

ANÁLISIS CONFORMACIONAL DE POLÍMEROS MEDIANTE ESPECTROSCOPIA INFRARROJA DE POLARIZACIÓN (DIR)

Francisco López Carrasquero

Grupo de Polímeros, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes, Mérida 5101A, Venezuela.. E-mail flopezc@ula.ve

RESUMEN

En este trabajo se describen algunos ejemplos de aplicación de la técnica de dicroísmo infrarrojo (DIR) en el estudio conformacional de polipéptidos y otras poliamidas.

INTRODUCCIÓN

El grado de orientación de las moléculas poliméricas tiene una importancia significativa en sus propiedades mecánicas. Algunas técnicas como difracción de rayos X, birrefringencia o espectroscopía de resonancia magnética nuclear, se han empleado para determinar la orientación de los polímeros producida en procesos mecánicos (1). Ahora bien, la espectroscopia infrarroja de polarización o dicroísmo infrarrojo (DIR) ha probado ser una técnica muy poderosa en la determinación del grado de orientación en polímeros y resulta ser particularmente sensible en el estudio de la conformación. Las medidas de intensidad de las absorciones con radiación polarizada paralela o perpendicular a la dirección de orientación de la muestra, permiten determinar los momentos de transición de los diferentes grupos cromóforos y obtener información sobre la conformación del polímero.

FUNDAMENTOS DEL DICROISMO INFRARROJO (DIR)

El dicroísmo infrarrojo es una técnica muy sencilla que consiste en irradiar muestras orientadas de polímero con un haz de luz infrarroja polarizada paralela y perpendicularmente a la dirección de estiramiento de la muestra. En una muestra isotrópica, donde no existe una dirección preferencial de las moléculas, todos los cromóforos están orientados al azar y por lo tanto no se observa ningún efecto con la polarización. Ahora bien, en una muestra perfectamente orientada,

todas las moléculas y por lo tanto cada cromóforo tendrá una orientación particular respecto al eje de orientación de la muestra, por lo que se observará un efecto significativo cuando sus espectros son tomados con luz polarizada. Así por ejemplo, un determinado cromóforo cuyo momento de transición coincide con dirección del eje de orientación de la muestra, mostrará una banda intensa en el espectro de IR, cuando es irradiada con el haz paralelo a la misma, mientras que cuando se irradia perpendicularmente, la banda no es observada. Ahora bien, si el momento de transición es perpendicular al eje de orientación, se observará el fenómeno contrario. En casos donde el momento de transición forma un ángulo con el eje de orientación se observa una situación intermedia en la cual mientras mas agudo sea dicho ángulo mayor será la intensidad de la banda paralela con respecto a la perpendicular y viceversa. Este fenómeno se muestra en forma gráfica en la Figura 1.

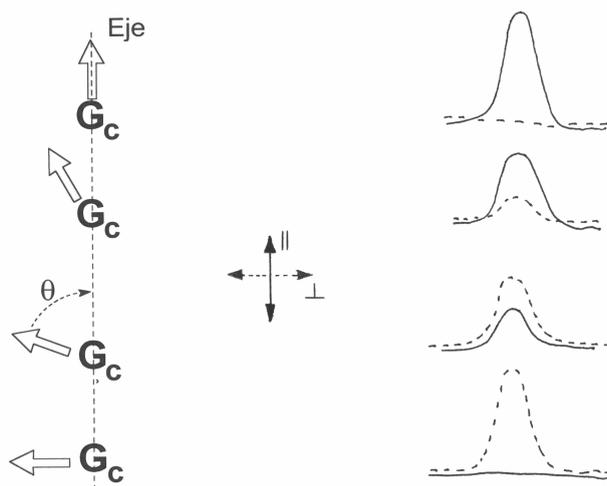


Figura 1. Efecto de la orientación en un espectro de infrarrojo polarizado. En la figura la flecha gruesa representa el momento de transición del cromóforo, la doble flecha el haz polarizado, θ representa el ángulo entre el vector del momento de transición asociado con el grupo atómico responsable de la absorción y el eje de la fibra. La línea continua representa el haz y señal paralela y la punteada representa la perpendicular.

El espectro infrarrojo polarizado de una muestra de polietileno orientada, que se obtuvo por estiramiento mecánico de una película delgada de material, se muestra en la Figura 2. Allí puede apreciarse el efecto de la polarización sobre la intensidad de las bandas de flexión de los CH_2 (1470 cm^{-1}) y vibración de balanceo de los CH_2 (720 cm^{-1}). El momento de transición de ambas vibraciones forma un ángulo cercano a los 90° con la cadena polimetilénica (2). Como las cadenas

del polietileno no se alinean en la dirección del estiramiento, es de esperar, como en efecto sucede, que ambas bandas muestren dicroísmo perpendicular.

Como se mencionó antes, las medidas de intensidad de estas absorciones con radiación polarizada, permiten determinar los momentos de transición de los diferentes grupos cromóforos y obtener información sobre la conformación del polímero.

