

Review. Preparación de Polímeros para su Observación a través de Microscopía Electrónica

C. Urbina de Navarro ^{a*}

^a Centro de Microscopía Electrónica “Dr. Mitsuo Ogura”, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela.
Venezuela.

*Autor de Correspondencia, Email: caribayurbina@gmail.com

RESUMEN

La caracterización de un material requiere del uso de diferentes técnicas de análisis que se complementan entre sí. El presente trabajo contempla la revisión de algunas técnicas de preparación de polímeros comúnmente utilizadas para la caracterización de estos materiales mediante microscopía electrónica de transmisión. Entre ellas se tratarán: tinción con átomos o grupos de átomos, tales como OsO₄, RuO₄ y HSO₃Cl, ataque permangánico en medio ácido, así como ataque físico con Plasma Química. De igual manera, se presentan ejemplos de técnicas usadas en la preparación de muestras para su observación mediante microscopía electrónica de barrido.

Palabras clave: Polímeros, preparación, microscopía electrónica, caracterización.

Review. Preparation of Polymers for their Observation by means of Electron Microscopy

ABSTRACT

Material characterization requires the use of different analysis techniques that complement each other. This work is a Review of some commonly used polymer preparation techniques for the characterization of these materials by transmission electron microscopy. Among them will be treated: staining with atoms or groups of atoms such as OsO₄, RuO₄ and HSO₃Cl, permanganic attack in an acid medium as well as physical attack with Chemical Plasma. In the same way, examples of techniques used in the preparation of samples for their observation by means of scanning electron microscopy are presented.

Keywords: Polymers; preparation; electron microscopy; characterization.

INTRODUCCIÓN

La caracterización de un material requiere del uso de diferentes técnicas que se complementan entre sí. En el caso de materiales poliméricos, es posible utilizar técnicas como: calorimetría diferencial de barrido (DSC), espectroscopía de infrarrojo (IR), UV-visible, análisis térmico diferencial (TGA) y la microscopía electrónica (ME), entre muchas otras. Particularmente, la microscopía electrónica en sus modos de transmisión (MET), o de barrido (MEB), en el campo de los polímeros nos permite determinar parámetros tales como la forma, tamaño y distribución del tamaño de un material en otro, dispersión de las fases presentes, compatibilidad de polímeros, fenómenos de cristalización, co-cristalización y segregación de fases de polímeros, miscibilidad de fases, mecanismos de nucleación, estudios de degradación, etc.,

o simplemente determinar el cambio morfológico de las estructuras cristalinas de un polímero “puro” [1,2].

Cuando se trata de mezclas poliméricas, estas varían en complejidad morfológica, desde sistemas simples de dos fases, como caucho disperso en una matriz termoplástica, hasta sistemas más complejos que contienen cargas, compatibilizante, pigmentos, entre otros componentes. Pequeños cambios en el arreglo o tamaño de estos componentes pueden producir grandes cambios en las propiedades físicas de la mezcla por lo que la observación directa de los posibles cambios en la morfología de las lamelas o de las esferulitas es un apoyo invaluable para explicar la modificación de las propiedades físicas del material. Según se necesite estudiar un polímero mediante MET o MEB la muestra deberá cumplir con algunos requisitos dependiendo del instrumento a utilizar.

Microscopía Electrónica de Transmisión

La obtención de una “buena” muestra para ser estudiada a través de microscopía electrónica de transmisión, significa que la misma debe de cumplir con las exigencias básicas de la técnica [2]:

- 1.- Tener contraste.
- 2.- Espesor igual o menor a 100 nm.
- 3.- Estabilidad frente al haz de electrones.
- 4.- Representatividad de la muestra.

Contraste.

Con relación al contraste (C), éste puede definirse cuantitativamente como la diferencia de intensidad (ΔI) entre dos áreas adyacentes en la muestra y expresarse como (1):

$$C = \frac{\Delta I}{I} \quad (1)$$

Siendo ΔI la diferencia de intensidad entre las dos áreas continuas [3]. Para el ojo humano, esta diferencia detectable es $C > 5\%$ (a veces $> 10\%$) [3]. Con base a esto, es importante conocer la naturaleza de la muestra y en caso tal de que la misma no tenga contraste propio, como es el caso de materiales biológicos, polímeros, etc., el método escogido para su observación mediante MET debe aportar contraste.

Espesor igual o menor a 100 nm.

La resolución de un microscopio electrónico de transmisión puede afectarse por efecto de las llamadas aberraciones. Con respecto a la aberración cromática, ésta puede ser causada por fluctuaciones del voltaje de aceleración, por la variación de la energía del haz emitido o por pérdidas de energía en el interior de la muestra [4]. En este último caso esta aberración puede reducirse fuertemente al trabajar con muestras de espesores iguales o menores a los 100 nm; para estudios de alta o ultra-alta resolución, es necesario tener muestras más finas aún, igual o menor a 50 nm de espesor, por lo que, es necesario

aplicar una técnica de preparación que permita obtener muestras con los espesores indicados.

Estabilidad frente al haz de electrones.

