa, son usualmente citotóxicas y no biodegradables, restringiendo su aplicación en la liberación de genes. Por su parte, se observó que un incremento en el espesor de la coraza de las nanopartículas (por reducción de la relación en peso de MMA/PEI) favorece la cantidad de pADN ligado. Además, la estabilidad coloidal de los complejos resultó influenciada por la relación en peso "nanopartículas/pADN cargado" (N/P). Así, una relación N/P de 2:1 provocó la desestabilización y agregación de los

complejos, mientras que relaciones superiores (5:1 o 10:1) permitió obtener coloides completamente estables.

Por otra parte, los estudios de citotoxicidad indicaron que las nanopartículas núcleo-coraza PMMA/PEI ($M_w = 25$ kDa) son al menos tres veces menos tóxicas que el homopolímero ramificado PEI ($M_w = 25$ kDa).

1.5.2.2. Inmovilización de enzimas

La inmovilización de enzimas sobre soportes sólidos es de gran importancia para una amplia gama de aplicaciones, como por ejemplo procesos biocatalíticos, debido a que las enzimas inmovilizadas muestran una buena reutilidad, una rápida separación del producto, y mejoras en su estabilidad (Caruso, 2001; Brady, 2009). Entre los soportes sólidos, las partículas anfífilas núcleo-coraza son materiales atractivos debido a su gran área superficial y la funcionalidad de su superficie (Masahiro et al., 2002). La inmovilización de enzimas en partículas núcleo-coraza se ha logrado a través de diversos métodos, tales como la adsorción física, enlace covalente, entrecruzamiento, o una combinación de éstos (Panesar et al., 2005). Por ejemplo, Caruso et al. (1999) utilizaron el enfoque capa por capa para depositar isotiocianato de fluoresceína-albúmina de suero bovino (FICT-BSA) e inmunoglobulina G (IgG); sobre la superficie de partículas de PS recubiertas con polielectrolitos [poli (cloruro de dialildimetilamonio) y poli (4-estirensulfonato de sodio)], formando microesferas con multicapas de tales proteínas. Estas partículas híbridas presentaron un tamaño de 600-700 nm y una distribución uniforme. El espesor de la capa de proteína inmovilizada, podría variarse hasta cientos de nanómetros, controlando los ciclos de deposición. Haupt et al. (2005), llevaron a cabo la inmovilización de glucoamilasa y β -glucosidasa sobre partículas núcleo-coraza de poliestireno/poli (4-sulfonato de sodio). Ellos lograron cargar importantes cantidades de dichas enzimas (600 mg/g de partícula), resultando las nanopartículas con una alta actividad enzimática. Kang et al. (2005), también utilizaron partículas anfífilas de poli(metacrilato de metilo)-co-(acrilato de etilo)-co-(ácido

acrílico) para la inmovilización de tripsina a través de unión covalente. La tripsina inmovilizada exhibió mayor estabilidad térmica y química que cuando se utilizó en estado libre. Además la enzima inmovilizada mantuvo su actividad enzimática (63% de su actividad inicial) hasta luego de ser reutilizada 10 veces.

El grupo de la profesora Li ha utilizado diferentes partículas anfifílicas para inmovilizar celulasa (PMMA/PEI, PMMA/quitosano, PMMA/caseína), siguiendo varias estrategias como la adsorción física, el entrecruzamiento y la unión covalente (Mao et al., 2006). Ellos observaron que las partículas con polímeros catiónicos como constituyentes de la coraza (por ejemplo, PEI y quitosano) muestran altas capacidades de carga, de 250 a 530 mg de celulasa/g de nanopartículas, y son capaces de preservar eficientemente su actividad enzimática (70% -90% de la actividad de la enzima libre).

Recientemente, Ho et al. (2008) desarrollaron un método de una sola etapa para la inmovilización directa de celulasa sobre nanopartículas de PMMA, sintetizadas con la estrategia de copolimerización de injerto propuesta por Li et al. (2002). De esa manera, la celulasa inmovilizada mostró mejores propiedades, como un pH de trabajo más amplio y una mejor estabilidad térmica. Sin embargo la actividad enzimática, en este caso fue reducida un 41% con respecto a la enzima nativa.

1.5.2.3. Quimiosensores

En los últimos años, los quimiosensores encontraron importantes aplicaciones en el campo biotecnológico y biomédico (Mancin et al., 2006). Particularmente, los métodos de detección basados en fluorescencia han atraído una gran atención debido a su sensibilidad y practicidad (Wolfbeis, 2005).

Estudios recientes han demostrado que las partículas anfifílicas núcleo-coraza podrían ser utilizadas como nanoreservorios de colorantes fluorescentes, para su posterior empleo como quimiosensores, ya que presentan varias ventajas en comparación con los métodos fluorimétricos de detección convencional; incluyendo un mayor brillo, mejor fotoestabilidad,

una detección más rápida y una mayor capacidad de dispersión en agua del colorante fluorescente (Chen et al., 2009). Estas mejores propiedades se atribuyen al hecho de que el núcleo de las partículas puede proporcionar un entorno hidrófobo para estabilizar a los colorantes que por lo general son también hidrófobos. Otra ventaja de utilizar nanopartículas cargadas con colorantes es que proporcionan una gran relación superficie/volumen, y un gran número de grupos funcionales sobre su superficie, lo que permite la unión de diferentes tipos de marcadores fluorescentes, para la detección de múltiples de analitos.

En este sentido, Méallet-Renault et al. (2006), incorporaron 4,4-difluoro-8-(2',4',6'-trimetil)fenil-2,6-dietil-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (BODIPY), un colorante fluorescente de carácter hidrófobo, en nanopartículas con un núcleo de PS y una coraza de 1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano (Ciclám, macroligando cíclico), para su uso en la detección de iones Cu (II). La preparación de las nanopartículas se llevó a cabo en dos etapas: 1) copolimerización de estireno y n-vinilbenzil ciclám, utilizando divinilbenceno como agente entrecruzante, en una microemulsión aceite en agua, estabilizada con bromuro de dodecil trimetil amonio (surfactante catiónico) y obteniéndose tamaños cercanos a los 16 nm. 2) Luego se procedió con la carga del BODIPY, a través de un proceso de inmersión/evaporación. Este método consiste en hinchar las nanopartículas en una mezcla de colorante/diclorometano, seguido por la evaporación del solvente. Las nanopartículas mostraron una respuesta selectiva al Cu (II) en presencia de otros metales como el Zn (II) y el Ni (II). Esta selectividad se atribuyó a la unión específica entre la coraza de ciclám y los iones Cu (II), mejorando así el efecto de extinción de la emisión del colorante BODIPY, por transferencia de la energía de resonancia de fluorescencia (Figura 1.8). El límite de detección de iones Cu (II) en este sistema puede ser de hasta 1 nM.

Además, reemplazando el colorante BODIPY ($\lambda_{\text{emisión}} = 540 \text{ nm}$) por 9,10-difenilantraceno ($\lambda_{\text{emisión}} = 418 \text{ nm}$), las nanopartículas exhibieron una menor interferencia con otras sales metálicas, incrementando la selectividad hacia los iones Cu (II).

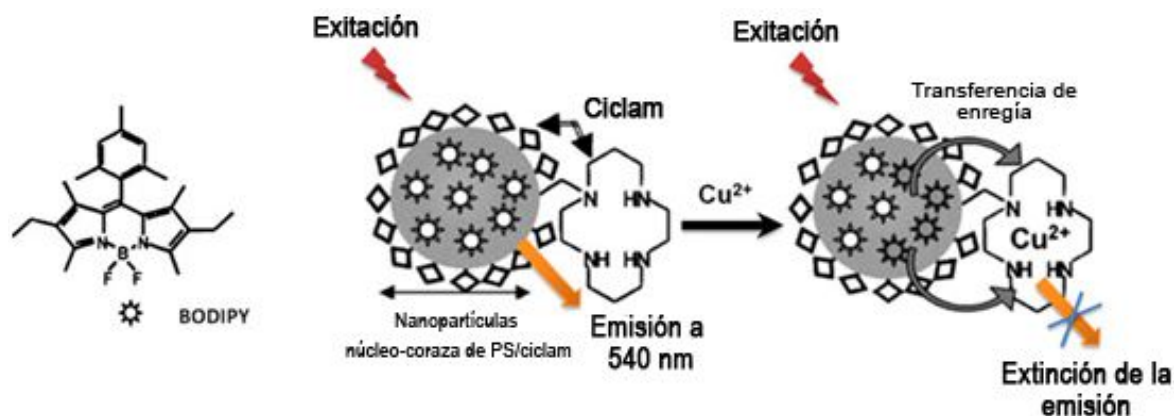


Figura 1.8. Ilustración de un quimiosensor fluorescente para la detección selectiva de Cu (II).

Siguiendo la misma línea, Chen et al (2009) prepararon nanopartículas núcleo-coraza de PMMA/PEI cargadas con rojo de Nilo (colorante fluorescente de carácter lipófilico), mediante el mecanismo de copolimerización de injerto propuesto por Li et al. (2002), para su utilización como quimiosensor en la detección de iones cúprico en agua. Las nanopartículas obtenidas resultaron con un tamaño de 30 nm y presentaron señales de fluorescencia altamente estables. Además, debido a la hidrofiliidad de PEI, dichas partículas fueron capaces de ligar selectivamente iones Cu (II) a través de la formación de complejos. Luego, el complejo PEI/Cu (II) sirve como un aceptor de la energía de resonancia de fluorescencia, emitida por el colorante, dando como resultado la extinción de la señal de emisión (para el rojo de Nilo, $\lambda_{emisión} = 603 \text{ nm}$). El límite de detección alcanzado para éste sistema fue de $1 \mu\text{M}$, lo que lo hace adecuado para la detección de Cu (II) en agua potable, puesto que la concentración sugerida para tales iones, según la agencia de políticas ambientales de Estados Unidos de América, debe ser menor a $20 \mu\text{M}$.

1.5.2.4. Recubrimientos

El quitosano es un polímero natural no tóxico, biodegradable y biocompatible. También es uno de los agentes antibacterianos más seguros y eficaces que ha sido ampliamente utilizado en la fabricación de fibras de algodón y otros textiles (Janjic et al., 2009). Sin embargo, el recubrimiento directo de quitosano en fibras textiles tiene algunos

inconvenientes asociados con la pobre solubilidad del quitosano en la mayoría de los disolventes (excepto soluciones acuosas ácidas), mala procesabilidad debido a su alta viscosidad en solución acuosa, y la mala sensación al tacto debido a su rigidez. Por ésta razón, la estrategia de copolimerización de injerto fue aplicada por Ye et al. (2005) para preparar partículas anfifílicas que consisten en un núcleo blando de n-PBA y una coraza de quitosano como un nuevo recubrimiento antibacteriano para fibras de algodón. Las fibras de algodón se recubren con partículas de n-PBA/quitosano a través de un proceso de “pad-dry-cure” convencional sin el uso de aglutinantes químicos. Dicho proceso consiste en sumergir la fibra en una dispersión acuosa de partículas de n-PBA/quitosano (látex), la cual luego es comprimida por un sistema de rodillos, para eliminar el exceso de látex, y finalmente es secada con aire caliente.

Los resultados demuestran que los tejidos recubiertos poseen una excelente actividad antibacteriana con una reducción del 99% de las bacterias. El recubrimiento sobre el tejido también resultó durable, manteniendo una reducción de más del 90% de las bacterias, después de 50 ciclos de lavado. Las fibras tratadas con partículas de n-PBA/quitosano tienen mayor permeabilidad al aire con una pequeña reducción en su resistencia a la tracción. La morfología de la superficie de las fibras no se ve afectada por el recubrimiento de partículas por lo que se da una mejor sensación al tacto que cuando se emplea sólo quitosano.

Como se mencionó oportunamente, la caseína es un excelente material formador de películas y ha sido ampliamente utilizada en aplicaciones de recubrimientos. Sin embargo, su utilización en tales aplicaciones se ve limitada por las pobres propiedades que posee, inherentes a su estructura química (extremada fragilidad, susceptibilidad al ataque microbiano y mala resistencia al agua). La estrategia de síntesis propuesta por Li et al. (2002), para producir nanopartículas núcleo-coraza de n-PBA/PMMA/caseína, puede ser una alternativa prometedora para superar, a través de un efecto sinérgico, las limitaciones antes mencionadas.

Las potenciales aplicaciones de las nanopartículas núcleo-coraza de n-PBA/PMMA/caseína en el área de recubrimientos, han sido investigadas a lo largo de la presente Tesis Doctoral.

1.6. CONCEPTOS BÁSICOS SOBRE RECUBRIMIENTOS

1.6.1. Definiciones y características esenciales

Muchas veces la palabra recubrimiento es utilizada como sinónimo de pintura. Sin embargo, cuando hacemos distinción entre ambos términos, inferimos en que las funciones de las pinturas son principalmente estéticas y decorativas, mientras que los recubrimientos tienen propósitos más específicos como pueden ser la prevención de la corrosión, ya sea de forma activa por inclusión de pigmentos anticorrosivos, o pasiva al proporcionar una barrera adhesiva e impermeable; resistencia al deslizamiento; resistencia al impacto y a la abrasión; resistencia a la contaminación; o propiedades higiénicas, tales como resistencia bacteriana, fúngica o al ensuciamiento (Giudice y Pereyra, 2009).

Los recubrimientos, desde un punto de vista técnico-económico, constituyen el método más adecuado para la protección de los materiales empleados en la construcción y en la industria. Un recubrimiento líquido, considerado desde un punto de vista fisicoquímico, es un sistema disperso. Está constituido generalmente por sólidos finamente particulados y dispersos en un medio fluido denominado vehículo. Este último está basado en una sustancia filmógena o aglutinante, también llamada formadora de película o ligante, dispuesta en un solvente o mezcla solvente al cual se le incorporan aditivos y eventualmente plastificantes.

En el caso de recubrimientos a base de solvente orgánico, el vehículo es una solución líquida (dispersión molecular del material polimérico) que rodea las partículas del pigmento disperso en el recubrimiento; durante el secado el sistema se hace más viscoso y el ligante fluye alrededor de las partículas durante casi toda esta etapa, observándose una significativa contracción volumétrica de la película.

Las cada vez más estrictas regulaciones y la mayor conciencia de la sociedad en lo que respecta al control de la emisión de solventes volátiles, indujeron la investigación y desarrollo de recubrimientos a base acuosa y en polvo.

En los recubrimientos de base acuosa se emplean látex como materiales formadores de película. Los látex no son soluciones de un ligante en un solvente sino dispersiones concentradas de partículas discretas de un material polimérico (de baja Tg) en agua.

El secado de un látex conduce a que las partículas poliméricas se adhieran fuertemente entre sí debido a la creciente tensión superficial por la disminución de las distancias entre dichas partículas. La pérdida de agua puede suceder ya sea por su evaporación a la atmósfera y/o por la absorción de un sustrato poroso. La contracción de la película involucrada en esta etapa genera la coalescencia (fusión en frío de las partículas resinosas) alrededor de las partículas del pigmento/carga, lo cual conduce a una disposición más o menos densamente empaquetada. La compactación del pigmento para alcanzar una alta concentración en volumen en la película seca, es lograda principalmente por deformación plástica de las partículas poliméricas, generalmente asistida por un agente coalescente (solvente orgánico).

En general, los recubrimientos se aplican en capas delgadas sobre un soporte y tienen la propiedad de transformarse en una película sólida, continua y adherente por evaporación del vehículo y, en algunos casos, además por transformaciones químicas de la sustancia formadora de película (curado). Finalizado el proceso de secado/curado se puede lograr una película que otorgue protección al sustrato y además mejorar su aspecto estético.

Por otra parte, los recubrimientos en polvo están constituidos en su totalidad por sólidos, es decir sin solventes en su composición. Los recubrimientos en polvo pueden o no estar pigmentados y requieren un tratamiento térmico para la formación de una película continua y adherente.

En resumen y en función de las diferentes definiciones, surge que los componentes fundamentales de un recubrimiento son el material formador de película (también llamado

aglutinante o ligante), los pigmentos, los aditivos y el vehículo, eventualmente la mezcla solvente (disolvente y diluyente) o el medio de dispersión.

La formulación de un recubrimiento eficiente requiere conocer las propiedades intrínsecas de los diferentes componentes involucrados y además establecer las reacciones o interacciones que tienen lugar entre los mismos, tanto durante la elaboración y almacenamiento del producto como en la aplicación sobre una superficie.

1.6.2. Reología de recubrimientos

Si un recubrimiento va a ser utilizado como una barrera impermeable, debe ser continuo y libre de defectos; y para ello se debe encontrar en estado líquido en su punto de aplicación. La manera en la que fluye el ligante (reología) es un parámetro de importancia fundamental en aplicaciones de recubrimientos. Un látex debe tener suficiente viscosidad a bajas velocidades de corte para evitar la sedimentación de pigmentos durante el almacenamiento y resistir la fluencia después de ser aplicado sobre una superficie vertical; y baja viscosidad a altas velocidades de corte para poder fluir durante la aplicación con rodillo o brocha (Marrion, 2004). Estos dos efectos parecen ser mutuamente excluyentes, sin embargo la mayoría de los recubrimientos se formulan de tal manera que su comportamiento reológico se ajuste adecuadamente a ambos requisitos.

Para polímeros en solución y partículas dispersas en una fase continua, es común que la viscosidad no sea constante con la velocidad de corte. Estos tipos de materiales se denominan no newtonianos. El comportamiento más común es el pseudoplástico, en donde a velocidades de corte crecientes se produce una disminución de la viscosidad del material. Las pinturas y recubrimientos en general, muestran este tipo de comportamiento (Figura 1.9).

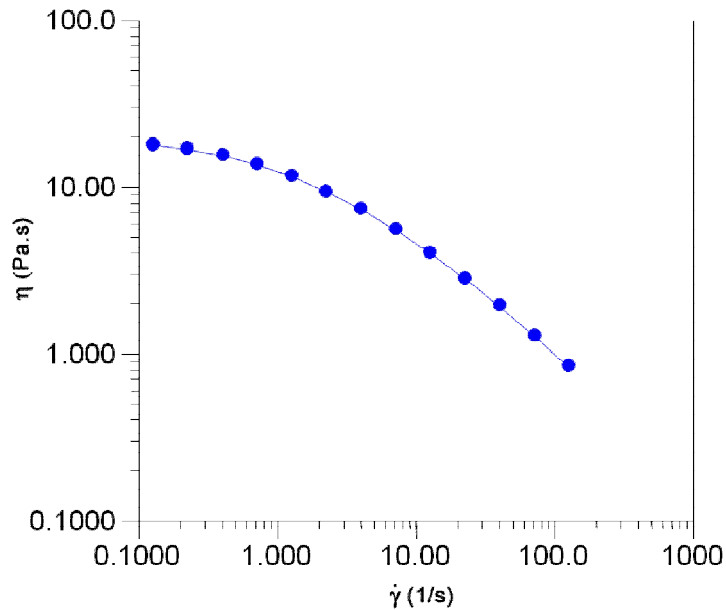


Figura 1.9. Comportamiento pseudoplástico de un típico látex acrílico. Viscosidad dinámica (η) vs velocidad de deformación ($\dot{\gamma}$).

Claramente, el comportamiento absoluto en términos de cuan menos viscoso se vuelve el sistema y en qué región de velocidad de corte se produce este fenómeno, dependerá de la naturaleza física y química de los materiales utilizados. Por el contrario al comportamiento pseudoplástico, cuando la viscosidad del material se incrementa al aumentar la velocidad de corte, el fluido recibe el nombre de dilatante. Este comportamiento se puede observar en materiales que contienen una alta concentración de partículas, por ejemplo, los pigmentos.

Otra clase de comportamiento no newtoniano es el viscoplástico. Este tipo de fluidos requiere que una tensión finita sea aplicada al material antes que comience a fluir (el material presenta una tensión mínima de fluencia). Una vez superado éste valor de tensión mínima, el fluido puede adoptar un comportamiento newtoniano (Plástico de Bingham) o que sigue la ley de la potencia (Herschel- Bulkley). Este comportamiento se puede observar en algunos recubrimientos resistentes a la abrasión y al impacto. En la Figura 1.10 se muestra una representación de todos los tipos de flujos discutidos, en lo que respecta a la relación entre el esfuerzo de corte (σ) y velocidad de deformación ($\dot{\gamma}$).

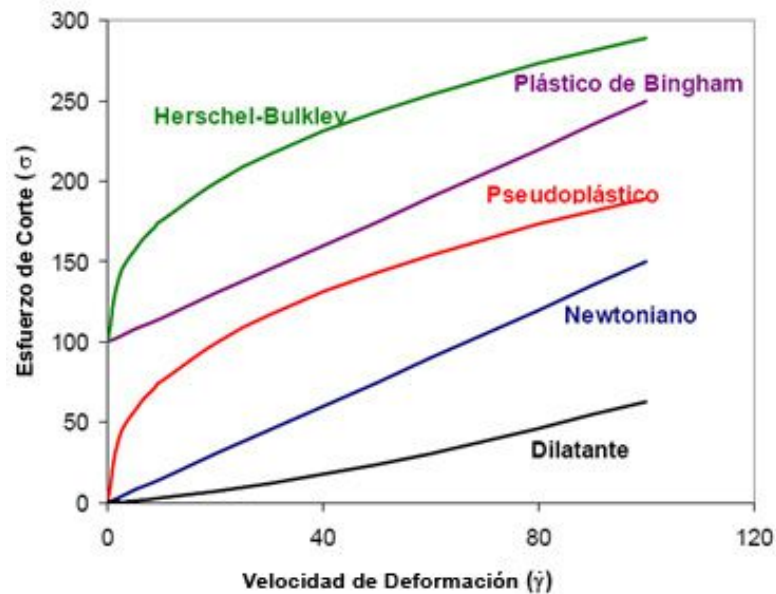


Figura 1.10. Comportamiento reológico de distintos tipos de flujo. Esfuerzo de corte (σ) vs velocidad de deformación ($\dot{\gamma}$).

1.6.3. Formación de película

El proceso de formación de película, es un punto importante en la tecnología de recubrimientos de base acuosa. Debido a que ésta Tesis involucra la producción de nanopartículas híbridas acrílico-caseína dispersas en agua, para su aplicación en recubrimientos, centraremos nuestra discusión en los procesos de formación de películas a partir de látex.

La formación de película surge de la coalescencia (es decir de la compactación, deformación, cohesión e interdifusión de las cadenas poliméricas) de las partículas individuales de látex, las cuales normalmente se encuentran estabilizadas por fuerzas electrostáticas y/o estéricas (otorgadas por grupos polares en la cadena polimérica o por el surfactante adsorbido sobre la partícula; Keddie, 1997). Estas fuerzas, y otras que se oponen a la deformación de las partículas, pueden ser superadas durante la evaporación de la fase acuosa.

Cuando el agua se evapora de una dispersión de partículas, se forma una película transparente, si se trabaja a temperaturas superiores a la temperatura mínima de formación

de película (MFFT). A temperaturas más bajas, la película adquiere un aspecto turbio, agrietado o polvoriento. La Figura 1.11 muestra claramente la transición de turbio a transparente, de una película formada a partir de un látex polimérico, en donde la temperatura a la cual se observa el cambio es considerada como la MFFT. La MFFT es una medida de la deformabilidad de las partículas durante la etapa de secado, y está directamente relacionada con la Tg del material polimérico, su módulo elástico (resistencia a la deformación de las partículas), y en menor medida, con su viscosidad.

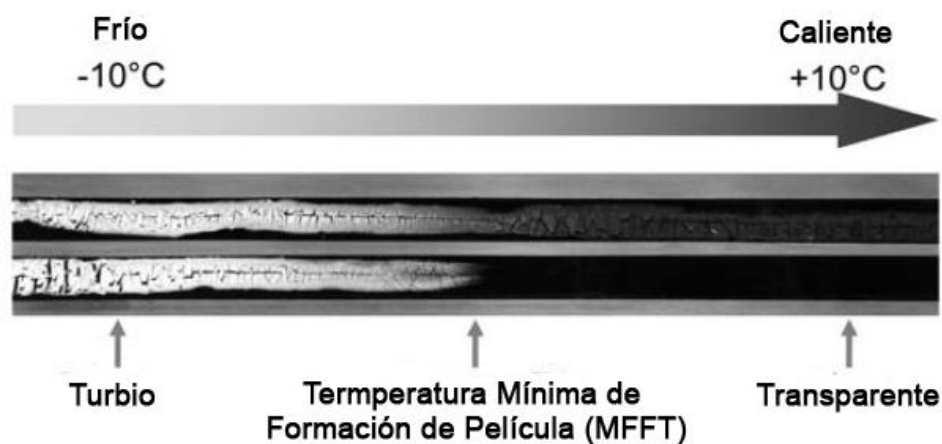


Figura 1.11. Determinación de MFFT en látex poliméricos.

El proceso de formación de película es comúnmente dividido en una serie de etapas: (I) Evaporación, concentración de las partículas y ordenamiento; (II) Deformación de las partículas; y (III) Difusión de las cadenas poliméricas a través del límite de las partículas (Figura 1.12).

Cuando el agua se evapora de la dispersión, las partículas de polímero se concentran y se vuelven muy próximas unas a las otras. Cuando las fuerzas que acompañan el secado exceden el módulo elástico de las partículas, éstas se deforman produciendo una película libre de huecos que todavía es débil mecánicamente. En la etapa final de formación de película, se produce la difusión del polímero a través del límite entre partículas proporcionando los entreveramientos que le confieren resistencia mecánica.

**PROCESO DE FORMACIÓN DE PELÍCULA
A PARTIR DE UN LÁTEX**

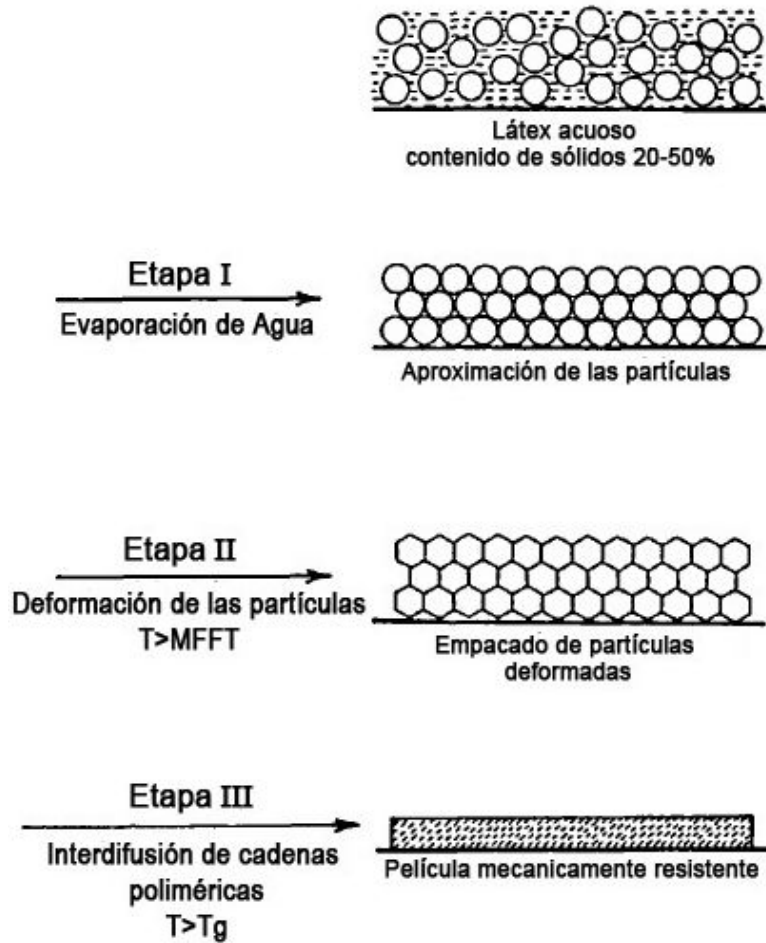


Figura 1.12. Etapas involucradas en el proceso de formación de película.

Estas etapas no siempre están bien definidas y a menudo, algunas de sus características difieren según el sistema coloidal. Por ejemplo, todas las partículas de látex tienen grupos polares o iónicos en su superficie que proporcionan estabilidad coloidal. En algunos sistemas, ésta capa polar tiene el espesor suficiente como para formar una membrana continua en la película recién formada (Chevalier et al., 1992). La ruptura de la membrana se convierte en un paso importante para lograr que los núcleos de partículas entren en contacto íntimo y pueda ocurrir la interdifusión (Joanicot et al., 1993).

1.6.4. Propiedades mecánicas

El comportamiento mecánico de un recubrimiento describe la respuesta del material al estrés y tensiones a las cuales es sometido durante su aplicación. La falta de resistencia a algún tipo de esfuerzo físico o mecánico, siempre debe considerarse como un parámetro de desempeño limitante, ya que dichas carencias conducen a la formación de grietas y subsiguiente fallo del recubrimiento.

Los requisitos de desempeño físico y mecánico de los recubrimientos pueden variar enormemente con las diferentes aplicaciones de uso final. Por ejemplo, pareciera que un recubrimiento destinado a la decoración y protección exterior tiene pocas exigencias mecánicas. Sin embargo, sustratos como hormigón o madera, son dimensionalmente inestables, se expanden y contraen ante cambios de temperatura y, lo más importante, con la entrada y salida de humedad.

Dentro de los ensayos tradicionales para determinar el desempeño mecánico de un recubrimiento, particularmente las curvas esfuerzo-deformación, la dureza y la fuerza adhesiva a un sustrato, son parámetros muy importantes.

1.6.4.1. Ensayo tensión-deformación

Este ensayo mide la resistencia del material a una fuerza uniaxial estática o gradualmente aplicada (F). Para un material dado, los resultados de un solo ensayo son aplicables a todo tamaño y formas de muestras, si se convierte la fuerza en esfuerzo y la extensión en deformación. Así, el esfuerzo y la deformación ingenieriles se definen de acuerdo a las siguientes ecuaciones,

$$\text{Esfuerzo ingenieril} = \sigma = \frac{F}{A_0} \quad (1.1)$$

$$\text{Deformación ingenieril} = \varepsilon = \frac{l-l_0}{l_0} \quad (1.2)$$

donde A_0 es el área original de la sección transversal de la probeta antes de iniciar el ensayo, l_0 la longitud inicial del espécimen y l la longitud del espécimen después de haber sido aplicada la fuerza F .

Los materiales poliméricos, y por lo tanto los recubrimientos orgánicos, exhiben una amplia gama de comportamientos de tensión-deformación (Figura 1.13), que va desde duro y quebradizo (A), pasando por dúctil y tenaz (B), hasta blando y elastomérico (C).

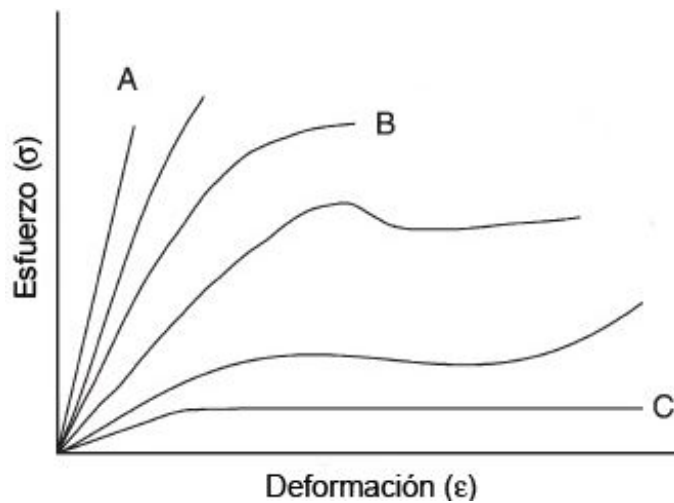


Figura 1.13. Típicas curvas de esfuerzo-deformación para materiales poliméricos.

Las propiedades mecánicas de importancia en tecnología de recubrimientos, que pueden obtenerse a partir las curvas de tensión-deformación, son las siguientes:

Módulo de elasticidad: En la primera parte del ensayo el material se deforma elásticamente. Esto es, si se elimina la carga sobre la muestra, volverá a su longitud inicial. En general, los materiales muestran una relación lineal entre el esfuerzo y la deformación en la zona elástica lineal, la cual se describe mediante la ley de Hooke:

$$E = \frac{\sigma}{\epsilon} \tag{1.3}$$

donde E es el módulo de elasticidad o módulo de Young y es una medida de la rigidez del recubrimiento.

Punto de cedencia: Es la tensión a la cual un material comienza a deformarse plásticamente, es decir una fracción de la deformación será permanente e irreversible. Antes del punto de cedencia, el material se deforma elásticamente y podrá volver a su forma original cuando se retire la tensión aplicada.

Resistencia tensil: Es la máxima tensión alcanzada en la curva esfuerzo-deformación y de acuerdo a ella podemos definir a un material cómo fuerte o débil.

Elongación a la rotura: Es la máxima elongación alcanzada durante el ensayo, determinada por la falla de la probeta. Es una medida de la ductilidad del recubrimiento.

Tenacidad: Es la energía total que absorbe el material durante el ensayo y viene representada por el área bajo la curva tensión-deformación. Una forma de entender la tenacidad cualitativamente, es considerando que las grietas internas de los materiales se propagan más rápido mientras menos tenaz sea el material. Cuando un material es blando, se deforma con facilidad y la porción del material que rodea la grieta también se deforma consumiendo energía, lo que retarda la propagación de la grieta y aumenta su tenacidad. En el caso de los materiales duros, esta deformación no se produce, por lo que las grietas disponen de mucha más energía para propagarse, lo que hace que presente una menor tenacidad. No obstante esto no implica que exista una relación inversa entre dureza y tenacidad, ya que la propagación de grietas depende de otros factores, como el tipo de proceso de deformación o las dimensiones de la grieta inicial.

1.6.4.2. Ensayos de Dureza

La dureza de un recubrimiento puede definirse como su resistencia al rayado o a la penetración. Una de las técnicas históricamente utilizadas para determinar la dureza en recubrimientos es a través de un durómetro de lápiz. En éste caso, la dureza es expresada como el “grado del lápiz” que marca el recubrimiento o bien causa un profundo arañazo sobre su superficie. Esta prueba puede ser algo subjetiva y depende del operador.

Estos problemas pueden superarse mediante el uso de la técnica clásica de medición de la penetración de un indentador bajo una carga dada (utilizado a lo largo de la presente Tesis). Se debe tener cuidado al utilizar este método para películas delgadas sobre sustratos rígidos, ya que cuando la profundidad de penetración se vuelve comparable con el espesor de la película, el sustrato influye en el resultado, haciendo al recubrimiento aparentemente más duro. Este inconveniente podría ser superado colocando varias películas unas sobre otras, de modo de obtener el espesor deseado. Particularmente, en los ensayos de dureza realizados en ésta Tesis, se utilizó un indentador cilíndrico de punta plana y se determinó la carga máxima para producir una penetración de 1 mm, la cual fue tomada como una medida de dureza. En el Capítulo 2 de ésta Tesis, se presenta una descripción detallada de dicha técnica.

El durómetro al péndulo también se usa ampliamente en la industria de recubrimientos. En este método hay una cuchilla afilada montada sobre un péndulo, oscilando a un ángulo dado sobre un panel recubierto, y se registra el número de oscilaciones producidas antes de causar daño al recubrimiento.

1.6.4.3. *Adhesión al sustrato y resistencia al bloqueo.*

La fuerza de adhesión sobre un sustrato es una de las principales características funcionales de los recubrimientos. La adhesión hace referencia a las fuerzas interfaciales que se producen entre el recubrimiento y la superficie del adherente. La adherencia se basa en dos tipos de fuerzas, enlaces de Van der Waals y uniones químicas. Las primeras son la base de la adherencia y actúan entre el recubrimiento y el sustrato, mientras que las segundas se desarrollan cuando el sustrato tiene grupos químicos que reaccionan con el recubrimiento y producen una alta resistencia adhesiva. La adhesión resulta sensiblemente menor en condiciones húmedas ya que el agua o vapor de agua en la interfase, por su característica fuertemente polar y reducido tamaño, compite con el material polimérico. La adherencia de materiales poliméricos puede mejorarse por la adición de un pequeño

porcentaje de un ácido orgánico. Así por ejemplo, las resinas Epoxi contienen ácidos orgánicos en el polímero curado que le confieren una alta adherencia sin la necesidad de utilizar aditivos potenciadores de la adhesión. Para lograr la correcta adherencia del recubrimiento al sustrato, es necesario que los materiales queden en contacto íntimo, y por lo tanto se debe asegurar un adecuado ángulo de contacto entre ambos materiales de manera de cubrir la textura microscópica que presenta la superficie del adherente.

Todos los ensayos de adhesión se basan en diferentes métodos de separación de un recubrimiento a partir de su sustrato, mediante la aplicación de una carga particular. Pueden resumirse 3 modos de fallo entre el recubrimiento y el sustrato. 1) Fallo adhesivo: es el fallo de la unión de las interfases entre el sustrato y el recubrimiento. 2) Fallo cohesivo: se produce cuando la fractura es en el recubrimiento, rompiéndose las fuerzas de cohesión del mismo. 3) Fallo del sustrato: en algunos casos se produce la rotura en el sustrato antes que en la unión adhesiva.

Uno de los ensayos más utilizados para determinar la adherencia en recubrimientos, es el denominado "tape test". En este ensayo, se realizan cortes a lo largo del sustrato con una herramienta afilada (cuchillo, hoja de afeitar o trincheta) con el fin de producir bordes a partir de los cuales el recubrimiento puede ser pelado del adherente. Los patrones de corte más utilizados son en X (dos cortes en un ángulo de 45°) y el patrón de trama, un enrejado en ángulo recto con una distancia entre cortes desde 0.4 hasta 1.3 mm. Luego, una cinta adhesiva es aplicada sobre el área de corte y fuertemente presionada y adherida a la superficie del recubrimiento. Posteriormente la cinta se despega de manera paralela a la superficie y si algún fragmento del recubrimiento se retira del sustrato, la fuerza de adhesión se considera imperfecta. El área de prueba se examina con una lupa y la fuerza de adhesión tiene una clasificación de acuerdo con la cantidad de recubrimiento que fue eliminado. En la Figura 1.14 se muestra una esquematización del "tape test".

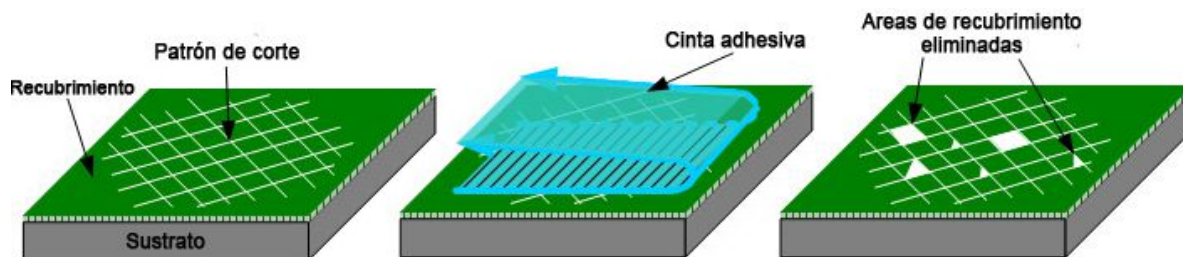


Figura 1.14. Representación esquemática del “tape test”.

Con frecuencia los recubrimientos decorativos, luego del secado, entran en contacto con sí mismo, como por ejemplo durante el cierre de puertas y ventanas. La resistencia al bloqueo es la capacidad que presenta un recubrimiento para evitar la adherencia entre dos superficies distintas en las que fue aplicado; y es uno de los requisitos clave para el adecuado desempeño de films decorativos. Un recubrimiento con buena resistencia al bloqueo conservará la integridad de la película luego de cesar el contacto entre las superficies. Pobres propiedades de anti-bloqueo causan que las dos películas en contacto se peguen, provocando la rotura o desprendimiento de sus capas. El comportamiento de bloqueo de un recubrimiento depende de su dureza, la presión, la temperatura, la humedad y la duración del contacto entre las superficies. El método de ensayo más utilizado para determinar la resistencia al bloqueo de recubrimientos es el establecido por la norma ASTM D 4946-89, que será descrito en el Capítulo 2 de ésta Tesis.

1.6.5. Resistencia química

Algunas de las aplicaciones más exigentes desde el punto de vista tecnológico para recubrimientos, es la protección de estructuras contra el ataque químico

En general, podemos separar la función de resistencia química de un recubrimiento en dos grandes categorías. En la primera, la resistencia química no es la principal función del recubrimiento; sin embargo durante su servicio está expuesto ocasionalmente a alguna forma de estrés químico. Por ejemplo, los recubrimientos para lavarropas, si bien su principal función es estética, necesitan resistir el agua y soluciones de jabón caliente. Las

pinturas para automóviles también tienen que hacer frente a soluciones jabonosas, pero además requieren resistencia a los hidrocarburos y fluidos hidráulicos (como combustibles y lubricantes). En la segunda categoría, la función primaria del recubrimiento es proporcionar al sustrato protección contra la corrosión durante una exposición de largo plazo en un entorno químicamente agresivo. El ejemplo más común es la protección del acero del simple ataque atmosférico o contra el agua salada.

En cualquiera de los casos, la exposición a un ambiente químico no debe causar la pérdida de adhesión o disolución del recubrimiento, ni volverlo mecánicamente débil permitiendo la absorción de fluidos. Cuando se espera que la exposición química sea prolongada, se debe tener cuidado en la selección de la naturaleza del recubrimiento para evitar la posibilidad de una reacción o ataque químico directo. Por ejemplo, normalmente no se utilizan poliésteres como recubrimientos para estructuras expuestas a bases o ácidos acuosos fuertes. En este caso, la hidrólisis de los principales grupos éster de cadena, pueden llevar a la ruptura y la eventual disolución del recubrimiento. Del mismo modo, los recubrimientos a base de hidrocarburos serán atacados por especies oxidantes fuertes.

Los termoplásticos amorfos serán generalmente solubles en disolventes orgánicos. Por esta razón los recubrimientos termoestables o reticulados son ampliamente utilizados donde se requiere resistencia a un amplio espectro de productos químicos.

En ausencia de un ataque químico directo o reacciones específicas, los recubrimientos reticulados serán insolubles en todos los disolventes. Sin embargo, ellos pueden ser hinchados por éstos solventes, lo que conduce al reblandecimiento o debilitamiento del recubrimiento. El grado de hinchamiento de un polímero reticulado depende de un número de factores de los cuales los dos más importantes son la densidad de reticulación y el nivel de interacción termodinámico entre el polímero y el disolvente.

Como consecuencia del hinchamiento del recubrimiento, se ejerce un esfuerzo de compresión sobre la interfaz adhesiva entre el recubrimiento y su sustrato, a través de deformaciones de dilatación. La interrupción de la interfaz también puede ocurrir si la

interacción solvente-sustrato es favorecida sobre la del polímero-sustrato. La absorción de solventes también bajará la Tg de un recubrimiento y, en este estado ablandado e hinchado, se verá afectada su resistencia mecánica.

Capítulo 2: Materiales, procesos y métodos de caracterización

2.1. MATERIALES

La Tabla 2.1, contiene la descripción de los reactivos que se utilizaron a lo largo del trabajo experimental de la presente Tesis Doctoral. Todos los reactivos se utilizaron como fueron recibidos sin ninguna purificación adicional. El agua empleada a lo largo de todo el trabajo fue destilada y desmineralizada (DDI).

Tabla 2.1. Descripción de los reactivos empleados durante el trabajo experimental.

Reactivo	Función	Proveedor	Pureza
Caseína	Biopolímero	Sigma	Grado técnico
Metacrilato de metilo (MMA)	Monómero	Aldrich	99%
Acrilato de n-butilo (n-BA)	Monómero	Aldrich	99%
Tert-butil hidroperóxido (TBHP)	Iniciador	Aldrich	70/30 TBHP/agua
Persulfato de potasio (KPS)	Iniciador	Mallinckrodt	99%
Lauril sulfato de sodio (SLS)	Emulsificante	Cicarelli	95%
Carbonato de sodio (Na ₂ CO ₃)	Regulador de pH	Cicarelli	Pro-análisis
n-Isopropil hidroxilamina (IPHA)	Inhibidor de radicales libres	Donado por Petrobras SA	Grado técnico
Azida de sodio (NaN ₃)	Agente antimicrobiano	Anedra	Grado analítico
Polivinil formal (formvar®)	Recubrimiento para grillas de microscopía	Fluka	Grado microscopía
Ácido acrílico (AA)	Agente Funcionalizante	Aldrich	99%
Glicidil metacrilato (GMA)	Agente Funcionalizante	Aldrich	97%
1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC)	Agente activante	Sigma-Aldrich	≥ 99%
Agua deuterada (D ₂ O)	Utilizado en ¹ H-RMN	Aldrich	≥ 99%
Butil glicol (BG)	Co-solvente	BASF	Grado técnico
Butil diglicol (BdG)	Co-solvente	BASF	Grado técnico
BYK 348	Agente humectante	BYK	Grado técnico
Surfynol CT-211	Agente humectante	Air Products	Grado técnico
BYK 028	Agente anti-espumante	BYK	Grado técnico
Tego 825	Agente anti-espumante	Evonik	Grado técnico

O-ftalaldehído (OPA)	Marcador fluorescente	Sigma	99%
Sodio tetraborato decahidratado (Na ₂ B ₄ O ₇ ·10H ₂ O)	Regulador de pH	Anedra	Grado analítico
β-mercaptoetanol	Reactivo para ensayo fluorimétrico	Fluka	≥ 99%
Etanol anhidro	Solvente	Cicarelli	99.9%
Glicina amino ácido	Patrón de calibración	Sigma	≥ 99%
Ácido fosfotúngstico (PTA)	Agente de tinción	Fluka	Grado microscopía
Acetato de Uranilo (UAc)	Agente de tinción	EMS	Grado microscopía
Metil etil cetona (MEK)	Solvente en la determinación de resistencia química de recubrimientos	Anedra	Pro-análisis
Benceno (Bz)	Solvente en la determinación de resistencia química de recubrimientos	AnalytiCals	Pro-análisis
Tetrahidrofurano (THF)	Solvente selectivo en la determinación del injerto acrílico	Cicarelli	Pro-análisis
	Eluyente en Cromatografía de Exclusión por Tamaños	J.T. Baker	Grado HPLC

2.2. PROCESOS

2.2.1. Polimerización en emulsión

En las Figuras 2.1a-b se muestran imágenes del sistema de reacción utilizado y del detalle del reactor. El sistema consta de un reactor encamisado de vidrio de 0.3 L, con agitación mecánica (IKA-WERK RW20), provisto de un condensador de reflujo, y tapa de acero inoxidable con entradas para carga del reactor, dosificaciones, toma de muestra y burbujeo de nitrógeno. La temperatura del medio de reacción se registra mediante una termoresistencia (Pt100) conectada a un controlador digital. Por la camisa del reactor circula agua proveniente de un baño termostático (Lauda E100) con el objeto de controlar la temperatura de reacción.

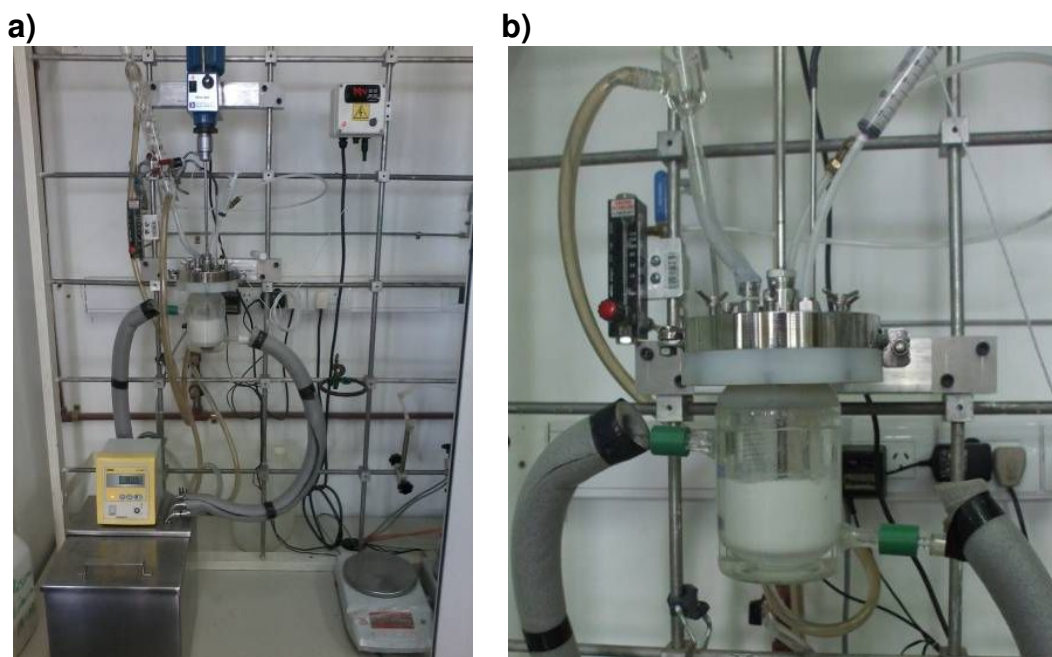


Figura 2.1. Fotografías del sistema de polimerización empleado. Sistema completo (a), y reactor con sus conexiones (b).

A continuación se detalla el procedimiento empleado para llevar a cabo las polimerizaciones. Primero, la caseína se disolvió en el reactor a una temperatura de 50 °C, en una solución acuosa de pH 11 conteniendo Na_2CO_3 como regulador. A pH mayor que 10, la solubilidad de la caseína es máxima y se reduce su capacidad de formar agregados debido a una disminución en la asociación de las macromoléculas por interacciones hidrofóbicas (Liu et al., 2004). La solución con la caseína disuelta se mantuvo bajo agitación a 200 rpm y burbujeo constante de nitrógeno. Luego la temperatura de la solución se aumentó a 80 °C y se procedió con la carga del monómero. Cuando se trabajó con el sistema n-BA/MMA, éstos fueron mezclados y agitados magnéticamente, antes de su adición. Una vez lograda la emulsión de los monómeros, se inyectó el iniciador hidroperóxido, considerándose ese momento como el inicio de la polimerización. Cuando el iniciador empleado fue KPS, éste se disolvió previamente en agua (parte del agua de la receta) y se inyectó al reactor una vez alcanzada la temperatura de polimerización. A lo largo del proceso se tomaron muestras a tiempos regulares, con el objeto de determinar la

conversión de monómeros y la evolución del diámetro de partícula (\bar{d}_p). El tiempo total de reacción fue de 2 o 3 h, según se especifique en cada caso. Finalmente la polimerización se detuvo inyectando al reactor 3 ml de IPHA, como inhibidor de radicales. La preservación de los látex se aseguró mediante la adición de un 0.1% p/p de azida de sodio, debido a que la caseína es fácilmente degradada por la acción de microorganismos.

Por otra parte, cuando no resultó necesario realizar un profundo estudio cinético del sistema, las polimerizaciones se llevaron a cabo en un “polimerizador de botellas”, el cual nos permite preparar simultáneamente hasta 8 reacciones con un volumen de 50 ml. Este fue el caso de la síntesis de látex de n-BA/MMA en ausencia de caseína (acrílicos puros, sintetizados con SLS y KPS como iniciador), que fueron utilizados con fines comparativos en el análisis de las propiedades finales de los látex híbridos. En la Figura 2.2 se muestran imágenes del “polimerizador de botellas” y de su interior, que fue desarrollado y construido durante la ejecución de la presente Tesis Doctoral.

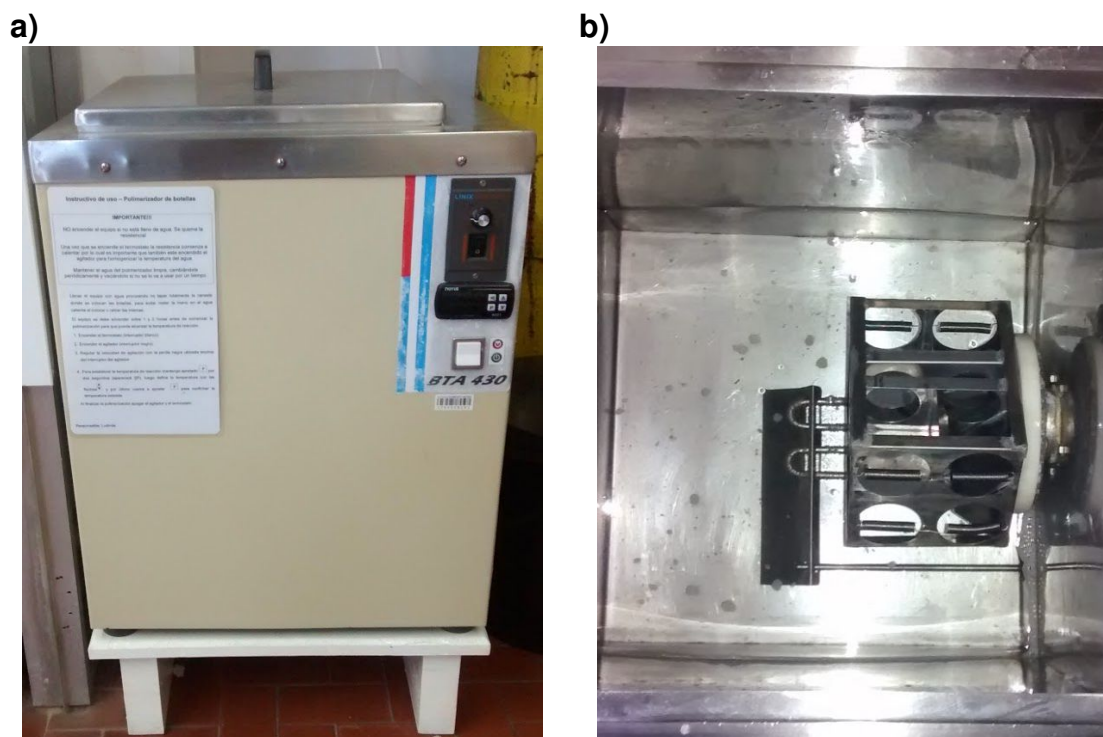
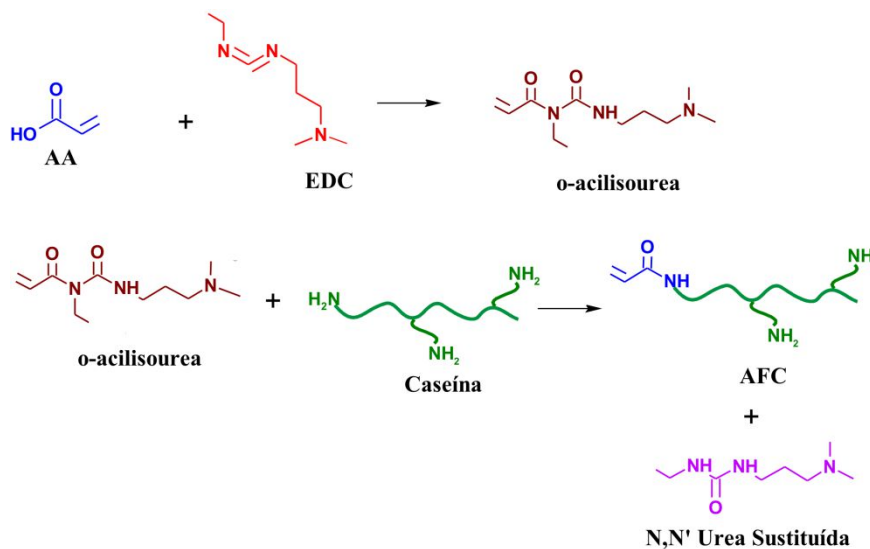


Figura 2.2. Fotografías del “polimerizador de botellas”. Cuerpo completo (a), y vista interior (b).

2.2.2. Funcionalización de la caseína

Con el propósito de controlar el grado de injerto de la caseína con el polímero acrílico, se investigó como estrategia la modificación química del biopolímero (funcionalización). Para ello, se consideraron dos alternativas de síntesis, las cuales consisten en la incorporación de dobles enlaces vinílicos en la cadena de proteína, de manera de obtener un biopolímero polimerizable por vía radicalaria. Las estrategias de funcionalización de la caseína involucran: i) la acrilación de la caseína con AA y EDC como activante de los grupos carboxilo del ácido; y ii) la metacrilación con GMA a través de la reacción directa entre sus grupos oxiranos y los aminos de la caseína. En la Figura 2.3 se representan esquemáticamente ambas estrategias de síntesis para la obtención de caseína funcionalizada (FC). Nótese que la FC, será denominada de aquí en más como AFC o MFC, según se trate de la modificación química con AA/EDC o GMA, respectivamente.

a)



b)

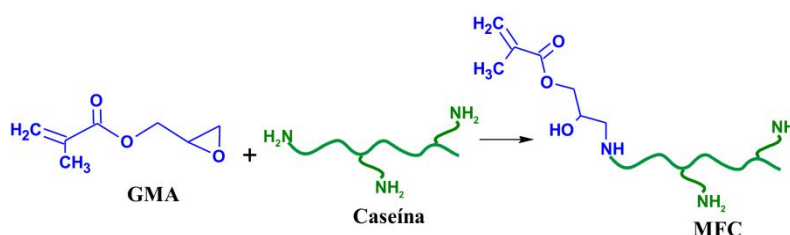


Figura 2.3. Representación esquemática de las rutas de síntesis de FC. Estrategias AA/EDC (a); y GMA (b).

2.2.2.1. Funcionalización con EDC/AA

La reacción entre grupos carboxilos y aminos, empleando una carbodimida como agente activante es ampliamente conocida y fue descrita por Khorana (1953). A continuación se detalla el procedimiento empleado en la presente Tesis. La caseína fue primero disuelta en el reactor, a temperatura ambiente y bajo agitación continua, en una solución acuosa de NaHCO_3 (pH 8). Luego la cantidad estequiométrica de AA, en relación a la cantidad de aminos a funcionalizar, fue adicionada al sistema (previamente disuelta en una pequeña fracción de la solución buffer de NaHCO_3). Este protocolo de adición del AA, pretende evitar el descenso del pH hasta el pI de la caseína, previniendo la coagulación de dicha proteína. Luego de unos pocos minutos de homogenización, se tomó una muestra para su caracterización por ^1H -RMN. Finalmente, se adicionó EDC al reactor (disuelta en parte del agua de la receta), en una relación EDC/AA igual a 2, y se dejó reaccionar por 24 h. Al finalizar la síntesis de la AFC, se tomó una muestra para su análisis por ^1H -RMN.

Se sintetizaron dos AFC, con 2 (AFC2) y 8 (AFC8) moléculas de AA por molécula de caseína (asumiendo un peso molecular promedio de la caseína de 30000 g/mol).

Una de las principales ventajas de los métodos de funcionalización en base acuosa, como el de la carbodiimida, es que la solución de proteína modificada puede utilizarse directamente en la reacción de polimerización, sin la necesidad de realizar ningún tipo de separación; a diferencia de lo que ocurre con las estrategias basadas en la síntesis orgánica (como por ejemplo el método del bromuro de cianógeno, que se realiza en trimetilamina). Así, la producción de los látex funcionalizados se realizó de manera continua a la etapa de funcionalización, siguiendo el procedimiento detallado en la sección 2.2.1.

2.2.2.2. Funcionalización con GMA

Shechter et al. (1954) han demostrado que la reacción entre grupos epóxidos y aminos ocurre espontáneamente a baja temperatura y se ve particularmente acelerada en medio acuoso. Esta sencilla reacción fue tomada como base para la síntesis de MFC y a

continuación se describe el procedimiento empleado. La caseína fue primero disuelta en el reactor, a 50°C y bajo agitación continua, en una solución acuosa de Na₂CO₃ (pH 11). En una segunda etapa se procedió a la adición de GMA y la mezcla reaccionante se mantuvo a 50°C por 4 h. Finalizado este período se prosiguió con la etapa de polimerización descrita en la sección 2.2.1. Para la caracterización de la MFC por ¹H-RMN se tomaron muestras al comienzo y al final de la reacción de funcionalización.

La síntesis de MFC tiene “a priori” la ventaja de que evita la formación de productos secundarios durante la reacción de funcionalización y que los tiempos empleados en dicho proceso son menores que los involucrados en la metodología AA/EDC.

2.3. MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN

2.3.1. Caracterización de los látex

2.3.1.1. Conversión de monómero por gravimetría

La conversión global de los monómeros acrílicos (x) durante las polimerizaciones, se determinó por gravimetría. Para ello, las muestras de látex, tomadas a distintos tiempos durante la reacción, se pesaron y secaron en estufa a 70 °C con circulación de aire hasta peso constante. En cada muestra (de aproximadamente 2 g), se detuvo la reacción por agregado de unas gotas de solución de IPHA al 1%. El peso de la muestra seca no sólo contiene la masa de polímero formado durante la reacción, sino también la de otros sólidos y compuestos no volátiles como iniciador, buffer y caseína. La conversión global se calculó mediante la siguiente expresión:

$$x = \frac{\text{peso muestra seca} - \text{peso de otros sólidos y comp. no volátiles}}{\text{peso inicial de los monómeros acrílicos}} \quad (2.1)$$

donde el término “peso inicial de los monómeros acrílicos” hace referencia a la masa de monómeros acrílicos al comienzo de la polimerización.

2.3.1.2. Tamaño medio de partículas por dispersión de luz dinámica

Los diámetros medios de partícula del látex (\bar{d}_p) se midieron a 30°C y a un ángulo de detección de 90°, en un fotómetro de dispersión de luz marca Brookhaven con un láser de He-Ne (632.8 nm) polarizado verticalmente, y un correlador digital (Modelo BI-2000 AT). Para evitar la dispersión múltiple, la concentración de las partículas se ajustó con agua deionizada hasta obtener alrededor de $1-2 \times 10^5$ cuentas/s.

El cálculo de \bar{d}_p se basó en el método de los cumulantes cuadrático (Koppel, 1972), a partir de las funciones de autocorrelación medidas.

El número de partículas por litro de látex (N_p) se calculó a partir de los datos de x y de las mediciones de \bar{d}_p (nm) por DLS, a través de la ecuación 2.2.

$$N_p = \left(\frac{m x}{W} \right) \left(\frac{\rho_w}{\rho_p} \right) \left(\frac{6 \times 10^{24}}{\pi \bar{d}_p^3} \right) \quad (2.2)$$

donde m (g) es la masa de monómero en la receta, W (g) es la masa de látex, ρ_w (g/cm³) es la densidad estimada del látex y ρ_p (g/cm³) es la densidad del polímero. Es importante remarcar que el cálculo de N_p con la ecuación 2.2 presenta cierta incertidumbre debido a que para la determinación de la misma i) se consideró partículas monodispersas en tamaño, ii) se adoptó las mediciones en base a la intensidades obtenidas por DLS como \bar{d}_p ; y iii) no se tuvo en cuenta el hinchamiento de las partículas por el monómero residual (aunque este efecto es menor, debido a la elevada dilución requerida para la medición por DLS).

2.3.1.3. Tensión superficial del látex

Es conocido el hecho de que la caseína, por ser una molécula anfifílica, forma agregados micelares en medio acuoso. Una forma de determinar la presencia de éstas micelas es a través de la tensión superficial (γ) del látex y su comparación con la curva de mediciones de γ de la caseína. La Figura 2.4 muestra una curva típica de γ de una solución

acuosa de un emulsificante convencional en función del logaritmo de la concentración del mismo.

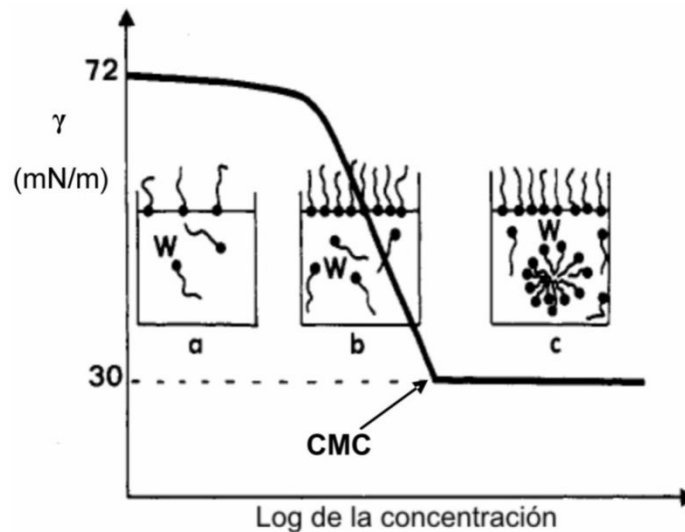


Figura 2.4. Curva esquemática de la tensión superficial de una solución de un emulsificante en función de su concentración.