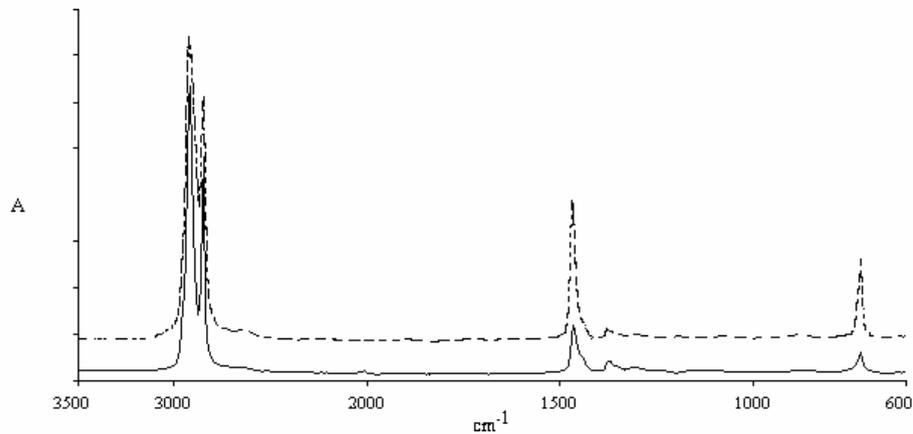


Figura 2. Espectros de dicroísmo infrarrojo correspondientes al polietileno. Las líneas continuas y punteadas corresponden respectivamente, a la orientación paralela y perpendicular del vector eléctrico de la radiación infrarroja polarizada respecto al eje de orientación.

La relación entre las intensidades relativas entre las absorbancia paralela y perpendicular de una banda en particular, se define como la relación dicroica y se expresa como:

$$D = A_{||}/A_{\perp} \quad (1)$$

donde D es la relación dicroica paralela, $A_{||}$ y A_{\perp} son los valores de absorbancia paralela y perpendicular respectivamente.

El ángulo θ que forma el vector del momento de transición asociado con el grupo atómico responsable de la absorción con el eje de la fibra se relaciona con la relación dicroica observada experimentalmente mediante la ecuación (2) (3):

$$D = \frac{2 \cos^2 \mathbf{q} + 2/3(1-f)/f}{2 \operatorname{sen}^2 \mathbf{q} + 2/3(1-f)/f} \quad (2)$$

En esta ecuación, f es el factor de orientación de una muestra dicroica ideal compuesta de una fracción f de cadenas perfectamente orientadas y de $(1 - f)$ cadenas orientadas al azar, la cual exhibe un dicroísmo idéntico a la muestra en estudio. Si para un grupo cromóforo determinado se conoce su factor de orientación y la relación dicroica, que se mide directamente del espectro, se puede determinar su orientación (?) con respecto al eje de la cadena.

Cuando se está en el caso de una muestra perfectamente orientada, el valor de f se hace igual a 1 y la expresión (2) se transforma en,

$$D_0 = \frac{2 \cos^2 \mathbf{q}}{2 \operatorname{sen}^2 \mathbf{q}} = 2 \cot^2 \mathbf{q} \quad (3)$$

Desafortunadamente en muchos casos la orientación de las fibras no es perfectamente unidireccional, la incertidumbre de estos valores orientacionales impiden la determinación exacta de f . El análisis queda por tanto restringido a la determinación de los valores límites máximo y mínimo permitidos para ? (3). Ahora bien, de acuerdo con Fraser (3), la relación entre f , el valor de la relación dicroica para una muestra perfectamente orientada, D_0 y el valor observado D están relacionados mediante la siguiente ecuación,

$$f = \frac{(D-1)(D_0+2)}{(D_0-1)(D+2)} \quad (4) \quad \text{donde } 0 = f = 1$$

Si los valores de D_0 o f son desconocidos, la relación dicroica puede ser interpretada de la siguiente manera:

Si existe dicroismo paralelo ($D > 1$) entonces los valores θ estarán en el siguiente intervalo $55^\circ = \theta = 0^\circ$

Si existe dicroismo perpendicular ($D < 1$) entonces los valores θ estarán en el siguiente intervalo $90^\circ = \theta = 55^\circ$

Sin embargo, como $D_0 = D$ cuando $D > 1$ y $D_0 = 1/D$ cuando $D < 1$ el intervalo de valores para θ se restringen aún más:

$$D > 1 \quad 0 = \theta = (\cot^{-1}D)^{1/2} \quad \text{o} \quad 0 = \theta = (1/\tan^{-1}D)^{1/2} \quad (5a)$$

$$D < 1 \quad 90^\circ = \theta = (\cot^{-1}D)^{1/2} \quad \text{o} \quad 90^\circ = \theta = (1/\tan^{-1}D)^{1/2} \quad (5b)$$

El valor mínimo para la fracción orientada de moléculas, *f_{min}*, puede obtenerse haciendo que el valor de D_0 , el cual corresponde a la relación dicróica que tendría una muestra ideal perfectamente orientada, en la ecuación (4) tienda a infinito o a cero según D sea mayor o menor que la unidad respectivamente, quedando que

$$\text{si } D > 1 \quad D_0 \rightarrow \infty \quad f_{min} = (D - 1) / (D + 2) \quad (6a)$$

$$\text{si } D < 1 \quad D_0 \rightarrow 0 \quad f_{min} = 2(1 - D) / (D + 2) \quad (6b)$$