Con relación a la estabilidad de la muestra, es obvio que la misma no debe sufrir alteraciones durante su observación en el microscopio electrónico, por lo que la técnica de preparación escogida para su observación, tanto en MET como en MEB, debe asegurar la estabilidad del espécimen. Normalmente las técnicas que se utilizan para introducir contraste a la muestra, como son los casos de materiales biológicos y polímeros, generalmente también estabilizan la muestra frente al bombardeo con el haz de electrones a través de la fijación de enlaces [1, 2, 5, 6]. La estabilidad del material a la irradiación con electrones de alta energía depende directamente del tipo de material, es decir si son metales, cerámicos, materiales compuestos, polímeros, material biológico, etc. En el caso de los materiales poliméricos y biológicos, estos carecen de las propiedades mencionadas: no tienen contraste propio, no son estables a la irradiación del haz y en la gran mayoría de los casos no es sencillo obtener una muestra con el espesor exigido para MET, básicamente debido a que están formados por átomos de bajo número atómico. Otro detalle a tomar en cuenta es que los polímeros al ser irradiados por electrones de alta energía pueden sufrir rompimiento de enlaces, recombinación de átomos, pérdida de masa, etc., lo cual trae como consecuencia pérdida de cristalinidad y cambios dimensionales entre otros daños [1, 6]. Por ejemplo, Andrews observó el crecimiento a -26°C de esferulitas en películas ultrafinas de caucho natural (cis-poliisopreno) a través de microscopía electrónica de transmisión, reportando daño en la muestra por efecto de la irradiación con el haz de alta energía y la advertencia de posibles malinterpretaciones de los resultados [7].

Representatividad de la muestra.

La representatividad de la muestra es un tema sobre el cual el investigador debe de tomar la decisión de si la o las

porciones del espécimen estudiadas representan o no al total de la muestra, especialmente cuando se trata de una muestra no homogénea.

En definitiva, al escoger la técnica de preparación más adecuada para llevar la muestra al MET se deberá tomar en cuenta tanto el estudio que se desea realizar como la naturaleza de la muestra. De los posibles métodos disponibles en el laboratorio, deberá escogerse aquel que introduzca menos artificios (*artifacts* en inglés). De igual manera, no debe olvidarse que muchas de las técnicas de preparación de una muestra para su estudio por microscopía electrónica involucran el uso de sustancias tóxicas que además pueden causar cambios químicos y por ende, cambios morfológicos en los polímeros a estudiar, por lo que una cuestión de mucha importancia es la interpretación de las imágenes obtenidas y no descartar posibles transformaciones ultraestructurales causadas por el método de preparación o daños por irradiación con un haz de electrones de alta energía [1, 6]. En esta revisión se tratarán algunas de las técnicas comúnmente aplicadas a polímeros a ser observados mediante MET.

Técnicas de Tinción

Como ya se indicó al comienzo de este artículo, para examinar la morfología de los materiales poliméricos mediante microscopía electrónica de transmisión, es necesario superar los problemas del contraste y de estabilidad de la muestra. La técnica de tinción consiste en incorporar átomos o grupo de átomos pesados a las cadenas del polímero, específicamente a un grupo funcional, lo cual además de generar contraste provee estabilidad al material frente a la irradiación con electrones de alta energía [1,2,6,8].

Teñido con OsO₄.

El uso de este reactivo se basa en que el tetróxido de osmio reacciona con los dobles enlaces carbono-carbono de las fases insaturadas mejorando el contraste en MET por la mayor dispersión de electrones del metal pesado en algunas regiones del polímero en comparación con la

matriz no teñida. Esta reacción es muy importante ya que fija y tiñe el polímero a la vez. En la figura 1, se muestra un esquema propuesto para la incorporación del OsO₄ en una insaturación del polímero [1].

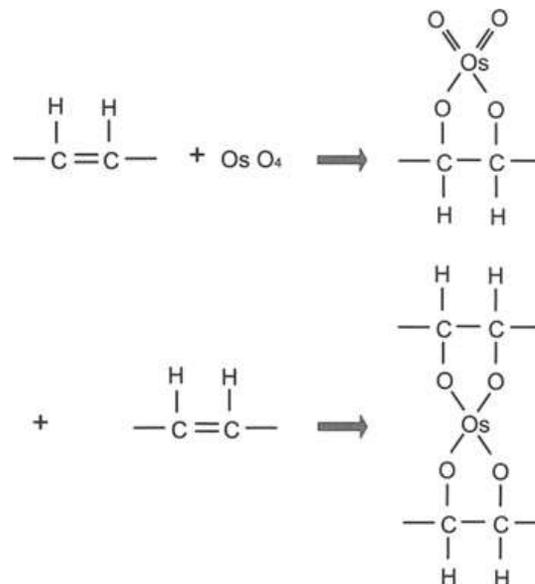


Fig. 1. Esquema de la incorporación del OsO₄ a un doble enlace insaturado de carbono.

Hace poco más de cincuenta años, Kato reporta por primera vez el uso del tetróxido de osmio aplicado en forma de vapor para la tinción y fijación del polibutadieno y otros polímeros insaturados, lo que le permitió medir el tamaño y distribución de partículas sin necesidad de algún tratamiento adicional [8]. Su método consistió en colocar una gota de la muestra (látex diluido) sobre la película soporte de una rejilla portamuestras y ponerla en contacto con una solución acuosa al 1% de tetróxido de osmio, durante un tiempo no mayor a los 30 minutos. Señala el autor que, un tiempo largo de tinción puede permitir la formación de artificios tales como la aparición de precipitados en la imagen. Kato indica que el procedimiento de fijación es completamente ineficaz en polímeros saturados tales como poli(acetato de vinilo), poli(acrilatos), etc.

En un trabajo posterior, Kato utiliza una manera diferente de tinción con OsO₄, colocando el bloque, una vez

obtenida la pirámide en el mismo, directamente en una solución de tetróxido de osmio al 1% durante toda la noche, luego de este tratamiento procede a obtener los cortes ultrafinos los cuales se observaron en un MET de 50 kV [9]. En la figura 2 se muestra una de las imágenes obtenidas por el investigador. La imagen se presenta en forma de negativo y no un positivo por lo que las zonas más brillantes sobre un fondo más oscuro corresponden a la fase de caucho. La tinción con el OsO_4 permitió observar las partículas del polímero ABS (acrilonitrilo butadieno estireno).