Como se puede observar, γ del agua pura es 72.8 mN/m. En la medida que aumenta la concentración de emulsificante, γ disminuye hasta alcanzar un valor constante, correspondiente a la concentración micelar crítica (CMC). Una vez que la solución alcanza la CMC, el emulsificante adicional forma micelas y no se encuentra disuelto, motivo por el cual γ no continúa descendiendo. Por lo tanto, midiendo γ de un látex o solución es posible determinar si la concentración de emulsificante libre en la fase acuosa es baja (región a de la Figura 2.4), cercana a la CMC (región b) o existe la presencia de micelas (región c).

Las mediciones se realizaron con un tensiómetro de anillo Krüss K8. El método involucra un anillo de platino que se eleva lentamente desde la superficie del líquido (Figura 2.5). La fuerza, F , necesaria para elevar el anillo desde la superficie, en el punto donde éste se desprende del líquido, se mide y se relaciona con γ del líquido, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$F = 2\pi (r_i + r_e) \gamma \quad (2.3)$$

donde r_i y r_e son los radios interno y externo, respectivamente, del anillo.

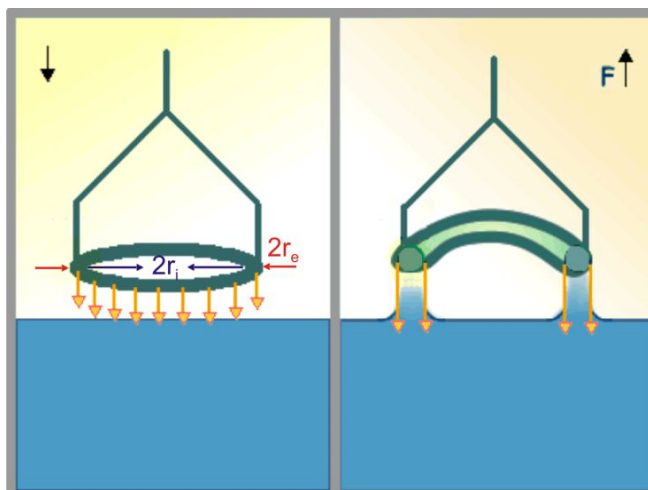


Figura 2.5. Imagen esquemática de la medición de tensión interfacial a través del método del anillo.

Antes de medir la tensión superficial del látex, el anillo fue lavado y quemado hasta su incandescencia con mechero de alcohol etílico, para eliminar todo tipo de impurezas que puedan interferir sobre la medición. Previo a cualquier medición, se comprobó el estado del anillo midiendo la tensión superficial de agua desmineralizada, la cual debe ser muy cercana a 72.8 mN/m.

De este modo, se confeccionó la curva de γ con la concentración de caseína, en solución acuosa, a fin de determinar su CMC y compararla con los resultados de las mediciones de los látex y soluciones de reacción. A tal efecto, se prepararon soluciones acuosas de caseína con diferentes concentraciones, y se midieron las tensiones superficiales de cada una a 25 °C. El gráfico γ vs. la concentración de caseína obtenido, se muestra en la Figura 2.6. Luego se determinó la CMC y la tensión superficial correspondiente a esta concentración, como el punto donde se cortan las dos líneas rectas que corresponden a las pendientes de la curva antes y después de la CMC. Note que los valores de CMC y γ_{CMC} para la caseína resultaron 0.1 mg/ml y 55.5 mN/m respectivamente, en comparación a 2.6 mg/ml y 33.5 mN/m de un típico surfactante iónico como el SLS, indicando un menor poder emulsificante por parte de la proteína.

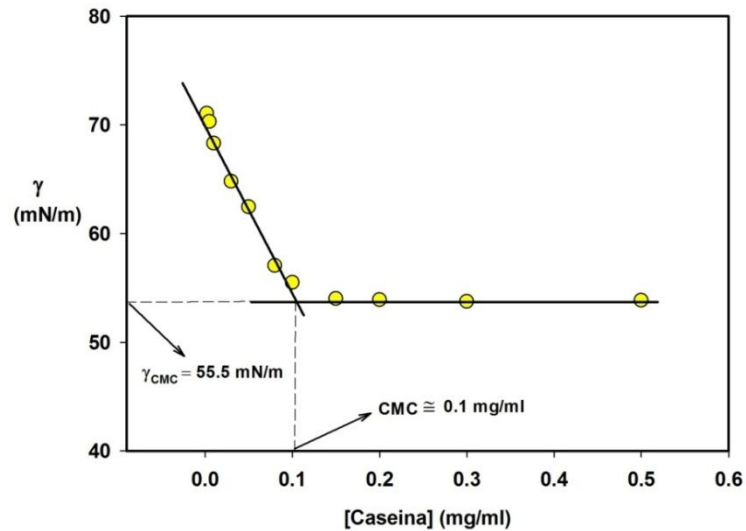


Figura 2.6. Curva de tensión superficial (γ) vs concentración de caseína en solución acuosa.

2.3.1.4. Distribución de tamaños de partícula por fraccionamiento hidrodinámico capilar

Silebi y Dos Ramos (1989) propusieron separar partículas coloidales sub-micrométricas a través del flujo generado en tubos capilares abiertos. Esta técnica se denomina Fraccionamiento Hidrodinámico Capilar (CHDF), e implica la separación por tamaños de una muestra de látex en un tubo capilar sin relleno. La Figura 2.7 esquematiza el principio de fraccionamiento en un equipo CHDF. El eluyente adopta un flujo laminar (o Poiseuille) con perfil parabólico, el cual es más lento cerca de la pared del tubo con respecto de su centro. Las partículas introducidas en este sistema de flujo laminar se difunden al azar debido a su movimiento browniano. La difusión radial lleva las partículas a diferentes zonas de velocidad axial. Las partículas más grandes, son menos capaces de acercarse a la pared del capilar, y se mueven en las líneas de corriente más rápidas, eluyendo más temprano que las pequeñas; mientras que las partículas pequeñas pueden difundir más cerca de las paredes del capilar, a una distancia mínima definida por su radio. Por lo tanto, se consigue una separación física de acuerdo con el tamaño de partícula, eluyendo en orden decreciente de tamaños. Para suprimir la influencia de las fluctuaciones de presión o temperatura, después de la inyección de la muestra, se introduce un marcador cuyo tiempo de elución se toma como referencia.

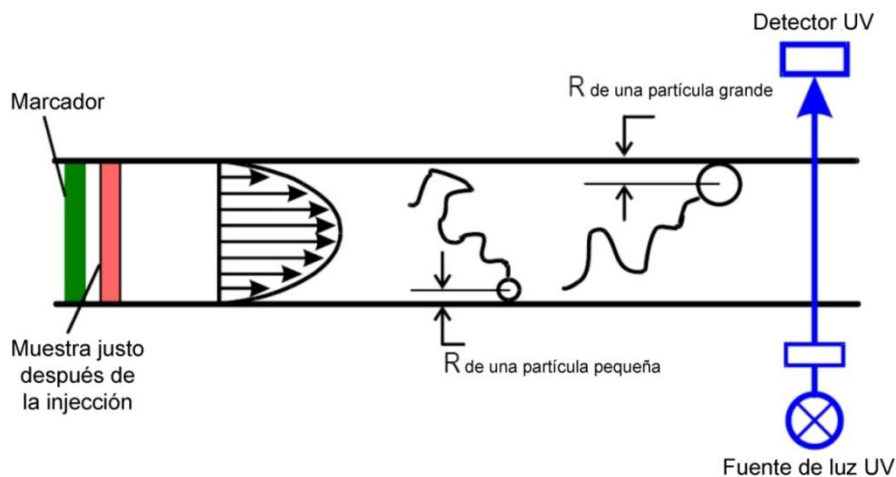


Figura 2.7. Esquema del principio de fraccionamiento por tamaños de un equipo CHDF.

Para llegar a una separación efectiva, el diámetro interno del capilar debe ser de sólo unos pocos diámetros de partícula. Dependiendo del diámetro del capilar, la técnica de CHDF es capaz de fraccionar partículas de 10 nm a 1000 nm, requiriéndose de un tiempo de análisis de aproximadamente 20 minutos.

Para evitar interacciones indeseables entre partículas o de éstas con las paredes del capilar, el eluyente debe ser un emulsificante adecuado y de baja fuerza iónica. Los equipos comerciales de Matec Applied Sciences (único fabricante de CHDF) emplean un eluyente de su propiedad, que consiste en una solución de emulsificantes y agua doblemente desionizada.

En CHDF, cada fracción eluida se detecta mediante un sensor de turbidez basado en UV (normalmente a una sola longitud de onda de 220 nm o 254 nm). La técnica de CHDF es relativa, requiriéndose del empleo de una curva de calibración obtenida sobre la base de estándares estrechos de diámetros medios conocidos. Una curva de calibración típica se representa mediante un gráfico del diámetro de partícula (de cada patrón de calibración) en función de su factor de separación $R_f = t_0/t_p$ (Figura 2.8), donde t_0 es el tiempo de retención promedio del fluido portador, definido por el pico de la señal del marcador, y t_p es el tiempo de elución que corresponde al pico del estándar de calibración. Para realizar la calibración, se inyectan un número finito de estándares, que cubren la gama submicrónica. La

calibración permite la transformación del eje de R_f (o del tiempo de elución) de una muestra desconocida en el eje de diámetros de la distribución de tamaños de partículas (PSD). Luego, la señal de turbidimetría se transforma en fracción en número (o masa) de partículas, siguiendo un procedimiento que requiere del empleo de la teoría de dispersión de luz de Mie (Clementi et al., 2014; Mie, 1908).

Para efectuar las estimaciones de las PSD de los látex sintetizados, las mediciones se llevaron a cabo en un equipo CHDF2000 (Matec Applied Science), con diluciones de los látex al 0.5 - 1% de sólidos. Para ello, se realizó la calibración representada en la Figura 2.7 con 6 látex patrones de poliestireno (PS), con diámetros medios de partícula entre 54 y 456 nm.

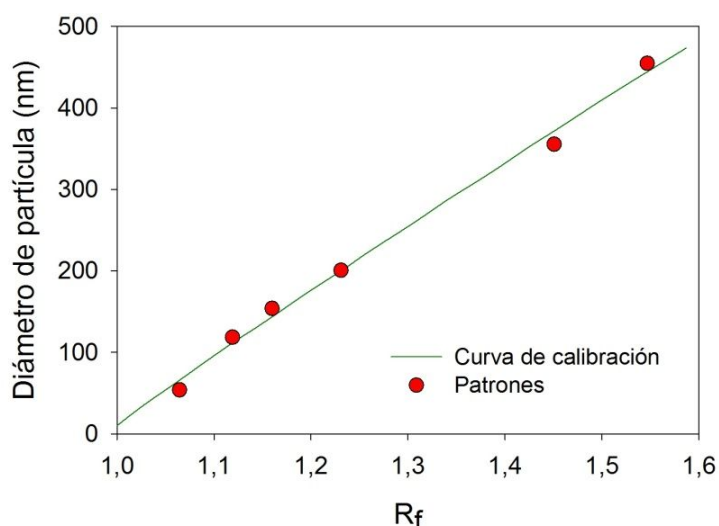


Figura 2.8. Curva de calibración para las mediciones por CHDF obtenida con 6 patrones angostos de PS con diámetro de partículas de 54, 119, 154, 201, 356, 456 nm.

2.3.1.5. Estudios reológicos de látex híbridos

El comportamiento reológico de los látex sintetizados con diferentes contenidos de caseína, fue estudiado mediante ensayos oscilatorios en un reómetro HAAKE RheoStress RS80, perteneciente al Grupo de Ingeniería en Alimentos y Biotecnología del INTEC. Para ello, se llevaron a cabo barridos de frecuencia desde 0.01 a 10 Hz, a una tensión constante

de 1 Pa y a una temperatura de 22 °C. La geometría utilizada fue cono-plato de diámetro 60 mm con una distancia de separación de 0.052 mm.

2.3.2. Caracterización de la microestructura molecular de las nanopartículas

La microestructura de un material polimérico se determina por las características moleculares y morfológicas del polímero en sí mismo, la forma en la que es procesado y los aditivos utilizados para su formulación. Las características moleculares del polímero incluyen la composición química, la distribución de secuencia monomérica (MSD), la distribución de pesos moleculares (MWD), la arquitectura del polímero, los grados de injerto y la morfología (Asua, 2007). En el caso de materiales híbridos, particularmente los grados de injerto de los componentes involucrados, tienen una importante influencia sobre sus propiedades de uso final. Por esta razón, la microestructura molecular del sistema acrílico-caseína, se caracterizó principalmente por las fracciones de proteína y acrílico injertadas.

2.3.2.1. Eficiencia de injerto acrílico

La eficiencia de injerto acrílico (AGE) se define como la fracción de polímero que se encuentra químicamente unido a cadenas de caseína. Para la determinación de AGE se propuso una técnica de fraccionamiento mediante extracción selectiva con THF. Esta técnica se basa en el hecho de que el copolímero híbrido y la caseína resultan insolubles en THF, mientras que el homopolímero acrílico (en ausencia de gel) es completamente soluble en dicho solvente.

De esta manera, la AGE puede ser fácilmente determinada mediante extracción por Soxhlet, como se esquematiza en la Figura 2.9. Para ello, aproximadamente 0.5 g de polímero seco se colocó en un cartucho construido con papel de filtro de peso conocido y previamente secado en estufa a 70 °C. La extracción por Soxhlet se realizó durante 24 h bajo recirculación continua del solvente. Después de este período, el cartucho que contiene la fracción insoluble, se retiró del Soxhlet, se secó en estufa a 70 °C y se registró su peso. Por otra parte el extracto contenido en el balón fue utilizado para la determinación de los

pesos moleculares del polímero soluble, mediante cromatografía de exclusión por tamaños (SEC, sección 2.3.2.3). Finalmente, la AGE expresada en % p/p se calculó como la relación entre la masa de polímero acrílico injertado (peso insoluble de la muestra – peso de caseína en la muestra) y la masa total de monómeros acrílicos polimerizados, de acuerdo con la ecuación 2.4.

$$\text{AGE (\%)} = \frac{\text{Peso del acrílico injertado}}{\text{Peso del acrílico total polimerizado}} \times 100 \quad (2.4)$$

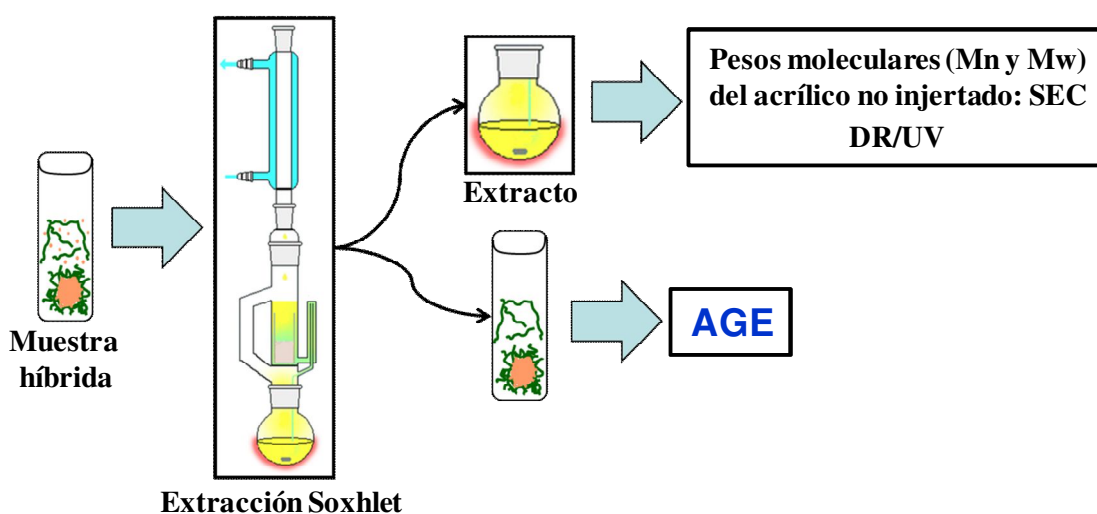


Figura 2.9. Determinación de la AGE. Esquema del método de extracción por Soxhlet.

Como se mencionó en la sección 1.4.2. del capítulo anterior, cuando se utiliza n-BA en la síntesis de copolímeros híbridos, existe una cierta fracción de homopolímero insoluble (gel) presente en el látex y esto es un hecho importante a tener en cuenta al momento de evaluar la microestructura molecular del polímero híbrido. Claramente, cuando se trata n-PBA, su completa solubilidad en solventes convencionales no puede ser asegurada y por lo tanto, la técnica de extracción selectiva antes descrita puede conducir a resultados erróneos.

Por otra parte, la existencia de una cierta fracción de gel en los materiales híbridos, es en algún grado beneficioso para sus propiedades mecánicas. Por ejemplo, Czlonkowska-Kohutnicka y Razszczuk (1975) encontraron que cuanto mayor es el contenido de gel en el

látex, mayor es la rigidez o tenacidad de la película obtenida a partir del mismo. Sin embargo, altos contenidos de gel pueden tener una influencia negativa sobre la elongación del material. Por lo tanto, la fracción global de material insoluble (IF) en THF, es decir “gel acrílico + copolímero acrílico/caseína + caseína libre”, puede ser un parámetro de importancia al momento de evaluar el desempeño mecánico de los nanocompuestos. Por esta razón, aún en los sistemas en los que se utilizó n-BA, la extracción con THF esquematizada en la Figura 2.9 fue realizada, calculándose la IF (Ec. 2.5) que no solo contiene al acrílico injertado, sino también una cierta fracción de homopolímero insoluble y toda la caseína de la muestra (libre e injertada).

$$IF (\%) = \frac{\text{Peso de muestra insoluble (gel, polímero de injerto, caseína)}}{\text{Peso total de la muestra}} \times 100 \quad (2.5)$$

Para analizar la importancia del gel acrílico producido en la polimerización en emulsión en presencia de n-BA, se compararon las IF obtenidas a partir de un copolímero acrílico puro (n-BA/MMA: 80/20, producido en ausencia de caseína y utilizando SLS como emulsificante), y un material híbrido homólogo en composición monomérica y conteniendo 25 partes por cien de monómero de caseína (pphm) de caseína. La Figura 2.10 muestra que el contenido de gel del acrílico puro resultó 40%, mientras que la IF del copolímero acrílico-caseína fue 85%.

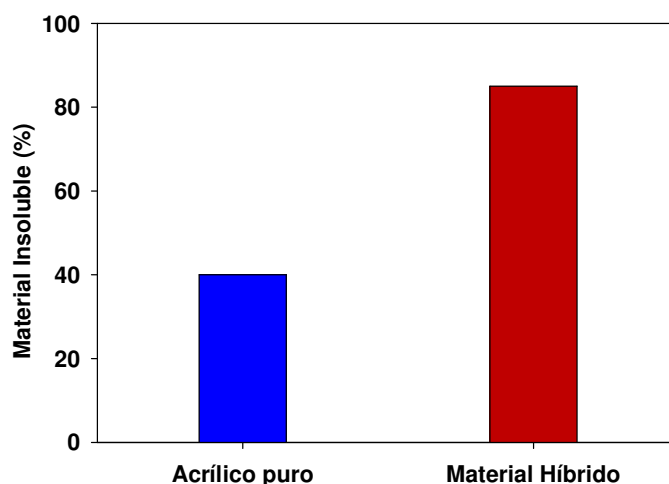


Figura 2.10. Porcentaje de material insoluble para acrílico puro (n-BA/MMA: 80/20) y material híbrido de acrílico/caseína.

Estos resultados confirman que la IF determinada en la muestra híbrida contiene el aporte del gel acrílico, que podría o no formar parte del copolímero de injerto, más la caseína total (unida al polímero acrílico o libre).

2.3.2.2. Eficiencia de injerto de caseína

La eficiencia de injerto de caseína (CGE) se define como la fracción de proteína unida químicamente al polímero acrílico. Cabe destacar que en la literatura no había sido reportado ningún método, que permitiera cuantificar el grado de injerto de caseína en látex híbridos. Por lo tanto, fue necesario desarrollar una técnica ad-hoc (Picchio et al., 2014), la cual se detalla a continuación.

El procedimiento para determinar la CGE involucró la separación de la caseína no injertada, aplicando un procedimiento de múltiples centrifugaciones y redispersiones como sigue: i) el látex se diluyó al 1% de sólidos (sc) y fue centrifugado con una fuerza relativa de centrifugación de 25000g durante 4 h; y ii) el sobrenadante se separó y el “pellet” se redispersó en una solución de SLS al 1% p/p bajo agitación por 24 h, para promover la desorción de la caseína no injertada de la partícula. El procedimiento de centrifugación/separación/redispersión se repitió varias veces, hasta no detectar caseína en el sobrenadante.

Todos los sobrenadantes de cada paso de centrifugación y redispersión se analizaron por espectroscopia de absorbancia UV y la concentración de caseína sin injertar se obtuvo combinando el área de su pico característico a 280 nm, con una calibración de concentración de la caseína. En la Figura 2.11 se muestra un espectro característico de la caseína (a) y las calibraciones de concentración obtenidas en H₂O (b, utilizada para procesar los sobrenadantes de los látex) y en una solución al 1% de SLS (c, utilizada en el análisis de los sobrenadantes obtenidos de las desorciones).

Finalmente, el peso de caseína injertada se obtuvo como la diferencia entre la caseína cargada y la no injertada determinada a partir del análisis de los sobrenadantes; y la CGE fue expresada de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\text{CGE (\%)} = \frac{\text{Peso de caseína injertada}}{\text{Peso de caseína cargada}} \times 100 \quad (2.6)$$

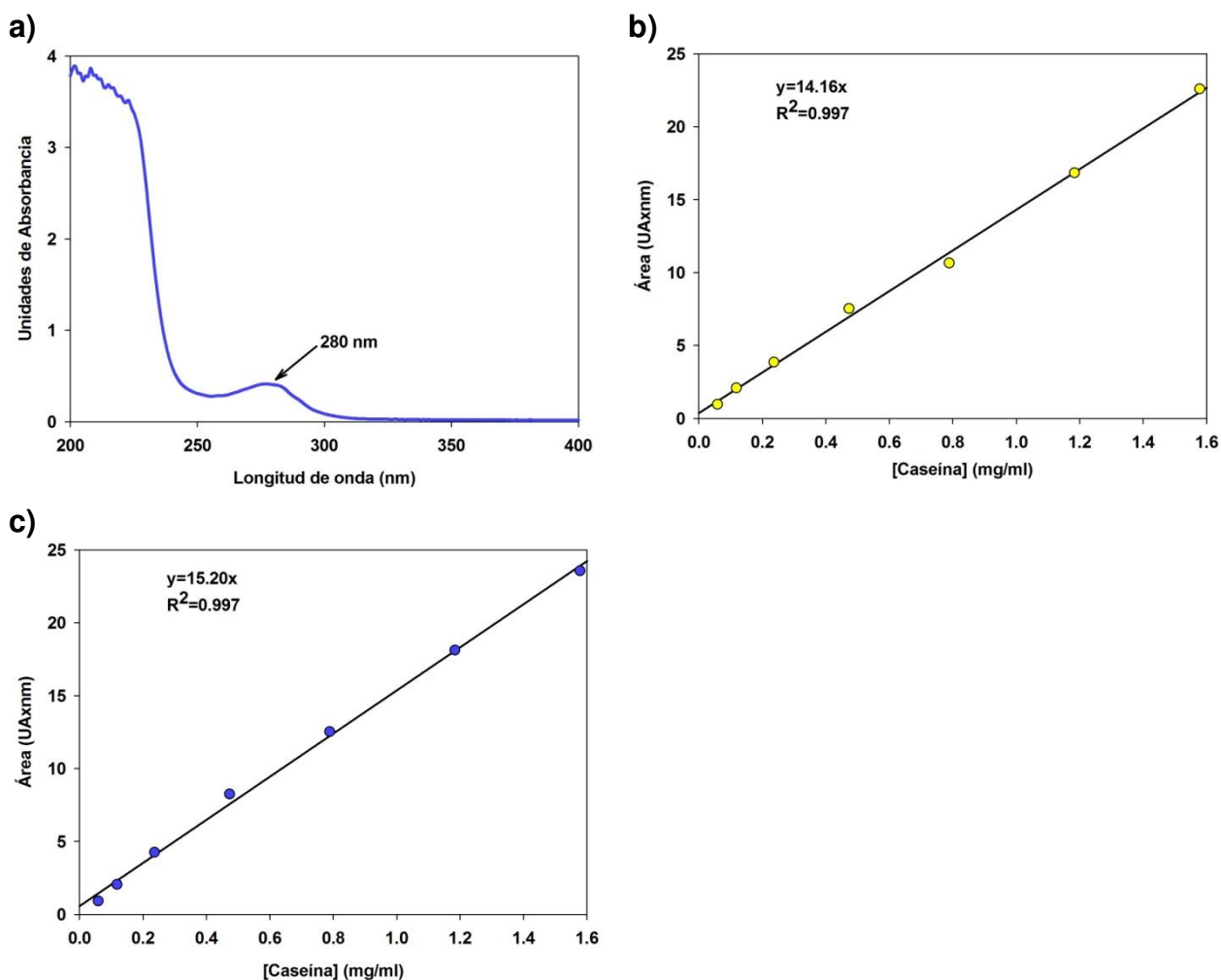


Figura 2.11. Espectro UV característico de la caseína (a) y curvas de calibrado en H₂O (b) y en solución al 1% de SLS (c) utilizadas para la determinación de la CGE.

Vale la pena destacar que luego de la síntesis de FC (sección 2.2.2 del presente capítulo) se realizó una calibración con ésta proteína funcionalizada, con el objeto de determinar si la incorporación de grupos vinílicos a su cadena, modificaba el espectro característico de absorción, asegurando así una correcta determinación de CGE. Se tomó

como caso de estudio una MFC, con una relación de dobles enlaces/caseína igual a 40. Como resultado, no se encontraron diferencias apreciables entre los espectros UV de la caseína nativa y de la MFC.

Por otra parte, se llevó a cabo un análisis de sensibilidad de la técnica de CGE, con el objeto de determinar la interferencia de las partículas poliméricas, que pueden estar presentes en el sobrenadante, sobre el espectro de absorción UV y del valor de CGE determinado. Para ello, una cantidad creciente de partículas (expresada en volumen de látex al 0.2% sc) fue adicionada a 2 ml de una solución de caseína de 0.5 mg/ml. En la Figura 2.12.a se muestran los espectros de la solución de caseína obtenidos con cantidades de látex adicionado que van desde 0 a 300 μl .

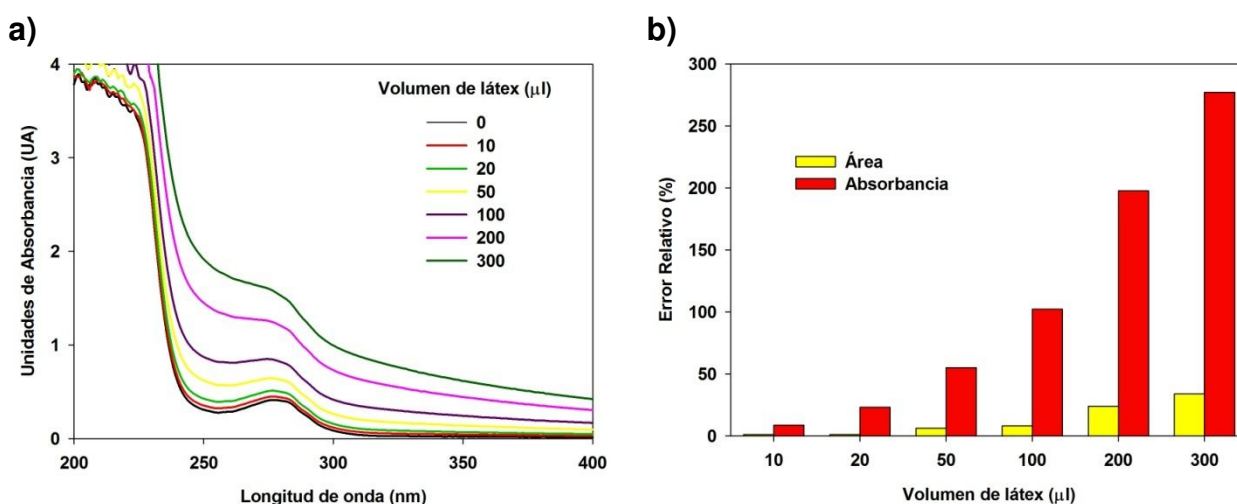


Figura 2.12. Análisis de sensibilidad de la técnica de CGE (a) y error relativo en la determinación de CGE empleando área o absorbancia para el cálculo.

Como puede verse en la Figura 2.12.a, la contaminación con partículas de látex produjo un notable incremento en el valor de la absorbancia a 280 nm, reduciéndose además el área del pico de absorción, correspondiente al intervalo 250-300 nm. De ésta manera, el error introducido por la presencia de partículas poliméricas, en la determinación del área de absorción, varió desde un 1% hasta un 34% para una contaminación de partículas de látex de 10 y 300 μl , respectivamente (Figura 2.11.b). Además, la Figura 2.12.b muestra

claramente que el error relativo introducido en la determinación de CGE, cuando se empleó el valor de la absorbancia a 280 nm para el cálculo, fue considerablemente mayor que cuando se utilizó el área bajo el pico de absorción para tal fin. Estos resultados confirman que la utilización del área del pico a 280 nm es el parámetro más adecuado para el cálculo de CGE. Por otra parte, el análisis de sensibilidad nos indica que una mala separación del sobrenadante, puede conducir a grandes errores en exceso en el valor de CGE. Este hecho puede ser notable en aquellos polímeros con una densidad muy similar a la del agua, lo cual dificulta enormemente la precipitación de las partículas, contaminando de esta forma el sobrenadante.

2.3.2.3. Pesos moleculares

Las MWD y los pesos moleculares medios en número (\overline{M}_n) y en masa (\overline{M}_w) de los polímeros acrílicos, obtenidos de la extracción con THF, se determinaron por SEC. Las mediciones se llevaron a cabo en un cromatógrafo Waters 1515, equipado con un refractómetro diferencial (DR, Waters 2414), un fotómetro UV a 254 nm (Waters 440), y dos columnas de poli(St/DVB) (HR 4E y HR5E de Waters Corp.) con rango de fraccionamiento entre 10^3 y 10^7 g/mol. Para la calibración se empleó un conjunto de 9 patrones angostos de PS (Shodex) en el rango de $10^3 - 10^6$ g/mol. Como eluyente se utilizó THF.

2.3.3. Caracterización de la caseína funcionalizada (FC)

La ocurrencia de la reacción de funcionalización, así como su eficiencia, para ambas estrategias de funcionalización (AA/EDC y GMA), fue analizada mediante $^1\text{H-RMN}$ y el método del o-ftalaldehído (OPA).

2.3.3.1. Resonancia magnética nuclear de protones ($^1\text{H-RMN}$)

Los espectros de $^1\text{H-RMN}$ de las soluciones acuosas fueron obtenidos con un espectrómetro Bruker de 300 MHz, utilizando la secuencia WATERGATE para suprimir la señal del agua.

En el caso de la funcionalización con AA/EDC, antes del análisis por ^1H -RMN, las muestras fueron sometidas a varias etapas de centrifugación y redispersión, empleando un filtro para centrífuga de peso molecular de corte de 3000 g/mol (Merk-Millipore, Amicon Ultra 4 ml), el cual retiene la proteína y permite eliminar las moléculas más pequeñas como el AA sin reaccionar, el EDC sin consumir y todos los residuos de la reacción de funcionalización. La diálisis fue repetida hasta que las señales características del EDC a 0.92, 1.70, 2.62, 2.88 ppm no fueron evidenciadas en los espectros. De esta manera, la señal característica del AA observada en el espectro de la AFC, corresponde únicamente a aquel químicamente unido a la proteína. En la Figura 2.13 se muestra el espectro de AFC antes de ser dializada.

Cuando la funcionalización fue llevada a cabo empleando GMA, no se realizó ninguna purificación sobre las muestras, evaluándose la ocurrencia de la reacción por la desaparición de las señales características del oxirano a 2.6, 2.8 y 3.2 ppm.

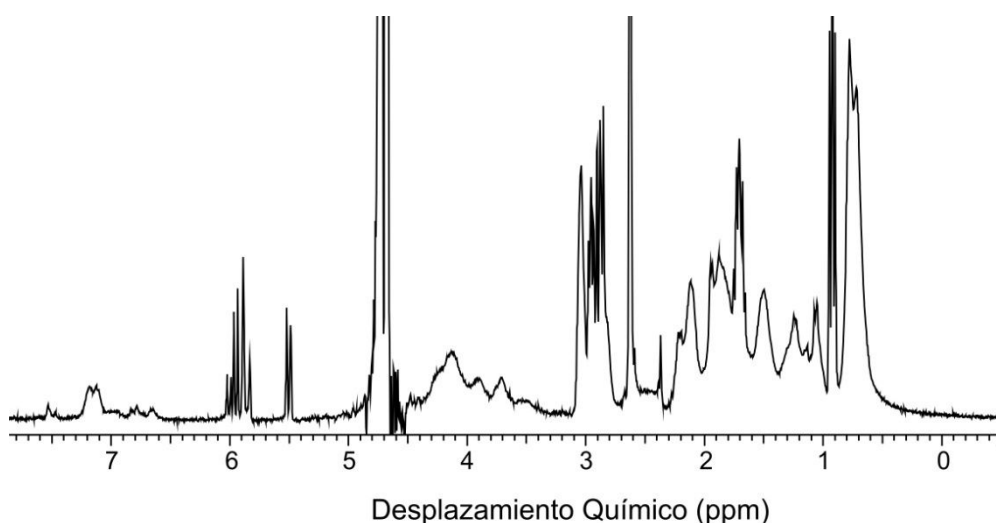


Figura 2.13. Espectro ^1H -RMN de la AFC obtenido a partir de la muestra no dializada.

2.3.3.2. Determinación del porcentaje efectivo de dobles enlaces incorporados a la FC:

Método del o-ftalaldehido (OPA).

El método del OPA consiste en la reacción de este compuesto con los grupos aminos primarios de la caseína para formar 1-alkiltio-2-alkil isoindoles sustituidos, los cuales resultan altamente fluorescentes, mostrando una banda de absorción a 340 nm (Morales et

al., 1995; Vigo et al., 1992; Svedas et al., 1980). Esta reacción fue llevada a cabo en presencia de β -mercaptoetanol, a pH 9.5 y a temperatura ambiente. Para el análisis, 100 ml de muestra (1% p/p de FC) fueron mezclados con 2 ml de reactivo OPA recién preparado (80 mg de OPA en 2 ml etanol absoluto, 50 ml de solución de borato de sodio 0.1M, pH 10, 5 ml de solución de SLS al 20% p/p, y 0.2 ml de β -mercaptoetanol y llevado hasta 100 ml con agua deionizada). Se midió la absorbancia de la FC (A_{FC}) a 340 nm en relación a aquella para caseína nativa (A_{NC}), mediante espectroscopía UV. La concentración de grupos aminos se determinó sobre la base de las mediciones de absorbancia y una constante de calibración (k), que relaciona la absorbancia con la concentración de aminos, obtenida con glicina como estándar.

Luego, el porcentaje de dobles enlaces vinílicos unidos por molécula de caseína se calculó según:

$$\text{Dobles enlaces unidos por molécula de caseína (\%)} = \frac{(A_{NC} - A_{FC})}{k \times [AF]} \times 100 \quad (2.7)$$

donde $[AF]$ es la concentración de agente funcionalizante (AA o GMA) empleada en la reacción.

2.3.4. Morfología de las nanopartículas por microscopía electrónica de transmisión

Para determinar la morfología de las partículas de látex se empleó microscopía electrónica de transmisión (TEM) de campo claro. Las imágenes se obtuvieron con un microscopio TECNAI G2 20 TWIN (200kV, LaB6) de la Universidad del País Vasco, San Sebastián (España).

Para la observación de los látex híbridos conteniendo caseína, las muestras fueron diluidas (0.01%) y teñidas positivamente en fase líquida con una solución al 1% en peso de ácido fosfotúngstico (PTA) o acetato de uranilo (UAc). Ambos agentes reaccionan con los grupos amino de la caseína, y durante la observación, la fase proteica aparece de color

oscuro ya que el tungsteno y/o el uranio bloquean el paso del haz de electrones (Smith y Bryg, 2006; McMahon et. al, 2008). Luego, se colocó una gota del látex diluido y teñido sobre una rejilla de cobre cubierta con polivinil formal (Formvar®), y se dejó secar a temperatura ambiente. Las micrografías se tomaron en distintas zonas de la rejilla y a diferentes magnificaciones, dependiendo del tamaño de partícula.

2.3.5. Caracterización de los materiales

Para realizar las caracterizaciones que se describen a continuación, las películas fueron obtenidas secando el látex en moldes de silicona, a una temperatura de 22 °C y humedad del 55%, durante 7 días. El espesor de las películas fue en todos los casos alrededor de 1 mm.

2.3.5.1. Caracterización de la morfología de los materiales por microscopía de fuerza atómica (AFM)

La morfología de las películas se caracterizó mediante AFM en modo contacto intermitente o “Tapping”. En esta técnica, una palanca flexible (“cantilever”) con una punta de 10-30 nm de radio en su extremo (“tip”), se emplea para barrer la superficie de la película. El “cantiléver” está compuesto de silicio o nitrito de silicio. Éste recibe una excitación de oscilación por parte de un componente piezoeléctrico. Por medio de un láser se apunta hacia él y la detección de su reflejo, genera una señal de oscilación real del “cantilever”. La Figura 2.14.a esquematiza el funcionamiento del equipo de AFM.

A medida que la punta se aproxima a la superficie de la muestra se generan fuerzas de Van der Waals entre la punta y el material de ensayo. La amplitud, fase y frecuencia de resonancia de la oscilación se modifican debido a dichas fuerzas de interacción. Esos cambios en la oscilación real, con respecto a la oscilación de excitación, proveen información acerca de las características del material. Generalmente, la muestra se coloca en un portamuestra piezoeléctrico que puede desplazarse en las tres direcciones espaciales: el movimiento en z empleado para mantener la fuerza constante, y el

movimiento en xy para realizar el barrido a lo largo de la superficie. El mapa resultante de z en el área de la muestra, $f(x,y)$, representa la topografía de la misma.

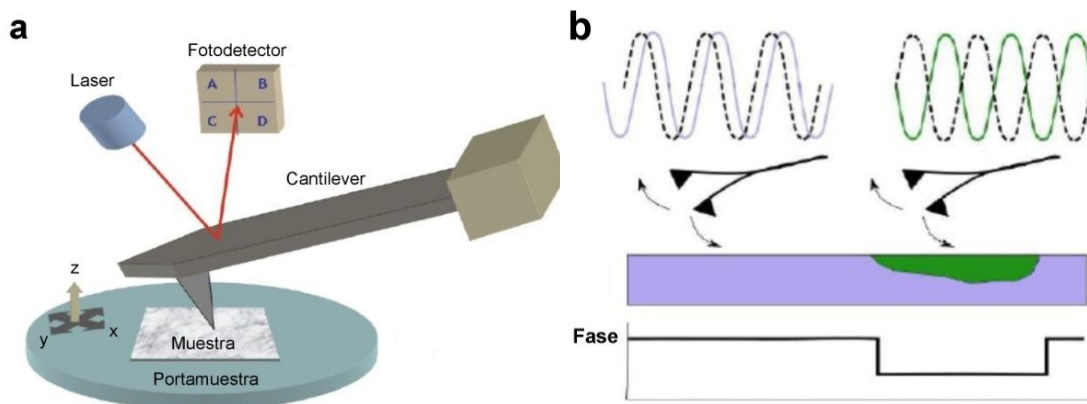


Figura 2.14. Representación esquemática del equipo de Microscopía de Fuerza Atómica (AFM) (a), y su funcionamiento en modo fase (b).

Adicionalmente, la variación en la fase de la oscilación del cantiléver con respecto a la aplicada externamente por el piezoeléctrico es, al menos parcialmente, una función de las propiedades viscoelásticas de la superficie (Figura 2.14b). Este tipo de información se muestra en un modo secundario que deriva del modo “Tapping”, y que se denomina imagen de fase, lo que da una idea de las propiedades del material o de su composición.

Otra herramienta que resulta particularmente útil para el estudio morfológico en modo “Tapping” es el análisis de rugosidad que se desprende del procesamiento de las imágenes topográficas. La rugosidad superficial podría tener una influencia directa en las propiedades ópticas de los materiales híbridos. En este sentido, la rugosidad RMS de un material se define como la desviación estándar de las medidas de altura, adquiridas en las imágenes topográficas, de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\text{RMS} = \sqrt{\frac{\sum_{i,j} (a_{i,j} - \langle a \rangle)^2}{N}} \quad (2.8)$$

donde $\langle a \rangle$ es el valor promedio de la altura, $a_{i,j}$ el valor real de altura y N el número de puntos dentro del intervalo.

Una variación muy utilizada del modo de contacto intermitente, es el modo "Jumping" el cual permite obtener información cualitativa acerca de algunas propiedades nanomecánicas de la muestra, tales como su adhesión y rigidez. A diferencia del modo "Tapping", en donde el "tip" oscila a una distancia atómica de la superficie de la muestra, en el modo "Jumping" el "tip" barre un determinado número de puntos de la superficie, realizando en cada uno de ellos una curva de Fuerza-Distancia según se esquematiza en la Figura 2.15.

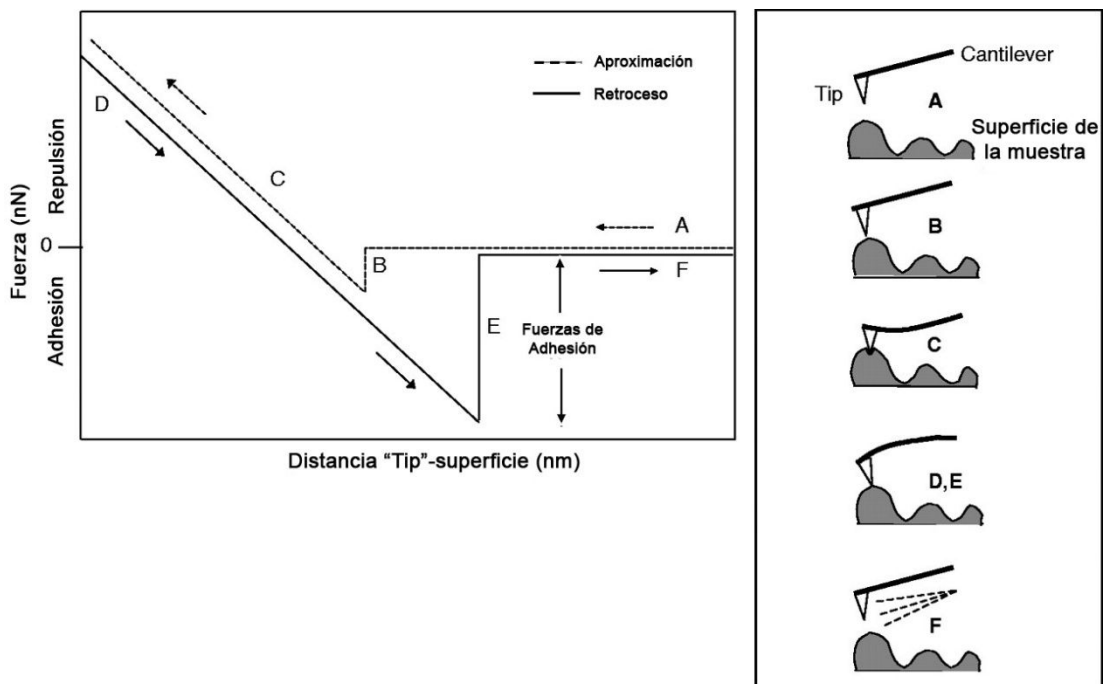


Figura 2.15. Curva característica de Fuerza-Distancia generada en modo "Jumping".

En el punto A de la Figura 2.15, el "tip" se aproxima a la superficie de la muestra hasta una distancia tal que las fuerzas atractivas (usualmente fuerzas de Van der Waals y fuerzas capilares) superan la constante de resorte del "cantilever" y el "tip" entra en contacto con la muestra (B). Continuando el avance, el "tip" penetra una cierta distancia definida por el operador (fuerza máxima de repulsión), generándose la recta B-C. La pendiente de dicha recta permite estimar la rigidez del material en ese punto. Luego el "tip" comienza el retroceso hasta superar las fuerzas de adhesión superficiales (D,E) y finalmente es liberado de la muestra (F). La fuerza máxima adhesiva referenciada por E en el retroceso es una

estimación de la adhesión de la muestra en ese punto. De esta manera, el barrido de la superficie permite obtener simultáneamente un mapa de topografía, rigidez y adhesión.

A lo largo de la presente Tesis se analizaron tanto las superficies de los materiales como su morfología interna. En éste último caso, se realizaron cortes transversales de las muestras, utilizando un micrótopo criogénico Leica EM UC6 (POLYMAT, San Sebastián, España). En la Figura 2.16 puede observarse una imagen de corte, de uno de los materiales ensayados, donde se señalan las distintas zonas de medición (A y B) e indicando la posición vertical con respecto a la superficie de la película. Así las zonas aire (A,B) hacen referencia a las partes superiores del corte más cercanas a la superficie de la película, mientras que las zonas sustrato (A,B) hacen lo propio referenciando la parte inferior de la muestra.

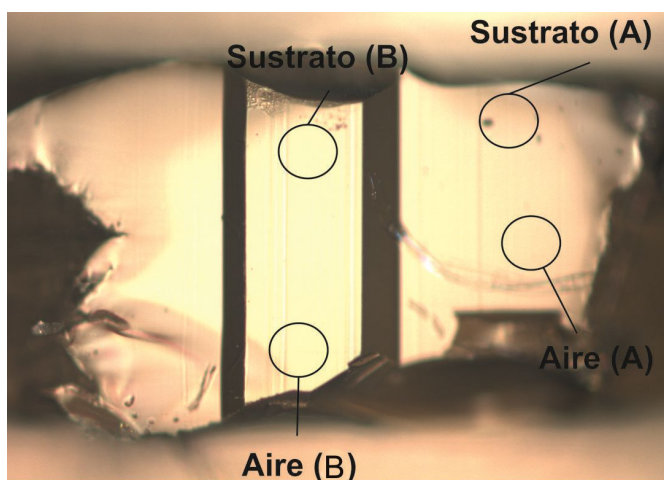


Figura 2.16. Imagen de corte transversal de película híbrida de acrílico-caseína.

Las mediciones de AFM se llevaron a cabo en un sistema comercial Nanotec Electronic equipado con cantilevers All-In-One-AI (Budget Sensors, Sofía, Bulgaria) construidos de silicio y recubiertos por una capa de Al de 30 nm, con radio de punta < 10 nm. La frecuencia de resonancia y la constante de resorte (k) utilizadas para los distintos modos, "Tapping" o "Jumping" fueron 350 kHz, k =40 N/m y 80 kHz, k =2.7 N/m, respectivamente. Todas las mediciones de AFM se realizaron en aire a temperatura ambiente. En "Tapping" se empleó una velocidad de escaneo de 0.6-1 Hz, obteniéndose imágenes de topografía y fase para las

distintas muestras de los materiales sintetizados. En “Jumping” se emplearon mapeos de las superficies con 256x256 puntos, obteniéndose mapas de rigidez y adhesión. Para la adquisición y procesamiento de las imágenes se utilizó el software libre WSxM (Horcas et al., 2007).

2.3.5.2. Temperatura mínima de formación de película (MFFT)

La MFFT de los látex se determinó empleando un método óptico (Keddie, 1997), el cual involucra la evaluación del cambio en la transparencia de la película formada a partir de un látex, luego de ser aplicado sobre una placa de acero inoxidable que posee un gradiente de temperatura. La temperatura a la cual se observó una transición en la transparencia de la película, indicando la ausencia de coalescencia de las partículas, fue considerada como la MFFT. En la Figura 2.17 se muestra una imagen del equipo utilizado para tal medición, el cual fue diseñado y construido durante la ejecución de la presente Tesis. El mismo consta de una placa de acero inoxidable de superficie rectificada, presentando en uno de sus extremos una resistencia eléctrica, mientras que en el otro extremo se dispone de un intercambiador de calor de aluminio por el que circula un fluido refrigerante, permitiendo establecer un gradiente de temperatura entre ambos extremos. El perfil de temperatura es adquirido mediante 16 termorresistencias (Pt100) colocadas en el cuerpo de placa equidistantes a pocos milímetros de la superficie de aplicación.

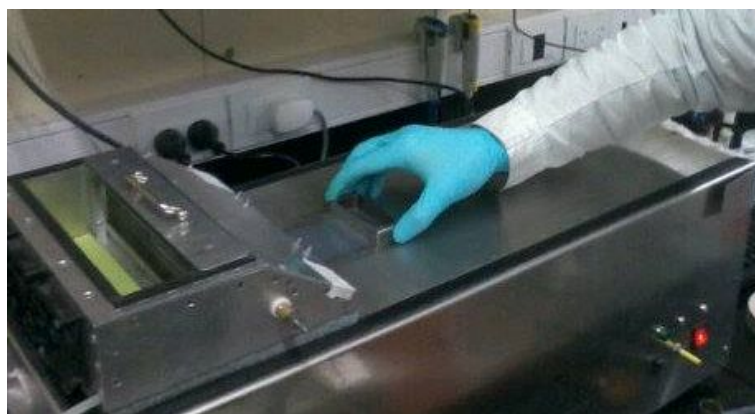


Figura 2.17. Equipo utilizado para la determinación visual de la MFFT.

Antes de realizar las determinaciones, se aseguró la estabilización del equipo, de modo que el gradiente de temperatura fuera invariante en el tiempo.

2.3.5.3. Opacidad de los materiales

La opacidad de los materiales se determinó de acuerdo al método descrito por Irissin-Mangata et al. (2001), el cual consiste en la medición del espectro visible del material a ensayar, definiendo la opacidad como el área bajo la curva de absorbancia, expresada en Unidades de Absorbancia (AU) por longitud de onda (nm), dividida por el espesor de la muestra (mm).

Con este fin, se cortaron películas con un espesor de aproximadamente 1 mm y con forma rectangular. El espesor fue medido con un calibre digital con una precisión de 0.01 mm. Luego, la muestra se colocó en la celda de un espectrofotómetro UV–visible Perkin-Elmer Lambda 25, y se obtuvo su espectro de absorbancia entre 400 y 800 nm, tomando como referencia la absorbancia del aire. Se realizaron al menos 3 mediciones por cada muestra, reportándose como resultado el promedio de éstas mediciones, y la desviación estándar.

2.3.5.4. Angulo de contacto (CA)

El CA de la superficie de las películas fue determinado utilizando un goniómetro construido durante la presente Tesis Doctoral (Figura 2.18). El equipo consta de una cámara Point Grey modelo BFLY-PGE-05S2M-CS, con una lente macro Edmund Optics #68-678 con una magnificación de 6X. A tal efecto, se aplicó una película de 120 μm sobre una placa de vidrio, se la dejó secar por 24 h y posteriormente se depositaron gotas de agua de 30 μl a lo largo de la película. Las gotas fueron analizadas utilizando el método LB-ADSA (Stalder et al., 2010) y el software gratuito “ImageJ”. Se realizaron al menos 20 mediciones para cada muestra, reportándose un valor promedio.

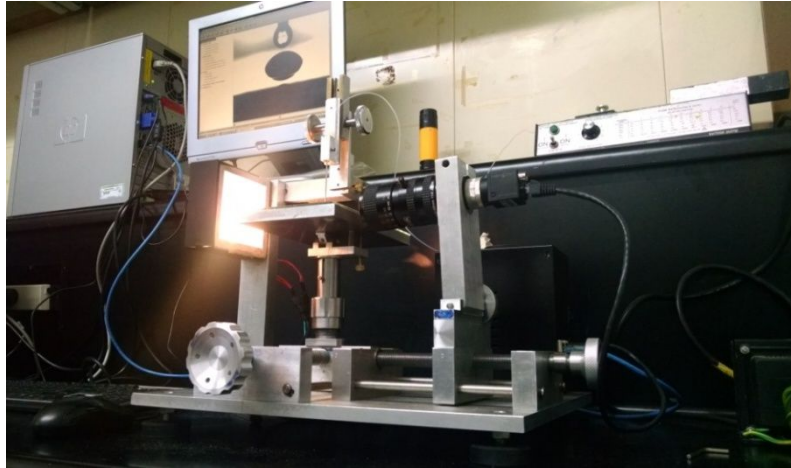


Figura 2.18. Equipo utilizado para la determinación de los CA.

2.3.5.5. Ensayos de resistencia al bloqueo de las películas

Para evaluar la resistencia al bloqueo de las películas se siguió la norma ASTM D4946-89. Para ello, los látex fueron aplicados sobre papel sellante (una capa de 120 μm de espesor) y secados a temperatura ambiente por 48 h. Luego del secado, el papel sellante se cortó en secciones de 38 mm \times 38 mm y fueron colocadas cara a cara, ejerciéndose una presión de 127 g/cm^2 a una temperatura de 60 $^{\circ}\text{C}$, por 30 minutos para provocar el bloqueo entre ambas superficies. Las muestras se dejaron enfriar por 30 minutos a temperatura ambiente, y se procedió a la separación de las secciones. La dificultad con que las secciones son separadas resulta un indicativo de la capacidad de anti-bloqueo de las películas. El test fue realizado por triplicado para cada muestra y los resultados fueron correlacionados a una escala de 0-10 como se define en la norma ASTM D4946-89, Tabla 2.2. En la Figura 2.19 se muestra una imagen ilustrativa del test.

Tabla 2.2. Escala de resistencia al bloqueo (ASTM D4946-89).

Escala Numérica	Tipo de Separación	Desempeño
10	no pegajoso	perfecto
9	trazas de pegajosidad	excelente
8	muy ligeramente pegajoso	muy bueno
7	muy ligeramente a ligeramente pegajoso	bueno - muy bueno
6	ligeramente pegajoso	bueno
5	moderadamente pegajoso	aceptable
4	muy pegajoso, no sellante	pobre - aceptable
3	5 a 25 % sellante	pobre
2	25 a 50 % sellante	pobre
1	50 a 75 % sellante	muy pobre
0	75 a 100 % sellante	muy pobre

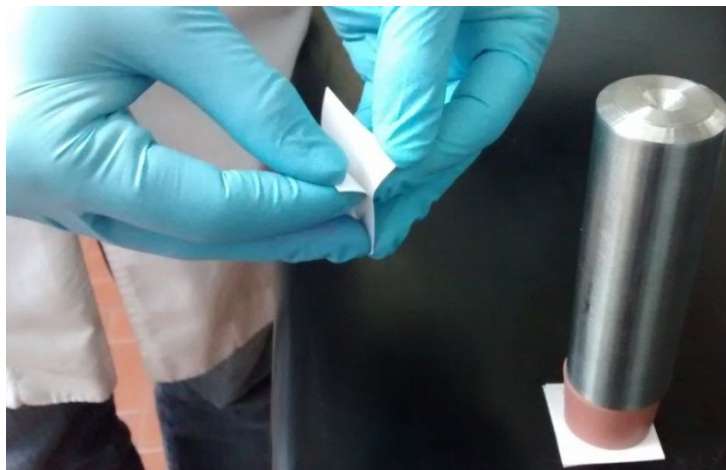


Figura 2.19. Imagen ilustrativa del test de resistencia al bloqueo.

2.3.5.6. Ensayos de tracción y dureza

Para los ensayos de tracción se cortaron probetas de las películas con forma de hueso, de acuerdo a la norma ASTM D882, siendo las dimensiones de la zona de elongación de 9.53 mm de longitud con una sección transversal de $3.18 \times 1 \text{ mm}^2$.

Las pruebas se realizaron en un equipo de ensayos universal INSTRON 3344, siguiendo la norma ASTM D882, en condiciones controladas de temperatura ($23 \text{ }^\circ\text{C}$) y humedad (50%), a una velocidad de elongación de 25 mm/min. Se ensayaron al menos 5

probetas por cada muestra, y los resultados de las propiedades en tracción de estas mediciones se reportan como la media aritmética, junto a la desviación estándar.

El análisis de dureza se llevó a cabo en la máquina de ensayos universal INSTRON 3344, utilizando un indentador cilíndrico de punta plana. El test fue realizado con una celda de carga de 1000 N en condiciones controladas de temperatura y humedad. El valor de dureza fue medido como la fuerza máxima en compresión cuando la película fue penetrada 1 mm con el indentador, cuyo diámetro fue adecuadamente seleccionado para evitar sobrecargas en la celda de carga y obtener una correcta sensibilidad. Se emplearon Indentadores de 2 y 4 mm. El inicio de la penetración se tomó cuando se detectó sobre la superficie de la muestra una fuerza de 0.05 N. En la Figura 2.20 se muestra una imagen del ensayo de tracción (a) y de dureza (b).

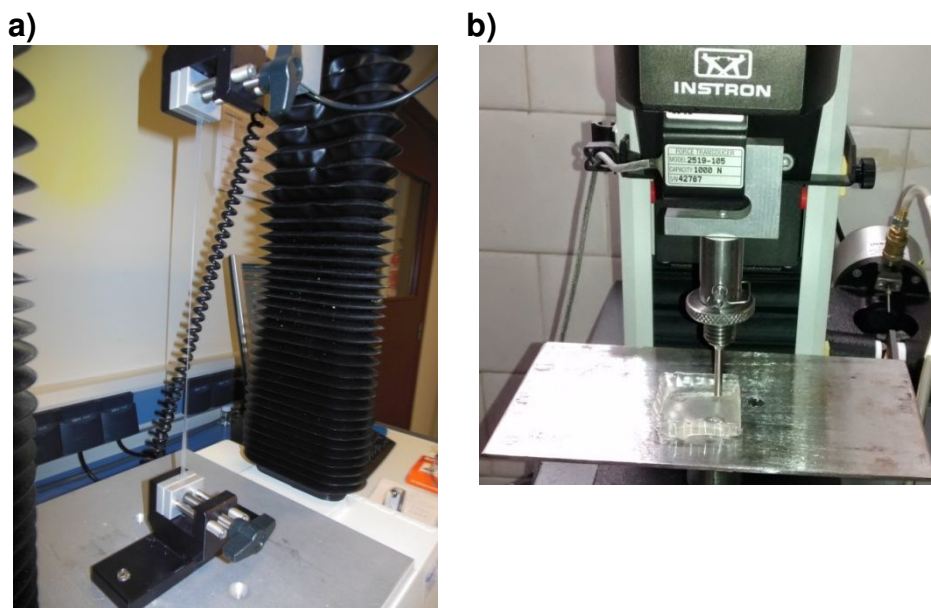


Figura 2.20. Imágenes de los ensayos de tracción (a) y dureza (b).

2.3.5.7. Ensayos térmicos y termomecánicos

La estabilidad térmica de los materiales fue estudiada por análisis termogravimétrico (TGA). Para ello, 10 mg de muestra fueron calentados desde 40 a 800 °C con una velocidad de calentamiento de 10 °C/min bajo atmósfera de N₂, utilizando un equipo Mettler-Toledo TG

50. La temperatura de descomposición máxima ($T_{d_{max}}$) se determinó como la temperatura a la cual la derivada de la pérdida de peso presentó el pico máximo de degradación.

La temperatura de transición vítrea (T_g) de los copolímeros híbridos fue determinada por calorimetría diferencial de barrido (DSC), utilizando un equipo Mettler-Toledo DSC 30. La caseína mostró una transición vítrea a 183 °C junto con el comienzo de su descomposición. Por esta razón las mediciones de DSC de los films híbridos se llevaron a cabo desde -80 a 130 °C a 10 °C/min. Las muestras (alrededor de 5 mg) fueron analizadas dos veces y la T_g fue determinada como la temperatura correspondiente al punto medio del cambio de la capacidad calorífica observado durante la segunda corrida.

Para determinar el comportamiento de relajación de los nanocompuestos de acrílico/caseína, se sometió a los mismos al análisis termomecánico dinámico (DMTA). A tal efecto, películas de 1 mm de espesor fueron analizadas en modo “single cantiléver-bending” a una frecuencia de 1Hz, usando un equipo Tritec 2000 de Triton Technology de la Universidad del País Vasco, San Sebastián (España). Las mediciones se llevaron a cabo desde -80 °C hasta 150 °C con una velocidad de calentamiento de 4 °C/min.

2.3.5.8. Ensayos de resistencia al agua y a solventes orgánicos

Para determinar la resistencia de los materiales híbridos, al agua y a solventes orgánicos (MEK y Bz), se cortaron películas de 20 mm de diámetro, las que fueron inmersas en tales sustancias a temperatura ambiente.

Las muestras fueron removidas del medio a tiempos regulares, secadas con papel absorbente e inmediatamente pesadas antes de regresarlas al medio de inmersión (Figura 2.21). Este procedimiento se repitió por 7 días o hasta que la película presentó daño. En cada caso, se calculó la masa relativa absorbida (A , Ec. 2.9) y la pérdida de peso (WL), expresada como el porcentaje de masa disuelta de la película seca (Ec. 2.10).

$$A (\%) = \frac{M_h - M_0}{M_0} \times 100 \quad (2.9)$$

$$WL (\%) = \frac{M_0 - M_{fs}}{M_0} \times 100 \quad (2.10)$$

donde M_0 , M_h y M_{fs} representan la masa inicial de la película, la masa de la película luego de cierto período de hinchamiento y la masa final de la película luego de ser secada hasta peso constante, respectivamente.



Figura 2.21. Imagen ilustrativa del ensayo de resistencia al agua y a solventes.

2.3.5.9. Ensayo de degradación en suelo

Para determinar la capacidad de los nanocompuestos para ser biodegradados en condiciones de compostaje, se llevaron a cabo experimentos de enterramiento en suelo, utilizando como inócuo un compost comercial derivado de residuos vegetales (Figura 2.22).



Figura 2.22. Imagen ilustrativa del ensayo de degradación en suelo.

Para ello, se cortaron películas de 20 mm de diámetro y se las enterró en un recipiente conteniendo compost humedecido, con las siguientes características: sólido seco total = 45% en base húmeda; contenido de sólidos no volátiles = 40% en base húmeda; pH 6.5. Antes de la prueba, el compost fue cernido con un tamiz de malla 3 1/2 (abertura de 5,6 mm). El ensayo se realizó en condiciones controladas de temperatura (30 °C) y humedad relativa del compost de 55%. Las muestras se removieron cada 7 días, fueron cuidadosamente higienizadas para detener la degradación y posteriormente secadas a 60 °C hasta peso constante. La velocidad de pérdida de peso (W_{loss}) por biodegradación se determinó como el porcentaje de la masa perdida de la película inicial, según la siguiente ecuación:

$$W_{\text{loss}} (\%) = \frac{M_0 - M_f}{M_0} \times 100 \quad (2.11)$$

donde M_f corresponde a la masa final de la película, luego de la degradación.

Capítulo 3: Estudio del mecanismo de nucleación e injerto de nanopartículas híbridas de polimetacrilato de metilo-caseína*

3.1. INTRODUCCIÓN

Las proteínas naturales como la caseína, se han utilizado por mucho tiempo en recubrimientos para papel, adhesivos y aglutinantes para pinturas, debido a su reducido impacto ambiental, alta degradabilidad, buena aceptación al teñido, aspecto glaseado sobre las superficies en las que se aplican y buena penetrabilidad al sustrato (Ednessjjad, 2008). Sin embargo, las películas de caseína son susceptibles al ataque microbiano, presentan baja resistencia al frotado húmedo y poseen malas propiedades mecánicas (Salzberg et al., 1961). Por esta razón, dicha proteína se ha reemplazado, en muchas aplicaciones, por polímeros sintéticos que presentan mejores propiedades mecánicas, pero resignan la buena penetración y adhesión a los sustratos, y el bajo impacto medioambiental que ofrecen los productos naturales. El injerto sobre proteínas ha ido ganando interés tecnológico y biomédico porque tiene el objetivo de modificar las propiedades del material natural sobre la base de una combinación sinérgica con otros materiales poliméricos. Como se mencionó en la sección 1.5.2 del Capítulo 1, las nanopartículas acrílico-caseína podrían ser potencialmente útiles en ensayos de inmunodiagnóstico, biosensores, tratamiento génico, liberación controlada de fármacos y otros agentes biológicos, nanocatalizadores coloidales, inmovilización de enzimas, y recubrimientos y adhesivos en base acuosa.