En la práctica, se asume que para una muestra homogénea el factor de orientación tiene el mismo valor para todos los cromóforos y transiciones. De todos los valores de *f* obtenidos a partir de las relaciones dicróicas de las diferentes bandas del espectro mediante el empleo de la ecuación (2), se escoge el mayor de todos ellos como *f_{min}*. Así por ejemplo, se escogen todas las bandas del espectro del polietileno mostrado en la **Figura 2** y se aplican las ecuaciones 6a ó 6b dependiendo de si muestran dicróismo paralelo ($D > 1$) o perpendicular ($D < 1$) y se escoge el mejor valor de *f_{min}* y se puede escribir para todas las bandas que,

$$f_{min} \leq \frac{(D - 1)(D_0 + 2)}{(D_0 - 1)(D + 2)} \quad (7)$$

Obteniéndose que finalmente los valores del ángulo entre el momento de transición y el eje de orientación de la muestra (?) estarán comprendidos en el siguiente intervalo

$$\cot^{-1} \left[\frac{f_{min} (D + 2) + 2(D - 1)}{2f_{min} (D + 2) - 2(D - 1)} \right]^{1/2} = \theta = \cot^{-1} (1/2D)^{1/2} \quad \text{cuando } D > 1 \quad (8a)$$

y

$$\cot^{-1} \left[\frac{f_{\min} (D + 2) - 2(1 - D)}{2f_{\min} (D + 2) + 2(1 - D)} \right]^{1/2} = \theta = \cot^{-1} (1/2D)^{1/2} \quad \text{cuando } D < 1 \quad (8b)$$

De esta manera se pueden obtener el factor de orientación mínimo y el valor del ángulo entre el momento de transición y el eje de orientación de la muestra (?). Mientras mas bandas del espectro sean tomadas en cuenta mejor será el valor de *f_{min}* y mas estrecho será el intervalo de valores para θ .

En el caso de la muestra de PE mostrada en la **Figura 2** se pudo determinar que las relaciones dicroicas de las bandas descritas son $D_{1470} = 0,35$ y $D_{720} = 0,26$. Aplicando las ecuaciones descritas aquí a estos valores se obtiene que *f_{min}* = 0,65 y por lo tanto:

$$67 = \theta_{1470} = 77 \quad \text{y} \quad 70^\circ = \theta_{720} = 87^\circ$$

Ahora bien, el factor de orientación de una muestra semicristalina puede ser determinado de manera independiente a partir de sus difractogramas de rayos X, si la estructura cristalina del polímero es conocida (3). En este caso el valor *f* medido de esta manera puede ser introducido en las ecuaciones anteriores para determinar θ .

APLICACIÓN DE DIR EN EL ANÁLISIS CONFORMACIONAL DE POLIAMIDAS

Actualmente es un hecho bien conocido que los polipéptidos son capaces de adoptar tanto conformaciones helicoidales como extendidas, y que la orientación del grupo amida en la molécula está determinada por el tipo de conformación. Por lo tanto, conociendo la orientación de este grupo con respecto al eje de la fibra en una muestra orientada, se puede conocer con certeza la conformación adoptada por el polipéptido. La técnica de DIR permite medir el ángulo θ entre el vector del momento de transición de las principales modos de vibración del grupo amida, y el eje de la fibra. Por otra parte, se sabe que la dirección de los momentos de transición del estiramiento del vN-H o amida A, la amida I y amida II, forman ángulos de 8, 20 y 73° respectivamente con el enlace C = O, tal como se muestra gráficamente en la **Figura 3 (3)**. Combinando ambas cosas se puede

determinar con certeza la orientación del grupo amida en la fibra y establecer el tipo de conformación que adopta el polipéptido.

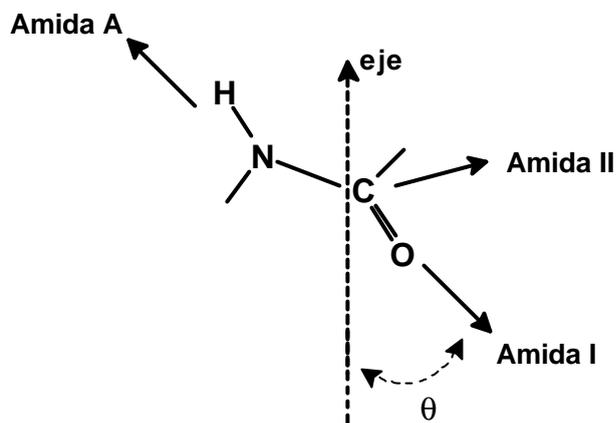


Figura 3. El grupo amida mostrando la dirección de los momentos de transición de las amidas A, I y II respecto al grupo carbonilo. Los ángulos que se aprecian en la figura, entre cada uno de los momentos y el eje son aproximados.

Los primeros trabajos realizados sobre el uso del dicroísmo infrarrojo en el estudio de los polipéptidos sintéticos y en proteínas fibrosas fueron desarrollados por Ambrose y sus colaboradores a finales de la década de los cuarenta y principios de los cincuenta (3-4). Antes de éstos, los únicos trabajos de espectroscopía infrarroja relacionados con polipéptidos, se efectuaron con muestras no orientadas, y en ellos solo se describía la relación existente entre los espectros de las proteínas con los de los polipéptidos sintéticos (5,6).