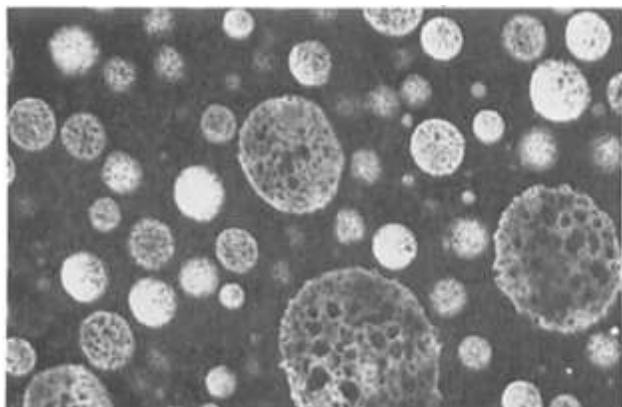


Fig. 2. Sección ultrafina de la resina ABS (30.000X de aumento).

Andrews y Reeve estudiaron algunas relaciones entre estructura y propiedades tales como deformación, fluencia y fractura por fragilidad de un trans-policloropreno al 84% (Neopreno W) utilizando películas delgadas de estos materiales para el estudio mediante microscopía electrónica de transmisión y análisis de rayos X de ángulo grande [10]. Para la tinción de las muestras utilizaron vapores de OsO_4 durante 20 segundos, en este caso fue el tiempo suficiente para fijar eficientemente las estructuras. Su trabajo les permitió determinar que en algunas condiciones la morfología de un polímero semicristalino puede ejercer una mayor influencia en las propiedades mecánicas que el grado de cristalinidad en sí, y este efecto lo pudieron determinar incluso en un polímero de cristalinidad tan baja como 18%.

Annighöfer y Gronki describieron un método de preparación por polimerización aniónica del copolímero tribloque poli(isopreno-b-(isopreno-co-estireno)-b-estireno) de peso molecular constante con espesor de interfase variable [11]. Los estudios de la morfología fueron hechos mediante microscopía electrónica de transmisión, para ello obtuvieron los cortes ultrafinos de aproximadamente 50 nm de espesor en un crioultramicrotomo con cuchillo de vidrio a -100°C , los cuales expusieron a los vapores de soluciones acuosas de relación 10/1 de $\text{OsO}_4/\text{CrO}_3$ con concentraciones variables del OsO_4 : 1%; 0,1% y 0,01% en peso para obtener diferentes grados de tinción: normal, media y suave, respectivamente. Las diferentes fases presentes en las muestras pudieron hacerse visibles mediante microscopía electrónica de transmisión observando las secciones ultrafinas de los polímeros en bloque en las diversas condiciones de tinción.

Kim y Libera describen los efectos cinéticos asociados con la separación de microfases en películas delgadas (100 nm) obtenidas a partir de soluciones en tolueno al 30% en peso del copolímero tribloque PS PS-PB-PS (SBS), PS (poliestireno), PB (polibutadieno) [12]. Utilizando MET los investigadores estudiaron los efectos de la velocidad de evaporación del solvente en la estructura de los materiales investigados, los tiempos de evaporación ensayados van desde minutos a días. También estudiaron el efecto del recocido posterior a la evaporación. Para la observación mediante MET, las películas de los copolímeros se tiñeron por exposición a vapores de OsO_4 del cristal de OsO_4 a 50°C durante 20 minutos. Debido a que el OsO_4 reacciona preferentemente con el doble enlace de carbono insaturado del polibutadieno (PB), esta fase será la más oscura en las imágenes de transmisión, mientras que la fase de PS será la más clara. Los estudios en el plano de observación y en la sección transversal de las muestras mediante microscopía electrónica de transmisión mostraron que la morfología de equilibrio consistente de cilindros, se

genera cuando las películas se someten a una prolongada exposición del disolvente de alta concentración o a una temperatura elevada. Las morfologías alternativas y metaestables se generan en condiciones cinéticamente restringidas. Encontraron que diferentes velocidades de evaporación producen diferentes morfologías.

En la figura 3 se muestran algunas imágenes correspondientes a las películas de SBS teñidas con OsO_4 sometidas a diferentes velocidades de evaporación del solvente. Los insertos en las imágenes corresponden a las transformadas de Fourier de cada imagen.

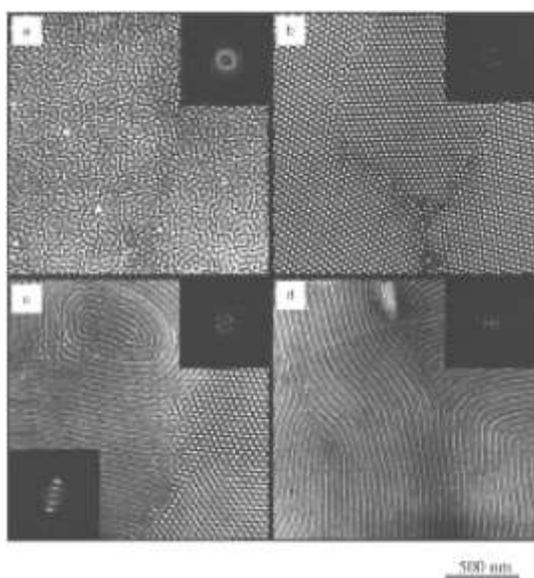


Fig. 3. Imágenes MET en campo claro. Evaporación: (a) rápida (200 nL/s); (b) intermedia (5 nL/s); (c) lenta (1,5nL/s); (d) muy lenta (0,2 nL/s).