El balance adecuado entre las propiedades de aplicación de la caseína y aquellas de los polímeros sintéticos, se alcanza cuando forman un sistema compatible, es decir, cuando

*Parte de los resultados de este capítulo se encuentran publicados en: M.L. Picchio, R.J. Minari, V.D.G. González, M.C. Passeggi(J), J.R. Vega, M.J. Brandiaran, L.M. Gugliotta. "Waterborne Acrylic-Casein Nanoparticles. Nucleation and Grafting", *Macromol. Symp.*, 344, 76-85 (2014).

ambos materiales se encuentran químicamente unidos. Por lo tanto, para desarrollar una estrategia de síntesis exitosa, se deben reconocer y comprender correctamente los mecanismos involucrados en la formación de las nanopartículas. Esto requiere la caracterización completa de la microestructura molecular, siendo el parámetro clave el grado de injerto de sus componentes (Minari et al., 2009), determinado como la fracción de proteína y polímero sintético que se encuentran químicamente unidos.

La alta solubilidad en agua de la caseína y su excelente capacidad emulsificante, hace que el proceso de polimerización en emulsión sea una alternativa atractiva para la síntesis de estas partículas híbridas. La polimerización en medio acuoso de monómeros acrílicos, acrilamida, acrilonitrilo y estireno, en presencia de caseína y utilizando iniciadores persulfato, se ha considerado previamente (Mohan et al., 1980, 1982, 1983a, 1983b, 1984, 1985, 1989 y 1990; Somanathan et al., 1987; Lakshminarayana et al., 1986). En estos trabajos, se estudió el efecto de la concentración de iniciador, monómero y caseína sobre el grado de injerto, medido como la fracción de polímero sintético que contenía proteína injertada. Se encontró que la fracción de polímero híbrido aumentaba con el incremento de la concentración de iniciador, de monómero y de caseína. El injerto de metacrilato de metilo (MMA) sobre caseína también fue promovido por el sistema de iniciación redox caseína-NH₂/diteluratocuprato de potasio (III), produciendo altos niveles de polímero híbrido (Liu et al., 2004). Como se describió en la sección 1.5.1 del Capítulo 1, la estrategia de Li et al. (2002) permite sintetizar en una etapa materiales híbridos de polimetacrilato de metilo (PMMA) con polímeros solubles en agua que contienen grupos amino. Este método fue empleado para producir nanopartículas de PMMA-caseína con morfología núcleo-coraza (Zhu y Li, 2003), con alrededor de 40-50% de eficiencia de injerto, definida como el porcentaje en peso de PMMA injertado con respecto al MMA polimerizado. Sin embargo, esta variable no indica la fracción de caseína que se incorporó al PMMA, o en otras palabras, la cantidad de caseína sin reaccionar.

En el presente capítulo se investigó la polimerización en emulsión de MMA en presencia de caseína, con el objetivo de revelar los mecanismos involucrados en la producción y crecimiento de las nanopartículas acrílico-proteína, sobre la base de una completa caracterización de la microestructura molecular del material híbrido, la morfología resultante de las partículas, y su distribución de tamaños. Para la síntesis de las nanopartículas, se adoptó el sistema de iniciación redox propuesto por Li et al. (2002), el cual implica la interacción entre el tert-butil hidropéroxido (TBHP) y los grupos aminos de la caseína.

Si bien el homo-PMMA no tiene capacidad de formación de película, la adopción del MMA frente a otros monómeros se debe a que su homopolimerización produce polímeros lineales simples (en ausencia de caseína), simplificando la caracterización de los látex híbridos.

3.2. TRABAJO EXPERIMENTAL

La descripción detallada de los materiales, la especificación de los equipos, y los métodos de síntesis y caracterización empleados a lo largo del trabajo experimental de ésta Tesis, se presentaron en el Capítulo 2. Por esta razón, a continuación se hará referencia sólo a los aspectos del trabajo experimental que se aplican específicamente a éste Capítulo.

3.2.1. Polimerización

Las polimerizaciones se llevaron a cabo siguiendo el procedimiento descrito detalladamente en la sección 2.2.1 del Capítulo 2. En la Tabla 3.1 se presenta una receta general de polimerización. El tiempo total de reacción fue en todos los casos de 2 h. Además, todos los látex fueron sintetizados con un contenido de sólidos (SC) de 10%.

Tabla 3.1. Receta general para la síntesis de látex híbridos de PMMA-caseína.

Reactivo	Cantidades (pphm) ^(a)
MMA	100
Caseína	3 - 50
TBHP	0.20, 0.35
Na ₂ CO ₃	5.33
H ₂ O	950-1350

(a) pphm: partes por cien de monómero.

3.2.2. Caracterizaciones

A lo largo de las reacciones se tomaron muestras y sobre ellas se realizaron las siguientes mediciones: i) conversión de monómero (x), por gravimetría; ii) diámetros medios de partículas (\bar{d}_p), por dispersión de luz dinámica (DLS) a un ángulo de detección de 90° en un fotómetro Brookhaven BI-9000 AT; y iii) distribuciones de tamaños de partículas (PSDs) basadas en peso, por fraccionamiento hidrodinámico capilar (CHDF). El número de partículas por litro de látex (N_p) se obtuvo a partir de los datos de x y de las mediciones de \bar{d}_p como se indicó en la sección 2.3.1.2 del Capítulo 2. Además, la tensión superficial (γ) de los látex se midió en un tensiómetro Krüss K8.

La microestructura molecular de los látex híbridos acrílico-caseína se caracterizó principalmente por la determinación de la fracción de caseína injertada en el polímero acrílico (eficiencia de injerto de caseína, CGE), y la fracción de MMA polimerizado que contiene caseína injertada (eficiencia de injerto acrílico, AGE). La CGE se determinó empleando un procedimiento de múltiples centrifugaciones y redispersiones, tal como se detalló en la sección 2.3.2.2 del Capítulo 2. Por su parte, la AGE se determinó por extracción Soxhlet con tetrahidrofurano (THF) durante 24 h, de acuerdo al procedimiento descrito en la sección 2.3.2.1 del Capítulo 2. Los valores medios de los pesos moleculares (\bar{M}_n y \bar{M}_w)

del PMMA libre, separado en la extracción con THF, se determinaron por cromatografía de exclusión por tamaños (SEC).

La morfología de las partículas se observó por microscopía de transmisión electrónica (TEM), en un microscopio TECNAI G2 20 TWIN (200kV, LaB6), de la Universidad del País Vasco, San Sebastián (España), según el detalle dado en la sección 2.3.4 del Capítulo 2. Este mismo procedimiento fue utilizado para evidenciar la existencia de agregados micelares en soluciones acuosas de caseína. Así mismo, se utilizó microscopía de fuerza atómica (AFM) como técnica soporte para la observación de dichos agregados proteicos. Los ensayos fueron llevados a cabo empleando un sistema de barrido por sonda local, comandado por una electrónica comercial marca Nanotec (Dulcinea, Nanotec Electrónica S.L., Madrid, España), operando en modo "Tapping" a temperatura ambiente.

3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.3.1. Efecto de la concentración de caseína

La Tabla 3.2 resume los experimentos llevados a cabo con cantidades variables de caseína y una concentración de TBHP de 0.2 pphm, manteniéndose los demás reactivos en las cantidades indicadas en la Tabla 3.1. A lo largo de la presente Tesis, los experimentos realizados fueron codificados utilizando una nomenclatura general que permite identificar fácilmente la composición de los látex. Los códigos contienen la abreviatura C con un subíndice que indica la concentración de caseína en pphm, seguido por la abreviatura MR con un subíndice que indica la relación en peso de monómeros n-BA/MMA. Por lo tanto, en el experimento $C_3MR_{0/100}$, la concentración de caseína fue 3 pphm y la relación n-BA/MMA en peso fue 0/100, es decir que sólo se usó MMA como monómero. Cabe mencionar que en todas las reacciones, la concentración de caseína fue mucho mayor que la concentración micelar crítica (0,1 mg/ml, determinada a temperatura ambiente por mediciones de tensión superficial de diferentes soluciones de caseína y con la misma concentración de "buffer" usada en los experimentos de polimerización, sección 2.3.1.3 del Capítulo 2). La Tabla 3.2

presenta los valores finales de x , \bar{d}_p , CGE, AGE, el peso de caseína injertada por cada cien gramos de MMA (g-caseína; pphm), la tensión superficial de los látex y los pesos moleculares medios del PMMA libre. Además, las evoluciones de x y \bar{d}_p obtenidas a lo largo de cada una de las polimerizaciones, se muestran en la Figura 3.1.

Tabla 3.2. Homopolimerización de MMA en presencia de diferentes concentraciones de caseína.

	$C_3MR_{0/100}$	$C_6MR_{0/100}$	$C_{12}MR_{0/100}$	$C_{25}MR_{0/100}$	$C_{40}MR_{0/100}$	$C_{50}MR_{0/100}$
x (%)	68	75	79	91	88	89
\bar{d}_p (nm)	162	142	132	120	114	113
N_p (#/l)	1.77×10^{16}	2.74×10^{16}	4.16×10^{16}	7.00×10^{16}	6.76×10^{16}	6.49×10^{16}
AGE (%)	87	81	74	68	58	53
CGE (%)	90	71	56	26	9	5
g-caseína (pphm)	2.7	4.3	6.7	6.5	3.6	2.5
γ (mN/m)	55.3	56.6	52.4	54.6	55.9	56.2
M_n (g/mol)	5.5×10^5	5.1×10^5	4.6×10^5	2.7×10^5	4.3×10^5	2.5×10^5
M_w (g/mol)	28.7×10^5	34.0×10^5	59.1×10^5	32.4×10^5	53.5×10^5	25.5×10^5

Como puede verse, un incremento en la concentración de caseína, desde 3 hasta 25 pphm, produjo un aumento en la velocidad inicial de polimerización (Figura 3.1.a) y en los valores finales de x , observándose además una disminución en el \bar{d}_p final de las nanopartículas (de 162 a 120 nm). De acuerdo con Li et al. (2002), este comportamiento podría ser esperable ya que la reacción se inicia por la presencia de radicales amino y tert-butoxi, que a su vez se producen por la interacción de las moléculas de hidroperóxido con los grupos amino presentes en la cadenas de proteínas (Figura 1.7). Por lo tanto, cuanto mayor sea la cantidad de caseína, tanto mayor será la cantidad de grupos amino disponibles para interactuar con el TBHP. Como consecuencia, la concentración de radicales y el número de partículas de polímero (N_p) nucleadas, resultaron incrementados (N_p varió de 1.77×10^{16} a 7×10^{16} #/l).

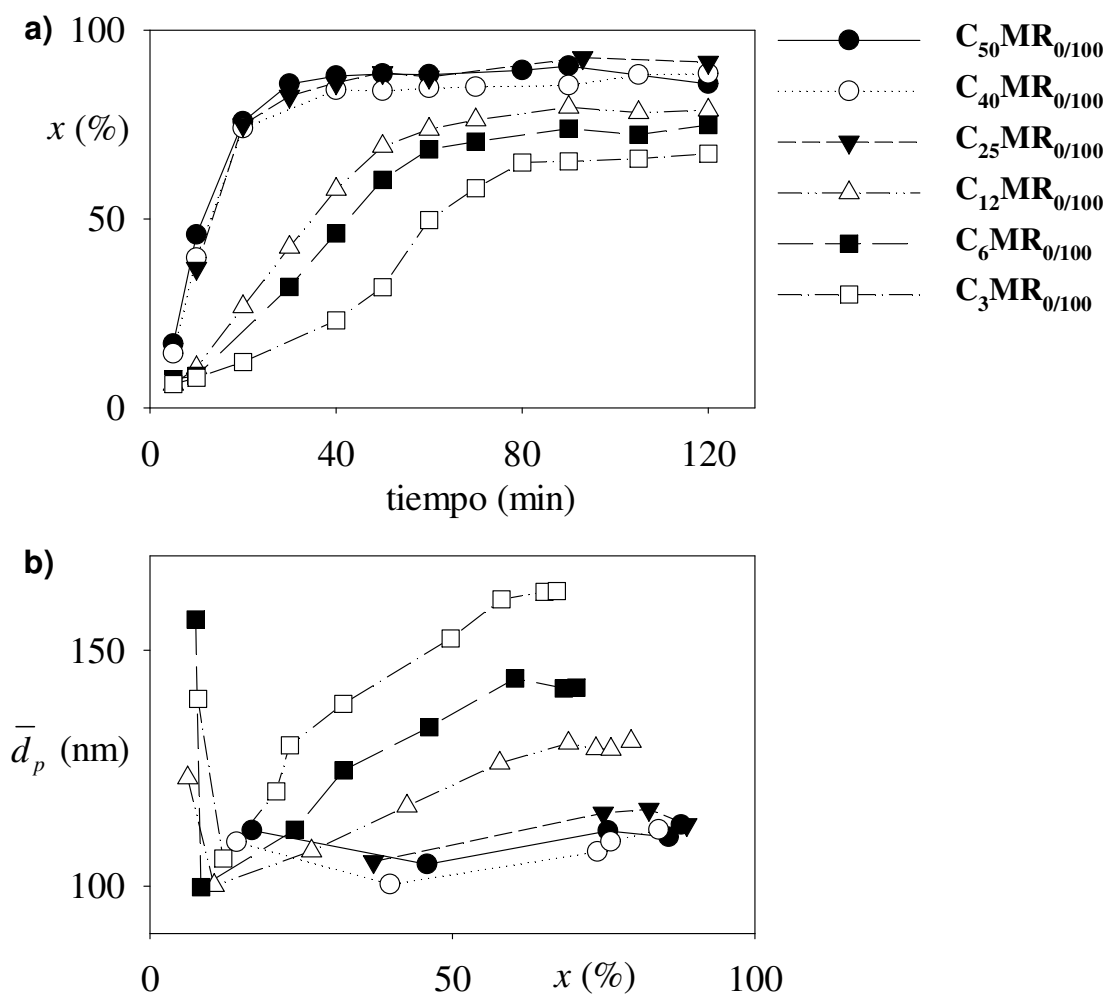


Figura 3.1. Evolución de la conversión (a) y del diámetro de partícula (b) para la homopolimerización en emulsión de MMA en presencia de diferentes concentraciones de caseína.

En la Figura 3.1.b, puede observarse que la evolución del \bar{d}_p presentó dos tendencias diferentes, dependiendo de la cantidad de caseína utilizada. Para bajas concentraciones de proteína (3-12 pphm) se evidenció una abrupta reducción en el \bar{d}_p al comienzo de la polimerización, seguido por un crecimiento continuo de los tamaños; mientras que para altas concentraciones de caseína (25-50 pphm) los \bar{d}_p permanecieron casi invariantes con la conversión. Esta última observación, sugiere la existencia de una nucleación continua de partículas a lo largo de toda la polimerización, lo que hace indetectable el aumento de tamaño de aquellas nanopartículas formadas inicialmente.

Con el fin de obtener más información sobre el mecanismo que gobierna el proceso de nucleación de partículas en dichas reacciones, se calculó la evolución del número de partículas (N_p) para cada polimerización. Las estimaciones de N_p se realizaron a partir de las mediciones de \bar{d}_p de látex en ausencia de caseína libre. La simple dilución del látex durante el proceso de medición por DLS, no permite la completa desorción de la caseína desde las partículas. Por esta razón, la proteína sin reaccionar se eliminó a través de varios pasos de centrifugación y redispersión con una solución de SLS (Ai y Wei, 2007). En la Figura 3.2 pueden observarse las diferencias obtenidas entre los valores de \bar{d}_p medidos después de la eliminación de la caseína libre (en símbolos huecos) y los \bar{d}_p iniciales (en símbolos llenos).

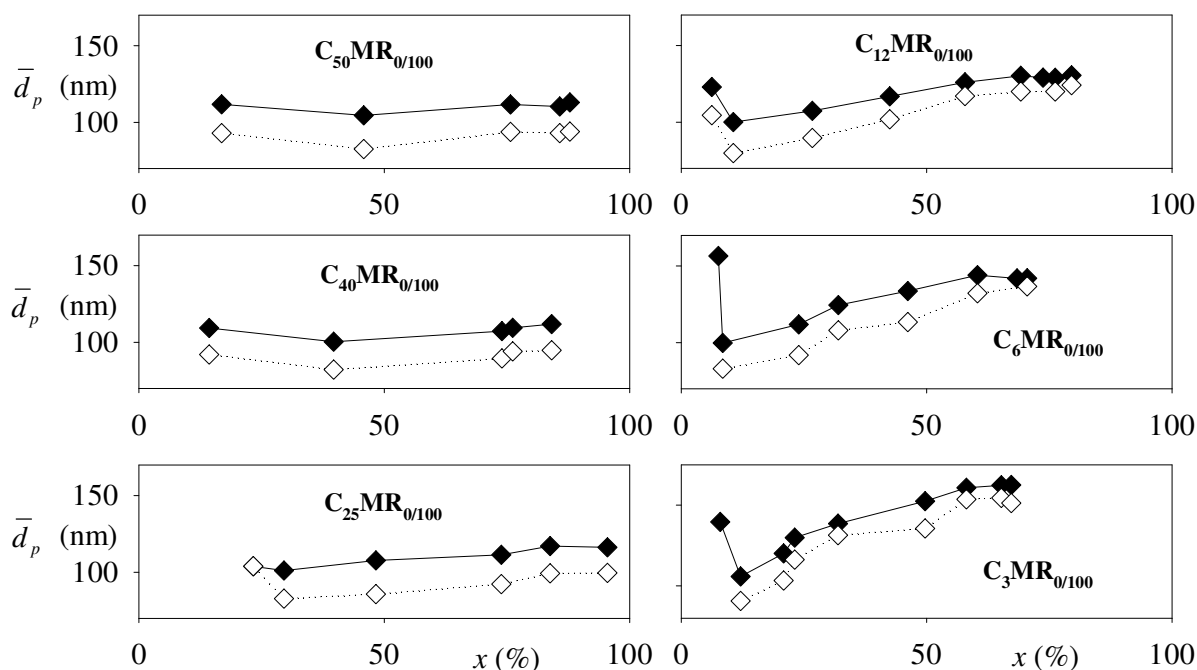


Figura 3.2. Evolución del \bar{d}_p de látex híbridos PMMA-caseína antes (símbolos llenos) y después (símbolos huecos) de la eliminación de caseína no injertada.

Se puede notar que los \bar{d}_p de los látex no lavados (conteniendo caseína adsorbida físicamente), presentan una pronunciada caída al comienzo de la polimerización. Dicha evolución en los tamaños indicaría la existencia de grandes partículas al inicio del proceso,

seguido por la generación de partículas más pequeñas que disminuyen el diámetro medio. Intuitivamente podría atribuirse este hecho a la presencia de micelas de caseína (cuyos tamaños medios son mucho mayores que las micelas de emulsificantes convencionales), las cuales se van desintegrando a medida que procede la polimerización para estabilizar las partículas acrílicas. Sin embargo, luego de la eliminación de la caseína libre, los \bar{d}_p presentaron la misma evolución, sugiriendo que la disminución en los diámetros medios no es consecuencia de la presencia de agregados proteicos. Vale la pena mencionar que los \bar{d}_p iniciales de los látex $C_3MR_{0/100}$ y $C_6MR_{0/100}$, luego de la etapa de lavado, no fueron incluidos en la Figura 3.2, debido a que estas muestras presentaron una muy baja concentración de polímero (a causa de las bajas conversiones alcanzadas en dichas reacciones), arrojando grandes errores durante la estimación por DLS.

La Figura 3.3 muestra que N_p (calculado a partir de los \bar{d}_p "desorbidos") aumenta a lo largo de la polimerización, indicando que existe una generación de nuevas partículas durante el proceso. Además, se observa que la nucleación de partículas es mucho más significativa para altas concentraciones de caseína, tal y como se predecía a partir de los resultados de \bar{d}_p .

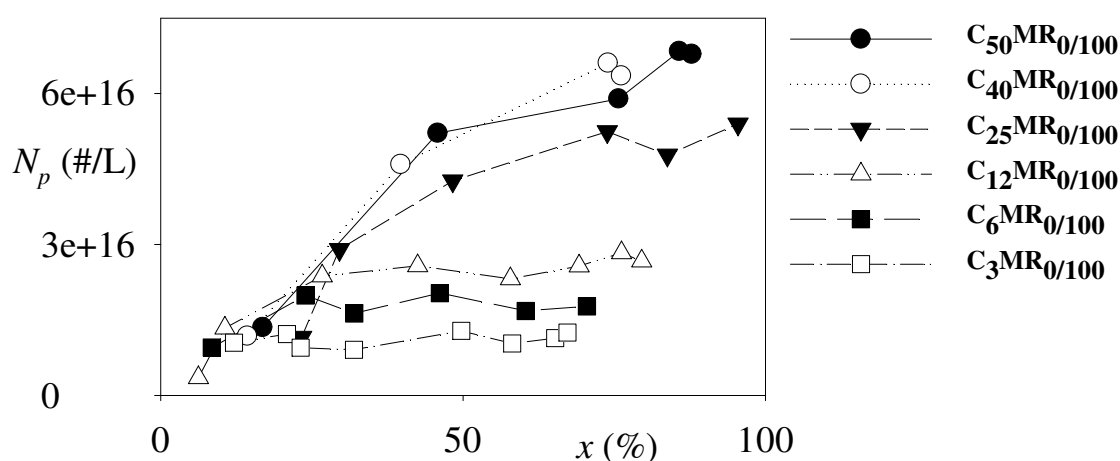


Figura 3.3. Generación de partículas a lo largo de la polimerización en emulsión de MMA en presencia de diferentes concentraciones de caseína.

De acuerdo con el mecanismo propuesto por Li et al. (2002), las partículas se producen por el auto-ensamblaje de radicales anfífilicos que contienen proteína injertada, y esta etapa es promovida por el injerto de caseína. Por lo tanto, si existe una generación continua de partículas durante toda la reacción, indefectiblemente el grado de injerto proteico también debería aumentar a lo largo del proceso. Además, siguiendo este mecanismo, podría esperarse un incremento en la cantidad injertada de caseína y PMMA, cuando aumenta la cantidad de proteína en la formulación.

Sin embargo, la Figura 3.4 muestra que la fracción de caseína injertada se mantuvo constante a lo largo de cada polimerización. Esta observación resultó independiente de la cantidad de caseína utilizada, mostrando que el injerto de la proteína se produce sólo al comienzo de la reacción. Además, como se muestra en la Tabla 3.2, la cantidad de caseína incorporada aumentó hasta 12 pphm y luego disminuyó, mientras que la AGE disminuyó continuamente con el contenido de proteína del látex.

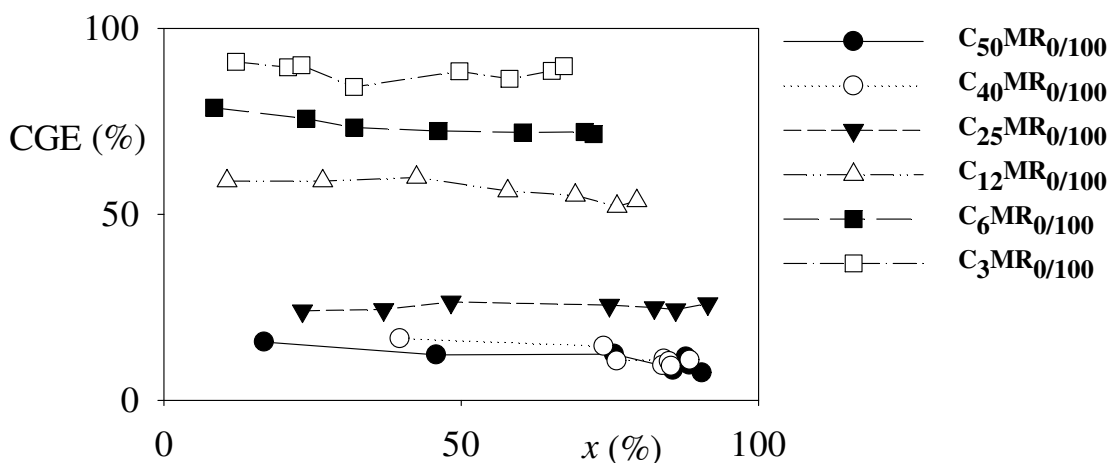


Figura 3.4. Polimerización en emulsión de MMA en presencia de diferentes concentraciones de caseína. Evolución de CGE con la conversión.

Podría notarse que a pesar de que la incorporación de caseína solo ocurre a baja conversión de MMA, la AGE final es superior al 50% para todas las concentraciones de proteína empleadas (Tabla 3.2), lo que indica que a medida que la polimerización procede,

el polímero acrílico continúa injertándose en la caseína incorporada inicialmente (es decir, sobre moléculas de caseína que ya contienen cadenas de PMMA injertadas).

El mecanismo de Li et al. (2002), podría explicar los resultados de los experimentos realizados con bajas concentraciones de caseína, en la que la nueva producción de partículas no es significativa después de una conversión de monómero por encima de 20-30%. Sin embargo, dicho mecanismo es incapaz de explicar los resultados de las reacciones llevadas a cabo con un alto contenido de proteína.

La nueva generación de partículas a lo largo de la reacción junto con la evolución constante de la fracción de caseína injertada, indica que ésta presente un segundo mecanismo de nucleación a lo largo de la polimerización, en el que no interviene el injerto de nueva caseína, pero se vuelve más importante cuando se incrementa la concentración de proteína en el medio de reacción.

Las morfologías de las partículas resultantes obtenidas por TEM (Figura 3.5) y la distribución de tamaños de partículas (PSD) medida por CHDF (Figura 3.6) para los látex sintetizados con diferentes concentraciones de caseína, dieron más luz a esta hipótesis. En los casos de baja concentración de caseína (3-12 pphm, Figuras 3.5.a,b), donde se obtuvo altas fracciones de acrílico y caseína injertada, la mayoría de las partículas contienen caseína en su superficie (muestran como una coraza o piel oscura, debido a la tinción positiva de los grupos amino con PTA). También puede notarse que estas partículas no están totalmente cubiertas por caseína.

Por otro lado, para los látex con altos contenidos de caseína (25–50 pphm), donde las fracciones de caseína y PMMA no injertadas es significativa y la generación de partículas por el segundo mecanismo de nucleación es considerable, las imágenes de TEM de la Figura 3.5.c,d muestran: i) grandes partículas parcialmente cubiertas por una piel oscura que corresponde a la proteína, y ii) pequeñas partículas que no presentan una piel de caseína en su superficie.

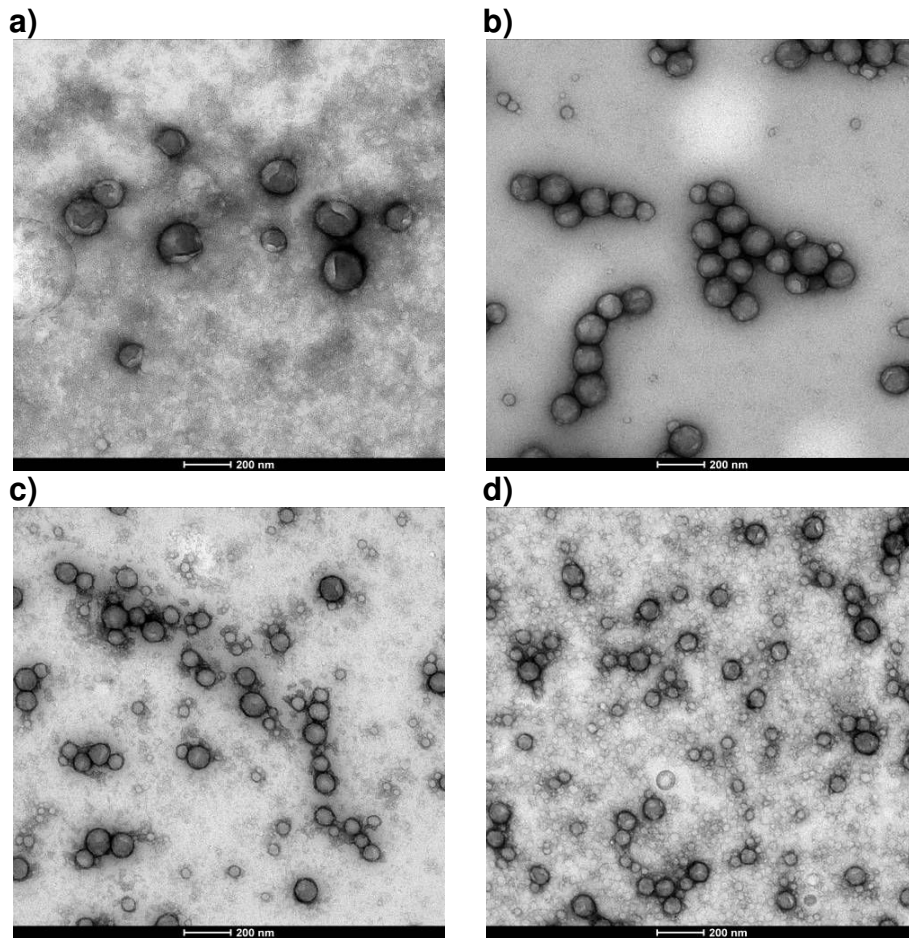


Figura 3.5. Morfología de partículas obtenidas por polimerización de MMA con diferentes concentraciones de caseína: a) 3 pphm; b) 6 pphm; c) 25 pphm y d) 40 pphm.

Estas observaciones están de acuerdo con las PSDs medidas para los látex finales de cada síntesis. Para el caso de 3 pphm de caseína, en donde las fracciones injertadas de proteína y PMMA son casi completas, la PSD está constituida principalmente por una población de alto \bar{d}_p con un pequeño hombro a bajos diámetros. A medida que la concentración de caseína se incrementa desde 3 hasta 25 pphm, se observa una contribución cada vez mayor de la población de bajo \bar{d}_p sobre la PSD, debido al aumento de la fracción de caseína no injertada y por lo tanto, un mayor aporte del segundo mecanismo de nucleación. En el caso extremo, en el que se utiliza una alta concentración de proteína (40-50 pphm), las fracciones no injertadas de caseína y PMMA son demasiado altas, y la

población de bajo \bar{d}_p representa la principal contribución en la PSD, lo que indica que existe una considerable formación de partículas a través del segundo mecanismo de nucleación.

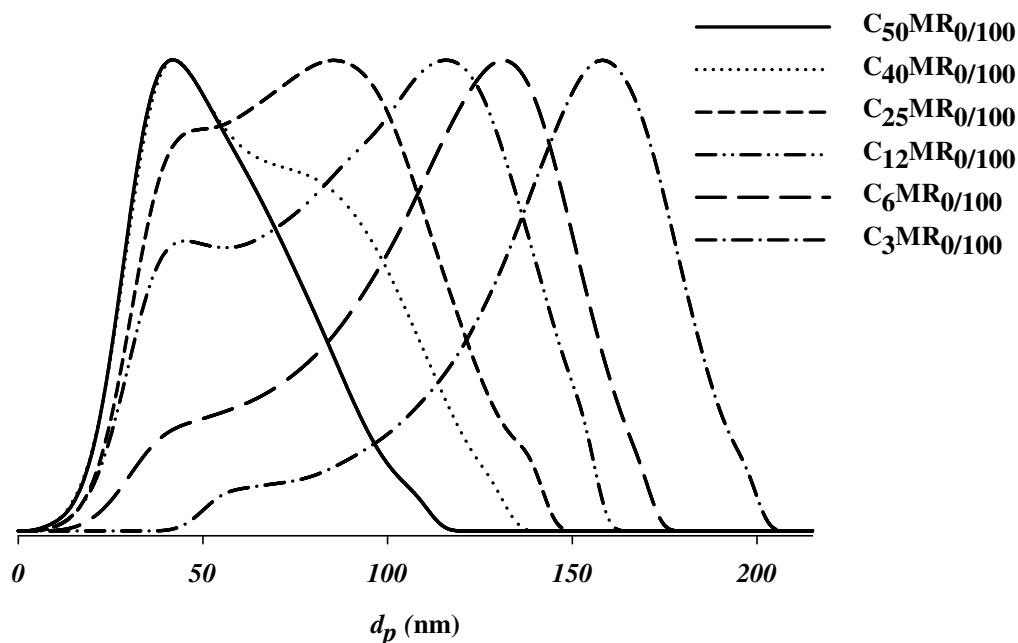


Figura 3.6. PSDs en masa para los látex finales producidos con diferentes concentraciones de caseína. (A efectos comparativos, las distribuciones fueron normalizadas a un mismo valor máximo.)

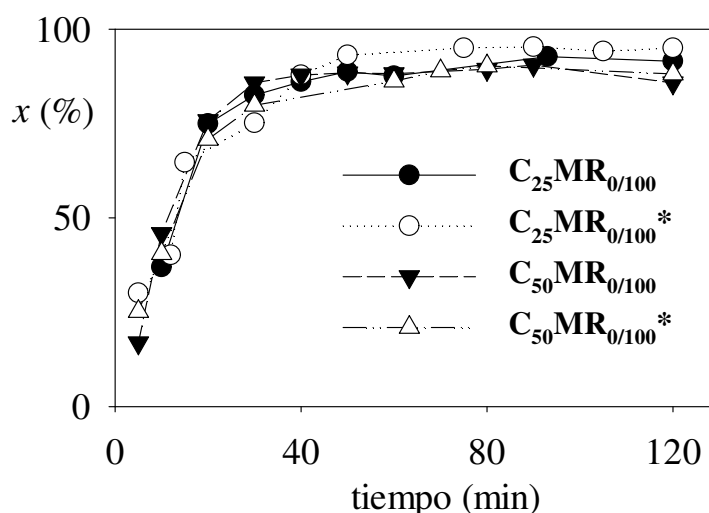
3.3.2. Efecto de la concentración de TBHP

En base a los resultados presentados hasta el momento, podemos afirmar que la cantidad injertada de caseína y acrílico (es decir, la compatibilidad de las partículas) está fuertemente restringida cuando se utiliza una alta concentración de proteína. Uno podría especular "a priori" que, a altos contenidos de caseína, la concentración de TBHP está limitando la iniciación, el injerto de la proteína y la formación de partículas por esta vía. En la Tabla 3.3 y en la Figura 3.7 se muestra la influencia del aumento en la concentración de TBHP (de 0,20 hasta 0,34 pphm) sobre la velocidad de polimerización de MMA, con concentraciones de 25 y 50 pphm de caseína.

Tabla 3.3. Efecto de la concentración de TBHP sobre la polimerización de MMA en presencia de altas concentraciones de caseína.

	$C_{25}MR_{0/100}$	$C_{25}MR_{0/100}^*$	$C_{50}MR_{0/100}$	$C_{50}MR_{0/100}^*$
Casein (pphm)	25	25	50	50
TBHP (pphm)	0.20	0.34	0.20	0.34
x (%)	91	92	89	91
\bar{d}_p (nm)	120	114	113	106
AGE (%)	68	57	53	47
CGE (%)	26	25	5	6
g-casein (%wbm)	6.5	6.2	2.5	3.0
N_p (#/L)	6.2×10^{16}	7.2×10^{16}	6.2×10^{16}	8.1×10^{16}

Se observa que el aumento de la concentración de TBHP no produjo efectos significativos en la cinética de polimerización (Figura 3.7), pero favoreció la formación de nuevas partículas de polímero (incrementando N_p desde 6.2×10^{16} hasta 7.2×10^{16} y 8.1×10^{16} , para $C_{25}MR_{0/100}^*$ y $C_{50}MR_{0/100}^*$, respectivamente).


Figura 3.7. Evolución de la conversión para la homopolimerización de MMA en presencia de caseína y diferentes concentraciones de TBHP.

Sin embargo, al contrario de lo que se esperaba, las nuevas partículas generadas se formaron en su mayoría a través de la segunda vía de nucleación por sobre el mecanismo

de formación de partículas compatibilizadas, debido a que la fracción de PMMA injertado (es decir, el AGE) se redujo sin modificar prácticamente la conversión de MMA y la cantidad de caseína unida. Estos resultados indican que el TBHP es también responsable, junto con la concentración de caseína libre, de la formación de partículas por el segundo mecanismo de nucleación.

3.3.3. Mecanismo propuesto para la nucleación de partículas

Basándose en los resultados anteriores, se propuso que la formación y crecimiento de partículas, podrían seguir el mecanismo representado en la Figura 3.8. Antes de comenzar la polimerización, el sistema de reacción está compuesto por: i) caseína (ya sea disuelta en fase acuosa o presente en forma de micelas); ii) MMA (parcialmente solubilizado en fase acuosa e hinchando el interior hidrófobo de las micelas de caseína, y el resto en forma de gotas de monómero); y iii) TBHP (repartido entre las fases acuosa e hidrófoba). La denominada etapa 0 representa la iniciación redox entre los grupos amino de la caseína y el TBHP, formando radicales amino y tert-butoxi (Li et al., 2002). En la etapa 1a, el injerto de la caseína se produce en fase acuosa al comienzo de la reacción a través de la polimerización de injerto de MMA a partir de los radicales de caseína. Además, la propagación de radicales tert-butoxi con MMA, produce radicales homopoliméricos (etapa 1b). En la etapa 2a, los radicales de copolímero de injerto se vuelven insolubles en agua y se auto-ensamblan para formar microdominios de tipo micela (Zhu y Li, 2003). Estos microdominios micelares tienen un interior hidrofóbico capaz de contener moléculas de TBHP, radicales tert-butoxi propagantes (etapa 2ba) y MMA monomérico. La etapa 3a implica la formación de partículas compatibilizadas como el resultado de la polimerización de MMA a través de la copolimerización de injerto y las vías de homopolimerización. Por lo tanto, la formación de partículas compatibilizadas por la nucleación inicial antes mencionada, implica principalmente las etapas 1a, 2a y 3a. Vale la pena destacar que el TBHP disuelto dentro de las partículas de polímero compatibilizadas inicia la polimerización por reacción con los

grupos amino de la caseína injertada, en la interfaz caseína-PMMA, aumentando el tamaño de partícula y la fracción de acrílico injertado, pero sin modificar la CGE.

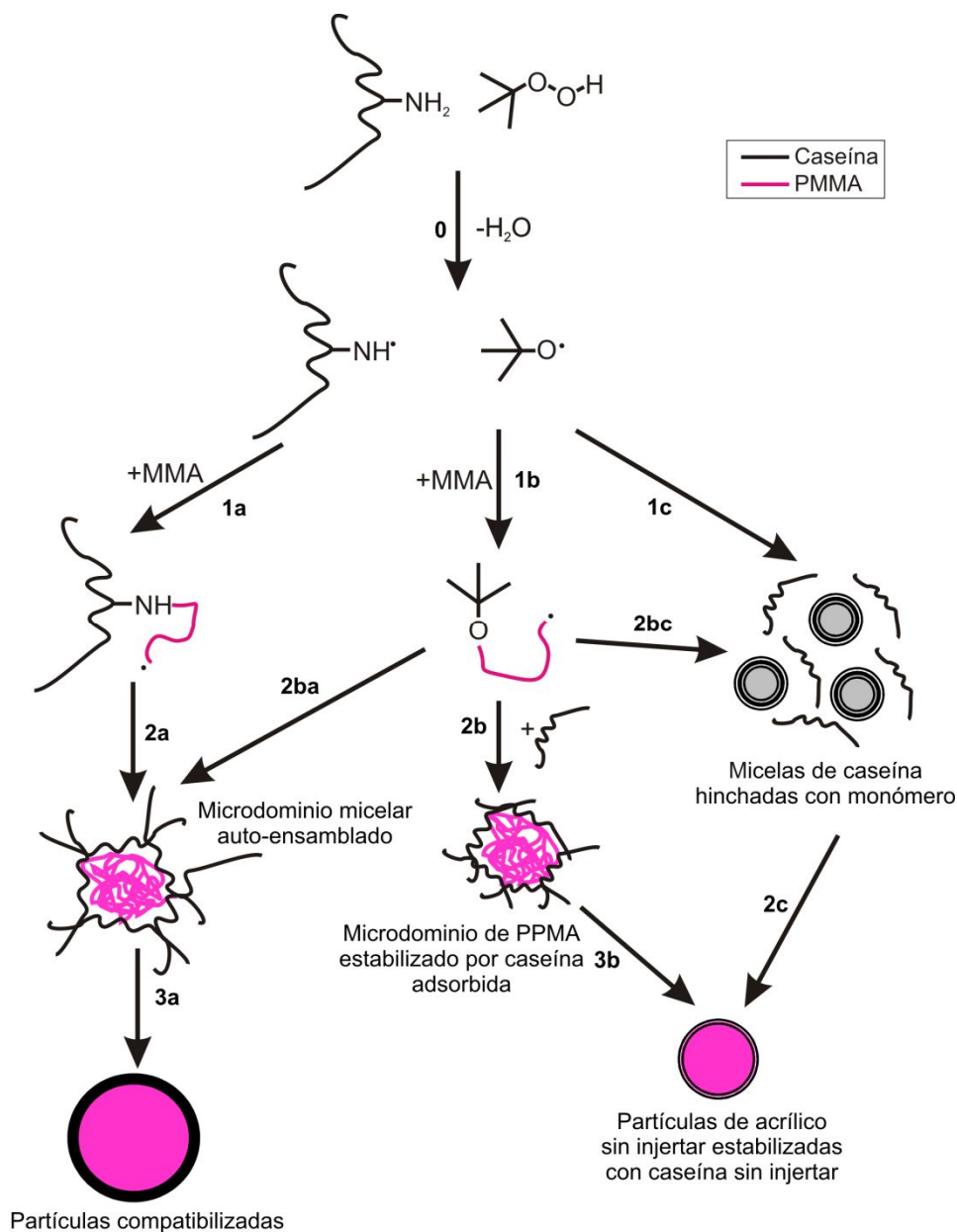


Figura 3.8. Mecanismo propuesto para la generación de partículas híbridas en la polimerización de MMA iniciada con TBHP y diferentes concentraciones de caseína.

Los radicales crecientes de MMA obtenidos por propagación de radicales tert-butoxi (etapa 1b) podrían coagular produciendo nuevos microdominios de PMMA no compatibilizado y estabilizados por caseína adsorbida físicamente (etapa 2b). Estos nuevos

microdominios, con un interior hidrofóbico, contienen en su núcleo radicales tert-butoxi y MMA monomérico. Por otro lado, los radicales tert-butoxi (altamente hidrofóbicos) producidos en fase acuosa en la etapa 0, o los radicales crecientes obtenidos en la etapa 1b, podrían entrar en las micelas de caseína hinchadas con monómero (pasos 1c y 2bc). Estos pasos se vuelven más importantes a altas concentraciones de caseína, donde la disponibilidad de micelas es mayor. Las imágenes de AFM y TEM de la Figura. 3.9.a,b confirman la existencia de micelas de caseína para una solución de 20 mg/ml de proteína, equivalente a la concentración del látex C₂₅MR_{0/100}. Puede notarse a partir de la Figura 3.9.a que las micelas presentan un tamaño del orden de 400 nm y están constituidos por subunidades de 50-100 nm. Estos subagregados proteicos son capaces de disgregarse durante la polimerización, siendo un potencial sitio para la nucleación de partículas. La Figura 3.9.b muestra que las subunidades de las micelas de caseína pueden incluso ser muy pequeñas, de aproximadamente 10-20 nm. También se observó por DLS que el tamaño de los agregados micelares aumentan con la concentración de caseína (Figura 3.9.c). Los valores de tensión superficial (γ) presentados en la Tabla 3.2 también avalan la existencia de agregados micelares en los látex finales, ya que en todos los casos γ resultó muy próximo a $\gamma_{cmc}=55.5$ mN/m (sección 2.3.1.3 del Capítulo 2).

La propagación de los radicales alcoxi con el MMA disuelto dentro de los microdominios producidos después de la etapa 2b y la nucleación en micelas de caseína, generada después de los pasos 1c y 2bc dan lugar a nuevas partículas de polímero formadas por PMMA y caseína no injertada, reconociendo este fenómeno como el segundo mecanismo de nucleación (pasos 3b y 2c, respectivamente). Vale la pena señalar que el llamado segundo mecanismo de nucleación, donde participan la caseína libre y los radicales tert-butoxi, podría estar presente desde el inicio de la polimerización.

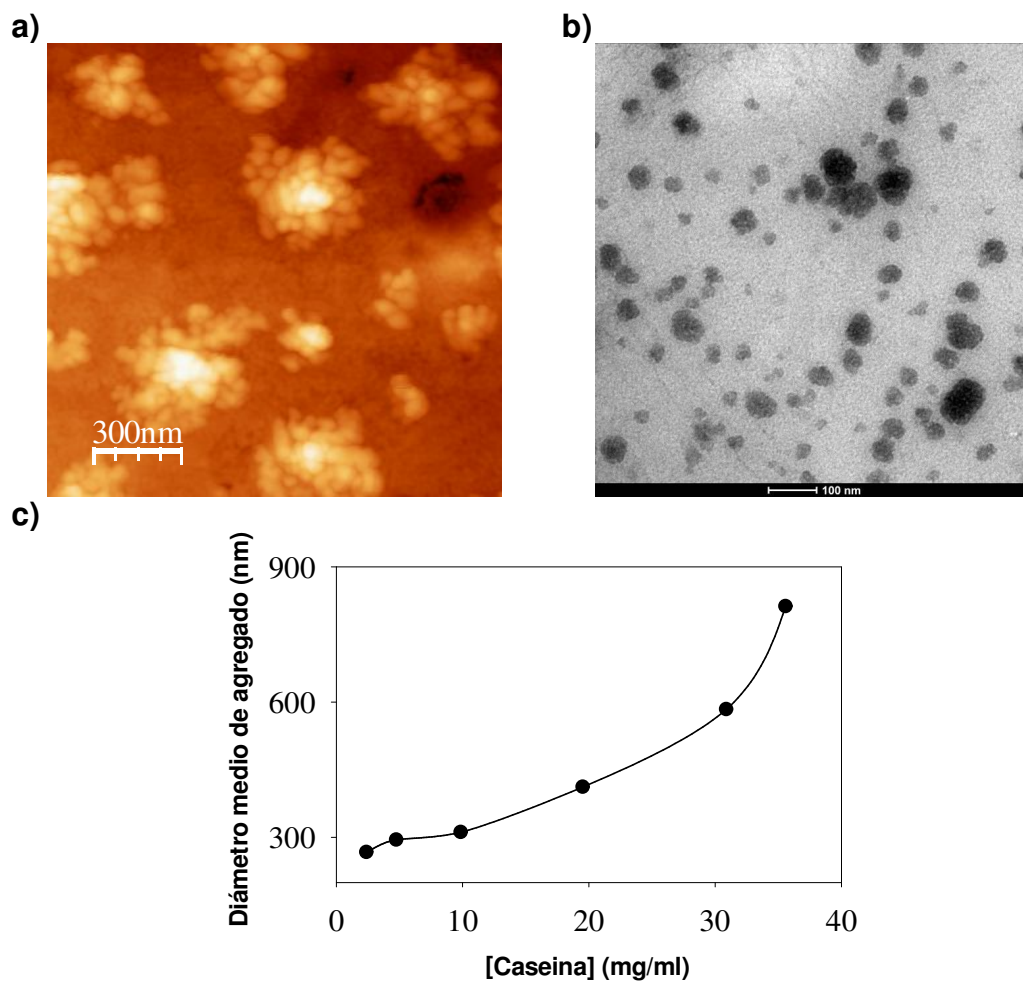


Figura 3.9. Imágenes de AFM (a) y TEM (b) de dos soluciones de caseína. c) Tamaño de los agregados micelares en función de la concentración de caseína.

En los casos en los que la concentración de caseína es baja, la mayor parte de la proteína se injerta al comienzo de la polimerización (Figura 3.4), lo que limita la concentración de caseína en la fase acuosa y la formación de micelas. En consecuencia, la posterior ocurrencia de la etapa 0 en fase acuosa está fuertemente restringida; y por lo tanto la forma predominante del progreso de la polimerización es la iniciación dentro de las partículas compatibilizadas. Además, la disponibilidad de grupos amino en la interfaz caseína-PMMA está restringida, y podría ser responsable de la conversión límite de MMA observada a baja concentración de caseína.

En contraste, cuando la concentración de caseína es alta, la formación de partículas se produce principalmente a través de un segundo modo de nucleación, siguiendo los posibles

camino 1b-3b y 1c-2c de la Figura 3.8. En estas condiciones, las fracciones de caseína y acrílico injertado resultan reducidas (Tabla 3.2) y una gran fracción de las partículas producidas están constituidas por acrílico no injertado y estabilizadas con caseína libre.

En particular se puede ver que el incremento de la concentración de caseína desde 3 hasta 12 ppm favorece la reacción de injerto en fase acuosa (etapas 0 y 1 a), aumentando la cantidad de caseína injertada. Sin embargo, una mayor adición de caseína aumenta la disponibilidad de proteína libre (disuelta y en forma de micelas) la cual promueve el segundo mecanismo de nucleación, lo que produce una reducción del peso efectivo de proteína injertada (g-caseína). Del mismo modo, el incremento en la concentración de TBHP mejora la disponibilidad de los radicales tert-butoxi y promueve el segundo mecanismo de nucleación.

3.4. CONCLUSIONES

En este capítulo se estudió la polimerización en emulsión de MMA en presencia de caseína mediante el empleo de diferentes concentraciones de proteína, con el objetivo de producir látex híbridos PMMA-caseína. La caracterización de la microestructura molecular de los nanocompuestos híbridos nos permitió determinar las fracciones injertadas de caseína y polímero acrílico, lo cual ayudó a comprender los mecanismos involucrados en la nucleación de las partículas. Se identificaron dos principales mecanismos competitivos a lo largo de la polimerización "batch" de MMA en presencia de caseína y TBHP como iniciador. La iniciación TBHP/NH₂-caseína promovió la formación de partículas compatibilizadas al comienzo de la polimerización, mientras que un segundo mecanismo de nucleación (probablemente presente a lo largo de todo el proceso) genera partículas no compatibilizadas (por coagulación de radicales hidrófobos o por absorción de estos radicales en micelas de proteína).

La concentración de caseína empleada podría favorecer un mecanismo de nucleación sobre el otro. La polimerización con baja concentración de caseína produce principalmente

partículas acrílico-caseína compatibilizadas (es decir, con una alta proporción de cada componente químicamente unido). Sin embargo, cuando la concentración de caseína se incrementa, la nucleación de partículas no compatibilizadas (es decir, compuestas por acrílico y caseína no injertados) se vuelve más importante, y a una concentración de caseína de 50 ppm el segundo camino de nucleación es predominante.

Finalmente, los resultados obtenidos sugieren que el proceso empleado debe ser modificado para mejorar la compatibilización de las nanopartículas, cuando se requiere una alta concentración de caseína.

Capítulo 4: Síntesis de látex híbridos de poli(acrilato de n-butilo-co-metacrilato de metilo)-caseína y su aplicación en recubrimientos*

4.1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, la industria de polímeros ha realizado importantes esfuerzos para desarrollar procesos amigables con el medio ambiente, que eviten la emisión de compuestos orgánicos volátiles (VOC), y/o sustituyan total o parcialmente los monómeros derivados del petróleo por materias primas renovables. En el campo de los recubrimientos, los polímeros en base acuosa utilizados como ligantes, aparecen como una alternativa ecológica a aquellos en base solvente (Urban y Takamura, 2002). Por otra parte, las proteínas tienen un gran potencial para la sustitución de los productos petroquímicos utilizados en la actualidad, puesto que a partir de estos recursos se pueden obtener monómeros y polímeros (Huber et al., 2006). En esta dirección, la caseína bovina, es un material con muy buena biocompatibilidad y biodegradabilidad, fácilmente disponible en alta pureza y bajo costo (Li et al., 2000; Salzberg et al., 1961). Como se mencionó en el Capítulo 3, la caseína ha sido utilizada por mucho tiempo en aplicaciones de formación de película debido a su buena aceptación al teñido, el aspecto glaseado sobre las superficies en las que se aplica y su buena penetrabilidad al sustrato. Sin embargo, las películas de caseína son altamente susceptibles al ataque microbiano y presentan baja flexibilidad, extensibilidad y resistencia al agua (Liu et al., 2002).

Uno de los mayores desafíos para los ligantes empleados en recubrimientos de base acuosa es cumplir simultáneamente con dos exigencias antagónicas: a) baja temperatura

*Parte de los resultados de este capítulo fueron publicados en: M.L. Picchio, M.C.G. Passeggi (Jr), M.J. Brandiaran, L.M. Gugliotta, R.J. Minari. "Waterborne acrylic-casein latexes as eco-friendly binders for coatings", *Prog, Org. Coat.*, 88, 8-16 (2015).

mínima de formación de película (MFFT), para asegurar una buena formación de film durante aplicaciones a temperatura ambiente (<15°C); y b) buena resistencia al bloqueo y aceptable dureza de la película, lo cual se logra empleando polímeros con una temperatura de transición vítrea (T_g) por encima de la temperatura ambiente. Tradicionalmente, se utilizan agentes de coalescencia para plastificar el aglutinante durante la formación de película, disminuyendo su T_g y permitiendo la formación de un recubrimiento suave a temperatura ambiente. Una vez formada la película, el coalescente se evapora y el material recupera su dureza y características de bloqueo. Sin embargo, además del problema ambiental de la liberación de VOC a la atmósfera, el mercado está demandando recubrimientos con menor olor, y los disolventes de coalescencia de los látex son, claramente, una fuente de ese olor. Otra alternativa para solucionar este problema es introducir una fase más dura a un ligante blando que migre a la superficie de la película mientras ella se seca. Típicamente, algunas alternativas implican el uso de mezclas de partículas de látex duras y blandas (Winnik y Feng, 1996; Eckersley y Helmer, 1997; Tang et al., 2000; Tzitzinou et al., 2000; Colombini et al., 2005; Tomba et al., 2009; Ugur et al., 2010; Nunes et al., 2014) o agentes de superficie activa como materiales basados en silicio, ceras o aditivos fluorados. En este escenario, el uso de un compuesto natural con una alta T_g (182 °C), como la caseína, combinado con un polímero acrílico blando podría ser una alternativa prometedora para producir aglutinantes nanoestructurados en base acuosa, que alcancen simultáneamente estos requisitos antagónicos.

La síntesis de látex a base de caseína como materiales formadores de película fue previamente estudiada mediante la utilización de iniciadores persulfato junto con bisulfito de sodio como par redox (Xu et al., 2013; Ma et al., 2013). Sin embargo, la caseína se oxida fácilmente en presencia de estos iniciadores, produciendo amarillamiento en los recubrimientos, lo cual es indeseable desde el punto de vista estético (Li et al., 2000).

Por otra parte el sistema de iniciación redox tert-butil hidroperóxido (TBHP)/NH₂-propuesto por Li et al. (2002), parece no producir reacciones de pardeamiento sobre los

materiales híbridos, superando así este inconveniente (Ye et al., 2005). En la Figura 4.1 se presenta una imagen comparativa entre dos películas híbridas de n-PBA-caseína, conteniendo 25 pphm de proteína, y sintetizadas con KPS (a) y TBHP (b) como iniciador, donde se observa claramente la diferencia de opacidad entre ambos materiales.

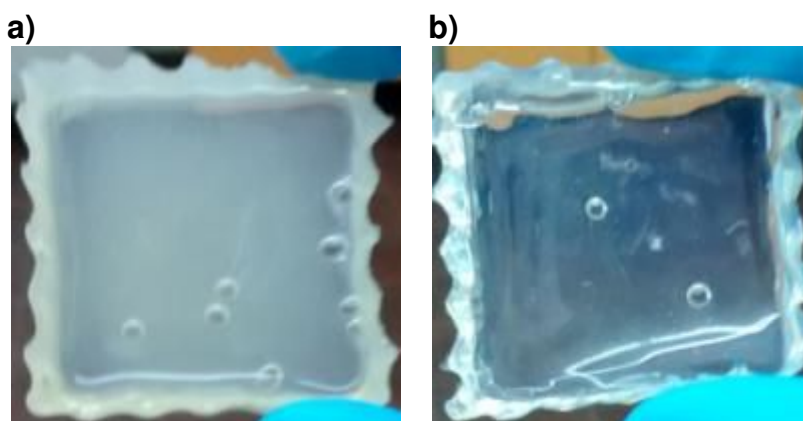


Figura 4.1. Películas híbridas con 25 pphm de caseína, sintetizadas con(a) KPS y (b) TBHP como iniciador.

En el presente capítulo, se estudió la síntesis de látex híbridos acrílico-caseína con el objetivo de obtener un ligante ecológico con baja MFFT, buena resistencia al bloqueo, dureza, y capaz de ser parcialmente biodegradado en condiciones de compostaje. En primer lugar, se estudió la síntesis de nanopartículas en dispersión acuosa con diferentes concentraciones de caseína; empleando formulaciones monoméricas típicamente utilizadas en la producción de recubrimientos, copolímeros de acrilato de n-butilo/metacrilato de metilo (n-BA/MMA), que proporcionan una buena formación de film y una adecuada resistencia mecánica. Con el objeto de mantener constante la T_g teórica de los nanocompuestos igual a -10°C , la relación n-BA/MMA fue modificada de acuerdo a la cantidad de caseína utilizada en la polimerización, desde n-BA puro hasta n-BA/MMA: 63/37 p/p. Así, la fracción de MMA ($T_{g, PMMA} = 100^{\circ}\text{C}$) se incrementó a medida que se redujo la concentración de proteína en la formulación. Finalmente, se analizaron las propiedades de formación de película de los látex obtenidos, incluyendo su morfología, MFFT, dureza, resistencia al bloqueo, extensibilidad y biodegradabilidad en condiciones de compostaje.

4.2. TRABAJO EXPERIMENTAL

La descripción detallada de los materiales, la especificación de los equipos, métodos de síntesis y caracterización, empleados a lo largo del trabajo experimental de ésta Tesis, se presentaron en el Capítulo 2. Por esta razón, a continuación se hará referencia sólo a los aspectos del trabajo experimental que se aplican específicamente a éste capítulo.

4.2.1. Polimerización

En la Tabla 4.1 se presenta una receta general de polimerización. La caseína fue disuelta en el reactor en una solución de Na_2CO_3 (pH 11), y el sistema se mantuvo bajo agitación y burbujeo de nitrógeno hasta alcanzar la temperatura de reacción ($T_r = 80\text{ }^\circ\text{C}$). Luego se procedió con la carga de los monómeros, los cuales fueron previamente mezclados magnéticamente. La relación n-BA/MMA se varió desde n-BA puro hasta 63/37 p/p de la siguiente manera: 100/0, 80/20, 70/30, 65/35 y 63/37.

Tabla 4.1. Receta general para la síntesis de látex híbridosde acrílico-caseína.

Reactivo	Cantidades (pphm) ^(a)
n-BA/MMA	100
Caseína	3 - 50
TBHP	0.2
Na_2CO_3	2.5
H_2O	412-600

(a) pphm: partes por cien de monómero.

Note que las diferentes relaciones monoméricas, junto con la concentración de caseína utilizada en cada formulación, permiten obtener una T_g global de los nanocompuestos igual a $-10\text{ }^\circ\text{C}$, de acuerdo a la ecuación de Fox (1956). Una vez lograda la emulsión, se inyectó el iniciador, dando comienzo a la polimerización. El tiempo total de reacción fue en todos los casos de 3 h. Todos los látex se sintetizaron con un contenido de sólidos (SC) de 20%. En la

sección 2.2.1 del Capítulo 2 puede encontrarse una descripción más detallada de la metodología y de los sistemas de polimerización empleados.

4.2.2. Caracterización de los látex

A lo largo de las reacciones se tomaron muestras y sobre ellas se realizaron las siguientes mediciones: i) conversión de monómero (x), por gravimetría; y ii) diámetros medios de partículas (\bar{d}_p), por dispersión de luz dinámica (DLS) a un ángulo de detección de 90°. Las distribuciones de tamaños de partículas (PSDs), en base al peso, fueron obtenidas por fraccionamiento hidrodinámico capilar (CHDF). El número de partículas por litro de látex (N_p) se obtuvo a partir de los datos de x y de las mediciones de \bar{d}_p , como se indicó en la sección 2.3.1.2 del Capítulo 2.

La caracterización de la arquitectura molecular de los látex híbridos acrílico-caseína se determinó principalmente por la fracción de caseína injertada en el polímero acrílico (CGE), y la fracción insoluble (IF) de las nanopartículas híbridas. La CGE se determinó empleando el procedimiento de múltiples centrifugaciones, redispersiones y caracterización por UV detallado en la sección 2.3.2.2 del Capítulo 2. La IF se determinó por extracción Soxhlet con tetrahidrofurano (THF) durante 24 h de acuerdo al procedimiento descrito en la sección 2.3.2.1 del Capítulo 2. Vale la pena recordar que IF está compuesta por el gel acrílico, la caseína libre (también insoluble en THF) y el copolímero de injerto acrílico-caseína.

La morfología de las partículas se observó por microscopía de transmisión electrónica (TEM), en un microscopio TECNAI G2 20 TWIN (200kV, LaB6), de la Universidad del País Vasco, San Sebastián (España), previa dilución y tinción positiva del látex con ácido fosfotúngstico (PTA), el cual reacciona con los grupos amino de la caseína, observándose esta fase de color oscuro (Smith y Bryg, 2006).

4.2.3. Caracterización de las películas

Las películas se prepararon por "casting" en moldes de silicona y luego se secaron a 22 °C y una humedad relativa del 55% durante 7 días para conseguir un peso constante de los materiales. Las muestras fueron cuidadosamente retiradas del sustrato de silicona, obteniéndose un espesor final de película de aproximadamente 1 mm.

La morfología de las películas se determinó mediante el uso de microscopia de fuerza atómica (AFM), siguiendo los procedimientos descritos en la sección 2.3.5.1 del Capítulo 2. La MFFT de los látex sintetizados se determinó empleando el método óptico detallado en la sección 2.3.5.2 del Capítulo 2. También se llevaron a cabo mediciones de opacidad, ángulos de contacto (CA) y resistencia al bloqueo de las películas, mediante las técnicas descritas en las secciones 2.3.5.3-5, del Capítulo 2. El comportamiento mecánico de los materiales acrílico-caseína se determinó mediante ensayos de tracción y de dureza. Ambas técnicas se detallaron oportunamente en la sección 2.3.5.6 del Capítulo 2. El desempeño térmico y termomecánico de las películas híbridas se estudió mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC), análisis termogravimétrico (TGA) y análisis termomecánico dinámico (DMTA), tal y como se describió en la sección 2.3.5.7 del Capítulo 2. La resistencia de los copolímeros híbridos frente a diferentes condiciones, tales como solventes orgánicos, agua y compostaje, se evaluó también siguiendo las técnicas descritas en las secciones 2.3.5.8-9 del Capítulo 2.

4.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.3.1. Cinética de polimerización y microestructura molecular

La Tabla 4.2 resume los resultados de x , \bar{d}_p , N_p , CGE e IF de los experimentos llevados a cabo con diferentes cantidades de caseína y relaciones de n-BA/MMA, manteniendo constantes los demás reactivos. Los códigos de los experimentos siguen la misma nomenclatura presentada en el capítulo anterior, es decir contienen la abreviatura C con un subíndice que indica la concentración de caseína en pphm, seguido por la abreviatura MR

con un subíndice que indica la relación en peso de monómero n-BA/MMA. Por lo tanto, en el experimento C₃MR_{63/37}, la concentración de caseína fue 3 pphm y la relación n-BA/MMA en peso fue 63/37.

Tabla 4.2. Copolimerización de n-BA/MMA en presencia de diferentes concentraciones de caseína (3-50 pphm). Características finales de los látex y propiedades de microestructura molecular.

Experimento	x (%)	\bar{d}_p (nm)	Np (#/L)	CGE (%) ^a	IF(%) ^b
C ₃ MR _{63/37}	41	194	1.92x10 ¹⁶	91 (2.7)	84 [0]
C ₆ MR _{65/35}	58	166	4.28x10 ¹⁶	63 (3.8)	84 [0]
C ₁₂ MR _{70/30}	79	154	6.43x10 ¹⁶	44 (5.3)	81 [0]
C ₂₅ MR _{80/20}	91	122	1.42x10 ¹⁷	20 (5.0)	85 [40]
C ₅₀ MR _{100/0}	90	154	5.86x10 ¹⁶	10 (5.0)	94 [88]

^aEntre paréntesis se presenta los gramos de caseína injertada por cada cien gramos de monómero.

^bEntre corchetes se presenta la IF correspondiente a los acrílicos puros.

