



**INSTITUTO DE  
TECNOLOGIA**

**PROF. JORGE A. SABATO**

**UNIVERSIDAD NACIONAL  
DE GENERAL SAN MARTIN**

**COMISION NACIONAL  
DE ENERGIA ATOMICA**

**MAESTRIA EN  
CIENCIA Y  
TECNOLOGIA  
DE MATERIALES**

## **PROPIEDADES VISCOELÁSTICAS DE POLÍMEROS BIODEGRADABLES**

**Vanesa Andrea Casariego**

UNIVERSIDAD NACIONAL DE GRAL. SAN MARTÍN  
COMISIÓN NACIONAL DE ENERGÍA ATÓMICA  
INSTITUTO DE TECNOLOGÍA  
"Prof. Jorge A. Sabato"

# **Propiedades Viscoelásticas de Polímeros Biodegradables**

**Por Ing. Vanesa A. Casariego**

Directora

Dra. Élide B. Hermida

Tesis para optar al título de Magister en Ciencia y Tecnología de Materiales

República Argentina

2006

# Índice

<b>CAPÍTULO I</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>I.1- ASPECTOS GENERALES</b>	<b>1</b>
I.1.1- PLÁSTICOS A PARTIR DE POLÍMEROS NATURALES	2
I.1.2-EL POLI-HIDROXIBUTIRATO (PHB)	3
Estructura cristalina del PHB	6
Celda unitaria y grupo espacial	7
I.1.3-PROPIEDADES FÍSICAS DEL PHB	9
I.1.4-POLIHIDROXIBUTIRATO-CO-HIDROXIVALERATO (PHBV)	10
I.1.5-BACTERIAS QUE PRODUCEN PHB	10
<b>I.2.OBJETIVOS</b>	<b>12</b>
<b>I.3- ANTECEDENTES</b>	<b>12</b>
I.3.1- MICROESTRUCTURA	13
I.3.2- DEPENDENCIA DEL MÓDULO TENSIL (E) CON LA TEMPERATURA PARA POLÍMEROS SEMICRISTALINOS	16
I.3.3- DEFORMACIÓN PLÁSTICA EN POLÍMEROS SEMICRISTALINOS	18
Mecanismos de deformación en polímeros amorfos	18
Mecanismos de deformación en cristales poliméricos	20
I.3.4- ENVEJECIMIENTO	21
Envejecimiento físico	21
Cristalización progresiva	21
Detección por difracción de rayos X	21
Respuesta mecánica del PHB y PHBV envejecidos	22
I.3.5- RECOCIDO	24
Cambios morfológicos producidos durante el recocido	24
Reorganización estructural	24
El rol de la morfología	26
Cambios en las propiedades mecánicas	27
Mecanismos de deformación	27
<b>REFERENCIAS</b>	<b>29</b>

## **CAPÍTULO II**

---

33

<b>DESARROLLO EXPERIMENTAL</b>	<b>33</b>
<b>II.1- MATERIAL EMPLEADO</b>	<b>33</b>
<b>II.2- REVELADO DE LA MICROESTRUCTURA DE PHBV</b>	<b>33</b>
Revelado de la microestructura	33
Procedimiento	33
Ataque ácido	34
Ataque básico	34
<b>II.3- PREPARACIÓN DE MUESTRAS PARA TRACCIÓN</b>	<b>35</b>
Fundido para obtener una estructura gruesa	35
Fundido para lograr una estructura fina	36
Probetas de tracción	37
<b>II.4- INSTRUMENTAL UTILIZADO</b>	<b>37</b>
Máquina de tracción	37
Sistema de sujeción de probetas	38
Sistema de regulación de temperatura	39
Mini-máquina de tracción	42
Recocido de las probetas	43
<b>II.5-ENSAYOS DE TRACCIÓN</b>	<b>44</b>
Envejecimiento	44
A distintas temperaturas	44
Observación de mecanismos de deformación del PHBV.	44
Determinación de mecanismos de fractura	45
<b>REFERENCIAS</b>	<b>46</b>

## **CAPÍTULO III**

---

47

<b>RESULTADOS</b>	<b>47</b>
<b>III.1- ATAQUE Y REVELADO DE LA MICROESTRUCTURA</b>	<b>47</b>
Ataque ácido	47
Ataque básico	50

<b>III.2- COMPORTAMIENTO MECÁNICO</b>	<b>53</b>
III.2.1-Envejecimiento y recuperación	53
Tracción de probetas envejecidas	53
III.2.2- Dependencia del módulo tensil con la temperatura	56
<b>III.3- MECANISMOS DE DEFORMACIÓN</b>	<b>60</b>
III.3.1-Crazing o estriado	60
III.3.2-Bandas de deformación	61
<b>III.4- MECANISMOS DE FRACTURA DEL PHBV</b>	<b>62</b>
<b>REFERENCIAS</b>	<b>66</b>

## **CAPÍTULO IV** **67**

<b>DISCUSIÓN</b>	<b>67</b>
<b>IV.1- MICROESTRUCTURA</b>	<b>67</b>
IV.1.1- Sobre la preparación de muestras	68
IV.1.2- Ataque y revelado de la microestructura	69
IV.1.3- Microestructura de muestras recocidas	71
IV.1.4-Cambios microestructurales por envejecimiento y recocido	72
<b>IV.2.- MECANISMOS DE DEFORMACIÓN</b>	<b>77</b>
<b>IV.3- ENVEJECIMIENTO</b>	<b>79</b>
IV.3.1- Ensayos de tracción a diferentes temperaturas	80
IV.3.2- Mecanismos de fractura	81
<b>REFERENCIAS</b>	<b>83</b>

## **CAPÍTULO V** **84**

<b>CONCLUSIONES</b>	<b>84</b>
<b>V.1- ATAQUE Y REVELADO DE LA MICROESTRUCTURA</b>	<b>84</b>
<b>V.2- COMPORTAMIENTO MECÁNICO</b>	<b>84</b>
V.2.1- Envejecimiento	84
V.2.2- Ensayos a diferentes temperaturas	84

V.2.3- Correlación entre la microestructura y el comportamiento mecánico	85
<b>V.3.- ESTRUCTURA CRISTALINA DEL PHBV</b>	<b>85</b>
V.3.1- Difractometría de Rayos X	85
V.3.2- Estructura cristalina de muestras envejecidas y recocidas	85

---

## **ANEXO I**

---

### **DATOS ACERCA DE LA UTILIZACIÓN DE ÁCIDOS FUERTES**

#### **CONCENTRADOS**

---

Ácido ortofosfórico 25 % p/p 86

Ácido sulfúrico 15 % 86

#### **BASES FUERTES**

Hidróxido de Potasio 88

#### **ACERCA DE LA UTILIZACIÓN DE ALCOHOLES**

Metanol 89

#### **REFERENCIAS**

---

## **ANEXO II**

---

### **ENSAYOS A TEMPERATURA**

Parámetros de controlador 92

# Capítulo I

---

## Introducción

### I.1- Aspectos generales

Desde el comienzo de los tiempos el hombre ha utilizado como abrigo y herramientas materiales de origen natural como la lana, la madera, el cuero, la seda, etc.

Con el avance de la química y la ciencia de materiales durante el siglo pasado fueron surgiendo nuevos materiales, entre ellos los llamados plásticos<sup>1</sup>. Éstos poco a poco han ido reemplazando en parte a la madera en la fabricación de muebles y la construcción; se usan con mucha frecuencia como sustituto del cuero en la industria del calzado, de la lana en la textil y del metal en muchas auto partes.

Los plásticos son sustancias orgánicas que se obtienen mediante reacciones químicas entre distintas materias primas que pueden ser de origen sintético o natural. La mayor parte de las materias primas utilizadas provienen de reservas fósiles como el petróleo.

En este momento se producen más de 700 tipos de plásticos: se pueden encontrar entre ellos muy diferentes propiedades específicas, con lo cual presentan una amplia gama de aplicaciones y resultan, en comparación, más baratos que otros materiales [1].

Una de las características que presentan estos polímeros es que perduran en la naturaleza por largos períodos de tiempo y por tanto se acumulan generando grandes cantidades de residuos sólidos debido al uso masivo de los mismos. En Europa, por ejemplo, alrededor del 25% del volumen de los residuos sólidos pertenecen a este grupo de materiales [1] [2].

Muchos plásticos pueden ser reciclados, sin embargo, este proceso produce grandes cantidades de sustancias tóxicas que afectan notablemente al medio ambiente.

En la actualidad resultaría difícil prescindir de ellos; no sólo por su utilidad sino también por su importancia económica, la cual se refleja en los índices de crecimiento de esta industria

---

<sup>1</sup> El nombre plásticos viene de "plastikós" voz griega que significa "capaz de ser moldeado" y que destaca la principal característica de estos materiales que es la deformabilidad ante la aplicación de fuerzas relativamente bajas a temperaturas no muy alejadas de la temperatura ambiente.

que desde principio del siglo pasado supera a casi todas las demás actividades industriales y grupos de materiales [3].

Por lo tanto, el crecimiento en la producción y el consumo de plásticos sumados a su durabilidad se ha convertido en un serio problema para el medio ambiente. A esto se agrega el hecho de que el 99% del total de los plásticos se produce, como se dijo anteriormente, a partir de combustibles fósiles provocando una excesiva presión sobre las ya limitadas fuentes de energía no renovables.

Como alternativa viable a estas problemáticas surgen los plásticos biodegradables, que en contraste con los convencionales, pueden ser producidos por fuentes renovables de energía y como su nombre lo indica se degradan completamente en cortos períodos de tiempo.

Estos productos no sólo son biodegradables sino también compostables, lo cual significa que se descomponen por la acción de ciertos microorganismos y acaban volviendo a la tierra en forma de productos simples que pueden ser reutilizados por los seres vivos, es decir, reingresan al ciclo de la materia [4].

Una de las ventajas de ser compostables es el ahorro considerable que puede significar en la recolección de residuos orgánicos húmedos en los llamados "biobins" o silos biológicos para ser convertidos en compostaje; lo cual disminuye el fuerte impacto de costo sobre la gestión de residuos que producen los plásticos convencionales.

Por otra parte para la producción de estos "biopolímeros" se pueden utilizar residuos agroindustriales, por ejemplo, los de la industria azucarera y alimenticia que constituyen la opción de suministros más prometedora. No sólo son baratos sino que su conversión resuelve otros problemas medioambientales convirtiendo residuos en productos útiles.

Esto significa que países sin posibilidades de aumentar sus producciones agropecuarias podrían, sin embargo, beneficiarse económica y ecológicamente reduciendo el impacto ambiental asociado a la eliminación de sus residuos industriales.

Por el agotamiento de las reservas de hidrocarburos y por el negativo impacto ambiental se hace necesario sustituir a los polímeros no degradables especialmente en la industria del envase y embalaje sobre todo en los envases no recuperables.

### **1.1.1- Plásticos a partir de polímeros naturales**

La celulosa es el polímero natural más abundante en la naturaleza. Es un polímero de difícil procesamiento pero su modificación química resulta en polímeros que muestran mayores tasas de biodegradabilidad, por ejemplo el acetato de celulosa y la celulosa oxidada; este

último ha sido muy utilizado en aplicaciones médicas, principalmente por la fabricación de vendas y fajas para la contención de hemorragias.

El almidón es otro polímero natural; se trata, al igual que la celulosa, de un hidrato de carbono que las plantas sintetizan durante la fotosíntesis y actúa como reserva de energía. Cereales como el maíz y los tubérculos como la papa lo contienen en gran cantidad.

El almidón puede ser convertido en plástico mediante un proceso de gelificación [5], pero al ser higroscópico, se ablanda y deforma si está en ambientes húmedos lo cual limita su uso. Además en presencia de ciertos microorganismos el almidón es transformado en ácido láctico [6]. El ácido láctico es un ácido orgánico débil que existe en la naturaleza. Éste es fuertemente higroscópico y la presencia de dos grupos funcionales en su estructura (-OH; -COOH ) justifica su marcada tendencia a formar espontáneamente dímeros y polímeros denominados polilactatos (PLA).

Los PLA poseen propiedades físico-mecánicas excelentes comparables con las que brindan los plásticos convencionales. Éstos pueden ser procesados con la maquinaria actual con mínimos ajustes. Se encuentra disponible en el mercado desde 1990 y algunas preparaciones mostraron ser muy buenas en medicina, en particular, en implantes, suturas y cápsulas para medicamentos debido a su capacidad de disolverse al cabo de un corto tiempo [7].

Para la producción de ácido láctico no sólo se emplean bacterias lácticas sino que también se ha logrado clonar y expresar genes de estas bacterias en *E. Coli* para su producción. Emplear estas bacterias tiene una serie de ventajas: en primer lugar utilizan mayor rango de azúcares (pentosas y hexosas) y tienen requerimientos nutricionales simples, su fisiología es conocida y han sido estudiadas numerosas herramientas para su modificación genética [8].

El principal problema afrontado en la producción de ácido láctico es el alto costo de producción ya que la extracción y purificación del medio fermentado es una operación bastante compleja.

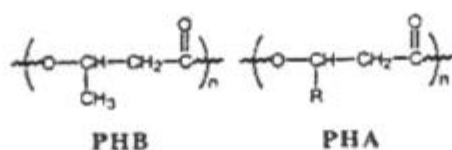
### **1.1.2-El poli-hidroxitirato (PHB)**

El descubrimiento del PHB data de los años '20 cuando Maurice Lemoigne (1923), químico y bacteriólogo del Instituto Pasteur, observó unos componentes granulares de las bacterias que no eran solubles en éter como es normal para los lípidos. Utilizando el microscopio

óptico, el número de saponificación<sup>2</sup> y la autólisis<sup>3</sup>, Lemoigne (1923-1927) propuso que esta sustancia tenía la estructura de un poliéster con fórmula  $(C_4H_6O_2)_n$  y además estableció la quiralidad<sup>4</sup> de este material natural. A partir de 1940 otros colegas comenzaron a publicar acerca de este compuesto independientemente.

El PHB no es el único poliéster de origen bacteriano, sino que pertenece a una familia de macromoléculas denominadas poli-hidroxicanoatos (PHA).

La estructura de un PHA es:



donde el radical R es CH<sub>3</sub> para el PHB, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> para el hidroxivalerato (HV) y puede tener hasta 90 estructuras diferentes según los microorganismos que lo sintetizan y las características del proceso de fermentación. Por lo tanto, dentro de esta familia podemos encontrar desde termoplásticos hasta elastómeros ya que el comportamiento mecánico del polímero depende predominantemente de su estructura molecular.

El PHB como homopolímero tiene una cristalinidad por encima del 75-80%, en consecuencia es un material frágil, lo cual limita mucho sus aplicaciones.

La copolimerización con otro hidroxicanoato como el hidroxivalerato, lograda a partir de la alimentación de las bacterias con ácido propiónico, provee la solución a este problema [9].

A continuación una breve reseña acerca del desarrollo y algunas aplicaciones de los polihidroxicanoatos (PHA) [10]:

### 1923-1930

- Se observan los gránulos que son extraídos mediante un solvente.

---

<sup>2</sup> Número de miligramos de hidróxido de potasio necesarios para saponificar 1 gramo de sustancia grasa. Es un indicador del grado de conversión alcanzada en la reacción. Se puede utilizar también para el seguimiento de la reacción.

<sup>3</sup> Rotura total o parcial de una célula por enzimas que ella misma ha producido.

<sup>4</sup> Propiedad que tiene ciertas moléculas de poder existir bajo dos formas que son una imagen especular de la otra (enantiómeros). Los enantiómeros tienen las mismas propiedades físicas y químicas a excepción de su respuesta frente a la luz polarizada por ello se los denomina isómeros ópticos. Un enantiómero que rota el plano de la luz polarizada al pasar a través suyo, en el sentido de las agujas del reloj se dice que es dextrógiro; por el contrario si lo hace al revés se llama levógiro.

- Se determina el punto de fusión (175°C) y su actividad óptica
- Se logra producir láminas delgadas del polímero

#### 1940

- Se estudia su estructura y con esto su poder de cristalización.
- Se determina su número de saponificación.

#### 1960

- Se logran aislar los gránulos y extraerlos en forma controlada.
- Se observa su biocompatibilidad con lo cual es posible su aplicación en medicina por ejemplo en hilos de sutura.

#### 1970

- Se comienza a extraer PHA de la biomasa por procesos enzimáticos.
- Se comienzan a producir copolímeros con lo cual se mejoran las propiedades físicas y la biodegradación.
- Se realizan prototipos de dispositivos de liberación controlada de drogas

#### 1980

- Se hace la síntesis in vitro de PHAs como materia prima de plásticos (clonación).

#### 1990

- Con el avance de la ingeniería genética se logran obtener plantas transgénicas que producen el polímero.
- Se modifican las propiedades de polímero y se obtienen gomas degradables.

Los polihidroxicanoatos son materiales totalmente biodegradables. En la Fig. I.1.1 se puede ver el ciclo de los poli-hidroxicanoatos, donde la luz solar es la fuente de energía que permite el crecimiento de las plantas que producen hidratos de carbono mediante la fotosíntesis. Estas moléculas son la base de nutrición de las bacterias que en ciertas condiciones acumulan PHA durante el proceso de fermentación.

El bioplástico es obtenido de la biomasa mediante una solución de solventes orgánicos, y puede ser termoformado para llegar al producto final.

Una vez que se termina la vida útil del producto, se lo deposita en centros de compostaje o en agua donde se pone en contacto con microorganismos (hongos y bacterias) que poseen las enzimas necesarias para su descomposición en sustancias simples como H<sub>2</sub>O y CO<sub>2</sub>.

El medio donde se produce la degradación debe cumplir ciertas condiciones de humedad, temperatura y pH para el crecimiento de los microorganismos.

El avance en los estudios genéticos permitió expresar los genes que biosintetizan PHAs en microorganismos que no poseían esta capacidad y en plantas transgénicas, en este caso estas plantas utilizarían los hidratos de carbono que ellas mismas producen para generar el PHA (paso 9 de la fig. I.1.1) [11].

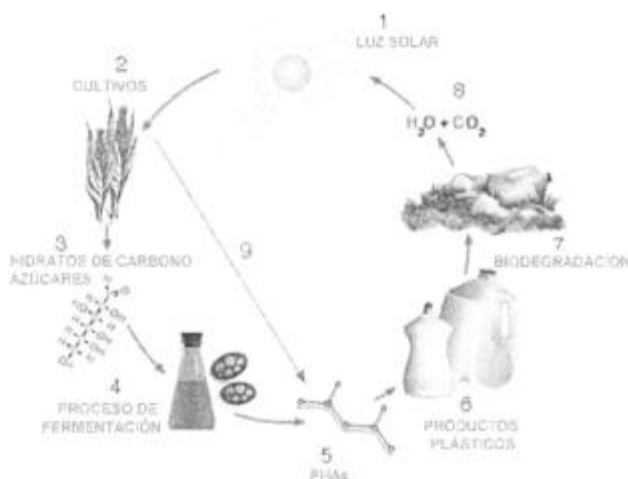


Figura I.1.1 ciclo de los polihidroxicanoatos

### Estructura cristalina del PHB

El PHB es perfectamente isotáctico con configuración estereoquímica R solamente [12].

A pesar de que el polímero aislado presenta un alto grado de cristalinidad, dentro de la bacteria es amorfo.

La estructura de los cristales simples (monocristales) fue investigada usando análisis microscópico [13]. Los cristales de PHB tienen forma de listón con dimensiones de alrededor de 0.3-2  $\mu\text{m}$  para el eje menor y de 5-10  $\mu\text{m}$  para el eje mayor. El espesor de los cristales está en el rango de 4-10 nm, dependiendo del peso molecular, solvente y temperatura de cristalización [13].

Los cristales simples se definen como sistemas monolamelares. Sin embargo, en películas gruesas es usual encontrar sistemas multilamelares que tienen cristales con diferentes orientaciones y además estos cristales están unidos entre sí por fase amorfa (ver fig. I.1.2). En estos casos las cadenas de PHB forman esferulitas cuando cristalizan desde el estado fundido. En las esferulitas los cristales se disponen de manera radial y los ejes

cristalográficos rotan alrededor del eje radial de la esfera. Los ejes cristalográficos rotan debido a que las lamelas se colocan sobre el eje radial una tras otra rotadas cierto ángulo con respecto a la anterior [14].

Debido a esta rotación las esferulitas muestran una estructura de bandas; la periodicidad y regularidad de esta estructura depende de la temperatura de cristalización y del peso molecular [13].

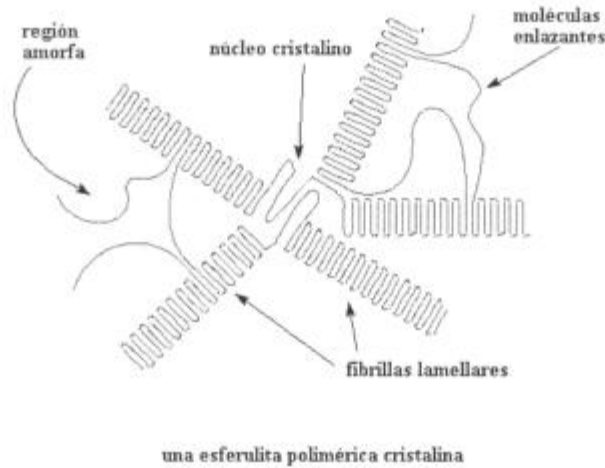


Fig.I.1.2 esquema de una esferulita polimérica [15]

### Celda unitaria y grupo espacial

La celda unitaria del PHB es una celda ortorrómbica de parámetros  $a= 5.76 \text{ \AA}$ ,  $b= 13.20 \text{ \AA}$  y  $c=5.96 \text{ \AA}$  [12]. Se presume que hay cuatro monómeros por celda unitaria, sabiendo que cada monómero  $C_4H_6O_2$  tiene un peso atómico de 86 u.m.a puede calcularse la densidad. Esta densidad cristalina calculada según la celda unitaria es igual a  $1.26 \text{ g/cm}^3$  y la calculada por el método de flotación está entre  $1.23\text{-}1.25 \text{ g/cm}^3$  [2].

El grupo espacial al que pertenece esta celda es el  $P2_12_12_1$ , siendo el grupo más conveniente para las moléculas ópticamente activas.

En la Figura I.1.3 se observa la estructura de la celda unitaria del cristal de PHB



### I.1.3-Propiedades Físicas del PHB

El peso molecular del poliéster producido por las bacterias en estado "salvaje" está en el rango de  $1 \times 10^4 - 3 \times 10^6$  g/mol, con una polidispersión<sup>5</sup> de alrededor de 2.

La temperatura de transición vítrea ( $T_g$ <sup>6</sup>) es aproximadamente de 4°C y la temperatura de fusión ( $T_f$ ) es cercana a los 180°C; ambos datos se obtienen por análisis calorimétrico.

La densidad del PHB amorfo y cristalino es 1.26 y 1.18 g/cm<sup>3</sup>, respectivamente.

Con respecto a las propiedades mecánicas se sabe que el módulo de Young es del orden de 3.5 GPa, el módulo tensil es de 43 MPa (los valores de estas propiedades son similares a los correspondientes para el polipropileno isotáctico), la deformación a la rotura es del orden del 5% (este dato para el polipropileno isotáctico es de 400%).

La siguiente tabla comparativa nos muestra algunas propiedades de los PHA's y polímeros utilizados actualmente [12].

Tabla I.1.2

Polímero	Tf (°C)	Tg (°C)	Módulo de Young (GPa)	Módulo Tensil (MPa)	Elongación a rotura (%)
PHB	180	4	3.5	40	5
PHBV (20%)	145	-1	0.8	20	50
Polipropileno	176	-10	1.7	38	400
Polietileno (BD)	130	-30	0.2	10	620

---

<sup>5</sup> Polidispersión: es el cociente entre el peso molecular promedio en peso y el peso molecular promedio en número. Si es igual a la unidad entonces todas las moléculas son iguales.

<sup>6</sup> Temperatura de transición vítrea: es la temperatura a partir de la cual no es posible el movimiento de segmentos de cadena; por debajo de esta temperatura sólo existen la rotación de enlace y los movimientos de vibración.

### **I.1.4-Polihidroxitirato-co-hidroivalerato (PHBV)**

Debido a que el PHB como homopolímero es altamente cristalino y esto disminuye sus propiedades mecánicas, se lo copolimeriza con el hidroivalerato obteniendo así el poli(hidroxitirato-co-hidroivalerato) (PHBV).

Los copolímeros al azar pueden cristalizar de 2 diferentes maneras:

1. Exclusión completa del co-monómero no cristizable [17].
2. Inclusión uniforme de las 2 unidades [18].

El caso del PHBV es el primero, donde no es posible que ambos monómeros co-cristalicen [19].

Estudios acerca de la cristalización del co-polímero muestran resultados similares a la cristalización del PHB, sin embargo las velocidades de nucleación y crecimiento son significativamente menores en los co-polímeros debido a la considerable exclusión del hidroivalerato de los cristales, especialmente cuando la temperatura y los contenidos del mismo son altos. Para concentraciones de hidroivalerato superiores al 23% en peso se presentan dos fases [20].

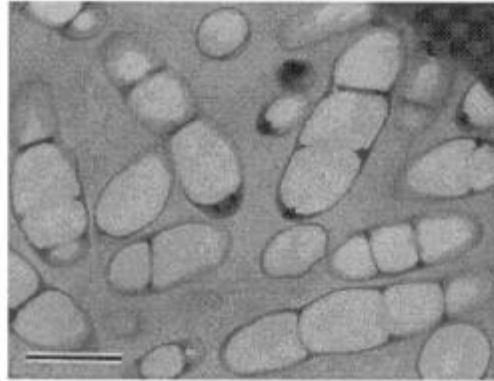
Debido a los altos costos de producción de estos polímeros, en la actualidad sólo se utilizan para aplicaciones médicas especiales [9]. No obstante si estos polímeros pretenden utilizarse como materia prima para la producción de plásticos, los costos deben ser disminuidos sin afectar las propiedades originales del polímero. Copolimerizarlo con otros biopolímeros como ésteres de celulosa y almidón incrementa la cristalinidad del PHBV sin afectar la nucleación.

Se ha estudiado recientemente la modificación del PHBV con lignina y sus derivados. La lignina es una pequeña molécula que actúa como refuerzo en muchos otros polímeros como por ejemplo el poli-metilmacrilato (PMMA), además es biodegradable con lo cual no se pierde una de las propiedades más importantes del polímero que es la biodegradabilidad; actúa también como agente de nucleación [21].

### **I.1.5-Bacterias que producen PHB**

En respuesta a situaciones de estrés nutricional, principalmente por la falta de algún nutriente como el nitrógeno, fósforo, magnesio u oxígeno y en presencia de una fuente de carbono, en algunas bacterias se presenta la acumulación de polihidroxicanoatos, entre ellos el PHB.

Son varias las funciones que se le atribuyen, la principal es de constituir un material de reserva de carbono y energía para ser utilizado en períodos de falta de nutrientes en el medio, ya que este polímero almacena grandes cantidades de carbono reducido en forma de gránulos intracelulares sin afectar la presión osmótica de la célula [22] (ver Fig. I.1.4).



**Fig. I.1.4: Micrografía de transmisión electrónica de bacterias *R. Eutropha* recombinante conteniendo los gránulos de PHB (90% de peso en seco) . La barra representa 0.5  $\mu\text{m}$ . [22].**

Las bacterias pueden producir diferentes tipos de poli-hidroxicanoatos dependiendo del tipo y cantidad de sustrato (alimento) que se les proporcione. Esto es una gran ventaja ya que permite manipular la producción de los poli-hidroxicanoatos dependiendo del uso que se les vaya a dar; por ejemplo, se pueden producir plásticos rígidos o maleables, resistentes a altas temperaturas, resistentes a ácidos o bases, plásticos cristalinos, impermeables al oxígeno y hasta fibras plásticas para suturar heridas o tejidos internos.