Condiciones de evaporación rápida (200 nL/s) generan una microestructura muy desordenada con evidencia de separación de microfases pero sin orden de largo alcance (figura 3a). Una velocidad de evaporación intermedia (5 nL/s) produce una alta morfología separada por una microfase compuesta por cilindros de poliestireno dispuestos en forma hexagonal dentro de una matriz continua de polibutadieno ordenada (figura 3b). La evaporación lenta (1,5 nL/s) genera una morfología dúplex que contiene cilindros de PS en una matriz de PB donde hay regiones que se extienden lateralmente sobre muchas decenas de micrones con la morfología de cilindro

vertical (figura 3c). La evaporación muy lenta del solvente (0,2 nL/s) produce una morfología compuesta totalmente de cilindros de PS en el plano (figura 3d).

Balsamo y col., evaluaron la influencia del tiempo en el fundido, velocidad de enfriamiento y temperatura de cristalización sobre la cristalización y proceso de separación de microfases en copolímeros tribloque con un bloque cristizable (policaprolactona) y dos bloques amorfos (polibutadieno y poliestireno) de composición variable. Prepararon películas de 1 mm de espesor y luego las sometieron a 150°C durante 5, 10 y 15 horas y un enfriamiento posterior hasta la temperatura de cristalización de la policaprolactona (40°C) durante cinco horas, seguido de un enfriamiento brusco en N_2 líquido [13, 14]. Para el estudio mediante MET las muestras se tiñeron por dos métodos: tinción con OsO_4 [9], el cual se efectuó colocando directamente un corte fino de la muestra sobre una rejilla de cobre, en contacto con un pequeño cristal del tetróxido. Para el teñido con RuO_4 , siguiendo la técnica de Montezinos y col. [5], primero se tiñeron los bloques de polímeros en contacto con la solución del tetróxido de rutenio durante una hora para su posterior corte de manera criogénica a -120°C con cuchilla de vidrio. Los resultados obtenidos mediante MET, MOLP y DSC indican que las condiciones de preparación de las muestras (tiempo en el fundido, velocidad de enfriamiento y temperatura) influyeron tanto en el comportamiento térmico como en la morfología final de los copolímeros. Encontraron, por ejemplo, que a mayor tiempo de tratamiento y 150 °C, se produce una mejor definición en los espesores lamelares y que un mayor contenido de policaprolactona puede producir la formación de esferulitas. Observaron que el tiempo de recocado a alta temperatura puede influir en la morfología final de tal manera que dentro de un copolímero puede ocurrir una transición morfológica como, por ejemplo, de una morfología laminar-cilíndrica a un anillo cilíndrico. También, se observó que los copolímeros alcanzan niveles variados de orden de largo alcance de los microdominios,

dependiendo de la composición. En la figura 4, se presentan, a manera de ejemplo, las imágenes obtenidas para el copolímero $S_{25}B_{26}C_{49}$ tratado durante 5 h y 15 h, a 150 °C. Se observa que un tiempo de 5h no fue suficiente para generar una morfología ordenada. En las imágenes, las zonas negras corresponden al polibutadieno, las grises al poliestireno y las más claras a la caprolactona.

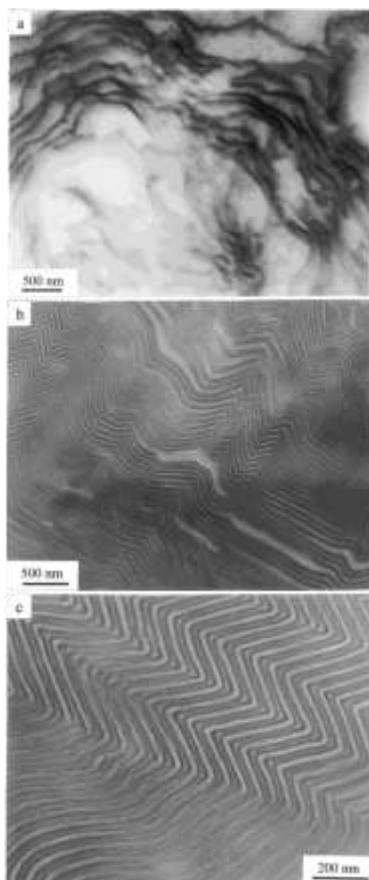


Fig. 4. Imágenes de MET de $S_{25}B_{26}C_{49}$ luego del tratamiento térmico a 150 °C, durante (a) 5 h, (b y c) 15 h.

Tinción con RuO_4 .

Otra técnica utilizada para el estudio de polímeros por MET, ha sido el tratamiento con tetróxido de rutenio aplicado como una solución acuosa o en vapores. Es un procedimiento de un solo paso, requiere tiempos de tinción moderados y fragiliza la muestra para que sea posible la ultramicrotomía convencional. Este tipo de tinción tiene una amplia aplicabilidad para el estudio de polímeros saturados e insaturados, solos y en mezclas [5,

15, 16, 17]. El RuO_4 , es altamente tóxico y volátil y es altamente irritante de los ojos y del sistema respiratorio, por lo que deben tomarse precauciones para usar este químico de manera segura [17]. En 1980, Vitali y Montani reconocen la importancia del tetróxido de osmio como agente de tinción en estudios de MET de mezclas de elastómeros, látex insaturados y algunas resinas de alto impacto [15]. Sin embargo, enumeran algunos problemas al utilizar el OsO_4 como el que se atribuye a la baja difusión de OsO_4 en el material polimérico, señalando por ejemplo que en las resinas ABS el tetróxido penetra sólo unos pocos μm , y que polímeros saturados como los ASA no se tiñen en absoluto. Para evitar este tipo de dificultades con el OsO_4 , los autores proponen el uso del RuO_4 como un agente de tinción en resinas de PB, ABS y ASA, utilizando una solución acuosa de RuO_4 al 1%. Los resultados presentados en el trabajo de Vitali y Montani indican que el RuO_4 es un agente de tinción más general que OsO_4 para las investigaciones mediante MET.