La Figura 4.2.a-c muestra la evolución a lo largo de las polimerizaciones de x , Np y CGE. Como puede verse, cuando la concentración de caseína se incrementó desde 3 hasta 50 pphm, se produjo un incremento en la x final y en la velocidad inicial de polimerización, después de un período común de inducción (Figura 4.2.a). Este comportamiento cinético fue muy similar al discutido en el capítulo anterior, en donde se utilizó MMA como único monómero para la síntesis de las nanopartículas. En dicho capítulo, el incremento en la velocidad de polimerización y en la x final fue atribuido al aumento de la concentración de caseína en el medio de reacción, lo cual a su vez producía una mayor disponibilidad de grupos amino capaces de interactuar con TBHP; y de esa manera incrementaba la concentración de radicales y el Np (Tabla 4.2). En este caso, además, la velocidad de polimerización se incrementa con la concentración de caseína como consecuencia de la reducción del contenido de MMA en la formulación monomérica. Esto es debido a que el MMA posee una menor constante de velocidad de propagación en comparación con el n-BA

y como consecuencia, un incremento en la cantidad de MMA en la receta, produce una disminución de la constante de velocidad de propagación promedio (Gonzalez et al., 2007).

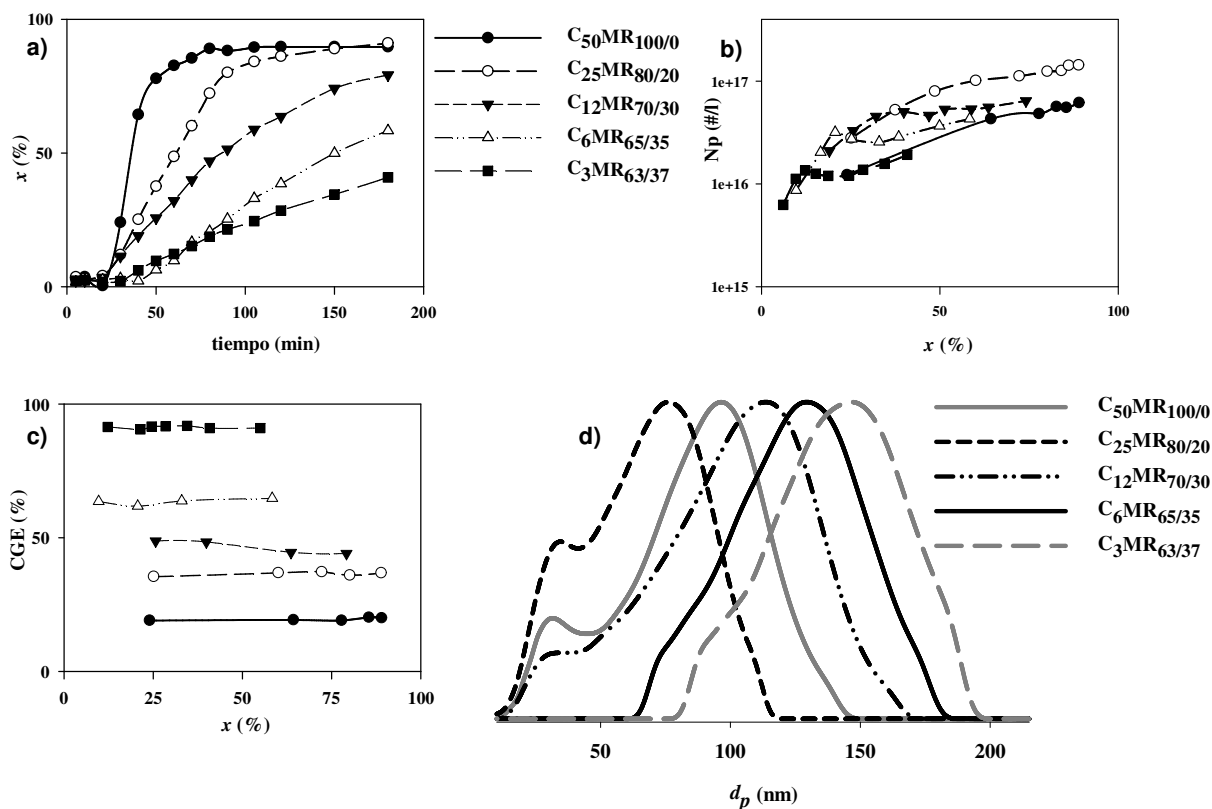


Figura 4.2. Copolimerización en emulsión de n-BA/MMA en presencia de distintas concentraciones de caseína: Evolución de (a) la conversión, (b) el número de partículas, y (c) CGE. (d) PSDs en masa finales (normalizadas para el mismo máximo).

En la Tabla 4.2 también puede observarse que los \bar{d}_p disminuyen cuando se incrementa el contenido de caseína desde 3 a 25 pphm con diferentes relaciones de n-BA/MMA, mientras que el experimento $C_{50}MR_{100/0}$ está fuera de esta tendencia, probablemente debido a que sólo se utilizó n-BA en esta formulación.

Las evoluciones de N_p y CGE de la Figura 4.2.b,c indican la existencia de una generación continua de partículas a lo largo del proceso, con una importante contribución de partículas no compatibilizadas que no implican injerto de caseína (CGE es constante a lo largo de la polimerización). Esto sugiere que la inclusión de n-BA en la formulación monomérica no modificó el mecanismo de nucleación e injerto propuesto en el capítulo

anterior. La Figura 4.2.d muestra las PSDs de los látex finales con diferentes concentraciones de caseína, donde se evidenció la presencia de dos poblaciones de partículas.

En la Tabla 4.2 se observa que la IF de las nanopartículas híbridas resultó elevada (81-94%). La IF de los polímeros acrílicos homólogos puros (es decir, el contenido de gel) se incluyó entre paréntesis en la Tabla 4.2. Estos resultados indican que el polímero acrílico no presentó gel mientras el contenido de MMA fue superior a 20 pphm. Es por ello que para bajos contenidos de proteína (menores o iguales a 12 pphm), la fracción insoluble se compondría únicamente de caseína y copolímero de injerto acrílico-caseína. Entonces, debido a que con el aumento de la cantidad de caseína, su fracción libre también aumenta, la invariancia de IF para 3-12 pphm de proteína, sugiere una reducción de la fracción de acrílico injertado. En otras palabras, el incremento en la concentración de caseína produce una disminución en la cantidad de polímero híbrido formado, debido a la mayor contribución del mecanismo de nucleación secundario. Si bien es esperable que este comportamiento también este presente con altas concentraciones de caseína (25 y 50 pphm), la presencia de gel dificulta el análisis.

La Figura 4.3 muestra la morfología de las partículas obtenidas por TEM de los látex finales, con diferentes contenidos de caseína. Las micrografías muestran que las partículas son esféricas y presentan una morfología semejante a la observada en las partículas de PMMA-caseína, con una delgada piel oscura de proteína debido a su tinción con PTA y un núcleo acrílico blando. Las imágenes de TEM también indican que las partículas acrílico-caseína son bastante blandas, por lo que se deforman con facilidad al entrar en contacto unas con otras.

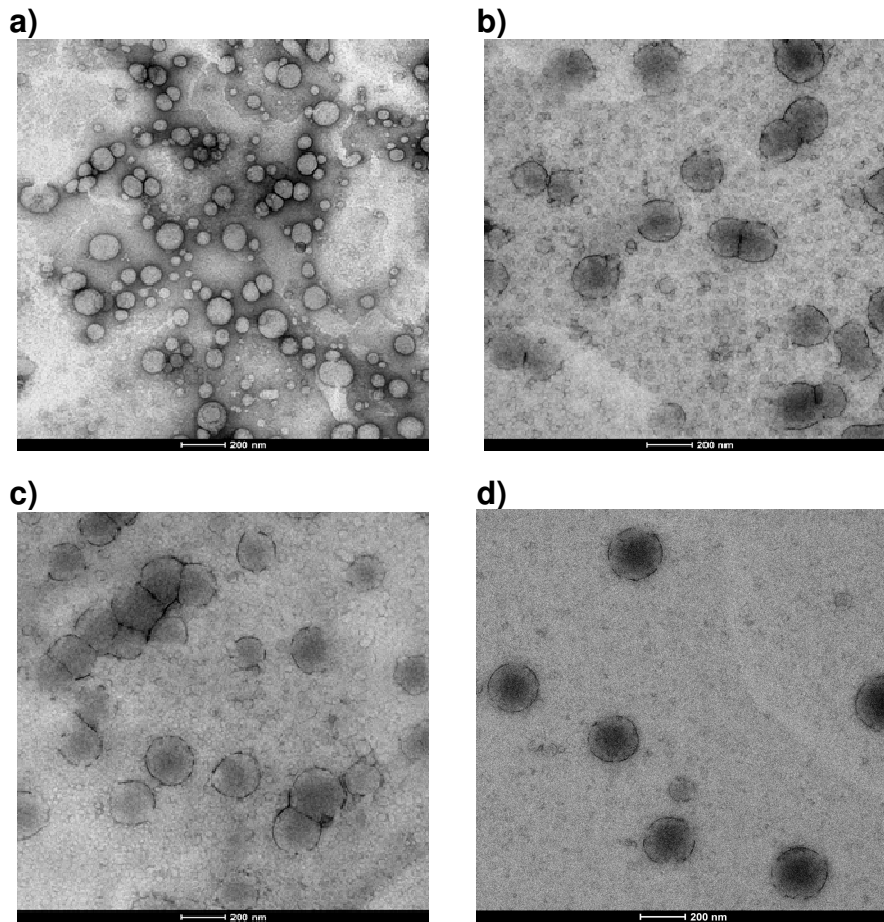


Figura 4.3. Micrografía de TEM de las partículas obtenidas por polimerización en emulsión de n-BA/MMA con diferentes concentraciones de caseína: (a) $C_{50}MR_{100/0}$, (b) $C_{12}MR_{70/30}$, (c) $C_6MR_{65/35}$, y (d) $C_3MR_{63/37}$.

4.3.2. Morfología de las películas

Conocer la morfología de las películas es esencial para comprender adecuadamente el comportamiento de los materiales híbridos, y por esta razón se llevó a cabo un estudio detallado de los materiales obtenidos a partir de diferentes concentraciones de caseína. La Figura 4.4 muestra las imágenes de topografía y fase obtenidas por AFM, de la superficie de las películas con concentraciones de caseína de 50, 25, 12 y 3 pphm. Adicionalmente, la morfología interna de los materiales con 3 y 50 pphm de proteína (contenidos mínimo y máximo estudiados), se presenta en la Figura 4.5. Los dominios blandos en la imagen de fase de AFM, que corresponden al polímero acrílico, se muestran en color oscuro; mientras que los dominios duros de caseína se pueden ver de un color claro.

Las imágenes topográficas de la superficie de los films muestran un empaquetamiento al azar de partículas no coalescidas. Este tipo de distribución de partículas en el film es típico de látex no uniformes en tamaño (Keddie, 1997), lo cual está de acuerdo con los resultados de CHDF presentados en la Figura 4.2.d.

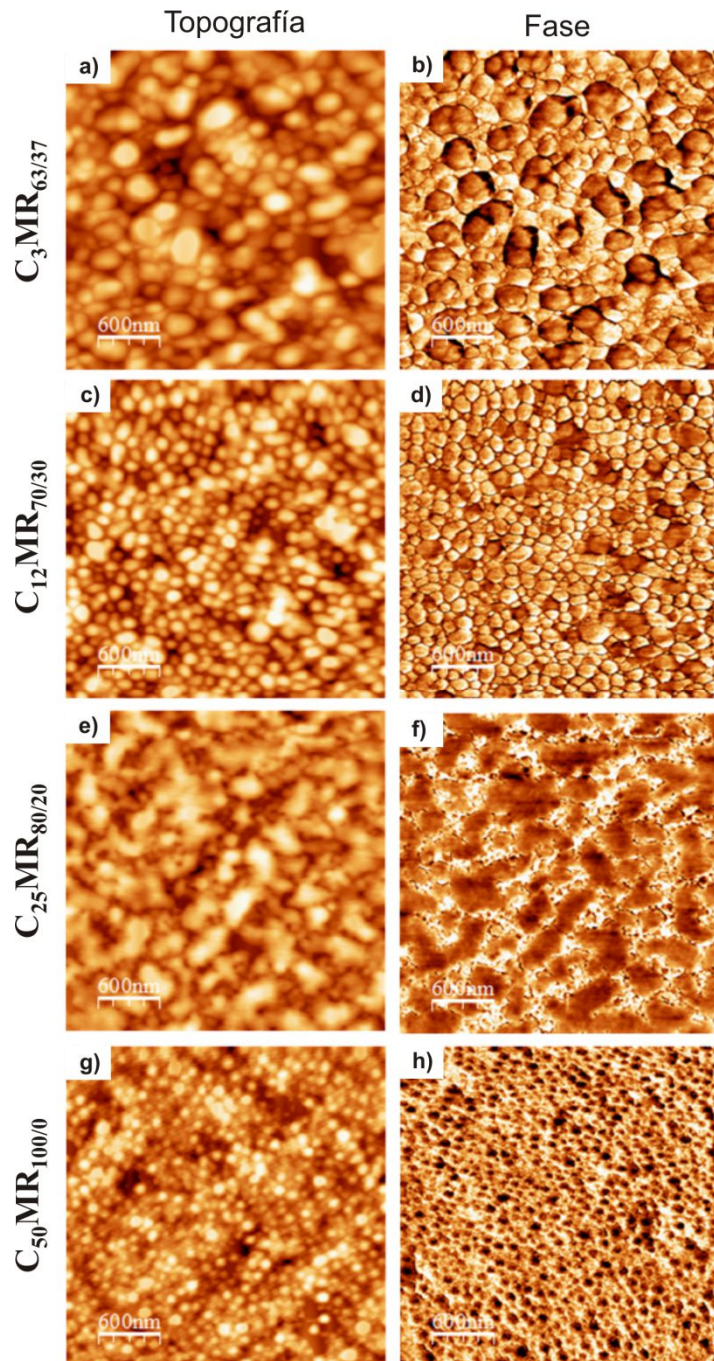


Figura 4.4. Imágenes (3 μm x 3 μm) de topografía (a, c, e, g) y fase (b, d, f, h) obtenidas por AFM de la superficie de las películas $C_3MR_{63/37}$ (a,b), $C_{12}MR_{70/30}$ (c,d), $C_{25}MR_{80/20}$ (e,f), y $C_{50}MR_{100/0}$ (g,h).

Cuando se utiliza una baja concentración de proteína (3-12 pphm), se logra una alta compatibilidad biopolímero/polímero sintético (CGE= 91-44%), y por lo tanto la caseína se encuentra mayormente injertada al polímero acrílico. En este caso, las imágenes de fase de la superficie de las películas muestran principalmente dominios de caseína dura (Figura 4.4.b y 4.4.d). La sección transversal de la película $C_3MR_{63/37}$ (Figura 4.5.b) confirma la presencia de partículas núcleo-coraza parcialmente coalescidas, con un núcleo acrílico blando y una coraza delgada de caseína. La imagen de fase 4.5.b cuenta con una ampliación en la esquina superior derecha, donde se aprecia en detalle la morfología interna de la película. Esta observación ratifica que los dominios duros que se encuentran en la superficie de la película de las muestras con bajo contenido de proteína, corresponden a las corazas de las partículas, compuestas principalmente por caseína injertada.

Por otro lado, cuando se emplea una alta concentración de caseína (25-50 pphm), la compatibilidad acrílico-biomaterial se reduce significativamente (CGE= 20-10%), presentando estos látex una gran cantidad de proteína no injertada. En este escenario, la caseína libre actúa como una fase móvil y, durante la formación de película, podría producirse una migración de la proteína, conduciendo a la generación de agregados (Goikoetxea et al., 2012). La imagen de fase del material con 25 pphm muestra que la superficie de la película está constituida principalmente por partículas acrílicas blandas con dominios duros de caseína (Figura 4.4.f), indicando que una apreciable fracción del biomaterial no injertado migra hacia dentro del film. Cuando el contenido de proteína es incluso más alto (50 pphm), la mayor cantidad de caseína no injertada es capaz de cubrir la superficie del film, formando una matriz de caseína dura conteniendo pequeños dominios acrílicos blandos (Figura 4.4.h). La distribución de los agregados de caseína en el interior del film $C_{50}MR_{100/0}$ resultó similar a aquella observada en su superficie, donde los dominios duros rodean las partículas acrílicas (Figura 4.5.d).

Vale la pena resaltar que la segregación de fases observada en las películas $C_{50}MR_{100/0}$ y $C_{25}MR_{80/20}$, no estuvo presente en los materiales con baja concentración de caseína, lo

cual es un indicativo de que el alto porcentaje de proteína injertada en aquellos látex evitó la migración de componentes durante la formación de película.

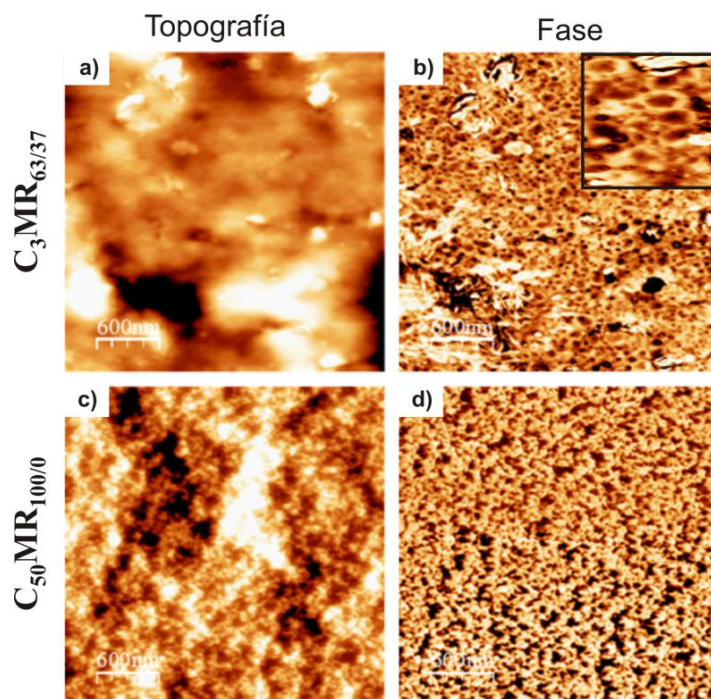


Figura 4.5. Imágenes (3 μm x 3 μm) de topografía (a,c) y fase (b,d) obtenidas por AFM de los cortes transversales de las películas $C_3MR_{63/37}$ (a,b), y $C_{50}MR_{100/0}$ (c,d).

4.3.3. Propiedades de las películas

A pesar de que las películas de caseína son quebradizas, los látex híbridos fueron capaces de formar materiales flexibles y transparentes a temperatura ambiente (Figura 4.6).

La Tabla 4.3 resume los resultados de MFFT, T_g , temperatura máxima de descomposición ($T_{d_{max}}$), opacidad y CA para las películas híbridas, junto con las características correspondientes a las películas de los materiales puros. En el código para las películas puras, el subíndice que indica la concentración del componente ausente es igual a 0.



Figura 4.6. Fotografía de las películas con diferentes concentraciones de caseína.

A pesar de que la caseína es un material duro, con una Tg cercana a 185°C, la MFFT medida para una solución de dicha proteína fue 11°C, debido al importante efecto de plastificación del agua durante la formación de film. La MFFT de los látex híbridos resultó en todos los casos inferior a 2 °C, (la temperatura mínima del rango de medición), lo que indica que la incorporación de caseína no afectó apreciablemente la formación de película. Este fenómeno podría ser una consecuencia de que la adición de proteína, no modificó significativamente la Tg del sistema (Tabla 4.3). Contrario a lo reportado por Zhu y Li (2003), los látex híbridos no presentaron una Tg intermedia entre el polímero acrílico y la caseína, sino más bien una separación de fases, con las transiciones vítreas de cada material. Estos resultados están de acuerdo con lo reportado por Cao et al. (2012) para copolímeros de injerto de n-isopropil acrilamida (NIPA)/caseína.

Vale la pena mencionar que la elevada Tg de la muestra C₃MR_{63/37}, con respecto a su acrílico homólogo, podría atribuirse a una diferencia en la composición del polímero acrílico debido a la conversión límite obtenida en esta polimerización (x = 41%). A baja conversión, podría obtenerse un copolímero más rico en MMA que la composición monomérica de la formulación, como consecuencia de la diferencia en las relaciones de reactividad de los monómeros ($r_{\text{MMA}} = 2,24$ y $r_{\text{n-BA}} = 0,414$; Hutchinson et al., 1997). De acuerdo a la ecuación

de Fox (1956), una T_g de 7 °C correspondería a un copolímero de composición n-BA/MMA= 48/52.

Tabla 4.3. Propiedades de las películas correspondientes a los látex híbridos de acrílico-caseína y homólogos puros. Resultados de MFFT, T_g , $T_{d_{max}}$, Opacidad y CA.

Experimento	MFFT (°C)	T_g (°C) ^a	$T_{d_{max}}$ (°C)	Opacidad/espesor (AU×nm/mm)	CA (°)
C₁₀₀MR_{0/0}	11	183	316	407.3	66.0
C₃MR_{63/37}	<2	7	380	716.3	66.8
C₀MR_{60/40}	<2	-10	331	160.6	83.9
C₆MR_{65/35}	<2	-12	390	144.7	69.5
C₀MR_{65/35}	<2	-16	367	155.2	80.0
C₁₂MR_{70/30}	<2	-25	396	131.2	73.9
C₀MR_{70/30}	<2	-22	365	146.9	85.2
C₂₅MR_{80/20}	<2	-33	402	54.4	81.6
C₀MR_{80/20}	<2	-34	370	126.2	80.6
C₅₀MR_{100/0}	<2	-48	404	85.1	76.2
C₀MR_{100/0}	<2	-54	403	166.1	85.5

^aTemperatura de transición vítrea correspondiente a la fase acrílica.

A partir de la Tabla 4.3 puede observarse que la $T_{d_{max}}$ de los materiales híbridos resultó, en todos los casos, superior a aquella correspondiente a los acrílicos puros. A pesar de que la caseína presenta una $T_{d_{max}}$ inferior a la de los copolímeros acrílicos, la compatibilidad entre las fases proteína/polímero, produjo un efecto sinérgico entre ambos materiales permitiendo incrementar la estabilidad térmica de la matriz polimérica. Además, nótese que a medida que se aumenta el contenido de caseína, la diferencia entre los valores de $T_{d_{max}}$ de los materiales híbridos con respecto a los acrílicos puros resulta menor como consecuencia de una reducción en la compatibilidad alcanzada. También puede observarse (Tabla 4.3), que la $T_{d_{max}}$ de los materiales híbridos, al igual que en los acrílicos puros, se incrementó con el contenido de n-BA en la formulación monomérica. Esto es atribuido al hecho de que el n-PBA presenta una $T_{d_{max}}$ superior a la del PMMA, y por lo tanto los

copolímeros más ricos en n-BA muestran una mayor resistencia a la degradación térmica (Grassie, 1972; Grassie y Fortune, 1972).

La Figura 4.7 muestra la variación de la velocidad de descomposición con la temperatura para los materiales producidos con diferentes concentraciones de caseína. Se observa que la caseína tiene una velocidad máxima de descomposición a 316 °C, mientras que los acrílicos puros presentan valores que van desde 331 a 403 °C, dependiendo de su composición.

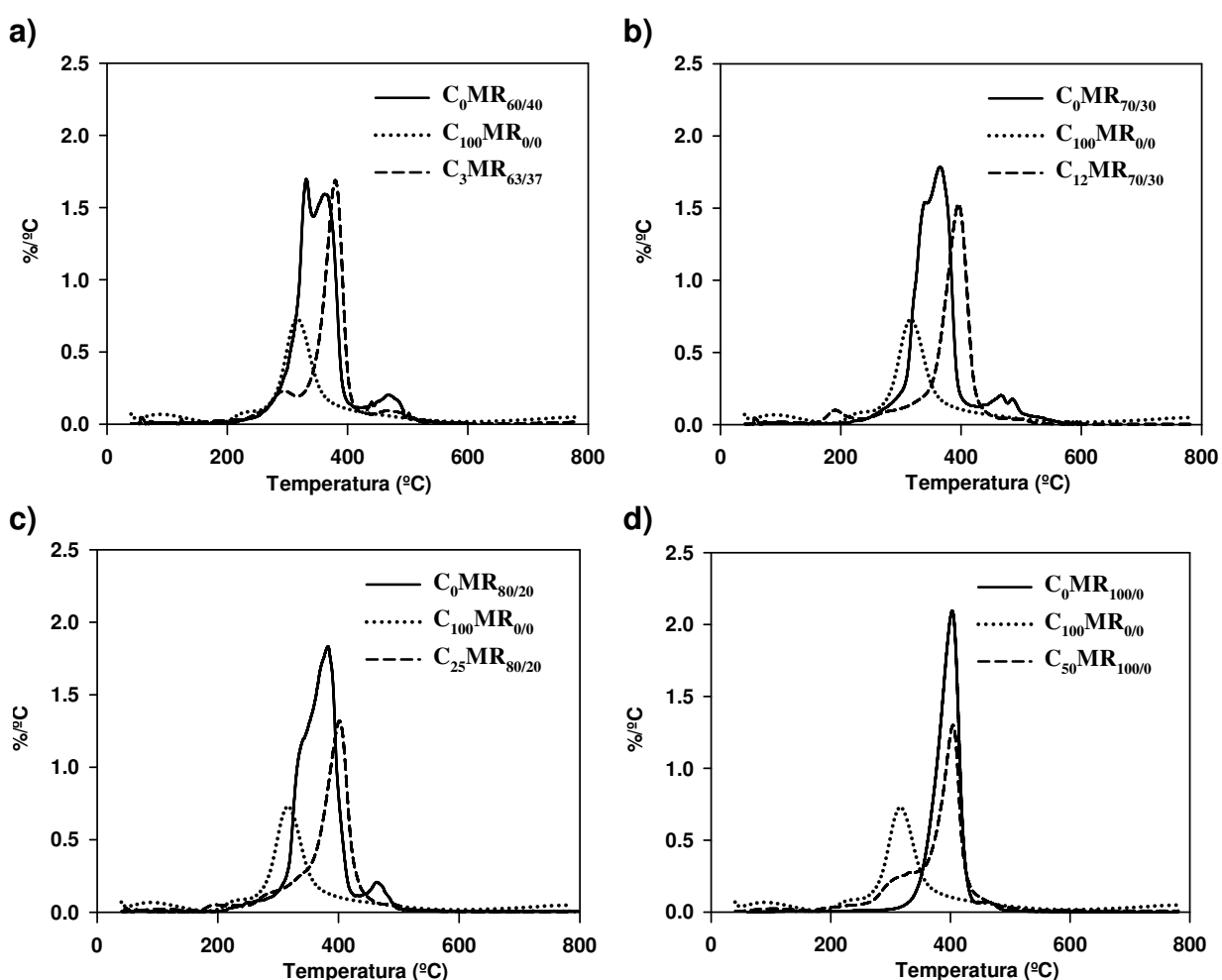


Figura 4.7. Efecto de la concentración de caseína sobre la velocidad de descomposición térmica de los nanocompuestos híbridos $C_3MR_{63/37}$ (a), $C_{12}MR_{70/30}$ (b), $C_{25}MR_{80/20}$ (c), y $C_{50}MR_{100/0}$ (d).

Las películas acrílico-caseína presentaron una descomposición temprana que coincide con la degradación de la proteína, mientras que la velocidad de pérdida de peso, a la

temperatura máxima de descomposición del material híbrido, se redujo por la incorporación del biomaterial, para contenidos superiores a 3 pphm.

Las propiedades ópticas son en gran medida relevantes para la funcionalidad de las películas debido a su impacto sobre la estética del material (Mali et al., 2004). Mientras que el film de caseína pura es un poco opaco (opacidad = 407 AU×nm/mm), las películas acrílicas puras son más transparentes con un rango de opacidad medido entre 160-120 AU×nm/mm. Puede verse que la opacidad de las películas resultó dependiente del contenido de caseína. El film híbrido con la concentración más baja de caseína (3 pphm) fue el más opaco, mientras que la opacidad disminuyó a medida que se incrementó el contenido de biomaterial, de manera que las películas con alto contenido de proteína (25-50 pphm) fueron incluso más transparentes que las películas acrílicas homólogas. La alta opacidad observada en la película con 3 pphm es una consecuencia directa de su morfología. Como ya se discutió en la sección 4.3.2, este material exhibe irregularidades internas resultantes de la incompleta deformación y coalescencia de grandes partículas núcleo-coraza (Figura 4.5.b), las cuales incrementan la dispersión de luz (Monedero et al., 2006; Keddie, 1997). También cabe remarcar que, a pesar de que las películas con alta concentración de caseína presentan una fase segregada en su interior (Figura 4.5.d), mostraron opacidades muy bajas. Esto podría deberse a que los agregados de caseína fueron mucho más pequeños que la longitud de onda visible, evitando así la dispersión de luz. Además, resulta muy llamativo el hecho de que estos films sean incluso más transparentes que los acrílicos puros. Sin embargo, se debe tener en cuenta que la rugosidad superficial de las películas puede tener una influencia notable en las mediciones de opacidad, debido al fenómeno de reflexión difusa del rayo incidente. En base a ello, es esperable que cuanto mayor sea la rugosidad de las película tanto mayor sea su opacidad. Estudios topográficos de AFM, demostraron que efectivamente la rugosidad de las películas acrílicas puras, resultó considerablemente mayor que aquella medida para las películas híbridas con altos contenidos de proteína, indicando que este parámetro podría ser el responsable de las

diferencias de opacidad observadas. En la Figura 4.8 se muestra la variación de la rugosidad de los materiales con el contenido de caseína, tomando como referencia el acrílico puro C₀MR_{60/40}.

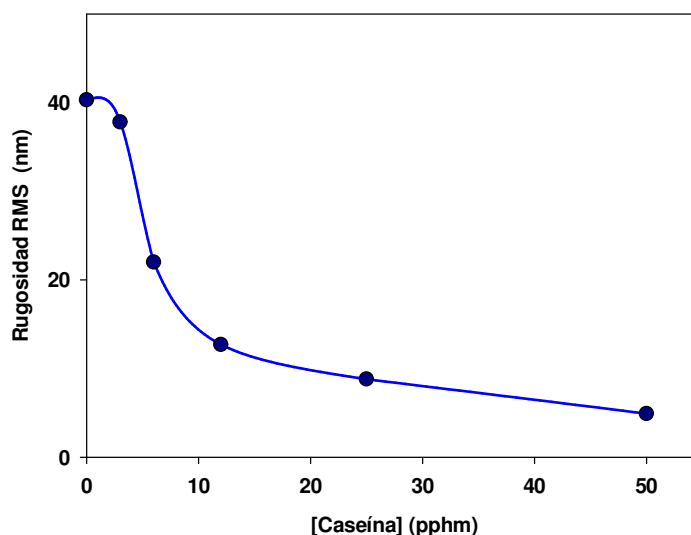


Figura 4.8. Variación de la rugosidad superficial de diferentes materiales híbridos en función del contenido de caseína.

Los resultados de rugosidad traen consigo el inevitable interrogante acerca de las causas que promueven la formación de un filmsuave, en los materiales híbridos con alto contenido de caseína, generando una superficie lisa y homogénea. La respuesta a ello parece encontrarse en el comportamiento reológico de los látex que contienen proteína. La Figura 4.9 muestra la variación de los módulos de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') en función de la frecuencia de oscilación ω , para látex con diferentes contenidos de caseína (de acuerdo a lo presentado en la sección 2.3.1.5 del Capítulo 2). Claramente puede verse que el módulo G' no se ve afectado por la concentración de proteína (Figura 4.9.a), mientras que el módulo G'' resultó fuertemente influenciado por el contenido de biomaterial, contribuyendo a la componente viscosa (Figura 4.9.b). Estos resultados sugieren que la incorporación de caseína a látex acrílicos, ejerce un excelente control sobre la viscosidad de las dispersiones, permitiendo la formación de una película suave (con baja rugosidad), sin la necesidad de incorporar aditivos para tal fin. Es por ello que los látex acrílicos puros, no formulados, se

retraen durante la etapa de secado, dando como resultado películas de mala apariencia y alta rugosidad (Figura 4.10).

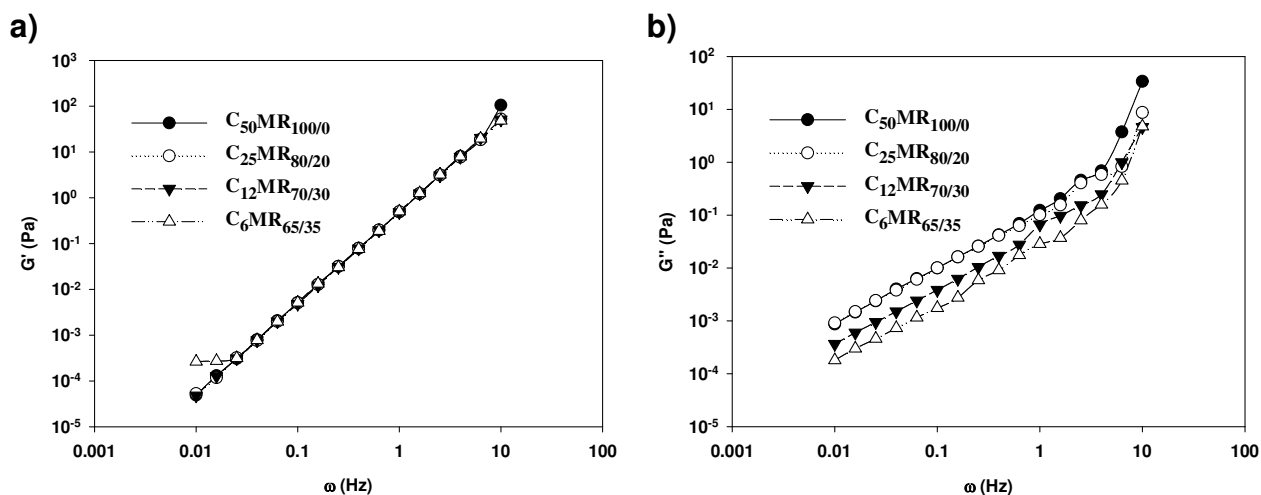


Figura 4.9. Ensayos reológicos para látex con diferentes contenidos de caseína. (a) Módulo de almacenamiento (G') y (b) módulo de pérdida (G'').



Figura 4.10. Imagen de la película $C_0MR_{60/40}$, ilustrando la mala capacidad del látex para formar película sin formulación.

Dado que la caseína tiene un carácter muy hidrofílico, se podría esperar que cuanto mayor sea la concentración de proteína, tanto menor sean los CA. Sin embargo, se observó la tendencia opuesta. Las películas con alta concentración de caseína (25 y 50 pphm) muestran CA más próximos a las películas de los polímeros acrílicos, mientras que los valores de CA a bajas concentraciones de proteína (3 y 6 pphm) fueron tan bajos como el de la caseína pura. Estas observaciones están de acuerdo con la morfología de las películas discutida previamente. Los materiales con 50 pphm de caseína presentan muchas partículas

acrílicas blandas homogéneamente distribuidas en su superficie, dotando a la película con un alto CA. Del mismo modo, cuando se utiliza 25 pphm de caseína la superficie de la película está compuesta principalmente por polímero acrílico blando (debido a que gran parte de la proteína migra hacia el interior del film) y por lo tanto dicho material presentó el CA más alto. Por otro lado, las películas con baja concentración de proteína, presentan una superficie compuesta principalmente por la proteína de la coraza de las partículas, explicando el bajo CA similar al de la película de caseína pura.

La resistencia al bloqueo es un requisito clave para el desempeño de recubrimientos decorativos en base acuosa. Como es conocido, las típicas pinturas al agua tienen una resistencia al bloqueo pobre. La Figura 4.11 muestra que la incorporación de caseína (dura) a formulaciones acrílicas (blandas) mejora la resistencia al bloqueo, la cual se incrementa con el contenido de proteína. En el caso en que se utilizó 50 pphm de caseína, se obtuvo una película completamente no bloqueante.

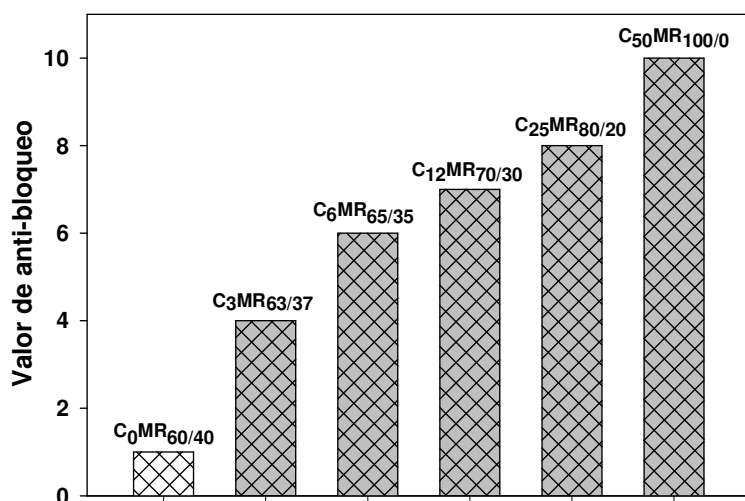


Figura 4.11. Resistencia al bloqueo de películas híbridas de acrílico-caseína con diferentes concentraciones de proteína.

Estos resultados están de acuerdo con lo reportado por Eckersley y Helmer (1997), en donde la resistencia al bloqueo de látex blandos formadores de película se incrementó por la adición de látex acrílicos duros. Se sabe que la adhesión entre dos superficies tiene

componentes tanto superficiales como del volumen del material. La adición de componentes duros a dispersiones blandas provoca un endurecimiento del material compuesto (por lo tanto aumenta el módulo elástico del material), reduciendo la energía de adhesión (Gurney et al., 2012). Por otro lado, la alta concentración efectiva de componentes duros en la superficie de la película también contribuye a obtener mayores rendimientos de antibloqueo. La Figura 4.12.a muestra cómo el contenido de caseína refuerza las películas aumentando el módulo de almacenamiento (E'), a temperaturas superiores a 0 °C, y por lo tanto es esperable una reducción en la energía adhesión con el contenido de proteína.

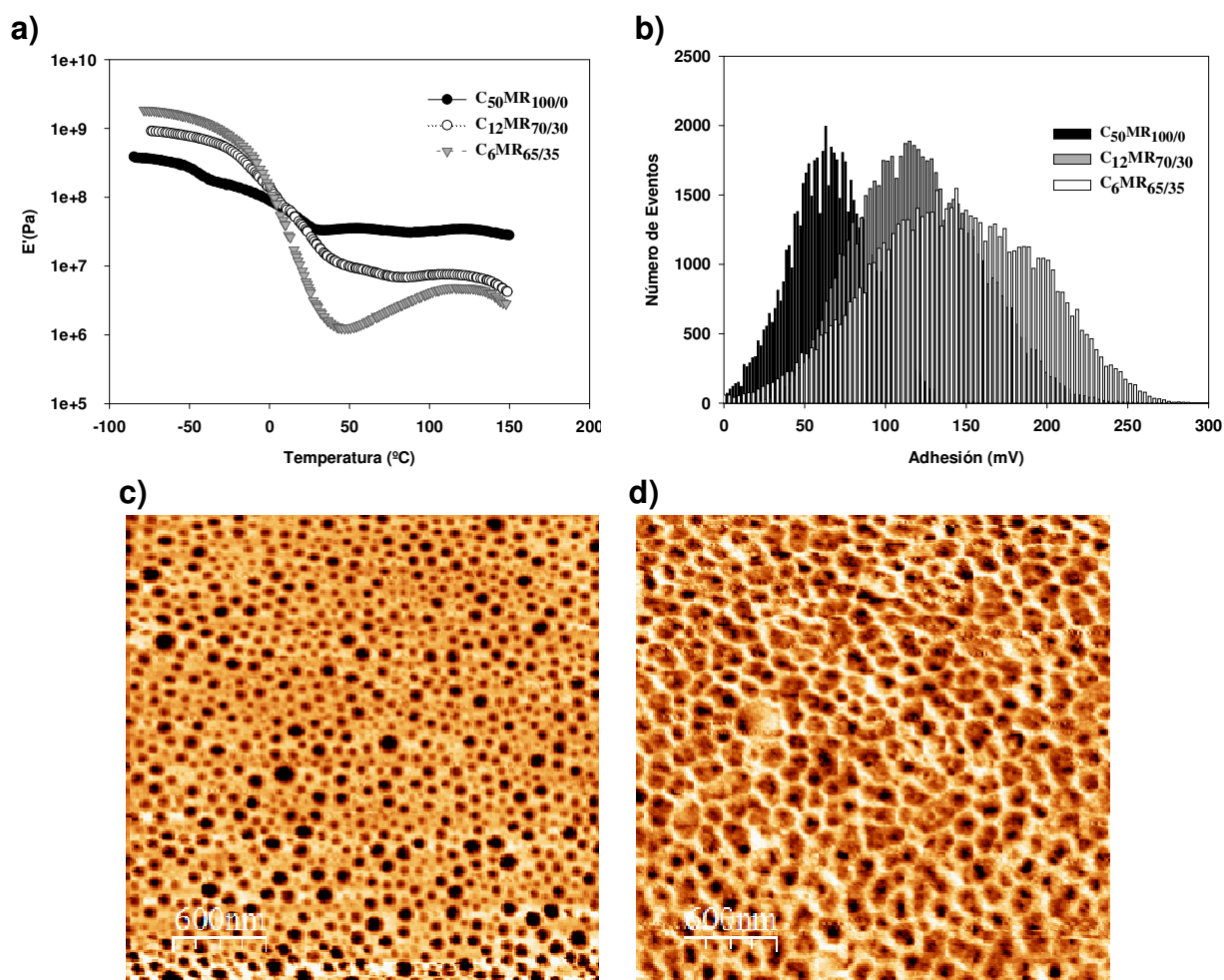


Figura 4.12. Módulo de almacenamiento (a) e histogramas de fuerza de adhesión (b) medidos por AFM sobre la superficie de las películas $C_{50}MR_{100/0}$, $C_{12}MR_{70/30}$, y $C_6MR_{65/35}$. Imágenes de rigidez de la superficie de las películas $C_{50}MR_{100/0}$ (c), y $C_6MR_{65/35}$ (d), obtenidas por AFM en modo "Jumping".

Por otro lado, la Figura 4.12.b compara la distribución de la fuerza de adhesión medida por AFM sobre la superficie de las películas de C₅₀MR_{100/0}, C₁₂MR_{70/30}, y C₆MR_{65/35}. Los histogramas confirman que la fuerza de adhesión superficial disminuye con el contenido de caseína. Adicionalmente, las Figuras 4.12.c,d muestran imágenes de rigidez de la superficie de las películas C₅₀MR_{100/0} y C₆MR_{65/35}, respectivamente. En dichas imágenes las zonas brillantes pertenecen dominios rígidos y ricos en caseína, mientras que las zonas oscuras corresponden a regiones blandas y ricas en polímero acrílico gomoso. Puede verse claramente que altas concentraciones de caseína conducen a una matriz rica en proteína rígida, que limita la adhesión superficial, mientras que bajos contenidos de biomaterial producen una superficie predominantemente blanda y gomosa, con alta adhesividad.

Estos resultados son consistentes con las morfologías de las películas observadas. A bajos contenidos de proteína, la superficie de la película está constituida principalmente por una delgada capa de caseína recubriendo las partículas acrílicas blandas. Esta fina capa de caseína, que se encuentra principalmente injertada (es decir, cada molécula de proteína contiene unida al menos una cadena de acrílico blando), no es eficaz para reducir la fuerza de adhesión, prevenir completamente el bloqueo y otorgarle rigidez a la superficie. A altas concentraciones de proteína, el biomaterial duro está principalmente no injertado y por lo tanto tiene una alta movilidad. En esta condición, la caseína es capaz de formar una red percolada (contacto continuo proteína/proteína) en la superficie de la película, la cual contribuye a reducir el bloqueo (Eckersley y Helmer, 1997). Cabe señalar que, a diferencia de las partículas acrílicas duras, la caseína puede fusionarse en una red percolada continua a temperaturas incluso inferiores a su T_g debido al alto efecto plastificante del agua durante la formación de film.

4.3.4. Comportamiento mecánico de las películas

En la Tabla 4.4 y en la Figura 4.13 se resumen los resultados de los ensayos mecánicos de las películas híbridas junto con los correspondientes a las películas de materiales puros.

A la temperatura de ensayo (23°C), los copolímeros puros de n-PBA-co-PMMA están por encima de su temperatura de transición vítrea teórica (Tabla 4.3). En consecuencia, los materiales se encuentran en un estado gomoso y se espera que el proceso de deformación se produzca por la existencia de reticulaciones físicas ("entanglements"); y como resultado se observaron en todas las muestras muy altas deformaciones, pero sin recuperación elástica.

Tabla 4.4. Resultados de los ensayos mecánicos de los materiales híbridos de acrílico-caseína con diferentes concentraciones de proteína. Comparación con los materiales puros.

Película	Módulo de Young (MPa)	Resistencia Tensil (MPa)	Elongación a la rotura (%)	Tenacidad (J/m ³ ·10 ⁴)	Dureza (N)
C₁₀₀MR_{0/0}	-	45.9 ± 5.9 ^a	7.7 ± 0.8 ^a	159.3 ^a	- ^b
C₃MR_{63/37}	18.3 ± 2.3	3.1 ± 0.5	357 ± 63	659 ± 103	54.3 ± 6.4
C₀MR_{60/40}	16.4 ± 1.0	5.1 ± 0.5	1213 ± 48	3069 ± 212	95.5 ± 9.7
C₆MR_{65/35}	6.4 ± 1.2	3.2 ± 0.3	720 ± 30	1069 ± 31	29.4 ± 4.2
C₀MR_{65/35}	1.4 ± 0.1	2.9 ± 0.5	1418 ± 31	1990 ± 103	25.0 ± 1.4
C₁₂MR_{70/30}	19.3 ± 2.2	2.4 ± 0.2	685 ± 21	1380 ± 74	344.9 ± 11.5
C₀MR_{70/30}	0.7 ± 0.1	2.5 ± 0.1	1886 ± 74	2030 ± 272	7.5 ± 0.6
C₂₅MR_{80/20}	37.0 ± 3.0	5.4 ± 0.3	396 ± 39	1609 ± 95	435.1 ± 22.2
C₀MR_{80/20}	0.33 ± 0.03	0.63 ± 0.1	4698 ± 12	1858 ± 318	5.0 ± 0.43
C₅₀MR_{100/0}	283.7 ± 21	6.7 ± 0.7	64 ± 2	376 ± 17	942.9 ± 18.6
C₀MR_{100/0}	0.13 ± 0.01	0.14 ± 0.01	816 ± 93	92 ± 20	2.4 ± 0.6

^aSomanathan et al. (1992).

^bLas películas de caseína pura resultaron demasiado quebradizas para ensayar.

El comportamiento mecánico de los materiales puros de n-PBA-co-PMMA resultó fuertemente dependiente del contenido de MMA, ya que este componente vítreo confiere rigidez induciendo al endurecimiento por deformación. Por lo tanto, la resistencia a la tracción y la dureza se incrementaron cuando aumentó el contenido de MMA del componente acrílico. La tendencia opuesta se observó para la elongación a la rotura, la cual

se redujo desde 4700 hasta 1200% de la muestra $C_0MR_{80/20}$ a $C_0MR_{60/40}$. La muestra $C_0MR_{100/0}$ presentó el valor de elongación a la ruptura más bajo y fuera de la tendencia, debido probablemente a su alto contenido de gel (88%, como se muestra en la Tabla 4.2).

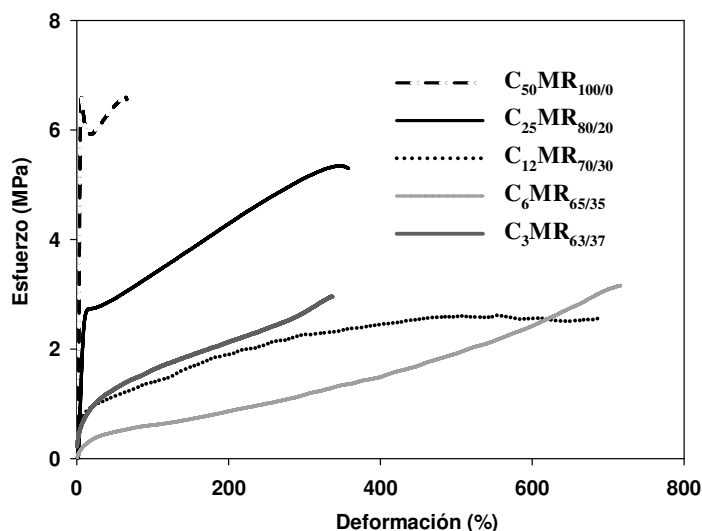


Figura 4.13. Resultados de los ensayos elongacionales para los materiales híbridos de acrílico-caseína con diferentes concentraciones de proteína.

La incorporación de caseína afectó de manera importante el comportamiento tensil de las películas híbridas con respecto a los polímeros acrílicos puros. A partir de la Tabla 4.4 puede verse que las películas con contenidos de caseína inferior a 50 pphm fueron capaces de soportar altas deformaciones y presentaron una tenacidad creciente con la concentración de proteína, sugiriendo que el biomaterial actúa como un refuerzo de la matriz polimérica. Por otra parte la muestra con 50 pphm de caseína falló a un bajo valor de deformación. Este comportamiento está relacionado con la alta fracción de caseína no injertada (90%), la cual se encuentra segregada dentro de la película. Esta fase segregada constituye una matriz de proteína rígida conteniendo pequeños dominios acrílicos blandos, confiriéndole al material un comportamiento similar al film de caseína pura, el cual presenta una baja elongación a la rotura y una alta resistencia tensil (Somanathan et al., 1992). Además, las muestras con alta concentración de caseína (50-25 pphm) mostraron una marcada zona de cedencia a baja

deformación (Figura 4.13). Esto es una indicación de que la caseína libre segregada en el interior del film, le confiere al material un comportamiento plástico más marcado.

Uno de los desafíos más importantes para la ciencia y tecnología de recubrimientos, es lograr simultáneamente una buena formación de película y una elevada dureza. Los polímeros acrílicos son buenos materiales formadores de film (exhiben una baja MFFT, como se muestra en la Tabla 4.3), pero debido a su baja Tg, poseen una dureza baja (Tabla 4.4). La incorporación de un componente duro, como la caseína, al polímero acrílico blando aumentó sustancialmente la dureza de las películas híbridas, como puede verse en la Tabla 4.4. Cuando se utilizó 50 pphm de caseína, la dureza de la película se incrementó notablemente (desde 2.4 N, para n-PBA puro, hasta 942.9 N para el material híbrido C₅₀MR_{100/0}). También se puede observar que cuanto mayor es la concentración de caseína, tanto mayor es el aumento en la dureza de la película. Esta última observación nos indica que la caseína libre en el interior de las películas es principalmente quien le confiere una elevada dureza a estos materiales híbridos, puesto que la cantidad de proteína injertada se mantuvo prácticamente constante para concentraciones mayores a 12 pphm (Tabla 4.2).

A partir de los resultados anteriores, podemos afirmar que la incorporación de caseína a la formulación acrílica satisface en gran medida los requisitos de dureza y propiedades de anti-bloqueo, sin afectar la habilidad de formación de film de los materiales poliméricos. En otras palabras, algunos de los látex híbridos acrílico-caseína producidos, pueden ser excelentes alternativas como ligantes para producir recubrimientos en base acuosa.

4.3.5. Propiedades termomecánicas de las películas

La Figura 4.14 muestra las respuestas de $\tan \delta$ y del módulo de almacenamiento (E'), obtenidos a partir de datos de DMTA, para los materiales híbridos sintetizados con diferentes concentraciones de caseína. La Tg de los nanocompuestos híbridos, tomada como la temperatura correspondiente al máximo en $\tan \delta$, fue -42, -21, 7, 21 y 32 °C para

concentraciones de caseína de 50, 25, 12, 6, y 3 pphm respectivamente, resultando superiores a las obtenidas por DSC.

Además, se observaron amplias transiciones no simétricas en $\tan \delta$ (entre 0 y 100 °C) en las muestras con alta concentración de caseína (50, 25 y 12 pphm). Relaxaciones similares se observaron previamente en películas de caseína pura (Bengochea et al., 2007), atribuyéndose dichas transiciones (relajaciones tipo β) al inicio de movimientos de corto alcance de las moléculas de proteína (mientras que la transición vítrea corresponde al movimiento de la cadena principal). Por otro lado, se observó un pronunciado aumento en E' a temperaturas mayores que 50 °C, para las muestras con contenidos de caseína de 3 y 6 pphm, siendo este efecto menos evidente para concentraciones superiores (12-50 pphm). Bengochea et al. (2007) observaron este comportamiento en films de gluten y caseína puros, estableciendo como causa principal la ocurrencia de reacciones de entrecruzamiento (durante el calentamiento), a través de la formación de puentes disulfuro entre los grupos tioles de las proteínas (Gerrard, 2002). En base a ello, este efecto de endurecimiento del material con la temperatura, debería ser más notable cuando existe una alta concentración de proteína en la película, contrariamente a lo que fue observado. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que un incremento en el contenido de biomaterial es acompañado por un aumento en la cantidad de n-BA en la formulación, lo que produciría polímeros con un comportamiento más gomoso, compensado de esta forma el incremento en E' .

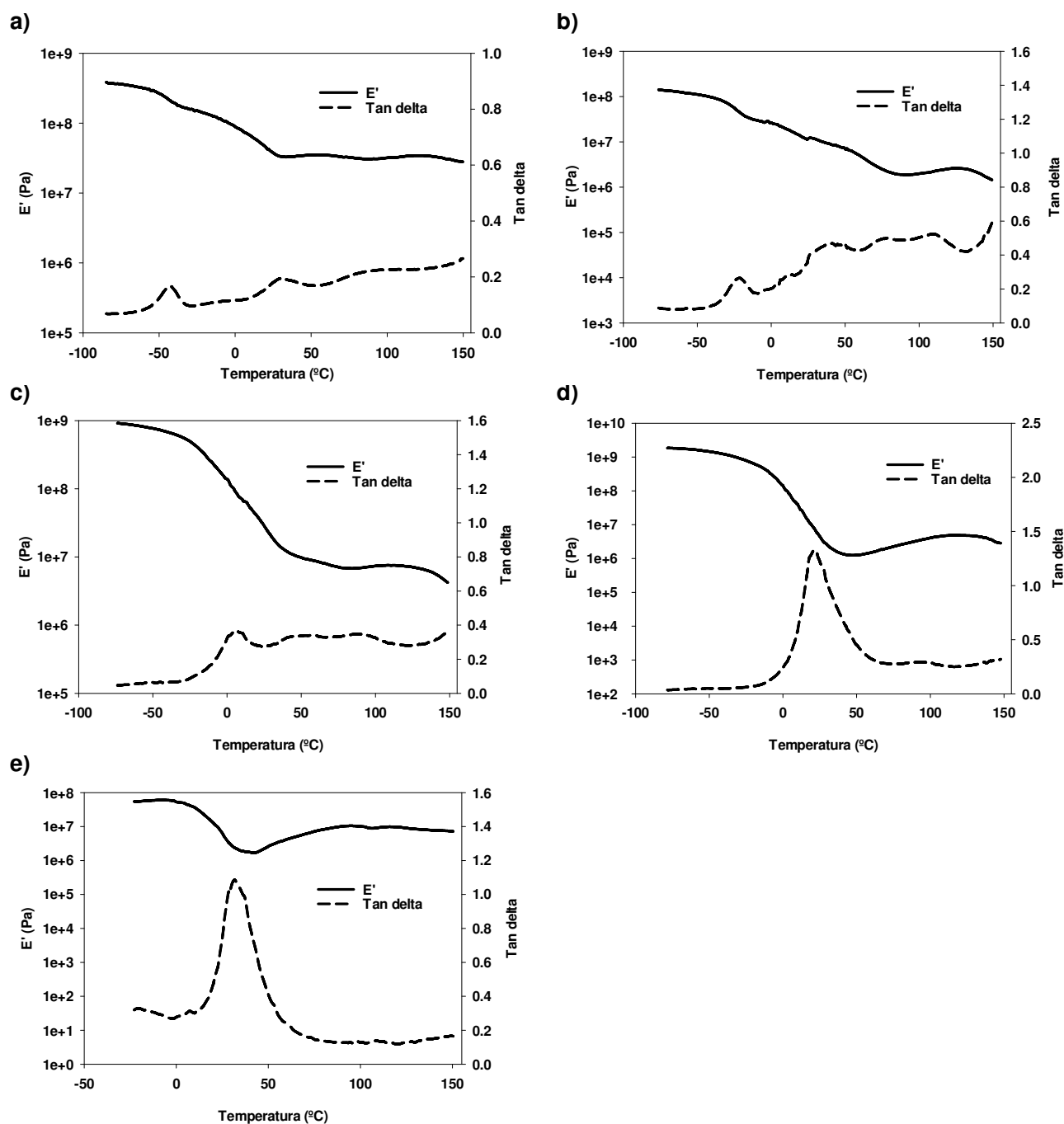


Figura 4.14. Respuestas del modulo de almacenamiento (E') y $\tan \delta$ para películas híbridas con diferentes concentraciones de caseína: (a) $C_{50}MR_{100/0}$, (b) $C_{25}MR_{80/20}$, (c) $C_{12}MR_{70/30}$, (d) $C_6MR_{65/35}$, y (e) $C_3MR_{63/37}$.

4.3.6. Resistencia al agua y a solventes orgánicos

Los resultados de absorción de agua se muestran en la Figura 4.15. Dado que la caseína tiene un carácter hidrofílico, sus películas se desintegran inmediatamente después de la inmersión en agua. Es por ello que se podría esperar que las películas híbridas

presenten una mayor resistencia a la fase acuosa, por incorporación de un componente hidrófobo a la proteína. En contraste, las películas híbridas no presentaron una alta resistencia al agua y aquellas con alta concentración de caseína resultaron un poco más resistentes a la absorción. Los materiales con una concentración de caseína menor a 25 pphm se ablandaron y rompieron inmediatamente después de la inmersión (la Figura 4.15.a muestra el espécimen de ensayo después de la inmersión), mientras que las películas con un alto contenido de proteína mantienen su forma y resisten algunos pocos minutos después de ser sumergidas en agua. Las películas con concentración de caseína de 25 y 50 pphm fueron difíciles de manipular después de 5 minutos de inmersión (Figura 4.15.b), y se desintegraron después de 10 y 20 minutos, respectivamente. De la Figura 4.15.b, se puede ver que la película con 50 pphm de caseína mantiene su forma al comienzo del ensayo, pero algo de material migra desde la matriz polimérica hacia la fase acuosa (la cual se vuelve turbia).

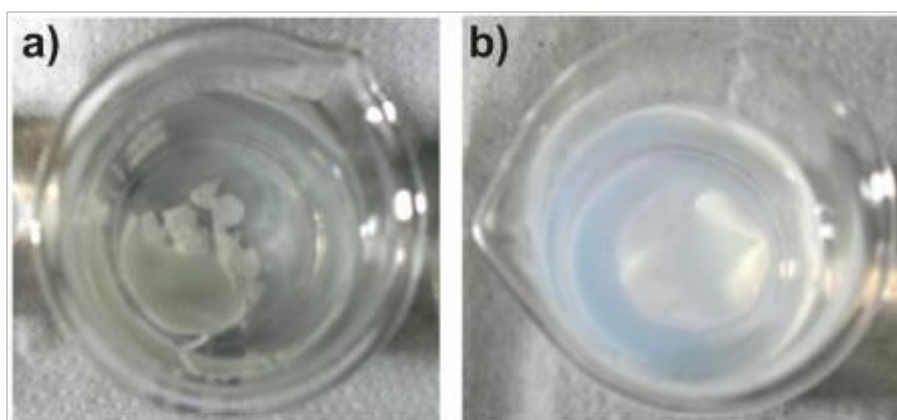


Figura 4.15. Resistencia al agua de las películas (a) $C_3MR_{63/37}$ y (b) $C_{50}MR_{100/0}$.

Esta pobre resistencia al agua está relacionada con la microestructura molecular medida y la morfología observada por AFM. Las películas con alta concentración de caseína (25 y 50 pphm) presentan una gran cantidad de proteína no injertada, segregada en su interior, la cual tiene una alta densidad de grupos polares que inducen el hinchamiento con agua y ayudan a disgregar la matriz polimérica en un medio acuoso (Johansson et al.,

2011). En estas condiciones, la caseína libre se transfiere desde el interior del film hacia la fase acuosa y al final de dicho proceso de migración la película se desintegra.

Por otro lado, las películas con baja concentración de caseína, a pesar de presentar una alta fracción de proteína injertada, también fueron desintegradas por inmersión en agua. Es esperable que el incremento en la resistencia acuosa se produzca por la incorporación del polímero hidrófobo; y por lo tanto podría suponerse que estas pobres características que presentan las películas compatibilizadas, sean consecuencia de un reducido número de puntos de injerto acrílico. En otras palabras, los sitios de injerto generados sobre los grupos amino de la caseína no son suficientes para producir importantes cambios en la estructura polar de la proteína. Estos resultados están de acuerdo con las investigaciones de Zhu y Li (2003), quienes encontraron que el punto isoeléctrico de partículas híbridas PMMA/caseína, ($pI = 4.1$) resultaba muy próximo al de caseína pura ($pI = 4.0$); sugiriendo que la polimerización de injerto de MMA a partir de caseína, conduce a pequeños cambios en las propiedades del biomaterial, debido a los muy pocos sitios de injerto generados sobre la proteína.

Los resultados de resistencia a disolventes orgánicos se resumen en la Tabla 4.5. Las películas de caseína pura se mostraron prácticamente inafectadas por los solventes orgánicos utilizados; mientras que los polímeros acrílicos puros fueron completamente hinchados tanto en metil etil cetona (MEK) como en benceno (Bz). Las películas híbridas mostraron mayor resistencia a los disolventes cuanto mayor fue su contenido de proteína. De la Tabla 4.5 puede verse que, tanto la masa absorbida (A_S) como la pérdida de peso (WL_S), para ambos disolventes, se redujeron al aumentar el contenido de caseína en la película. Se observaron mayores grados de hinchamiento para Bz que para MEK, y esto se podría atribuir al mayor poder solvente del primero. Por lo tanto, las muestras con concentración de caseína de 3 y 6 pphm se desintegraron después de 7 días de inmersión en Bz, requiriendo un contenido de proteína superior a 6 pphm para resistir la inmersión en este solvente. La Figura 4.16 muestra una fotografía de las películas $C_3MR_{63/37}$ (a) y

C₅₀MR_{100/0} (b) durante el ensayo de resistencia en MEK, en donde claramente puede verse el menor grado de hinchamiento que presenta el material con mayor contenido de caseína. Sobre la base de estos resultados, se puede afirmar que la presencia de caseína proporciona una barrera suficiente para los solventes orgánicos, lo que evidencia un efecto sinérgico entre ambos componentes (acrílico/caseína).

Tabla 4.5. Resistencia a solventes orgánicos de películas híbridas conteniendo diferentes concentraciones de proteína.

Experimento	A _s (%)		WL _s (%)	
	MEK	Bz	MEK	Bz
C ₁₀₀ MR _{0/0}	1.3	4.4	15.1	10.9
C ₃ MR _{63/37}	290.2	-	72.0	100
C ₆ MR _{65/35}	184.0	-	61.3	100
C ₁₂ MR _{70/30}	166.7	1016.4	36.7	41.1
C ₂₅ MR _{80/20}	52.8	956.9	23.8	24.0
C ₅₀ MR _{100/0}	29.3	475.2	14.0	15.1

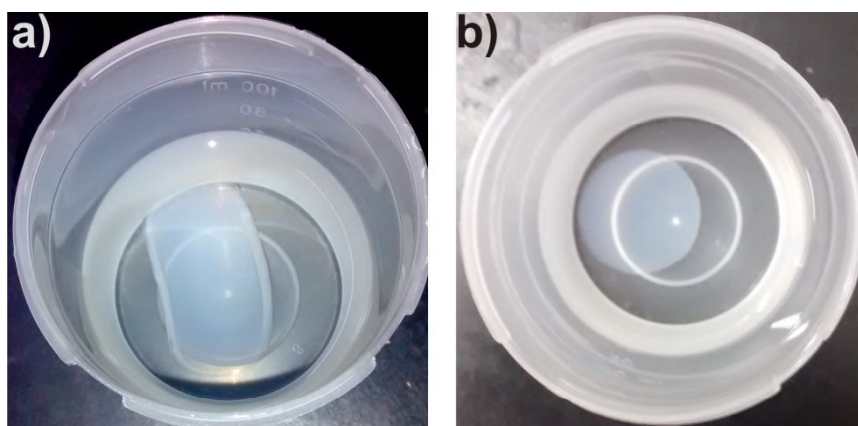


Figura 4.16. Imagen de hinchamiento en MEK de las películas híbridas (a) C₃MR_{63/37} y (b) C₅₀MR_{100/0}.