Ambrose y Elliott (9) prepararon películas orientadas de poli(α -bencil-L-glutamato), poli(α -metil-L-glutamato) y del copolímero poli(α -metil-L-glutamato)-DL-fenilalanina (1:1), en diferentes disolventes y las sometieron a estudios de dicroísmo infrarrojo. Estos autores observaron que la forma helicoidal de estos polímeros mostraban las bandas de N-H y amida I con dicroísmo paralelo mientras que la banda de amida II exhibía dicroísmo perpendicular. En cambio, para la forma extendida de los polipéptidos la situación era justamente la contraria (Figura 4). Estos mismos autores determinaron también que las bandas de amida I y amida II en la forma helicoidal aparecían a frecuencias cercanas a 1660 y 1560 cm^{-1} , respectivamente, mientras que en la forma β

las frecuencias características eran de aproximadamente 1640 y 1530 cm^{-1} . En estudios posteriores se pudo estimar que las direcciones de los momentos de transición de la amida I y amida II de la hélice α del poli(γ -bencil-L-glutamato) estaban inclinados unos 29 - 34° y 75 - 77°, respectivamente, con relación al eje de la hélice (7).

En la **Tabla 1** se resumen las frecuencias de las bandas de amida I y amida II de los polipéptidos en las distintas conformaciones. Las frecuencias de estas bandas sirven como diagnóstico preliminar para distinguir las diferentes conformaciones adoptadas por estas sustancias. Así mismo, en la **Figura 4** se muestran a manera de ilustración los primeros espectros de DIR correspondientes a la hélice α y a la forma extendida obtenidos por Ambrose y Elliott en 1951 (9).

Tabla 1. Bandas observadas de amida I y amida II de los polipéptidos en diferentes conformaciones^{a)}.

Conformación	Amida I	Amida II
Forma desordenada ^{b)}	1656 (f)	1535 (f)
Hélice α ^{b)}	1650 (f)	1546 (f)
	1652 (m)	1516 (d)
Forma extendida (cadenas paralelas) ^{b)}	1630 (f) ^{d)} 1632 (f) ^{e)}	1530 (f) ^{d)} 1530 ^{e)}
	1645 (d) ^{d)} 1685(d) ^{e)}	1550 (d) ^{d)}
Forma "Cross β " ^{c)}	1640 (f)	1530
	1680 (d)	

(a) Intensidad de la banda: f = fuerte; m = media; d = débil. (b) Tomado de Miyazawa y Blout, (12). (c) Tomado de Ingwall y col., (8). (d) cadenas paralelas, (e) cadenas antiparalelas.

Tsuboi (9) propuso un modelo de conformación para la forma α el poli(γ -bencil-L-glutamato), (PGBLG), cuya estructura se muestra en la **Figura 5**, indicando las posibles orientaciones con respecto al eje de la fibra de los grupos peptídicos, éster y grupo fenilo. Este modelo estaba basado en las medidas de las relaciones dicróicas de las bandas de absorción

infrarroja. Allí también se evaluaron los ángulos entre el eje de la hélice y los momentos de transición del $\nu(\text{NH})$, amida I y amida II que resultaron ser de 28, 39 y 75° respectivamente.

Un requerimiento esencial para la aplicación del DIR es la utilización de muestras orientadas. Ingwall y sus colaboradores (13) desarrollaron un procedimiento para la determinación de dicroísmo infrarrojo de oligo y polipéptidos que no forman películas susceptibles de ser orientadas de manera satisfactoria. Esta técnica consiste en incorporar la muestra del péptido en películas de poli(óxido de etileno), POE, y orientarlas posteriormente por estiramiento uniaxial. Mediante este método se logró obtener muestras parcialmente orientadas de oligómeros sintéticos derivados del ácido glutámico, así como de polipéptidos de alto peso molecular. Los resultados obtenidos por estos y otros autores (10) para el PGBLG incorporado en POE resultaron ser similares a los reportados por Tsuboi, tal como se muestra. En la **Tabla 2**.