Para la fabricación de PHB se utiliza como sustrato la melaza de caña de azúcar, un residuo agroindustrial que resulta barato en relación a otras fuentes carbonadas.

Las bacterias se alimentan y crecen en fermentadores aeróbicos. Cuando se disminuye la cantidad de nitrógeno en los fermentadores (situación de estrés nutricional) los microorganismos comienzan a acumular el polímero como reserva.

Este polímero obtenido a partir de un organismo vivo es altamente regular e isotáctico<sup>7</sup> lo cual hace que pueda alcanzar un alto grado de cristalinidad [12].

---

<sup>7</sup>Los radicales o cadenas laterales, están dispuestos siempre en el mismo lado de la cadena principal de carbonos.

A los pocos días de fermentación producen el equivalente al 80% de su peso en seco de polímero luego se centrifugan para obtener el plástico.

Si bien, los costos de producción de bioplásticos en bacterias son altos, comparados a los plásticos actualmente utilizados, debido al mantenimiento de las instalaciones y los equipos necesarios para conservar los cultivos bacterianos en las condiciones óptimas; los bajos precios de los plásticos tradicionales no reflejan su verdadero costo si se considera el impacto que éstos tienen sobre el medio ambiente. Cabe mencionar también que las reservas de combustible fósil, de donde proviene la materia prima para la fabricación de los plásticos convencionales, son agotables.

Ya se está trabajando en combustibles alternativos, por lo cual, también debe tenerse en cuenta lo arraigados que están los plásticos en la vida diaria y lo difícil que sería reemplazarlos por otros materiales, por eso es importante el desarrollo de estos nuevos plásticos, que no sólo provienen de fuentes renovables de energía sino que no afectan el medio ambiente.

## **I.2.Objetivos**

Los objetivos de este trabajo fueron:

- Encontrar y poner a punto una técnica para revelar la microestructura del PHBV que permita que ésta pueda ser observada con microscopio óptico.
- Utilizar la técnica de ataque hallada para observar superficie de fractura y cambios en la morfología de las probetas ensayadas a tracción.
- Evaluar los cambios en el comportamiento mecánico del polímero debidos al fenómeno de envejecimiento.
- Evaluar los cambios en el comportamiento mecánico del material con la temperatura.
- Establecer una correlación entre la microestructura y las propiedades mecánicas

## **I.3- Antecedentes**

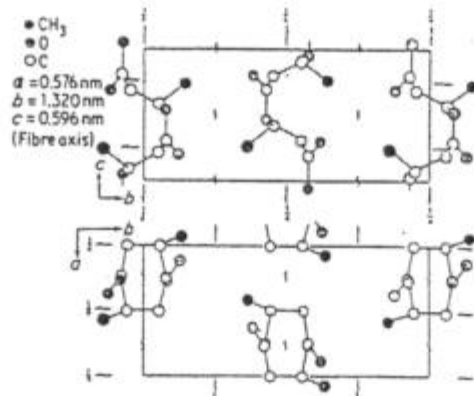
### **I.3.1- Microestructura**

En los compuestos poliméricos existen dos características fundamentales: su estructura química y su función de distribución de pesos moleculares. Estas características determinan

las fuerzas cohesivas, la densidad de empaquetamiento (y la potencial cristalinidad), la movilidad molecular (asociada a las transformaciones de fase), la morfología y los fenómenos de relajación. La estructura química comprende la naturaleza de los meros y de los grupos terminales, la composición de las posibles ramificaciones o entrecruzamientos y la naturaleza de defectos presentes en la naturaleza secuencial del polímero [23].

Los PHAs son poliésteres perfectamente isotácticos lo cual hace que puedan alcanzar altos grados de cristalinidad; cabe puntualizar que no es posible hallar un plástico 100 % cristalino.

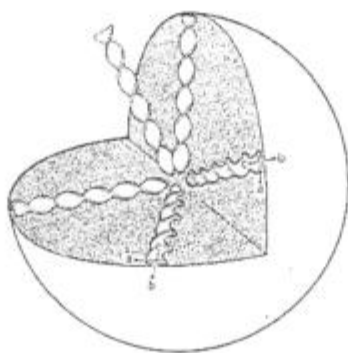
Los polímeros semicristalinos están caracterizados no sólo por la temperatura de transición vítrea sino también por la temperatura de fusión de los cristales. Cuando el polímero se enfría desde el estado líquido se produce un marcado descenso del volumen específico debido al empaquetamiento de las cadenas poliméricas en las regiones cristalinas rodeadas por un líquido subenfriado que se mantendrá en estado amorfo reduciendo un poco más el volumen específico al pasar por la región de transición vítrea.



**Fig. I. 3.1: Diagrama de las moléculas de hidroxibutirato en la celda unitaria ortorrómbica [13].**

La estructura del cristal de PHB fue determinada por rayos X. Los átomos forman celdas ortorrómbicas de dimensiones  $a = 0.576 \text{ nm}$ ,  $b = 1.320 \text{ nm}$  y  $c = 0.596 \text{ nm}$  (ver Fig. I.3.1) y pertenece al grupo espacial  $P2_12_12_1$  [3].

Los cristales simples se obtienen a partir de la disolución del polímero en varias clases de solventes, uno de los más usados es el cloroformo.



**Fig. I.3.2: Esquema de esferulita donde se observa la rotación de los ejes cristalográficos [24].**

Los cristales simples se denominan sistemas monolamelares. Pero en muestras como películas o placas es usual encontrar sistemas multilamelares donde hay lamelas con diferentes orientaciones.

Cuando el PHB cristaliza desde el estado líquido lo hace formando esferulitas.

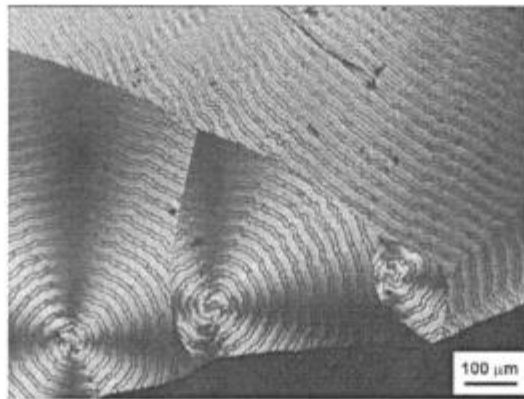
En las esferulitas los cristales lamelares crecen en forma radial. El eje cristalográfico **a** es radial y los ejes **b** y **c** rotan alrededor de él (ver Fig. I.3.2). Debido a la rotación de los cristales las esferulitas muestran bandas (ver Fig. I.3.3); cabe aclarar que si bien la figura muestra un solo cristal que rota, en realidad se trata de una sucesión de cristales que rotan un determinado ángulo con respecto al anterior [14]. La periodicidad y regularidad de las bandas depende del peso molecular y la temperatura de cristalización [13].

La morfología óptica de las esferulitas fue fuente de estudio y fascinación a partir del siglo 20. Inicialmente esta forma de crecimiento radial se encontró en magmas viscosos, sustancias orgánicas e inorgánicas en medios viscosos y gels, que fueron estudiadas durante los años 1920-1930. Más recientemente el estudio de las esferulitas se concentra en polímeros [25,26], donde se observa este tipo de estructura en la cristalización desde el estado fundido.

El interés central de los primeros estudios fue la actividad óptica observada en estos sistemas (formación de bandas, birrefringencia, aparición de la cruz de Malta) (ver Fig. I.3.3). Para el estudio de estos fenómenos se utilizan preferentemente polímeros de origen bacteriano, ya que el origen biológico de los mismos permite obtenerlos con alto grado de pureza. Esto unido a bajas velocidades de crecimiento proporciona un sistema ideal para el estudio de las esferulitas.

La microscopía óptica, de transmisión y de barrido son utilizadas para el estudio de la morfología de superficie y la estructura cristalina.

Para realizar este tipo de estudios la preparación de las muestras se realiza disolviendo el polímero en cloroformo y luego se hace un lavado con alcohol etílico para obtenerlo sin impurezas. Luego se preparan láminas delgadas fundiendo el polímero purificado entre dos cubreobjetos a aproximadamente 190°C durante 90 segundos. Preparando la muestra de esta manera es posible observar el efecto de la birrefringencia y la cruz de Malta con un microscopio óptico con luz polarizada.



**Fig. I. 3.3: Foto de una esferulita en lámina delgada se puede observar la estructura de bandas y el efecto de la cruz de Malta [27]**

El espesor de las muestras va desde 20-50  $\mu\text{m}$  con lo cual las esferulitas observadas crecen sólo en dos dimensiones, y si bien por convención son llamadas de esa manera en realidad tiene forma de crecimiento tipo disco más que esférico, ya que con una velocidad de enfriamiento muy lenta se logran obtener esferulitas de radios de varios milímetros [28].

Las micrografías se han utilizado hasta el momento como herramientas para estudiar el espaciamiento entre bandas y el tamaño de las esferulitas en relación con la temperatura de cristalización [14], como afecta la morfología el peso molecular, la variación de las propiedades ópticas con distintos ciclos de enfriamiento [28].

También se utilizó la microscopía óptica de láminas delgadas para establecer la relación entre la microestructura y el modo de fractura del PHB [29] y para el estudio de la expansión térmica del PHB y sus copolímeros [30].

Es importante aclarar que para observar la microestructura de estas láminas no es necesario atacarlas.

También se estudia la morfología de los plásticos biodegradables utilizando réplicas; en este caso es necesario atacar las muestras; para hacerlo se utiliza metilamina que ataca selectivamente la zona amorfa. Luego las réplicas se observan en el TEM [31].

En cuanto a muestras gruesas se han observado muestras de 300-500  $\mu\text{m}$  enfriadas desde el punto de fusión muy lentamente, con lo cual el tamaño de las esferulitas es considerable, la medida del radio es del orden del milímetro, con microscopio óptico con luz polarizada para observar el efecto del laminado sobre la microestructura [29].

En estudios de fractura realizados, donde se ensayan muestras gruesas, se observa el crecimiento de la fisura. Para observar esto en el microscopio óptico las muestras gruesas son cortadas con el micrótopo a temperaturas criogénicas, en películas delgadas de aproximadamente 20  $\mu\text{m}$  y la fractura es observada con o sin luz polarizada [32].

Además las técnicas de microscopía óptica y electrónica fueron utilizadas para el estudio del envejecimiento y la degradación del polímero [32, 33,34].

Recientemente se han publicado ataques para láminas gruesas (0.2 mm de espesor) de PHB con el objetivo de estudiar la morfología de las esferulitas tanto en microscopio óptico como en transmisión y barrido. Estos ataques se realizan con una solución de hidróxido de potasio en una mezcla de alcoholes [35].

### **1.3.2- Dependencia del módulo tensil (E) con la temperatura para polímeros semicristalinos**

Si se grafica el módulo de corte en función de la temperatura se obtienen las diferentes curvas características para los diferentes tipos de polímeros: amorfos, semicristalinos y elastómeros [36].

Se sabe que para aumentar la temperatura por encima de la temperatura de transición vítrea, la rigidez de los polímeros amorfos declina rápidamente. Para polímeros con alto grado de cristalinidad, la rigidez es fuertemente dependiente de la transición vítrea y cae rápidamente en el punto de fusión de los cristales.

Obviamente en los polímeros amorfos esta propiedad depende fuertemente de la temperatura de transición vítrea mientras que en los polímeros de alto grado de cristalinidad la rigidez depende principalmente de la localización del punto de fusión. En los polímeros de menor grado de cristalinidad ambas temperaturas son importantes.

Las expresiones empíricas de Van Krevelen y Hoftyzer (1970) pueden ser extendidas para describir la rigidez del polímero en función da la temperatura.

Las siguientes ecuaciones muestran la dependencia del módulo con la temperatura

$$G_g(T) / G_g(T_r) \cong E_g(T) / E_g(T_r) = (T_g/T_r + 2) / (T_g/T_r + 2T/T_r)$$

$$G_c(T) / G_c(T_r) \cong E_c(T) / E_c(T_r) = \exp [-2.65 (T_m/T_r - T_m/T) / (T_m/T_r - 1)]$$

$$G_{sc} = G_g + \chi_c (G_c - G_g)$$

donde:

$G_g$  = módulo de corte de la región amorfa

$G_c$  = módulo de corte de la región cristalina

$G_{sc}$  = módulo de corte del polímero semicristalino

$E_g$  = módulo tensil de la región amorfa

$E_c$  = módulo tensil de la región cristalina

$\chi_c$  = grado de cristalinidad

$T_m$  = temperatura de fusión

$T_r$  = temperatura de referencia (se utiliza la temperatura ambiente)

Para polímeros semicristalinos cuya temperatura de transición vítrea está muy por debajo de la temperatura de referencia se puede aplicar la siguiente aproximación:

$$G_{sc}(T) / G_{sc}(T_r) = G_c(T) / G_c(T_r)$$

Siguiendo esta forma se puede calcular:

$$\log [ G(T_r)/G(T) ] \cong \log [ E(T_r)/E(T) ] = 1.15 ( T_m/T_r - T_m/T ) / ( T_m/T_r - 1 )$$

Esta ecuación describe los datos experimentales para varios polímeros semicristalinos como el polietileno de alta densidad (PEHD), el polietileno de baja densidad (PELD) y el polihidroximetileno (POM) reportados por Ogorkiewicz (1970) (Fig.1.3.4)

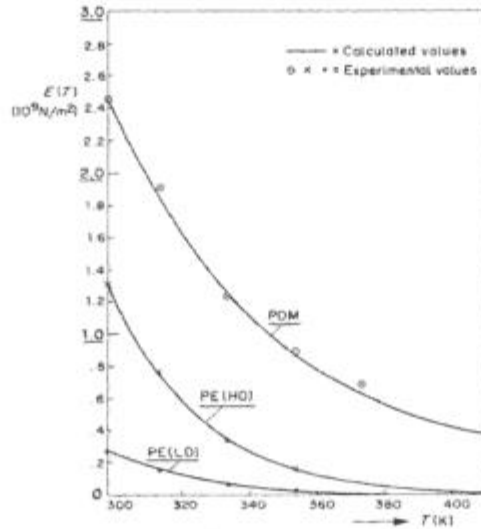


Fig. I.3.4 : Gráfica del módulo tensil vs. Temperatura para algunos polímeros petroquímicos semicristalinos [36].

### I.3.3- Deformación plástica en polímeros semicristalinos

La deformación plástica de polímeros semicristalinos es de mucha importancia para procesos tecnológicos tales como tracción uniaxial de fibras o películas, tensiones biaxiales en conformado (forja y estampa). De manera que para optimizar estos procesos es necesario conocer la variación de las propiedades mecánicas a lo largo de la deformación.

La deformación en polímeros de este tipo es un tema muy complejo, ya que cuando se produce la deformación ocurren muchos fenómenos. Básicamente las dificultades residen en la morfología de los polímeros semicristalinos que consiste en finos cristales separados por fase amorfa; y a su vez los cristales son formados por lamelas y parte amorfa que forman parte de una estructura llamada esferulita.

Entonces la deformación plástica puede ser descrita a diferentes niveles: lamelar, conjunto de lamelas o esferulitas.

#### Mecanismos de deformación en polímeros amorfos

Existen dos mecanismos de deformación plástica en polímeros amorfos: **bandas de corte** y **estrias o resquebrajaduras** (*en inglés, crazing*), los cuales se ilustran en la Fig. I.3.5.

Kramer [37] encontró que por debajo de un valor de densidad de entrecruzamientos pueden coexistir ambos mecanismos de deformación. Para densidades de entrecruzamiento mayores la formación de bandas de corte es el mecanismo de deformación predominante.

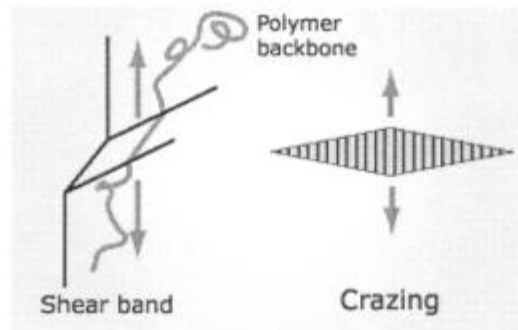


Fig. I.3.5: ilustración de los mecanismos de deformación en polímeros

### Estrías

Las estrías (crazes) constituyen una forma de falla no catastrófica en polímeros amorfos. Se pueden iniciar por la aplicación de tensiones y se ven favorecidas por la presencia de tensiones hidrostáticas a escala microscópica. Las tensiones en general se concentran alrededor de las impurezas o zonas donde se observa una fluctuación de la densidad.

Las pequeñas estrías pueden ser vistas a ojo desnudo. Se forman en planos perpendiculares a la dirección de tracción, constituyendo una zona de alta deformación donde el material forma hoyuelos (voids). Dentro de ellos se encuentran fibrillas de 5 y 30 nm de diámetro formadas por las cadenas moleculares que se alinean paralelas a la dirección de tracción. Estas cadenas son estiradas y forman manojos de hilos orientados separados entre sí por un laberinto de espacios vacíos, que se rompen a medida que se propaga la fisura por la estría, provocando la falla del material (Fig. I.3.6).

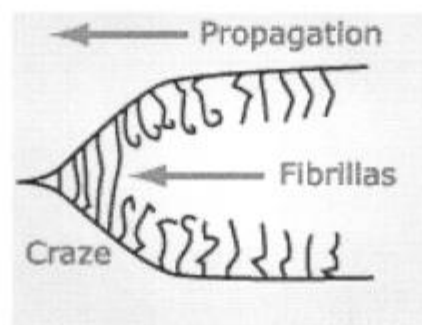


Fig. I.3. 6: Esquema de la deformación por estrías.

### Bandas de corte

Las bandas de corte son zonas donde la deformación está concentrada. La orientación macromolecular acompaña la formación de bandas absorbiendo energía durante este proceso.

Los mecanismos que envuelven su nucleación, propagación, multiplicación, interacción etc. son de vital interés; dependen de las condiciones de templado o de carga.

Hay dos clases de bandas de corte:

- las gruesas, que se forman cuando se carga al material a velocidades grandes, a bajas temperaturas, durante el enfriamiento en hornos o por concentración de tensiones y
- las finas que se forman con bajas velocidades de carga, cuando el polímero se encuentra a alta temperatura y en muestras templadas.

Las bandas de corte gruesas se propagan rápidamente, están confinadas a un área determinada y terminan por romper con una fractura frágil y muy poca deformación; en cambio, las bandas finas se expanden y multiplican cubriendo una región mayor y la muestra rompe con una fractura dúctil con una deformación total considerable.

### **Mecanismos de deformación en cristales poliméricos**

La deformación plástica en polímeros cristalinos se produce al igual que en los metales sin alterar el orden cristalino. La única excepción es cuando se producen grandes deformaciones y los cristales se rompen y la nueva organización de la estructura no se relaciona con la original [38].

Los cristales poliméricos pueden deformar por deslizamiento, maclado o transformación martensítica.

Al igual que en los metales el sistema de deslizamiento de los cristales es una combinación de una dirección y un plano de deslizamiento.

El plano de deslizamiento es el plano cristalográfico paralelo al deslizamiento pero en los cristales poliméricos los planos de deslizamiento deben ser los que contienen los enlaces covalentes de la cadena principal.

El principio general de deformación para todos los materiales cristalinos también puede ser aplicado a polímeros donde la dirección de deslizamiento es la más compacta y el plano de deslizamiento es un plano compacto. Como en los cristales poliméricos las cadenas que los forman están plegadas esta situación produce una restricción en los planos donde es posible el deslizamiento, por lo cual éste se termina produciendo en los planos paralelos a la cadenas plegadas.

### **I.3.4- Envejecimiento**

Uno de los fenómenos que afectan las propiedades mecánicas de estos polímeros es el envejecimiento durante el almacenamiento del material [39].

#### **Envejecimiento físico**

La presencia de zonas amorfas a temperatura ambiente hace posible el envejecimiento físico; éste es un fenómeno característico de los materiales amorfos.

La situación de no equilibrio que presenta la estructura amorfa y la movilidad residual de las cadenas del polímero producen reacomodamientos de las moléculas que contribuyen a disminuir el volumen libre y alcanzar un estado más cercano al equilibrio. Este reordenamiento afecta la movilidad por lo cual se ven afectadas las propiedades mecánicas.

Este proceso es completamente reversible si se calienta el polímero por encima de su  $T_g$ ; cabe aclarar que este calentamiento no afecta a la cristalinidad.

Se han encontrado en la bibliografía curvas de módulo de corte vs. Temperatura para materiales envejecidos y materiales a los cuales se les hizo un tratamiento de recocido a 70°C durante 5 minutos observándose en estos gráficos las mejoras en las propiedades.

#### **Cristalización progresiva**

Aparentemente el envejecimiento físico no contribuye en gran medida a la fragilización del PHB lo que sugiere que la verdadera causa de éste se debe a la cristalización progresiva [39].

Por dilatometría se ha podido observar el crecimiento de la densidad con el tiempo lo que indica un proceso de cristalización. Este proceso aumenta el grado de cristalinidad y contrae la parte amorfa generando tensiones en esta región. En general el aumento de la parte cristalina en un material lo hace más dúctil pero al generar su crecimiento una constricción de la parte amorfa circundante, se disminuye el volumen libre restringiendo la movilidad de las cadenas lo que imposibilita la deformación plástica del polímero haciendo de este un material frágil. Este envejecimiento es irreversible.

#### **Detección por difracción de rayos X**

La técnica de difracción de rayos X fue utilizada para observar los cambios en la estructura del polímero durante el envejecimiento para lo cual se utilizó un difractómetro Siemens D 500 examinando las muestras por reflexión variando el  $2\theta$  desde 5° o 20° con un paso de 0.05° hasta 90°. De esta manera se establece un espectro patrón para el PHB, ver fig. I.3.7

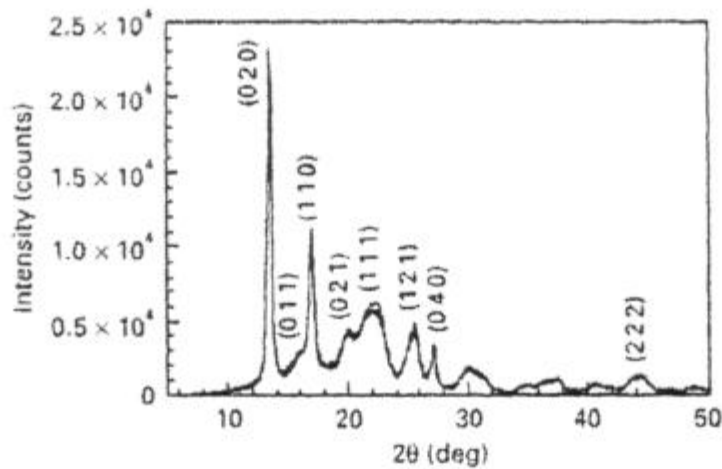


Fig.I.3.7.: Patrón de difracción para el PHB [16]

Los resultados obtenidos indican que para el PHB puro no se observan cambios en los parámetros de celda y la densidad cristalina durante el envejecimiento; el cambio en el grado de cristalinidad es muy pequeño, sin embargo las propiedades mecánicas se deterioran fuertemente durante el almacenamiento (paper de wide angle).

También se ha estudiado el envejecimiento con técnicas de Rayos X de pequeño ángulo (SAXS), con la cual es posible medir los espesores de la fracción amorfa y de la cristalina.

Es posible entonces por medio de esta técnica estudiar el envejecimiento físico que afecta el volumen libre de la parte amorfa y la cristalización secundaria de la parte cristalina.

También mediante difracción de rayos X de pequeño ángulo (SAXS) se comprueba la validez de modelo de dos fases utilizado en el estudio del envejecimiento del polímero, donde los datos obtenidos coinciden con el modelo para los espesores de las fracciones amorfa y cristalina pero no presentan buena coincidencia para los espesores de la interfase. Más detalles en la sección I.3.5.

### Respuesta mecánica del PHB y PHBV envejecidos

De los polihidroxialcanoatos el PHB es el que se produce en mayores cantidades.

Por ser biodegradable es un producto atractivo para reemplazar al PVC y al PET en la industria del envase; pero desafortunadamente este polímero tiene baja tenacidad. Algunas razones de la fragilidad del PHB son:

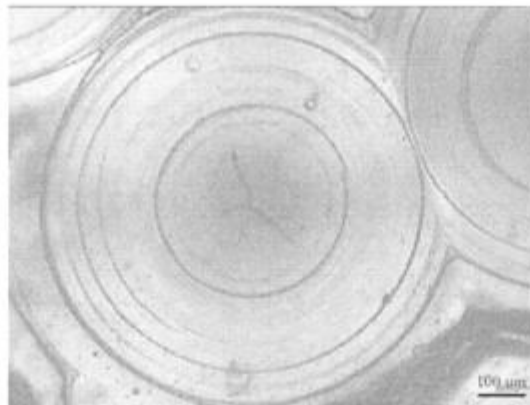
- El ordenamiento de la fase amorfa o envejecimiento físico
- La cristalización progresiva a temperatura ambiente durante el almacenamiento del polímero

- La baja densidad de nucleación del PHB, por la cual se forman grandes esferulitas que presentan fisuras concéntricas y radiales (ver figura I.3.8)

Los resultados obtenidos hasta ahora muestran que la fragilidad del PHB es una propiedad intrínseca del polímero [39] y puede ser atribuida principalmente a la cristalización secundaria [41].

Para solucionar el problema de la fragilidad del PHB se ha probado copolimerizarlo; pero los polímeros con que se puede obtener mezclas son muy escasos [12].

Otra posibilidad para mejorar sus propiedades mecánicas es agregar plastificantes y agentes nucleantes que afinan la estructura [42].



**Fig. I.3.8: Micrografía de una esferulita en una lámina gruesa (300µm) con microscopio óptico con luz polarizada donde se pueden observar las fisuras radiales y concéntricas [40]**

También se ha intentado reforzarlo con fibras naturales pero hasta el momento no se ha logrado buena adherencia entre fibra y matriz [43-44].

Con el objeto de disminuir la fragilidad del polímero se incorporan comonómeros como el hidroxivalerato. Estos copolímeros se obtienen utilizando aditivos específicos durante el crecimiento de las bacterias, lo que las torna más costosas.

Además la presencia de un comonómero afecta la cinética de cristalización sin olvidar que si la concentración del hidroxivalerato excede el 23% en peso el polímero cristaliza como dos fases separadas [45].

Finalmente se ha demostrado [39] que usando un simple tratamiento de recocido se puede prevenir el envejecimiento del PHB. Este tratamiento consta de un recocido a 110°C durante 10 horas con lo cual se incrementa la elongación a rotura de 5% a 25% [46].

## I.3.5- Recocido

### Cambios morfológicos producidos durante el recocido

La estructura lamelar, que fue encontrada en el material original, es excepcionalmente fina comparada con otros polímeros semicristalinos. Esta estructura tan fina tiene mucha interfase y por otro lado así como lo cristales formados desde la fusión son muy finos también lo es la parte amorfa que los conecta. No debemos olvidar que la fracción amorfa es la que permite la deformación plástica de estos polímeros y si ésta es muy estrecha el material no tiene capacidad para deformarse siendo así un material muy frágil [46].