4.3.7. Degradabilidad en suelo

Es conocido que la caseína tiene una excelente biodegradabilidad, ya que tiende a hidrolizarse y degradarse fácilmente bajo la acción de microorganismos (las películas de caseína pierden su integridad estructural y se vuelven solidarias al suelo después de estar

enterradas por 7 días; Xu et al., 2013). Sin embargo, los polímeros acrílicos presentan una muy baja velocidad de degradación, lo cual es un gran inconveniente desde el punto de vista medioambiental. Por lo tanto, la incorporación de caseína debería mejorar la biodegradabilidad de los materiales. La Tabla 4.6 presenta el porcentaje de pérdida de peso (W_{loss}) de las películas, después de la degradación en suelo por 7 y 14 días.

Tabla 4.6. Degradación en suelo de películas híbridas de acrílico-caseína.

Película	W_{loss} 7 días (%)	W_{loss} 14 días (%)
C₁₀₀MR_{0/0}	100 ^a	100 ^a
C₃MR_{63/37}	14.0	14.6
C₀MR_{60/40}	0.38	0.65
C₆MR_{65/35}	15.1	16.6
C₀MR_{65/35}	0.32	0.56
C₁₂MR_{70/30}	16.6	17.3
C₀MR_{70/30}	0.43	0.43
C₂₅MR_{80/20}	21.8	23.9
C₀MR_{80/20}	0.31	0.34
C₅₀MR_{100/0}	37.8	39.2
C₀MR_{100/0}	0.55	0.55

^aLa película perdió su integridad estructural y se volvió solidaria al suelo después de estar enterrada por 7 días. En este caso, fue difícil remover y pesar la muestra durante el ensayo.

Se puede apreciar que las películas conteniendo caseína muestran valores de biodegradabilidad más elevados que los medidos para las películas acrílicas puras. Además, se puede observar que el valor de W_{loss} de los nanocompuestos híbridos se incrementó con el contenido de proteína. Esto nos indica que la limitada biodegradabilidad de los polímeros acrílicos puros se puede incrementar significativamente mediante la incorporación de una proteína biodegradable, como la caseína. En la fotografía de la Figura 4.17 se puede

observar el efecto de la biodegradación sobre los especímenes de ensayo luego de 14 días de degradación.

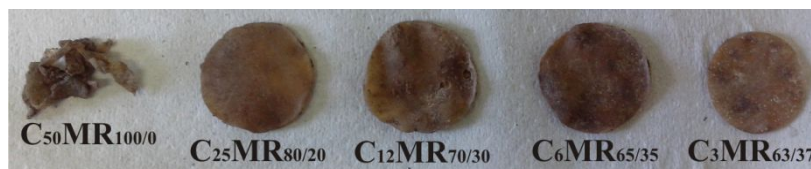


Figura 4.17. Imagen de películas degradadas luego de 14 días de enterramiento en suelo.

4.4. CONCLUSIONES

En este capítulo se estudió la síntesis de dispersiones híbridas acrílico-caseína con diferentes contenidos del biomaterial. El estudio se centró en la influencia del contenido de caseína y de su grado de compatibilidad, en las propiedades de las películas. Debido al hecho de que la fracción de caseína injertada fue fuertemente dependiente del contenido de proteína del látex (cómo fue previamente discutido en el Capítulo 3), las propiedades de las películas también mostraron una marcada variación con su composición. La morfología de las películas mostró que cuando se utiliza un alto contenido de caseína, una gran cantidad de la misma resulta no injertada y tiene la capacidad de segregar durante el proceso de secado. Por otro lado, con una baja concentración de proteína, la compatibilidad acrílico-caseína se incrementa de manera importante, y por lo tanto la segregación de fases está restringida. La incorporación de caseína a las formulaciones acrílicas parece no afectar significativamente la capacidad de formación de film que poseen los ligantes acrílicos. Esto permitió obtener látex con baja MFFT, al mismo tiempo que se mejoraron las propiedades de la película, tales como anti-bloqueo, dureza, resistencia a solventes orgánicos y degradabilidad en suelo.

Sin embargo las películas presentan una pobre resistencia al agua, lo cual resulta un inconveniente desde el punto de vista de su aplicación. Esta baja resistencia al agua, es una consecuencia directa de la baja compatibilidad que se alcanza en el sistema acrílico-

caseína, principalmente cuando se utilizan altas concentraciones de proteína. Por esta razón, surge la imperiosa necesidad de desarrollar nuevas estrategias de síntesis que permitan controlar y mejorar la compatibilidad entre ambos materiales, superando aquellas limitaciones. La desafiante tarea de mejorar la compatibilidad acrílico-caseína se discutirá en los capítulos siguientes.

Finalmente, este capítulo nos permite concluir que la incorporación de caseína, como un recurso renovable para producir nanopartículas híbridas más ecológicas, posee la potencialidad para ser utilizada como una alternativa para ligantes en recubrimientos a base acuosa.

Capítulo 5: Incremento en la compatibilidad de látex híbridos de acrílico-caseína mediante la utilización de ácido acrílico como agente funcionalizante*

5.1. INTRODUCCIÓN

La sustitución de monómeros sintéticos por materiales derivados de recursos renovables es uno de los retos más importantes que afronta la industria de polímeros, debido a la disminución de las reservas de petróleo crudo y la creciente preocupación por reducir el impacto ambiental. Entre los diferentes recursos de base biológica, las proteínas naturales, como la caseína, constituyen un candidato prometedor ya que poseen funcionalidades amino y carboxilo que presentan ilimitadas oportunidades para introducir modificaciones en su estructura. De hecho, en el capítulo anterior, hemos demostrado que la incorporación de caseína a formulaciones acrílicas, como un recurso renovable para producir látex híbridos con una importante sustitución de monómeros derivados del petróleo, presenta propiedades prometedoras para ser utilizada en el desarrollo de recubrimientos de base acuosa. Sin embargo, las películas híbridas mostraron una pobre resistencia al agua, lo cual resulta un enorme inconveniente desde el punto de vista de su aplicación. Como se discutió en la sección 4.3.6 del capítulo anterior, una de las principales causas que promueven la baja resistencia acuosa de los materiales híbridos, es el limitado número de sitios de injerto generados sobre los grupos amino de la caseína. En otras palabras, los posibles puntos de propagación del polímero acrílico, generados por iniciación redox entre el tert-butil hidroperóxido (TBHP) y los grupos amino de la caseína, no son suficientes como para modificar la estructura de la proteína e incrementar su hidrofobicidad (Zhu y Li, 2003).

*Parte de los resultados de este capítulo fueron publicados en: M.L. Picchio, R.J. Minari, V.D.G. Gonzalez, M.J. Barandiaran, L.M. Gugliotta. "New Strategy to Improve Acrylic/Casein Compatibilization in Waterborne Hybrid Nanoparticles", J. App. Polym. Sci., 132 (2015), DOI: 10.1002/app.42421.

Por otro lado, en base a los resultados presentados en el Capítulo 3, podemos afirmar que otra de las causas que conducen a la desintegración de las películas en un medio acuoso, es la pobre compatibilidad que se alcanza en el sistema biopolímero/polímero sintético, cuando se utilizan altas concentraciones de proteína. Altos contenidos de caseína favorecen la nucleación en ausencia de injerto, conduciendo a la formación de partículas no compatibilizadas. Como resultado de esto, se generan dos tipos de partículas: las híbridas formadas principalmente por polímero acrílico y caseína, compatibilizados por injertos, y las nucleadas por un mecanismo secundario que contienen sólo polímero acrílico y caseína adsorbida. Por lo general, los látex que son no uniformes conducen a películas heterogéneas, las que resultan indeseables porque afectan negativamente a sus propiedades (Goikoetxea et al., 2012).

En el presente capítulo, se explora una nueva estrategia de síntesis para mejorar la compatibilidad entre la caseína y el copolímero acrílico. La estrategia se basa en el uso de caseína funcionalizada/acrilada (AFC) que, además de la capacidad de injerto característica por iniciación redox con un hidroperóxido, contiene grupos acrílicos capaces de polimerizar radicalariamente. En este capítulo se abordará: i) la síntesis y caracterización de dos AFC con diferentes cantidades de grupos acrílicos pendientes; ii) la inclusión de la AFC en la polimerización en emulsión de MMA, con el fin de evaluar la mejora en el grado de compatibilidad entre la caseína y el PMMA; y iii) la validación de la mejora en la compatibilidad evaluando las propiedades de película de formulaciones acrílicas híbridas basadas en n-BA/MMA, obtenidas mediante el uso de AFC.

5.2. TRABAJO EXPERIMENTAL

La descripción detallada de los materiales, la especificación de los equipos, y los métodos de síntesis y caracterización empleados a lo largo del trabajo experimental de ésta Tesis, se detallaron oportunamente en el Capítulo 2. Por esta razón, a continuación se hará

referencia sólo a los aspectos del trabajo experimental que se aplican específicamente a éste capítulo.

5.2.1. Síntesis de la caseína acrilada (AFC)

La AFC fue preparada por la formación, en presencia de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC), de un enlace amida entre la caseína y el ácido acrílico (AA) en una reacción en dos etapas, siguiendo el procedimiento descrito en la sección 2.2.2.1 del Capítulo 2 (Figura 2.3.a). La EDC se une al grupo carboxilo del AA para formar un intermediario o-acilisourea altamente reactivo. Este componente intermedio ataca algunos grupos amino de la proteína, produciendo amidas con enlaces vinílicos. De esta forma, la AFC sintetizada presenta una nueva funcionalidad acrílica, que junto con los grupos amino, tiene la capacidad de propagar mediante polimerización radicalaria.

Se sintetizaron dos tipos de AFC, con 2 (AFC2) y 8 moléculas de AA (AFC8) por molécula de caseína (asumiendo un peso molecular promedio de la proteína de 30000 g/mol). Dado el bajo peso molecular del AA en relación a la caseína, pequeñas cantidades de ácido fueron requeridas para sintetizar la AFC, resultando relaciones másicas de AA/caseína iguales a 0.0048 y 0.0192 para AFC2 y AFC8, respectivamente.

5.2.2. Polimerización

Las polimerizaciones de los monómeros acrílicos, en presencia de caseína nativa y acrilada, se llevaron a cabo siguiendo el procedimiento descrito en la sección 2.2.1 del Capítulo 2. En el caso en el que se empleó AFC, la solución resultante de su síntesis se utilizó directamente sin purificación, después de la adición de Na_2CO_3 para regular el pH. Las formulaciones acrílicas utilizadas consistieron en MMA puro y mezclas de n-BA/MMA. La relación n-BA/MMA se varió desde 80/20 hasta 65/35 p/p de acuerdo a lo presentado en el Capítulo 4. Los látex se sintetizaron con un contenido de sólidos (SC) de 10% para formulaciones de MMA puro y 20% para aquellas de n-BA/MMA. En la Tabla 5.1 se presenta una receta general de polimerización.

Tabla 5.1. Receta general para la síntesis de látex funcionalizados de acrílico-AFC.

Reactivo	Cantidades (pphm) ^(a)
n-BA/MMA	100
Caseína nativa/acrilada	6 - 50
TBHP	0.20
Na ₂ CO ₃	2 - 5
H ₂ O	500 - 1250

(a) pphm: partes por cien de monómero.

5.2.3. Caracterización de la caseína acrilada (AFC)

La funcionalización de la caseína se evaluó mediante: i) medición del potencial zeta de las soluciones de proteína; ii) espectroscopía de ¹H-RMN; y iii) cuantificación del porcentaje efectivo de AA unido a la caseína. El potencial Zeta se midió con un equipo Malvern Nano ZS, en una solución de NaNO₃ 1 mM y pH 7. Los espectros de ¹H-NMR fueron obtenidos de acuerdo a lo presentado en la sección 2.3.3.1 del Capítulo 2. Vale la pena recordar que antes de las mediciones de ¹H-RMN, las muestras se dializaron a través de varios pasos de centrifugación y redispersión utilizando un filtro para centrífuga, con un peso molecular de corte de 3000 g/mol que retiene la proteína y permite el lavado del AA y la EDC sin reaccionar. El porcentaje efectivo de AA unido a la caseína se determinó por el método del o-ftalaldehído (OPA), siguiendo el procedimiento detallado en la sección 2.3.3.2 del Capítulo 2.

5.2.4. Caracterización de los látex

A lo largo de las polimerizaciones, se tomaron muestras y sobre ellas se realizaron las siguientes mediciones: i) conversión de monómero (x), por gravimetría; y ii) diámetros medios de partículas (\bar{d}_p), por dispersión de luz dinámica (DLS) a un ángulo de detección de 90°. El número de partículas por litro de látex (N_p) se obtuvo a partir de los datos de x y de las mediciones de \bar{d}_p , como se indicó en la sección 2.3.1.2 del Capítulo 2.

La estabilidad de los látex se evaluó a través de mediciones del \bar{d}_p por DLS a diferentes pH, utilizando buffers Britton–Robinson en el rango de 3 a 12.

La caracterización de la arquitectura molecular de los látex híbridos acrílico-caseína se determinó principalmente por la fracción de caseína injertada en el polímero acrílico (CGE), y la fracción de acrílico injertado (AGE) de las nanopartículas híbridas. La CGE se determinó empleando el procedimiento de múltiples centrifugaciones, redispersiones y caracterización por UV, detallado en la sección 2.3.2.2 del Capítulo 2. La AGE se determinó por extracción Soxhlet con THF durante 24 h, de acuerdo a la metodología descrita en la sección 2.3.2.1 del Capítulo 2.

La morfología de las partículas se observó por microscopía de transmisión electrónica (TEM), en un microscopio TECNAI G2 20 TWIN (200kV, LaB6), previa dilución y tinción positiva del látex con acetato de uranilo (UAc), el cual reacciona con los grupos aminos de la caseína, observándose esta fase de color oscuro (McMahon et. al, 2008).

5.2.5. Caracterización de las películas

Las películas se prepararon a partir de los látex basados en n-BA-MMA por “casting” en moldes de silicona y luego se secaron a 22 °C y una humedad relativa del 55% durante 7 días para conseguir un peso constante de las películas. Las muestras fueron cuidadosamente retiradas del sustrato de silicona, obteniéndose películas con un espesor final de aproximadamente 1 mm.

La morfología de las películas se determinó mediante microscopía de fuerza atómica (AFM), siguiendo los procedimientos descritos en la sección 2.3.5.1 del Capítulo 2. La temperatura mínima de formación de película (MFFT) de los látex sintetizados se determinó empleando el método óptico detallado en la sección 2.3.5.2 del Capítulo 2. Además, se llevaron a cabo mediciones de opacidad y ángulos de contacto de las películas (CA), mediante las técnicas mencionadas en las secciones 2.3.5.3 y 2.3.5.4, del Capítulo 2. El comportamiento mecánico de los materiales acrílico-caseína se determinó mediante

ensayos de tracción, de acuerdo a lo detallado en la sección 2.3.5.6 del Capítulo 2. El desempeño térmico de las películas híbridas se estudió mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC) tal como se describió en la sección 2.3.5.7 del Capítulo 2. La resistencia química de los copolímeros híbridos frente a metil etil cetona (MEK) y agua, se evaluó siguiendo las técnicas presentadas en las secciones 2.3.5.8 del Capítulo 2.

5.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.3.1. Síntesis de la caseína acrilada (AFC)

La ocurrencia de la reacción de funcionalización se verificó mediante un cambio del potencial Zeta de la caseína acrilada con respecto a la caseína nativa, como consecuencia de la sustitución de algunos grupos amino de la proteína por enlaces amida. Así, el potencial Zeta a un pH 7 se redujo de -35.8 mV, para la caseína nativa, a -17.5 mV para AFC8. Por otra parte, se obtuvo una fuerte evidencia de la reacción de funcionalización de la caseína mediante espectroscopia de ^1H -RMN. La Figura 5.1 muestra el espectro de ^1H -RMN de AFC8 después de la diálisis, en donde el AA sin reaccionar, altamente soluble en agua, es completamente eliminado después de varias etapas de diálisis. Por lo tanto, los picos entre 5,4 y 6 ppm, que no aparecen en el espectro de caseína nativa (Figura 5.1.b) corresponden a los protones vinílicos de los grupos acrílicos unidos covalentemente a la caseína. El ^1H -RMN del AA también se muestra en la Figura 5.2.c. El porcentaje de AA unido a la caseína se evaluó por el método del OPA, dando como resultado 66% y 85% para AFC8 y AFC2, respectivamente.

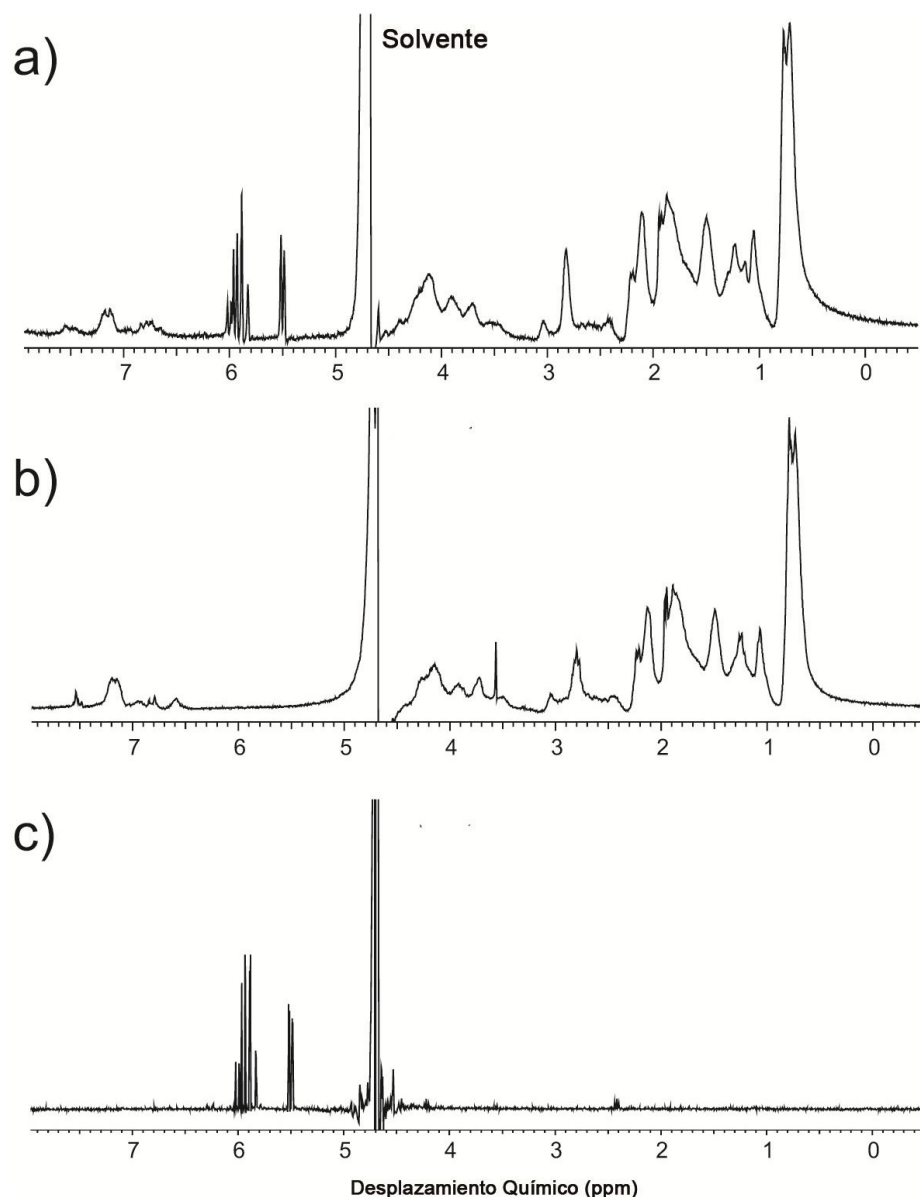


Figura 5.1. Espectros de ¹H-NMR de soluciones acuosas conteniendo D₂O, de (a) AFC8 dializada, (b) caseína nativa, y (c) ácido acrílico.

5.3.2. Síntesis de nanopartículas híbridas de PMMA-AFC

La Tabla 5.2 y la Figura 5.2 muestran los resultados de la polimerización de MMA, con un contenido de sólidos de 10%, en presencia de dos concentraciones diferentes de caseína, tanto nativa como acrilada (AFC). Siguiendo el sistema de codificación de experimentos que hemos utilizado en los capítulos anteriores, ahora incorporamos la abreviatura AFC para hacer referencia al empleo de caseína acrilada, con un subíndice indicando su concentración en pphm, seguido de la abreviatura MR con un subíndice que

indica la relación en peso de n-BA/MMA. Es decir, en el experimento AFC8₂₅MR_{0/100}, se utilizó 25 pphm de caseína funcionalizada con 8 dobles enlaces vinílicos, y MMA como único monómero. Vale la pena mencionar que, en las condiciones de reacción, la estabilidad de los látex híbridos de PMMA/caseína no fue afectada por la reducción del potencial Zeta de AFC con respecto a la caseína nativa, en el sentido que no se observó formación de coágulos durante la polimerización. Además, la incorporación de enlaces vinílicos en la caseína no modificó significativamente la evolución de la conversión y de los diámetros de partícula. La reducción de la conversión de monómero observada en los látex sintetizados con AFC8 con respecto a los obtenidos con caseína nativa y AFC2 podría ser una consecuencia de la disminución de la cantidad de grupos amino disponibles en AFC8 para la iniciación redox con TBHP.

Tabla 5.2. Polimerización de MMA en presencia de diferentes cantidades de caseína nativa y acrilada. Principales características de los látex finales.

Experimento	x (%)	\bar{d}_p (nm)	CGE (%)	AGE (%)
C₂₅MR_{0/100}	91	120	26	68
AFC2₂₅MR_{0/100}	89	132	57	87
AFC8₂₅MR_{0/100}	85	115	62	95
.....				
C₅₀MR_{0/100}	89	113	5	53
AFC2₅₀MR_{0/100}	84	96	23	97
AFC8₅₀MR_{0/100}	82	135	52	94

La mejora más importante obtenida por modificación de la caseína, fue un incremento en el grado de compatibilidad de las nanopartículas de acrílico-caseína, que se observa por el considerable aumento de CGE y AGE con respecto a la caseína no funcionalizada.

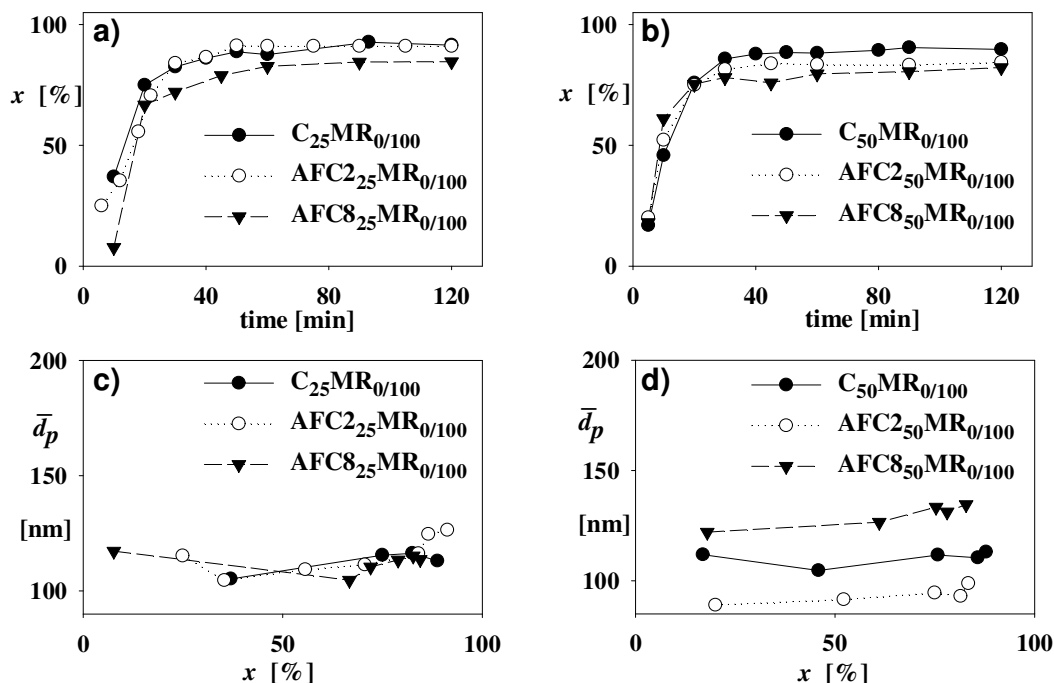


Figura 5.2. Polimerización de MMA en presencia de diferentes concentraciones de caseína nativa y acrilada (AFC). Evoluciones de: (a,b) conversión y (c,d) diámetro partícula.

Nótese que los valores de AGE obtenidos con caseína sin modificar fueron similares al 50% de injerto de PMMA reportado por Zhu y Li (2003). Cuando se utilizó 25 pphm de AFC, la variación de su contenido de enlaces vinílicos (de 2 a 8), no modificó significativamente los valores de CGE y AGE. En ambos casos se obtuvo un valor de CGE de aproximadamente 60%, con un aumento en la masa de caseína injertada de más de 120% con respecto a la proteína nativa ($C_{25}MR_{0/100}$), mientras que casi todo el PMMA (87-95%) contuvo AFC injertada. Sin embargo, el número de puntos de propagación por molécula de caseína, si afectó la CGE cuando se utilizó 50 pphm de caseína. En este caso, la fracción de caseína injertada se incrementó de 5% (con $C_{50}MR_{0/100}$), hasta 23% y 52% con $AFC2_{50}MR_{0/100}$ y $AFC8_{50}MR_{0/100}$, respectivamente. Además, casi todo el PMMA presentó AFC injertada, con valores de AGE alrededor de 95%, lo que supera significativamente el 53% de eficiencia alcanzado con caseína sin funcionalizar. Esto nos indica que con AFC casi todas las partículas están compatibilizadas, debido al hecho de que la fracción de PMMA homopolimérico se redujo significativamente mediante el empleo de AFC2 o AFC8. En otras

palabras, el uso de AFC permitió obtener látex más homogéneos que los sintetizados con caseína nativa.

En la Figura 5.3 se presenta la evolución de la CGE medida durante la polimerización. Puede observarse que el injerto de caseína con AFC no permaneció constante como en los casos con caseína nativa ($C_{25}MR_{0/100}$ y $C_{50}MR_{0/100}$). Con 25 pphm de AFC2 la fracción de proteína injertada al comienzo de la polimerización resultó casi igual a la de la caseína nativa, pero la propagación adicional de los enlaces vinílicos de AFC produjo un aumento en la CGE. El incremento en el número de puntos de propagación en la cadena de AFC8 dio mayores niveles de CGE desde el comienzo de la polimerización, debido a la propagación temprana de sus grupos acrílicos pendientes. Obsérvese que con AFC, la evolución de la CGE aumentó bruscamente al final de la polimerización, lo que indica que la propagación de los enlaces vinílicos pendientes, se volvió más importante cuando se redujo la concentración de MMA en el medio de reacción. Es esperable que los dobles enlaces laterales en la cadena de AFC, presenten menor reactividad que los correspondientes grupos vinílicos de las unidades monoméricas, de modo que la propagación de dichos grupos pendientes se vuelve predominante una vez que gran parte del MMA fue consumido.

La Figura 5.4 muestra las micrografías TEM de las nanopartículas obtenidas con 25 pphm de caseína nativa ($C_{25}MR_{0/100}$), y acrilada ($AFC_{825}MR_{0/100}$). Puede verse a partir de la Figura 5.4.a, que el látex sintetizado con caseína no modificada presenta una distribución de tamaños ancha, siendo notoria la presencia de pequeñas partículas provenientes de la nucleación en agregados micelares de proteína (de acuerdo a lo discutido en la sección 3.3.1 del Capítulo 3). También puede observarse que en la vecindad de las partículas existen zonas oscuras correspondientes a la caseína libre, teñida con UAc.

Sin embargo, cuando se utiliza AFC8 (Figura 5.4.b), las nanopartículas son más uniformes en tamaño y no se observa una clara evidencia de la existencia de caseína libre, lo que indica una mayor compatibilidad del sistema caseína/polímero acrílico. Esta observación es soportada por los altos valores de CGE y AGE obtenidos con AFC.

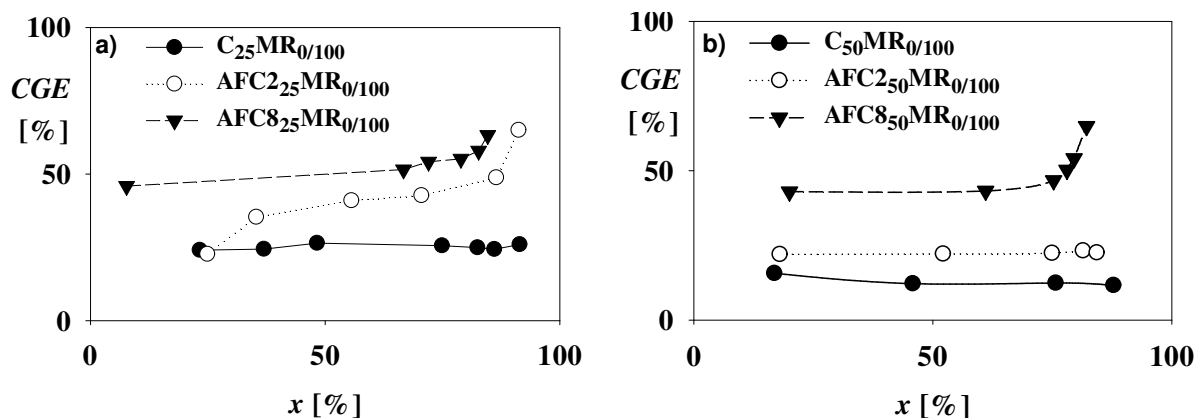


Figura 5.3. Evolución de CGE a lo largo de la polimerización de MMA en presencia de (a) 25 pphm y (b) 50 pphm de caseína nativa y acrilada.

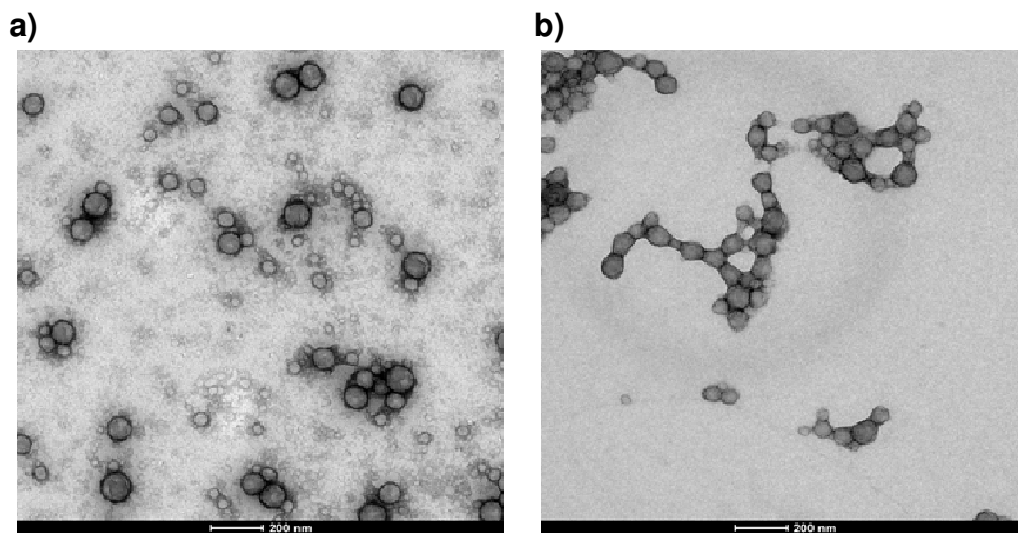


Figura 5.4. Micrografías de TEM de los látex híbridos (a) C₂₅MR_{0/100} y (b) AFC₈₂₅MR_{0/100}.

5.3.3. Síntesis de látex híbridos de poli(n-BA/MMA)-AFC

Las caseínas acriladas AFC2 y AFC8 también se utilizaron en la copolimerización de diferentes formulaciones de n-BA/MMA con 20% de contenido de sólidos, empleando la receta general de la Tabla 5.1. La Tabla 5.3 resume los resultados obtenidos con 6, 12 y 25 pphm de ambos tipos de caseína (nativa y AFC) y variando la relación de monómeros n-BA/MMA de acuerdo a lo presentado en el capítulo anterior. Obsérvese que, independientemente del tipo de caseína empleada (nativa o AFC), la x final fue apreciablemente inferior con 6 pphm de proteína, que con 12 y 25 pphm. Este

comportamiento sigue los fundamentos presentados en las secciones 3.3.1 y 4.3.1, y fue atribuido a limitaciones en la etapa de iniciación, por reducción de la disponibilidad de grupos NH₂ cuando se disminuye el contenido biomaterial.

Tabla 5.3. Polimerización de n-BA/MMA en presencia de diferentes cantidades de caseína nativa y acrilada. Principales características de los látex finales.

Experimento	x (%)	\bar{d}_p (nm)	Np (#/L)	CGE (%)
C₆MR_{65/35}	58	166	4.28x10 ¹⁶	63
AFC2₆MR_{65/35}	70	162	5.48x10 ¹⁶	65
AFC8₆MR_{65/35}	39*	247	8.2x10 ¹⁵	98
.....				
C₁₂MR_{70/30}	79	154	6.43x10 ¹⁶	44
AFC2₁₂MR_{70/30}	86	159	6.76x10 ¹⁶	40
AFC8₁₂MR_{70/30}	86	270	1.37x10 ¹⁶	89
.....				
C₂₅MR_{80/20}	91	122	1.42x10 ¹⁷	20
AFC2₂₅MR_{80/20}	84	151	6.92x10 ¹⁶	35
AFC8₂₅MR_{80/20}	86	262	1.39x10 ¹⁶	84

*látex inestable con un apreciable contenido de coágulo

Aunque para los látex que resultaron estables, la x final no fue afectada de manera importante por el uso de AFC en lugar de caseína nativa, los diámetros de partícula fueron significativamente más grandes con AFC8 que los obtenidos con proteína no funcionalizada o AFC2. Este notable incremento en \bar{d}_p fue probablemente debido a dos razones: i) la reducción del número de grupos amino disponibles para interactuar con el TBHP (por acrilación de la proteína), limitó la generación de radicales y como consecuencia se nucleó un menor número de partículas de mayor tamaño, y ii) la menor estabilización proporcionada por AFC8, ya que su potencial Z cayó drásticamente con respecto a la proteína sin funcionalizar (tal proteína acrilada posee una menor densidad de cargas superficiales que reducen las repulsiones partícula-partícula y favorecen la aglomeración). En el caso de

AFC8₆MR_{65/35}, el menor poder de estabilización de AFC8 junto con su bajo contenido en la formulación (6 pphm), volvió a este látex inestable, promoviendo la formación de coágulo y dificultando notablemente la medición de la x .

Puede notarse a partir de la Tabla 5.3, que la utilización de bajos contenidos de AFC2 (6 y 12 pphm) no produjo variaciones significativas en los valores de CGE, requiriéndose concentraciones más elevadas de esta proteína (25 pphm) para generar un incremento detectable en la compatibilidad con respecto a la caseína nativa. Por otro lado, la incorporación de AFC8 mejoró notablemente la CGE, independientemente del contenido de dicha proteína en los látex, para los cuales casi toda la proteína cargada contuvo polímero acrílico injertado (la CGE resultó superior al 80% en todos los casos).

Adicionalmente, se evaluó la estabilidad de los látex a diferentes pH, tomando como casos de estudio las muestras C₂₅MR_{80/20} y AFC8₂₅MR_{80/20}. La Figura 5.5 muestra la variación del \bar{d}_p en función del pH, para los látex mencionados. Puede verse que el \bar{d}_p de la dispersión AFC8₂₅MR_{80/20} se incrementó conforme aumentó el pH (un incremento relativo del 34%), mientras que el látex C₂₅MR_{80/20} presentó una evolución casi constante en los tamaños (sólo un incremento relativo del 7%). En base a las investigaciones de Zhu y Li (2003), podemos afirmar que la invariancia del \bar{d}_p con respecto al pH, para el látex C₂₅MR_{80/20}, es una consecuencia directa de la baja compatibilidad alcanzada en estas partículas. Dado que el polímero acrílico no es sensible al pH, es esperable que las partículas híbridas muestren respuesta a tal parámetro solo cuando la cantidad de caseína incorporada sea importante (el diámetro hidrodinámico de las nanopartículas podría ser modificado cuando las cadenas de proteína, presentes en la coraza, se extiendan o colapsen a diferentes pH). Siguiendo este razonamiento, el incremento en el \bar{d}_p con el pH, observado en la muestra AFC8₂₅MR_{80/20}, podría ser atribuido a que casi la totalidad de la caseína ha sido incorporada, volviendo a las nanopartículas híbridas más sensibles a aquel estímulo. Además, el látex sintetizado con caseína nativa (C₂₅MR_{80/20}) mostró coagulación

por precipitación de las nanopartículas a pH 3, mientras que aquel producido con caseína acrilada (AFC8₂₅MR_{80/20}) fue completamente estable en las mismas condiciones. La coagulación de la muestra C₂₅MR_{80/20} a pH 3, fue algo esperable ya que en tales condiciones nos encontramos por debajo del punto isoelectrico (pI) de la caseína (pH 4.6), lo cual promueve la desestabilización del sistema coloidal. Esto es debido a que en el pI la proteína posee una solubilidad nula y una carga neta igual cero, perdiendo de esta forma su capacidad de estabilización. Por otra parte la estabilidad del látex AF8C₂₅MR_{80/20} a bajos pH, podría ser una consecuencia de la alta proporción de biomaterial incorporado a las partículas, dado que bajo estas condiciones la proteína se encuentra químicamente anclada sobre la superficie polimérica, previniéndose de esta forma su coagulación.

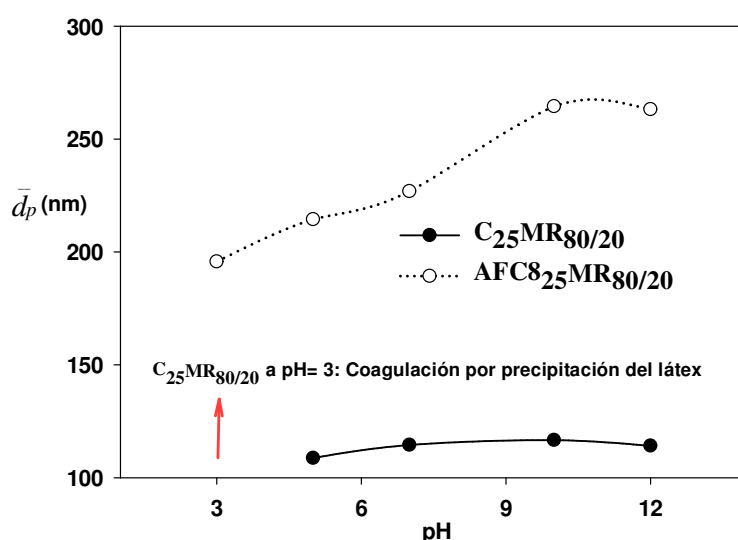


Figura 5.5. Variación del \bar{d}_p de los látex C₂₅MR_{80/20} y AFC₈₂₅MR_{80/20} en función del pH.

La Figura 5.6 muestra las micrografías de TEM de las nanopartículas obtenidas con 25 ppm de caseína nativa (C₂₅MR_{80/20}), y acrilada (AFC₈₂₅MR_{80/20}). Como puede verse, el látex C₂₅MR_{80/20} (Figura 5.6.a) presentó una distribución de tamaños heterogénea, siendo notable la presencia de pequeñas partículas no compatibilizadas, producidas por los mecanismos de nucleación secundaria postulados en el Capítulo 3. Además se observó una gran cantidad de caseína libre en las proximidades de las partículas (zonas difusas de un color oscuro). Por otro lado, claramente la utilización de caseína acrilada (AFC8) redujo la generación de

partículas homopoliméricas, mostrando una ausencia de regiones de caseína libre (Figura 5.6.b). Note que estos resultados concuerdan con la morfología de las partículas de PMMA-caseína, presentada en la sección 5.3.2 (Figura 5.4).

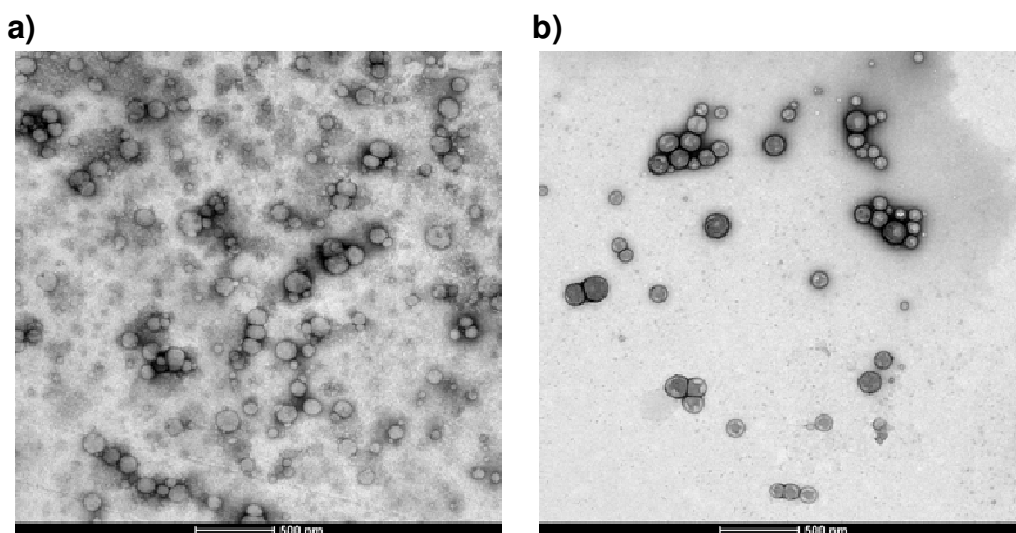


Figura 5.6. Micrografía de TEM de los látex híbridos (a) $C_{25}MR_{80/20}$ y (b) $AFC_{825}MR_{80/20}$.

5.3.4. Evaluación de la compatibilidad de películas híbridas de poli(n-BA/MMA)-AFC

5.3.4.1. Morfología de las películas híbridas de acrílico-AFC

En la Figura 5.7 se presenta imágenes de AFM de topografía y fase de la superficie de películas sintetizadas con caseína nativa y acrilada ($C_{25}MR_{80/20}$ y $AFC_{825}MR_{80/20}$). Puede apreciarse que ambas muestras presentan un ordenamiento de partículas al azar (lo cual es típico de látex polidispersos) deformadas pero sin coalescencia (Figuras 5.7.a,c). Como ya se discutió en la sección 4.3.2 del Capítulo 4, la utilización de altas cantidades de caseína conduce a bajos grados de compatibilidad acrílico-biomaterial, mostrando el sistema una migración de componentes y separación de fases. Es por ello que la morfología de la superficie del film $C_{25}MR_{80/20}$ consiste principalmente de una fase acrílica blanda con dominios segregados duros de caseína (Figura 5.7.b).

Por otro lado, cuando se incrementa la compatibilidad del sistema, la movilidad molecular de los componentes se ve limitada (por unión química de ambos materiales,

acrílico y caseína) y la separación de fases se encuentra restringida. Precisamente, la Figura 5.7.d muestra que la superficie del film AFC8₂₅MR_{80/20} está constituida por dominios de caseína dura, que corresponden a las corazas de las partículas, compuestas principalmente por la proteína injertada. En otras palabras, la utilización de AFC8 produce una morfología de película homogénea, sin apreciable separación de fase, debido al alto grado de compatibilidad que permite alcanzar esta proteína (CGE= 84%).

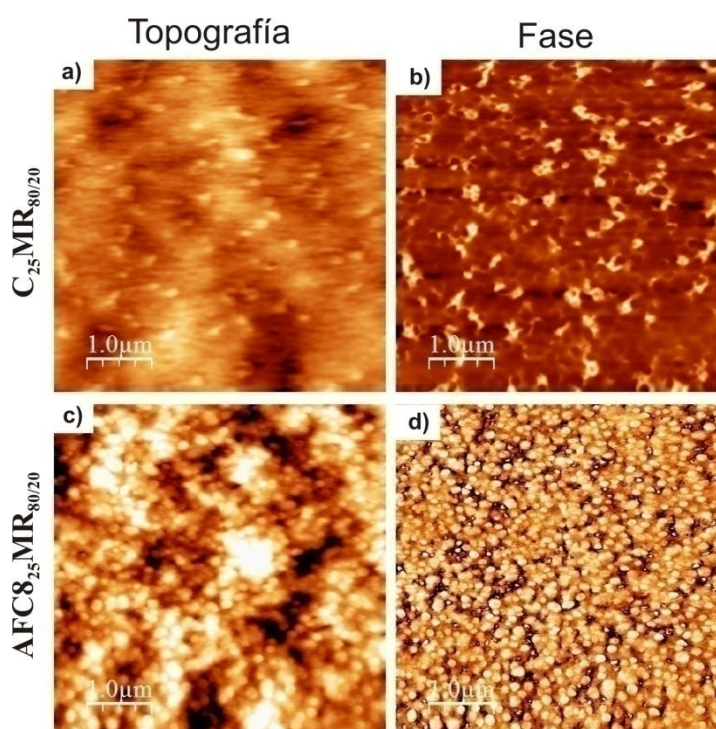


Figura 5.7. Imágenes (5 μm x 5 μm) de topografía (a,c) y fase (b,d), obtenidas por AFM, de la superficie de las películas C₂₅MR_{80/20} (a,b), y AFC8₂₅MR_{80/20} (c,d).

5.3.4.2. Propiedades de las películas híbridas de acrílico-AFC

La Tabla 5.4 resume los resultados de MFFT, temperatura de transición vítrea (T_g), opacidad y CA para las películas híbridas sintetizadas con caseína nativa y acrilada, junto con las características correspondientes a las películas de los “materiales puros”. La incorporación de AFC no afectó apreciablemente la formación de película, en ninguna de las concentraciones estudiadas, ya que la MFFT de los látex híbridos resultó, en todos los casos, inferior a la temperatura mínima del rango de medición (2 °C). Como se discutió en el capítulo anterior, este fenómeno podría estar relacionado con el hecho de que la

incorporación de caseína no afecta significativamente la Tg del sistema, produciéndose una separación de fases entre ambos componentes (el material híbrido presenta dos transiciones vítreas, una correspondiente al acrílico y otra a la proteína).

Tabla 5.4. Propiedades de las películas correspondientes a los látex híbridos de acrílico-AFC y homólogos puros. Resultados de MFFT, Tg, Opacidad y CA.

Experimento	MFFT (°C)	Tg (°C)	Opacidad/espesor (AU×nm/mm)	CA (°)
C₁₀₀MR_{0/0}	11	183	407.3	66.0
C₀MR_{65/35}	<2	-16	155.2	80.0
C₆MR_{65/35}	<2	-12	144.7	69.5
AFC₂MR_{65/35}	<2	-12	157.8	70.4
AFC₈MR_{65/35}	<2	-12	1045.6	71.2
C₀MR_{70/30}	<2	-22	146.9	85.2
C₁₂MR_{70/30}	<2	-25	131.2	73.9
AFC₂MR_{70/30}	<2	-16	137.6	76.0
AFC₈MR_{70/30}	<2	-18	775.6	71.7
C₀MR_{80/20}	<2	-34	126.2	80.6
C₂₅MR_{80/20}	<2	-33	54.4	81.6
AFC₂MR_{80/20}	<2	-28	68.4	81.1
AFC₈MR_{80/20}	<2	-29	393.9	73.3

Las propiedades ópticas de los materiales sintetizados resultaron afectadas en gran medida por la utilización de AFC. Particularmente, la incorporación de AFC8 en diferentes concentraciones, produjo un notable incremento en la opacidad de los materiales, en relación a aquella observada para caseína nativa (Tabla 5.4 y Figura 5.8). Este hecho nos revela que el incremento en la fracción de caseína incorporada al polímero, tiene una incidencia directa sobre la opacidad de las películas, debido a que el aumento de compatibilidad conduce a la formación de grandes partículas núcleo-coraza que, durante la formación de película, se deforman pero no coalescen por completo debido a la alta Tg de la

proteína de la coraza (sección 4.3.2 del capítulo anterior). Esta coalescencia parcial, provoca grandes intersticios partícula-partícula que incrementan la dispersión de luz (Monedero et al., 2006). Además, la caseína por si misma presenta una coloración amarillenta, característica de su proceso de obtención por precipitación ácida. En general, los materiales que contienen por encima de 12 pphm de proteína poseen levemente esta coloración típica, la cual fue intensificada cuando se utilizó AFC8.

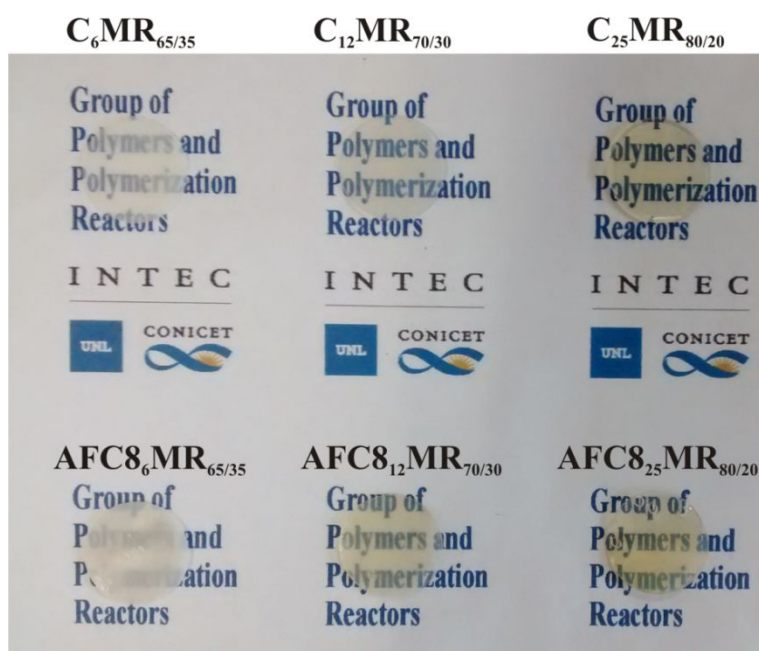


Figura 5.8. Fotografías de películas híbridas con diferentes concentraciones de caseína nativa y acrilada.

La hidrofiliidad de las películas sintetizadas con AFC, fue evaluada mediante mediciones superficiales de CA. En términos generales, la utilización de caseína acrilada en bajas concentraciones (6-12 pphm) no produjo cambios significativos en los valores de CA, en relación a aquellos obtenidos con caseína nativa. Sin embargo, se observó una reducción de θ° para la muestra AFC8₂₅MR_{80/20}, en relación a C₂₅MR_{80/20}. Esta mayor hidrofiliidad de la película modificada, podría ser una consecuencia directa del incremento de compatibilidad alcanzado para este látex. Como vimos en la Figura 5.7.d, la alta fracción de caseína injertada que presenta el material AFC8₂₅MR_{80/20}, produce una película con una superficie

fundamentalmente constituida por dominios duros de caseína. Por lo tanto, el valor de CA medido es más cercano al correspondiente al film de caseína pura.

5.3.4.3. Comportamiento mecánico de las películas híbridas de acrílico-AFC

La Tabla 5.5 muestra los resultados de los ensayos de tracción de las películas híbridas acrílico/caseína junto con las películas de proteína y acrílicos puros. De acuerdo a lo discutido en la sección 4.3.4 del capítulo anterior, la incorporación de un componente duro y quebradizo, como la caseína, le confiere a las películas híbridas menor capacidad de deformación, es decir que fallan a una menor elongación que las películas acrílicas puras. Por otra parte, las películas híbridas son capaces de soportar deformaciones superiores (con menor resistencia tensil), que lo observado para la película de caseína pura.

Podría notarse que la incorporación de AFC8 (películas AFC₈MR_{65/35}, AFC₈₁₂MR_{70/30} y AFC₈₂₅MR_{80/20}), aumentó significativamente la elongación a la rotura, al mismo tiempo que redujo la rigidez de las películas, según lo indica sus módulos de Young. Estos resultados sugieren que cuando la cantidad no injertada del componente duro y quebradizo se reduce sustancialmente (o en otras palabras, cuando se incrementa el grado de compatibilización entre la caseína y el polímero acrílico), las películas híbridas poseen un comportamiento tendiente a aquel de los acrílicos puros. Por ejemplo, en el caso de la película AFC₈₆MR_{65/35}, con bajo contenido de caseína y casi carente de este biomaterial no injertado (CGE = 98%), se alcanzó una elongación tan buena como la del acrílico homólogo. También puede verse a partir de la Figura 5.9, que la muestra C₂₅MR_{80/20} presentó un claro punto de cedencia a baja elongación, producto de la gran cantidad de caseína libre presente en éste material (sección 4.3.4 del capítulo anterior). Nótese que éste punto de cedencia fue menos evidente a medida que la cantidad de caseína no injertada se redujo por la utilización de AFC, indicando que la segregación de fases en el material fue restringida debido al incremento de compatibilidad. Es decir que el uso de caseína acrilada permitió obtener un material más homogéneo.

Tabla 5.5. Resultados de los ensayos mecánicos de tracción de los materiales híbridos de acrílico-caseína con diferentes concentraciones de proteína nativa y AFC. Comparación con los materiales puros.

Película	Módulo de Young (MPa)	Resistencia Tensil (MPa)	Elongación a la rotura (%)	Tenacidad ($J/m^3 \cdot 10^4$)
C₁₀₀MR_{0/0}	-	45.9 ± 5.9 ^a	7.7 ± 0.8 ^a	159.3 ^a
C₀MR_{65/35}	1.4 ± 0.1	2.9 ± 0.5	1418 ± 31	1990 ± 103
C₆MR_{65/35}	6.4 ± 1.2	3.2 ± 0.3	720 ± 30	1069 ± 31
AFC₂MR_{65/35}	2.1 ± 0.2	2.9 ± 0.3	835 ± 48	1346.8 ± 76
AFC₈MR_{65/35}	0.4 ± 0.03	1.4 ± 0.2	1564 ± 132	1178.3 ± 183
C₀MR_{70/30}	0.7 ± 0.1	2.5 ± 0.1	1886 ± 74	2030 ± 272
C₁₂MR_{70/30}	19.3 ± 2.2	2.4 ± 0.2	685 ± 21	1380 ± 74
AFC₂MR_{70/30}	3.1 ± 0.7	1.6 ± 0.3	964 ± 176	1244.9 ± 274
AFC₈MR_{70/30}	0.8 ± 0.05	2.0 ± 0.2	1324 ± 134	1694.4 ± 353
C₀MR_{80/20}	0.3 ± 0.03	0.6 ± 0.1	4698 ± 12	1858 ± 318
C₂₅MR_{80/20}	37.0 ± 3.0	5.4 ± 0.3	396 ± 39	1609 ± 95
AFC₂MR_{80/20}	42.3 ± 0.8	2.9 ± 0.1	313 ± 43	738.1 ± 70
AFC₈MR_{80/20}	4.1 ± 0.6	3.0 ± 0.1	730 ± 52	1508 ± 146

^aSomanathan et al. (1992).

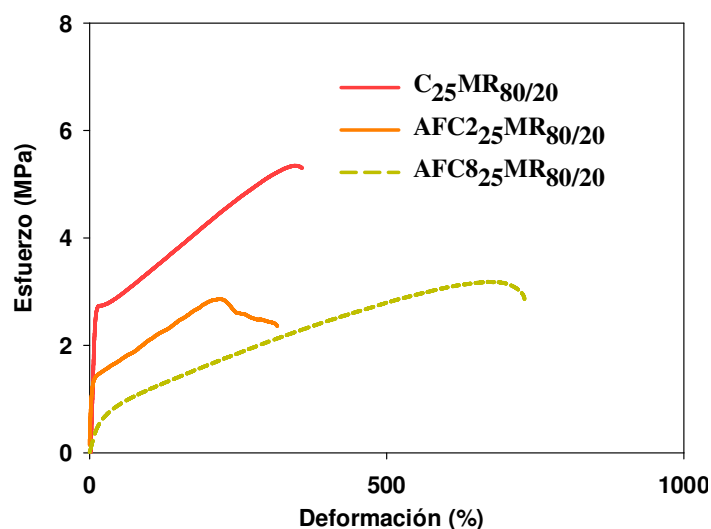


Figura 5.9. Resultados de los ensayos elongacionales para los materiales híbridos de acrílico-AFC con 25 ppm de proteína.

5.3.4.4. Resistencia al agua y a solventes orgánicos de las películas híbridas de acrílico-AFC

Debido al carácter altamente polar de la caseína, se observó que las películas de proteína pura presentan una muy pobre resistencia a la inmersión en agua, desintegrándose inmediatamente después de la inmersión (pérdida de peso en agua; $WL_W = 100\%$, Tabla 5.6). En contraste, las películas acrílicas presentan una muy buena resistencia al agua con una masa de agua absorbida (A_W) moderada.

Tabla 5.6. Resistencia al agua y a MEK de películas híbridas conteniendo diferentes concentraciones de proteína nativa y AFC.

Película	Resistencia al Agua			Resistencia a MEK	
	A_W (%)	Tiempo de inmersión ^a (min)	WL_W (%)	A_{MEK} (%)	WL_{MEK} (%)
C₁₀₀MR_{0/0}	-	-	100	1.3	15.1
C₀MR_{65/35}	18.0	<10080	0.6	-	100
C₆MR_{65/35}	-	-	100	183.9	61.3
AFC₂MR_{65/35}	48.8	10	30.0	170.3	25.6
AFC₈MR_{65/35}	98.5	40	27.3	166.7	24.4
C₀MR_{70/30}	24.7	<10080	0.7	-	100
C₁₂MR_{70/30}	-	-	100	166.7	36.7
AFC₂MR_{70/30}	117.7	20	16.9	99.4	26.6
AFC₈MR_{70/30}	240.4	360	19.1	96.8	26.7
C₀MR_{80/20}	27.6	<10080	0.6	-	100
C₂₅MR_{80/20}	-	-	100	52.8	23.8
AFC₂MR_{80/20}	132.2	30	27.5	59.5	20.8
AFC₈MR_{80/20}	361.1	1440	22.2	84.2	18.0

^aTiempo de inmersión antes de presentar daño.

Por lo tanto, la incorporación del polímero acrílico a la caseína debería mejorar la resistencia al agua, pero contrariamente a lo que se esperaba, las películas híbridas obtenidas con caseína nativa también se desintegraron durante el ensayo de inmersión (sección 4.3.6 del Capítulo 4). Como se mencionó oportunamente, esta pobre resistencia al agua está relacionada con la baja compatibilidad que se logra cuando se utiliza caseína nativa, en donde una alta cantidad de proteína sin injertar está presente en las películas. La proteína no injertada se transfiere a la fase acuosa y durante este proceso de migración las películas se desintegran, tal como muestra la Figura 5.10.a para el material $C_{25}MR_{80/20}$ inmediatamente después de la inmersión en agua.

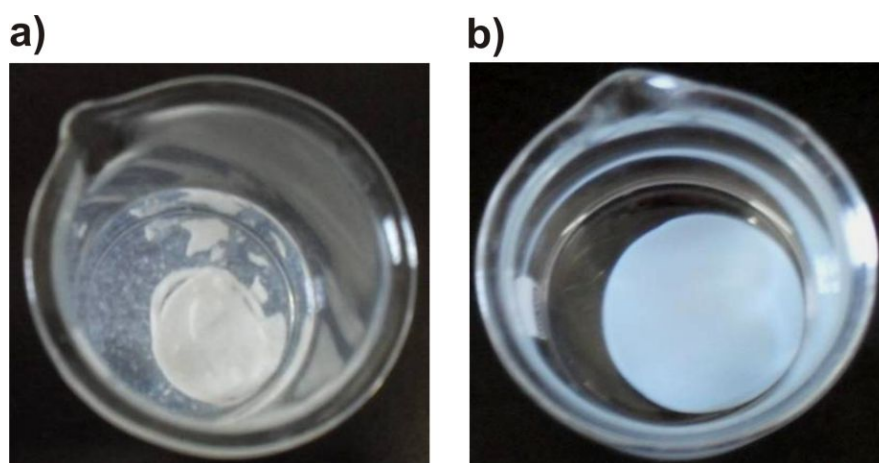


Figura 5.10. Fotografías de los experimentos de resistencia al agua para las películas (a) $C_{25}MR_{80/20}$ inmediatamente después de la inmersión y (b) $AFC_{8_{25}}MR_{80/20}$ después de 24 h de inmersión.

La incorporación de AFC mejoró considerablemente la resistencia al agua (Tabla 5.6), aumentando el tiempo de inmersión que las películas fueron capaces de soportar antes de presentar daño (Figura 5.10.b muestra la película $AFC_{8_{25}}MR_{80/20}$ hinchada por inmersión en agua). Puede observarse que las películas se rompieron tanto antes, cuanto menor fue el contenido de AFC y el grado de compatibilización (es decir, se obtuvieron películas con mayor resistencia al agua con AFC8 que con AFC2). También puede verse que, a pesar que A_w aumenta con el grado de compatibilización (probablemente porque las películas soportaron más tiempo inmersas), disminuyó el porcentaje de WL_w . En la Figura 5.11 se

presentan las curvas de absorción de agua, para muestras sintetizadas con diferentes concentraciones de AFC8. Nótese que, independientemente de la concentración de proteína, la velocidad de absorción de agua se incrementó muy rápidamente al inicio del test, hasta alcanzar un máximo y luego disminuyó como consecuencia del fenómeno conocido como "overshooting". Este efecto puede ser interpretado como un proceso de expulsión de agua, debido a una reorganización de la estructura de la película (Díez-Peña et al., 2003). Finalmente, después de cierto tiempo (dependiendo de la concentración de proteína), la cantidad de agua absorbida alcanzó el equilibrio.

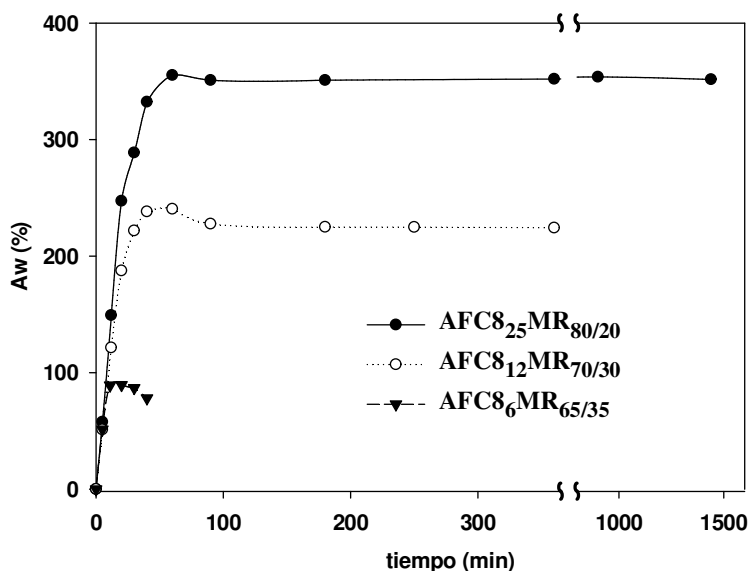


Figura 5.11. Curvas de absorción de agua para las películas acrílicas AFC8₂₅MR_{80/20}, AFC8₁₂MR_{70/30}, y AFC8₆MR_{65/35}.

Por otro lado, cuando las películas acrílicas fueron sumergidas en MEK, se desintegraron por completo (pérdida de peso en MEK; $WL_{MEK} = 100\%$, Tabla 5.6). La incorporación de un componente hidrofílico, como la caseína, actúa como barrera al solvente orgánico, y todas las películas híbridas resistieron 7 días de inmersión en MEK (sección 4.3.6 del Capítulo 4). Para el mismo contenido de caseína, se observó en la mayoría de los casos, que tanto la masa de MEK absorbida (A_{MEK}) como WL_{MEK} se redujeron con el aumento de la fracción de caseína injertada. El incremento de compatibilidad

alcanzado por injerto de ambos componentes, claramente mejoró la sinergia entre estos materiales (hidrófobo e hidrofílico).