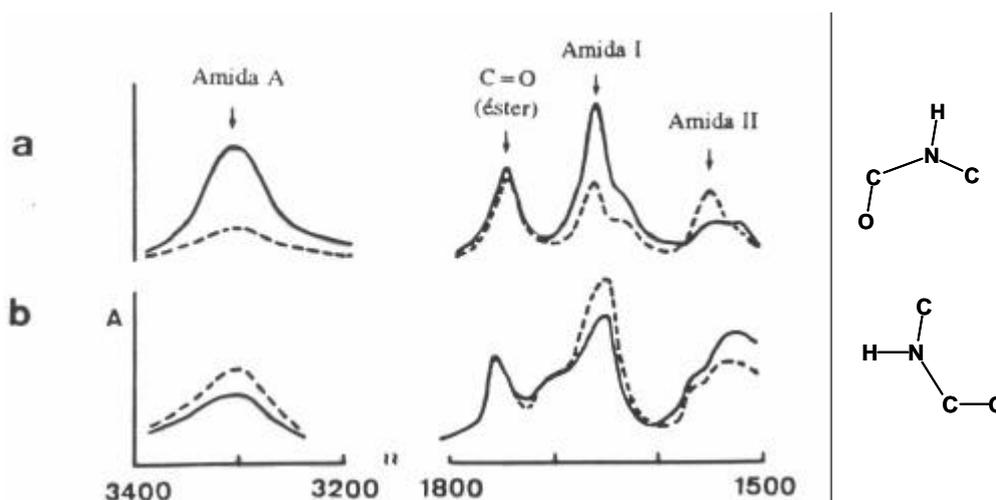


Figura 4. Adaptación de los espectros de DIR correspondientes a la hélice α y a la forma extendida en las zonas de $3500\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ y $1800\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$, reportados por Ambrose y Elliott en 1951. (a) poli(α -metil-L-glutamato) (forma α) y (b) poli(α -metil-L-glutamato) (forma β). Las líneas continuas y punteadas corresponden respectivamente, a la orientación paralela y perpendicular del vector eléctrico de la radiación infrarroja polarizada respecto al eje de orientación. En cada caso también se muestra la orientación aproximada del grupo amida en la estructura.

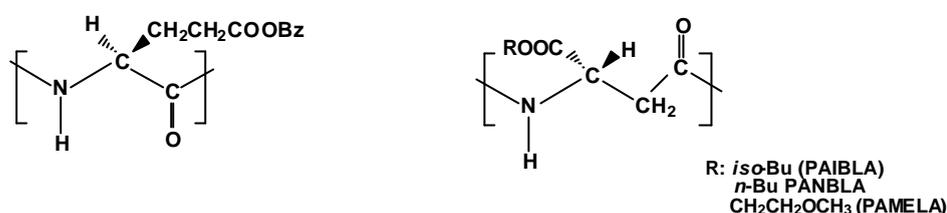


Figura 5. Estructura del poli(α -benzil-L-glutamato) y algunos poli(β ,L aspartato)s capaces de adoptar conformaciones helicoidales.

Tabla 2. Dirección de los momentos de transición (θ) del grupo amida del PGBLG.

Momentos de transición (°)				
ν NH	Amida I	Amida II	POE	Referencia
28	39	75	No	14
37-43	40-45	68-90	Si	13
32-40	36-43	70-90	Si	15

Esta técnica también fue usada posteriormente para preparar muestras orientadas del ácido poli[(*S*)- β -aminobutírico] aptas para ser empleadas en estudios de dicroísmo infrarrojo (16).

Las características espectroscópicas en el infrarrojo del POE lo convierten en un material particularmente apropiado para el análisis de los polipéptidos ya que no presenta bandas en la mayoría de las zonas de interés de estos polímeros, especialmente para la banda de tensión de la amida, ν (NH), localizada cerca de 3300 cm⁻¹ y las bandas de amida I y amida II situadas entre 1700 y 1500 cm⁻¹. Otra ventaja del POE es su cómoda manipulación debido a su alta solubilidad en agua y en disolventes orgánicos tales como cloroformo, TFE o HFIP. Por último, la gran facilidad con la que se pueden orientar las películas de este polímero mediante tensión mecánica, añade un interés adicional para su utilización como soporte.

Ambrose y Elliott (9) emplearon una técnica similar para el estudio de dicroísmo infrarrojo orientando la poliglicina dispersa en poliestireno. También se han usado muestras estiradas en polietileno para el estudio de dicroísmo UV (17,18). Aunque el polietileno tiene ventanas en las regiones espectrales más importantes de las absorciones en el IR de las amidas, su baja polaridad lo hace incompatible con la mayoría de los polipéptidos.

ESTUDIO CONFORMACIONAL DE POLI(β -PÉPTIDO)S EMPLEANDO DICROISMO INFRARROJO

Un estudio particularmente interesante de la aplicación de esta técnica, se llevó a cabo con algunos poli(β ,L-aspartato)s, cuyas estructuras se muestran en la **Figura 5** y que son poli(β -péptido)s con la habilidad de formar estructuras helicoidales del tipo 13/4 (15).

En este trabajo, ante la dificultad de obtener muestras puras uniaxialmente orientadas, adecuadas para el estudio por DIR, éstas se prepararon incorporando el polímero en películas de POE, utilizando una técnica similar a la descrita por Ingwall y sus colaboradores (13).. A fin de contrastar la validez de las conclusiones obtenidas para estos sistemas, se llevó a cabo un estudio en paralelo, con el poli(β -bencil-L-glutamato), bajo condiciones similares de preparación y registro.

Los espectros infrarrojos polarizados de muestras orientadas uniaxialmente de POE y del PAIBLA incorporado en una matriz del poliéter, se muestran en la **Figura 6**. En la figura, también se comparan las bandas de amida A, I y II del PAIBLA con el PGBLG. Los parámetros espectrales obtenidos para los cuatro polímeros se recogen en la **Tabla 3**.