El objetivo del recocido es engrosar la estructura para obtener una periodicidad similar a la del polipropileno.

Los parámetros relevantes que se utilizan en la descripción de la estructura lamelar se muestran en la Figura I.3.9 que corresponden al modelo de pseudo – dos fases de Vonk [47]. La determinación de estos parámetros se realiza a través de mediciones con un equipo de rayos X de barrido de bajo ángulo (SAXS). De esos resultados puede observarse que el espesor lamelar se incrementa con el recocido mientras que el espesor de la zona de transición entre la parte cristalina y amorfa se mantiene constante en alrededor de  $12 \pm 1.5\text{Å}$ .

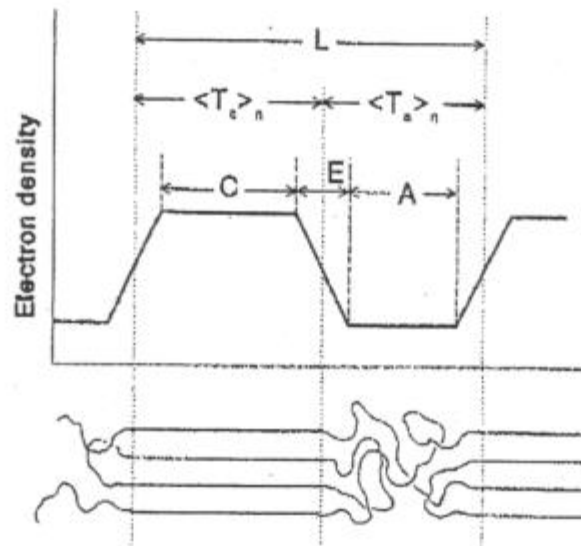


Fig. I.3.9: esquema de la morfología lamelar en dirección perpendicular a las lamelas correspondiente al perfil de densidad electrónica acorde con el modelo de pseudo-dos fases descrito por Vonk [46].  $L$  = periodicidad,  $T_c$  = espesor lamelar,  $T_a$  = espesor amorfo,  $C$  = centro lamelar,  $A$  = centro amorfo,  $E$  = espesor de transición amorfo-cristalina.

## Reorganización estructural

Si bien con el recocido se produce un incremento del espesor lamelar, al hacer el termograma de todas las muestras se observa que el punto de fusión del polímero no varía a pesar de haber variado el espesor de los cristales.

Estudios recientes dicen que esta observación se debe a una reestructuración de los cristales originales durante el recocido [20,48].

Durante la cristalización no isotérmica los cristales se van formando a diferentes temperaturas. Al entregarles calor durante el recocido estos cristales sufren una fusión continua y una reorganización estructural formando cristales a más altas temperaturas siendo los nuevos cristales más estables. El pico que aparece en el termograma no indica el punto de fusión del polímero sino que indica la mayor relación entre la fusión y la recristalización (Fig. I.3.10).

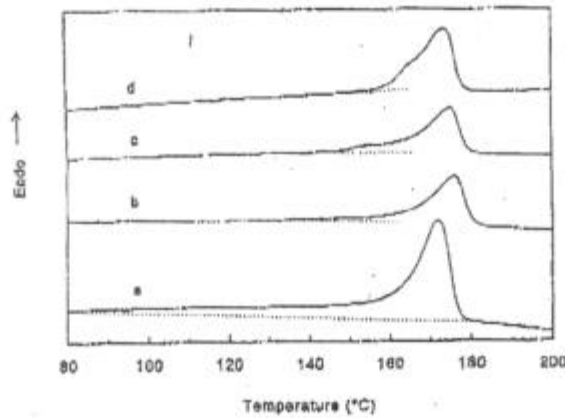


Fig. I. 3.10: Termograma (velocidad de enfriamiento 20°C/min.) de muestras de PHB moldeadas y recocidas por a) 0 min., b) 60 min. a 115°C, c) 30 min. a 128°C, d) 10 min. a 147°C. [39]

Se puede apreciar también en la figura que para la muestra sin recocer la línea del termograma se separa de la línea de base a partir de 80°C aproximadamente que es donde comienzan a fundirse los cristales más inestables con lo cual existe un rango de temperaturas de fusión que va desde los 80°C hasta los 175°C.

Para las muestras recocidas la separación de la línea de base se da a temperaturas mayores y en la curva **d** aparece un pico adicional en 165° C que corresponde a la fusión de los cristales más estables de la estructura original.

La relación entre  $T_c$  y  $T_a$  vs. la periodicidad  $L$  aparentemente es uniforme y lineal lo cual indica que el mismo mecanismo opera para todas las condiciones de recocido (Fig. I.3.11).

Luego, el incremento del espesor lamelar es acompañado por un pequeño cambio de la cristalinidad con lo cual aparentemente el aumento de espesor se da tanto en la parte amorfa como en la cristalina. Estas observaciones indican que el aumento del centro de la región cristalina se produce a expensas de la región amorfa circundante; lo cual implica que el número de cristales se reduce. Por lo tanto algunos cristales se funden y recristalizan engrosando la estructura y disminuyendo el número de cristales y la región de interfase.

En síntesis, se produce la recristalización del material a la temperatura de recocido, y los cristales que quedan intactos, es decir, los formados a temperaturas mayores a la del tratamiento térmico actúan como núcleos en la recristalización. En otras palabras los cristales con mayor concentración de defectos desaparecen a favor del engrosamiento de las lamelas más perfectas.

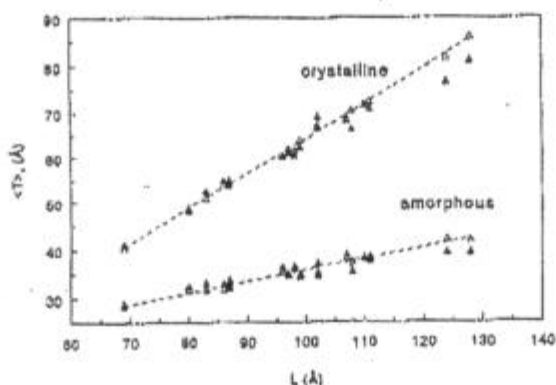


Fig. I.3.11: Espesor promedio de los espesores cristalino y amorfo de PHB recocido vs. La periodicidad calculada de acuerdo con el modelo de pseudo-dos fases.[46]

### El rol de la morfología

Cuando al recocer el PHB se produce un rearrreglo de los cristales (fusión y recristalización), la periodicidad del material recocido es alrededor del doble de la del recién moldeado, por lo tanto la interfase cristalina-amorfa por unidad de volumen que es la recíproca de la periodicidad se reduce a la mitad.

Como ya se mencionó una de las principales causas de la fragilidad de este polímero es la cristalización secundaria que produce una constricción de la fase amorfa. En el caso del material sometido a un recocido la constricción de la fase amorfa disminuye ya que el tratamiento térmico reduce la relación entre el área de interfase y la región amorfa.

### Cambios en las propiedades mecánicas

Se espera que un incremento en la cristalinidad produzca, en general, un aumento en el módulo tensil y reduzca la tenacidad. Según ensayos de tracción realizados a las muestras recocidas se produce el efecto contrario, se disminuye el módulo y la elongación a la rotura va desde un 5% sin recocer hasta un 30% para una muestra recocida 30 minutos a 128°C (Fig. I.3.12).

Consistentemente con los datos de los ensayos de tracción por encima de la  $T_g$  el módulo dinámico de almacenamiento de las muestras recocidas disminuye con respecto a las muestras no recocidas mientras la  $\tan \delta_{max}$  aumenta a pesar de la disminución de la fracción amorfa. Ambas tendencias indican que la relajación de las cadenas de la parte amorfa remanente se incrementa significativamente.

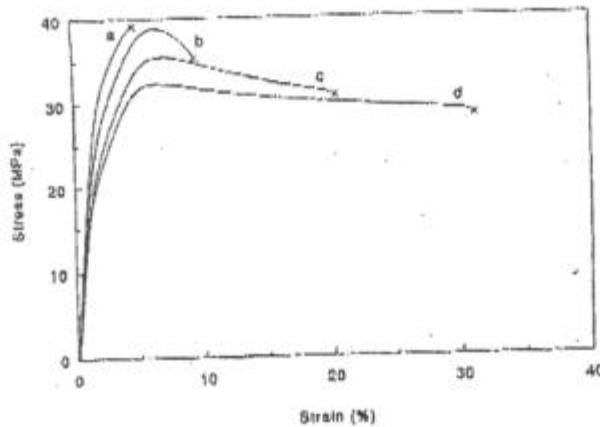


Fig. I.3.12: Curvas de tensión – deformación de muestras de PHB moldeadas con 20 días de almacenamiento y luego recocidas por a) 0 min., b) 60 min. a 95°C, c) 60 min. a 115°C, d) 30 min. a 128°C. [39]

Es importante destacar que la morfología no es indicador de propiedades mecánicas ya que el polímero recién moldeado y el recocido tienen diferentes morfologías pero igual tenacidad. Pero como la morfología de la muestra recién moldeada es muy fina y es más susceptible al envejecimiento, ésta determina por lo cual la morfología termina por determinar las propiedades últimas del material.

### Mecanismos de deformación

La consecuencia directa del aumento de la relajación de la fase amorfa es una disminución del módulo tensil.

En cuanto a la deformación plástica es esencial que la región amorfa que circunda los cristales tenga cierta movilidad, que permita que los cristales roten hacia la dirección de tracción. Aparentemente la región amorfa de las muestras de PHB sin recocer está tan constreñida que no permite la rotación de los cristales lo cual hace que el material rompa con una fractura frágil.

El recocido aumenta la relajación de la fase amorfa permitiendo una mayor movilidad a los cristales y la consiguiente deformación plástica del material antes de la ruptura.

## Referencias

1. [http// www.ecositio.com](http://www.ecositio.com), *Los plásticos*, 2002-2005, última modificación 21 de noviembre 2004
2. [http// www.plastunivers.com](http://www.plastunivers.com), Tecnigrama, Hemeroteca, *Ciudades europeas unen fuerzas con los plásticos para publicar directrices sobre residuos*, Revista PlastUnivers, **Nº93**, Abril (2004).
3. [http//www.plastunivers.com](http://www.plastunivers.com), Panorama, *Envases y embalajes, sector líder en consumo de polímeros en Europa*, **Nº93**, Abril (2004).
4. Kopetz H. , Weber T, Palz W , Chartier P., Ferrero G. L. (Eds), "*Proceedings of the 10<sup>th</sup> European Conference Biomass for Energy and Industry*", C.A.R.M.E.N., Rimpär, Würzburg, Germany, (2000) 446-449.
5. Vishnu C., Seenayya G., Reddy G., "*Direct fermentation of various pure and crude starchy substrates to L(+) lactic acid using Lactobacillus amylophilus GV6*", World Journal of Microbiology & Biotechnology, **18**, (2002), 429-433.
6. Litchfield J. H., "*Microbiological production of lactic acid*", Adv. Appl. Microbiol, **42** (1996) 45-95.
7. J. Tuominen, "*Chain linked acid polymer: polymerization degradation studies*", Tesis doctoral Universidad Tecnológica de Helsinki, Finlandia, (2003).
8. Shengde Zhou, T.B. Causey, A. Hasona, K.T. Shanmugam, L.O. Ingram, "*Functional replacement of the Escherichia Coli D-(-)-lactate dehydrogenase gene with the L-(+)-lactate dehydrogenase gene from Pediococcus acidilactici*", Appl. Environ. Microbiol., **69** (2003), 2237-2244 .
9. Holmes P.A., "*Biologically produced (R)-3-hydroxy-alcanoate polymers and copolymers*". En: Basset D.C. (ed.) "*Developments in Crystalline Polymers*", Elsevier, New York, Vol. **2** (1988) 1-65.
10. Y. Doi, Alexander Steinbüchel, eds. *Biopolymer: Polyesters II*, "*Properties and Chemical Synthesis*", Vol **3b**, John Wiley & sons, Nueva York, Marzo (2002).
11. Nir M. M., Milts J., Ram A., Plast. Eng., **75** (1993).
12. Sudesh K., Abe H., Doi Y., "*Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalcanoates: biological polyesters*", Progress in Polymer Science, **25** (2000) 1503-1555

13. Barham P. J., Keller A., Otun E.L., "Crystallization and Morphology of a bacterial thermoplastic: poly-3-hydroxybutyrate", Journal of Material Science, **19** (1984), 2781-2794.
14. Basset D.C., Hodge A.M., "On lamellar organization in banded spherulites of polyethylene", Polymer, **19** (1978), 469-472.
15. [http/ www.pslc.ws](http://www.pslc.ws), *Polímeros cristalinos*, Departamento de Ciencia de Polímeros, Universidad del sur de Mississippi, copyright 1995-1996.
16. Yokouchi M., Chatani Y., Tadokoro H., Teranishi K., Tani H., "Structural studies of polyesters: 5. Molecular and crystal structures of optically active and racemic poly ( $\beta$ -hydroxybutyrate)", Polymer, **14** (1973), 267-272
17. Flory P.J., Trans. Faraday Soc., **51** (1955),848.
18. Sanchez I. C., y Eby R. K., Macromolecules, **8** (1975) 638.
19. Orts W. J., Bluhm, T. L. And Marchessault R. H, Macromolecules, **24** (1991) 6435.
20. Organ S.J., Barham P. J., "Nucleation, growth and Morphology of poly(hidroxybutyrate) and its copolymers", Journal of Material Science, **26** (1991) 1368-1374.
21. Oliviera,Wiler de, and Glasser W. G., "Multiphase materials with Lignin II. Starlike Copolymers whit Caprolactone", Macromolecules, **27** (1994) 5-11.
22. Laferty R. M., Korsakto B. y Korsakto W., "Microbial Production of poly-hidroxybutyrate acid". In Rehm H. J., G. Reed Eds. (1990), Biotechnology.
23. Povoló F., Hermida E.B., "Propiedades Mecánicas", 2<sup>da</sup> edición, Monografía IT/A - 75/03
24. Barham P. J., Keller A., "The problem of thermal expansion in polyethylene spherulites", Journal Material Science, **12** (1977) 2141-2148.
25. Point J.J., Bull Acad Belg, 39 (1955) 101.
26. Phillips P.J., Rep. Prog. Phys, **53** (1990), 549.
27. Povoló F., Hermida E. B., Miyasaki S., Raspini I., "Caracterización Microestructural de Poliésteres Biodegradables", 87 Reunión Nacional de la Asociación Física Argentina, (2002).
28. Hobbs J.K., Benger D.R., Keller A., Barham P.J.," Spiralling Optical Morphologies in Spherulites of Poly(hydroxybutyrate)", Journal of Polymer Science Part B: Polymer physics,**38** (2000) 1575-1583.

29. Barham P.J., Keller A., "The relationship between microstructure and mode of fracture in polyhydroxybutyrate", Journal of Polymer Science: Polymer physics Edition, **24** (1986) 69-77.
30. Martinez-Salazar J., Sanchez Cuesta M., Barham P.J., Keller A., "Thermal expansion and spherulite cracking in 3-hydroxybutyrate / 3-hydroxyvalerate copolymers", Journal Materials Science Letters, **8** (1989) 490-492.
31. Organ S.J., Barham P.J., "An etching technique for poly(hydroxybutyrate) and its copolymer", Journal of Material Science Letters, **8** (1989) 621-623.
32. Hobbs J.K., Barham P.J., "The fracture of polyhydroxybutyrate", Part III, Fracture morphology in thin films and bulk systems, Journal of Material Science, **34** (1999) 4831-4844.
33. Hobbs J.K., "The fracture of poly(hydroxybutyrate)", Parte I, Fracture mechanics study during ageing", Journal of Material Science, **33** (1998) 2509-2514.
34. Hobbs P.J., Barham P.J., "The fracture of poly(hydroxybutyrate)", Parte II, Fracture mechanics study after annealing, Journal of Material Science, **33** (1998) 2515-2518.
35. Shahin M.M., Olley R.H., "Novel Etching Phenomena in Poly(3-hydroxy butyrate) and Poly(oxymethylene) Spherulites", Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics, **40** (2002) 124-133.
36. Van Krevelen D.W., "Properties of Polymers :They correlation with chemical structure; their numerical estimation and prediction from additive group contributions", Third edition, Elsevier, (1997)
37. Kramer E.J., Polymer Eng. Sci., 761, (1984)
38. Bowden P.B., Young R.J., "Deformation mechanism in crystalline polymers", Review, Journal of Materials Science, **9** (1974) 2034-2051.
39. de Konning G.J.M. y Lemstra P.J., "Cristallization phenomena in bacterial poly[(R-3-hydroxybutyrate): 2. Embrittlement and rejuvenation", Polymer, **34** (1993) 4089-4094.
40. Casariego V.A., Hermida E.B., "Ataque y Revelado de la Microestructura Semicristalina del Polihidroxitirato-co-hidroxisalvato" , Jornadas SAM-CONAMET, Mar del Plata, (2005).
41. de Konning G.J.M. y Lemstra P.J., "Ageing phenomena in Bacterial Poly(hydroxybutyrate)", Polymer, **33** (1992) 3295.

42. Baltieri R. C., Innocentini Mei L.H., Bartoli J., "Study of the Influence of Plasticizers on the Thermal and Mechanical Properties of Poly(3-hydroxybutyrate) Compounds", *Macromolecule Symp.*, **197** (2003) 33-44.
43. Wollerdorfer M., Bader H., "Influence of natural fibers on the mechanical properties of biodegradable polymer", *Industrial Crops and Products*, **8** (1998) 105-112.
44. Wong S., Shanks R., "Interfacial improvements in poly(3-hydroxybutyrate)-flax fibre composites with hydrogen bonding additives", *Composites Science and Technology*, **64** (2004) 1321-1330.
45. Barham P.J., Organ S.J., "Mechanical properties of Polyhydroxybutyrate-hydroxybutyrate-hydroxyvalerate copolymers blends", *Journal Materials Science*, **29** (1994), 1676-1679
46. de Konning G.J.M. Scheeren A.H.C., Lemstra P.J., Peeters M., y Reynaers H., "Crystallization phenomena in bacterial poly[(R)-3-hydroxybutyrate]: 3. Toughening via texture changes", *Polymer*, **35** (1994) 4598 - 4605.
47. Baltá – Calleja F.J., Vonk C.G., "X-Ray Scattering of Synthetic Polymers", Ed. A. D. Jenkins, Elsevier, Amsterdam, (1989) 247-303.
48. Barker P.A., PhD Tesis, University of Bristol, (1993).

## Capítulo II

---

### Desarrollo experimental

#### II.1- Material empleado

El material utilizado para este trabajo es PHBV, un copolímero de polihidroxibutirato y polihidroxivalerato, provisto por la empresa PHB Industries S.A. de Brasil. Este copolímero contiene una fracción en peso de valerato de 13%. El peso molecular promedio en peso ( $M_w$ ) es de 200 kg/mol, las temperaturas de transición vítrea ( $T_g$ ) y fusión ( $T_m$ ) son  $-5\text{ }^\circ\text{C}$  y  $165\text{ }^\circ\text{C}$ , respectivamente.

El polímero se comercializa en forma de gránulos con lo cual es necesario fundirlo para la fabricación de los discos de los que se cortarán después las probetas.

#### II.2- Revelado de la microestructura de PHBV

Como en bibliografía no se pudo encontrar un antecedente acerca de ataque para el revelado de la microestructura del PHBV en láminas gruesas, la solución para realizar el revelado se estableció a partir de diversos artículos para revelado de microestructura de polímeros petroquímicos [1,2].

##### Revelado de la microestructura

###### Procedimiento

Se procede a pesar 2 g. del polímero granulado el cual se coloca entre dos discos de acero inoxidable pulidos a espejo, para evitar réplicas de las rugosidades de su superficie.

Ambos discos se separan por un anillo de latón, que determinará el espesor de la lámina a fundir (se utilizaron espesores de  $250\text{ }\mu\text{m}$  a  $400\text{ }\mu\text{m}$ ).

Se ubica el conjunto de discos-anillo y gránulos en una prensa calefaccionada a  $170^\circ\text{C}$ .

Se procede con el primer ciclo de presión durante la fusión del polímero por 1 minuto y luego se libera la presión para que se efectúe el escape de aire si lo hubiera; después de un lapso de 1 minuto se vuelve a repetir el ciclo.

Al terminar los ciclos de presión se deja enfriar al aire por aproximadamente 15 minutos de modo de que la esferulitas crezcan y luego se procede a enfriarlos a  $-5^{\circ}\text{C}$ .

### **Ataque ácido**

A partir de la bibliografía encontrada para polímeros de origen petroquímico se realizaron diversas pruebas para desarrollar un ataque que permitiera la observación de muestras gruesas del PHBV.

El ataque que se desarrolló dando óptimos resultados es el siguiente:

- Se prepara una solución 1% p/v de permanganato de potasio en una mezcla 10:4:7 de ácido sulfúrico (98%), ácido ortofosfórico (85%) y agua destilada (ver anexo I). La mezcla de ácidos alcanza una temperatura de aproximadamente  $60^{\circ}\text{C}$ ; esta temperatura se mantendrá durante el ataque colocando la solución sobre una placa calefaccionada.
- Una vez alcanzada la estabilidad térmica se procede a sumergir las muestras dentro de la solución durante aproximadamente 7 minutos, agitando esporádicamente. El tiempo de revelado fue optimizado revelando muestras con diferentes tiempos de ataque.
- Al finalizar el ataque las muestras se lavan durante 7 minutos en un lavador ultrasónico con una solución de 1:7 de ácido sulfúrico y agua destilada a temperatura de congelamiento.
- Las muestras se dejan secar en un desecador con humedad controlada (50%) durante 24 horas.

### **Ataque básico**

Si bien el ataque descrito a continuación se basa en datos de la bibliografía [3], se introdujeron ciertas modificaciones a fin de optimizar el revelado; el procedimiento es el que se describe a continuación.

### **Ataque 1**

- Se prepara una solución de 600 mg de Hidróxido de Potasio en 8 ml de metanol y 4 ml de agua destilada.
- La muestra se sumerge en la solución que se mantiene en constante agitación mediante un agitador magnético que simultáneamente calefacciona la solución manteniéndola a una temperatura de aproximadamente 40°C durante 15 minutos.
- Una vez transcurrido el tiempo de ataque se procede al lavado de la muestra con una solución 20% V/V de ácido acético glacial en agua destilada.
- El lavado se realiza en un lavador ultrasónico durante aproximadamente 15 minutos es necesario repetir el procedimiento de lavado por lo menos tres veces.
- Luego se deja secar en un desecador con 50% de humedad relativa durante aproximadamente 3 horas.

### **Ataque 2**

- Se prepara una solución de 2mg de hidróxido de potasio en 60 ml de etanol
- La muestra se sumerge en la solución durante 45 minutos con agitación constante producida por un agitador magnético a temperatura ambiente.
- Una vez transcurrido el tiempo de ataque se procede al lavado con una solución 20% V/V de ácido acético glacial en agua destilada.
- El lavado se realiza en un lavador ultrasónico durante aproximadamente 15 minutos, repitiendo la operación por lo menos tres veces
- Luego se deja secar en un desecador con humedad controlada (50%).

## **II.3- Preparación de muestras para tracción**

### **Fundido para obtener láminas con microestructura gruesa**

Como los gránulos de PHBV recibidos contienen gran cantidad de aire, su fusión promueve la liberación del aire, que determina la formación de burbujas, especialmente en muestras de más de 100  $\mu\text{m}$  de espesor. Para evitarlo se procede primeramente a fundir el material en una mezcladora Brabender a una temperatura de 170°C y a 60 r.p.m. durante 5 minutos. De allí se obtiene un compacto fundido que se dispone entre dos disco de PET de 15 cm. de diámetro en cantidad adecuada para la

preparación de un disco (7 g). Los discos de PET están separados por un anillo de latón de 300  $\mu\text{m}$  de espesor, que actuará como contenedor, para que el polímero fundido no se derrame y adquiera el espesor deseado. Este armado va entre las placas calefaccionadas de la prensa hidráulica a 180°C y se mantiene en ella sin aplicar presión durante 5 minutos. Una vez pasado este tiempo se comprime al polímero hasta 10 kg /cm<sup>2</sup> durante 1 minuto, pasado ese tiempo se descomprime y luego se repite la compresión. El ciclo de presión se hace con el objetivo de eliminar algún resto de aire que haya quedado en el plástico y que pueda generar alguna burbuja en el disco.

Una vez finalizada la compresión se retira el disco de la prensa y se coloca sobre una placa calefaccionada durante 10 minutos a una temperatura de aproximadamente 60°C colocándole encima una placa aislante para proporcionar una velocidad de enfriamiento lenta. Pasado este lapso de tiempo se deja enfriar hasta temperatura ambiente entre dos placas de baquelita de aproximadamente 5 mm de espesor y con esto propiciar el crecimiento de las esferulitas.

El tiempo y la temperatura óptima para la obtención de la microestructura deseada se logró probando diferentes temperaturas y tiempos de enfriamiento.

El enfriamiento lento y el consecuente crecimiento de la esferulitas se hace necesario para la mejor observación de la microestructura durante el ensayo de tracción.

### **Fundido para lograr una microestructura fina**

A diferencia de las láminas que se emplearán para tracción bajo el microscopio, donde se quiere observar la microestructura, para los de ensayos en la máquina de tracción necesito una microestructura fina para obtener una mejor resistencia mecánica.

Los discos para realizar los ensayos de tracción son producidos en forma similar a lo explicado en el párrafo anterior con algunas diferencias a fin de lograr una estructura homogénea en toda la superficie del disco. En este caso se empleó una mezcladora Haake PolyLab System que trabaja a una temperatura de 165°C y a 60 rpm. En esta mezcladora es posible procesar 300g de gránulos de PHBV a diferencia de la Brabender donde sólo es posible cargar 30g de PHBV. Se hizo necesario cambiar de mezcladora debido a que la demanda de discos para los ensayos de tracción en la máquina de ensayos era mucho mayor que para los de tracción bajo microscopio.

El fundido de PHBV solidificado se coloca entre dos discos de PET, separados por un anillo del mismo material de 350  $\mu\text{m}$ . Se decidió cambiar el disco de latón, empleado en el procedimiento anteriormente descrito, por uno de PET para que la

microestructura del disco fuese uniforme ya que el anillo de latón tiene una alta conductividad térmica y promueve durante el enfriamiento un gradiente de temperatura radial y, en consecuencia, un cambio en la microestructura dentro del disco.

### **Probetas de tracción**

Las probetas de tracción para ensayar con la Instron 1122 fueron cortadas según la Norma ASTM -D882-97.

Sus dimensiones son:

- $w = 10 \text{ mm}$
- $l = 50 \text{ mm}$
- $e = 0.3 \pm 0.05 \text{ mm}$

Las probetas de tracción para ensayar con la minimáquina de tracción fueron cortadas según la Norma ASTM D638-98 tipo V.

Sus dimensiones son:

- $w = 3.18 \text{ mm}$
- $l = 9.53 \text{ mm}$
- $e = 0.25 \pm 0.05 \text{ mm}$

## **II.4- Instrumental utilizado**

### **Máquina de tracción**

Para realizar los ensayos se utilizó una máquina de ensayos universal servomecánica Instron 1122. Se pueden realizar con ella ensayos mecánicos en las más variadas condiciones dada la versatilidad del equipo.

Se puede variar la velocidad del cabezal móvil en 4 órdenes de magnitud desde 0.05 a 500 mm/min; los supresores de cero permiten mejorar considerablemente la sensibilidad de la medición y además cuenta con la posibilidad de hacer ciclado de carga. Agregando dispositivos externos apropiados es posible realizar ensayos a diferentes temperaturas, con distintas atmósferas o en vacío.