Los resultados de los ensayos de tracción, junto con los de resistencia al agua y MEK, mostraron que a través del incremento de la compatibilidad entre los dos componentes, las propiedades de las películas mejoraron considerablemente.

5.4. CONCLUSIONES

La evaluación de las películas híbridas acrílico-caseína, mostró que la estrategia de síntesis basada en la formación de radicales primarios sobre la cadena de proteína, a través de la iniciación redox entre los grupos amino del biomaterial y un hidroperóxido, no permite alcanzar el grado de compatibilización requerido para lograr un efecto sinérgico entre los dos componentes, que garantice las propiedades básicas de un recubrimiento acuoso. Como nueva estrategia para incrementar la compatibilidad, se propuso la síntesis de una caseína acrilada o reticulable (AFC) que, además de la capacidad de injerto característica por iniciación redox con un hidroperóxido, contiene grupos acrílicos pendientes capaces de polimerizar radicalariamente.

En comparación con la caseína no modificada, el uso de AFC aumentó significativamente la compatibilización de las nanopartículas híbridas obtenidas por polimerización en emulsión de monómeros acrílicos. En la polimerización de MMA, el uso de AFC permitió superar significativamente el grado límite de injerto logrado utilizando sólo la formación de radicales sobre los grupos amino de la caseína (alrededor de 50% de PMMA injertado).

El incremento de la compatibilidad alcanzado con AFC mejoró considerablemente las propiedades de las películas híbridas de poli(n-BA/MMA)-caseína, según lo demostraron los ensayos mecánico y de resistencia al agua y al solvente orgánico (MEK), presentando una mayor sinergia entre la caseína (un material hidrófilo) y el polímero acrílico (un material hidrófobo).

Desafortunadamente, el incremento en la resistencia al agua de las películas, alcanzado mediante el uso de AFC, aún no es suficiente para la aplicación industrial de los látex como ligantes para recubrimientos a base acuosa. Por esta razón, resulta imperativo estudiar nuevas estrategias que superen esta limitación.

Capítulo 6: Utilización de glicidil metacrilato para incrementar la compatibilidad de látex híbridos de acrílico-caseína*

6.1. INTRODUCCIÓN

Hemos visto en el Capítulo 4 que los látex híbridos acrílico/caseína poseen interesantes propiedades para su utilización como ligantes para recubrimientos, puesto que ambos componentes muestran una excelente sinergia. Desafortunadamente, la incorporación de altas cantidades de biomaterial limita la compatibilidad de las películas, reduciendo su resistencia al agua. En el Capítulo 5 se mostró que la modificación química de la proteína, mediante la incorporación de enlaces vinílicos en su estructura, es una alternativa prometedora para incrementar la compatibilidad del sistema acrílico/caseína. Con esta estrategia fue posible superar la deficiente resistencia al agua que presentan las películas híbridas, obtenidas a partir de los látex sintetizados con caseína nativa. Sin embargo, la metodología evaluada anteriormente, la cual involucra el empleo de ácido acrílico (AA) como agente funcionalizante, posee ciertas desventajas inherentes, como por ejemplo i) el alto costo de la 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) utilizada como activador, ii) la formación de un producto secundario (urea) durante el transcurso de la reacción (Figura 2.3.a), y iii) la acidificación del medio que eventualmente puede conducir a la coagulación de la proteína. Además, si bien la funcionalización con AA probó incrementar la resistencia al agua de las películas híbridas, en comparación con el uso de caseína nativa, la mejora obtenida resulta insuficiente para su aplicación como recubrimiento. En este sentido, es esperable que un mayor grado de funcionalización, es decir una mayor incorporación de

* Parte de los resultados de este capítulo fueron enviados para su publicación en: M.L. Picchio, M.C.G. Passeggi (Jr), M.J. Brandiaran, L.M. Gugliotta, R.J. Minari. "Casein/acrylic latexes with controlled degree of grafting and improved coating performance", Prog. Org. Coat. (2016).

enlaces vinílicos, conduzca a una elevada resistencia al agua. Pero de acuerdo a las desventajas enumeradas previamente en relación a la metodología estudiada en el Capítulo 5, esto conduciría a una mayor acidificación del látex (o a la necesidad de incrementar notablemente la concentración del regulador de pH) y a un aumento en la concentración de urea; una molécula pequeña y soluble en agua que, conjuntamente con la mayor concentración de buffer, tenderían a favorecer la degradación de la película en medio acuoso. Bajo estas circunstancias, surge la necesidad de explorar nuevos agentes funcionalizantes que permitan incrementar la compatibilidad del sistema polímero-proteína.

En el presente capítulo, se evalúa la utilización de glicidil metacrilato (GMA) como monómero funcional para la modificación química de la caseína, mediante la incorporación de dobles enlaces vinílicos polimerizables radicalariamente. En este sentido se abordará: i) la síntesis y caracterización de cuatro caseínas entrecruzables (MFC) con diferentes cantidades de grupos metacrílicos pendientes; ii) la inclusión de MFC en la polimerización en emulsión de acrilato de n-butilo/metacrilato de metilo (n-BA/MMA) (relación en peso 80/20), con el fin de evaluar la mejora en el grado de compatibilidad entre la caseína y el polímero acrílico; y iii) el efecto del incremento de la compatibilidad acrílico/caseína sobre las propiedades de las películas obtenidas.

6.2. TRABAJO EXPERIMENTAL

La descripción detallada de los materiales, la especificación de los equipos, métodos de síntesis y caracterización, empleados a lo largo del trabajo experimental de ésta Tesis, se detallaron oportunamente en el Capítulo 2. Por esta razón, a continuación se hará referencia sólo a los aspectos experimentales que se aplican específicamente a éste capítulo.

6.2.1. Síntesis de la caseína metacrilada (MFC)

Las MFC fueron preparadas por la reacción directa entre los grupos oxirano del GMA y los amino de la caseína, en medio acuoso, siguiendo el procedimiento descrito en la sección 2.2.2.2 del Capítulo 2. La tensión del enlace del anillo oxirano es muy elevada

(alrededor de 25 kcal/mol), siendo por ello de una alta reactividad tanto química como bioquímica, por lo que es fácilmente atacado por la mayoría de los compuestos de adición. La reacción de metacrilación de la caseína procede por el ataque nucleofílico del grupo amino sobre el carbono menos sustituido del oxirano, produciendo la apertura del anillo y la subsiguiente formación de una amina con enlaces vinílicos (Figura 2.3.b del Capítulo 2). De esta forma, las MFC sintetizadas presentan una nueva funcionalidad metacrílica, que junto con los grupos amino, tiene la capacidad de propagar mediante polimerización radicalaria.

Las cuatro MFC sintetizadas, poseen 2 (MFC2), 10 (MFC10), 20 (MFC20) y 40 (MFC40) moléculas de GMA por molécula de caseína (asumiendo un peso molecular promedio de la proteína de 30000 g/mol).

6.2.2. Polimerización

Las polimerizaciones de los monómeros acrílicos, en presencia de caseína nativa y metacrilada, fueron llevadas a cabo siguiendo el procedimiento descrito en la sección 2.2.1 del Capítulo 2. Cuando se empleó MFC, la solución resultante de su síntesis se utilizó directamente sin ningún tipo de purificación, ni separación. Adicionalmente, se evaluó la simple incorporación de GMA junto con los monómeros acrílicos en la etapa de polimerización, como una alternativa al proceso de funcionalización de la caseína. Se espera que ésta metodología permita la formación de un copolímero de n-BA/MMA/GMA con grupos epóxidos pendientes, los cuales son capaces de unirse químicamente a la proteína durante el transcurso de la polimerización, del mismo modo que ocurre en la reacción de metacrilación (Figura 2.3.b). Vale la pena señalar que la propagación de una unidad monomérica de GMA, durante la formación del copolímero acrílico, ocurre simultáneamente con la reacción directa de dicho monómero con los grupos amino de la caseína. Cualquiera sea la reacción predominante, el resultado final debería ser un incremento en la compatibilidad del sistema acrílico-proteína. Siguiendo este procedimiento,

se sintetizaron dos látex funcionalizados, con relaciones molares de GMA/caseína de 20 ($C_{25}MR_{80/20}G_{20}$) y 40 ($C_{25}MR_{80/20}G_{40}$), los cuales serán presentados con fines comparativos.

La formulación monomérica utilizada consistió de n-BA/MMA con una relación en peso de 80/20 y un contenido de proteína de 25 partes por cien de monómero (pphm), de acuerdo a lo presentado en los capítulos anteriores. Los látex fueron sintetizados con un contenido de sólidos (sc) de 20% y el tiempo de polimerización fue en todos los casos de 3 h. En la Tabla 6.1 se presenta una receta general de polimerización.

Tabla 6.1. Receta general para la síntesis de látex funcionalizados de acrílico-MFC.

Reactivo	Cantidades (pphm)
n-BA	80
MMA	20
Caseína nativa/metacrilada	25
TBHP	0.2
Na_2CO_3	2.0
H_2O	500

6.2.3. Caracterización de la caseína metacrilada (MFC)

La funcionalización de la caseína se evaluó mediante: i) medición de la concentración micelar crítica (CMC) de las soluciones de proteína; ii) espectroscopía de 1H -RMN; y iii) cuantificación del porcentaje efectivo de GMA unido a la caseína. La CMC se determinó según el procedimiento descrito en la sección 2.3.1.3 del Capítulo 2. Los espectros de 1H -NMR fueron obtenidos de acuerdo a lo presentado en la sección 2.3.3.1 del Capítulo 2. El porcentaje efectivo de GMA unido a la caseína se determinó por el método del o-ftalaldehído (OPA), siguiendo el procedimiento detallado en la sección 2.3.3.2 del Capítulo 2.

6.2.4. Caracterización de los látex

A lo largo de las polimerizaciones se tomaron muestras y sobre ellas se midió: i) conversión de monómero (x), por gravimetría; y ii) diámetros medios de partículas (\bar{d}_p), por dispersión de luz dinámica (DLS) a un ángulo de detección de 90°. Además, las distribuciones de tamaños de partículas (PSDs), basadas en peso, fueron obtenidas por fraccionamiento hidrodinámico capilar (CHDF), y el número de partículas por litro de látex (N_p) se obtuvo a partir de los datos de x y de las mediciones de \bar{d}_p , como se indicó en la sección 2.3.1.2 del Capítulo 2.

La caracterización de la arquitectura molecular de los látex híbridos acrílico-caseína se determinó por la fracción de caseína injertada en el polímero acrílico (CGE), empleando el procedimiento de múltiples centrifugaciones, redispersiones y caracterización por UV, detallado en la sección 2.3.2.2 del Capítulo 2. La fracción de material insoluble (IF), se determinó por extracción Soxhlet con tetrahidrofurano (THF) durante 24 h, de acuerdo al procedimiento descrito en la sección 2.3.2.1 del Capítulo 2. Cabe señalar que la IF pueda estar compuesta por el gel acrílico, la caseína libre (también insoluble en THF) y el copolímero de injerto acrílico-caseína.

La morfología de las partículas se observó por microscopía de transmisión electrónica (TEM), en un microscopio TECNAI G2 20 TWIN (200kV, LaB6), previa dilución y tinción positiva del látex con acetato de uranilo (UAc), el cual reacciona con los grupos amino de la caseína, observándose esta fase de color oscuro (McMahon et. al, 2008).

6.2.5. Caracterización de las películas

Las películas se prepararon por "casting" en moldes de silicona y luego se secaron a 22 °C y una humedad relativa del 55% durante 7 días. Las muestras fueron retiradas del sustrato de silicona, obteniéndose un espesor final de aproximadamente 1 mm.

La morfología de las películas se determinó mediante el uso de microscopía de fuerza atómica (AFM), siguiendo los procedimientos descritos en la sección 2.3.5.1 del Capítulo 2.

La temperatura mínima de formación de película (MFFT) de los látex preparados se determinó empleando el método óptico presentado en la sección 2.3.5.2 del Capítulo 2. La opacidad, ángulos de contacto (CA) y resistencia al bloqueo de las películas, se determinaron según las técnicas mencionadas en las secciones 2.3.5.3-5, del Capítulo 2. El comportamiento mecánico de los materiales híbridos fue analizada mediante ensayos de tracción y de dureza, de acuerdo a lo detallado en la sección 2.3.5.6 del Capítulo 2. El desempeño térmico de las películas híbridas fue evaluado mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC) y análisis termogravimétrico (TGA), tal y como se describió en la sección 2.3.5.7 del Capítulo 2. Además, la resistencia de los copolímeros híbridos frente a diferentes condiciones, tales como solventes orgánicos, agua y compostaje, se determinó de acuerdo a las técnicas presentadas en las secciones 2.3.5.8-9 del Capítulo 2.

6.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.3.1. Síntesis de la caseína metacrilada (MFC)

La incorporación de grupos hidrófobos a una proteína puede mejorar drásticamente su actividad superficial. Por ejemplo, Magdassi et al. (2001) han demostrado que la ovoalbúmina hidrofóticamente modificada presenta una menor tensión superficial e interfásial, y es un mejor agente emulsionante que la ovoalbúmina nativa. En base a ello, podría esperarse que la incorporación de una molécula hidrofóbica, como la de GMA, modifique la tensión superficial (γ) de la solución de caseína, siendo esto una clara evidencia de la ocurrencia de la reacción de metacrilación. La Figura 6.1 muestra la evolución de γ en función de la concentración, para la caseína nativa, MFC20 y MFC40. Puede verse que el incremento del número de grupos hidrófobos incorporados en la caseína, produjo una significativa reducción en la CMC y en la γ de la solución de las proteínas, sugiriendo una mejora en sus propiedades emulsificantes. De este modo, la CMC varió de 0.1 mg/ml para la caseína nativa, hasta 0.074 y 0.058 mg/ml para MFC20 y MFC40, respectivamente. Por su

parte, γ disminuyó desde 55.5 mN/m hasta 44.9 mN/m como consecuencia de la funcionalización con 40 grupos metacrílicos por molécula de caseína.

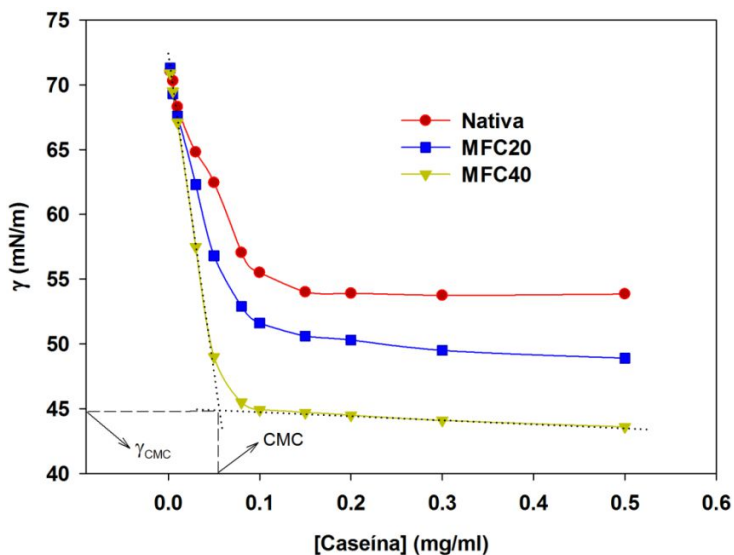


Figura 6.1. Curva de tensión superficial (γ) vs. concentración de caseína nativa y metacrilada en solución acuosa.

Además, se obtuvo una fuerte evidencia de la reacción de funcionalización de la proteína mediante espectroscopia de ^1H -RMN. La Figura 6.2 muestra los resultados espectroscópicos obtenidos, cuando se utilizó una relación molar de GMA/caseína igual a 20 (MFC20). La Figura 6.2.a muestra el espectro de ^1H -RMN del GMA y sus principales picos característicos. Dicho monómero funcional presenta señales en el espectro de ^1H -RMN de los protones del grupo oxirano en 2.6, 2.8 y 3.2 ppm, del grupo metileno en 3.4 y 4.9 ppm, y del metacrílico en 5.7 y 6.1 ppm. En la Figura 6.2.b se muestra el espectro de la caseína nativa entre 2.5 y 3.5 ppm; mientras que las Figuras 6.2.c-d muestran los espectros de ^1H -RMN de la mezcla de GMA y caseína, adquiridos antes y después de la reacción de funcionalización para obtener MFC20. Después de la etapa de funcionalización se observó que los picos correspondientes a los protones metacrílicos del GMA (f, g) no fueron modificados, mientras que las señales de sus protones oxirano (c; d,e) fueron considerablemente reducidas. Para una mejor visualización, estas señales se identificaron en color rojo en el zoom de la Figura 6.2.c. Nótese que en general los picos característicos

del GMA, presentes en la Figura 6.2.c-d, se encuentran algo desplazados en comparación a aquellos observados en la Figura 6.1.a. Este corrimiento en las señales químicas, podría deberse al hecho de que el espectro de GMA puro fue obtenido en cloroformo deuterado, mientras que las mezclas de GMA/caseína, por tratarse de soluciones acuosas, fueron preparadas con el agregado de óxido de deuterio y adquiridas en modo "watergate".

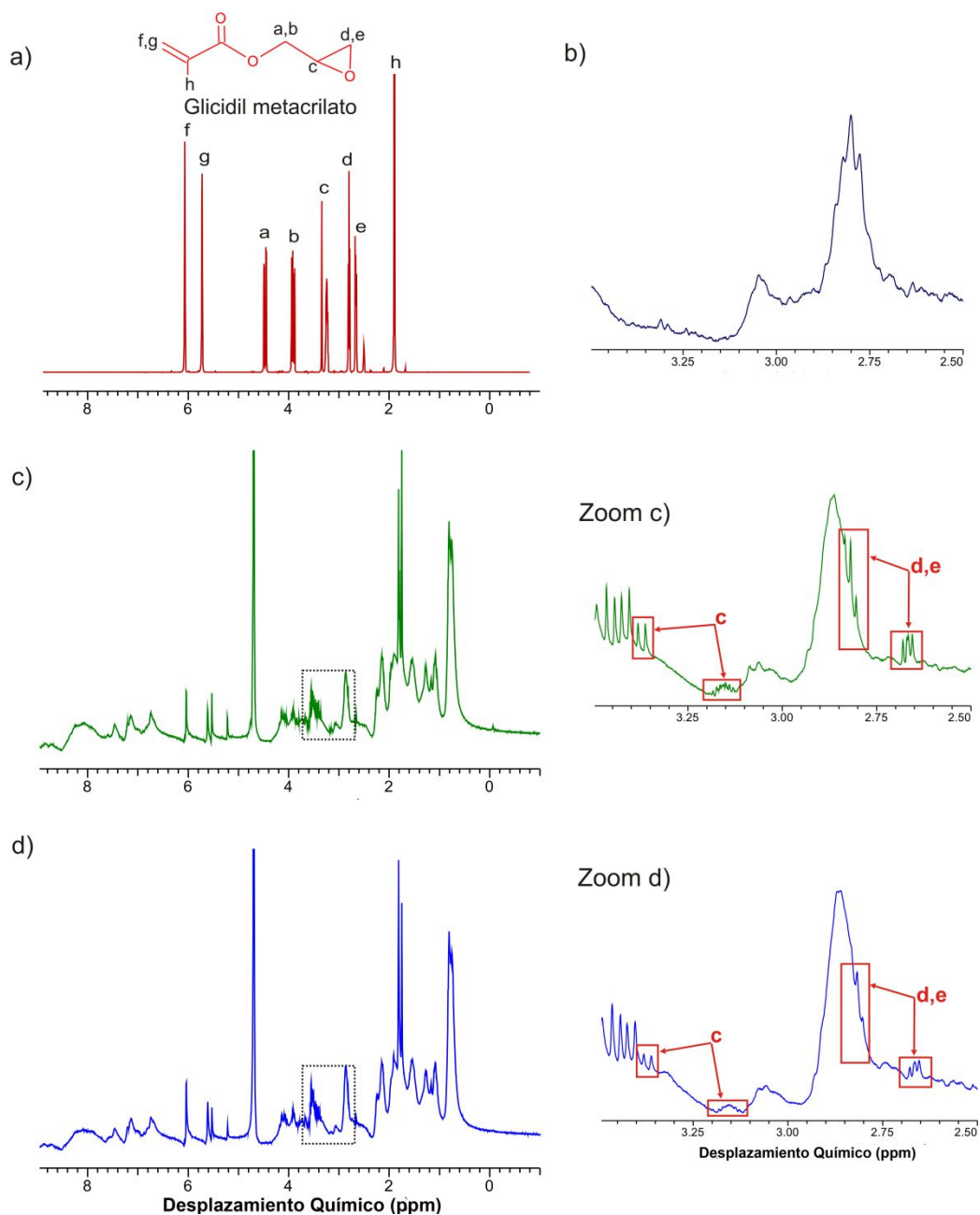


Figura 6.2. Espectros de $^1\text{H-NMR}$ de GMA (a), caseína nativa (b), mezcla GMA/caseína al comienzo (c), y al final (d) de la reacción de metacrilación para obtener MFC20.

Los resultados presentados anteriormente, confirman que la caseína entrecruzable fue exitosamente sintetizada. El porcentaje de GMA unido a la caseína, se evaluó por el método del OPA, dando como resultado un valor de 100%, 87% y 79% para una relación molar de GMA/caseína igual a 2, 20 y 40, respectivamente. De este modo, el máximo grado de funcionalidad alcanzada resultó de 32 dobles enlaces vinílicos por molécula de caseína.

6.3.2. Síntesis de nanopartículas híbridas de acrílico-MFC

La Tabla 6.2 resume los experimentos realizados utilizando una relación monomérica en peso de n-BA/MMA igual 80/20 y en presencia de MFC, conteniendo diferentes números de dobles enlaces incorporados. Siguiendo el sistema de codificación de experimentos presentado en el capítulo anterior, ahora reemplazamos la abreviatura AFC, la cual hacía referencia a la caseína funcionalizada con AA, por la correspondiente MFC, referenciando la modificación con el monómero funcional GMA. Así por ejemplo, el código MFC10₂₅MR_{80/20} indica que en dicho experimento, se utilizó 25 pphm de caseína funcionalizada con 10 dobles enlaces vinílicos, y una relación monomérica de n-BA/MMA igual a 80/20.

Tabla 6.2. Polimerización de n-BA/MMA en presencia de 25 pphm de MFC con diferentes grados de metacrilación. Principales características de los látex finales.

Experimento	x (%)	\bar{d}_p (nm)	Np (#/l)	CGE (%) ^a	IF(%)
C₂₅MR_{80/20}	91	122	1.42x10 ¹⁷	20 (5.0)	85
MFC₂₅MR_{80/20}	90	155	6.82x10 ¹⁶	25 (6.3)	96
MFC₁₀MR_{80/20}	82	172	4.71x10 ¹⁶	34 (8.5)	98
MFC₂₀MR_{80/20}	80	186	3.54x10 ¹⁶	59 (14.8)	98
MFC₄₀MR_{80/20}	74	207	2.37x10 ¹⁶	76 (19.0)	99

^aEntre paréntesis se presenta los gramos de caseína injertada por cada cien gramos de monómero (gphm)

En la Tabla 6.2, se presentan los valores finales de x , \bar{d}_p , N_p , CGE e IF mientras que la Figura 6.3.a-c muestra la evolución a lo largo de las polimerizaciones de x , N_p , y CGE. Nótese que cuando el número de dobles enlaces incorporados a la caseína se incrementó desde 2 a 40, se produjo una reducción en la x final y en la velocidad inicial de polimerización, después de un período común de inducción (Figura 6.3.a). Este comportamiento cinético podría ser atribuido a la disminución de la cantidad de grupos amino, disponibles en MFC, para interactuar con el TBHP e iniciar la polimerización. Como consecuencia, se redujo la concentración de radicales y el número de partículas nucleadas (N_p disminuyó de 1.42×10^{17} para caseína nativa, hasta 2.37×10^{16} para MFC40), siendo este último efecto el responsable del incremento del tamaño de partícula observado, aún a menores x finales, en los látex funcionalizados (Tabla 6.2). Además, la Figura 6.3.b muestra claramente que la velocidad de generación de partículas, a lo largo del proceso de polimerización, se ve seriamente limitada cuando se incrementa la cantidad de dobles enlaces incorporados a la caseína.

A partir de la Tabla 6.2, puede verse que la modificación química de la caseína, produjo un importante incremento en el grado de compatibilidad de las nanopartículas híbridas. Así, la variación del contenido de enlaces vinílicos de MFC (de 2 a 40), permitió aumentar la CGE de 20% (para $C_{25}MR_{80/20}$) hasta 76% (para $MFC_{40}MR_{80/20}$), representando un aumento en la masa de proteína injertada de más de 270% con respecto al biomaterial nativo. Por su parte, la IF también fue incrementada conforme se aumentó el número de dobles enlaces incorporados por caseína. Teniendo en cuenta que la concentración de caseína se mantuvo constante en todas las reacciones (25 pphm), puede inferirse que este incremento en la IF corresponde a una mayor fracción de acrílico injertado. Además, en base al gran número de dobles enlaces presentes en la proteína, que actúa como un agente de entrecruzamiento, podría esperarse que estos altos niveles de IF y CGE se correlacionen con la existencia de estructuras entrecruzadas en el material.

Estos resultados indican que con MFC casi todas las partículas están compatibilizadas, debido al hecho de que la fracción de caseína no injertada se redujo significativamente cuando se emplearon altas relaciones molares de "enlaces vinílicos/caseína". En otras palabras, los látex obtenidos con MFC resultaron más homogéneos que cuando se utilizó caseína nativa.

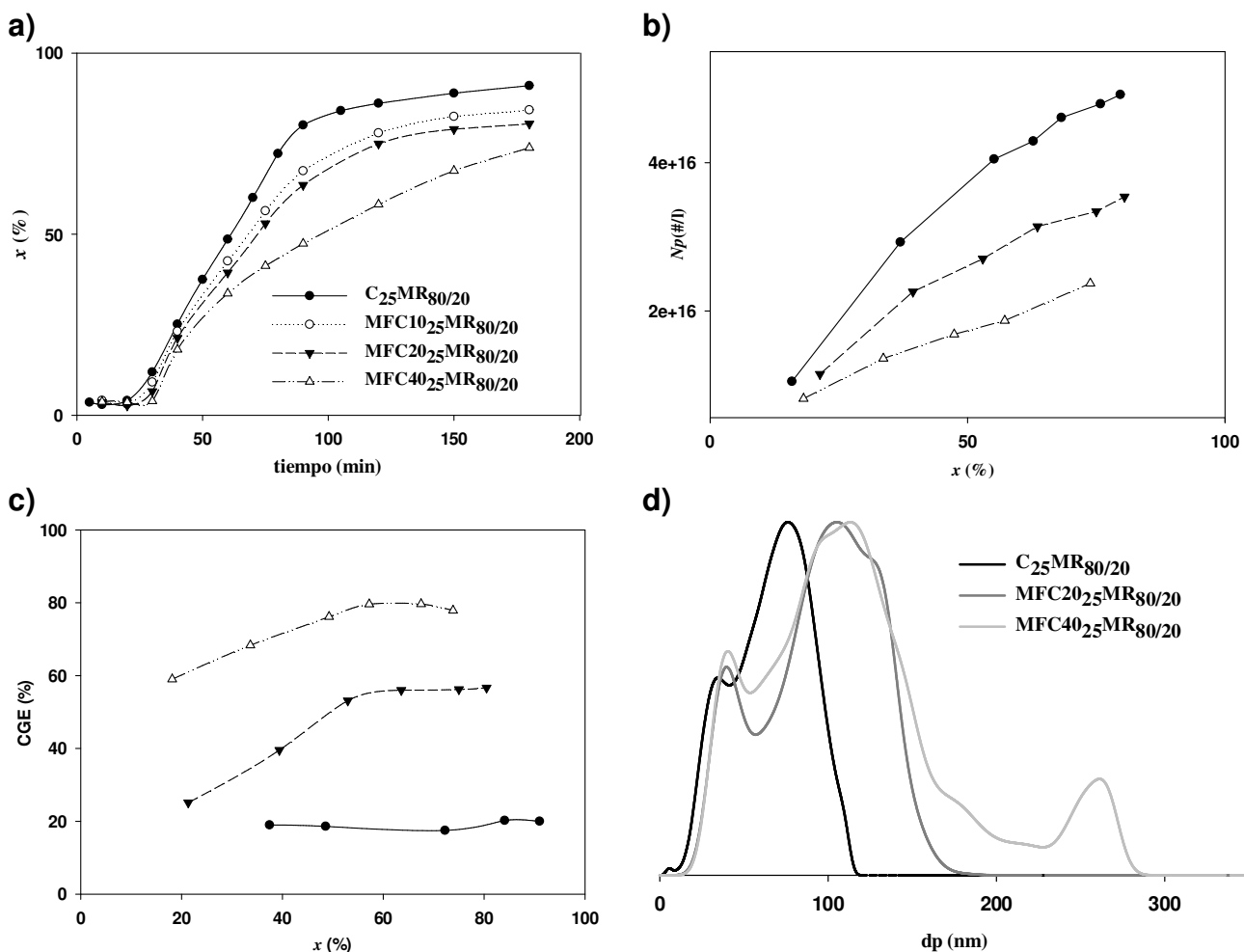


Figura 6.3. Copolimerización en emulsión de n-BA/MMA en presencia de caseína metacrilada (MFC) con diferente número de dobles enlaces: evolución a lo largo de la polimerización de (a) la conversión, (b) el número de partículas, y (c) la CGE; (d) PSDs en masa para los látex finales (normalizadas para el mismo máximo).

La Figura 6.3.c presenta la evolución de la CGE medida durante las polimerizaciones. Observe que con MFC, el injerto no se mantuvo constante como cuando se utilizó caseína nativa, indicando una progresiva formación de partículas compatibilizadas hasta cierto grado

de conversión. Así, el empleo de MFC condujo a un aumento progresivo de la CGE hasta una conversión cercana al 57%, para luego mantenerse constante hasta el final de la polimerización. Esta última observación sugiere que la propagación de los enlaces vinílicos pendientes de la MFC, comienza a baja conversión, es decir cuando la concentración de monómero acrílico en el medio de reacción es alta. También cabe señalar que, a pesar que la CGE permanece sin modificarse más allá del 57% de conversión, se observó una generación continua de partículas a lo largo de la polimerización (Figura 6.3.b), indicando la presencia de un segundo mecanismo de nucleación, de acuerdo a lo discutido en la sección 3.3.3 del Capítulo 3. Es decir que, si bien la modificación química de la caseína con GMA permite un notable incremento en la proteína injertada, no es capaz de suprimir completamente el mecanismo de formación de partículas no compatibilizadas. Así, las PSDs de los látex finales $C_{25}MR_{80/20}$ y $MFC20_{25}MR_{80/20}$ muestran la presencia de dos poblaciones de partículas (Figura 6.3.d); aquellas homopoliméricas estabilizadas por caseína sin injertar (población de pequeños tamaños y minoritaria), y aquellas compatibilizadas, conteniendo acrílico y caseína injertados (población de grandes tamaños y mayoritaria). Nótese que para el caso del látex $MFC40_{25}MR_{80/20}$, se observó un tercer modo con diámetros máximos cercanos a los 270 nm, probablemente generado por entrecruzamientos interpartículas, promovidos por la alta cantidad de dobles enlaces vinílicos incorporados a la caseína utilizada en esta formulación.

De acuerdo a lo discutido en la sección 3.3.3 del Capítulo 3, durante la generación de partículas no compatibilizadas, la caseína actúa como un emulsificante convencional, otorgándoles estabilidad coloidal. Como vimos en la sección 6.3.1 del presente capítulo, la modificación química de la proteína trae aparejada alteraciones en sus propiedades surfactantes y por lo tanto esto podría influir sobre los mecanismos de nucleación secundarios, conducentes a la formación de dichas partículas no compatibilizadas. Sin embargo, la Figura 6.3.d muestra claramente que la funcionalización de la caseína no tuvo una fuerte influencia sobre tales mecanismos de nucleación, puesto que los modos

correspondientes a las poblaciones generadas por estas vías (de bajos tamaños), permanecieron casi invariantes independientemente del tipo de MFC utilizada. Probablemente, esta población podría encontrarse estabilizada por una fracción de caseína que no ha sido eficientemente modificada durante el proceso de metacrilación.

Otro aspecto importante que se desprende del análisis de las PSDs, es el hecho de que el incremento en el número de dobles enlaces incorporado a la caseína, condujo a un sucesivo ensanchamiento del modo correspondiente a la población de partículas híbridas. Este comportamiento podría ser debido a que las partículas híbridas se forman durante gran parte del proceso de polimerización, a diferencia de lo observado con caseína nativa donde se nuclean sólo al comienzo de la reacción.

La Figura 6.4 muestra imágenes de las partículas obtenidas por TEM para los látex finales de $C_{25}MR_{80/20}$ y $MFC40_{25}MR_{80/20}$.

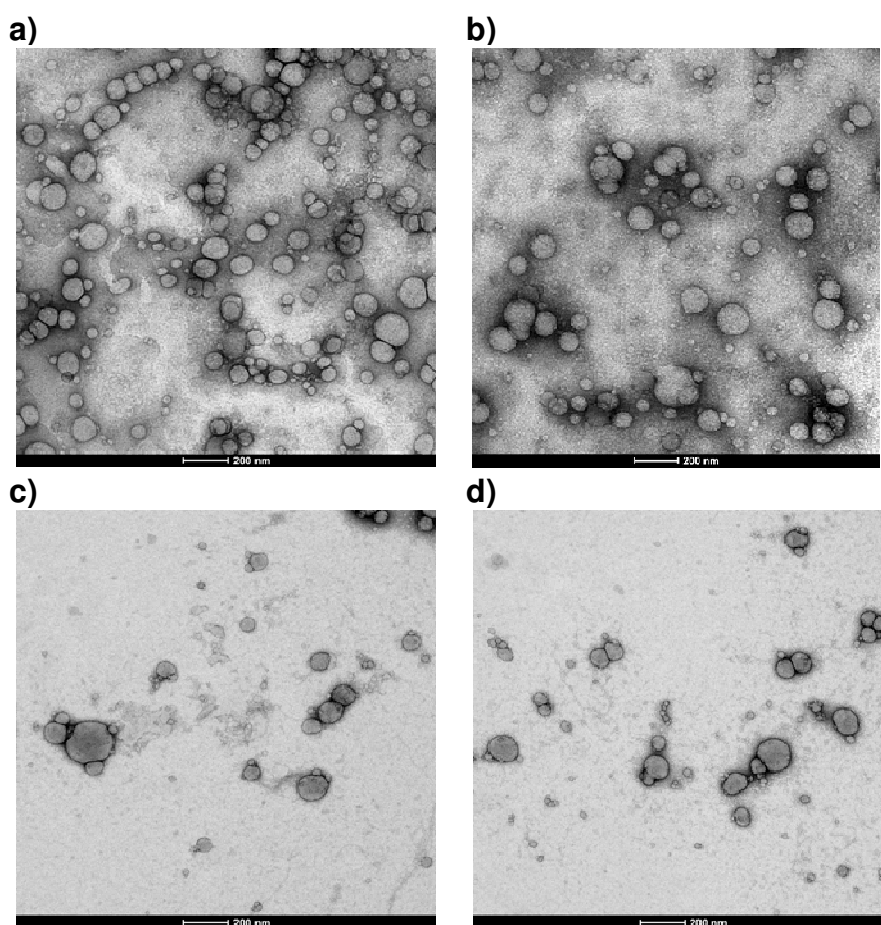


Figura 6.4. Micrografías de TEM de los látex híbridos (a,b) $C_{25}MR_{80/20}$ y (c,d) $MFC40_{25}MR_{80/20}$.

Como se discutió oportunamente en la sección 5.3.4 del Capítulo 5, las micrografías del látex sintetizado con caseína nativa (Figura 6.4.a-b) se caracterizan por poseer grandes cantidades de caseína libre (zonas oscuras rodeando las partículas) y un gran número de partículas pequeñas provenientes de los mecanismos de nucleación secundarios postulados en el Capítulo 3. Por otro lado, la utilización de MFC40 permitió obtener una mayor compatibilidad acrílico/caseína, y por lo tanto las Figuras 6.4.c-d correspondientes al látex MFC40₂₅MR_{80/20}, no muestran una clara existencia de caseína libre. Además, en concordancia con los resultados de CHDF, se observó una gran dispersión de tamaños, con la presencia de pequeñísimas partículas, probablemente no compatibilizadas y formadas por el mecanismo secundario de nucleación.

6.3.3. Evaluación de la compatibilidad de las películas híbridas de acrílico-MFC

6.3.3.1. Morfología de las películas híbridas de acrílico-MFC

En la Figura 6.5 se presentan imágenes de fase de AFM, de las superficies de las películas obtenidas a partir de los látex sintetizados con diferentes MFC. Adicionalmente, la Figura 6.6 muestra imágenes de rigidez, adquiridas en modo jumping, de los cortes transversales de las películas C₂₅MR_{20/80} y MFC40₂₅MR_{80/20}. Vale la pena recordar que en tales imágenes (de fase o rigidez), las regiones oscuras corresponden al polímero acrílico blando, mientras que las zonas claras pertenecen a dominios de caseína dura.

Como ya se mencionó en los Capítulos 4 y 5, cuando se utiliza proteína nativa (C₂₅MR_{20/80}), la superficie de la película se compone principalmente por polímero acrílico blando, con algunos dominios duros de caseína, como consecuencia de una separación de fases entre ambos componentes (Figura 6.5.a). Hemos visto en la sección 4.3.2 del Capítulo 4 que, durante este proceso, la caseína libre puede migrar dentro de la película, dejando su superficie enriquecida con grandes partículas acrílicas.

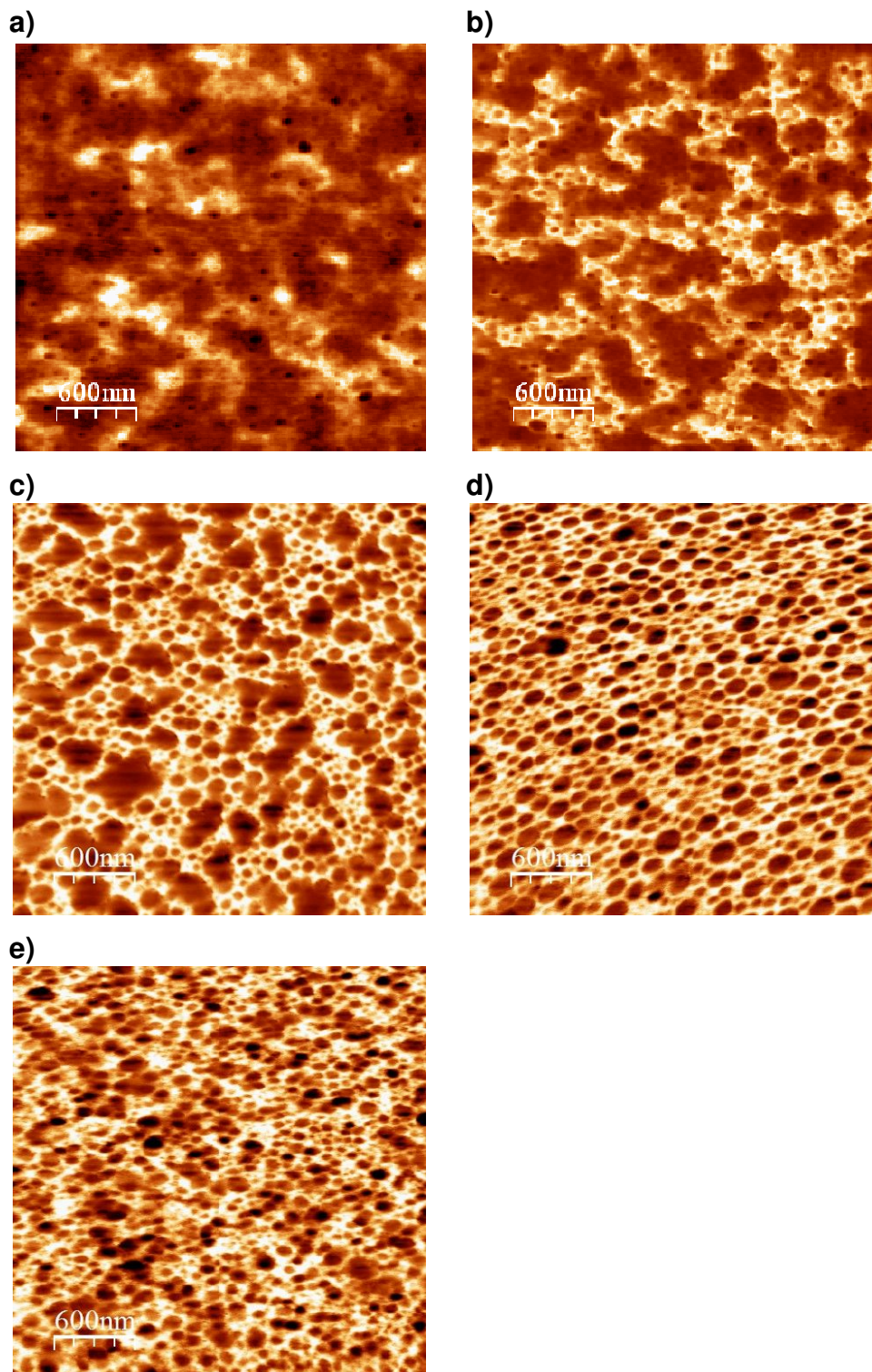


Figura 6.5. Imágenes ($3 \mu\text{m} \times 3 \mu\text{m}$) de fase de AFM de la superficie de películas híbridas obtenidas con caseína nativa (a); y MFC con diferente número de dobles enlaces incorporados: 2 (b), 10 (c), 20 (d) y, 40 (e).

El corte transversal de la película $C_{25}MR_{20/80}$ (Figura 6.6.a), muestra una alta proporción de caseína rígida en relación a los dominios acrílicos gomosos, confirmando el proceso de migración de fases. Es claro que este fenómeno se produce cuando la compatibilidad entre los materiales es limitada (existe una baja fracción de copolímero de injerto). Por otro lado se demostró en la sección 5.3.4.1 del Capítulo 5, que un incremento en la compatibilidad del sistema, limita la movilidad molecular de los componentes (por unión química de ambos materiales, acrílico y caseína), restringiendo la separación de fases. Bajo estas condiciones los materiales obtenidos fueron más homogéneos (Figura 5.7 del Capítulo 5). Similares resultados se observaron cuando se utilizó MFC con diferentes cantidades de dobles enlaces. Las Figuras 6.5.b-e muestran claramente que cuando se incrementa progresivamente la compatibilidad del sistema (con valores de CGE que van desde 20% para $C_{25}MR_{20/80}$ hasta 76% para $MFC40_{25}MR_{80/20}$), la superficie de las películas va adquiriendo una distribución de componentes más uniforme, indicando una morfología de partícula tipo núcleo-coraza.

Puede verse además, que el interior del material $MFC40_{25}MR_{80/20}$ (Figura 6.6.b) presenta una distribución entre los dominios proteicos y acrílicos similar al observado en su superficie, indicando un alto grado de homogeneidad en toda la película.

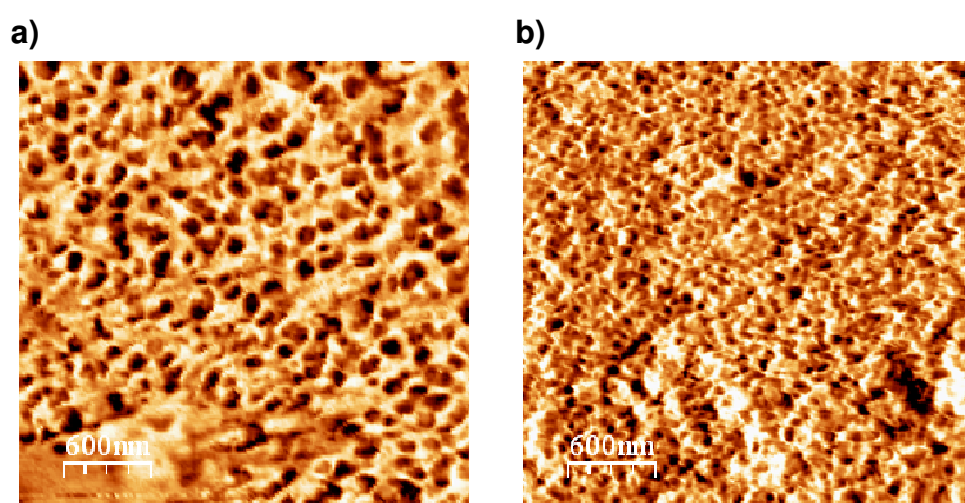


Figura 6.6. Imágenes ($3\ \mu\text{m} \times 3\ \mu\text{m}$) de rigidez de AFM del interior de las películas híbridas $C_{25}MR_{80/20}$ (a) y $MFC40_{25}MR_{80/20}$ (b).

Estos resultados demuestran que la utilización de MFC es una excelente alternativa para mejorar la compatibilidad de las películas, obteniéndose materiales más homogéneos a escala nanométrica.

6.3.3.2. Propiedades de las películas híbridas de acrílico-MFC

La Tabla 6.3 resume los resultados de MFFT, temperatura de transición vítrea (T_g), temperatura de descomposición máxima ($T_{d_{max}}$), opacidad y CA, de las películas híbridas obtenidas a partir de caseína nativa y MFC. Adicionalmente y con fines comparativos, se presentan las propiedades correspondientes a las películas puras de caseína y acrílico [poli(n-BA/MMA) = 80/20]. Nótese que independientemente del tipo de MFC utilizada, la incorporación de proteína no afectó la formación de película, de modo que la MFFT de los látex híbridos resultó, en todos los casos, inferior a la temperatura mínima del rango de medición (2 °C). Estos resultados concuerdan con aquellos presentados en la sección 4.3.3.3 y 5.3.4.2 de los Capítulos 4 y 5 respectivamente. En tales secciones se atribuyó este comportamiento al hecho de que la adición de caseína a las formulaciones acrílicas, no afecta significativamente la T_g del sistema acrílico, y que el agua actúa como plastificante de la caseína durante el proceso de formación de la película. Esto se debe a que la morfología de las nanopartículas (núcleo-coraza), implica la ausencia de "mezcla" a nivel molecular entre los componentes polímero/proteína, y por lo tanto los materiales híbridos presentan dos transiciones vítreas, una correspondiente al acrílico del núcleo y otra a la caseína de la coraza. Vale la pena destacar que, si bien la T_g de los materiales híbridos no resultó muy diferente a la del acrílico puro, se observó un ligero incremento en dicha transición, conforme aumentó el número de dobles enlaces incorporados a la caseína (la T_g varió desde -34 °C para el acrílico puro, hasta -25 °C para MFC40₂₅MR_{80/20}). Una de las posibles causas de este comportamiento podría ser el incremento en el grado de entrecruzamiento de los materiales, lo cual es apoyado por los altos niveles de IF observados en los látex funcionalizados (Tabla 6.2). Por otro lado, el incremento en el grado de metacrilación de la

caseína fue acompañado por una reducción en la conversión global de monómero, lo cual podría producir materiales más ricos en PMMA, con una mayor Tg (tal como se discutió en la sección 4.3.3 del capítulo 4).

Tabla 6.3. Propiedades de las películas correspondientes a los látex híbridos de acrílico-MFC con diferentes grados de metacrilación. Resultados de MFFT, Tg, Td_{max}, Opacidad y CA.

Experimento	MFFT (°C)	Tg (°C)	Td _{max} (°C)	Opacidad/espesor (AU×nm/mm)	CA (°)
C₁₀₀MR_{0/0}	11	183	316	407.3	66.0
C₀MR_{80/20}	<2	-34	370	126.2	80.6
C₂₅MR_{80/20}	< 2	-33.0	402.0	54.4	81.6
MFC2₂₅MR_{80/20}	< 2	-29.0	393.0	54.7	80.1
MFC10₂₅MR_{80/20}	< 2	-28.0	419.0	85.0	76.1
MFC20₂₅MR_{80/20}	< 2	-24.0	420.0	89.7	72.4
MFC40₂₅MR_{80/20}	< 2	-25.0	417.0	83.7	70.9

Por otra parte, la Tabla 6.3 y la Figura 6.6 muestran que la resistencia a la degradación térmica de los materiales híbridos, se incrementó cuando se utilizó MFC con 10 o más dobles enlaces incorporados, en lugar de caseína nativa. Así, la Td_{max} de las películas varió desde 402 °C para C₂₅MR_{80/20}, hasta 417 °C para MFC40₂₅MR_{80/20}. Además, la Figura 6.7 muestra que la utilización de MFC produjo una ligera reducción de la velocidad de degradación en Td_{max}, según lo indican las menores alturas de los picos principales de descomposición. Se debe notar también que los termogramas de las películas MFC20₂₅MR_{80/20} y MFC40₂₅MR_{80/20} presentaron un segundo pico de degradación a temperaturas más bajas que Td_{max}, siendo estas 384°C y 377°C, respectivamente. Esto sugiere que el mecanismo de descomposición térmica transcurre en dos etapas (Grassie, 1972), probablemente primero la escisión de cadenas pendientes, correspondientes al acrílico injertado (cuyo número fue importante en estas muestras), y luego la ruptura de estructuras entrecruzadas presentes en los materiales (Chen et al., 2015).

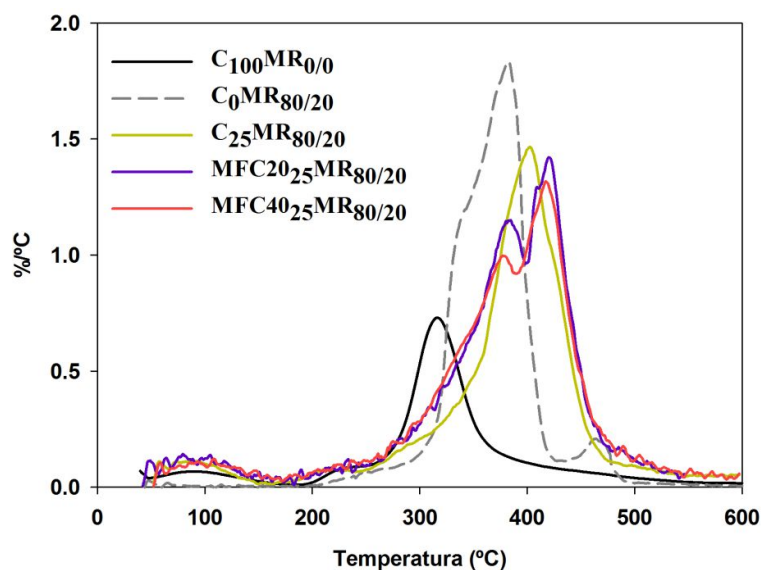


Figura 6.7. Análisis termogravimétrico de películas puras e híbridas sintetizadas con caseína nativa, MFC20 y MFC40.

La Tabla 6.3 también muestra que las propiedades ópticas de las películas híbridas no fueron significativamente afectadas por el uso de MFC, observándose un incremento entre la opacidad de los materiales $C_{25}MR_{80/20}$ y $MFC_{40_{25}}MR_{80/20}$ de solo 30 UA \times nm/mm. Estos resultados son algo inesperados puesto que, como vimos en la sección 5.3.4.2 del Capítulo 5 para la misma relación monomérica, un incremento en la compatibilidad del sistema fue acompañado por un notable aumento en la opacidad, debido a la generación de grandes intersticios partícula-partícula que promueven la dispersión de luz visible. Sin embargo, los látex sintetizados con MFC presentaron una considerable fracción de partículas pequeñas (20-50 nm, Figuras 6.3 y 6.4), las cuales podrían acomodarse en los espacios interpartículas, disminuyendo de esta manera la reflexión difusa en el interior del material.

Por otra parte, la incorporación de MFC tuvo una notable influencia en las propiedades superficiales de las películas híbridas, incrementando su hidrofiliidad conforme aumentó la compatibilidad del sistema. De este modo, los CA se redujeron desde 81.6^o para $C_{25}MR_{80/20}$ hasta 70.9^o para $MFC_{40_{25}}MR_{80/20}$. Este comportamiento está relacionado directamente con las morfologías superficiales de las películas, presentadas anteriormente. Como vimos en la sección 6.3.3.1, el incremento en la compatibilidad de las nanopartículas híbridas conduce a

una homogenización de la película y por lo tanto a un mayor contenido de caseína sobre la superficie de los materiales, debido a limitaciones en la movilidad molecular de este componente, con respecto al homólogo con caseína nativa. Puesto que la proteína es altamente hidrofílica, su mayor concentración sobre la superficie da como resultado una disminución de los CA.

La Figura 6.8 muestra los resultados de los ensayos de anti-bloqueo de los látex sintetizados con diferentes MFC. Puede verse que el incremento en la compatibilidad entre los componentes acrílico y proteico, produjo una mejora en la resistencia al bloqueo de las películas, obteniéndose recubrimientos completamente no adhesivos para los casos en que se utilizaron MFC con más de 10 dobles enlaces incorporados. De acuerdo a lo discutido en la sección 4.3.3 del Capítulo 4, la adhesión de un material posee una alta contribución superficial, de modo que la presencia de un componente rígido sobre su superficie (como la caseína), incrementa significativamente la resistencia al bloqueo. Por esta razón, el aumento de la concentración de caseína sobre la superficie de las películas (Figura 6.5.a-e), por incremento en la compatibilidad de los látex, produjo una pérdida de adhesión superficial favoreciendo la resistencia al bloqueo.

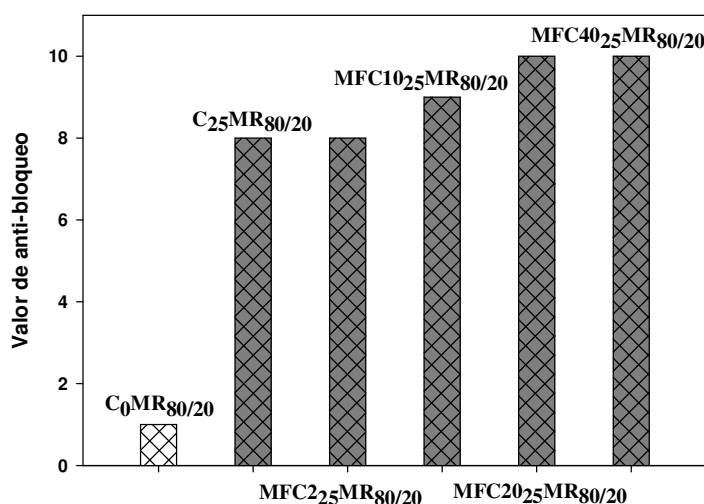


Figura 6.8. Resistencia al bloqueo de películas híbridas de acrílico-MFC con diferente número de dobles enlaces incorporados.

Por otro lado, el alto contenido de gel en la película, restringe la movilidad molecular de las cadenas acrílicas y reduce de esa forma la adhesión del material (Wenjun et al., 2009). Es por ello que el incremento de la IF de los látex híbridos, como consecuencia de la incorporación de dobles enlaces en las cadenas de caseína (Tabla 6.2), contribuye también a reducir la adhesión y por ende a mejorar la resistencia al bloqueo.

6.3.3.3. Comportamiento mecánico de las películas híbridas de acrílico-MFC

La Tabla 6.4 y la Figura 6.9 muestran los resultados de los ensayos mecánicos de las películas híbridas sintetizadas con MFC, conteniendo diferentes funcionalidades vinílicas incorporadas. Con fines comparativos, dicha tabla también incluye las características correspondientes a las películas de caseína y de acrílico puro. Vale la pena recordar que, de acuerdo a lo discutido en la sección 4.3.4 del Capítulo 4, la caseína libre en el interior de las películas actúa como un reforzador, otorgándoles un marcado comportamiento plástico y una elevada dureza. Por otra parte, hemos demostrado en la sección 5.3.4.3 del Capítulo 5, que el incremento en la compatibilidad del sistema por la utilización de AFC, conduce a una notable reducción en el módulo elástico y la resistencia tensil de los materiales, al mismo tiempo que se incrementa su capacidad de elongación. En base a ello, es evidente el importante rol que desempeña la caseína no injertada sobre el comportamiento mecánico de los materiales.

La utilización de MFC dio resultados similares a aquellos obtenidos con AFC, de modo que los valores de módulo elástico y dureza de los materiales se redujeron sustancialmente cuando se incrementó la compatibilidad acrílico/proteína (Tabla 6.4). Así, el módulo de Young se redujo desde 37.0 MPa para $C_{25}MR_{80/20}$, hasta 7.6 MPa para $MFC40_{25}MR_{80/20}$. Por su parte, la dureza a la penetración se redujo también desde 435.1 N hasta 143.7 N para ambos materiales, respectivamente. La Figura 6.9.a muestra la evolución de la fuerza de penetración en función de la distancia, obtenidas a partir de los ensayos de dureza de las distintas películas funcionalizadas. Note que la pendiente de las curvas, la cual es indicativa

de la rigidez de los materiales, decayó considerablemente conforme se redujo el contenido de caseína libre de los látex. En otras palabras, la utilización de MFC dio origen a películas más gomosas, con un comportamiento tendiente al polímero acrílico puro.

Tabla 6.4. Resultados de los ensayos mecánicos de los materiales híbridos de acrílico-MFC con diferentes grados de metacrilación.

Película	Módulo de Young (MPa)	Resistencia Tensil (MPa)	Elongación a la rotura (%)	Tenacidad (J/m³.10⁴)	Dureza (N)
C₁₀₀MR_{0/0}	-	45.9 ± 5.9 ^a	7.7 ± 0.8 ^a	159.3 ^a	- ^b
C₀MR_{80/20}	0.33 ± 0.03	0.63 ± 0.1	4698 ± 12	1858 ± 318	5.0 ± 0.43
C₂₅MR_{80/20}	37.0 ± 3.0	5.4 ± 0.3	396 ± 39	1609 ± 95	435.1 ± 22.2
MFC₂₅MR_{80/20}	49.0 ± 2.7	6.5 ± 0.3	423 ± 9	2148 ± 106	427.8 ± 21.5
MFC₁₀MR_{80/20}	32.9 ± 3.1	8.0 ± 0.3	657 ± 34	3396 ± 256	318.6 ± 38.8
MFC₂₀MR_{80/20}	18.6 ± 1.8	8.0 ± 0.5	575 ± 38	2704 ± 174	258.4 ± 30.0
MFC₄₀MR_{80/20}	7.6 ± 0.5	7.7 ± 0.4	398 ± 27	1605 ± 172	143.7 ± 23.7

^aSomanathan et al. (1992).

^bLas películas de caseína pura resultaron demasiado quebradizas para ensayar.

Sin embargo, nótese que la resistencia tensil de las películas presentó una tendencia opuesta a la esperada, incrementándose desde 5.4 MPa para C₂₅MR_{80/20}, hasta 8.0 MPa en el caso de MFC₁₀MR_{80/20}, sin variaciones sustanciales para mayores grados de metacrilación de la caseína. Además, la capacidad de deformación de los materiales mejoró a medida que aumentó el grado de funcionalización de la caseína hasta 10 dobles enlaces incorporados, pero el incremento adicional en el número de unidades metacrílicas incorporadas (MFC₂₀-40), provocó una disminución en dicha variable. De esta manera, la película MFC₁₀MR_{80/20} presentó la máxima tenacidad con un valor de 3396 J/m³.10⁴.

Evidentemente estos resultados sugieren que, además del efecto de reducción del contenido de caseína libre, existe otro fenómeno que contribuye al comportamiento mecánico de las películas de manera contrapuesta. En base a los valores de IF y Tg presentados anteriormente, podemos atribuir este efecto contrapuesto al incremento en la

densidad de entrecruzamiento de los materiales a medida que aumenta el número de dobles enlaces vinílicos incorporados a la caseína. En otras palabras, altos grados de funcionalización (20-40 dobles enlaces) generan estructuras entrecruzadas en el interior de las películas, que influyen sobre su resistencia tensil y limitan su capacidad de deformación.

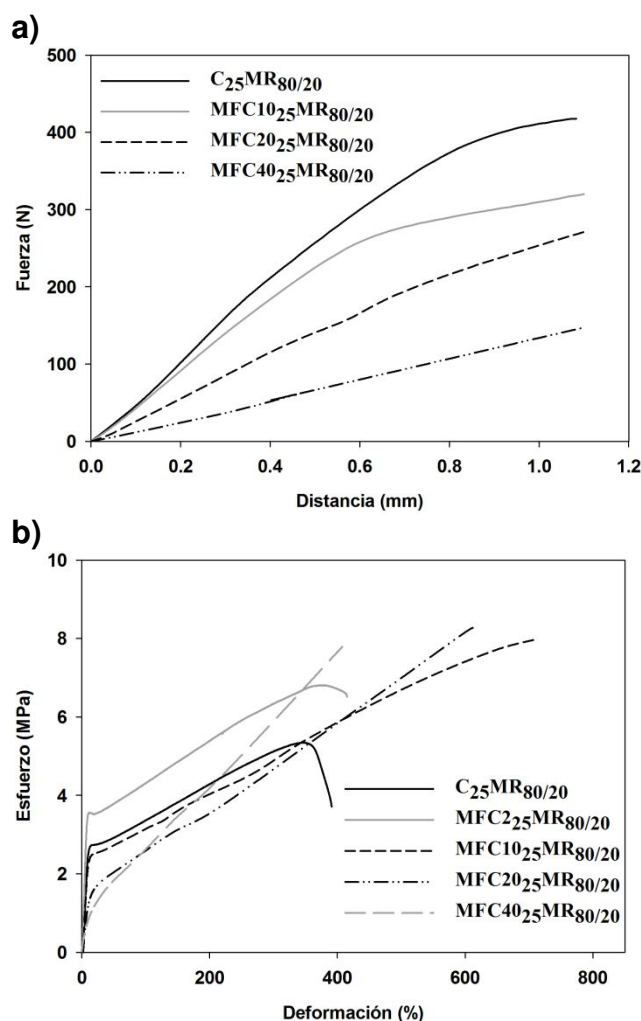


Figura 6.9. Comportamiento mecánico de las películas híbridas sintetizadas con caseína nativa y MFC, conteniendo diferente número de enlaces vinílicos incorporados. (a) evolución de la fuerza de penetración en función de la distancia durante el ensayo de dureza y (b) ensayos de tracción.

La Figura 6.9.b, da una clara evidencia de la existencia de estos dos efectos actuando simultáneamente. Por un lado el punto de cedencia a bajas deformaciones presente en la muestra C₂₅MR_{80/20}, la cual contiene una alta fracción de caseína libre (20.0 gphm, Tabla 6.2), se volvió menos evidente y marcada a medida que aumentó la compatibilidad del

sistema, en la película MFC40₂₅MR_{80/20} (conteniendo 6.0 gphm de caseína libre). Por otro lado, los materiales presentan una mayor resistencia a la deformación (aumento de pendiente en la curvas), y este efecto es más pronunciado en las películas MFC20₂₅MR_{80/20} y MFC40₂₅MR_{80/20}, lo cual es típico de polímeros altamente entrecruzados (Wang et al., 2010).

A modo de resumen, la Tabla 6.5 muestra los efectos antes discutidos y la contribución de cada uno de ellos sobre las propiedades mecánicas de los materiales.

Tabla 6.5. Efectos de la utilización de MFC sobre la microestructura molecular de los látex y sus contribuciones sobre las propiedades mecánicas de las películas.

Propiedades Mecánicas	Utilización de MFC	
	Reducción del contenido de caseína libre	Incremento en la densidad de entrecruzamiento
Módulo de Young	↓	↑
Resistencia Tensil	↓	↑
Elongación a la rotura	↑	↓
Dureza	↓	↑

6.3.3.4. Resistencia al agua y a solventes orgánicos de las películas híbridas de acrílico-MFC

Como se comentó anteriormente, uno de los principales desafíos de la funcionalización de la caseína es mejorar la pobre resistencia al agua que presentan las películas híbridas, lo cual es un serio limitante para la utilización de los látex como ligantes en recubrimientos. En la sección 5.3.4.4 del Capítulo 5, se demostró que la modificación química de la proteína con AA incrementa la resistencia acuosa de las películas, pero la mejora alcanzada no es suficiente para satisfacer las demandas requeridas para una aplicación (se obtuvo un máximo tiempo de inmersión en agua, sin presentar daño, de 1440 min para la muestra AFC8₂₅MR_{80/20}).