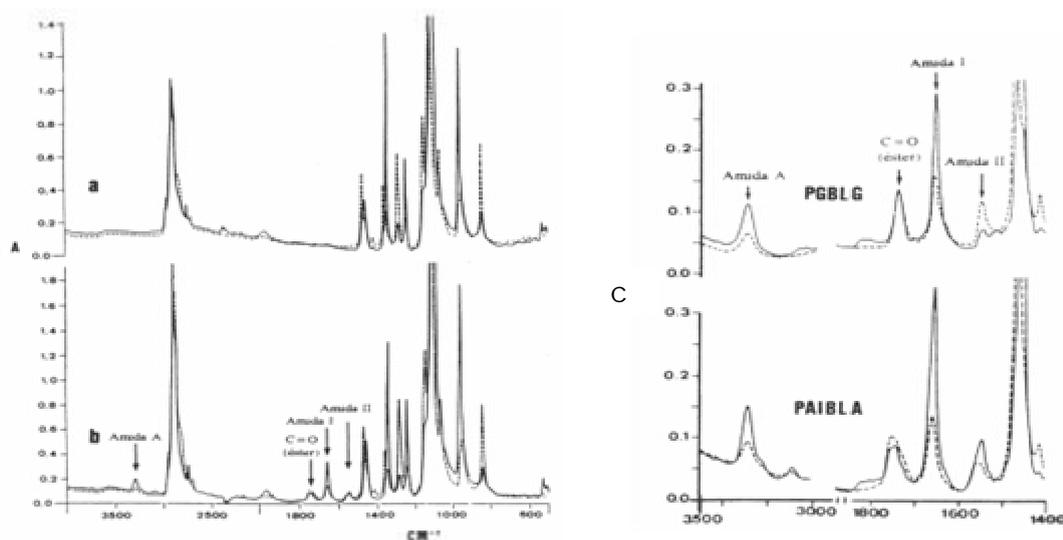


Figura 6. (a) Espectro de dicroísmo infrarrojo del POE. (b) Espectro de dicroísmo infrarrojo del poli(α -isobutil- β -L-aspartato) incorporado en poli(óxido de etileno) uniaxialmente orientado. (c) Espectro del PAIBLA y PGBLG en las zonas de 3500-3000 y 1800-1400 cm^{-1} . Las líneas continuas y punteadas corresponden respectivamente, a la orientación paralela y perpendicular del vector eléctrico de la radiación infrarroja polarizada respecto al eje de orientación.

Es evidente que la presencia del POE no impide observar la mayoría de las bandas características de la poliamida, las cuales están libres de interferencias. Sin embargo, estas bandas aparecen con una intensidad pequeña debido a la baja concentración de polímero utilizada en la preparación de las películas. La banda de amida A, correspondiente a la vibración de tensión del NH ($3300-3280\text{ cm}^{-1}$) y las bandas de amida I y amida II situadas entre $1700-1500\text{ cm}^{-1}$, se pueden observar claramente.

En todos los espectros registrados en este trabajo, las bandas espectrales correspondientes al POE resultaron ser idénticas a las descritas por Ingwall y sus colaboradores (13). La incorporación del poli(β ,L-aspartato) en este polímero no altera ni modifica las regiones cristalinas de la película de POE, por lo que las moléculas de poliamida en el poliéter deben quedar confinadas a las regiones amorfas del mismo. Estas cadenas en la fase amorfa se alinean parcialmente en la dirección del estiramiento (13).

Tal como era de esperar para una estructura tipo hélice a uniaxialmente orientada, en el espectro del PGBLG se observa un fuerte dicroísmo paralelo para las bandas de amida A y amida I así como un significativo dicroísmo perpendicular para la banda de amida II, hechos que están en total concordancia con todo lo descrito en los trabajos anteriores para este polímero.

De la misma forma que el caso del PGBLG, los tres poli(β -L-aspartato)s estudiados también exhiben un marcado dicroísmo paralelo para las bandas de amida A y amida I, y contrariamente a como ocurre con el polipéptido, estos polímeros también muestran un fuerte dicroísmo paralelo para la banda de amida II. Esta inversión en el dicroísmo de la amida II, indica claramente que en una hélice $13/4$, la orientación espacial del grupo amida debe ser diferente a la adoptada en la hélice a de los polipéptidos. Este cambio en la orientación debe implicar una significativa variación en el ángulo del enlace C-N con respecto al eje de la hélice, aunque las inclinaciones de los enlaces C=O y N-H podrían permanecer esencialmente inalterados.

Los valores de f_{min} obtenidos según este método (4) para el PGBLG y los poli(β -L-aspartato)s se indican en la **Tabla 3**. A partir de estos valores y de las respectivas medidas de las relaciones dicroicas, se han obtenido los intervalos experimentales permitidos para el ángulo θ entre el vector del momento de transición de las bandas de amida A, amida I y amida II y el eje de la fibra. Estos valores de θ se calcularon de acuerdo con el procedimiento de Fraser y aparecen indicados en la última columna de la **Tabla 3**.

El intervalo de valores resultante para los poli(β -L-aspartato)s, es significativamente mas amplio que el obtenido para el PGBLG, como consecuencia del menor grado de orientación conseguido con los primeros. En este punto es de hacer notar que el valor del límite superior del intervalo de valores de θ para la amida II en los poli(β -L-aspartato)s es del orden de $45 - 48^\circ$, mientras que el límite inferior para el PGBLG es de 70° . Esto es una evidencia clara que en la hélice 13/4 el grupo amida tiene una inclinación mayor que la hélice- α .

Tabla 3. Relaciones dicroicas factores de orientación y dirección de los momentos de transición (θ) del PBGLB y los poli(β ,L-aspartato)s.