El dispositivo de carga está constituido por una estructura metálica rígida con un cabezal fijo en la parte superior y otro móvil que puede desplazarse verticalmente.

La probeta se sujeta mediante las mordazas adecuadas y éstas a su vez están sujetas a los cabezales. El movimiento de un cabezal con respecto al otro es lo que permite deformar la muestra.

El cabezal móvil se desplaza mediante dos tornillos que giran a una velocidad determinada que se mantiene constante independientemente de la carga aplicada. Toda la electrónica asociada al movimiento del cabezal se encuentra en el módulo de la "unidad de control del cabezal" en la consola de control; desde allí se puede controlar, tanto la velocidad de desplazamiento como la dirección del movimiento, la parada y el arranque del cabezal móvil.

La medición de la carga aplicada sobre la probeta se efectúa mediante la celda de carga que consiste esencialmente en un transductor fuerza-voltaje. El elemento transductor es un medidor de deformación el cual varía su resistencia en forma proporcional a la carga aplicada. El módulo del amplificador de la celda de carga en la consola de control se encarga de amplificar y acondicionar la señal proveniente de la celda de carga.

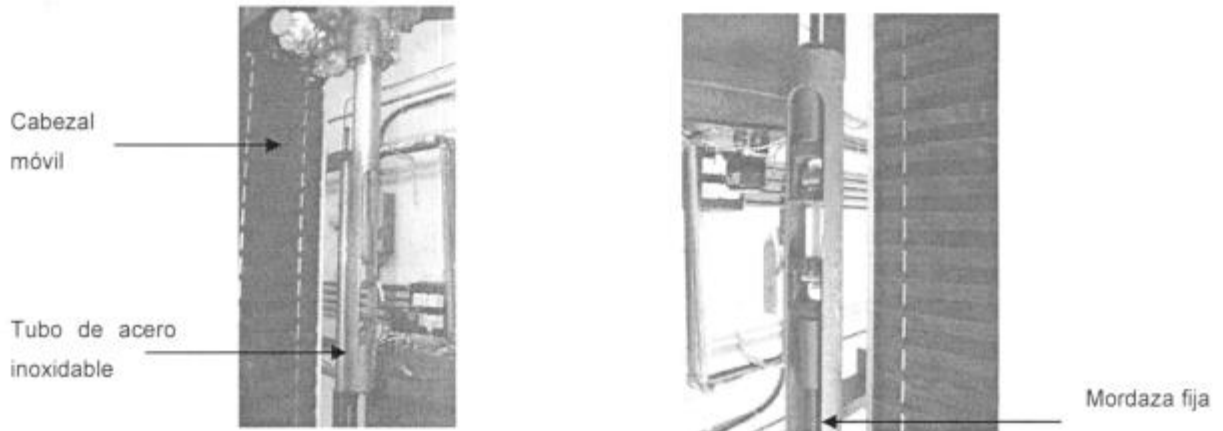
La señal de salida del módulo amplificador de la celda de carga puede ser graficada en el registrador que con tal fin se encuentra en la consola de control.

Con el objeto de aumentar la versatilidad de la máquina de ensayos, ésta tiene adosado un sistema de adquisición automática de datos, que adquiere la señal de la celda de carga durante el transcurso de la experiencia. Este sistema está controlado por un programa que permite seguir el desarrollo de la experiencia.

### **Sistema de sujeción de probetas**

El sistema de sujeción de probetas utilizado para los ensayos de tracción realizados consta de un cilindro de acero hueco que va sujeto al cabezal móvil, en cuya base del cilindro se encuentra la mordaza inferior que se mueve solidaria al cabezal móvil. Este tubo se puede rodear por una cámara de pirex (que se fija al cabezal móvil con un conector rápido vidrio –metal ) para realizar ensayos a temperaturas mayores que la ambiente, mediante un baño termostatzado.

La mordaza superior es fija por lo tanto la máquina trabaja a tracción cuando el cabezal móvil baja. Esta mordaza tiene una varilla que desliza dentro del cilindro y cuyo extremo está sujeto a la celda de carga (ver Fig.II.4.1).



**Fig.II.4.1:** se observa el dispositivo de tracción y el sistema de sujeción de las probetas.

También pueden verse en la Fig.II.4.2 las mordazas utilizadas para los ensayos de tracción.



**Fig.II.4.2 :** en la fotografía de la izquierda se observa en detalle la mordaza y a la derecha se puede ver la probeta con las mordazas colocadas.

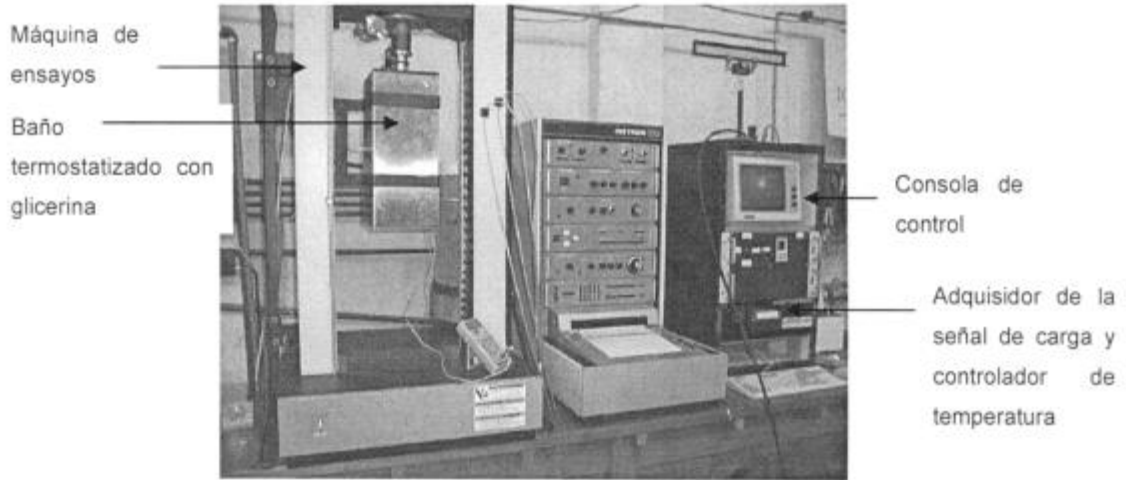
### Sistema de regulación de temperatura

El sistema de regulación de temperatura para realizar ensayos a temperaturas por encima de la ambiente es un baño de glicerina que consta de dos recipientes de acero inoxidable dispuestos uno dentro de otro con abundante lana de vidrio en el espacio que queda entre los recipientes a fin de garantizar la aislación térmica. En el recipiente interior se encuentra glicerina, que es el fluido calefactor. Completa el equipo un sistema de control de temperatura integrado por un calefactor, un agitador y un sensor de temperatura, que será el elemento final del sistema de control de temperatura que permita que ésta se mantenga constante durante el ensayo.

El equipo dispone de un sistema de calentamiento y de control de temperatura (ver Fig.II.4.3 y II.4.4). La glicerina se calienta mediante el calentador eléctrico y la temperatura dentro del baño se homogeniza por la acción del agitador.

Para evitar el contacto del aceite con la probeta el dispositivo de tracción se cubre con un tubo de vidrio Pyrex, aislando de esta manera la probeta del líquido calefactor.

El volumen de líquido en el baño es de aproximadamente 15 litros.



**Fig. II.4.3: Máquina de tracción INSTRON 1122 con el dispositivo para ensayos a temperatura colocado**

El baño termostatzado se puede desplazar verticalmente con la ayuda del soporte del mismo que además sirve de guía; una vez ubicado en la posición deseada se lo fija mediante una llave mariposa.

#### **Control de temperatura del baño**

La temperatura del baño se controla mediante un controlador PID modelo Fast Heat Maestro series, utilizado en modo on-off (Fig. II.4.4).

El elemento de medición es un sensor del tipo Pt100.



**Fig.II.4.4 : en estas fotos se puede apreciar con más detalle el módulo de control y el controlador de temperatura**

Los resultados obtenidos con el baño termostatzado y el sistema de regulación de temperatura fueron altamente satisfactorios.

Las ventajas que presenta este sistema son:

- Homogeneidad térmica: debido a la conductividad térmica de la glicerina y a su baja viscosidad que permite mediante el agitador, mantener la circulación de glicerina y garantizar una temperatura constante en todo el baño.
- Estabilidad térmica: ésta se logra mediante un buen aislamiento y al volumen del baño (aproximadamente 15 litros), el cual presenta una gran inercia térmica frente a posibles fluctuaciones de la temperatura exterior.
- Rapidez para alcanzar la temperatura deseada y pronta recuperación: cuando se tiene que realizar el cambio de probeta para realizar un nuevo ensayo la temperatura se estabiliza y homogeiniza en un término de alrededor de 5 horas.
- Bajo costo y fácil construcción.

Desventajas:

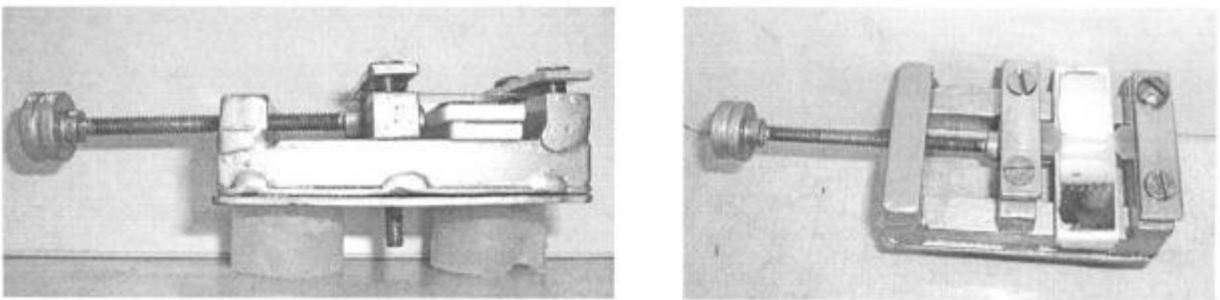
- Temperatura máxima de trabajo: está restringida por la temperatura de ebullición de la glicerina (aprox. 200°C).

### Mini-máquina de tracción

Con el motivo de realizar ensayos de tracción y poder observar "in situ" el cambio de la microestructura con la deformación se construyó una mini-máquina de tracción.

Esta máquina consta de un cabezal fijo y uno móvil. El cabezal móvil se desplaza por acción de un tornillo de paso 0.01 mm para asegurar que la deformación aplicada es pequeña ya que el material es frágil y admite poca deformación.

Para observar bajo el microscopio los cambios en la microestructura es necesario colocar un espejo debajo de la muestra para mejorar la iluminación sobre la probeta (Fig. II.4.5).



**Fig.II. 4.5: mini-máquina de tracción. Puede observarse el sistema de sujeción mediante un tornillo que se ajusta a la platina del microscopio mediante una mariposa; también se observa el espejo que debe ser colocado debajo de la probeta para optimizar la observación de la misma.**

Para saber la deformación aplicada a la probeta se realizó la curva de calibración de la mini-máquina que relaciona la deformación en función de la cantidad de vueltas del tornillo (Fig. II.4.6).

De esta manera es posible saber la deformación que sufre la probeta cuando se tracciona bajo el microscopio.

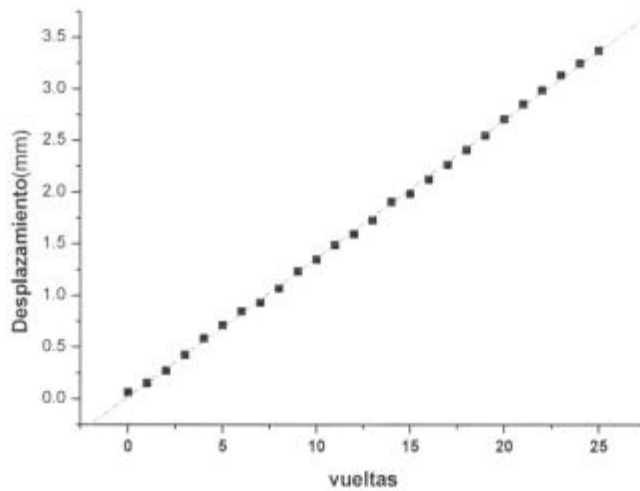


Fig. II. 4.6: curva de calibración de la mini-máquina de tracción.

El dispositivo de tracción puesto bajo el microscopio óptico se puede ver en la Fig.II.4.7.

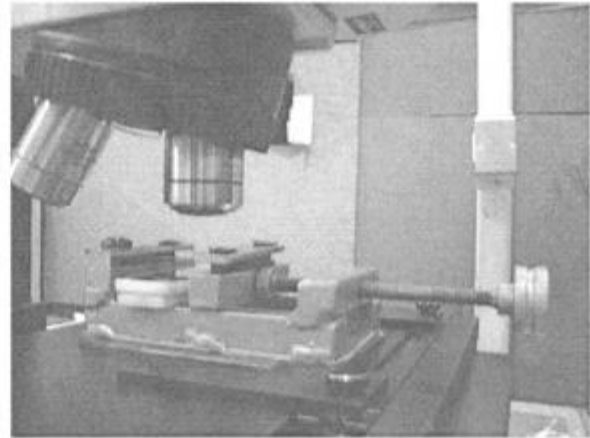


Fig. II.4.7: Dispositivo de tracción colocado bajo el microscopio

Mediante este método de trabajo fue posible observar los cambios en la microestructura del PHBV durante un ensayo de tracción.

### Recocido de las probetas

Para el recocido de las probetas se utilizó un baño termostático con glicerina. Las probetas no tuvieron contacto con la glicerina durante el recocido ya que fueron recubiertas con papel aluminio.

## II.5-Ensayos de tracción

### Envejecimiento

Los discos utilizados para los ensayos de envejecimiento fueron almacenados durante 15 días para luego ensayarlos según el siguiente cronograma:

**Día 0:** corte y medida de las probetas de tracción y recocido a 110°C durante 10 horas de la mitad de las probetas.

**Día 1:** ensayo de tracción a 3 muestras recocidas y 3 muestras sin recocer.

**Día 3:** ensayo de tracción a muestras recocidas.

**Día 5:** ensayo de tracción a muestras recocidas y sin recocer.

**Día 10:** ensayo de tracción a muestras recocidas.

**Día 15:** ensayo de tracción a muestras recocidas y sin recocer.

**Día 20:** ensayo de tracción a muestras recocidas.

El tratamiento térmico fue elegido según reportes bibliográficos al igual que el periodo de tiempo de envejecimiento estudiado.[4].

Los ensayos de tracción se realizaron en una máquina Instron 1122 a una velocidad de máquina de  $1.67 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$  a temperatura ambiente.

### A distintas temperaturas

Los ensayos a diferentes temperaturas se realizaron en una máquina de tracción universal Instron 1122 a una velocidad de máquina  $1.67 \cdot 10^{-5} \text{ mm/s}$ .

Las temperaturas a las que se realizaron los ensayos de tracción fueron: 298, 313, 323, 343, 363 y 393K.

### Observación de mecanismos de deformación del PHBV.

Para observar los mecanismos de deformación del PHBV se emplearon muestras con microestructura gruesa, revelada mediante el ataque ácido antes de efectuar la tracción. El tiempo de ataque se reduce a 5 minutos a fin de no deteriorar significativamente la estructura del material.

La tracción de las probetas se realiza en la minimáquina de tracción y se observan la aparición de los diferentes mecanismos de deformación: formación de estrías y bandas de deslizamiento.

### **Determinación de mecanismos de fractura**

Se ensayaron probetas de tracción a rotura en una máquina de ensayos Instron 1122 a una velocidad de deformación de  $1.67 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ .

Luego las muestras fracturadas se atacaron y se observó la superficie de fractura entre polarizadores cruzados en el microscopio óptico.

## Referencias

1. Amornsakchai T., Basset D.C., Olley R.H., Unwin A.P. y Ward I.M., "*Remnant morphologies in highly-drawn polyethylene after annealing*", *Polymer*, **42** (2001) 4117-4126.
2. Olley R.H., Hodge A.M. y Basset D.C., "*A permanganic etchant for Polyolephines*", *Journal of Polymer Science: Polymer Physics Editions*, **17** (1979) 627-643
3. Shahin M.M., Olley R.H., "*Novel Etching Phenomena in Poly(3-hidroxybutyrate) and Poly(oxymethylene) Spherulites*", *Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics*, **34** p. (2002) 124-133.
4. de Koning G.J.M., Lemstra P.J., "*Cristallization phenomena in bacterial poly [(R)-3-hydroxybutyrate]:2-Embrittlement and rejuvenation*", *Polymer*, **34** (1993) 4098-4094.

## Capítulo III

---

### Resultados

#### III.1- Ataque y revelado de la microestructura

##### Ataque ácido

La obtención de un ataque que permitiera revelar la microestructura del PHBV para ser vista bajo el microscopio óptico llevó a determinar la composición y el tiempo óptimo de ataque. En las siguientes micrografías, todas ellas obtenidas por microscopía óptica por reflexión ente polarizadores cruzados, se observa la secuencia de tiempos estudiada.

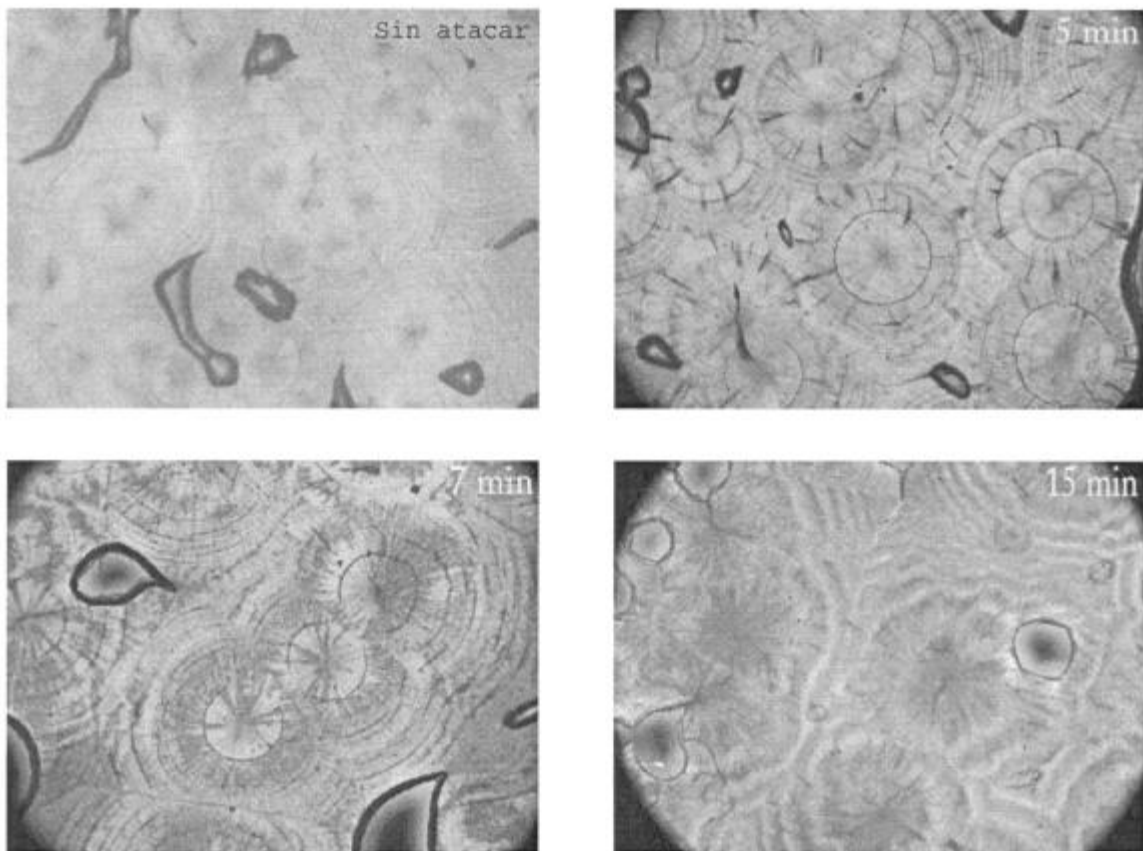
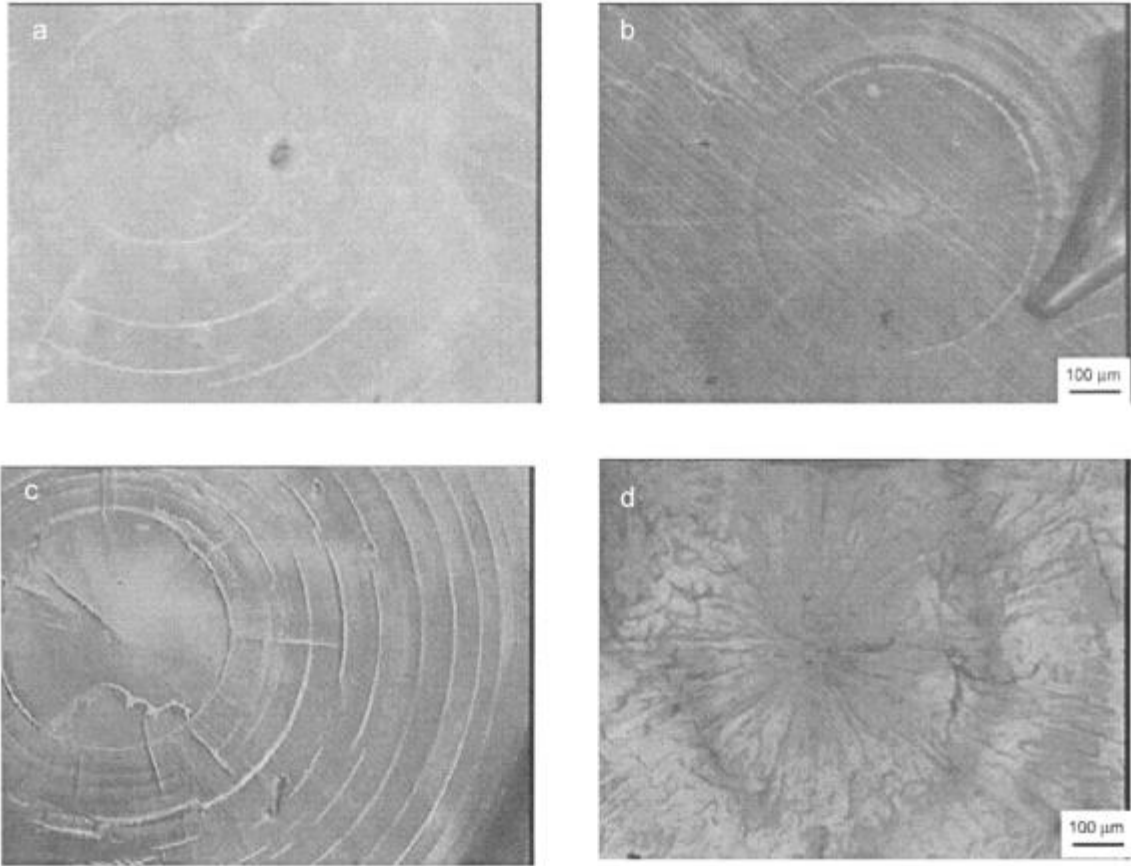


Fig III.1.1: Micrografías obtenidas con microscopio óptico con luz polarizada de muestras de 400  $\mu\text{m}$  de espesor, con los tiempos de ataque ácido indicados.

Las microestructuras para la misma secuencia de tiempos de ataque se puede observar en campo oscuro, donde se destaca el relieve producido por un ataque preferencial en defectos de la microestructura.

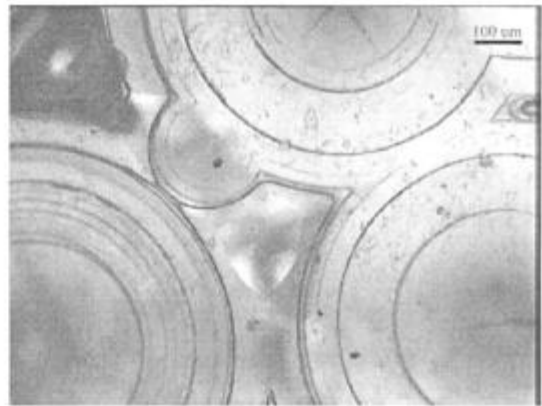
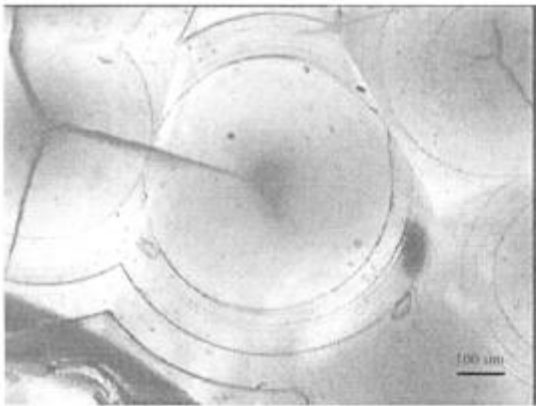
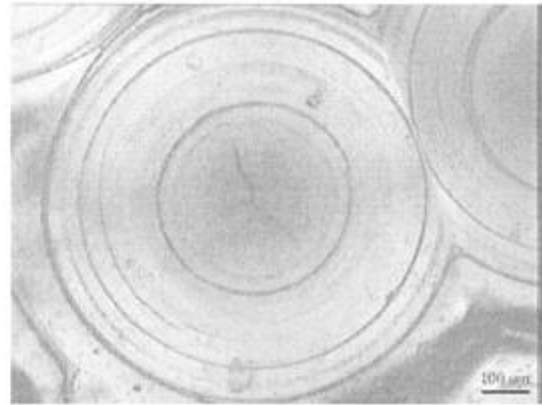
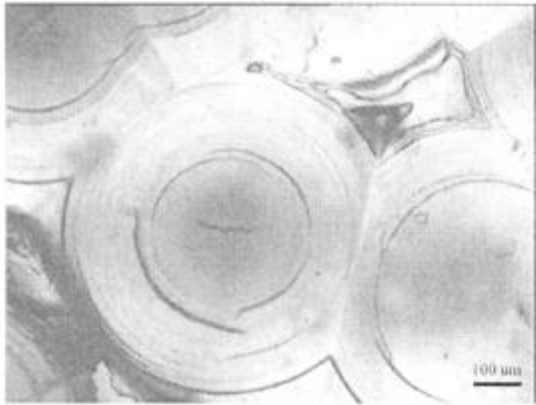


**Fig. III.1.2:- Micrografías con campo oscuro a- sin ataque; atacadas durante b- 5 min, c- 7 min y d- 15 min.**

El tiempo de ataque óptimo que se determinó en base a estos resultados es de 7 minutos.