La Tabla 6.6 muestra los resultados de resistencia al agua y a MEK, obtenidos para las películas híbridas sintetizadas con caseína nativa y MFC con diferentes grados de funcionalización. Los parámetros correspondientes a las películas puras de caseína y

acrílico, también son presentados en la Tabla 6.6, con fines comparativos. Puede verse que la utilización de MFC con 10 o más dobles enlaces incorporados, incrementó notablemente la resistencia acuosa de las películas híbridas, alcanzándose tiempos de inmersión en agua superiores a 7 días (tiempo de duración del ensayo) y una pérdida de peso del material (WL_W) considerablemente baja (alrededor del 10% en todos los casos). En la Figura 6.10 se presenta una imagen de la muestra $MFC40_{25}MR_{80/20}$, antes y después de 7 días de inmersión en agua, en donde claramente se observa que la película fue capaz de resistir el ensayo sin desintegrarse, mostrando cierto grado hinchamiento

Tabla 6.6. Resistencia al agua y a MEK de películas híbridas de acrílico-MFC con diferentes grados de metacrilación

Película	Resistencia al Agua			Resistencia a MEK	
	A_W (%)	Tiempo de inmersión ^a (min)	WL_W (%)	A_{MEK} (%)	WL_{MEK} (%)
C₁₀₀MR_{0/0}	-	-	100	1.3	15.1
C₀MR_{80/20}	28	<10080	0.6	-	100
C₂₅MR_{80/20}	-	-	100	52.8	23.8
MFC₂₅MR_{80/20}	-	-	100	126.9	11.6
MFC₁₀MR_{80/20}	360.5	>10080	10.6	72.7	8.1
MFC₂₀MR_{80/20}	231.3	>10080	9.5	58.5	7.7
MFC₄₀MR_{80/20}	135.0	>10080	11.1	44.7	7.6

^aTiempo de inmersión antes de presentar daño.

Nótese también a partir de la Tabla 6.6, que la absorción de agua (A_W) se redujo conforme se incrementó el número de funcionalidades incorporadas de 10 a 40. Así, A_W disminuyó desde 360% para $MFC10_{25}MR_{80/20}$, hasta 135% para $MFC40_{25}MR_{80/20}$. Este comportamiento está de acuerdo con el grado de entrecruzamiento creciente que presentan las películas cuando aumentan los grupos vínicos incorporados a la proteína, según lo

discutido anteriormente. En la Figura 6.11 se presentan las curvas de absorción de agua, para muestras sintetizadas con las diferentes MFC. Se puede observar que, independientemente del tipo de MFC utilizada, la velocidad de absorción de agua es muy rápida al inicio del test, hasta alcanzar un máximo y luego se presenta un marcado efecto de "overshooting" (sección 5.3.4.4 del Capítulo 5). Finalmente, luego de 2 días de inmersión (2880 min), las películas alcanzan el grado de hinchamiento en el equilibrio.

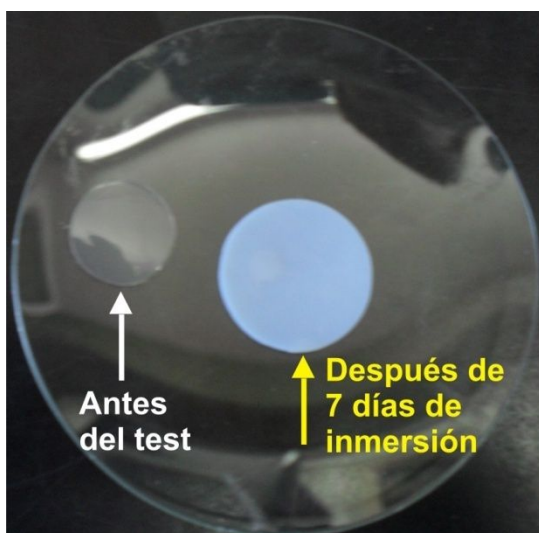


Figura 6.10. Imagen de la película MFC40₂₅MR_{80/20} luego de la inmersión en agua por 7 días y antes del test.

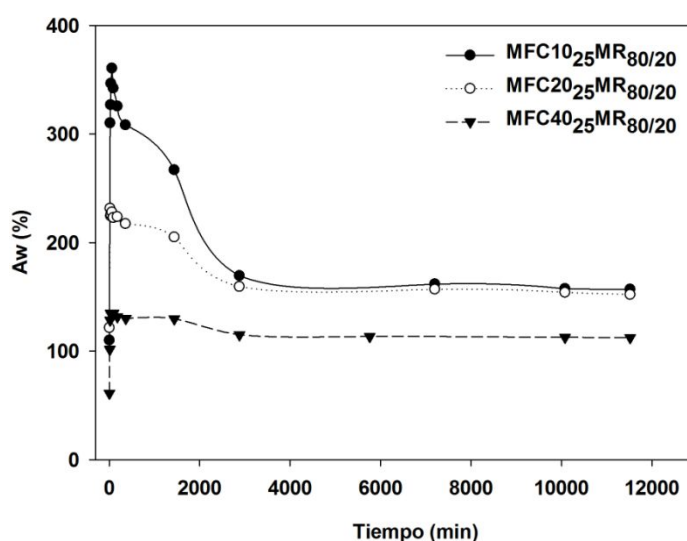


Figura 6.11. Curvas de absorción de agua para las películas metacriladas MFC10₂₅MR_{80/20}, MFC20₂₅MR_{80/20}, y MFC40₂₅MR_{80/20}.

En base a estos resultados, podemos afirmar que la estrategia de funcionalización de la caseína con GMA, superó satisfactoriamente los resultados obtenidos mediante la modificación con AA, ampliando las posibilidades de los látex para su aplicación como ligantes en recubrimientos.

Por otro lado, vimos en la sección 4.3.6 del Capítulo 4 que la caseína hidrofílica en el interior de los materiales actúa como una barrera a los solventes orgánicos, evitando la desintegración de la matriz acrílica. Además, los resultados presentados en la sección 5.3.3.4 del Capítulo 5, muestran que un incremento en la compatibilidad del sistema acrílico/caseína mejora la sinergia entre estos componentes (hidrófobo e hidrofílico), favoreciendo la resistencia al solvente de las películas. De la Tabla 6.6 se desprende que la utilización de MFC condujo a resultados similares, en donde se observó una reducción en la masa absorbida de solvente (A_{MEK}) y en la pérdida de peso de los materiales (WL_{MEK}). De este modo, A_{MEK} se redujo desde 70.6% para $C_{25}MR_{80/20}$, hasta 47.7% para $MFC_{40}C_{25}MR_{80/20}$. Por su parte, WL_{MEK} disminuyó desde 23.8% hasta 7.6%. Sin embargo, también debe tenerse en cuenta que el incremento en la compatibilidad de las nanopartículas es acompañado por un aumento en el grado de entrecruzamiento de los materiales, lo cual evidentemente también contribuye en la reducción de A_{MEK} y WL_{MEK} .

6.3.3.5. Degradación en suelo de las películas híbridas de acrílico-MFC

Como se mencionó oportunamente en la sección 4.3.7 del Capítulo 4, la caseína tiene una excelente biodegradabilidad, con alta tendencia a hidrolizarse y degradarse bajo la acción de microorganismos. Por otro lado, los polímeros acrílicos presentan una muy baja velocidad de degradación, lo cual es un gran inconveniente desde el punto de vista medioambiental. También se mostró que la incorporación de caseína mejora la biodegradabilidad de los materiales, incrementando su porcentaje de pérdida de peso (W_{loss}). Puesto que la proteína es quien le confiere cierto carácter degradable a las películas híbridas, podría suponerse que un incremento en el número de cadenas acrílicas injertadas,

por la utilización de MFC, redujera los valores de W_{loss} . En otras palabras, el aumento en la compatibilidad del sistema debería volver a los materiales menos degradables. Sin embargo, puede verse en la Tabla 6.7 que el empleo de MFC no afectó considerablemente la degradación de las películas híbridas, obteniéndose valores similares de W_{loss} (luego de 14 días), cercanos al 25%, coincidiendo con el contenido del biomaterial.

Tabla 6.7. Degradación en suelo de películas híbridas de acrílico-MFC con diferentes grados de metacrilación.

Película	W_{loss} 7 días (%)	W_{loss} 14 días (%)
C₁₀₀MR_{0/0}	100 ^a	100 ^a
C₀MR_{80/20}	0.31	0.34
C₂₅MR_{80/20}	21.8	23.9
MFC₂₅MR_{80/20}	20.5	24.4
MFC₁₀MR₂₅MR_{80/20}	25.6	26.8
MFC₂₀MR₂₅MR_{80/20}	21.5	23.9
MFC₄₀MR₂₅MR_{80/20}	23.7	25.4

^aLa película perdió su integridad estructural y se volvió solidaria al suelo después de estar enterrada por 7 días. En este caso, fue difícil remover y pesar la muestra durante el ensayo.

6.3.4. Incorporación de GMA en la formulación monomérica. Efecto sobre la microestructura molecular de los látex y sobre las propiedades de las películas

La presente sección tiene por objeto realizar un análisis comparativo de las características de los látex MFC₂₀MR_{80/20} y MFC₄₀MR_{80/20}, con aquellas correspondientes a sus homólogos C₂₅MR_{80/20}G₂₀ y C₂₅MR_{80/20}G₄₀, en donde el GMA fue adicionado en la formulación monomérica, evitando de este modo la etapa de funcionalización de la caseína.

6.3.4.1. Cinética de polimerización y microestructura molecular de los látex

La Tabla 6.8, presenta los valores finales de x , \bar{d}_p , Np, CGE e IF correspondientes a los látex $C_{25}MR_{80/20}G_{20}$ y $C_{25}MR_{80/20}G_{40}$, mientras que la Figura 6.12.a-c muestra la evolución a lo largo de las polimerizaciones de x , Np, y CGE. Las características de las dispersiones homólogas $MFC20_{25}MR_{80/20}$ y $MFC40_{25}MR_{80/20}$ se presentan nuevamente en la Tabla 6.8 y en la Figura 6.12, a efectos comparativos y para facilitar el análisis de los resultados.

Tabla 6.8. Polimerización de n-BA/MMA con adición de GMA en la formulación monomérica. Principales características de los látex finales y su comparación con el uso de MFC.

Experimento	x (%)	\bar{d}_p (nm)	Np (#/l)	CGE (%) ^a	IF(%)
MFC20₂₅MR_{80/20}	80	186	3.54×10^{16}	59 (14.8)	98
C₂₅MR_{80/20}G₂₀	83	157	6.02×10^{16}	51 (12.8)	97
MFC40₂₅MR_{80/20}	74	207	2.37×10^{16}	76 (19.0)	99
C₂₅MR_{80/20}G₄₀	80	164	5.09×10^{16}	67 (16.8)	98

^aEntre paréntesis se presenta los gramos de caseína injertada por cada cien gramos de monómero (gphm).

Como puede verse, la adición directa de GMA junto con los monómeros principales (n-BA/MMA), produjo un incremento en la x final de los látex y en la velocidad inicial de polimerización (Figura 6.12.a). Además, la velocidad de generación de partículas (Figura 6.12.b) y el Np final para estas dispersiones ($C_{25}MR_{80/20}G_{20}$ y $C_{25}MR_{80/20}G_{40}$), fueron significativamente mayores en relación a sus correspondientes homólogos con MFC. Estos resultados evidentemente sugieren que durante la síntesis de $C_{25}MR_{80/20}G_{20}$ y $C_{25}MR_{80/20}G_{40}$ el número de grupos amino disponibles en la caseína para interactuar con TBHP e iniciar la polimerización, fue mayor que en MFC, de modo que la generación de radicales se vió favorecida; y como consecuencia, se incrementó la nucleación de partículas y la velocidad de polimerización. En otras palabras, la incorporación directa de GMA en la formulación monomérica, es menos efectiva para lograr el reemplazo de los grupos NH_2 de la caseína,

por los correspondientes vinílicos. Este hecho se ve claramente reflejado en los menores grados de injerto proteico que se alcanzaron para $C_{25}MR_{80/20}G_{20}$ y $C_{25}MR_{80/20}G_{40}$, en comparación a los látex sintetizados con caseína metacrilada, MFC (Tabla 6.8).

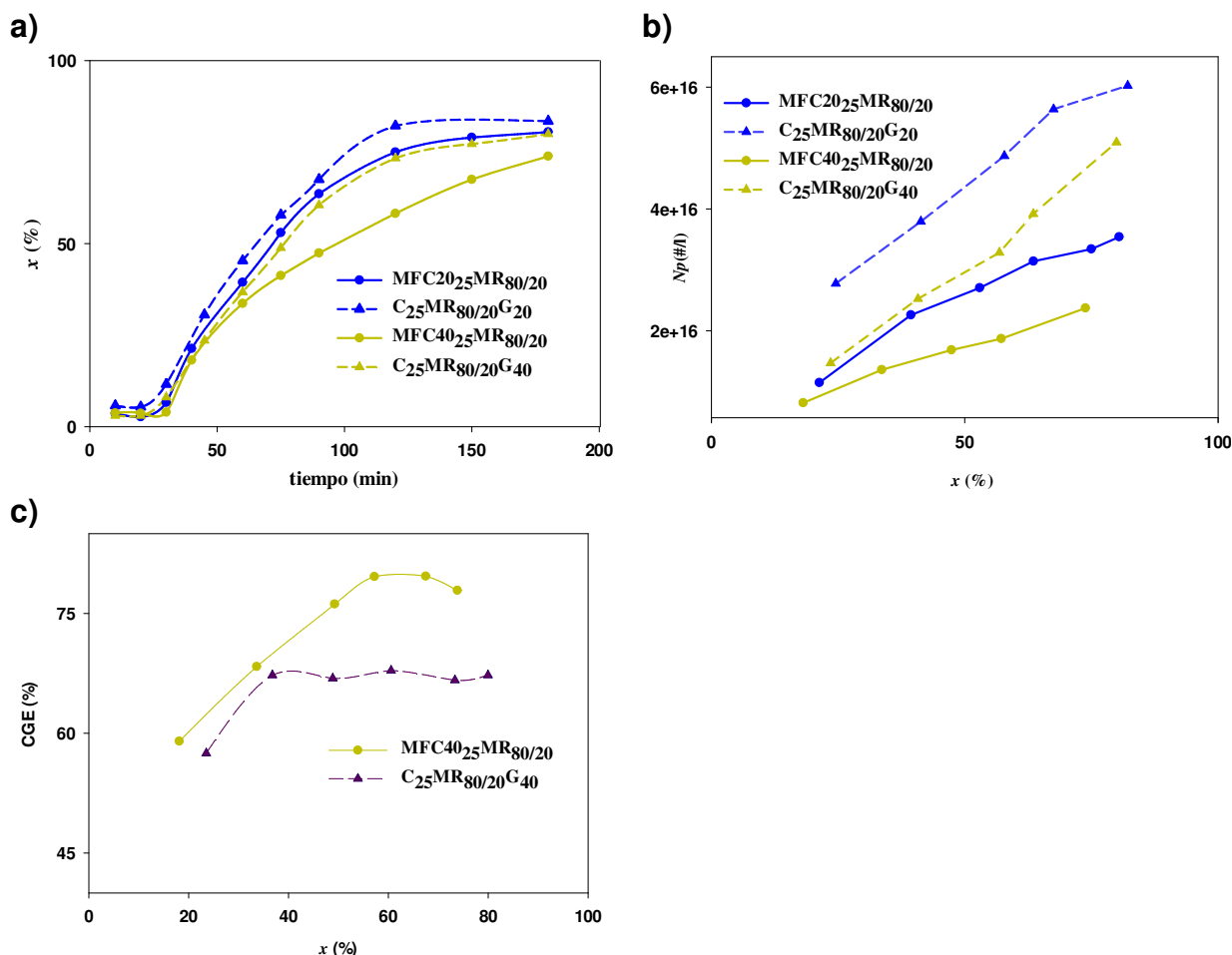


Figura 6.12. Copolimerización en emulsión de n-BA/MMA con adición de GMA y en presencia de 25 ppm de caseína nativa: Evolución a lo largo de la polimerización de (a) la conversión, (b) el número de partículas, y (c) la CGE.

La Figura 6.12.c también muestra que, la evolución de la CGE para el látex $C_{25}MR_{80/20}G_{40}$, alcanzó su valor final a conversiones bajas con respecto a $MFC40_{25}MR_{80/20}$ ($x = 37\%$ frente a $x = 57\%$, para ambas muestras respectivamente), dejando en evidencia el importante rol que desempeñan los grupos vinílicos en el injerto de la caseína. Estos resultados nos indican que parte de los grupos epóxidos del GMA, adicionado con los monómeros, fueron incorporados a la cadena acrílica pero no reaccionaron eficientemente

con los grupos amino de la caseína. En otras palabras, el proceso de funcionalización "a priori" de la proteína con el GMA, garantiza un mayor grado de compatibilidad, debido a que la disponibilidad de los grupos epoxi durante la reacción es superior, en relación a cuando dichos grupos se encuentran incorporados en la cadena acrílica.

Por otro lado, puede verse en la Tabla 6.8, que el modo de adición del GMA no afectó considerablemente la IF de los látex, puesto que en todos los casos se obtuvieron valores cercanos al 98%.

6.3.4.2. Propiedades de las películas híbridas

En la Tabla 6.9 se presentan las propiedades mecánicas, de absorción de agua y resistencia a MEK, de las películas $C_{25}MR_{80/20}G_{20}$ y $C_{25}MR_{80/20}G_{40}$, junto con aquellas correspondientes a los materiales homólogos. El comportamiento mecánico de las películas puede fácilmente explicarse en base a la microestructura molecular de los látex. Como vimos en la sección anterior, la funcionalización "in situ" de la caseína durante el transcurso de la polimerización, por adición de GMA a la formulación monomérica, es menos efectiva que el empleo de MFC, para lograr una alta compatibilidad, reduciendo de esta forma la eficiencia de injerto proteico. Como resultado, una mayor cantidad de caseína libre se encuentra presente en los materiales, pudiendo tener una fuerte influencia sobre sus propiedades tensiles (sección 6.3.3 del presente capítulo). Así por ejemplo, la película $C_{25}MR_{80/20}G_{20}$ presentó un mayor módulo elástico y una disminución en su capacidad de elongación, con respecto a $MFC_{20}MR_{80/20}$ (30.4 MPa frente a 18.6 MPa y 386% en relación a 575%, respectivamente). Además, la reducción en la capacidad de deformación de $C_{25}MR_{80/20}G_{20}$ dió como resultando una disminución en su tenacidad, en relación a la película homóloga. Vale la pena destacar que, a pesar que la diferencia en el contenido de caseína libre de estos dos materiales es solo del 8%, dicha cantidad parece ser suficiente para que la película $C_{25}MR_{80/20}G_{20}$ muestre un punto de cendencia más marcado a bajas deformaciones, como consecuencia de la contribución de la caseína libre (Figura 6.13.a)..

Por otro lado, el menor grado de compatibilización alcanzado durante la funcionalización "in situ" de la caseína, condujo a una menor densidad de entrecruzamiento de los materiales, según lo indican los valores de A_w y A_{MEK} presentados en la Tabla 6.9. Así, el porcentaje de absorción de agua se incrementó desde 231.3% para MFC20₂₅MR_{80/20} hasta 340.5% para C₂₅MR_{80/20}G₂₀. Por su parte, el grado de hinchamiento en MEK aumentó desde 58.5% hasta 73.0% para ambas muestras, respectivamente.

Tabla 6.9. Principales propiedades de las películas obtenidas por la adición de GMA en la formulación monomérica.

Propiedades	MFC20 ₂₅ MR _{80/20}	C ₂₅ MR _{80/20} G ₂₀	MFC40 ₂₅ MR _{80/20}	C ₂₅ MR _{80/20} G ₄₀
Módulo de Young (MPa)	18.6 ± 1.8	30.4 ± 9.8	7.6 ± 0.5	14.3 ± 2.1
Resistencia Tensil (MPa)	8.0 ± 0.5	8.5 0 ± 0.3	7.7 ± 0.4	8.1 ± 0.4
Elongación a la rotura (%)	575 ± 38	386 ± 40	398 ± 27	465 ± 41
Tenacidad (J/m³.10⁴)	2704 ± 174	2065 ± 40	1605 ± 172	2199 ± 86
A_w (%)	231.3	340.5	135.0	210.7
Tiempo de inmersión (min)	>10080	>10080	>10080	>10080
WL_w (%)	9.5	12.3	11.1	12.9
A_{MEK} (%)	58.5	73.0	44.7	56.2
WL_{MEK} (%)	7.7	7.0	7.6	9.9

Resultados similares se observaron para las muestras MFC40₂₅MR_{80/20} y C₂₅MR_{80/20}G₄₀, de modo que esta última presentó un mayor módulo de Young, debido a su superior contenido de caseína libre (Tabla 6.9). Sin embargo, la fracción de biomaterial no injertado que presentan estas películas (6.0 gphm y 8.2 gphm, para MFC40₂₅MR_{80/20} y C₂₅MR_{80/20}G₄₀, respectivamente), no es suficiente para que presenten un punto de cendencia pronunciado (Figura 6.13.b). Como consecuencia, la capacidad de deformación de C₂₅MR_{80/20}G₄₀ no resultó limitada, siendo incluso mayor que la observada para el material homólogo

sintetizado con MFC (465% frente a 398%, respectivamente). Nótese además, que al igual que en el caso de $C_{25}MR_{80/20}G_{20}$, la densidad de entrecruzamiento de $C_{25}MR_{80/20}G_{40}$ se vio reducida frente a la de la película homóloga obtenida con MFC, presentando mayores valores de absorción (A_W y A_{MEK}) y fracción soluble (WL_W y WL_{MEK}) por inmersión en agua y MEK. En base a estos resultados, es claro que la mayor elongación alcanzada en la película $C_{25}MR_{80/20}G_{40}$, se debe a su menor grado de entrecruzamiento. Este hecho nos revela que, por debajo de cierta fracción de caseína libre, este parámetro deja de ser influyente sobre la capacidad de elongación de las películas, quedando esta propiedad determinada por los niveles de entrecruzamiento de dichos materiales.

Finalmente, la Tabla 6.9 muestra que para los niveles de funcionalidad estudiados (20 y 40), la resistencia tensil de los materiales resulta insensible a la cantidad de caseína libre y a la densidad de entrecruzamiento, puesto que en todos los casos se obtuvieron valores cercanos a 8.0 MPa.

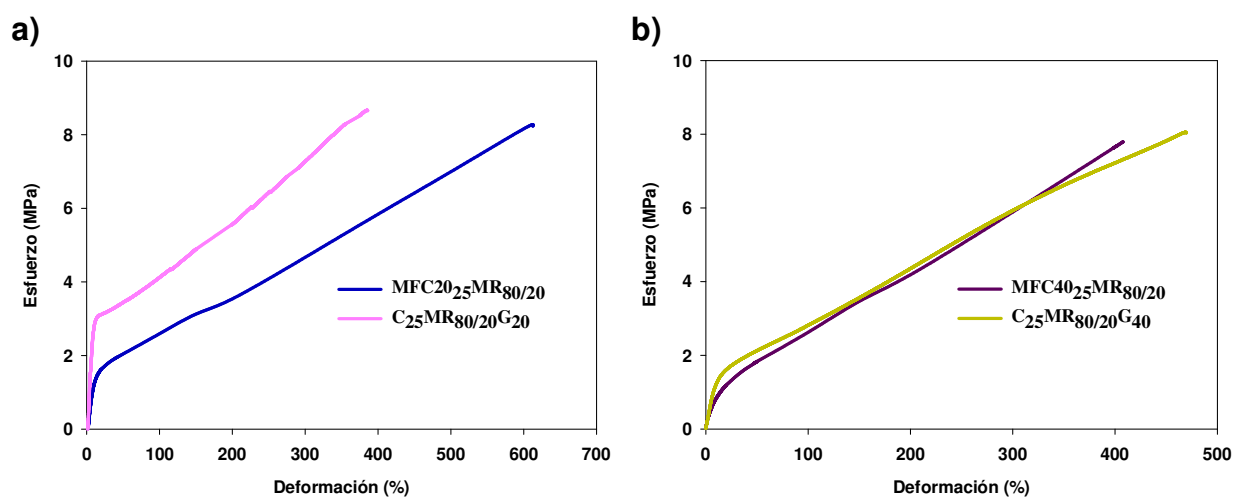


Figura 6.13. Comparación entre las propiedades mecánicas de las películas $C_{25}MR_{80/20}G_{20}$ y $MFC20_{25}MR_{80/20}$ (a) y; $C_{25}MR_{80/20}G_{40}$ y $MFC40_{25}MR_{80/20}$ (b).

6.4. CONCLUSIONES

En el presente capítulo se evaluó la modificación química de la caseína, mediante la incorporación de doble enlaces vínicos en su estructura, con el objeto de incrementar los posibles puntos de injerto del polímero acrílico sobre la cadena de proteína. La estrategia se basó en la utilización de glicidil metacrilato (GMA) como agente funcionalizante, de acuerdo a la reacción en base acuosa entre sus grupos oxirano y los amino de la caseína. El estudio se centró en la influencia del número de funcionalidades incorporadas, sobre el grado de compatibilidad de los látex y las propiedades de las películas. La microestructura molecular de los látex resultó fuertemente afectada por la utilización de caseína metacrilada (MFC), de modo que la fracción de proteína injertada, el contenido de gel y la densidad de entrecruzamiento se incrementaron significativamente conforme aumentó el número de dobles enlaces vínicos incorporados. El aumento en el grado de compatibilidad del sistema, permitió restringir el fenómeno de migración de fases observado durante la formación de película, modificando de esta manera la morfología de los materiales. Así, las películas presentaron un mayor contenido de caseína libre sobre su superficie, con una distribución de dicha proteína más uniforme con respecto a su interior. En otras palabras, el uso de MFC permitió obtener materiales más homogéneos. Este enriquecimiento de caseína sobre la superficie de las películas se vio reflejado en una disminución de los ángulos de contactos (debido al carácter hidrofílico de la proteína) y en un aumento de la resistencia al bloqueo (puesto que la caseína es un material rígido que limita la adhesión superficial). Por otro lado, la microestructura molecular de los látex también afectó las propiedades mecánicas de las películas, encontrándose una fuerte contribución por parte del contenido de caseína libre y la densidad de entrecruzamiento de los materiales. De este modo, la reducción de la fracción de proteína no injertada condujo a una importante disminución en el módulo elástico y en la dureza de las películas, al mismo tiempo que se incrementó su capacidad de deformación. Sin embargo, cuando se utilizaron caseínas con altos grados de funcionalización (20-40), se obtuvieron películas con una elevada densidad de

entrecruzamiento, lo cual limitó la elongación de dichos materiales. Además, la utilización de MFC probó ser una excelente estrategia para mejorar la resistencia al agua de las películas híbridas, lográndose tiempos de inmersión sin presentar daños, superiores a los siete días. De esta forma, se logró superar ampliamente los resultados obtenidos mediante la funcionalización con ácido acrílico, presentados en el Capítulo 5.

Por otra parte, los resultados presentados en la sección 6.3.4 muestran que el proceso de obtención de látex funcionalizados, mediante un procedimiento de dos etapas (modificación química de la caseína y posterior polimerización), podría ser reducido en un único paso, adicionando GMA en la formulación monomérica. Esta metodología permitió alcanzar eficiencias de injerto proteico y propiedades de película, altamente comparables a aquellas obtenidas mediante la estrategia en dos etapas. Las diferencias observadas en los valores de CGE para ambas metodologías fueron solo del 8%, degradando levemente el comportamiento mecánico y los grados de hinchamiento en agua y en MEK de las películas.

Finalmente, este capítulo nos permite concluir que la mejora alcanzada en la resistencia acuosa de las películas híbridas, amplía las posibilidades para la aplicación industrial de estos látex, como ligantes en recubrimientos de base acuosa.

Capítulo 7: Factibilidad industrial de los látex híbridos de acrílico-caseína

7.1. INTRODUCCIÓN

El incremento en la compatibilidad de los látex híbridos, obtenido mediante la metacrilación de la caseína con glicidil metacrilato (GMA), produjo una notable mejora en las propiedades de las películas resultantes, especialmente en la resistencia al agua. Con este avance, se logró satisfacer los principales requerimientos para la potencial aplicación de las dispersiones híbridas como ligantes para recubrimientos en base acuosa. Otra de las principales limitaciones del estudio de los capítulos anteriores de esta Tesis fue el bajo contenido de sólidos (SC) utilizados, lo cual condiciona su aplicación a escala industrial. Mientras que en tales capítulos se utilizó un SC de 20%, el empleado a nivel industrial en la producción de ligantes para recubrimientos es de 35% a 55%.

Por otro lado, en los estudios realizados en los capítulos 5 y 6, las películas fueron obtenidas a partir de látex no formulados. Es conocido que el desempeño de un recubrimiento, es afectado por una amplia gama de parámetros de su formulación. Entre estos parámetros se pueden mencionar la estructura y composición del aglutinante polimérico, la adición de agentes entrecruzantes, espesantes, antiespumantes, pigmentos, fotoiniciadores, etc. Sin embargo, hay una considerable cantidad de variables y opciones en cada formulación para una aplicación específica del recubrimiento, que hacen que el número de combinaciones posibles sea muy grande. Todos estos parámetros deben variarse con el fin de desarrollar una correlación entre ellos y el desempeño del producto, y por lo tanto los métodos combinatorios parecen ser una poderosa herramienta para la optimización de estos sistemas. Por ello, el diseño de experimentos (DoE) resulta decisivo para superar este problema, puesto que permite una mayor comprensión entre las correlaciones de las variables en el espacio paramétrico. Además, en los últimos años los investigadores en el

campo de recubrimientos y formulaciones poliméricas comenzaron a utilizar herramientas de experimentación de alto rendimiento (HTE), las cuales permiten realizar un gran número de ensayos simultáneamente, reduciendo de manera considerable los tiempos de análisis para la correlación entre los diferentes parámetros de la formulación. En este sentido, la combinación de ambas herramientas (DoE y HTE) es especialmente beneficiosa para optimizar el desempeño de un recubrimiento.

En este capítulo se estudió la factibilidad industrial de la investigación desarrollada en la presente Tesis. Es por ello que primero se analizó la implementación de la estrategia de síntesis propuesta con un SC de 35%, utilizando diferentes cantidades de caseína metacrilada (MFC). Luego, se investigó el efecto de este cambio de escala sobre las propiedades de los látex sintetizados y las películas obtenidas. Finalmente, las dispersiones sintetizadas fueron formuladas mediante la incorporación de distintos aditivos (tales como cosolventes, antiespumantes y agentes humectantes), analizándose algunas de las propiedades de interés en la película como el brillo, la dureza, el velo ("Haze") y la resistencia química. Este estudio permitió determinar las capacidades de los látex híbridos como ligantes y fue llevado a cabo mediante un análisis estadístico multivariable, utilizando las herramientas de DoE y HTE. El desempeño de los ligantes híbridos fue optimizado a través de la formulación en términos de las propiedades mencionadas y luego comparado con el comportamiento de un ligante comercial. Dicho análisis fue desarrollado por una de las empresas líderes a nivel mundial en la producción de resinas base para recubrimientos, "Nuplex Resins", con sede en Holanda.

7.2. TRABAJO EXPERIMENTAL

La descripción detallada de los materiales, la especificación de los equipos, métodos de síntesis y caracterización, empleados a lo largo del trabajo experimental de esta Tesis, se detallaron oportunamente en el Capítulo 2. Por esta razón, a continuación se hará referencia sólo a los aspectos experimentales que se aplican específicamente a este capítulo.

7.2.1. Síntesis de los látex híbridos de acrílico-MFC

Para la obtención de los látex híbridos se utilizó caseína metacrilada con 10 dobles enlaces incorporados (MFC10), la cual fue preparada siguiendo el procedimiento descrito en la sección 2.2.2.2 del Capítulo 2. Luego, se procedió con la síntesis de las dispersiones utilizando 25 y 50 pphm de MFC10 y una relación monomérica de n-BA/MMA igual a 80/20. Las polimerizaciones se llevaron a cabo siguiendo el procedimiento descrito en la sección 2.2.1 del Capítulo 2. Dado el interés tecnológico de estos látex, su SC se aumentó a 35% en relación a un SC de 20% utilizado en el capítulo anterior. En la Tabla 7.1 se presenta una receta general de polimerización.

Tabla 7.1. Receta general para la síntesis de látex de acrílico-MFC con contenido de sólidos de 35%.

Reactivo	Cantidades (pphm) ^(a)
n-BA	80
MMA	20
MFC10	25-50
TBHP	0.2
Na ₂ CO ₃	2.0
H ₂ O	225-270

(a) pphm: partes por cien de monómero.

7.2.2. Caracterización de los látex

A lo largo de las polimerizaciones se tomaron muestras y sobre ellas se realizaron las siguientes mediciones: i) conversión de monómero (x), por gravimetría; y ii) diámetros medios de partículas (\bar{d}_p), por dispersión de luz dinámica (DLS) a un ángulo de detección de 90°. El número de partículas por litro de látex (N_p) se obtuvo a partir de los datos de x y de las mediciones de \bar{d}_p , como se indicó en la sección 2.3.1.2 del Capítulo 2.

La caracterización de la arquitectura molecular de los látex híbridos acrílico-caseína se determinó por la fracción de caseína injertada en el polímero acrílico (CGE), empleando el

procedimiento de múltiples centrifugaciones, redispersiones y caracterización por UV, detallado en la sección 2.3.2.2 del Capítulo 2. La fracción de material insoluble (IF), se determinó por extracción Soxhlet con tetrahidrofurano (THF) durante 24 h, de acuerdo al procedimiento descrito en la sección 2.3.2.1 del Capítulo 2. Cabe recordar que la IF está compuesta por el gel acrílico, la caseína libre (también insoluble en THF) y el copolímero de injerto acrílico-caseína.

7.2.3. Caracterización de las películas

Como se mencionó anteriormente, la caracterización de las películas híbridas se realizó en conjunto con la empresa Nuplex, de modo que algunas propiedades de dichos materiales fueron determinadas en los laboratorios del Grupo de Polímeros y Reactores de Polimerización (GP) del INTEC (lugar de ejecución de la presente Tesis), mientras que otras fueron obtenidas en los laboratorios de investigación y desarrollo de Nuplex. Por este motivo, a continuación se hace distinción entre las caracterizaciones realizadas en cada lugar.

Para los ensayos realizados en los laboratorios del GP del INTEC, las películas se prepararon por "casting" en moldes de silicona, y se secaron a 22 °C y humedad relativa del 55% durante 7 días. Las muestras fueron retiradas del sustrato de silicona, obteniendo un espesor final de aproximadamente 1 mm. La opacidad, los ángulos de contacto (CA) y la resistencia al bloqueo de las películas, se determinaron según las técnicas descritas en las secciones 2.3.5.3-5, del Capítulo 2. El comportamiento mecánico de los materiales híbridos se estudió mediante ensayos de tracción longitudinales, de acuerdo a lo detallado en la sección 2.3.5.6 del Capítulo 2. La resistencia al agua de los copolímeros híbridos también se determinó siguiendo la técnica presentada en la sección 2.3.5.8 del Capítulo 2.

En relación a los estudios realizados en los laboratorios de Nuplex Resins se aplicó una combinación de DoE + HTE para formular las dispersiones híbridas acrílico-caseína, con el objeto de potenciar su desempeño como recubrimientos. A tal efecto se determinó el tipo y

número de experimentos mediante el software comercial Design Expert V.9, y se utilizó un "Paint Robot" para preparar todas las formulaciones (sin pigmentos, "clear coat"), conteniendo diferentes concentraciones de: i) cosolventes [butil glicol (BG) y butildiglicol (BdG)], ii) agentes humectantes comerciales (BYK 348 y Surfynol CT-211), y iii) agentes antiespumantes comerciales (BYK 028 y Tego 825). Luego, se procedió a aplicar las dispersiones en sustratos de vidrio y papel Leneta, dejándolas secar una semana a temperatura y humedad constante. Finalmente, se midió la dureza, el brillo, el velo y la resistencia química de las películas. Los resultados se ajustaron a un modelo estadístico que permite obtener las interacciones entre las respuestas y todas las variables. Con esta información es posible la construcción de gráficas de superficie (o tridimensionales) que relacionan los parámetros de interés con las variables de la formulación.

Para las mediciones de dureza, las películas se prepararon en placas de vidrio, utilizando un aplicador de cuchilla (120 μm de espesor húmedo). Las películas se secaron a temperatura y humedad controlada (aproximadamente 22°C y 50%) y la dureza se midió a diferentes intervalos de tiempo con un aparato de péndulo König (Erichsen modelo 299/300) durante 24 h. El brillo a 20° y el velo de los recubrimientos se determinaron utilizando un goniómetro Rhopoint IQ. Vale la pena mencionar que el parámetro de velo de las películas, es un fenómeno óptico indeseable para un recubrimiento. Por lo tanto, bajos valores de velo indican una buena apariencia del film. Para las pruebas de resistencia química se aplicó una solución de etanol/agua al 50% p/p y una infusión de café (2 g de café instantáneo expreso en 50 ml de agua) en forma de gotas sobre los recubrimientos. Este método es denominado ensayo de manchado ("Spot test"), debido a que simplemente se coloca una gota de la sustancia que se quiere estudiar y luego se espera un intervalo de tiempo (aproximadamente 1 h de exposición) a que esta haga o no daño sobre la superficie del film. Luego este daño se evalúa en una escala de 1 (NOK: mucho daño) a 5 (OK:

excelente). Este tipo de pruebas son muy simples pero bastante discriminatorias, ya que el café mancha mientras que el alcohol es agresivo.

7.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.3.1. Síntesis de los látex híbridos de acrílico-MFC con alto contenido de sólidos

7.3.1.1. Cinética de polimerización y microestructura molecular de los látex

La Tabla 7.2 resume los experimentos realizados utilizando una relación monomérica en peso de n-BA/MMA igual a 80/20, junto con 25 y 50 pphm de caseína metacrilada MFC10. Siguiendo el sistema de codificación de experimentos presentado en los capítulos anteriores, denominaremos a las dispersiones bajo estudio como MFC10₂₅MR_{80/20}[#] y MFC10₅₀MR_{80/20}[#], en donde el símbolo numeral al final de la codificación hace referencia a un mayor SC en estos látex (35%). Con fines comparativos, en la Tabla 7.2 también se presentan las características correspondientes a los látex homólogos con SC igual a 20%, MFC10₂₅MR_{80/20} y MFC10₅₀MR_{80/20}. En dicha tabla se muestran los valores finales de x , \bar{d}_p , Np, CGE e IF de los látex en estudio, mientras que en la Figura 7.1 se presenta la evolución de x a lo largo de las polimerizaciones.

Tabla 7.2. Copolimerización de n-BA/MMA en presencia de 25 y 50 pphm de MFC10 con diferentes contenidos de sólidos. Principales características de los látex finales.

Experimento	x (%)	\bar{d}_p (nm)	Np (#/l)	CGE (%) ^a	IF(%)
MFC10 ₂₅ MR _{80/20}	82	172	4.71x10 ¹⁶	34 (8.5)	98
MFC10 ₂₅ MR _{80/20} [#]	92	164	1.07x10 ¹⁷	67 (16.8)	99
MFC10 ₅₀ MR _{80/20}	84	178	3.69x10 ¹⁶	41 (20.5)	96
MFC10 ₅₀ MR _{80/20} [#]	91	177	6.89x10 ¹⁶	78 (39.0)	99

^aEntre paréntesis se presenta los gramos de caseína injertada por cada cien gramos de monómero (gphm)

Nótese que cuando se incrementó el SC en las formulaciones, independientemente del contenido de MFC10 utilizado (25 o 50 pphm), se produjo un importante aumento en la x

final de los látex, en el N_p nucleadas y en la velocidad de polimerización (Figura 7.1). Además, esta aceleración en la cinética de polimerización fue más pronunciada cuando se utilizaron altos contenidos de caseína (50 pphm). En base a los estudios presentados en los capítulos precedentes, este comportamiento del sistema híbrido es bastante predecible y puede atribuirse al incremento en la disponibilidad de grupos amino en el medio de reacción, cuando se aumenta el SC de las dispersiones, lo cual promueve una mayor generación de radicales a partir de la interacción con el iniciador tert-butil hidroperóxido (TBHP). Este aumento en el flujo de radicales favorece la nucleación de partículas, incrementando la velocidad de reacción.

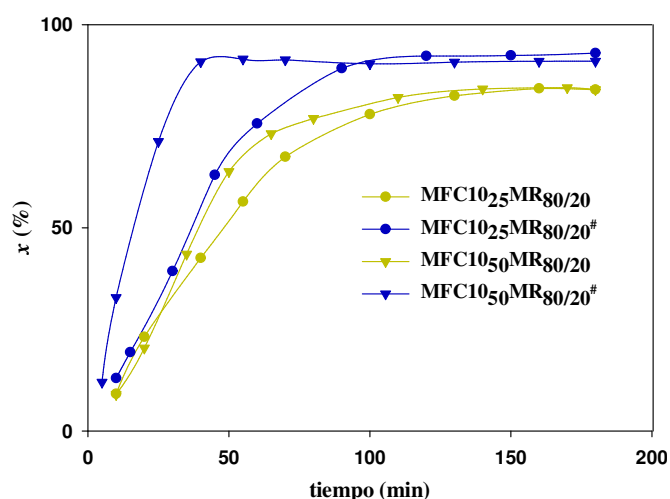


Figura 7.1. Evolución de la conversión durante la copolimerización en emulsión de n-BA/MMA con diferentes contenidos de sólidos y en presencia de 25 y 50 pphm de MFC10.

Se observó además que el aumento en el SC de los látex promovió el injerto de la caseína, de modo que se obtuvieron mayores valores de CGE en las dispersiones con 35% de SC respecto de las de 20% de SC (Tabla 7.2). Así, la fracción de caseína injertada se incrementó de 34% a 67% cuando se utilizaron 25 pphm de MFC10, y de 41% a 78% cuando se empleó 50 pphm de tal proteína metacrilada. El aumento en la concentración de caseína metacrilada con el SC, podría favorecer las reacciones de entrecruzamiento proteína-proteína y polímero-proteína (dado el alto número de dobles enlaces que contienen), incrementando de esta forma la eficiencia de injerto proteico. La existencia de

una alta densidad de entrecruzamiento en estos materiales es soportada por los elevados valores de IF medidos, los cuales fueron próximos al 100% en todos los casos.

7.3.1.2. Principales propiedades de las películas obtenidas con diferentes contenidos de MFC10 y de sólidos

En la Tabla 7.3 se presentan las principales propiedades de las películas MFC10₂₅MR_{80/20}[#] y MFC10₅₀MR_{80/20}[#], junto con aquellas correspondientes a los materiales sintetizados con 20% de SC. Puede verse que los ángulos de contacto superficiales de las películas se redujeron alrededor de 8° cuando se incrementó el SC de los látex de 20% a 35%, para ambas formulaciones estudiadas. Esto sugiere una mayor acumulación de la caseína sobre la superficie de los materiales (componente altamente hidrofílico, CA = 66°), lo cual está de acuerdo con los mayores niveles de injerto proteico alcanzados para MFC10₂₅MR_{80/20}[#] y MFC10₅₀MR_{80/20}[#] (Tabla 7.2). Nótese además que la opacidad de las películas no fue afectada por el incremento del SC cuando se utilizaron 25 pphm de caseína, mientras que si se observó un aumento en dicha propiedad óptica para contenidos de caseína de 50 pphm. Así, la opacidad se incrementó de 148.1 AU×nm/mm para MFC10₅₀MR_{80/20} hasta 201.4 AU×nm/mm para MFC10₅₀MR_{80/20}[#]. A partir de la apreciación visual de estos materiales (Figura 7.2) se evidenció que la película con alto SC presentó una intensa tonalidad amarillenta, típicamente observada en las películas de proteína pura, lo cual puede deberse a la gran cantidad de biomaterial injertado en este látex (39.0 gphm, Tabla 7.2). Además, las películas obtenidas a partir de los látex con SC = 35%, resultaron prácticamente no adhesivas, con resistencias de anti-bloqueo máximas de 10.

Por otro lado, las propiedades mecánicas de tracción de las películas, también resultaron influenciadas por el SC de los látex. Como se mencionó anteriormente, un aumento en el SC, favorece las reacciones de entrecruzamiento a partir de la caseína metacrilada, con varios dobles enlaces incorporados. Vimos en la sección 6.3.3.3 del Capítulo 6, que el aumento en la densidad de entrecruzamiento de los materiales se traduce

en un incremento en su módulo elástico y su resistencia tensil, al mismo tiempo que se limita su capacidad de deformación. De esta manera, las películas MFC10₂₅MR_{80/20}[#] y MFC10₅₀MR_{80/20}[#] presentaron mayores módulos de Young y resistencias tensiles, pero su elongación se redujo con respecto a los homólogos de bajo SC.

Tabla 7.3. Principales propiedades de las películas obtenidas a partir de látex sintetizados con diferentes contenidos de MFC10 y de sólidos.

Propiedades	MFC10 ₂₅ MR _{80/20}	MFC10 ₂₅ MR _{80/20} [#]	MFC10 ₅₀ MR _{80/20}	MFC10 ₅₀ MR _{80/20} [#]
CA	76.1	68.8	74.0	66.7
Opacidad(AU×nm/mm)	85.0	82.1	148.1	201.4
Resistencia al bloqueo	9	10	10	10
Módulo de Young (MPa)	32.9	96.2	86.1	195.2
Resistencia tensil(MPa)	8.0	10.4	11.0	16.3
Elongación a la rotura(%)	657	380	301	119
Tenacidad (J/m ³ .10 ⁴)	3396	2895	2390	1604
Aw (%)	360.5	198.3	764.2	281.1
Tiempo de inmersión(min)	>10080	>10080	30	>10080
WL _w (%)	10.6	9.7	13.5	20.6

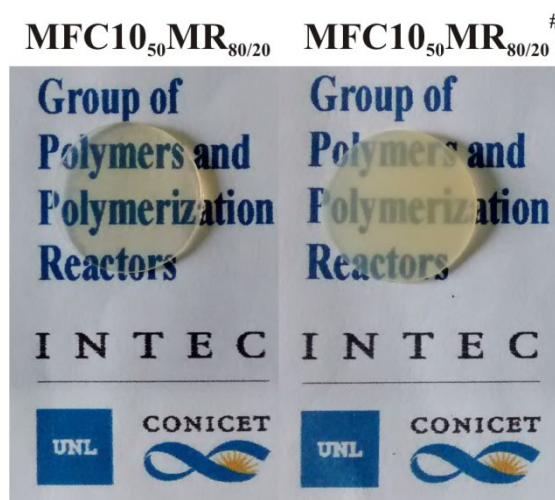


Figura 7.2. Fotografía de las películas híbridas MFC10₅₀MR_{80/20} y MFC10₅₀MR_{80/20}[#].

La Figura 7.3 muestra claramente el efecto del grado de entrecruzamiento sobre las propiedades tensiles de las películas, en donde se observa un endurecimiento más pronunciado en aquellos materiales más entrecruzados. Esta mayor densidad de entrecruzamiento obtenida por el incremento del SC de los látex, también se vio reflejada en la capacidad de absorción de agua (Tabla 7.3), de modo que los materiales MFC10₂₅MR_{80/20}[#] y MFC10₅₀MR_{80/20}[#] presentaron menores grados de hinchamiento (A_w) que los homólogos correspondientes. Así, A_w se redujo de 360.5% para MFC10₂₅MR_{80/20} a 198.3% para MFC10₂₅MR_{80/20}[#]. Del mismo modo, A_w disminuyó de 764.2% a 281.1% para los correspondientes materiales con alto contenido de caseína (50 phm). Nótese además que la fracción de caseína injertada en la película MFC10₅₀MR_{80/20} (20.5 gphm, Tabla 7.2) parece no ser suficiente para proporcionarle al material una buena resistencia al agua, de modo que este se desintegró luego de 30 min de inmersión. Por el contrario, el aumento en la compatibilidad alcanzado cuando se incrementó el SC, le confirió a la película MFC10₅₀MR_{80/20}[#] una buena resistencia al agua, soportando la totalidad del ensayo (7 días) y con una menor absorción de agua que el homólogo MFC10₅₀MR_{80/20}.

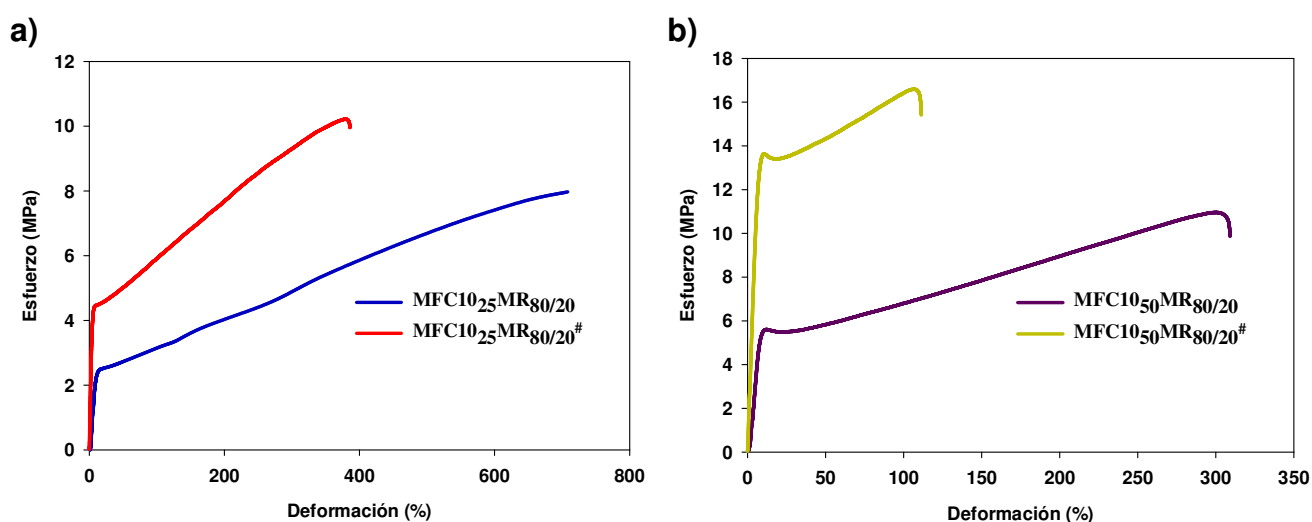


Figura 7.3. Comparación del desempeño mecánico de las películas MFC10₂₅MR_{80/20} y MFC10₂₅MR_{80/20}[#] (a); y MFC10₅₀MR_{80/20} y MFC10₅₀MR_{80/20}[#] (b).

7.3.1.3. Análisis estadístico multivariable del desempeño de las películas híbridas

En la Tabla 7.4 se resume el DoE utilizado para la formulación de los látex híbridos MFC10₂₅MR_{80/20}[#] y MFC10₅₀MR_{80/20}[#], mientras que las Tablas 7.5 y 7.6 presentan los valores medidos de brillo, velo y dureza para cada una de las formulaciones preparadas. Adicionalmente, las Figuras 7.4 y 7.5 muestran a modo ilustrativo algunas de las curvas de nivel construidas a partir de los resultados de las propiedades de interés para ambas dispersiones, formuladas con BG como cosolvente. Los límites para los colores que se observan en dichas graficas corresponden a los valores máximos y mínimos que se han obtenido para cada caso. Estos valores se presentan en las dos últimas filas de las Tablas 7.5 y 7.6. En términos generales, puede verse que ambos látex son capaces de formar películas con muy buenas propiedades de brillo y apariencia (bajo valor de velo), sin la necesidad de adicionar altas cantidades de cosolvente (Figuras 7.4.a,b y 7.5.a,b), lo cual resulta una gran ventaja debido a que se reduce el contenido de compuestos orgánicos volátiles (VOC) totales en la formulación. Se puede destacar además que las películas conteniendo 25 pphm de MFC10 presentan un mayor brillo y menor velo con respecto a las muestras con 50 pphm de tal proteína. En cuanto a los valores de dureza, se observó un leve incremento con la adición de antiespumante para el caso del ligante MFC10₂₅MR_{80/20}[#] (Figura 7.4.c), mientras que para el látex con mayor contenido de proteína esta propiedad resultó prácticamente insensible a los parámetros de la formulación (Figura 7.5.c). Además puede apreciarse que tal parámetro, como era esperable, aumentó con el contenido de MFC10.

Tabla 7.4. DoE utilizado para la formulación de los ligantes híbridos de acrílico-MFC10.

Formulación	Cosolvente (% p/p)^a	Humectante (% p/p)^b	Antiespumante (% p/p)^c	Tipo Cosolv.	Tipo Humect.	Tipo Antiespum.
1	1.81	0.5	0.1	BdG	BYK 348	BYK 028
2	1.34	0.3	1	BG	BYK 348	BYk 028
3	2.5	0.5	1	BdG	BYK 348	Tego 825
4	0	0.05	0.1	BdG	Surfynol 211	BYk 028
5	2.5	0.5	1	BG	Surfynol 211	Tego 825
6	2.5	0.5	0.1	BdG	Surfynol 211	Tego 825
7	1.14	0.19	0.73	BdG	Surfynol 211	BYK 028
8	2.5	0.26	0.49	BdG	BYK 348	BYk 028
9	0	0.5	0.1	BG	Surfynol 211	BYK 028
10	0	0.5	0.1	BdG	BYK 348	Tego 825
11	0	0.05	0.1	BG	Surfynol 211	Tego 825
12	0.46	0.28	0.29	BdG	BYK 348	BYK 028
13	2.5	0.05	1	BdG	Surfynol 211	Tego 825
14	2.5	0.5	1	BdG	Surfynol 211	BYk 028
15	1.76	0.37	0.25	BG	Surfynol 211	BYK 028
16	1.25	0.05	0.51	BG	BYK 348	Tego 825
17	0	0.05	0.1	BG	BYK 348	BYk 028
18	0	0.5	1	BdG	BYK 348	BYk 028
19	2.5	0.5	0.64	BG	BYK 348	BYK 028
20	0.56	0.5	0.78	BG	Surfynol 211	BYk 028
21	0	0.05	1	BG	Surfynol 211	BYK 028
22	0	0.05	1	BdG	BYK 348	Tego 825
23	1.34	0.3	1	BG	BYK 348	BYk 028
24	2.5	0.05	0.1	BG	Surfynol 211	BYk 028
25	1.25	0.05	0.51	BG	BYK 348	Tego 825
26	2.19	0.05	1	BdG	BYK 348	BYk 028
27	2.5	0.26	0.49	BdG	BYK 348	BYk 028
28	2.5	0.05	1	BG	BYK 348	Tego 825
29	0.96	0.33	0.77	BdG	BYK 348	Tego 825
30	1.14	0.19	0.73	BdG	Surfynol 211	BYk 028
31	0	0.5	1	BdG	Surfynol 211	Tego 825
32	0.96	0.33	0.77	BdG	BYK 348	Tego 825
33	2.5	0.05	0.1	BdG	BYK 348	Tego 825
34	2.5	0.41	0.1	BG	BYK 348	Tego 825
35	0	0.5	1	BG	BYK 348	Tego 825

^a Utilizado para disminuir la Tg de un aglutinante polimérico y controlar su reología.

^b Utilizado para reducir la tensión interfacial entre el sustrato y un aglutinante polimérico, permitiendo conseguir una película continua y homogénea.

^c Utilizado para evitar la formación de espuma durante la aplicación de un recubrimiento.

Tabla 7.5. Resultados de brillo, velo y dureza obtenidos a partir de la metodología "DoE + HTE" para el ligante MFC10₂₅MR_{80/20}[#].

Formulación	Brillo	Velo	Dureza
1	65.5	131	11.3
2	63	109	14.2
3	59.1	166	15.5
4	68.7	104	10.5
5	58.9	186	12.7
6	66.3	123	11.3
7	67.5	83.5	17.6
8	64.2	121	11.3
9	68.4	92	10.6
10	66.3	117	8.5
11	66.3	141	11.3
12	66.1	109	12
13	68.1	95.4	9.9
14	67.4	104	9.9
15	66.4	117	9.9
16	65.2	131	14.8
17	70.8	63.4	12
18	63.6	113	14.1
19	64.9	118	11.3
20	65.2	111	12.7
21	66.6	89.5	14.1
22	65.8	118	13.4
23	63.5	114	14.8
24	64	184	12.7
25	65.4	130	14.1
26	60.1	121	12
27	64.6	117	14.15
28	62	152	14.08
29	59.1	181	14.13
30	66.5	92	12.7
31	59.9	173	14.8
32	58.8	186	14.1
33	66.6	115	12
34	63.8	151	11.3
35	57.1	193	13.4
Mínimo	57.1	63.4	8.5
Máximo	70.8	193	17.6

Tabla 7.6. Resultados de brillo, velo y dureza obtenidos a partir de la metodología “DoE + HTE” para el ligante MFC10₅₀MR_{80/20}[#].

Formulación	Brillo	Velo	Dureza
1	52.1	256	26.7
2	47.7	250	25.3
3	47.6	269	28.1
4	55.5	234	28.1
5	49.8	260	28.1
6	54.8	241	28.1
7	50.4	233	25.3
8	49.4	250	23.9
9	54.6	238	25.3
10	52.1	251	28.1
11	54.7	240	30.9
12	53.3	234	25.3
13	56.2	235	32.3
14	55.5	237	28.1
15	54.7	238	29.5
16	51.7	258	29.5
17	53.7	238	30.9
18	49.3	239	25.3
19	49.3	255	26.7
20	51.1	236	25.3
21	51.4	224	25.3
22	48.5	281	29.5
23	49.1	237	26.7
24	54.2	251	28.1
25	50.3	274	28.1
26	42.9	261	25.3
27	46.5	271	26.7
28	49.3	278	29.5
29	48.3	274	28.1
30	48.6	249	26.7
31	49.9	261	28.1
32	48.3	274	30.9
33	54.6	241	26.7
34	52.8	251	23.9
35	47.6	268	26.7
Mínimo	42.9	224	23.9
Máximo	56.2	261	32.3

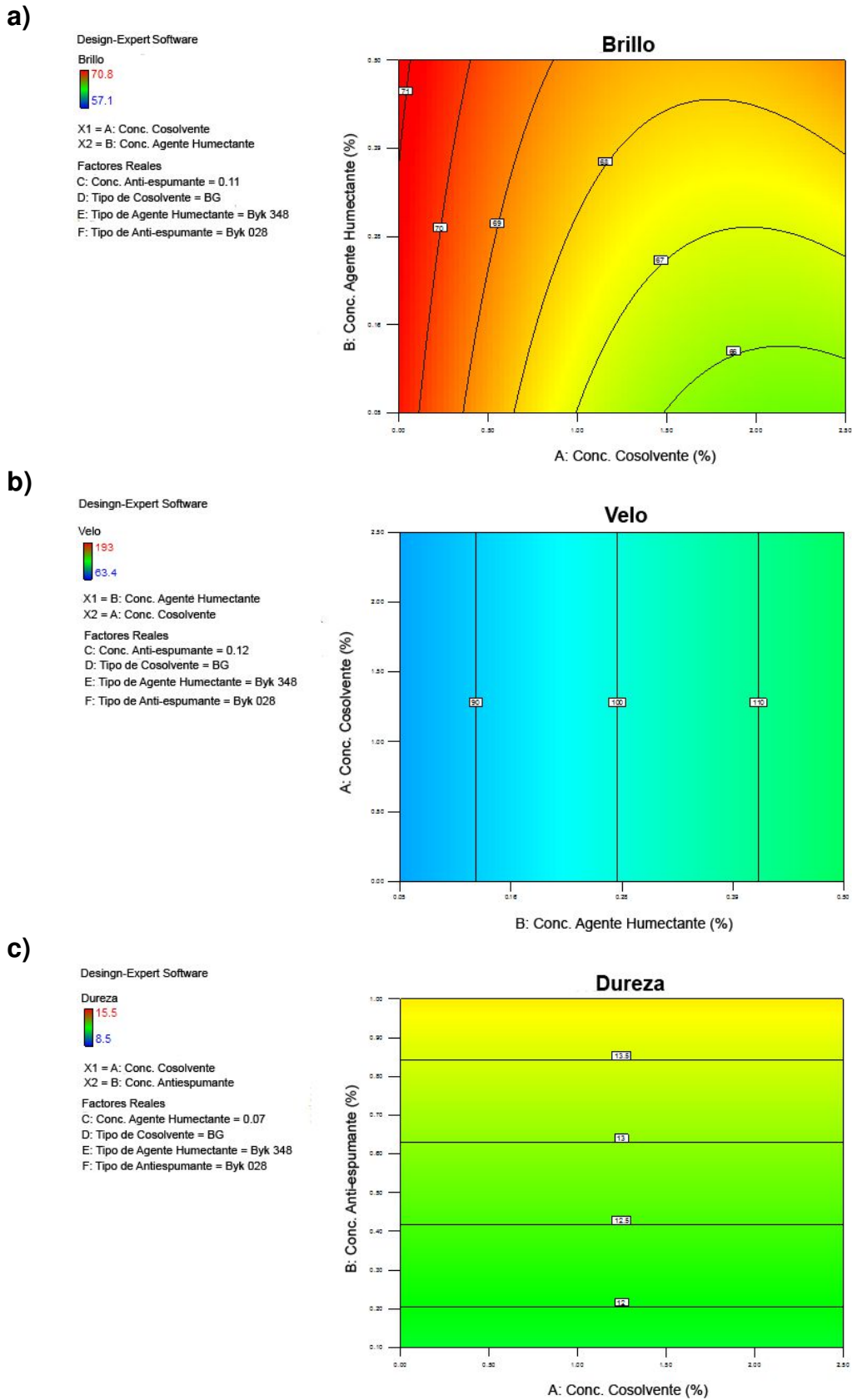


Figura 7.4. Gráficas de superficie de las propiedades de brillo (a), velo (b) y dureza (c) obtenidas para el látex MFC10₂₅MR_{80/20}[#] con la metodología "DoE + HTE".

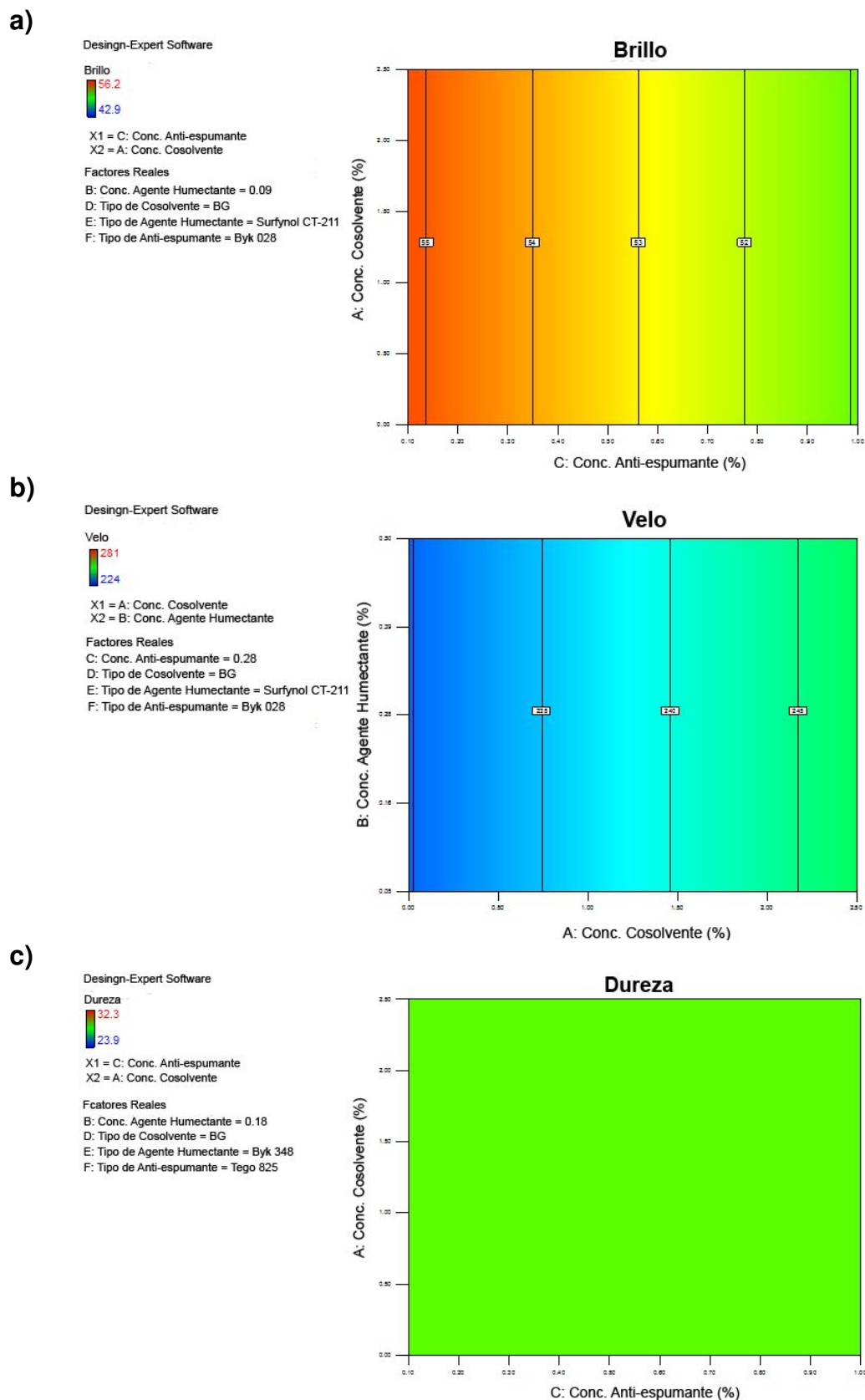


Figura 7.5. Gráficas de superficie de las propiedades de brillo (a), velo (b) y dureza (c) obtenidas para el látex MFC10₅₀MR_{80/20} con la metodología "DoE + HTE".