Trent y col., utilizaron una solución al 0.3% de tetróxido de rutenio en agua destilada, la cual reportaron como extremadamente eficaz para teñir polímeros que contienen PS (poliestireno), poliestireno de alto impacto (HIPS) y en mucho menor grado el PMMA (polimetil metacrilato) [16]. La utilidad de la técnica se basa en que la velocidad de adición de este óxido de metal pesado a los polímeros, difiere lo suficiente como para que pueda obtenerse un buen contraste morfológico para sus mezclas cuando se examinan en el MET. El tiempo de la exposición a los vapores de RuO_4 varió de 5 a 120 min. Este procedimiento se llevó a cabo a temperatura ambiente y lo aplicaron a mezclas de PS/PMMA, en este caso el PS se tiñó más rápido. En la figura 5, se muestra una imagen de las polimezclas teñidas durante 30 minutos. La figura 5a corresponde al PS/PMMA 90/10, las regiones más oscuras son del PS; los autores indican que aún en las regiones de PMMA, que son las más claras, es posible observar precipitados de PS. En la figura 5b, polimezcla PS/PMMA 10/90, igualmente las regiones oscuras corresponden al

PS, éste tiende a formar gotas en la matriz de PMMA, las cuales a su vez aparecen compuestas de PS y PMMA. Concluyen que el procedimiento de tinción con RuO_4 puede mejorar el contraste de polímeros saturados e insaturados de PS y HIPS.

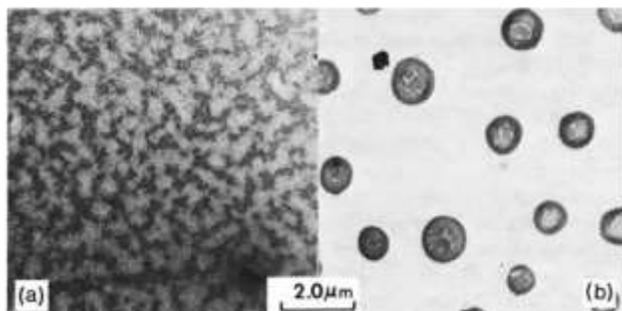


Fig. 5. (a) 90/10 PS/PMMA, (b) 10/90 PS/PMMA. La fase más oscura corresponde al PS.

El uso del RuO_4 por Trent y colaboradores para diferentes polímeros se basó en su capacidad de teñir materiales poliméricos que contienen un éter, alcohol, aromático, amina u otros restos insaturados en su estructura unitaria [17]. A través de las micrografías electrónicas obtenidas en su trabajo, demuestran que el RuO_4 es extremadamente útil como agente de tinción para muchos polímeros saturados e insaturados, mejorando el contraste de la imagen y estabilizando estas películas frente al daño por el haz de electrones.

La técnica de tinción pone a disposición un método para observar el comportamiento de las fases de las mezclas de polímeros, la estructura de esferulitas y la influencia del disolvente y la temperatura en la morfología y el crecimiento de las partículas y esferulitas. En la tabla I mostrada en el trabajo de Trent, se reportan 28 diferentes polímeros que pueden teñirse o no con el RuO_4 . Por ejemplo, entre los polímeros que pueden sufrir tinción con vapores del tetróxido de rutenio están: PS, PPO, PVME, PVA, PET, PEO, PB, PVP, PAA, PPES, PVMK, HDPE, LPE, aPP, iPP, nylon-11, algodón, madera y epoxis. Entre los polímeros que no se vieron afectados por el RuO_4 están: PMMA, PVC, PVF2.

Montezinos y col., proponen un método simple y rápido para contrastar polímeros y lograr su observación mediante MET [5], utilizando el método propuesto por Wolfe de oxidar moléculas orgánicas con tricloruro de rutenio mezclado con hipoclorito de sodio, cuya combinación genera el tetróxido de una forma muy reproducible [18]. El desarrollo de la técnica de Montezinos, fue realizado en películas de polietileno de baja densidad, lineales de baja densidad, de alta densidad y sus mezclas, también, mezclas de polietileno y polipropileno con contenido de elastómeros e inclusiones inorgánicas tales como TiO_2 y carbonatos. La solución de RuO_4 se preparó disolviendo 0,2 g de $\text{RuCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ en 10 ml de hipoclorito de sodio acuoso al 5,25%. Las muestras se colocaron en esta solución durante 3 horas. Las figuras 6 y 7 muestran ejemplos de los resultados obtenidos, en las mismas se observan lamelas de diferentes materiales observados al MET.

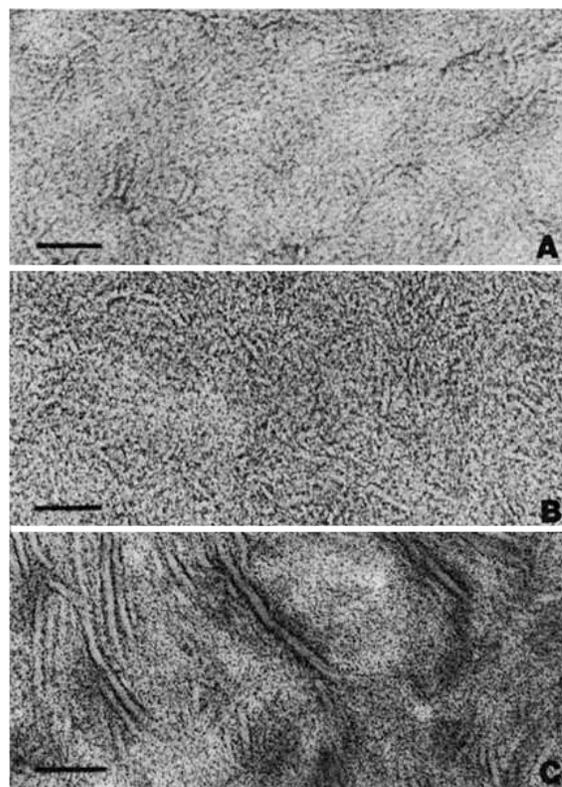


Fig. 6. Mezclas de polietileno teñidas por 3 h. A) Polietileno de baja densidad, B) Polietileno lineal de baja densidad, C) Polietileno de alta densidad (la barra equivale 100 nm).