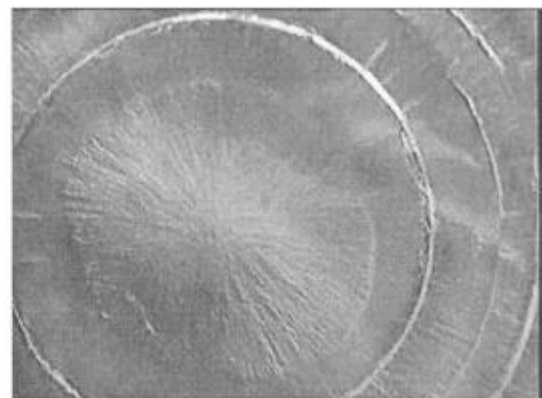
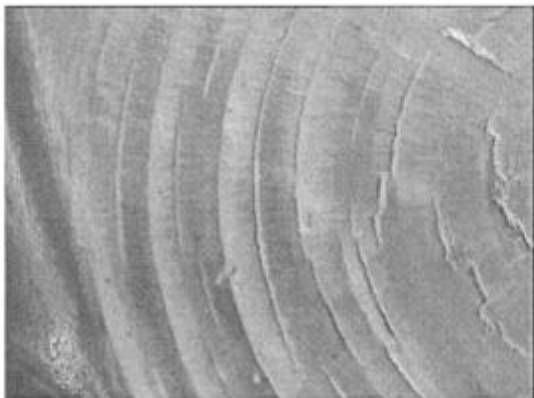
Con este tiempo se logró un buen revelado de la microestructura y buena calidad de micrografías para espesores de probeta que van desde 250 a 400  $\mu\text{m}$ .

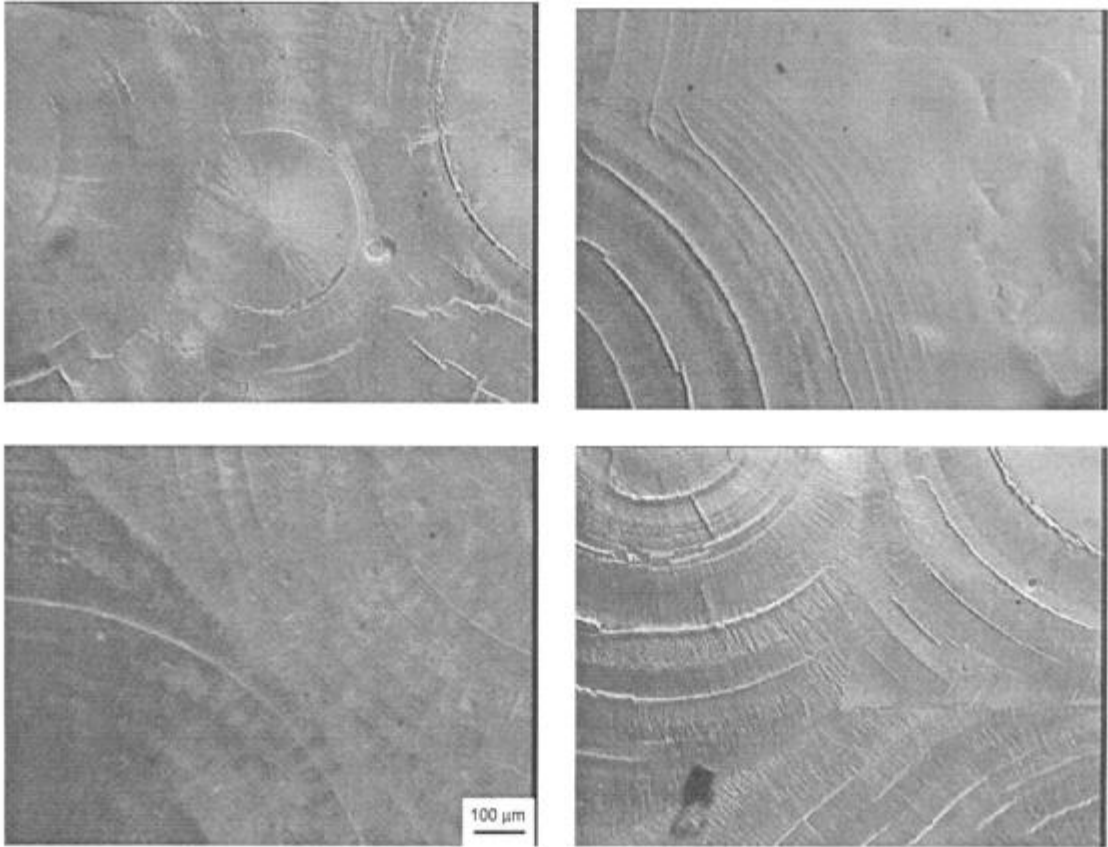
En las muestras más delgadas es posible apreciar colores, ya que como son vistas por reflexión en un microscopio óptico con luz polarizada, la luz reflejada que atraviesa la muestra tiene mayor intensidad en las muestras más delgadas. Se puede ver este efecto comparando la coloración de las Figs. III.1.1 y III.1.3.



**Fig.III.1.3: micrografías de muestras de 250 μm de espesor**

En las siguientes micrografías de campo oscuro se observa con detalle el centro de nucleación, las bandas de crecimiento y los límites interesferulíticos entre 2 ó 3 esferulitas.





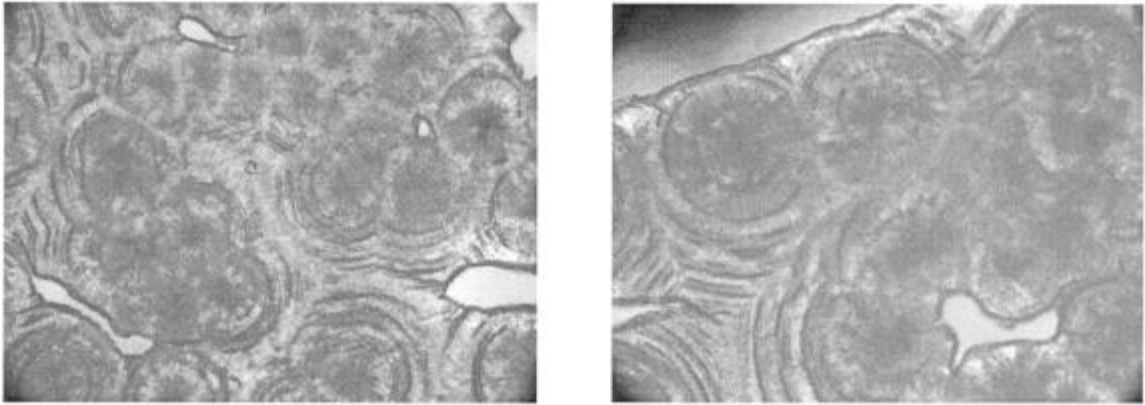
**Fig.III.1.4 : Micrografías con campo oscuro: arriba, estructura de bandas; en el medio, centros de nucleación y esferulitas de diferentes tamaños; abajo, límite entre 2 esferulitas y un punto triple.**

### **Ataque básico**

Se realizaron dos ataques con hidróxido de potasio: el Ataque 1 utilizando como solvente metanol y el Ataque 2, etanol.

#### **Ataque 1**

Las micrografías que se muestran a continuación (ver Fig.III.1.5) son el resultado del ataque con hidróxido de potasio disuelto en una solución de metanol en agua destilada.

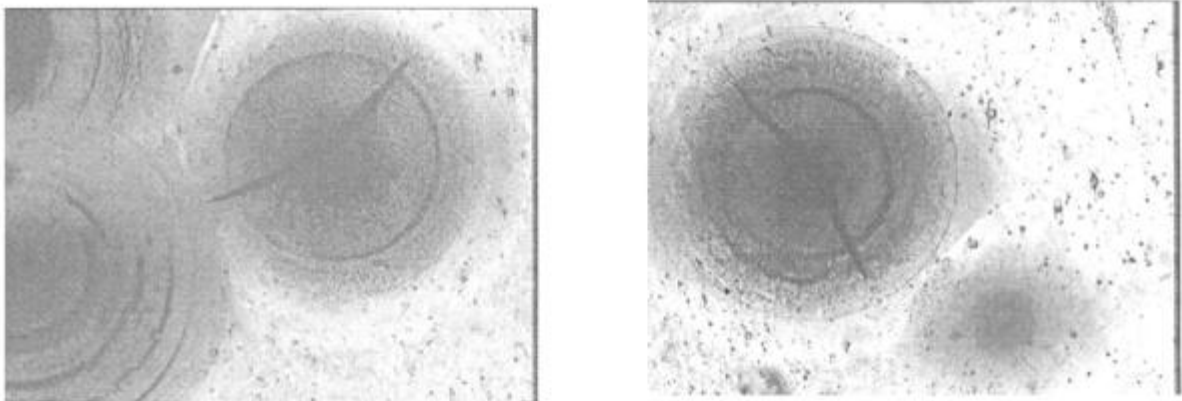


**Fig.III.1.5: Microestructura de muestra de 400µm de espesor, atacada con solución básica 1 durante 15 min a 40°C, vista con un aumento de 50x.**

### **Ataque 2**

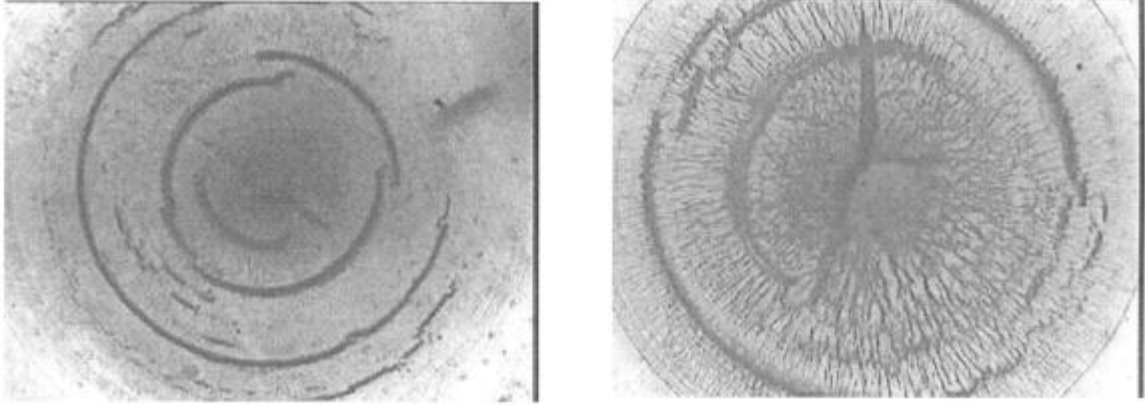
Los resultados obtenidos con el ataque 2, que consta de hidróxido de potasio disuelto en etanol, se pueden ver en la Fig III.1.6.

En estas micrografías donde la muestra es más delgada (aproximadamente 300µm) es posible ver cómo aparecen colores alrededor de las esferulitas por efecto de la fotoelasticidad del material, ya que alrededor de las esferulitas tenemos un campo de tensiones originado durante la cristalización.

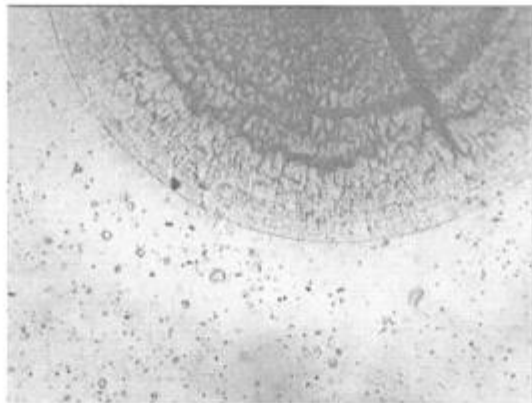


**Fig.III.1.6: Esferulitas reveladas con el ataque básico 2, vistas con microscopio óptico con luz polarizada con un aumento de 50x.**

A mayor aumento el ataque básico revela pequeñas fisuras radiales y circunferenciales formadas durante la solidificación del cristal polimérico (Fig.III.1.7 y III.1.8)



**Fig.III.1.7: Micrografías de esferulitas reveladas con ataque básico 2. 100X.**



**Fig.III.1.8: Detalle del borde de esferulita donde puede observarse también la parte amorfa que se encuentra alrededor de los cristales.**

## III.2- Comportamiento mecánico

### III.2.1-Envejecimiento y recuperación

#### Necesidad de un tratamiento térmico

Al comienzo de la tesis se realizaron ensayos de muestras del material recién fundidas, para establecer la variación del módulo tensil y de la tensión de fluencia con la velocidad de deformación.

Quince días después de la preparación de las muestras se intentó repetir algunos ensayos; al hacerlo los resultados obtenidos fueron muy diferentes, como se puede ver en la Fig. III.2.1

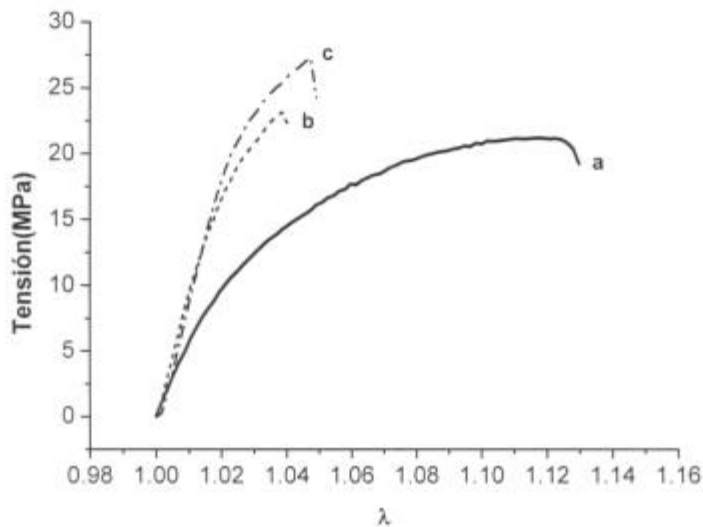


Fig.III.2.1: Tensión vs. elongación a  $1.67 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ , para: a- probeta de PHBV recién fundida, b y c: 15 días después de moldeadas.

Se infirió que después de 15 días de almacenamiento las probetas habían envejecido.

#### Tracción de probetas envejecidas

Se traccionaron probetas de PHBV a una velocidad de deformación de  $1.67 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ , luego de 15, 22 y 30 días de almacenamiento.

Las curvas tensión - elongación resultantes se muestran en la Fig.III.2.2.

De estas curvas se obtuvieron los valores de módulo tensil y tensión de fluencia ( $\sigma_{0.2}$ ) que se consignan en la Tabla III.2.1.

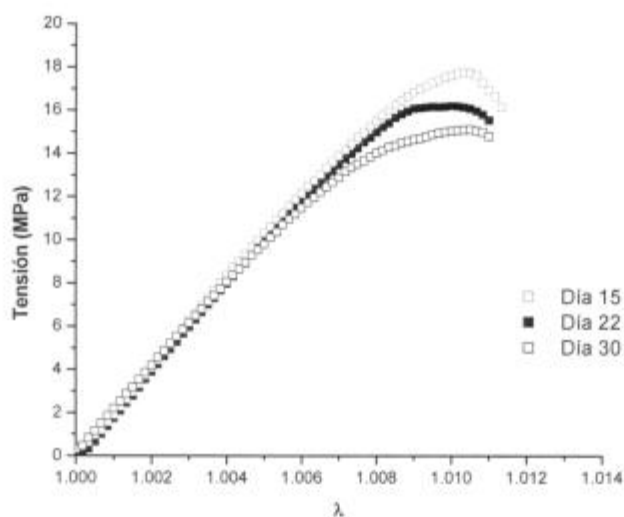


Fig.III.2.2: Tensión vs. elongación de las probetas envejecidas 15, 22 y 30 días.

Tabla III.2.1 Módulo tensil y  $\sigma_{0.2}$  para PHBV envejecido 15, 22 y 30 días.

Días de almacenamiento	E (GPa)	$\sigma_{0.2}$ (MPa)
15	2.15	17.7
22	1.98	15
30	2.12	16.1

Entonces se trató de buscar un tratamiento térmico adecuado para fijar la microestructura durante el trabajo experimental.

Siguiendo antecedentes de la literatura para PHB [1,2], el tratamiento térmico utilizado para probetas de PHBV que tenían 15 días de almacenamiento fue un recocido a 110°C durante tiempos que se extendieron entre 1 y 10 horas.

### Tracción de probetas recocidas

En la figura III.2.3 se puede observar el cambio en el comportamiento del material después de recocido.

Para comprobar si se había logrado fijar la estructura del PHBV se realizaron ensayos de tracción a una velocidad de deformación de  $1.67 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$  a muestras inmediatamente después del tratamiento térmico (0 días) y 3, 7 y 15 días después del mismo; la Fig. III.2.4 ilustra la respuesta en tracción en cada caso.

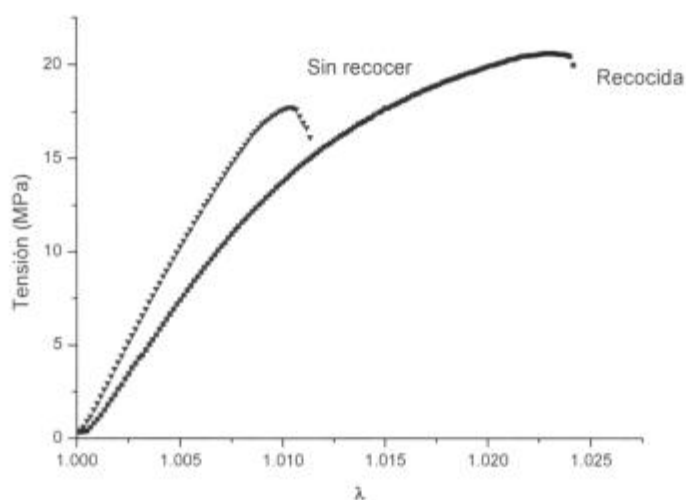


Fig.III.2.3:curva tensión – elongación para el material recocido y sin recocer

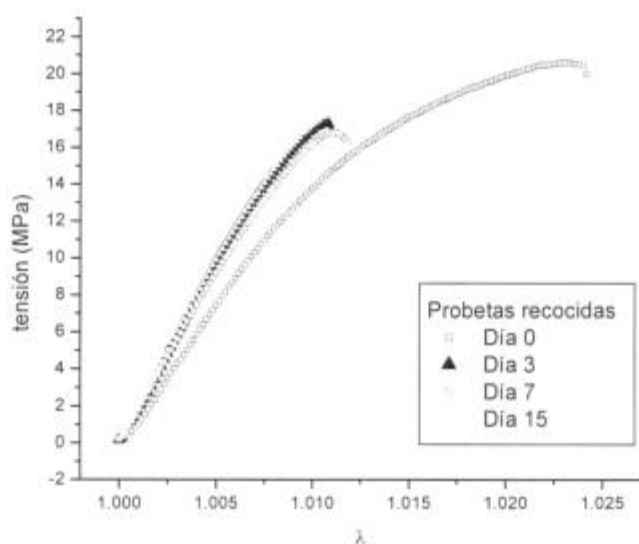


Fig. III.2.4: Tensión vs. elongación de PHBV después del recocido a 110°C durante 10 hs.

Se puede observar en la Fig.III.2.3, que apenas recocidas las propiedades mejoran respecto al material sin recocer, pero con el paso del tiempo vuelve a fragilizarse.

Los datos correspondientes a los ensayos realizados a las probetas recocidas se pueden ver en la Tabla III.2.2.

Tabla III.2.2 Cambio en el módulo tensil y  $\sigma_{0.2}$  a medida que transcurrían los días desde el tratamiento térmico de recocido

Día	E (GPa)	$\sigma_{0.2}$ (MPa)
0	1.49	15.2
3	1.72	17.6
7	1.86	17
15	1.99	17.8
20	2.22	20.1

### III.2.2- Dependencia del módulo tensil con la temperatura

Se realizaron ensayos a la velocidad de deformación de  $1.67 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ , a temperaturas entre 25 y 120°C en probetas recocidas con 35 días de almacenamiento.

Los resultados de los ensayos de tracción se muestran en la Fig. III.2.5

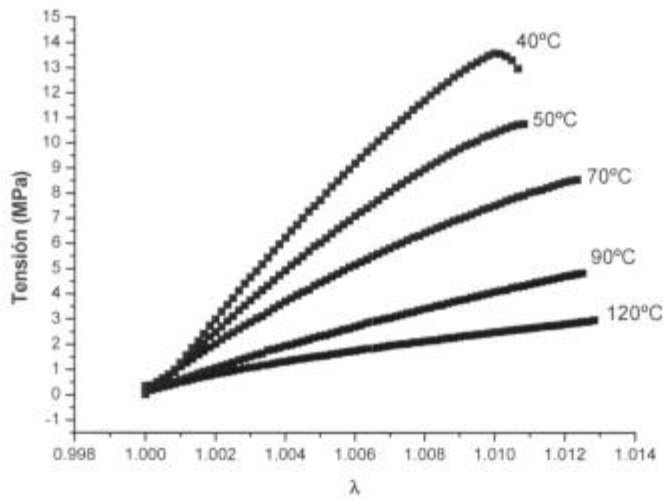


Fig.III.2.5.-:Curvas de Tensión – elongación para muestras de PHBV a diferentes temperaturas de ensayo

De estas curvas se determina el módulo tensil para c/temperatura, tal como se consigna en la tabla III.2.3

Tabla III.2.3 : Dependencia del módulo tensil del PHBV con la temperatura

T (K)	E (GPa)
298	2.22 ± 0.05
313	1.70 ± 0.05
323	1.53 ± 0.05
343	0.90 ± 0.05
363	0.62 ± 0.05
393	0.35 ± 0.05

La dependencia del módulo tensil con la temperatura para polímeros semicristalinos petroquímicos está dada por la siguiente relación empírica [3]

$$\log [E_{(tr)}/ E_{(t)}] = C [(T_m/T_r - T_m/T) / (T_m/T_r - 1)] \quad (3.1)$$

si  $T > T_g$ , donde  $T_m$  y  $T_g$  son las temperaturas de fusión y transición vítrea respectivamente, y  $E_{(t)}$  y  $E_{(tr)}$  son los valores del módulo a la temperatura  $T$  y a la de referencia,  $T_r$ , respectivamente.

Como no hay antecedentes de la dependencia del módulo tensil con la temperatura para políesteres biodegradables, a continuación mostraremos que esta expresión puede extenderse a estos biomateriales y compararemos el valor de la constante  $C$  con la correspondiente a los plásticos petroquímicos.

La ecuación 3.1 puede reescribirse como

$$\log E(T) = A + B * T_m/T \quad (3.2)$$

con

$$A = \log E(T_r) - C / (1 - T_r/T_m) \quad (3.3)$$

y

$$B = C / (T_m/T_r - 1). \quad (3.4)$$

Luego, considerando los datos de la Tabla III.2.3, la representación  $\log E(T)$  vs.  $1/T$  que se ilustra en la Fig.III.2.6 muestra que se verifica la ecuación (3.2) permite determinar la constante  $C$ .

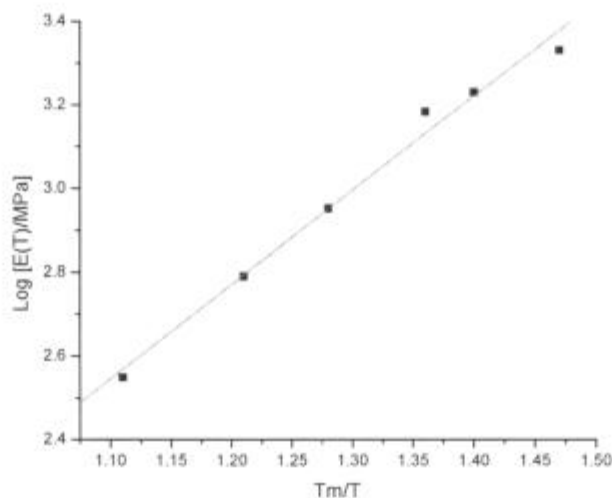


Fig. III.2.6:  $\log E(T)$  vs.  $T_m/T$

Reemplazando en las ecs. (3.3) y (3.4) los valores de la pendiente y la ordenada al origen de la regresión lineal de la Fig.III.6 y considerando  $T_r = 298\text{K}$ , resulta:

$$C = 1.058$$

$$E(T_r) = 2.37 \text{ GPa}$$

De los datos que se reportan en la literatura acerca de la dependencia del módulo tensil con la temperatura para polímeros semicristalinos se encontró [3].

$$C = 1.15.$$

$$C_{\text{calculado para PHBV}} = 1.058$$

Se pueden comparar los valores del módulo tensil calculado con el medido

$$E_{\text{calculado}} = 2371 \text{ MPa}$$

$$E_{\text{medido}} = 2220 \text{ MPa}$$

## III.3- Mecanismos de deformación

### III.3.1-Crazing o estriado

Con microscopía óptica con luz polarizada se observó la formación de estrías en el polímero amorfo sometido a ataque ácido (ver Fig. III.3.1).