A partir de los resultados presentados en las Tablas 7.5 y 7.6 el software Design Expert V.9 permitió calcular, a través del modelo estadístico, la combinación de aditivos que maximizan el desempeño de los ligantes en términos de las propiedades estudiadas. En las Tablas 7.7 y 7.8 se presentan las formulaciones óptimas junto con los valores de cada propiedad predichos por el modelo y aquellos obtenidos experimentalmente. Posteriormente, el desempeño optimizado de los ligantes híbridos fue comparado con el correspondiente de una resina comercial (Stq Nu, Nuplex) formulada bajo las mismas condiciones. En la Tabla 7.9 se presenta un análisis comparativo de los resultados obtenidos.

Tabla 7.7. Formulaciones óptimas calculadas para maximizar el desempeño del ligante MFC10₂₅MR_{80/20}[#]. Valores predichos y experimentales de las propiedades de interés.

<i>Optimización</i>	<i>Cosolv.</i> (% p/p)	<i>Humect.</i> (% p/p)	<i>Antiespum.</i> (% p/p)	<i>Tipo</i> <i>Cosolv.</i>	<i>Tipo</i> <i>Humect.</i>	<i>Tipo</i> <i>Antiespum.</i>	<i>Valor</i> <i>Modelo</i>	<i>Valor</i> <i>Experim.</i>
Brillo	0.025	0.395	0.135	BG	BYK 348	BYK 028	70.83	74.25
Velo	2.5	0.05	0.1	BG	Surfynol 211	BYK 028	70.34	76.58
Dureza	0	0.5	1	BG	BYK 348	Tego 825	13.87	17.5

Tabla 7.8. Formulaciones óptimas calculadas para maximizar el desempeño del ligante MFC10₅₀MR_{80/20}[#]. Valores predichos y experimentales de las propiedades de interés.

<i>Optimización</i>	<i>Cosolv.</i> (% p/p)	<i>Humect.</i> (% p/p)	<i>Antiespum.</i> (% p/p)	<i>Tipo</i> <i>Cosolv.</i>	<i>Tipo</i> <i>Humect.</i>	<i>Tipo</i> <i>Antiespum.</i>	<i>Valor</i> <i>Modelo</i>	<i>Valor</i> <i>Experim.</i>
Brillo	0	0.5	0.1	BG	Surfynol 211	BYK 028	55.71	56.12
Velo	0	0.05	1	BG	Surfynol 211	BYK 028	225.7	199.12
Dureza	1.125	0.005	0.515	BG	BYK 348	Tego 825	29.75	34.5

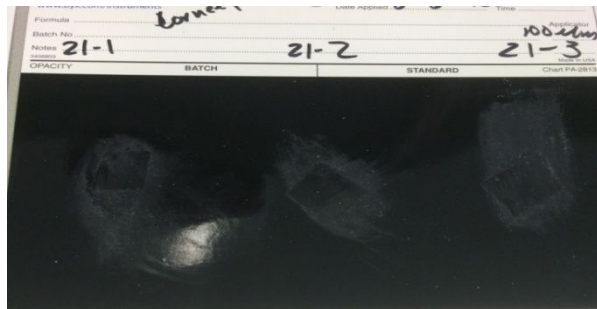
Tabla 7.9. Valores optimizados de brillo, velo, dureza y resistencia química de los ligantes híbridos frente a las propiedades de una resina comercial.

<i>Ligante</i>	<i>Brillo</i>	<i>Velo</i>	<i>Dureza</i>	<i>Resistencia Química</i>	
				<i>Café</i>	<i>Etanol</i>
MFC10₂₅MR_{80/20}[#]	74.25	76.58	17.5	3.5	2.5
MFC10₅₀MR_{80/20}[#]	56.12	119.12	34.5	4	3
Stq Nu	70.21	75.2	60.1	4	5

Puede verse que cuando se utiliza una concentración de MFC10 de 25 pphm los valores de brillo y velo son comparables a los de la resina comercial, lo cual resulta una verdadera ventaja desde el punto de vista económico y sustentable, debido a la reducción del contenido de monómeros petroquímicos en la formulación del látex. En este sentido sería deseable que las buenas propiedades de los materiales híbridos fueran conservadas cuando se utilizan contenidos de proteínas aún mayores. Desafortunadamente se observó un deterioro en los valores de brillo y velo para el ligante MFC10₅₀MR_{80/20}[#] (conteniendo 50 pphm de caseína). Nótese también que los valores de dureza obtenidos para ambas dispersiones resultaron por debajo de lo esperado para este tipo de ligantes acrílicos. Mientras que el ligante comercial Stq Nu posee un tiempo de amortiguación (parámetro indicador de dureza en el ensayo Konig) de 60.1 s, los látex híbridos MFC10₂₅MR_{80/20}[#] y MFC10₅₀MR_{80/20}[#] presentaron valores máximos de 17.5 y 34.5 s, respectivamente. Vale la pena mencionar que el ligante StqNu presenta ciertas ventajas inherentes a su composición que favorecen su dureza frente a los látex híbridos, como lo son su mayor temperatura de transición vítrea (Tg, -5 °C en relación a -34°C para el polímero híbrido) y su capacidad de auto-curado, durante la formación de la película, a través del sistema "diacetona acrilamida + ácido adípico dihidrazida" (Kessel et al., 2008). De ésta manera, a pesar que el incremento en el contenido de caseína le proporciona una mayor dureza a la película (cómo se vio en la sección 4.3.4 del Capítulo 4), la baja Tg del polímero acrílico y la ausencia de mecanismos de auto-curado, no permiten alcanzar los estándares requeridos para esta propiedad. Estos resultados sugieren que la relación monomérica de n-BA/MMA (80/20) utilizada, deber ser modificada de modo de incrementar la Tg del componente acrílico, para alcanzar los valores de dureza necesarios para la aplicación como recubrimiento. En tal sentido, una relación n-BA/MMA adecuada podría ser 60/40 o 50/50. Adicionalmente, debe evaluarse la incorporación de algún agente entrecruzante a la formulación, lo cual también contribuiría al incremento en la dureza del recubrimiento.

En la Tabla 7.9 se presentan los resultados de resistencia química de los ligantes híbridos utilizando formulaciones optimizadas para la dureza (Tablas 7.7 y 7.8). Las figuras 7.6 y 7.7 muestran las imágenes de los ensayos de resistencia química realizados sobre las películas obtenidas a partir de los látex $MFC10_{25}MR_{80/20}^{\#}$ y $MFC10_{50}MR_{80/20}^{\#}$. Puede verse que las películas se dañan severamente al exponerse a la solución etanol/agua y en menor medida a la infusión de café, alcanzado para este último caso valores comparables a la resina comercial. Claramente esto es un indicativo de que los materiales híbridos todavía presentan deficiencias en la resistencia a la absorción de agua. Si bien en el capítulo anterior se demostró que la metacrilación de la caseína permite alcanzar cierto grado de compatibilización en el sistema híbrido, el cual evita la desintegración de las películas durante su inmersión en agua, el hinchamiento que sufren durante tal proceso parece ser suficiente para dañar el recubrimiento cuando este posee espesores micrométricos. De estos resultados, se desprende que se debería aumentar la densidad de entrecruzamiento de las películas híbridas para reducir su grado de hinchamiento durante la exposición al agua. Podría pensarse que la solución inmediata a este problema se encuentra en aumentar el grado de metacrilación de la proteína, lo que a su vez aumentaría la densidad de entrecruzamiento de las películas. Sin embargo, se observó que el incremento en el número de dobles enlaces incorporados al biomaterial de 10 a 20 (con 50 pphm de caseína) condujo a un notable aumento en la viscosidad del látex (con un comportamiento reológico similar a una pasta) haciendo muy difícil su manipulación (estos resultados no fueron incluidos en la presente Tesis). Por lo tanto, necesariamente deben investigarse nuevas estrategias que permitan superar las deficientes propiedades de absorción de agua que presentan las películas híbridas.

a)

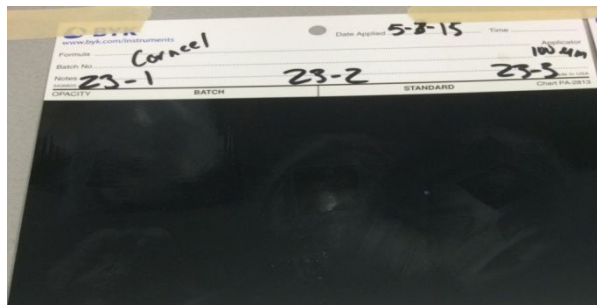


b)



Figura 7.6. Imagen del ensayo de resistencia química para el látex formulado MFC10₂₅MR_{80/20}[#]: Etanol/agua (a) y Café (b).

a)



b)



Figura 7.7. Imagen del ensayo de resistencia química para el látex formulado MFC10₅₀MR_{80/20}[#]: Etanol/agua (a) y Café (b).

7.4. CONCLUSIONES

En este capítulo se evaluó la posible aplicación de los látex híbridos a nivel industrial, a través de un trabajo en colaboración con la empresa Nuplex Resins con sede en Holanda. Dado el interés tecnológico de este estudio, el SC de los látex se incrementó de 20% a 35%, utilizándose concentraciones de caseína metacrilada de 25 y 50 pphm. En una primera etapa se estudió el efecto del aumento en el SC sobre la cinética de polimerización, la microestructura molecular de los látex y las propiedades de las películas. Los resultados mostraron una aceleración de la velocidad de polimerización con el SC, como consecuencia del mecanismo de iniciación previamente descrito en esta Tesis. El aumento en el SC incrementó la fracción de caseína injertada de los látex, alcanzándose valores de CGE de 67% y 78% para dispersiones con contenidos de caseína de 25 y 50 pphm, respectivamente. Esta mejora en la compatibilidad fue atribuida a la mayor ocurrencia de reacciones de entrecruzamiento proteína-proteína y proteína-acrílico, cuando aumentó la concentración de caseína metacrilada en el medio de reacción. El incremento en la compatibilidad del sistema, condujo a una mayor acumulación de la proteína sobre la superficie de los films, lo cual se vio reflejado en una disminución de los CA. Además, cuando se utilizaron 50 pphm de caseína, el notable incremento en la fracción injertada de esta proteína, le confirió a los materiales una tonalidad amarillenta, típicamente observada en las películas de biomaterial puro.

Por otro lado, el incremento en la densidad de entrecruzamiento de los materiales con el SC, afectó las propiedades mecánicas de las películas, aumentando su módulo elástico y su resistencia tensil, pero limitando su capacidad de elongación.

El estudio de la formulación de los látex híbridos realizado por Nuplex, utilizando la metodología "DoE + HTE", mostró que dichas dispersiones son capaces de formar películas a temperatura ambiente con un alto brillo y bajo velo, sin la necesidad de utilizar altas concentraciones de cosolventes, lo cual resulta una gran ventaja debido a que se reducen los VOC totales en la formulación. Sin embargo, la baja Tg del polímero acrílico utilizado en

este estudio (-34 °C), no permitió alcanzar los estándares de dureza requeridos para este tipo de recubrimientos, a pesar del considerable aporte de rigidez conferido por la caseína. Además, las películas híbridas no superaron las pruebas de resistencia química, dañándose severamente cuando fueron expuestas a soluciones acuosas de etanol. Este hecho nos reveló que, a pesar del considerable incremento en la compatibilidad del sistema alcanzado mediante la metacrilación de la caseína, el grado de hinchamiento que experimentan las películas durante su exposición al agua es suficiente para manifestar daños frente a agentes químicos.

Finalmente, estos resultados permiten diagramar las acciones necesarias para mejorar el desempeño de los recubrimientos, tendientes a alcanzar los estándares requeridos para su aplicación industrial. Las mismas serán descritas y propuestas como trabajos futuros en el capítulo siguiente.

Capítulo 8: Conclusiones generales y sugerencias para trabajos futuros

Actualmente uno de los principales desafíos que enfrenta tanto la industria, como la ciencia de los polímeros es el desarrollo de procesos más amigables con el medio ambiente y la sustitución de materias primas derivadas del petróleo. Esta realidad se encuentra motivada por las crecientes preocupaciones y regulaciones a nivel mundial relacionadas con la emisión de compuestos volátiles y a la sustentabilidad de los procesos y productos. En el campo de los recubrimientos, los polímeros en base acuosa utilizados como ligantes, son una alternativa más ecológica a aquellos en base solvente. Es por ello que las polimerizaciones en medio disperso (emulsión, miniemulsión, microemulsión y dispersión) ocupan un lugar destacado en la síntesis de materiales poliméricos, resultando su principal ventaja el empleo de agua, que abarata el proceso, reduce la contaminación ambiental y disminuye la toxicidad del producto. Por otra parte, las materias primas provenientes de fuentes renovables, tales como proteínas, aceites vegetales, y polisacáridos, tienen un gran potencial para la sustitución de los productos petroquímicos utilizados en la actualidad. En este sentido, la caseína bovina, es un material que ha sido ampliamente utilizado a nivel industrial, en diferentes aplicaciones incluyendo recubrimientos, adhesivos, emulsionantes, tintas y textiles, entre otros. Sin embargo, la falta de uniformidad de la materia prima natural, su baja resistencia mecánica, su elevada absorción de agua, y su baja resistencia al frotado en húmedo representan un serio inconveniente en la mayoría de las aplicaciones. Es por ello que resulta imperativo el desarrollo de nuevas estrategias tendientes a mejorar las deficientes propiedades de dicho material. En esta dirección, la polimerización en emulsión de monómeros acrílicos en presencia de caseína, resulta una alternativa atractiva para la síntesis de nuevos materiales sustentables y, que posean propiedades mejoradas a través de un efecto sinérgico entre el polímero sintético y el biomaterial.

En la presente tesis se investigó la obtención de nanopartículas híbridas de acrílico/caseína, mediante polimerización en emulsión, para su potencial aplicación en recubrimientos parcialmente biodegradables, resultando éstos látex una excelente alternativa ecológica a los ligantes sintéticos utilizados comercialmente.

A continuación, se resaltan los resultados más importantes del presente trabajo de Tesis, y se sugieren futuras tareas de investigación.

8.1. CONCLUSIONES GENERALES

En la polimerización en emulsión de metacrilato de metilo (MMA) en presencia de caseína, se demostró que la concentración de proteína juega un papel crucial en la cinética de reacción y en la microestructura molecular de las nanopartículas. Dado que el sistema de iniciación utilizado en la presente Tesis se basa en la reacción redox entre los grupos amino de la caseína y el tert-butil hidroperóxido (TBHP), la reducción del contenido de proteína en la formulación limitó las velocidades de nucleación de partículas y de polimerización, el número total de partículas (N_p), y la conversión final (x). La caracterización molecular de las nanopartículas mostró que las fracciones de polímero y caseína injertadas disminuyeron conforme se incrementó la concentración de proteína. En otras palabras, la compatibilidad del sistema se vio seriamente disminuida cuando se utilizaron altas concentraciones del biomaterial. Los resultados de la caracterización molecular de los látex, junto con un detallado análisis de la cinética de polimerización, de las distribuciones de tamaños de partículas y de las morfologías observadas, nos permitieron comprender los mecanismos involucrados en la nucleación y crecimiento de las partículas. Se identificaron dos mecanismos competitivos de formación de partículas a lo largo de la polimerización. La iniciación TBHP/ NH_2 -caseína promovió la formación de partículas compatibilizadas al comienzo de la reacción, mientras que un segundo mecanismo de nucleación (presente a lo largo de todo el proceso) generó partículas no compatibilizadas (por coagulación de macroradicales hidrófobos o por absorción de oligoradicales en micelas de proteína). Se

observó que la concentración de caseína empleada puede favorecer un mecanismo de nucleación sobre el otro. La polimerización con baja concentración de caseína produce principalmente partículas de PMMA-caseína compatibilizadas (es decir, con una alta proporción de cada componente químicamente unido). Sin embargo, cuando la concentración de caseína se incrementa, la nucleación de partículas no compatibilizadas (es decir, compuestas por acrílico y caseína no injertados) se vuelve más importante, pudiendo resultar predominante cuando la concentración de caseína es de 50 partes por cien de monómero (pphm).

Con la intención de producir látex con capacidad de formar películas, se incorporó acrilato de n-butilo (n-BA) a la formulación monomérica, ajustando la relación n-BA/MMA. Los resultados de la cinética de polimerización y la microestructura molecular de estos látex, mostraron un comportamiento similar al observado en el caso en el que se utilizó MMA como único monómero, indicando que los mecanismos de nucleación e injerto propuestos no fueron sustancialmente afectados por la adición del monómero n-BA (más hidrófobo) en la formulación.

La morfología de las películas obtenidas resultó fuertemente dependiente de la compatibilidad del sistema híbrido. Cuando se utilizó un alto contenido de caseína (25-50 pphm), gran cantidad de la misma no resultó injertada y segregó durante el secado. De esta manera, se produjo la estratificación de los componentes en la película. Por otro lado, cuando la concentración de proteína fue baja (3-12 pphm), la compatibilidad del sistema híbrido se incrementó significativamente, y por lo tanto se restringió la movilidad y segregación de fases. De este modo, la morfología superficial de estas películas resultó uniformemente constituida por dominios de caseína. El análisis interno de este material reveló que tales dominios proteicos correspondían a las corazas de las nanopartículas, las cuales presentaron una clara morfología tipo nucleo-coraza.

La incorporación de caseína a las formulaciones poliméricas no afectó significativamente la capacidad de formación de film de los ligantes acrílicos. Este

comportamiento se atribuyó al hecho de que el injerto de caseína no modificó apreciablemente la temperatura de transición vítrea (T_g) del sistema, indicando que no existe mezcla a nivel molecular en el copolímero híbrido. Esto permitió obtener látex con baja temperatura mínima de formación de película (MFFT), al mismo tiempo que la presencia de caseína mejoró la dureza y la resistencia al bloqueo con respecto al acrílico puro. Esta combinación antagónica de baja MFFT con elevada dureza y resistencia al bloqueo fue posible gracias al efecto plastificante del agua sobre la elevada T_g de la proteína (cerca de $180\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante la formación de película, evitando "a priori" la adición de cosolventes orgánicos comúnmente utilizados para este fin.

La compatibilidad del sistema híbrido también afectó de manera importante el comportamiento mecánico de las películas. Cuando se utilizaron contenidos de biomaterial inferiores a 50 pphm, las películas fueron capaces de soportar altas deformaciones y presentaron una tenacidad creciente con la concentración de proteína, mientras que la película con 50 pphm de caseína falló a baja deformación. En este último caso, la alta fracción de caseína no injertada (90%) se encuentra segregada y actúa como un nanorelleno rígido en la matriz polimérica amorfa, confiriéndole un comportamiento similar al film de caseína pura, el cual resiste muy baja deformación.

La resistencia a solventes orgánicos y la degradabilidad en suelo de los materiales mejoró conforme se incrementó el contenido de biomaterial de las películas. Mientras que los copolímeros acrílicos puros se hincharon completamente en metil etil cetona (MEK) y benceno, los materiales híbridos conteniendo cantidades de proteína superiores a 6 pphm resistieron la inmersión en estos solventes por 7 días. Por otro lado, la velocidad de descomposición de las películas en condiciones de compostaje resultó muy superior en relación al acrílico puro, obteniéndose una pérdida de peso de alrededor de 30% para concentraciones de caseína de 50 pphm, luego de 14 días de descomposición. Sin embargo, las películas presentaron una pobre resistencia al agua, siendo este el principal inconveniente desde el punto de vista de su aplicación. Esta baja resistencia al agua, es una

consecuencia directa de la baja compatibilidad que se alcanza en el sistema acrílico-caseína, cuando las concentraciones de proteína utilizadas son altas. Este hecho reveló que la estrategia de síntesis basada en la formación de radicales primarios sobre la cadena de proteína, a través de la iniciación redox entre los grupos amino del biomaterial y un hidroperóxido, no permitió por sí sola alcanzar el grado de compatibilización requerido, para garantizar las propiedades básicas de un recubrimiento.

Cómo nueva estrategia para incrementar la compatibilidad, se propuso la síntesis de una caseína acrilada (AFC) que, además de la capacidad de injerto por iniciación redox con un hidroperóxido, contiene grupos acrílicos pendientes capaces de polimerizar radicalariamente. El empleo de AFC superó considerablemente el grado límite de injerto logrado con caseína nativa (alrededor de 50% de PMMA injertado), permitiendo aumentar la compatibilización de las nanopartículas híbridas. Este incremento de la compatibilidad, alcanzado con AFC, fue validado evaluando las propiedades de película de formulaciones acrílicas híbridas basadas en n-BA/MMA. El aumento en las fracciones de acrílico y caseína injertadas, limitó la movilidad molecular de los componentes y la separación de fases en la película se vio restringida. El desempeño de las películas también resultó fuertemente influenciado por el aumento en la compatibilidad del sistema acrílico-caseína. Así, la reducción del contenido de proteína libre en el interior de los films, condujo a una notable disminución del módulo elástico y de la resistencia tensil de los materiales, al mismo tiempo que se incrementó su capacidad de elongación. En otras palabras, el aumento de las fracciones de caseína y acrílico injertadas le confirió a los materiales híbridos un comportamiento tendiente al del acrílico puro. Además, la utilización de caseína acrilada mejoró considerablemente la resistencia al agua de las películas, alcanzándose un tiempo máximo de inmersión de 1 día para el caso en el que se utilizó 25 pphm de AFC conteniendo 8 grupos vinílicos incorporados. Estos resultados fueron alentadores, teniendo en cuenta que las películas sintetizadas con caseína nativa se degradaron completamente, luego de ser inmersas en agua. Sin embargo, la mejora alcanzada en esta propiedad no fue

suficiente para poder utilizar a los látex híbridos como ligantes en una aplicación industrial, ya que las condiciones de servicios exigen tiempos de resistencias considerablemente mayores. Bajo estas circunstancias, surgió la imperiosa necesidad de mejorar esta estrategia para incrementar la compatibilidad del sistema híbrido, capaz de superar estas limitaciones.

Siguiendo con la metodología de incorporación de enlaces vinílicos sobre la cadena de caseína, se evaluó la metacrilación de dicha proteína utilizando glicidil metacrilato (GMA) como monómero funcional. De forma similar a lo observado para AFC, el uso de caseína metacrilada (MFC) permitió incrementar significativamente la compatibilidad del sistema, alcanzándose un aumento en la fracción de caseína injertada desde 20% (para proteína nativa) hasta 76% (para MFC con 40 funcionalidades incorporadas). La fracción insoluble de los materiales también se incrementó con el grado de metacrilación de la caseína, sugiriendo la formación de estructuras entrecruzadas en las películas.

Por otro lado, el incremento en la compatibilidad del sistema híbrido alcanzado mediante el uso de MFC, modificó la morfología de las películas, obteniéndose materiales altamente uniformes, con la proteína distribuida nanométricamente entre la superficie de la película y su interior. Además, se observó que la concentración de caseína sobre la superficie fue más importante cuanto mayor fue el grado de metacrilación utilizado. Esta alta concentración efectiva de proteína sobre la superficie de la película contribuyó a obtener mayores rendimientos de antibloqueo.

Por otro lado, el empleo de MFC redujo el contenido de caseína libre, dando lugar a una significativa disminución del módulo elástico y de la dureza de los compuestos híbridos, al mismo tiempo que mejoró su extensibilidad a la rotura (similar a lo observado con AFC). Sin embargo, esta última variable se vio limitada en las películas con altos grados de entrecruzamiento.

La estrategia de metacrilación con GMA probó superar con éxito la deficiente resistencia al agua que presentan las películas híbridas, alcanzándose tiempos de inmersión sin

presentar daños superiores a 7 días. La mejora alcanzada en esta propiedad, amplió las posibilidades para la aplicación industrial de los látex híbridos como ligantes en recubrimientos de base acuosa. Por ello, se procedió con la síntesis de dispersiones con 35% de contenidos de sólidos (SC) y utilizando 25-50 ppm de caseína metacrilada con 10 grupos metacrílicos incorporados (MFC10). Los estudios realizados sobre estos látex mostraron un incremento en la fracción de caseína injertada con el SC, lo cual fue atribuido a la mayor ocurrencia de reacciones de entrecruzamiento proteína-proteína y proteína-acrílico, cuando se aumentó la concentración de caseína metacrilada en el medio de reacción. Este incremento en el grado de compatibilidad tuvo una marcada influencia sobre las propiedades mecánicas y de absorción de agua de las películas híbridas. Así, las películas obtenidas a partir de los látex sintetizados con 35% de SC, mostraron un mayor módulo elástico y resistencia tensil, al mismo tiempo que presentaron menor elongación y absorción de agua, en relación a aquellas obtenidas a partir de látex con 20% de SC. Adicionalmente, en el marco de un trabajo en colaboración con la empresa Nuplex Resins, en su centro de investigación en Holanda, se llevó a cabo un estudio de factibilidad industrial para la aplicación de estos látex como ligantes, utilizando una metodología de “diseño de experimentos” y “experimentación de alto rendimiento” (DoE + HTP). Los resultados obtenidos mostraron que las dispersiones formuladas presentan un alto brillo y muy buena apariencia, sin la necesidad de utilizar altas cantidades de cosolventes, lo cual resulta una importante ventaja medioambiental frente a los ligantes acrílicos convencionales, debido a que se reduce el contenido de compuestos orgánicos volátiles totales en la formulación. Sin embargo, las películas no alcanzaron los estándares de dureza y resistencia química requeridos para la aplicación industrial de los látex como ligantes, planteándose nuevos desafíos para lograr aquel objetivo.

8.2. SUGERENCIAS PARA TRABAJOS FUTUROS

Como trabajos a futuro se plantea el estudio de nuevas estrategias que permitan mejorar las propiedades de las películas híbridas de acrílico/caseína, posibilitando su aplicación tecnológica e industrial. Las actividades que se sugieren son:

- Seguir avanzando en la síntesis de látex con contenidos de sólidos compatibles con su uso industrial (35%), utilizando proteína metacrilada. Continuar con la caracterización de los materiales híbridos producidos, en lo que respecta a morfología interna (por TEM y AFM), y propiedades mecánicas y de aplicación (resistencia a la tracción, transparencia/opacidad, resistencia a solventes y al agua). Se pretende relacionar la morfología de los materiales, con la analizada previamente durante el desarrollo de esta Tesis Doctoral, y vincular su microestructura y nanomorfología con las propiedades de aplicación, de manera tal que permitan un mejor entendimiento del comportamiento de dichos materiales.
- Analizar nuevas estrategias para incrementar la resistencia al agua de los materiales, incluyendo la utilización de moléculas bifuncionales como agentes entrecruzantes del núcleo polimérico. Se considerarán monómeros como el alil metacrilato o el divinilbenceno. Así mismo, se propone evaluar el uso de diisocianatos, dialdehídos o diepóxidos, como agentes entrecruzantes de la caseína, adicionándolos en una etapa posterior a la síntesis de los látex poliméricos. Se prevé también el empleo de hexametileno diisocianato, glutaraldehído o 1,4-butanodiol diglicidil éter para tal fin.
- Investigar la incorporación de aceites vegetales conteniendo grupos funcionales, tales como aceites epoxidados, capaces de unirse químicamente a la caseína, de manera de incrementar la hidrofobicidad de las películas. En esta dirección, también se propone la incorporación de aceite de Tung a las dispersiones acuosas, seguido por una etapa de miniemulsificación/dispersión y adición de agentes secantes (catalizadores). Con esta

metodología se espera que se produzcan reacciones de entrecruzamiento, durante la formación de película, entre los dobles enlaces conjugados presentes en el aceite, las cuales son promovidas por el oxígeno del aire. De esta manera se espera mejorar la resistencia química de las películas obtenidas.

- Estudiar nuevas formulaciones monoméricas que permitan incrementar la Tg del sistema, con la intención de mejorar la dureza de las películas. En este sentido, se prevé utilizar relaciones monoméricas más ricas en MMA o sustituir parte del n-BA por metacrilato de n-butilo. Para cumplimentar el requerimiento de dureza, también se considerará la alternativa de aumentar el contenido de caseína de los látex, el cual en la presente Tesis estuvo limitado por la máxima solubilidad de dicha proteína en agua. Para tal fin, se podría utilizar pequeñas cantidades de trietanolamina (1-3% p/p) en la disolución acuosa.
- Uno de los inconvenientes que trae aparejada la estrategia de metacrilación de la caseína, es la conversión límite de monómero que se alcanza en los látex. Es decir que existe una importante cantidad de monómero residual que incrementa el contenido de VOC de las dispersiones y resulta necesaria su remoción con el fin de obtener ligantes altamente ecológicos. Es por ello que se propone el estudio de la post-polimerización de los látex sintetizados con MFC y la posterior caracterización de los materiales resultantes.
- La eventual reducción en el grado de hinchamiento en agua de las películas, abriría un nuevo camino hacia la formulación de los ligantes híbridos aquí estudiados para su utilización en recubrimientos decorativos. Dicha formulación seguramente incluirá la adición de pigmentos, sustancias antiespumantes, cosolventes y humectantes, para la optimización del desempeño de las películas. En este sentido, se prevé continuar con el trabajo en colaboración con la empresa Nuplex Resins, la cual se encargará del estudio de la formulación, y del análisis del desempeño de algunas de las propiedades de calidad de las películas obtenidas, con el fin de arribar a las formulaciones adecuadas.

Referencias

- Ai Y, Wei D. "Preparation of Hydrophilic Polystyrene Microspheres with Casein Molecules on the Surface". *J. Macromol. Sci. Chem.* 45(6): 456-461 (2008).
- Akashi M, Kirikihira I, Miyauchi N. "Synthesis and Polymerization of a Styryl Terminated Oligovinylpyrrolidone Macromonomer". *Angew. Makromol. Chem.* 132(1): 81-89 (1985).
- Asua JM. "Emulsion Polymerization: From Fundamental Mechanisms to Process Developments", *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* 42(5): 1025-1041 (2004).
- Audic J, Chaufer B, Daufin G. "Non-food Applications of Milk Components and Dairy Co-products: A Review". *Lait* 83(6): 417-438 (2003).
- Bajgai M, Aryal S, Lee D, Park SJ, Kim H. "Physicochemical Characterization of Self-Assembled Poly(ϵ -caprolactone) Grafted Dextran Nanoparticles". *Colloid Polym. Sci.* 286(5): 517-524 (2008).
- Bengochea C, Abdessamad A, Guerrero A, Hill SE, Mitchell JRJ. "Relationship between the glass transition temperature and the melt flow behavior for gluten, casein and soya". *Cereal Sci.* 45(3): 275-284 (2007).
- Brady D, Jordaan J. "Advances in enzyme immobilization". *Biotechnol. Lett.* 31(11): 1639-1650 (2009).
- Brule G, Lenoir J. "La coagulación de la leche". En: *El Queso*, Eck A (Ed.), Omega S. A., Barcelona, pp 3-20 (1989).

- Cao Z, Jin Y, Miao Q, Ma C, Zhang B. "Synthesis and characterization of dual responsive graft copolymers composed of casein and poly(N-isopropylacrylamide)", *J. Polym. Res.* 19:9743 (2012).
- Caruso F, Mohwald H. "Protein Multilayer Formation on Colloids through a Stepwise Self-Assembly Technique". *J. Am. Chem. Soc.* 121(25): 6039–6046 (1999).
- Caruso F. "Nanoengineering of particle surfaces". *Adv. Mater.* 13(1): 11–22 (2001).
- Caruso F. "Engineering of Core-Shell Particles and Hollow Capsules". En: *Nano-surface chemistry*, Rosoff M (Ed), Marcel Dekker, New York, pp 505–525 (2002).
- Chen J, Zeng F, Wu S, Su J, Zhao J, Tong Z. "A Facile Approach for Cupric Ion Detection in Aqueous Media Using Polyethyleneimine/PMMA Core–Shell Fluorescent Nanoparticles". *Nanotechnology* 20(36): 365502 (2009).
- Chen M, Lui C, Lin J. "Correlation of cross-linked structures and properties in the characterization of dimethyl-diphenylethynyl-silane using DSC, TGA and Py-GC/MS analysis". *Polym. Degrad. Estab.* 112: 35-42 (2015).
- Chevalier Y, Pichot C, Graillat C, Joanicot M, Wont K, Maquet J, Lindner P, Cabane B. "Film Formation with Latex Particles". *Colloid. Polym. Sci.* 270(8): 806-821 (1992).
- Clementi LA, Vega JR, Gugliotta LM. "Particle size distribution of multimodal polymer dispersions by multiangle dynamic light scattering. Solution of the inverse problem on the basis of a genetic algorithm." *Part. Part. Sys. Char.* 27(5-6): 146-157 (2010).

- Clementi LA, Artetxe Z, Aguirreurreta Z, Agirre A, Leiza JR., Gugliotta LM, Vega Jorge R. "Capillary hydrodynamic fractionation of hydrophobic colloids: Errors in the estimated particle size distribution". *Particuology* 17: 97-105 (2014).
- Colombini D, Hassander H, Karlsson OJ, Maurer FHJ. "Effects of thermal annealing on the viscoelastic properties and morphology of bimodal hard/soft latex blends". *J. Polym. Sci. Polym. Phys.* 43(17): 2289–2306 (2005).
- Currie HA, Patwardhan SV, Perry CC, Roach P; Shirtcliffe NJ. En: "Hybrid Materials", Kickelbick G (Ed.), Wiley-VCH Verlag GmbH & Co: Weinheim, pp 255-299 (2007).
- Czech Z, Kowalczyk A, Kabatc J, Świdarska J. "Thermal Stability of Poly(2-ethylhexyl acrylates) Used as Plasticizers for Medical Application". *Polymer Bulletin* 70(6): 1911-1918 (2013).
- Czlonkowska-Kohutnicka Z, Razszczuk A. "Effect of Microgels on the Viscoelastic Properties of Poly(dimethylvinylsiloxanes)". *J. Appl. Polym. Sci.* 19(5): 1269-1273 (1975).
- Dickinson E. "Caseins in Emulsions: Interfacial Properties and Interactions". *Int. Dairy J.* 9(3-6): 305-312 (1999).
- Díez-Peña E, Quijada-Garrido I, Barrales-Rienda JM. "Analysis of the Swelling Dynamics of Cross-Linked P(N-iPAAm-co-MAA) Copolymers and Their Homopolymers under Acidic Medium. A Kinetics Interpretation of the Overshooting Effect". *Macromolecules* 36(7): 2475–2483 (2003).
- Eckersley ST, Helmer BJ. "Mechanistic considerations of particle size effects on film properties of hard/soft latex blends". *J. Coat. Technol.* 69(864): 97–107 (1997).

- Ednessjjad S. "Natural glues". En: Adhesives Technology Handbook, Ednessjjad S (Ed.), William Andrew, Norwich, pp. 95-97 (2008).
- Eigel W, Butler J, Ernstrom C, Farrell H, Harwalkar V, Jennes R, Whitney R. "Nomenclature of Proteins of Cow's Milk: Fifth Revision". J. Dairy Sci. 67(8): 1599-1631 (1984).
- El-Aasser MS, Sudol ED. "Features of Emulsion Polymerization". En: Emulsion Polymerization and Emulsion Polymers, Lovell PA, El-Aasser MS (Eds.), John Wiley & Sons Ltd., West Sussex, pp. 38-55 (1997).
- Feng M, Lee D, Li P. "Intracellular Uptake and Release of Poly(ethylenimine)-co-Poly(methyl methacrylate) Nanoparticle/pDNA Complexes for Gene Delivery". Int. J. Pharm. 311(1-2): 209-214 (2006).
- Feng M, Li P. "Amine-Containing Core-Shell Nanoparticles as Potential Drug Carriers for Intracellular Delivery". J. Biomed. Mater. Res. 80(1): 184-193 (2007).
- Ferguson CJ, Hughes RJ, Nguyen D, Pham BTT, Gilbert RG, Serelis AK, Such CH, Hawket BS. "Ab Initio Emulsion Polymerization by RAFT-Controlled Self-Assembly". Macromolecules 38(6): 2191-2204 (2005).
- Ferrandini E, Castillo M, López M, Laencina J. "Modelos Estructurales de la Micela de Caseína". An. Vet. (Murcia) 22: 5-18 (2006).
- Figueroa N. "Síntesis y Caracterización de Nanopartículas Híbridas Acrílico/Caseína". Trabajo Final de la Licenciatura en Biotecnología de la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas de la UNL (2012).
- Fitch RM, Tsai CM, "Polymer Colloids" Fitch RM (Ed.), Plenum Press, New York, p. 73. (1971).

- Fitch RM. "Homogeneous Nucleation of Polymer Colloids", Br. Polym. J. 5(6): 467-483 (1973).
- Fitch RM, Shih LB. "Emulsion polymerization. Kinetics of radical capture by particles", Prog. Colloid Polym. Sci. 56: 1-11 (1975).
- Fox T G. Bull. Am. Phys. Soc. 1(3): 123 (1956).
- Gerrard JA. "Protein-protein crosslinking in food: methods, consequences, applications". Trends Food Sci. Tech. 13(12): 391-399 (2002).
- Giudice CA, Pereyra AM. "Generalidades y Principales Componentes". En: Tecnología de Pinturas y Recubrimientos: Componentes, Formulación, Manufactura y Calidad, Ed. Edutecne, Buenos Aires (2009).
- Goikoetxea M, Reyes Y, de las Heras Alarcón CM, Minari RJ, Beristain I, Paulis M, Barandiaran MJ, Keddie JL, Asua, JM. "Transformation of waterborne hybrid polymer particles into films: Morphology development and modeling". Polymer 53(5): 1098-1108 (2012).
- González I, Asua JM, Leiza JR. "The Role of Methyl Methacrylate on Branching and Gel Formation in the Emulsion Copolymerization of BA/MMA". Polymer 48(9): 2542-2547 (2007).
- Gressie N. "Recent work on the thermal degradation of acrylate and methacrylate homopolymers and copolymers". Pure Appl. Chem. 30(1-2): 119-134 (1972).
- Grassie N, Fortune JD. "Thermal degradation of copolymers of methyl methacrylate and n-butyl acrylate. I. Thermal analysis". Macromol. Chem. Phys. 162(1): 93-101 (1972).

- Gurney RS, Dupin D, Nunes JS, Ouzineb K, Siband E, Asua JM, Armes SP, Keddie JL. "Switching Off the Tackiness of a Nanocomposite Adhesive in 30 s via Infrared Sintering". *Appl. Mater. Interfaces*. 4, 5442–5452 (2012).
- Harkins WD. "A General Theory of the Mechanims of Emulsion Polymerisation". *J. Am. Chem. Soc.* 69(6): 1428-1444 (1947).
- Haupt B, Neumann T, Wittemann A, Ballauff M. "Activity of enzymes immobilized in colloidal spherical polyelectrolyte brushes". *Biomacromolecules* 6(2): 948-955 (2005).
- Ho KM, Mao X, Gu L, Li P. "Facile route to enzyme immobilization: core–shell nanoenzyme particles consisting of well-defined poly(methyl methacrylate) cores and cellulose shells". *Langmuir*, 24(19): 11036-11042 (2008).
- Ho KM, Li WY, Wong CH, Li P. "Amphiphilic Polymeric Particles with Core–Shell Nanostructures: Emulsion-Based Syntheses and Potential Applications". *Colloid Polym. Sci.* 288(16): 1503-1523 (2010).
- Horcas I, Fernandez R, Gomez-Rodriguez JM, Colchero J, Gomez-Herrero J, Baro AM. "WSXM: A software for scanning probe microscopy and a tool for nanotechnology". *Rev. Sci. Instrum.* 78: 013705 (2007).
- Hritcu D, Muller W, Brooks DE. "Poly(styrene) Latex Carrying Cerium(IV)-Initiated Terminally Attached Cleavable Chains: Analysis of Grafted Chains and Model of the Surface Layer". *Macromolecules* 32(3): 565–573 (1999).
- Huang H, Kowalewski T, Remsen EE, Gertzmann R, Wooley KL. "Hydrogel-coated glassy nanospheres: a novel method for the synthesis of shell cross-linked knedels". *J. Am. Chem. Soc.* 119(48): 11653-11659 (1997).

- Huber GW, Iborra S, Corma A. "Synthesis of transportation fuels from biomass: chemistry, catalysts, and engineering". *Chem. Rev.* 106(9): 4044-4098 (2006).
- Hutchinson RA, McMinn JH, Paquet DA, Beuermann S, Jackson C. "A Pulsed-Laser Study of Penultimate Copolymerization Propagation Kinetics for Methyl Methacrylate/n-Butyl Acrylate". *Ind. Eng. Chem. Res.*, 36(4): 1103-1113 (1997).
- Irissin-Mangata J, Baudin G, Boutevin B, Gontard N. "New plasticizers for wheat gluten films". *Eur. Polym. J.* 37(8): 1533- 1541 (2001).
- Janjic S, Kostic M, Vucinic V, Dimitrijevic S, Popovic K, Ristic M, Skundric P. "Biologically Active Fibers Based on Chitosan-Coated Lyocell Fibers". *Carbohydr. Polym.* 78(2): 240–246 (2009).
- Johansson LS, Tammelin T, Campbella JM, Setäläb, H, Österberg M. "Experimental evidence on medium driven cellulose surface adaptation demonstrated using nanofibrillated cellulose". *Soft Matter* 7: 10917-10924 (2011).
- Joanicot M, Wong K, Richard J, Maquet J, Cabane B. "Ripening of Cellular Films". *Macromolecules* 26(12): 3168-3175 (1993).
- Jovanović R, Ouzineb K, McKenna TFL, Dubé MA. "Butyl Acrylate/Methyl Methacrylate Latexes: Adhesive Properties". *Macromol. Symp.* 206(1): 43-56 (2004).
- Kang K, Kan C, Yeung A, Liu D. "The properties of covalently immobilized trypsin on soap-free p(MMA-EA-AA) latex particles". *Macromol. Biosci.* 5(4): 344–351 (2005).
- Keddie JL. "Film Formation of Latex". *Mat. Sci. Eng. R.* 21(3): 101-170 (1997).

- Kessel N, Illsley DR, Keddie JL. "The diacetone acrylamide crosslinking reaction and its influence on the film formation of an acrylic latex". *J. Coat. Technol. Res.* 5(3): 285-297 (2008).
- Khorana H. "The Chemistry of Carbodiimides". *Chem. Rev.* 53(2): 145-166 (1953).
- Konstance R, Strange E. "Solubility and Viscous Properties of Casein and Caseinates". *J. Food Sci.* 56(2): 556-559 (1991).
- Koppel DE. "Analysis of macromolecular polydispersity in intensity correlation spectroscopy: The method of cumulants". *J. Chem. Phys.* 57: 4814-4820 (1972).
- Lakshminarayana Y, Vijayakumar MT, Srinivasan KSV, Joseph KT. "Studies on the Grafting of Acrylonitrile-co-Styrene onto Casein". *Eur. Polym. J.* 22(2): 143-146 (1986).
- Li P, Zhu J, Sunintaboon P, Harris FH. "New Route to Amphiphilic Core-Shell Polymer Nanospheres: Graft Copolymerization of Methyl Methacrylate from Water-Soluble Polymer Chains Containing Amino Groups". *Langmuir* 18(22): 8641-8646 (2002).
- Li P, Liu JH, Wang Q, Wu C. "Copper-mediated graft copolymerization of methyl methacrylate onto casein". *Macromol. Symp.* 151(1): 605-610 (2000).
- Lichti G, Gilbert RG, Napper DH. "The Mechanism of Latex Particle Formation and Growth in the Emulsion Polymerisation of Styrene Using the Surfactant Sodium Dodecyl Sulphate", *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* 21(1): 269-291 (1983).
- Liu Y, Li J, Yang L, Shi Z. "Graft Copolymerization of Methyl Methacrylate onto Casein Initiated by Potassium Ditetelluratocuprate (III)". *J. Macromol. Sci., Pure Appl. Chem.* 41(3): 305-316 (2004).

- Liu Y, Zhang Y, Liu Z, Deng K. "Graft copolymerization of butyl acrylate onto casein initiated by potassium doperiodatonickelate(IV) in alkaline medium". *Eur. Polym. J.* 38(8). 1619-1625 (2002).
- Liu Y, Gou R. "pH-dependent structures and properties of casein micelles". *Biophys. Chem.* 136(2-3): 67-73 (2008).
- Lopez A, Degrandi-Contraires E, Canetta E, Creton C, Keddie JL, Asua JM. "Waterborne Polyurethane-Acrylic Hybrid Nanoparticles by Miniemulsion Polymerization: Applications in Pressure-Sensitive Adhesives". *Langmuir* 27: 3878-3888 (2011).
- Ma J, Xu Q, Zhou J, Gao D, Zhang J, Chen L. "Nano-scale core-shell structural casein based coating latex: Synthesis, characterization and its biodegradability". *Prog. Org. Coat.* 76(10): 1346-1355 (2013).
- Maldonado-Valderrama J, Martin-Rodriguez A, Cabrerizo-Vischez MA., Galvez Ruiz M J. "Interfacial Phenomena Underlying the Behavior of Foams and Emulsions". En: *Structure and Funcional Properties of Colloidal Systems*, Hidalgo-Álvarez R (Ed.), Taylor and Francis Group, Norwich, pp 219-233 (2010).
- Mali S, Grossmann MVE, Martino MN, Zaritzky NE. "Barrier, mechanical and optical properties of plasticized yam starch films". *Carbohydr. Polym.*, 56(2): 129-135 (2004).
- Mancin F, Rampazzo E, Tecilla P, Tonellato U. "Self-Assembled Fluorescent Chemosensors". *Chem. Eur. J.* 12(7): 1844-1854 (2006).
- Manson W. "The Separation of Major Components of the Casein of Bovine Milk by Eletrophoresis in a Density Gradient". *Biochem. J.* 94(2): 452-457 (1965).

- Mao X, Huang J, Fai Leung M, Du Z, Ma L, Huang Z, Li P, Gu L. "Novel core-shell nanoparticles and their application in high-capacity immobilization of enzymes". *Appl. Biochem. Biotechnol.* 135(3): 229-239 (2006).
- Mark JE. En: "Physical Properties of Polymers Handbook", Springer, New York (2007).
- Marrion AR. En: *The Chemistry and Physics of Coatings*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge (2004).
- Masahiro Y, Miho K, Takuya K, Kouji K, Hibiki N, Atushi U, Hiroyasu O, Haruo I. "Synthesis of amphiphilic polymer particles by seed polymerization and their application for lipase immobilization". *Macromol. Chem. Phys.* 203(2): 284-293 (2002).
- McMahon DJ, Oommen BS. "Supramolecular structure of the casein micelle". *J. Dairy Sci.* 91(5): 1709-1721 (2008).
- Meng F, Engbers GHM, Feijen J. "Polyethylene Glycol Grafted Polystyrene Particles". *J. Biomed. Mater. Res.* 70(1): 49-58 (2004).
- Mie G. "Beitrage zur Optik truber Medien speziell kolloidaler Metallosungen". *Ann. Phys.* 330(3): 377-445 (1908).
- Minari RJ, Goikoetxea M, Beristain I, Paulis M, Barandiaran MJ, Asua JM. "Molecular characterization of alkyd/acrylic latexes prepared by miniemulsion polymerization". *J. App. Polym. Sci.* 114(5): 3143-3151 (2009).
- Mohan D, Radhakrishnan G, Rajadurai S. "Synthesis of casein-g-poly(methyl acrylate). II". *J. Appl. Polym. Sci.* 39(7): 1507-1518 (1990).

- Mohan D, Radhakrishnan G, Rajadurai S, Rao KV, Cameron GG. "Graft copolymerization of acrylamide onto casein: A kinetic study". *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* 27(6) 2123-2133 (1989).
- Mohan D, Radhakrishnan G, Rajadurai S. "Synthesis of casein-g-poly(n-butyl methacrylate)". *J. Macromol. Sci. Chem.* 22(1): 75-83 (1985).
- Mohan D, Radhakrishnan G, Rajadurai S, Nagabhusanam T, Thomas Joseph K. "Studies on Graft Copolymerization of Acrylate Monomers onto Casein". *J. Appl. Polym. Sci.* 29(1): 329-339 (1984).
- Mohan D, Radhakrishnan G, Rajadurai S. "Synthesis of casein-g-poly(methyl acrylate)". *J. Macromol. Sci. Chem.* 20(2): 201-212 (1983).
- Mohan D, Radhakrishnan G, Rajadurai S. "Synthesis of casein-g-poly(vinyl acetate). II". *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* (1983).
- Mohan D, Radhakrishnan G, Rajadurai S. "Synthesis of casein-g-poly(vinyl acetate)". *Die Makromolekulare Chemie*, 183(7): 1659-1657 (1982).
- Mohan G, Radhakrishnan D, Nagabhusanam T. "Synthesis of casein-g-poly(butyl acrylate)". *J. Appl. Polym. Sci.* 25(8): 1799-1806 (1980).
- Morales FJ, Romero C, Jimenéz-Pérez S. "New methodologies for kinetic study of 5-(hydroxymethyl)-furfural formation and reactive lysine blockage in heat-treated milk and model systems". *J. Food Prot.* 58(3): 310-315 (1995).
- Monedero FM, Fabra MJ, Talens P, Chiralt A. "Effect of oleic acid-beeswax mixtures on mechanical, optical and water barrier properties of soy protein isolate based films". *J. Food. Eng.* 91(4): 509-515 (2009).

- Morr CV. "Effect of Oxalate and Urea upon Ultracentrifugation Properties of Raw and Heated Skimmilk Casein Micelles". *J. Dairy Sci.* 50(10): 1744-1751 (1967).
- Nunes JS, Bohórquez SJ, Meeuwisse M, Mestach D, Asua JM. "Efficient strategy for hard nano-sphere usage: Boosting the performance of waterborne coatings". *Prog. Org. Coat.* 77(10): 1523-1530 (2014).
- Panesar PS, Kennedy JF. En: *Carrier-bound immobilized enzymes: principles, application and design*, Cao L (Eds.), Wiley, Hoboken (2006).
- Peacock AJ, Calhoun A. En: *Polymer Chemistry: Properties and Applications*, Carl Hanser Verlag GmbH Co KG, Munich (2006).
- Picchio ML, Minari RJ, Gonzalez VDG, Passeggi (Jr.) MCG, Barandiaran MJ, Gugliotta LM. "Waterborne Acrylic-Casein Nanoparticles. Nucleation and Grafting". *Macromol. Symp.* 344(1): 76-85 (2014).
- Priest WJ. "Particle Growth in the Aqueous Polymerization of Vinyl Acetate", *J. Phys. Chem.* 56(9): 1077-1083 (1952).
- Ramos-Fernández JM, Guillem C, Lopez-Buendía A, Paulis M, Asua JM. "Synthesis of Poly-(BA-co-MMA) Latexes Filled with SiO₂ for Coating in Construction Applications". *Prog. Org. Coat.* 72(3): 438-442 (2011).
- Rasmussen K, Hojrup P, Petersen T. "The Multimeric Structure and Disulfide-Bonding Pattern of Bovine κ-casein". *Eur. J. Biochem.* 207(1): 215-222 (1992).
- Sajjadi S, Brooks BW. "Butyl Acrylate Batch Emulsion Polymerization in the Presence of Sodium Lauryl Sulphate and Potassium Persulphate". *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* 37(21): 3957-3972 (1999).

- Sakuma S, Suzuki N, Kikuchi H, K-i H, Arikawa K, Kishida A, Akashi M. "Oral Peptide Delivery Using Nanoparticles Composed of Novel Graft Copolymers having Hydrophobic Backbone and Hydrophilic Branches". *Int. J. Pharm.* 149(1): 93-106 (1997).
- Sakuma S, Suzuki N, Sudo R, Hiwatari K, Kishida A, Akashi M. "Optimized Chemical Structure of Nanoparticles as Carriers for Oral Delivery of Salmon Calcitonin". *Int. J. Pharm.* 239(1-2): 185-195 (2002).
- Salzberg HK, Georgevits LE, Karapetoff Cobb RM. "Casein in paper coating". En: *Synthetic and Protein Adhesives for Paper Coating*, Silvernail LH, Bain WM (Eds.), Technical Association of the Pulp and Paper Industry, New York, pp 103-162 (1961).
- Schmidt DG. "Association of caseins and casein micelle structure". En: *Developments of Dairy Chemistry*, Fox PF (Ed.), Applied Science Publications, Londres, pp. 61-68 (1982).
- Shechter L, Wynstra J, Kurkijy P. "Glycidyl Ether Reactions with Amines". *Ind. Eng. Chem.* 48(1): 94-97 (1956).
- Silebi C, Dos Ramos J. "Separation of submicrometer particles by capillary hydrodynamic fractionation (CHDF)". *J. Coll. Int. Sci.* 130(1): 14-24 (1989).
- Slattery CW, Evard R. "A Model for the Formation and Structure of the Casein Micelles from Subunits of Variable Composition". *BBA* 317(2): 529-538 (1973).
- Smith RW, Bryg V. "Staining polymers for microscopical examination". *Rubber Chem. Tech.* 79(3): 520-540 (2006).

- Somanathan N, Naresh MD, Arumugam V, Ranganathan TS, Sanjeevi R. "Mechanical properties of alkali treated casein films". *Polym. J.* 24(7): 603-6011 (1992).
- Somanathan N, Sanjeevi R, Rami Reddy C, Radhakrishnan N. "Graft Copolymerization of Casein with Acrylonitrile and n-Butyl Methacrylate". *Eur. Polym. J.* 23(6): 489-492 (1987).
- Svedas VJK, Galaev IJ, Borisov IL, Berezin IV. "The Interaction of Amino Acids with o-Phthalaldehyde: A Kinetic Study and Spectrophotometric Assay of the Reaction Product". *Anal. Biochem.* 101(1): 188-195 (1980).
- Stalder AF, Melchior T, Müller M, Sage D, Blu T, Unser M, "Low-Bond Axisymmetric Drop Shape Analysis for Surface Tension and Contact Angle Measurements of Sessile Drops". *Colloid Surface A* 364(1): 72-81 (2010).
- Tang J, Dimonie VL, Daniels ES, Klein A, El-Aasser MS. "Study of the Drying Behavior of Model Latex Blends during Film Formation: Influence of Carboxyl Groups". *Macromol. Symp.* 155(1): 139–161 (2000).
- Tomba JP, Portinha D, Schroeder WF, Winnik MA, Lau W. "Polymer diffusion in high-M/low-M hard-soft latex blends". *Colloid Polym. Sci.* 287(3): 367–378 (2009).
- Tzitzinou A, Keddie JL, Geurts JM, Peters ACIA, Satguru R. "Film Formation of Latex Blends with Bimodal Particle Size Distributions: Consideration of Particle Deformability and Continuity of the Dispersed Phase". *Macromolecules* 33(7) 2695–2708 (2000).
- Udagama R, Degrandi-Contraires E, Creton C, Graillat C, McKenna TFL, Bourgeat-Lami E. "Synthesis of Acrylic–Polyurethane Hybrid Latexes by Miniemulsion

- Polymerization and Their Pressure-Sensitive Adhesive Applications". *Macromolecules* 44(8): 2632-2642 (2011).
- Uğur Ş, Sunay S, Pekcan Ö. "Film formation of nano-sized hard latex (PS) in soft polymer matrix (PBA): An excimer study". *Polym. Comp.* 31(9): 1611-1619 (2010).
 - Urban D, Distler D. En: *Polymer Dispersions and Their Industrial Applications*, Urban D, Takamura K (Eds.), Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA, Weinheim, (2002).
 - Van Hest JCM. "Biosynthetic-Synthetic Polymer Conjugates". *J. Macromol. Sci. Part C: Polymer Rev.* 47(1): 63-92 (2007).
 - Vigo MS, Malec LS, Gomez RG, Llosa RA. "Spectrophotometric assay using o-phthaldialdehyde for determination of reactive lysine in dairy products". *Food Chem.* 44(5): 363-365 (1992).
 - Walstra P, Jenness R. "Casein Micelles". En: *Dairy Chemistry and Physics*, John Wiley and Sons, New York, pp. 229-253 (1984).
 - Wang T, de las Heras Alarcón C, Goikoetxea M, Beristain I, Paulis M, Barandiaran MJ, Asua MJ, Keddie JL. "Cross-Linked Network Development in Compatibilized Alkyd/Acrylic Hybrid Latex Films for the Creation of Hard Coatings". *Langmuir* 26 (17): 14323–14333 (2010).
 - Winnik MA, Feng J. "Latex blends: an approach to zero VOC coatings". *J. Coat. Technol.* 68(852): 39–50 (1996).
 - Wolfbeis OS. "Materials for Fluorescence-Based Optical Chemical Sensors". *J. Mater. Chem.* 15(27-28): 2657–2669 (2005).

- Wenjun W, Anderson M, Schneider J. "Block Resistance of Low-VOC Acrylic Paints: Influences of Latex Design Parameters" *JCT Coatings Tech.* 6(8): 22-26 (2009).
- Xu Q, Ma J, Zhou J, Wang Y, Zhang J. "Bio-based core-shell casein-based silica nano-composite latex by double-in situ polymerization: Synthesis, characterization and mechanism". *Chem. Eng. J.* 228: 281-289 (2013).
- Ye W, Leung MF, Xin J, Kwong TL, Kam Len Lee D, Li P. "Novel Core-Shell Particles with Poly(n-butyl acrylate) Cores and Chitosan Shells as an Antibacterial Coating for Textiles". *Polymer* 46(23): 10538-10543 (2005).
- Zhu J, Li P. "Synthesis and Characterization of Poly(methyl methacrylate)/Casein Nanoparticles with a Well-Defined Core-Shell Structure". *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* 41(21): 3346-3353 (2003).
- Zhu J, Tang A, Law LP, Feng M, Ho KM, Lee DKL, Harris FW, Li P. "Amphiphilic Core-Shell Nanoparticles with Poly(ethylenimine) Shells as Potential Gene Delivery Carriers". *Bioconjugate Chem.* 16(1): 139-146 (2005).

Abreviaturas

AA: Ácido acrílico

AFC: Caseína acrilada

AFM: Microscopía de fuerza atómica

AU: Unidades de absorbancia

BdG: Butil diglicol

BG: Butil glicol

Bz: Benceno

CA: Ángulo de contacto

CHDF: Cromatografía por fraccionamiento hidrodinámico capilar

CMC: Concentración micelar crítica

CTA: Agente de transferencia de cadena

D₂O: Agua deuterada

DLS: Dispersión de luz dinámica

DMTA: Análisis termomecánico dinámico

DSC: Calorimetría diferencial de barrido

DR: Índice de refracción diferencial

EDC: 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida

GMA: Glicidil metacrilato

gphm: gramos por cada cien de monómero

IPHA: n-Isopropil hidroxilamina

KPS: Persulfato de potasio

MEK: Metil etil cetona

MFC: Caseína metacrilada

MFFT: Temperatura mínima de formación de película

MMA: Metacrilato de metilo

MWD: Distribución de pesos moleculares

n-BA: Acrilato de n-butilo

n-PBA: Poliacrilato de n-butilo

OPA: O-ftalaldehído

PMMA: Polimetacrilato de metilo

pphm: partes por cada cien de monómero

PSA: Adhesivo sensible a la presión

PSD: Distribución de tamaños de partículas

PTA: Ácido fosfotúngstico

RMN: Resonancia magnética nuclear

SC: Contenido de sólidos

SEC: Cromatografía de exclusión por tamaños

SLS: Lauril Sulfato de Sodio

St: Estireno

TBHP: tert-butil hidroperóxido

TEM: Microscopía electrónica de transmisión

THF: Tetrahidrofurano

TGA: Análisis termogravimétrico

UAc: Acetato de uranilo

UV: Ultravioleta

Nomenclatura

A_0	Área original de la sección transversal de la probeta antes de iniciar el ensayo de tracción [Eq. 1.1] (m^2)
A_{MEK}	Masa relativa de metil etil cetona absorbida [Eq. 2.8] (%)
A_S	Masa relativa de solvente absorbida [Eq. 2.8] (%)
A_W	Masa relativa de agua absorbida [Eq. 2.8] (%)
$\langle a \rangle$	Valor promedio de altura en mediciones topográficas [Eq. 2.7] (nm)
$a_{i,j}$	Valor real de altura en mediciones topográficas [Eq. 2.7] (nm)
$[AF]$	Concentración de agente funcionalizante [Eq. 2.6] (mol/l)
AGE	Eficiencia de injerto acrílico [Eq. 2.4] (%)
A_{NC}	Absorbancia de la caseína nativa [Eq. 2.6] (UA)
A_{FC}	Absorbancia de la caseína funcionalizada [Eq. 2.6] (UA)
CGE	Eficiencia de injerto de caseína [Eq. 2.5] (%)
\bar{d}_p	Diámetro medio de partículas (nm)
E	Módulo de Young [Eq. 1.3] (MPa)
E'	Módulo tensil de almacenamiento (MPa)
F	Fuerza uniaxial aplicada sobre la probeta durante el ensayo de tracción [Eq. 1.1] (N); Fuerza necesaria para elevar el anillo desde la superficie del líquido, en el punto donde éste se desprende del líquido, durante la medición de tensión superficial [Eq. 2.3] (mN)
G'	Módulo de almacenamiento en ensayo reológico de corte (MPa)
G''	Módulo de pérdida en ensayo reológico de corte (MPa)
k	Constante de calibración [Eq. 2.6] (UA×l/mol)
l_0	Longitud inicial de la probeta en el ensayo de tracción [Eq. 1.2] (cm)

l	Longitud de la probeta durante el ensayo de tracción [Eq. 1.2] (cm)
m	Masa de monómero [Eq. 2.2] (g)
\bar{M}_n	Peso molecular medio en número (g/mol)
\bar{M}_w	Peso molecular medio en masa (g/mol)
N	Número de puntos dentro de un intervalo de mediciones topográficas [Eq. 2.7] (adimensional)
N_p	Número de partículas por litro de látex [Eq. 2.2] (#/L)
RMS	Rugosidad cuadrática media [Eq. 2.7] (nm)
r_i	Radio interno del anillo empleado para medición de tensión superficial [Eq. 2.3] (m)
r_e	Radio externo del anillo empleado para medición de tensión superficial [Eq. 2.3] (m)
Td_{max}	Temperatura máxima de descomposición (°C)
Tg	Temperatura de transición vítrea (°C)
W	Masa de látex [Eq. 2.2] (g)
W_{loss}	Velocidad de degradación en suelo (%)
WL_{MEK}	Pérdida de peso en metil etil cetona [Eq. 2.9] (%)
WL_S	Pérdida de peso en solvente [Eq. 2.9] (%)
WL_W	Pérdida de peso en agua [Eq. 2.9] (%)
x	Conversión gravimétrica de monómeros [Eq. 2.1] (%)

Símbolos griegos

ε	Deformación ingenieril [Eq. 1.2] (%)
γ	Tensión superficial (mN/m)
$\dot{\gamma}$	Velocidad de deformación (s ⁻¹)

η	Viscosidad dinámica (Pa.s)
ρ_p	Densidad del polímero [Eq. 2.2] (g/cm ³)
ρ_w	Densidad del látex [Eq. 2.2] (g/cm ³)
σ	Esfuerzo ingenieril [Eq. 1.1] (MPa)
ω	Frecuencia de oscilación