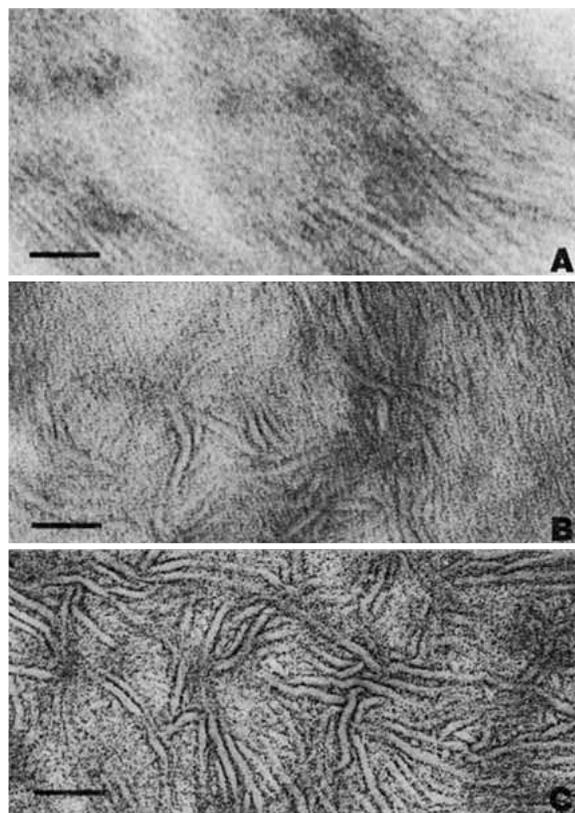


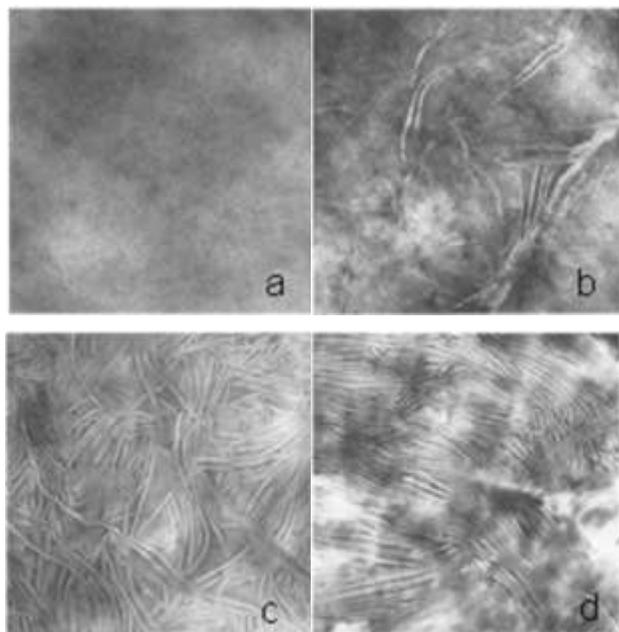
Fig. 7. Mezcla de polietileno de alta densidad con diferentes tiempos de tinción: A) 30 min, B) 2 h, C) 3 h (la barra equivale 100 nm).

Vera y col. prepararon polimezclas de copolímeros dibloque con un homopolímero y de polimezclas entre ellos de tal manera de obtener sistemas con un bloque cristalizante y el otro amorfo. Obtuvieron tres sistemas: 1) Poliestireno-b-polietileno/Poliestireno (PS-b-PE/PS), 2) Poli(etilen-co-propilen)-b-polietileno/Poliestireno (PEP-b-PE/PS) y 3) PS-b-PE/PEP-b-PE a fin de relacionar propiedades como: la micromorfología, comportamiento térmico y cinética de cristalización con la naturaleza de los copolímeros utilizados (tipo de matriz y composiciones) [19, 20]. Para el estudio por MET las muestras fueron teñidas con tetróxido de rutenio de acuerdo a la técnica propuesta por Montezinos [5]. Los tiempos de tinción empleados estuvieron entre 36 y 48 horas. Una vez teñidas las muestras, se obtuvieron secciones ultra-delgadas (50 nm de espesor) a temperatura ambiente. En algunos casos las muestras requirieron de una tinción extra, para ello los cortes ya obtenidos y

colocados en las rejillas se dejaron en contacto con los vapores del RuO₄. Se observó que para las polimezclas PE-b-PS/PS, el proceso de cristalización del bloque de PE está fuertemente influenciado por el contenido del bloque covalentemente unido de PS y con la cantidad del homopolímero de PS añadido, evidenciándose disminuciones notables en las temperaturas de cristalización y fusión a medida que el contenido del PS en la mezcla aumentaba.

Clorosulfonación.