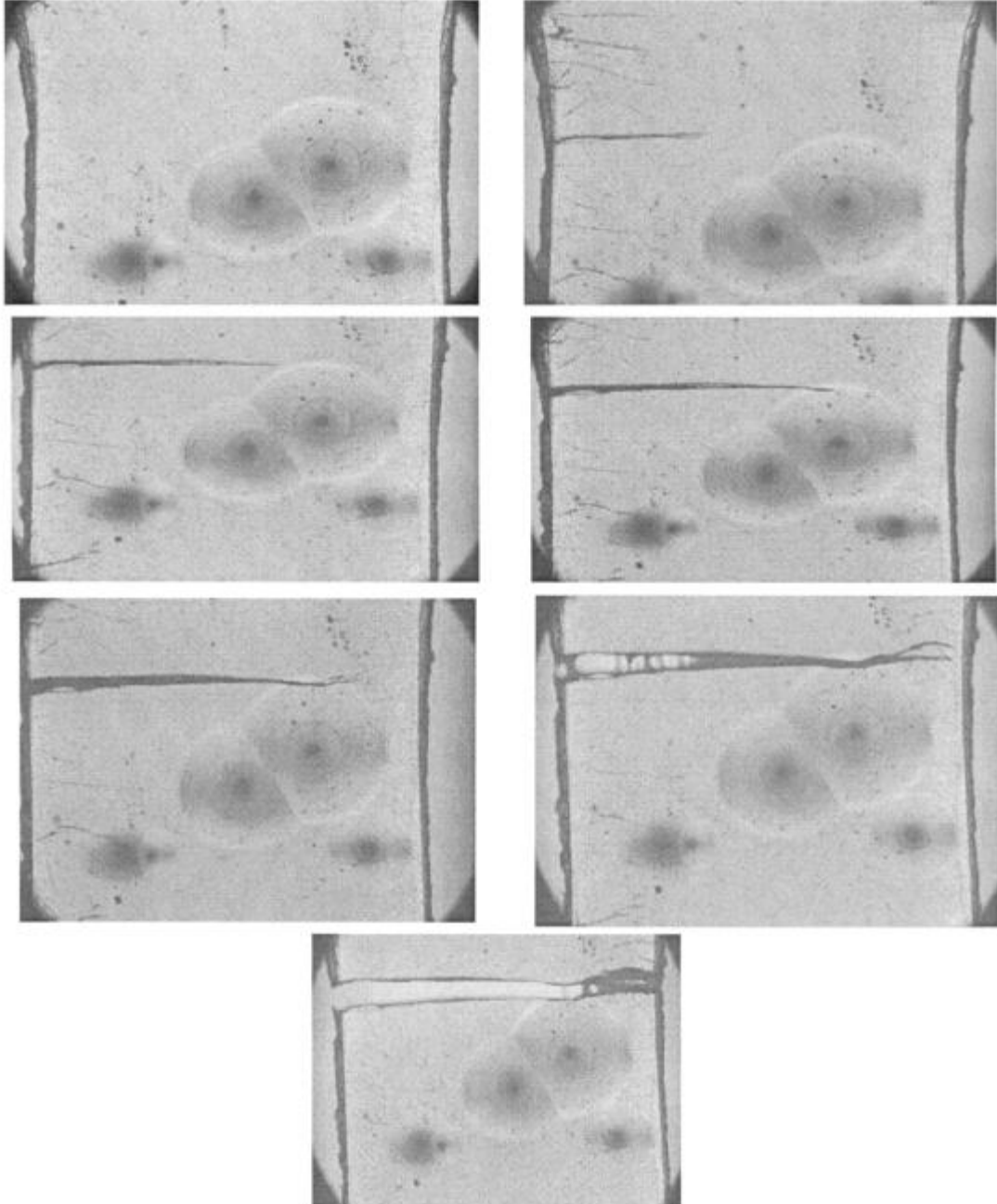
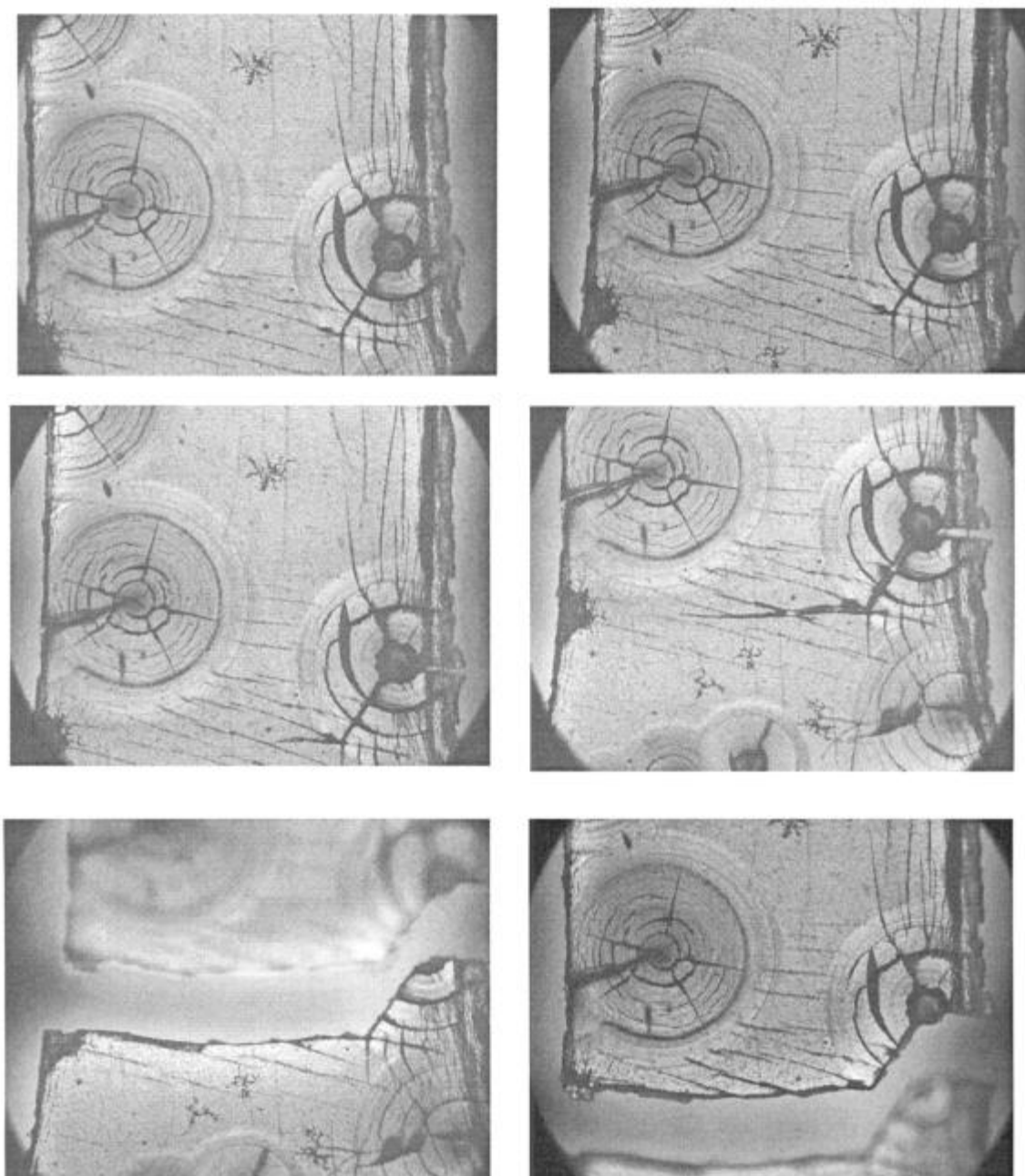


Fig. III.3.1: secuencia de rotura de una probeta ensayada en la minimáquina de tracción; se puede observar la formación de l estrías en la parte amorfa del material, las cuales al aumentar la tensión aplicada llevan a la rotura del material.



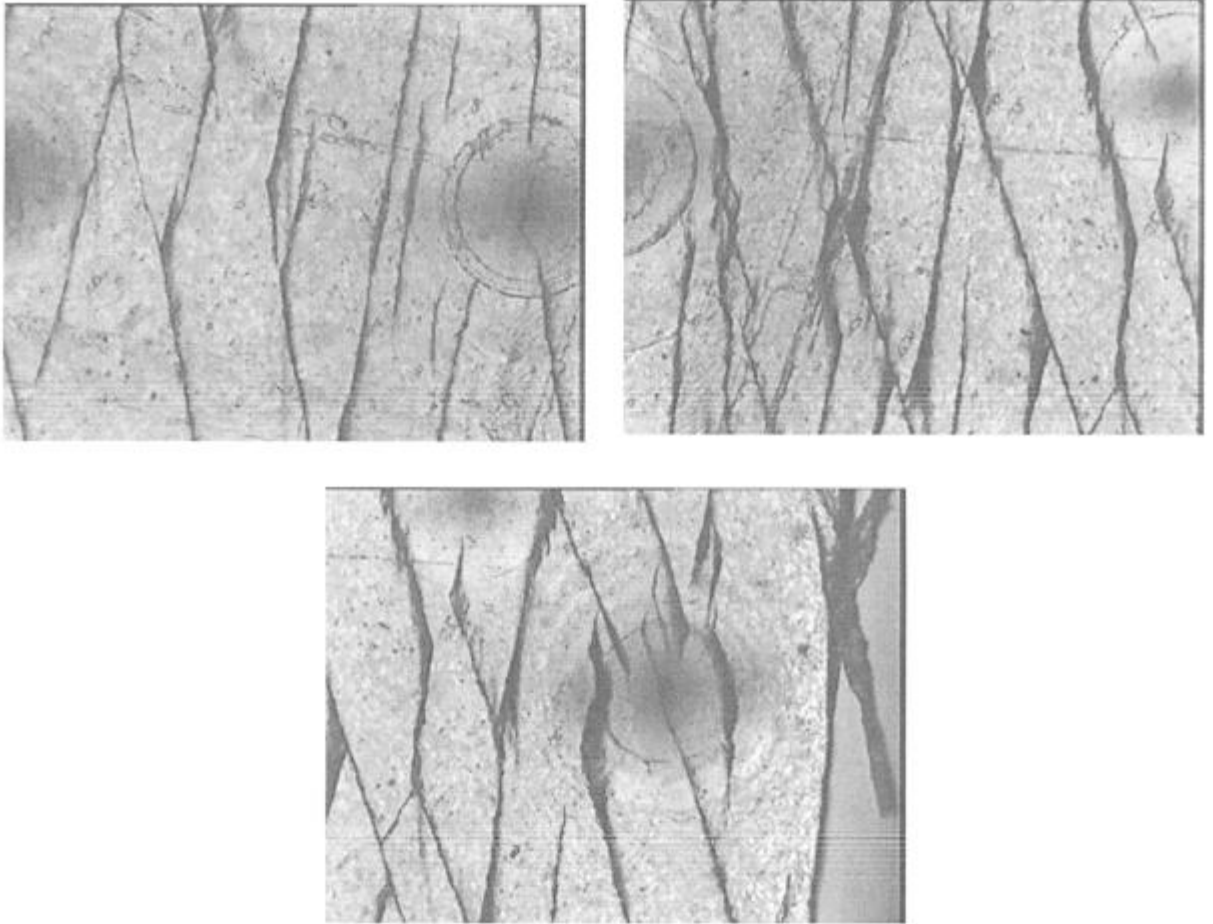
**Fig III.3.2:** En esta secuencia puede observarse que la fractura comienza en un fisura radial y luego se propaga por las estrias hasta la rotura.

### **III.3.2-Bandas de deformación**

Por el mismo método de ataque que el que se utilizó para ver el estriado también se pudo visualizar el segundo mecanismo de deformación de polímeros: las bandas de deslizamiento.

Las probetas donde se encontró este mecanismo, tuvieron un comportamiento muy frágil, por lo cual las micrografías fueron hechas a probetas rotas por tracción (ver

Fig.III.3.3). También en la misma figura es posible visualizar la presencia de colores debido a la fotoelasticidad del material ya que alrededor de las esferulitas se genera un campo de tensiones debido a la cristalización.

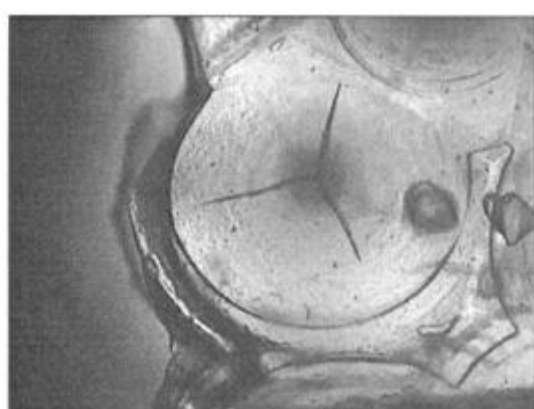
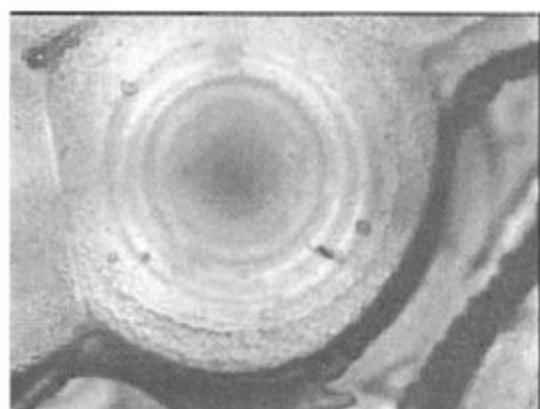


**Fig.III.3.3:** micrografías de muestras de polímero semicristalino traccionado hasta rotura donde pueden observarse las bandas de deformación formadas en el material donde la dirección de tracción es la horizontal.

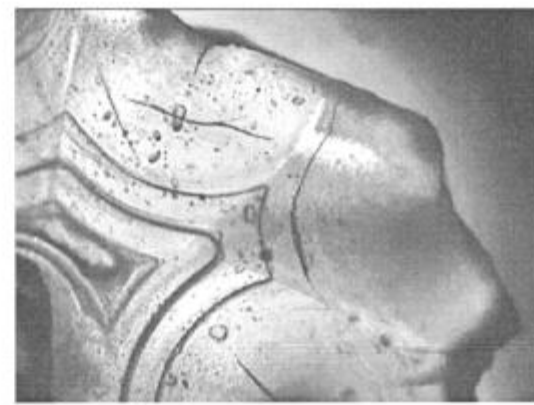
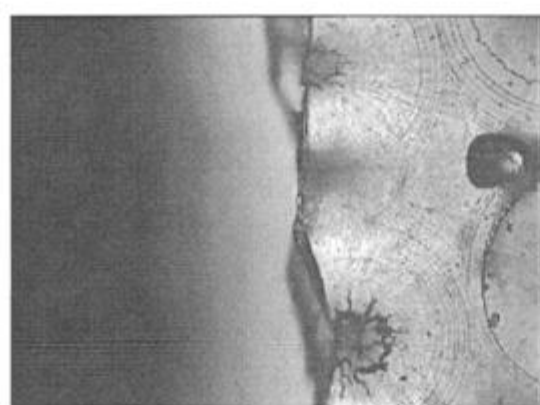
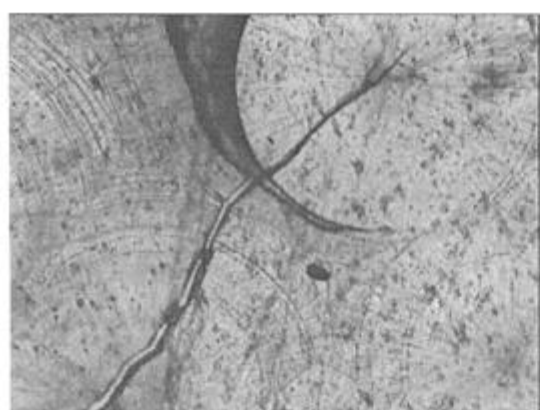
### **III.4- Mecanismos de fractura del PHBV**

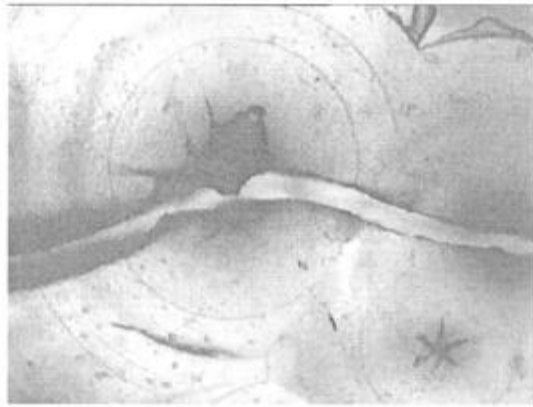
Para determinar los mecanismos de fractura del PHBV se ensayaron probetas con la máquina de tracción Universal INSTRON 1122 hasta rotura y luego se atacaron con el ataque ácido.

En las micrografías obtenidas se pueden observar tres mecanismos de fractura cuando el PHBV tiene una estructura gruesa: propagación de grietas circunferenciales (ver Fig.III.4.1), radiales (Fig.III.4.2) y por borde de esferulita (Fig. III.4.3).

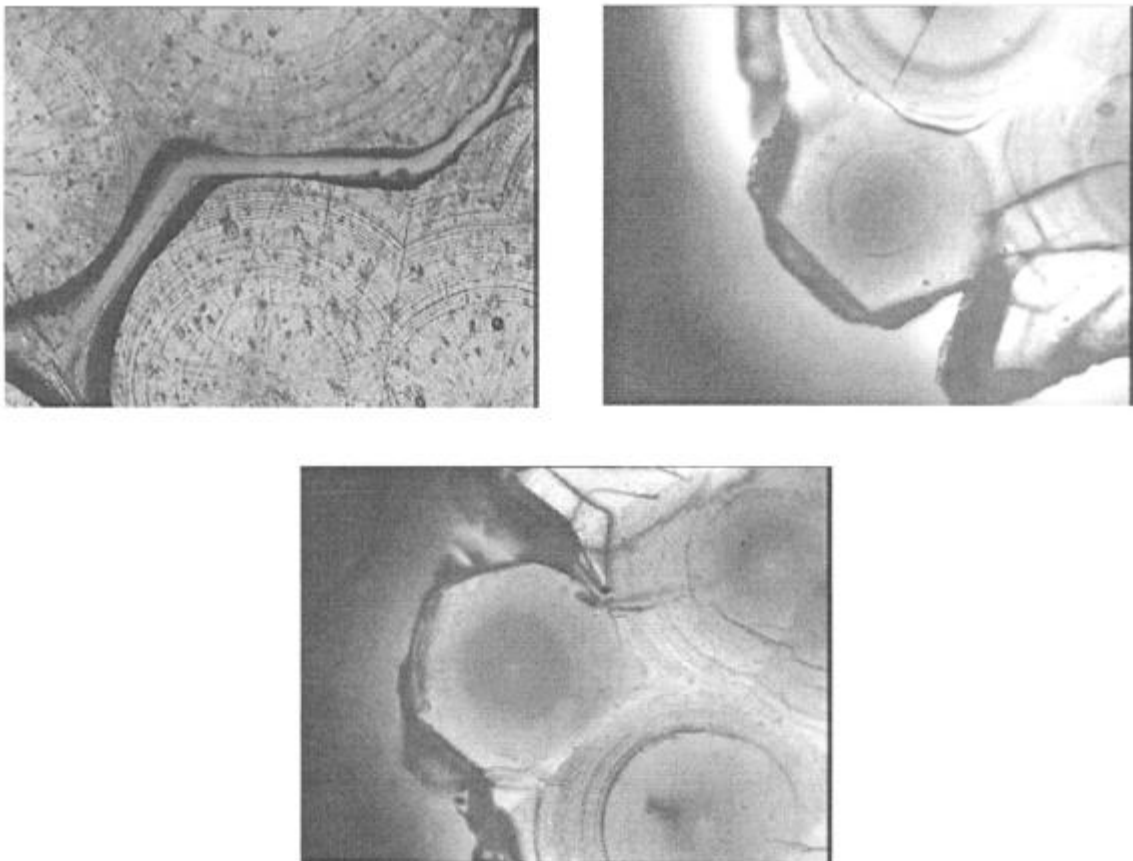


**Fig.III.4.1: Micrografías ópticas de la ruptura del material por propagación de la fisura por grietas circunferenciales.**





**Fig.III.4.2:** micrografías ópticas de la fractura ocurrida por propagación de grietas radiales



**Fig.III.4.3:** micrografías que ilustran la propagación de la fisura por el borde de esferulita.

Pudo observarse que el mecanismo que aparecía con mayor frecuencia era el de ruptura por propagación de la fisura por las grietas radiales.

No se pudo determinar si existía una tensión umbral para la propagación de fisuras por cada uno de los mecanismos observados para lo cual se requeriría montar una minimáquina de tracción con celda de carga para registrar la carga mientras se

observan los defectos presentes. Esta experiencia está proyectada como continuación de este trabajo.

## Referencias

1. de Koning G.J.M., Lemstra P.J., " *Crystallization phenomena in bacterial poly[(R) – 3- hydroxybutyrate]: 2. Embrittlement and rejuvenation*", *Polymer*, **34** (1993) 4089-4094.
2. de Koning G.J.M., Scheeren A.H.C., Lemstra P.J., " *Crystallization phenomena in bacterial poly[(R) – 3- hydroxybutyrate]: 3. Toughening via texture changes*", *Polymer*, **35**, (1994), 4598-4605.
3. Van Krevelen D.W., " *Properties of polymers: Their correlation with chemical structure;their numerical estimation and prediction from additive group contributions*", Third completely revised edition, Elsevier, The Netherlands, (1997).

## Capítulo IV

---

### Discusión

#### IV.1- Microestructura

En este trabajo se asumió que los cristales que forman las esferulitas están formados por lamelas que rotan alrededor del eje radial; estas lamelas se ubican una tras otra formando un cierto ángulo con la lamela anterior y esta distribución da lugar a la formación de bandas las cuales se ven en las láminas delgadas.

Esta teoría se pudo comprobar en cristales de polietileno [1]. En la Fig. IV.1 se puede observar la curvatura de las lamelas y la variación del ángulo de las mismas en la dirección radial.

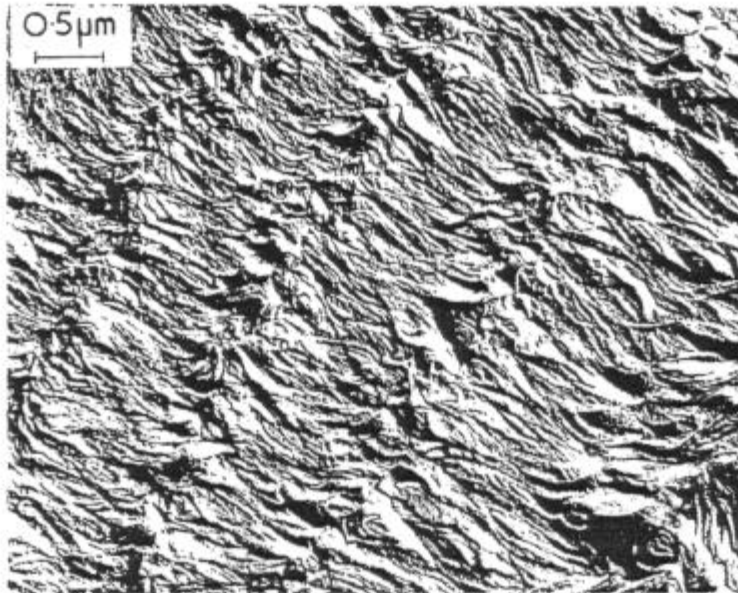


Fig. IV.1: Bandas de las esferulitas de polietileno. Nótese la curvatura de las lamelas alrededor del radio y la variación de los ángulos de la lamelas con la dirección radial. [1].

A partir de fotografías sacadas con microscopio electrónico de barrido se puede observar que la distribución lamelar en el PHBV es similar a la del polietileno. (ver Fig. IV.2)

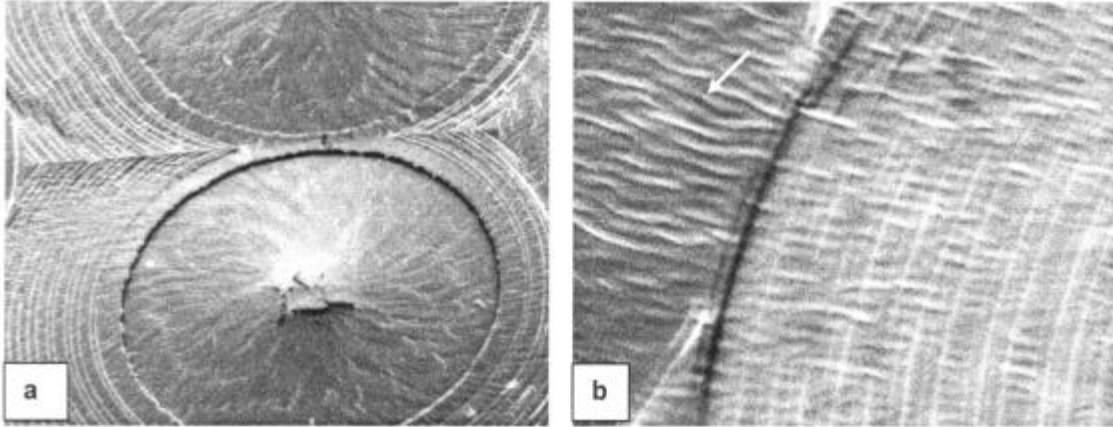


Fig. IV.2: Micrografías de PHBV vistas con SEM: a- Aumento 320X b- Aumento 1520X La flecha indica las lamelas con diferente orientación

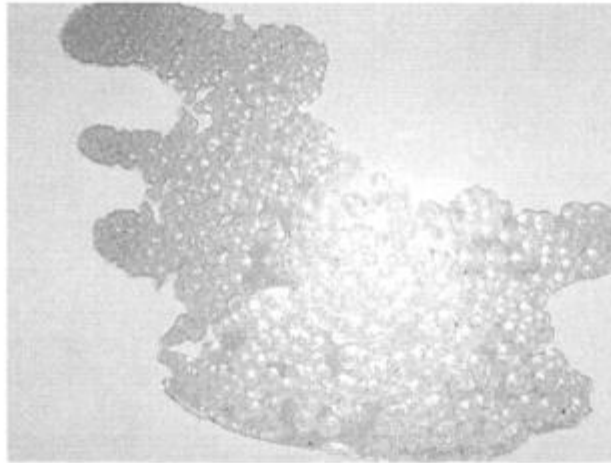
#### IV.1.1- Sobre la preparación de muestras

Para poder cumplir con los objetivos propuestos en este trabajo fue necesario analizar con qué tipo de microestructura era más propicio trabajar.

En efecto, para definir los rasgos de la microestructura al ser revelada es conveniente emplear muestras de estructura gruesa, es decir, donde las esferulitas adquieran un tamaño de entre 100-300  $\mu\text{m}$  de diámetro.

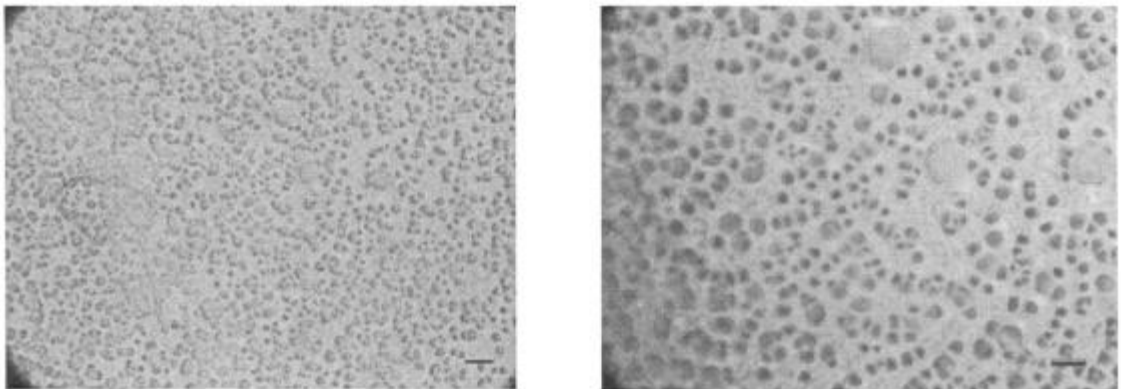
El tamaño de esferulita se controla con la velocidad de enfriamiento; de modo que los discos de los cuales se cortaron las probetas destinadas al ataque fueron enfriados lentamente. Debe tenerse en cuenta que si el enfriamiento es extremadamente lento el tamaño de las esferulitas puede llegar a ser de varios milímetros de diámetro como se ve en la Fig.IV.1.1

Los discos de donde se cortaron las probetas para medir propiedades mecánicas fueron templados al aire a fin de obtener una microestructura fina para mejorar las propiedades mecánicas. Así se logran esferulitas más pequeñas, menos fisuradas y una microestructura menos tensionada, lo que mejora la respuesta mecánica del material.



**Fig. IV.1.1: Muestra de PHBV enfriada en la placa calefaccionada.**

La Fig.IV.1.2- muestra una micrografía donde se puede observar el tamaño de las esferulitas de las probetas ensayadas a tracción.



**Fig.IV.1.2-:A la derecha: microestructura revelada con ataque ácido; la barra de medida corresponde a 100  $\mu\text{m}$ . A la izquierda: misma microestructura vista con mayor aumento; la barra de medida representa 50  $\mu\text{m}$ .**

#### **IV.1.2- Ataque y revelado de la microestructura**

De los resultados obtenidos para los ataques químicos realizados a las muestras surge la tabla IV.1.1 donde puede observarse la comparación entre el ataque ácido y básico.

Los ítems a evaluar para la comparación de las dos técnicas son: la facilidad de preparación de las mezclas de revelador, la solución para el lavado y también los procedimientos de ataque, lavado y secado de las muestras.

El tiempo de ataque es el tiempo durante el cual la muestra se mantiene sumergida en la solución.

La definición de la microestructura se refiere a cómo el ataque permite ver los diferentes rasgos de la microestructura; las bandas de crecimiento, los centros de nucleación, las fisuras radiales y circunferenciales y la resolución máxima se refiere a cuál es el mayor aumento al que puedo enfocar el objetivo para ver la muestra.

La utilización de una u otra técnica depende fundamentalmente del uso que se le quiera dar a la muestra atacada después de revelada. Como el ataque ácido es mucho más destructivo que el básico, para observar la microestructura y hacer mediciones de tamaño de esferulita, espaciado entre bandas, etc. el ataque ácido es el más indicado por su buena definición. En cambio, para observar aparición de defectos durante un ensayo de tracción es más adecuado utilizar el ataque básico ya que preserva la integridad de la muestra.