Polímero	Banda	Relación dicroica (D)	$f_{min}^{(a)}$	$f^{(b)}$	$\theta_{min} = \theta = \theta_{max}^{(c)}$ ($^\circ$)
PBGLB	Amida A	2,82	0,65	n.d.	$32 = \theta = 40$
	Amida I	2,39			$36 = \theta = 43$
	Amida II	0,26			$70 = \theta = 90$
	C = O (éster)	0,98			$55 = \theta = 56$
PAIBLA	Amida A	2,64	0,39	0,42	$15 = \theta = 41$
	Amida I	2,88			$5 = \theta = 40$
	Amida II	1,85			$32 = \theta = 47$
	C = O (éster)	0,73			$54 = \theta = 66$
PANBLA	Amida A	1,93	0,25	0,31	$11 = \theta = 46$
	Amida I	1,99			$4 = \theta = 45$
	Amida II	1,59			$28 = \theta = 48$
	C = O (éster)	0,69			$60 = \theta = 87$
PAMELA	Amida A	2,88	0,39	0,43	$5 = \theta = 40$
	Amida I	2,65			$14 = \theta = 41$
	Amida II	1,97			$30 = \theta = 45$
	C = O (éster)	0,76			$58 = \theta = 65$

(a) Calculado de la ecuación(6). (b) Determinado por rayos X. (c) Calculado de la ecuación(8).

Como la estructura cristalina de estos poli(β ,L-aspartato)s, era conocida se pudo medir f por rayos X, y en todos los casos, estos valores fueron bastante cercanos a los f_{min} obtenidos por DIR, lo que pone de manifiesto la validez de la metodología empleada (15) (Tabla 3).

Es un hecho conocido que la dirección de los momentos de transición de las absorciones correspondientes a la vibración de tensión del NH, amida I y amida II se sitúan en el plano de la amida con una orientación de 8, 20 y 73° respecto al eje del enlace del C = O (6). En base a estos datos y teniendo en cuenta la geometría del grupo peptídico, se pudo estimar el ángulo θ entre cada uno de los momentos de transición y el eje de la hélice. En la Figura 7a se muestra un esquema de la geometría del grupo amida de la hélice 13/4 del PAIBLA, donde se indica la dirección de cada uno de los momentos de transición asociados al NH, amida I y amida II. A fin de tener una comparación gráfica de los momentos de transición obtenidos para estos polímeros, con los descritos en la literatura para los polipéptidos, en la Figura 7b se muestran las direcciones de los momentos de transición para el PGBLG.

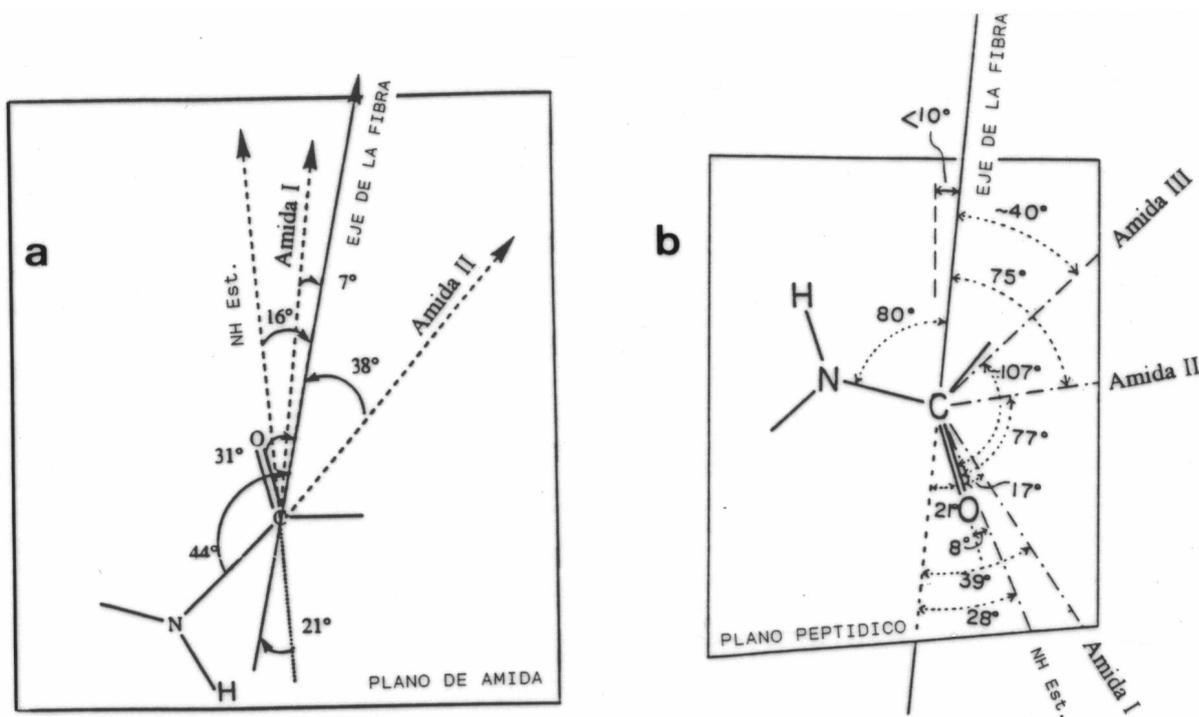


Figura 7. (a) Esquema del grupo amida correspondiente a la hélice 13/4 del PAIBLA donde se muestran los enlaces de valencia y las direcciones de los momentos de transición. La inclinación del plano de la amida con respecto al eje de la fibra es de 21°. (b) Esquema del grupo amida del PGBLG (14).