En 1975, Kanig propone por primera vez el uso del ácido clorosulfónico seguido de una post-tinción con acetato de uranilo para el contraste de polietilenos. El ácido reacciona de forma muy selectiva con las zonas amorfas del polietileno parcialmente cristalino, pero no con las zonas cristalinas [21]. Una vez realizada la tinción con el HSO₃Cl, se realiza la post-tinción, la cual consiste en introducir grupos uranilo en los grupos sulfónicos del ácido que están anclados en las zonas amorfas. Como resultado, la densidad de estas zonas aumenta y se obtienen así imágenes de alto contraste. Con este procedimiento, Kanig reporta haber visualizado lamelas cristalinas y zonas amorfas, confirmando así, directamente el modelo de dos fases para polímeros parcialmente cristalinos. En un trabajo posterior [22,23], Kanig utiliza tiempos de tinción cortos que le permitieron observar fibras alargadas de PE para estudiar sesiones ultrafinas de polietileno fundido y enfriado rápidamente de 150°C a 120°C y mantenido a esta temperatura durante 1 minuto, luego la muestra se fijó a 120°C con ácido clorosulfónico líquido para finalmente tratarla con acetato de uranilo a temperatura ambiente, luego de este tratamiento no se observaron lamelas (figura 8a). Para una muestra teñida durante 2 segundos ya se observan las primeras lamelas (figura 8b); luego de 5 minutos de tinción se nota un aumento del número de lamelas (Figura 8c); y finalmente, luego de 30 minutos de tinción Kanig indica que la cristalización ha terminado (figura 8d).



— 0,1 μm

Fig. 8. PE enfriada rápidamente de 150°C a 120°C, y se mantuvo a esta temperatura durante 1 min: a) muestra teñida durante 1 s, b) 2 s de tinción, se observan las primeras lamelas, c) 5 min de tinción se nota un aumento del número de lamelas, d) 30 min de tinción.

Puig encontró que la cristalización isotérmica de polietileno ramificado (BPE) cuando tiene lugar en presencia de lamelas de polietileno lineal (LPE), se produce por encima de la temperatura de cristalización más alta del BPE puro [24]. Puig utilizó un estado estándar de lamelas de LPE cristalizadas isotérmicamente a 122°C para proporcionar superficies para la cristalización de BPE a varias temperaturas (117, 118, 119 y 120 °C). Se llevaron a cabo tratamientos isotérmicos en un baño de aceite termostático, y se evidenció el progreso de cristalización de BPE mediante calorimetría diferencial de barrido y microscopía electrónica de transmisión luego de un enfriamiento brusco a partir de la temperatura de tratamiento térmico. Para las observaciones por MET las muestras se trataron con ácido clorosulfónico a 25°C durante 35 horas, las secciones delgadas se tiñeron con una solución acuosa diluida de acetato de uranilo. Cedeño y Puig, estudiaron mezclas binarias de polietileno lineal (LPE) comercial con dos polietilenos lineales de baja densidad (LDPEs) [25]. Las mezclas, con un contenido de

LPE de 10% y 50% y el LPE puro, se cristalizaron isotérmicamente a 124°C por 12, 24 y 48 h en condiciones de segregación de fase sólido-líquido. Para las observaciones mediante MET las muestras se tiñeron con ácido clorosulfónico a temperatura ambiente durante dos días, reportan los autores que ese tiempo es suficiente para evitar el encogimiento a lo largo de la dirección de las cadenas durante las observaciones en el MET pero suficientemente corto para prevenir la degradación lamelar [26], los cortes ultrafinos tuvieron una post-tinción con una solución acuosa diluida de acetato de uranilo. Se obtuvieron endotermas de doble fusión para las mezclas. Los resultados muestran que, a pesar de las diferencias en la cinética de cristalización entre ambos tipos de mezclas, encontraron la misma depresión en la temperatura de fusión del LPE y aproximadamente la misma disminución en los espesores de cristales de LPE para las mezclas, determinando que el espesor lamelar en LPE durante la cristalización es función de su contenido en la mezcla. En la Figura 9, se muestran espesores de lamelas encontradas por Cedeño y Puig para las mezclas de polímeros, donde la figura 9a corresponde al LPE puro y se observan lamelas gruesas y largas.

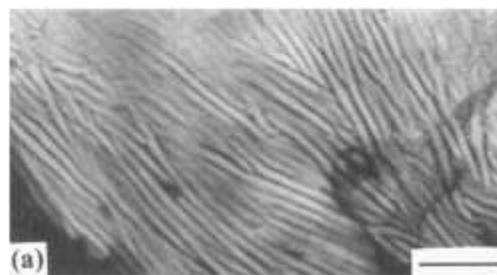


Fig. 9a. Imágenes de MET: (a) LPE.

Las imágenes en las Figuras 9b a 9e se muestran dos poblaciones lamelares claramente diferenciadas, una población lamelar de cristales largos y gruesos que corresponde al LPE cristalizado a 124°C durante mucho tiempo, rodeado de cristales de LDPE formados al enfriarse a partir de la temperatura de cristalización, que son curvos, más cortos y más delgados. La extensión de

cada población lamelar depende del contenido de LPE en la mezcla.

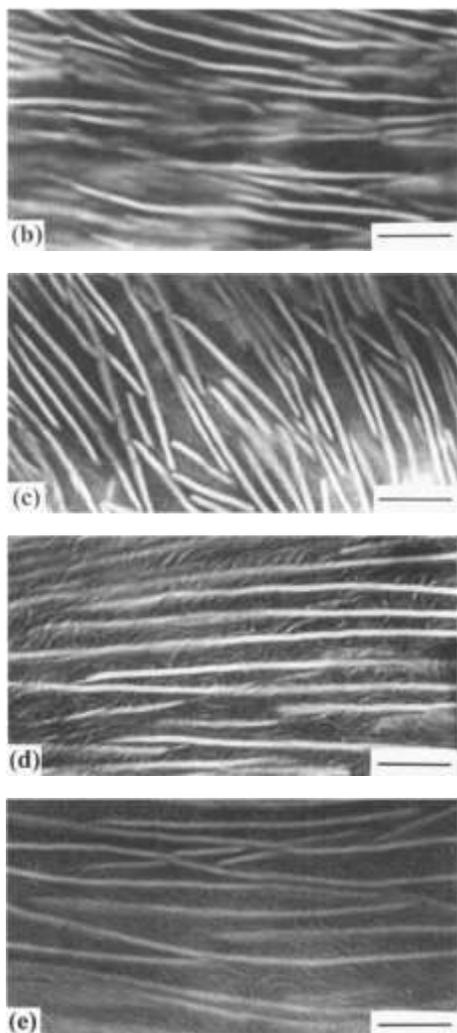


Fig. 9. Imágenes de MET: (b) 50% LPE/50 LDPE1, (c) 50% LPE/50% LDPE2, (d) 10% LPE/90% LDPE1, (e) 10% LPE/90% LDPE2 (las barras representan 0,2 μm).