**Tabla IV.1.1**

	<b>Ataque ácido</b>	<b>Ataque básico</b>
<b>Facilidad de preparación</b>	menor	Mayor
<b>Tiempo de ataque</b>	7 minutos	15 minutos
<b>Temperatura</b>	60°C	40°C
<b>Peligrosidad de los reactivos</b>	alta	Media
<b>Tiempo de secado de las muestras</b>	≅ 24 hs	≅ 3hs.
<b>Definición de la microestructura</b>	muy buena	Buena
<b>Resolución máxima</b>	100x	200x
<b>Duración del revelado</b>	48 hs.	varios días

Ambas soluciones actúan de un modo análogo, atacando preferencialmente la zona amorfa del polímero por ser más desordenada, es decir, por presentar mayor energía libre.

El tiempo de ataque es una variable muy importante a tener en cuenta ya que tanto el ataque ácido como el básico son capaces de hidrolizar la probeta en su totalidad en un corto período de tiempo.

La mayor agresividad del ataque ácido se debe a que la hidrólisis ácida es una reacción de equilibrio, o sea, reversible por lo que se hace necesario utilizar concentraciones elevadas de los ácidos; a esto se agrega la acción oxidante del permanganato de potasio.

La hidrólisis de la fase amorfa se produce a una velocidad cuatro órdenes de magnitud mayor que la hidrólisis de la parte cristalina, esto hace posible que el ataque revele la microestructura.

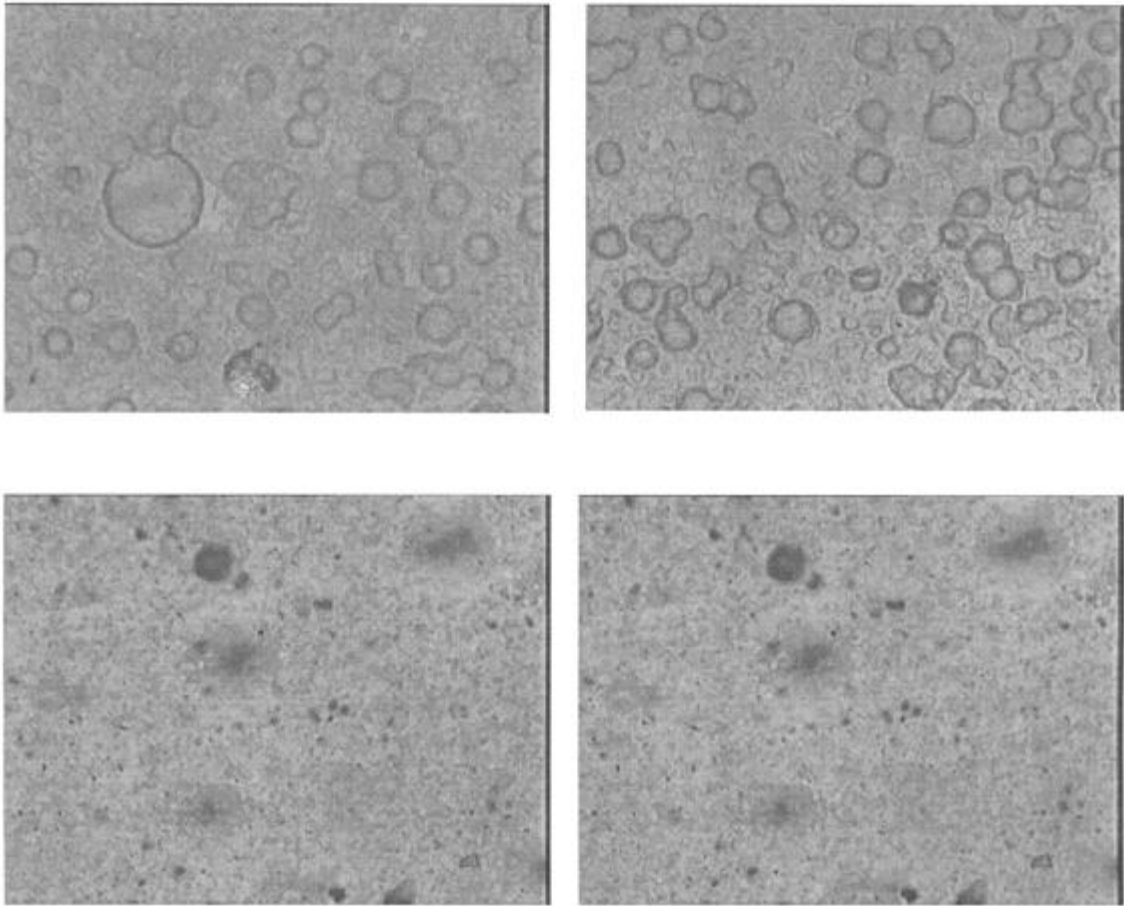
En cambio, en el ataque básico la concentración de álcali es baja y a pesar de ser una reacción total resulta menos agresiva que la del ataque ácido debido a la diferencia en concentración.

Como la reacción básica es total e irreversible, con poca concentración de base es posible atacar la fase amorfa que rodea las esferulitas para poder evidenciar la estructura.

#### **IV.1.3- Microestructura de muestras recocidas**

Una vez desarrollado el ataque que hizo posible la visualización de la microestructura, con esta nueva herramienta se analizaron los cambios producidos por el tratamiento térmico realizado a las probetas para eliminar el envejecimiento [2].

En la figura IV.1.3 pueden verse los cambios en la microestructura después del tratamiento térmico.



**Fig.IV.1.3: Microestructura de dos regiones de una muestra de PHBV revelada con ataque ácido: sin recocer (arriba) y recocidas (abajo).**

De las micrografías de muestras antes y después de recocer se puede ver que la cantidad de esferulitas disminuye después del recocido. Esto puede explicarse si se considera que las esferulitas existentes luego del tratamiento térmico son las formadas a altas temperaturas y hay menos cantidad porque al aumentar la temperatura disminuye la cantidad de núcleos que alcanzan el radio crítico y pueden crecer debido a la agitación térmica.

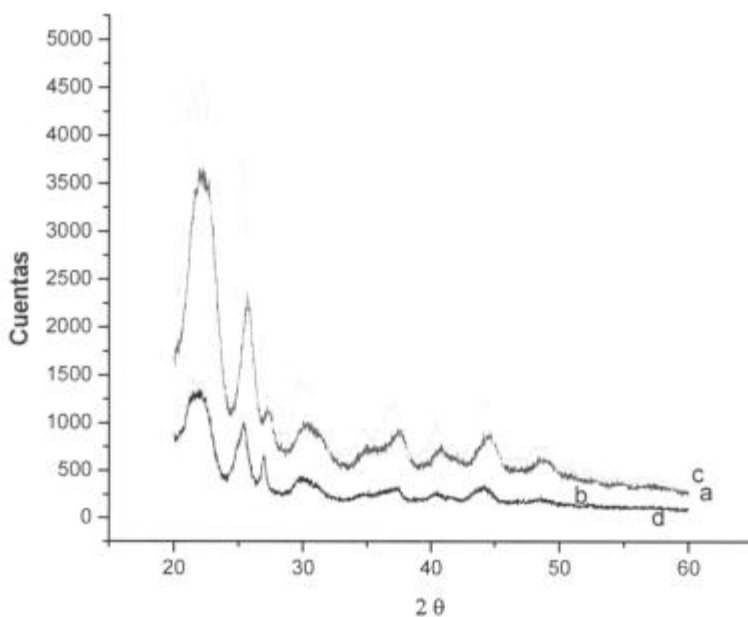
Luego al templar las probetas al aire se detiene la nucleación y crecimiento de los cristales dejando la microestructura con menor cantidad de esferulitas rodeada de parte amorfa remanente.

#### IV.1.4-Cambios microestructurales por envejecimiento y recocido

Si bien no se esperaba que el envejecimiento o el tratamiento térmico produjeran transformaciones de fase o cambios en los parámetros de red de la celda unitaria [refwide angle], se estudiaron ambas posibilidades mediante difracción de RX.

La Figura IV.1.4 permite comparar los espectros correspondientes a muestras almacenadas 25 y 35 días a temperatura ambiente, almacenada 15 días y sometida a un tratamiento de recocido a 110°C por 10 horas y luego almacenada 10 días y otra con el mismo tratamiento pero con un tiempo de almacenamiento de 20 días. La posición de los picos no cambia, solo cambia la altura de los mismos.

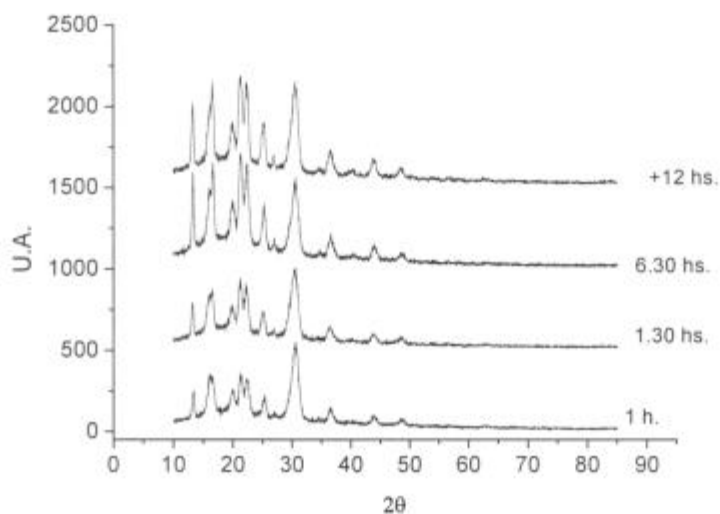
La Fig.IV.1.4 muestra que en los espectros no cambia la posición de los picos sólo cambia la altura de los mismos ( todos los espectros tienen el mismo fondo).



**Fig. IV.1.4: los espectros de la figura corresponden a muestras con los siguientes tratamientos: a) almacenada 25 días, b) almacenada 35 días; c) muestra recocida (110°C, 10 h) y almacenada 10 días y d) recocida (100°C, 10h) y almacenada 20 días.**

Al diferencia en los fondos de los espectros se debe a que las muestras no tuvieron la misma disposición geométrica dentro del equipo.

El gráfico que se muestra en la Fig. IV.1.5 corresponde a los espectros de muestras con diferentes tiempos de recocido. De estas curvas se calculó el grado de cristalinidad ya que se tuvo especial cuidado en mantener el arreglo geométrico en la cámara de irradiación (todos los espectros tienen el mismo fondo).



**Fig.IV.1.5: Espectros para distintos tiempos de recocido a 110°C. Los espectros se desplazaron verticalmente para mostrarlos con mayor claridad.**

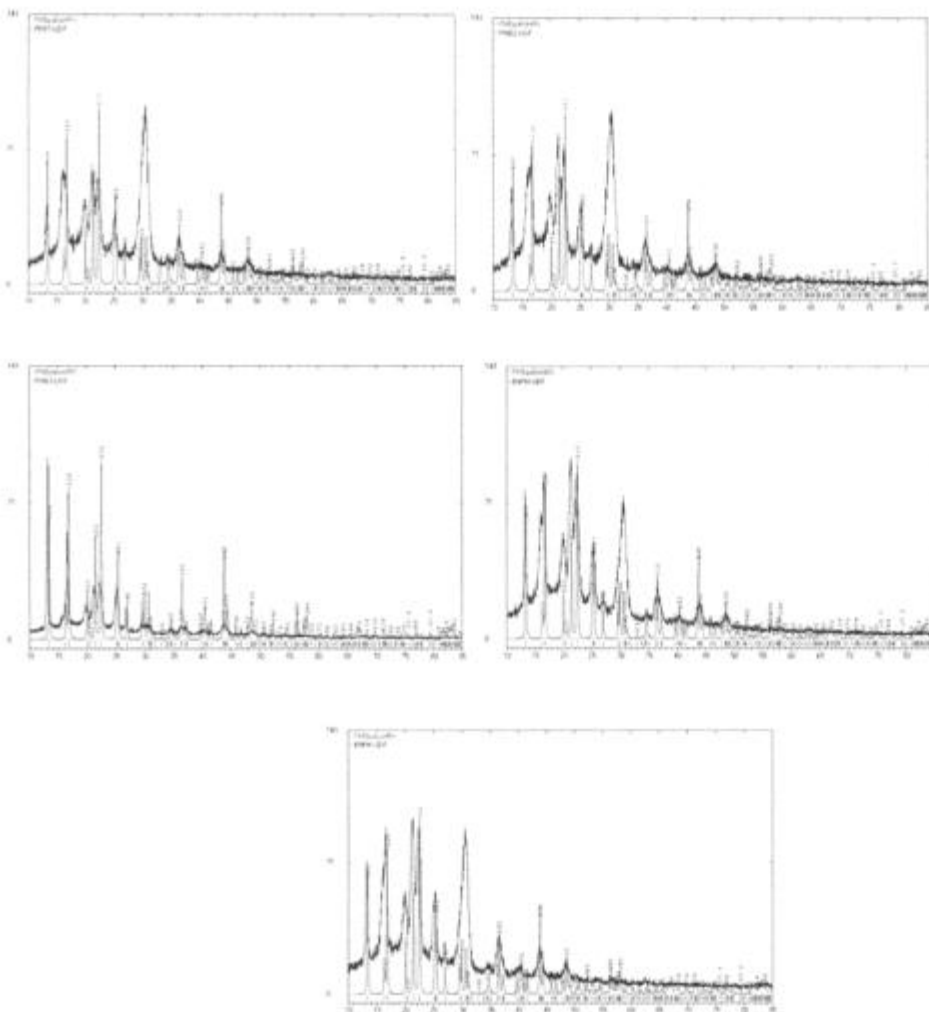
Los valores calculados para cada tiempo de recocido se presentan en la Tabla VI.1.2

**Tabla IV.1.2**

<b>Muestra</b>	<b>Área cristalina ( u.a )</b>	<b>Área total ( u.a )</b>	<b>X<sub>c</sub>(%)</b>
PHBV1	3037	5807	0.52
PHBV2	3168.5	6137	0.52
PHBV3	2457	4548	0.54
PHBV4	4627	8199	0.56
PHBV5	4641.5	8976	0.52

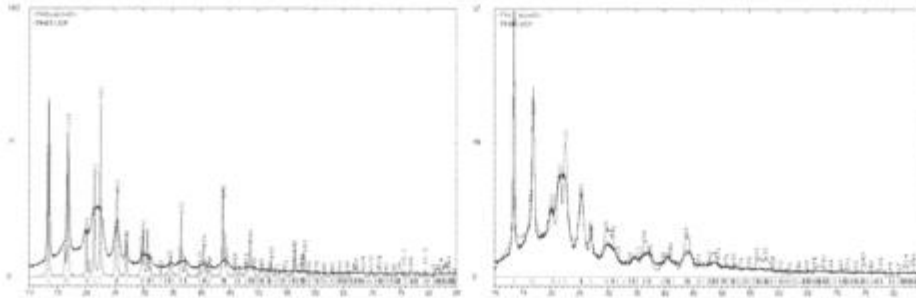
De los datos obtenidos resulta que el grado de cristalinidad no cambia significativamente con los diferentes tiempos de recocido. Esto significa que durante el tratamiento térmico el material no sufre cambios estructurales sino que se reordena a fin de engrosar la estructura mientras que la relación entre la fase amorfa y cristalina representada por el grado de cristalinidad no cambia.

Las Fig.IV.1.6 muestran la superposición de uno de esos espectros con el espectro patrón para el PHB, con el fin de comparar la posición de los picos y el valor de los parámetros de red. El programa Powder Cell (Anexo III) permite refinar el ajuste a través de pequeñas modificaciones en los parámetros de red de donde se calcula el espectro patrón.



**Fig.IV.1.6 : espectros correspondientes a distintos tiempos de recocido: 1h, 1.5 hs., 4 hs., 6.30 hs., +12hs.**

También a través del programa Powder Cell es posible ajustar la curva patrón a la curva experimental a fin de poder obtener los valores de los parámetros de red de las muestras analizadas.



**Fig.IV.1.7: Se muestran dos espectros es primero esta sin ajustar y el segundo ajustado.**

También por medio de los difractogramas de rayos X se intentó ver si aparecían cambios en la estructura cristalina durante el envejecimiento del polímero, en concreto si había cambios de fases durante el envejecimiento del PHBV. Para esto se utilizó como herramienta el programa Powder Cell (Anexo III).

De los refinamientos de los espectros de la Fig. IV.1.7 se obtuvo la relación entre los parámetros de red de la celda unitaria y el tiempo de almacenamiento de las muestras que se ilustra en la Fig.IV.1.8.

El fenómeno de envejecimiento que se presenta en las muestras y que se hace evidente en los ensayos de tracción, disminuyendo notablemente la tenacidad del material, no se debe ni a cambios de fase ni a modificaciones en los parámetros de red.

Entonces se corrobora que el PHBV al igual que el PHB, no presenta cambios estructurales durante el fenómeno de envejecimiento.

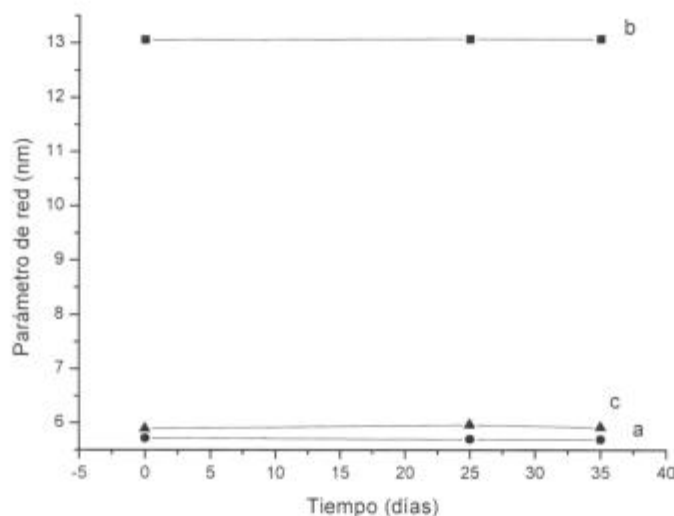
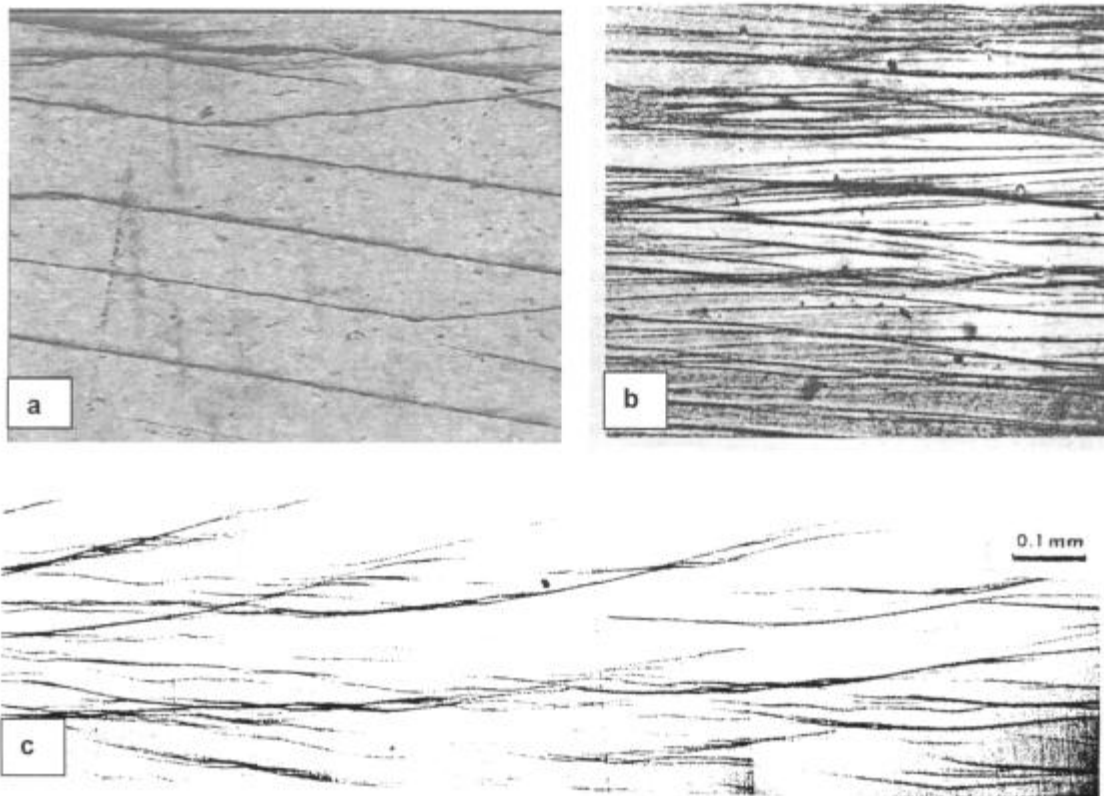


Fig.IV.1.8: Relación entre los parámetros de red y el tiempo de almacenamiento del PHBV.

## IV.2.- Mecanismos de deformación

Como el PHBV es un polímero isotáctico tiene una estructura semicristalina y por la regularidad de su estructura tiende a cristalizar muy fácilmente y puede llegar a tener alto grado de cristalinidad; pero como cualquier otro polímero no puede ser nunca 100% cristalino. Los mecanismos de deformación que puede presentar son estriado y bandas de deformación en la zona amorfa y deformación de esferulitas en la cristalina. Estos mecanismos pudieron observarse mediante microscopía óptica con polarizadores cruzados, utilizando el ataque ácido desarrollado durante este trabajo.

Las bandas de deslizamiento se pueden comparar con el mecanismo de deformación de los metales, sólo que en los metales los sistemas de deslizamiento se relacionan con las direcciones y planos compactos o densos de la celda unitaria, mientras que en los polímeros estas direcciones y los planos por los que se producen los deslizamientos son los que contienen a los enlaces covalentes. Para apreciar esta similitud en la Fig. IV.2.1 se ven líneas de deslizamiento en  $\alpha$ -Fe 3% Si deformado a temperatura ambiente, las bandas de corte en un polímero petroquímico y las mismas en PHBV.



**Fig. IV.2.1: micrografías de muestras deformadas a temperatura ambiente: a- muestra de PHBV b- muestra de Fe-3% Si y c-muestra de un polímero semicristalino de origen petroquímico**

La literatura da cuenta, además, de dos mecanismos de deformación de las esferulitas: el homogéneo, donde todas las partes de la esferulita se extienden simultáneamente y cambian de ser equiaxiales a tomar una forma elíptica y el inhomogéneo, donde hay regiones de la esferulita que se mantienen sin sufrir deformación [3]. Este tipo de deformación que se observó en esferulitas de polietileno en láminas delgadas [4], no se pudo encontrar en las probetas de PHBV traccionadas. Esto puede deberse a que todas las muestras que se utilizaron para observar los mecanismos de deformación presentaban microfisuras radiales y circunferenciales debidas al modo de enfriamiento y posiblemente también a la manipulación por lo que las muestras se rompían antes de deformarse plásticamente.

### IV.3- Envejecimiento

El problema del envejecimiento del PHBV es relevante ya que se manifiesta a los pocos días del moldeo.

En la Fig.III.2.1 del capítulo III se observa el cambio producido en las propiedades mecánicas entre un espécimen ensayado al día siguiente de haber sido moldeado y dos semanas después. El módulo tensil aumenta aproximadamente un 90%, y se produce una importante disminución de la tenacidad del material.

Este deterioro también se presenta en polímeros petroquímicos y se debe a la cristalización secundaria y al envejecimiento físico.

Por su temperatura de transición vítrea inferior a la ambiente, a temperatura ambiente la pequeña fracción amorfa del PHBV se vitrifica. Como el estado de la fracción amorfa del material es de no-equilibrio, la movilidad residual de las cadenas produce un rearrreglo molecular que lleva a que el valor del volumen libre se acerque al valor del equilibrio. Luego por la cristalización secundaria la fracción amorfa del material es sometida a constreñimiento por las vastas regiones cristalinas (se recuerda que el PHBV tiene un grado de cristalinidad no inferior al 70%). Esto genera tensiones internas en la estructura amorfa y por lo tanto fragiliza el material.

Como se mencionó en los capítulos anteriores para intentar resolver este problema se sometió a las probetas de tracción a un tratamiento de recocido. Este tratamiento fue utilizado con éxito para el homopolímero PHB [5]. Sin embargo debido a los resultados obtenidos en los ensayos de tracción este tratamiento no fue eficiente para el PHBV ya que como muestra la Fig. III.2.2 las propiedades del polímero mejoran cuando el material es recocido para luego deteriorarse nuevamente, al cabo de tres días del tratamiento térmico.

Esto imposibilitó determinar cómo se modifica el comportamiento mecánico frente a la variación de velocidad de ensayo ya que la sistemática demandaba varios días y durante ese tiempo se produjeron variantes en la microestructura.

Pueden buscarse otros tratamientos térmicos que permitan resolver esta situación. Para ello es importante trabajar por encima de 70°C, que es a la temperatura a la que se recupera el envejecimiento físico. Además cuanto mayor sea la temperatura de recocido los cristales que se formen serán más perfectos y estables [2]. También hay que tener en

cuenta que a altas temperaturas el crecimiento de los cristales es más lento por lo que se necesitará más tiempo para que las esferulitas crezcan.

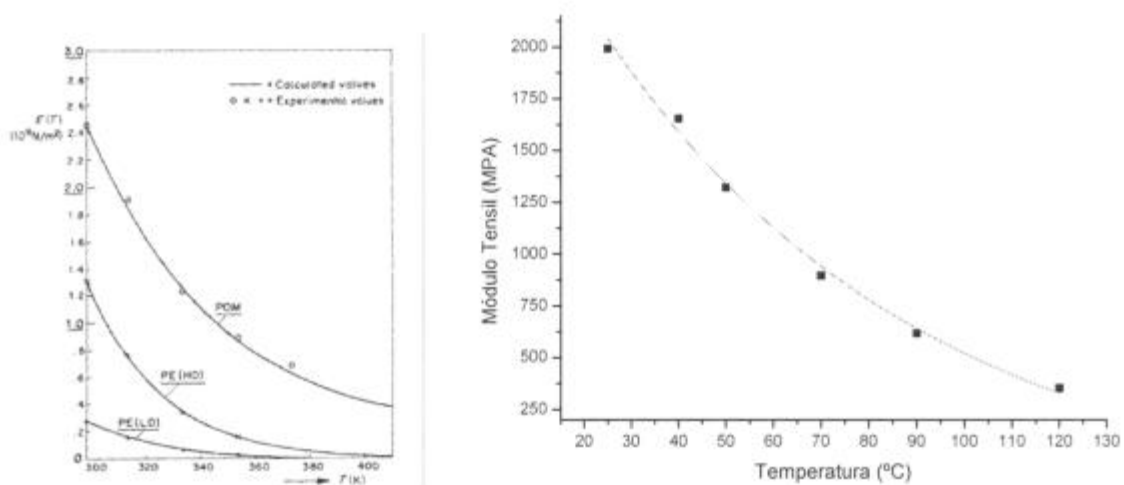
Otra variable importante que complementaría este trabajo es la determinación de la distribución de pesos moleculares del polímero que debería medirse en la muestra una vez moldeada y luego del recocido, a fin de comprobar que no se produjo escisión de las cadenas, porque éste es otro factor causante del deterioro de las propiedades mecánicas de material. La medición de la distribución de pesos moleculares no se pudo realizar porque no se contó con cromatógrafos con columnas calibradas para tal fin (será realizado en el grupo de trabajo durante 2006).