Si los límites superior e inferior para el valor del factor de orientación se hacen corresponder con los valores determinados por dicroísmo y por rayos X, respectivamente, se obtiene un intervalo de valores aceptables para θ lo suficientemente estrecho como para ser usados con propósitos comparativos. Estos valores se recogen en la **Tabla 4** para cada una de las transiciones.

La dirección de los momentos de transición correspondientes a las bandas de amida A, amida I y amida II obtenidos mediante las medidas de dicroísmo y los valores resultantes de los cálculos geométricos en base a modelos también se comparan en la **Tabla 4** observándose una excelente concordancia entre ellos.

Los resultados descritos aquí, indican que la orientación de poliamidas por estiramiento de muestras incorporadas en POE, constituye un método práctico y reproducible para el estudio de poli(β -aspartato)s helicoidales por espectroscopía infrarroja de polarización. Por otra parte, la combinación de medidas de dicroísmo con la difracción de rayos X resulta ser de gran utilidad para el análisis conformacional de polímeros, con una estructura cristalina conocida. Los datos obtenidos por estos procedimientos permitieron confirmar de manera experimental la conformación correcta para la hélice 13/4, que había sido predicha anteriormente por estudios de modelado molecular (19,20).

Tabla 4. Valores observados y calculados d la dirección del momento de transición θ (°) relativos al eje de la fibra para el PGBLG y los poli(β ,L-aspartato)s.

	Amida A			Amida I			Amida II		
	observad o	calculado ^(a) a)	hélice - α	observad o	calculado ^(a) a)	hélice - α	observad o	calculado ^(a) a)	hélice - α
PGBLG	32	-	25	36	-	36	70	-	79
PAIBLA	15-19	18		5-13	10		32-34	34	
PANBL	11-23	18		4-21	10		28-34	34	
A									
PAMEL	5-16	17		14-20	10		32-35	35	
A									

^(a) Valores obtenidos mediante cálculos con modelos moleculares.

Esta técnica se aplicó también en la determinación de la conformación helicoidal de poli(β , L-aspartato)s tipo peine y de copoli(β , L-aspartato)s en bloque y al azar, compuestos por unidades con grupos sustituyentes *n*-butílicos o bencílicos y unidades con sustituyentes *n*-octadecílicos, materiales para los cuales los datos de rayos X no aportan información suficiente para determinar la conformación de la cadena (21-23).

Finalmente este estudio constituye un buen ejemplo de como puede ayudar el difracción infrarroja en la caracterización de aquellos aspectos relacionados con la conformación molecular en los que otras técnicas habituales, como los rayos X o el difracción circular, no resultan ser concluyentes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Reynolds N. *Advanced Materials*, 1991: 3; 614
2. Platé N.A, Shibaev V.P. *Polym. Sci., Macromol. Rev.*, 1974:8,117.
3. Beer M. *Proc. Roy. Soc. (London)*, 1956:A236; 136.
4. Fraser RBD. *J.Chem Phys.*, 1958:29; 1428.
5. Alexander LE. *X-rays diffraction Methods in Polymer Science*, Willey & Sons. New York 1969.
6. Bradbury EM, Elliott A. *Spectrochim Acta*, 1963:19; 995.
7. Ambrose EJ, Elliott A, Temple RB. *Nature* 1949:163; 859.
8. Elliott A, Ambrose EJ. *Nature*, 1950:165; 921.
9. Ambrose EJ, Elliott A. *Proc Roy. Soc. (London)*, 1951: A205;47.
10. Darmon SE, Sutherland GBBM. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1947: 69; 2074.
11. Astbury WT, Dalgleish CE, Darmon SE, Sutherland GBBM. *Nature*, 1948: 162; 596.
12. Miyazawa T, Blout ER. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1961: 83; 712.
13. Ingwall RT, Gillon C, Goodman M. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1975: 97; 4356.
14. Tsuboi M. *J. Polym. Sci.*, 1962:59; 139.
15. López Carrasquero F, Alemán C, Muñoz Guerra S. *Biopolymers*, 1995: 36; 263.
16. Gomes AS, Countinho FB, Macchi EM. *J. Polym. Sci., Polym Chem. Ed.*, 1982: 20; 2345.
17. Thulstrup EW, Mich J, Eggers HJ. *J. Phys. Chem.*, 1970: 74; 3868.
18. Yogev A, Margulies Amar D, Mazur Y. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1969: 91; 4558.
19. Bella J, Alemán C, Fernández Santín JM, Alegre C, Subirana J. *Macromolecules*, 1992: 25; 225.
20. Alemán C, Bella J, Pérez JJ. *Polymer*, 1994: 35; 2596.
21. López Carrasquero F, Montserrat S, Martínez de Ilarduya A Muñoz Guerra S., *Macromolecules*, 1995: 28; 5535.
22. Ramírez R, Morillo M, Arnal ML, López-Carrasquero F, Martínez de Ilarduya A, Muñoz-Guerra S., *Polymer*, 2000: 41; 8475.

23. López-Carrasquero F, Incani V, Báez M, Torres C, Martínez de Ilarduya A, Muñoz-Guerra S., Polymer, 2003: 44;1.
-