#### **IV.3.1- Ensayos de tracción a diferentes temperaturas**

De los ensayos de tracción del PHBV entre 25 y 120°C se puede determinar la dependencia del módulo tensil del PHBV con la temperatura.

De los resultados de estos ensayos se encuentra la dependencia exponencial decreciente que se ilustra en la Fig. IV.3.1, donde también se muestra la similitud con lo medido para polímeros petroquímicos.

Este comportamiento se modela mediante la ecuación de Van Krevelen, en la que aparece una constante empírica **C** para los polímeros petroquímicos semicristalinos, con los datos obtenidos de los ensayos se pudo calcular la constante **C** para el PHBV. El valor de **C** calculado para PHBV coincide con el obtenido por Van Krevelen para la relación del módulo tensil y la temperatura para polímeros semicristalinos de origen petroquímico. Podemos concluir entonces que el comportamiento del módulo elástico en función de la temperatura es el mismo que para polímeros petroquímicos semicristalinos.



**Fig. IV.3.1: Grafico E vs. T a la derecha el gráfico para diferentes polimeros petroquimicos semicristalinos PELD (Polietileno de baja densidad), PEHD (Polietileno de alta densidad) POM (polioximetileno) y a la izquierda el gráfico para PHBV.**

#### IV.2.2- Mecanismos de fractura

A partir de las microfografías de fractura se pudo observar que la rotura de las probetas ensayadas se producía por tres mecanismos diferentes: por propagación a través de fisuras radiales, circunferenciales y por borde interesferulítico. La presencia de estas fisuras se hace más evidente en muestras de microestructuras gruesas.

Una vez identificados los diferentes mecanismos se trató de encontrar cuál era el mecanismo preponderante a diferentes niveles de deformación de la probeta.

Para las muestra con microestructura gruesa no fue posible determinar qué mecanismo tenía menor energía de activación porque el material es muy frágil y rompe a bajos niveles de deformación lo cual imposibilita ver que mecanismo actúa primero.

Por su parte la microestructura fina no permite revelar los mecanismos actuantes en los diferentes estadios del ensayo de tracción, si la muestra no está muy atacada. Y si se prolonga el ataque entonces éste introduce microfisuras por donde se produce la rotura sin que se evidencien los mecanismos de fractura de interés.

A pesar de no haber podido determinar el orden en que se producen estos tipos de propagación de la fisura, por la observación de varias probetas se pudo concluir que el mecanismo que aparece con mayor frecuencia es el de propagación por fisura radial y el

menos frecuente el de rotura por borde de esferulita. Además puede decirse también que en una misma probeta pueden aparecer más de un mecanismo de fractura.

Si se encontrara un tratamiento térmico que aumentara la tenacidad del material quizás sería posible establecer el orden y la energía de activación de cada mecanismo de fractura.

## Referencias

1. Basset D: C., Hodge A.M., " *On lamellar organization in banded spherulites of polyethylene*", *Polymer*, **19** (1978) 469-472.
2. de Koning G.J.M., Scheeren A.H.C., Lemstra P.J., " *Crystallization phenomena in bacterial poly[(R) - 3- hydroxybutyrate]: 3. Toughening via texture changes*", *Polymer*, **35** (1994) 4598-4605.
3. Haudim J. M., " *Plastic deformation of semicrystalline polymers*", Centre de Mise en Forme des Matériaux, Ecole des Mines de Paris, *Plastics deformation of amorphous and semicrystalline materials*, Les éditions de physique, France, (1982), 291-311.
4. Hay I.L., Keller A., *Kolloid zur Polimere*, **204**, (1965), 43.
5. de Koning G.J.M., Lemstra P.J., " *Crystallization phenomena in bacterial poly[(R) - 3- hydroxybutyrate]: 2. Embrittlement and rejuvenation*", *Polymer*, **34** (1993) 4089-4094.

## Capítulo V

---

### Conclusiones

#### V.1- Ataque y revelado de la microestructura

En este trabajo se encontró un método que permite atacar y revelar la microestructura del PHBV a fin de poder estudiar la cristalización, los mecanismos de deformación y el modo de fractura del polímero.

El ataque desarrollado permite observar la microestructura con buena definición pero resulta un método destructivo ya que promueve la degradación de las muestras.

#### V.2- Comportamiento mecánico

##### V.2.1- Envejecimiento

Habiendo realizado ensayos de tracción a muestras almacenadas y observando los grandes cambios ocurridos al comportamiento mecánico del material a los pocos días de fundirlo se puede concluir que el envejecimiento es un problema a tener en cuenta a la hora de estudiar las propiedades mecánicas del material.

A pesar de que con datos de bibliografía para PHB se intentó rejuvenecer al polímero por medio de un tratamiento térmico (recocido), no se logró este propósito. Es decir que para el PHBV no pudo determinarse un tratamiento para revertir el envejecimiento.

##### V.2.2- Ensayos a diferentes temperaturas

En los ensayos realizados al PHBV a diferentes temperaturas se pudo observar que la dependencia del módulo tensil es la misma que para un polímero semicristalino de origen petroquímico.

### **V.2.3- Correlación entre la microestructura y el comportamiento mecánico**

Con las micrografías obtenidas utilizando el ataque desarrollado en este trabajo pudo establecerse que el material poseía microfisuras que favorecían el avance de las fisuras que terminan con la rotura del material.

A pesar de haber podido identificar tres mecanismos de fractura: por fisura radial, circunferencial y por borde de esferulita, no se pudo establecer en qué orden de tensiones se daba cada mecanismo debido a la fragilidad del material. Se propone trabajar con una minimáquina de tracción con celda de carga y motor de a pasos que permita por un lado sensar la tensión necesaria para activar cada mecanismo de deformación, y por otro, controlar con mayor precisión la velocidad de deformación de la muestra.

## **V.3.- Estructura cristalina del PHBV**

### **V.3.1- Difracción de Rayos X**

Por los espectros obtenidos en el difractómetro de RX y el espectro proporcionado por el programa de análisis de espectros Powder Cell, podemos decir que la analogía entre el polímero y el compuesto  $Ag_2PSe_3$ , el cual cristaliza con una celda unitaria ortorrómbica con 48 átomos por celda al igual que el PHBV, y recibe el número grupo espacial 19 dio resultados satisfactorios.

Esta determinación permite que el programa pueda ser empleado como herramienta para futuros estudios del PHBV.

### **V.3.2- Estructura cristalina de muestras envejecidas y recocidas**

A partir del uso del programa de análisis de espectros podemos concluir que a pesar de que se producen cambios microestructurales cuando el material envejece y cuando es recocido, no se producen transformaciones de fase, tanto la celda como los parámetros de red se mantienen constantes.

## ANEXO I

---

### Datos acerca de la utilización de ácidos fuertes concentrados

Clasificación según intensidad de la destrucción de la piel intacta para tiempos definidos.

#### **Ácido ortofosfórico $\geq 25$ % p/p**

**Precaución:** evitar el contacto con los ojos, piel y ropa mediante medidas de protección especiales. No inhalar los vapores.

**Clasificación:** R34 (provoca quemaduras).

#### **Ácido sulfúrico $\geq 15$ %**

Clasificación: R35 (provoca quemaduras graves)

**Efectos de una sobre exposición aguda:** El ácido sulfúrico es corrosivo para todos los tejidos del cuerpo. La cantidad fatal para un adulto varía entre una cucharadita de té y seis gramos del ácido concentrado. Aun pocas gotas pueden ser fatales si el ácido alcanza la tráquea. Puede haber perforación gástrica y peritonitis. Las que pueden ser seguidas por colapso circulatorio. Es común que la causa inmediata de la muerte sea el shock circulatorio.

**Inhalación:** La inhalación de los vapores puede causar daño pulmonar grave.

Se debe llevar a la víctima en forma urgente al aire libre. Si existen los medios administrarle oxígeno. Conseguir atención médica inmediata.

**Contacto con la piel:** El contacto con la piel puede causar necrosis (gangrena) grave de los tejidos.

Las personas que hayan tenido contacto con el ácido sulfúrico deberán lavar las partes afectadas con abundante agua corriente y retirar las ropas lo más rápido posible. Como complemento puede usarse jabón para lavar las partes afectadas. Conseguir atención médica inmediata.

**Contacto con los ojos:** El contacto del ácido sulfúrico con los ojos puede causar la pérdida total de la visión.

Se deben irrigar los ojos con abundante agua corriente, por lo menos durante quince minutos. Los párpados deben mantenerse abiertos durante la irrigación, para asegurar el contacto del agua con los tejidos de la región. Si después de la irrigación continúan las molestias, se necesitará una segunda irrigación por otros quince minutos. También se podrá aplicar dos a tres gotas de un anestésico líquido protegiendo los ojos después con un parche. No se debe aplicar aceites ni ungüentos oleosos. Conseguir atención médica inmediata.

**Ingestión:** El contacto del ácido sulfúrico con los órganos internos del cuerpo corroe las membranas mucosas de la boca, garganta y esófago, con dolor agudo y dificultad para tragar. Puede haber también hemorragia gástrica y vómitos. El vómito puede contener sangre fresca.

Si accidentalmente la persona llega a ingerir ácido sulfúrico debe administrársele abundante agua o leche, con el objeto de reducir la concentración, y una vez hecho esto puede dársele a tomar leche de magnesia o agua de cal para neutralizar el ácido. No debe provocársele el vómito. Conseguir atención médica inmediata.

**Efectos de una sobre exposición crónica:** Puede causar tráqueobronquitis, estomatitis, conjuntivitis y gastritis.

**Peligros especiales del producto:** El ácido sulfúrico no es inflamable pero en su concentración más alta puede causar combustión al contacto con líquidos y sólidos. En contacto con metales genera hidrógeno, gas altamente inflamable.

**Protección Ambiental:** El ácido sulfúrico debe ser usado, si es posible en circuitos cerrados de cañerías, de modo de reducir al mínimo la posibilidad de contacto por derrame accidental. No se debe permitir que el ácido entre en alcantarillas o fuentes de agua.

#### **Información toxicológica:**

**Toxicidad aguda:** Veneno para el ser humano. Extremadamente irritante, corrosivo y tóxico, resultando por su rápida destrucción, causante de quemaduras severas.

**Toxicidad crónica:** El contacto repetido con soluciones diluidas puede causar dermatitis. La inhalación repetida de vapores puede causar bronquitis crónica.

**Sensibilización:** Las personas expuestas a los vapores pierden en forma gradual la sensibilidad a su acción irritante.

**En caso de derrame del material:** Se deben hacer diques para contener el flujo del ácido. Usando tierra, arena o concreto. Si es posible recuperar el líquido derramado con mucha precaución. Absorber el líquido con ceniza o polvo de cemento. Limpiar neutralizando el líquido con bicarbonato.

**Almacenamiento y manipulación:**

- Evitar el contacto del ácido con el agua.
- Almacenar separado de carburos, cloratos, fulminatos, nitratos, picratos, metales en polvo, materiales oxidantes y combustibles.
- Evitar el contacto con el ácido.
- Almacenar en un lugar aislado, no expuesto a la luz solar y bien ventilado.
- Almacenar en envases de hierro o polietileno, protegiéndolo de la humedad.

**Consejos de prudencia**

En caso de contacto con los ojos, lavar inmediatamente con abundante agua y acudir al médico.

En el caso del ácido sulfúrico **nunca verter agua** sobre este producto.

Es conveniente al preparar la mezcla de ácido poner **siempre primero** el agua destilada, después agregar el ácido ortofosfórico con **flujo reptante** y por último **bajo el chorro** de la canilla agregar **ácido sulfúrico**, también haciendo que el flujo reptante por las paredes de la probeta donde se prepara la muestra, teniendo cuidado de orientar la probeta de tal manera que la boca no quede del lado del que prepara la mezcla; por si el ácido generara proyecciones.

## **Bases fuertes**

Cuando se usan ácidos o bases fuertes, suelen emplearse soluciones acuosas de los mismos que producen un efecto cáustico en los tejidos humanos. Al trabajar con ácidos o con bases, es posible que se generen nieblas de causticidad equivalente a la de las soluciones.

### **Hidróxido de Potasio**

Es una sustancia corrosiva para los ojos, piel y tracto respiratorio.

La inhalación de polvo de Hidroxido de Potasio puede causar edema pulmonar.

El contacto prolongado o repetido con la piel puede causar dermatitis.

## Acerca de la utilización de alcoholes

### Metanol

**Clasificación:** muy tóxico. Tras resultados de ensayos de toxicidad se ha concluido que es tóxico por vía oral, dermal e inhalativa.

Produce daños graves para la salud, posiblemente irreversibles, por absorción única, repetida o de larga duración.

**Precaución:**

Evitar cualquier contacto con el cuerpo ya que no se pueden descartar graves daños a la salud, posiblemente hasta de consecuencias mortales.

Se hace referencia especial a la acción cancerígena o al riesgo de alteraciones genéticas.

Mantener alejado de llamas abiertas, chispas o fuentes de calor.

## Referencias

Líneas directrices de la Comunidad Europea. Office des Publications Officielles des Communautés Européennes. Boite Postale 1003. L-1351, Luxembourg.

Manual de toxicología industrial. Ediciones Urma, Bilbao.

Servicio Social de Higiene y Seguridad del Trabajo. Fichas técnicas S.G. Peligrosidad de productos químicos. Torrelaguna, 73, E28027, Madrid.

## Anexo II

---

### Ensayos a Temperatura

Para realizar los ensayos a temperaturas por encima de la ambiente fue necesario usar el equipo calefactor.

El controlador PID del que se disponía fue usado en modo ON-OFF ya que la respuesta del mismo en este modo fue la más favorable.

Utilizando el control de temperatura de este modo se logró que el baño de glicerina alcanzara la temperatura deseada en el término de aproximadamente 1 hora.

Luego se procedía a esperar el término de 3 horas para lograr la estabilización térmica del baño y de la probeta.

Recordemos que la probeta al ser de un material no conductor tarda en alcanzar la homogeneización de la temperatura.

Para asegurarnos de que la temperatura en la muestra era la deseada se colocó un sensor de temperatura del tipo Pt100 muy cerca de la misma y se registró la temperatura mediante un multímetro (ver tabla1)

**Tabla1**

$T_{\text{ensayo}} \text{ (SP)}$	$\Omega_{\text{inicial}}$	$\Omega_{\text{final}}$	$T_{\text{inicial}}$	$T_{\text{final}}$
40°C	115.7	115.4	40.41°C	39.64°C
50°C	119.1	119	49.13°C	48.9°C
70°C	125.9	125.7	67°C	66°C
90°C	133.9	134.1	88°C	88,7°C
120°C	145.5	145.6	119.2°C	119.6°C

En la tabla 1 se puede observar la resistencia en  $\Omega$  leída en el multímetro y la temperatura que se obtiene mediante la tabla de conversión dada por el fabricante del Pt100.

Cuando era necesario cambiar la probeta para realizar un nuevo ensayo se procedía a apagar el equipo y luego de cambiar la probeta se esperaban de 3 a 4 horas la nueva estabilización de la temperatura de la muestra antes de realizar un nuevo ensayo.

### Parámetros del controlador

Para realizar el control de la temperatura se utilizó un controlador marca **fast heat** modelo Maestro series.

El modo de uso de este controlador fue optimizado mediante ensayos y como resultado se obtuvo que el mejor rendimiento del controlador fue utilizando los siguientes parámetros:

#### Parámetros internos

P1: 4	P7: 1	P13: 0
P2: 20	P8: L	P14: 0
P3: 200	P9: OFF	P15: 0
P4: H	P10: 1	P16: OFF
P5: SSR	P11: H	P17:
P6: no	P12: OFF	P18:0

#### Parámetros operativos

Set Point (SP):  $T_{\text{ensayo}}$

PB: 0 (ON-OFF)

## Anexo III

---

### Difracción de Rayos X

Los difractogramas de materiales semicristalinos suelen emplearse para determinar grado de cristalinidad, presencia de nuevas fases u observar cambios en los parámetros de red de la celda unitaria a medida que aumenta el contenido de HV en el PHB.

Para calcular el grado de cristalinidad hay que evaluar la relación entre el área bajo los picos y el área total bajo el espectro. Esto es posible si la línea de base representa exclusivamente la difracción de la fase amorfa o si se conoce el fondo debido al arreglo geométrico de la muestra en la cámara de irradiación [1].

Si no se conoce este fondo, para comparar el grado de cristalinidad de diferentes muestras, es necesario que éstas se coloquen en el difractómetro y los espectros se realicen cuidando que las muestras se mantengan en la misma posición dentro del equipo [1].

El cálculo se basa en sacar el área bajo la curva total y restarle una línea de base que correspondería a efectos producidos por la naturaleza del ensayo y por la fase amorfa dentro del material. La línea de base se toma uniendo todos los mínimos con una línea recta [2]

Para determinar los parámetros reticulares de la celda ortorrómbica del PHBV y apreciar modificaciones con los tratamientos termo-mecánicos realizados, empleamos el programa PowderCell.

Con los datos proporcionados por la bibliografía [3] acerca del grupo espacial, la celda unitaria, las posiciones de los átomos en la red y la cantidad de monómeros por celda fue posible establecer una analogía con otro material y encontrar el número de grupo espacial en el Handbook de Cristalografía Pearson para compuestos intermetálicos [4].

Como la relación entre los átomos que constituyen la molécula del PHB es  $C_2H_3O$  se encontró un intermetálico con la misma relación de cantidad de átomos  $Ag_2PSe_3$  que tiene la misma celda unitaria, grupo espacial y la misma cantidad de átomos por celda y número de identificación para el grupo espacial que da el Handbook Pearson es el 19 [4].

Con ese número identificatorio fue posible utilizar un programa de computadora Powder Cell para generar un difractograma patrón del PHB, con el fin de poder comparar los espectros realizados a las muestras de PHBV y determinar si existe coincidencia entre los mismos.

El espectro que aparece en bibliografía puede verse en la Fig.aIII.1

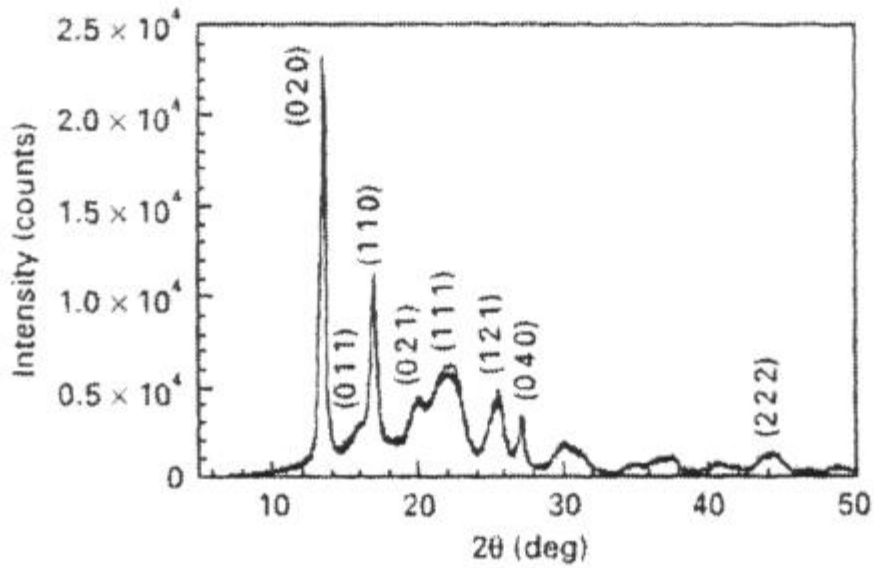


Fig.aIII.1: Difractograma de rayos X de una muestra de PHB [1]

El diagrama patrón obtenido con el programa PCW puede verse en la Fig.aIII.2.

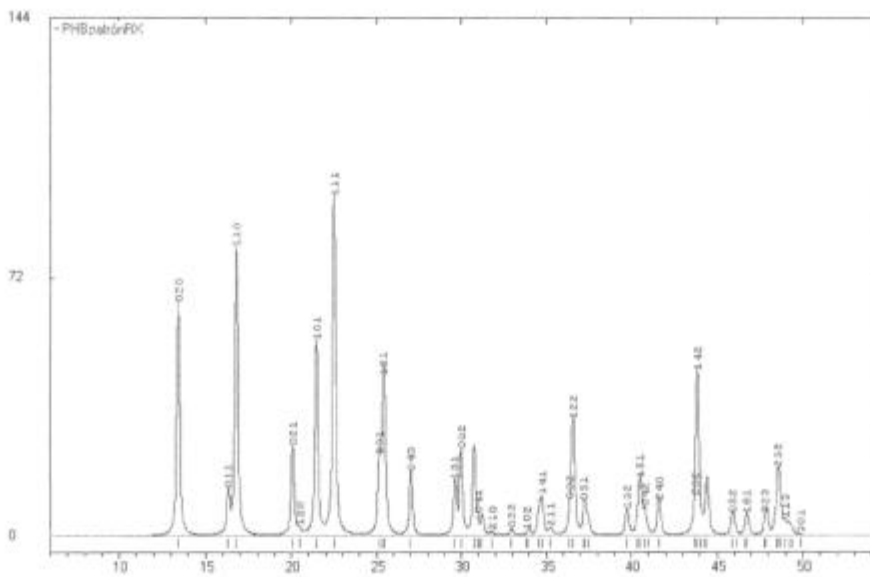
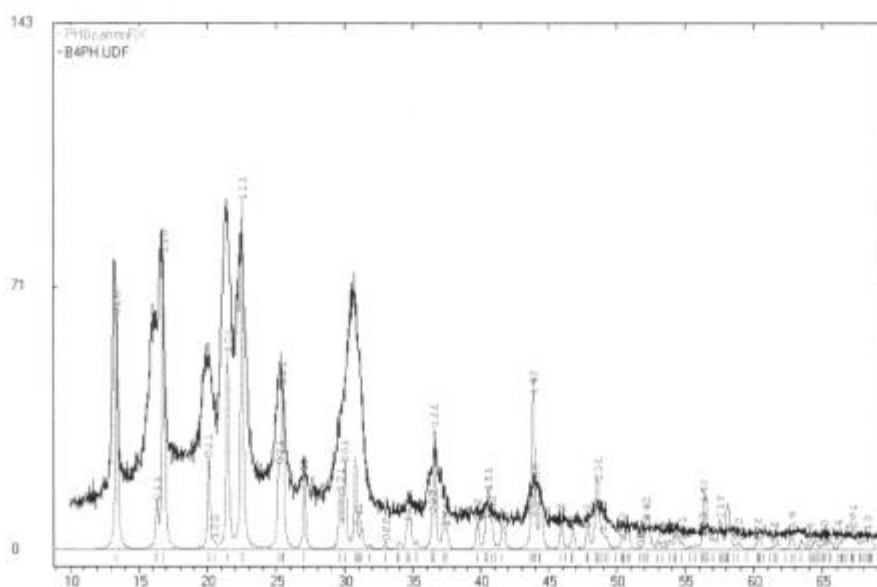


Fig. aIII.2.: Difractograma patrón que entrega el programa PCW.

Si se comparan los dos difractogramas puede verse que las ubicaciones de los picos principales coinciden con los destacados en el difractograma de la Fig.aIII.3.

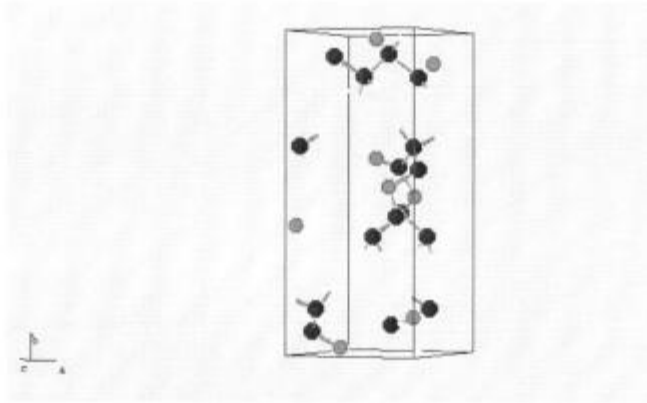
Luego para un espectro medido, busca el mejor ajuste variando los parámetros reticulares.

Los difractogramas obtenidos para el PHBV se pudieron comparar con el del PHB simulado por el programa, tal como se ilustra en la Fig. III.2.3. Tal coincidencia significa que el contenido de valerato (inferior a 12%) no forma una nueva fase y no produce distorsiones apreciables en la estructura cristalina del PHB.



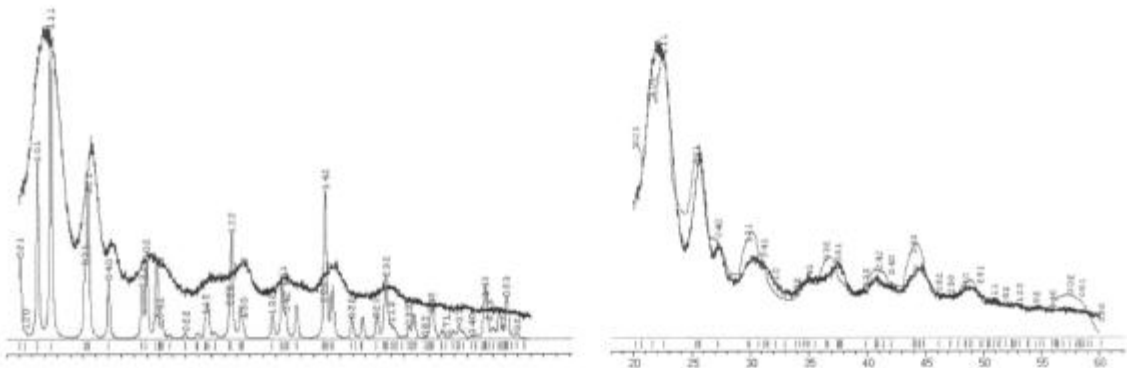
**Fig aIII.3: Comparación entre un espectro de PHBV (negro) y el espectro simulado para el PHB (rojo).**

El programa PCW permite obtener además la representación de la celda unitaria asociada al espectro de difracción, tal como se ilustra en la Fig.aIII.4.



**Fig.all.4:** Celda unitaria del PHB. Las esferitas negras representan a los átomos de Carbono, las rojas a los átomos de Oxígeno y las blancas a los átomos de Hidrógeno

Con este programa es posible realizar un refinamiento para que el espectro patrón se ajuste al espectro medido y una vez ajustado el programa arroja los nuevos parámetros de red para el ajuste.Fig.all.5



**Fig.all.5:** espectros sin refinar a la izquierda y a la derecha el mismo espectro refinado.

El uso de este programa puede facilitar el análisis de los datos proporcionados por el difractómetro de RX, sin necesidad de procesarlos para poder analizarlos.

## Referencias

1. Hurrel, B.L., Cameron R.E., "A wide-angle X-Ray scattering study of the ageing of Poly(hydroxybutyrate)", *Journal of Materials Science*, **33** (1998) 1709-1713.
2. Galego N., Miguens F.C., Sánchez R., "Physical and functional characterization of PHA<sub>scl</sub> membranes", *Polymer*, **43** (2002) 3109-3114.
3. Yokouchi M., Chatani Y., Tadokoro H., Teranishi K., Tani H., "Molecular studies of polyesters: 5. Molecular and crystal structures of optically active and racemic Poly ( $\beta$ -hydroxybutyrate)", *Polymer*, **14** (1973) 267-272.
4. Villars P., Calvert L.D., "Pearson Handbook of Crystallographic Data for Intermetallic Phases", Second Editions, **Vol 1** (1991) USA.