Teñido con Trifluoroacetato de Mercurio

Hoobs y col., han reportado el uso de trifluoroacetato de mercurio para teñir poli(óxido de 2,6-dimetil-1,4-fenileno) y poliestireno, así como, copolímeros en bloque estireno/butadieno/estireno [27]. Esta técnica, al parecer tiene aplicabilidad general y tiempos de tinción razonablemente cortos, pero el gran inconveniente que presenta es la introducción en el microscopio electrónico de muestras que contienen mercurio por la posibilidad de contaminación

Ataque Químico y Físico

Hay dos categorías generales de ataque a la superficie de un material polimérico: ataque químico (con disolventes) y el físico (bombardeo con partículas cargadas como un plasma o con haz de iones enfocado (FIB, por sus siglas en inglés). El ataque químico es la técnica más común de ataque a muestras de polímeros; básicamente consiste en la eliminación selectiva de un componente del material mediante la aplicación de disolventes tales como ácidos fuertemente oxidantes, compuestos básicos o mezclas de estas sustancias. Esencialmente, el ataque se debe a la mayor sensibilidad de la zona amorfa y menos ordenada del material al agente oxidante fuerte. Las diferencias en la tasa de degradación producen un relieve, creando “montañas” sobre el material cristalino, de esta manera se hacen visibles áreas cristalinas como son las esferulitas y conjuntos de lamelas. Para un óptimo resultado es necesario determinar el agente de ataque apropiado y parámetros como: composición y concentración de la solución de ataque, temperatura y tiempo de exposición a la solución [1,2,6].

Ataque con KMnO_4 en medio ácido

Bassett y col., proponen por primera vez un ataque con una solución de KMnO_4 en ácido sulfúrico concentrado, a la superficie del material polimérico para revelar detalles lamelares y otros detalles finos en superficies de poliolefinas cristalinas, tales como polietileno (de alta y baja densidad), polipropileno isotáctico y poli (4-metilpenteno-1) isotáctico [28]. En su trabajo dan ejemplos de una amplia variedad de morfologías cristalizadas por fusión para los tres polímeros citados. Luego de ser tratadas con el reactivo las muestras se sometieron a un proceso de replicación de dos pasos, utilizando un proceso estándar: la primera impresión fue tomada con acetato de celulosa y luego sombreando ésta con metal pesado. Las micrografías resultantes tienen así la apariencia de relieve, señalando los autores que los detalles observados de la superficie dependen altamente

de la dirección de visualización y que los mismos se invierten al girar la imagen obtenida. En la Figura 10 se observa una réplica de una superficie de fractura tratada con la solución permangánica, pueden verse muchas lamelas, algunas encerradas en el círculo.

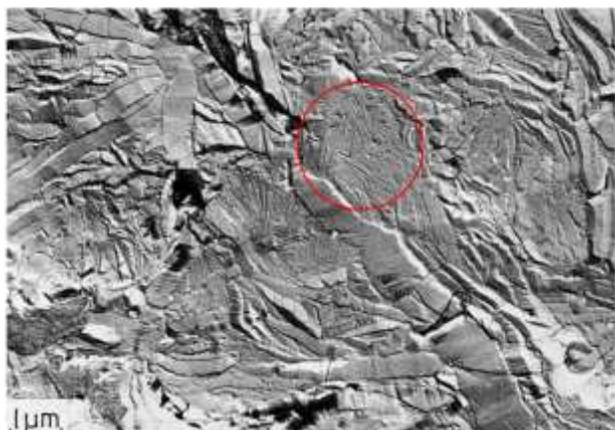


Fig. 10. Réplica de la superficie de fractura de polietileno tratada con solución permangánica.

Bassett y Hodge presentan un artículo en el cual muestran las morfologías del polietileno lineal después de la cristalización en una amplia gama de condiciones y discuten las tres principales variantes lamelares y su cristalografía [29]. Los autores observaron diferentes tipos de lamelas tales como láminas estriadas, planas y en forma de S. Para las observaciones mediante MET las muestras se trataron con una solución de permanganato de potasio en ácido sulfúrico durante 15 min a 60°C, seguido de réplica de dos etapas con carbono. En la figura 11, se muestran ejemplos de tres tipos de lamelas encontradas en el trabajo de Bassett. En un artículo posterior, los mismos autores hacen referencia a la aparición de estructuras artificiales de hasta aproximadamente 10 μm, que no son parte de la morfología de la muestra, tales imágenes las denominan artificios (“artifacts” en inglés) y alertan que pueden aparecer en mayor o menor grado dependiendo entre otros factores del tiempo de exposición al reactivo permangánico, concentración y temperatura y que los mismos pudieran atribuirse a características texturales de la muestra, por lo que las condiciones del ataque deben

adaptarse a cada polímero. Proponen una modificación de la solución permangánica incorporando ácido ortofosfórico para evitar la formación de artificios en el polietileno [30].

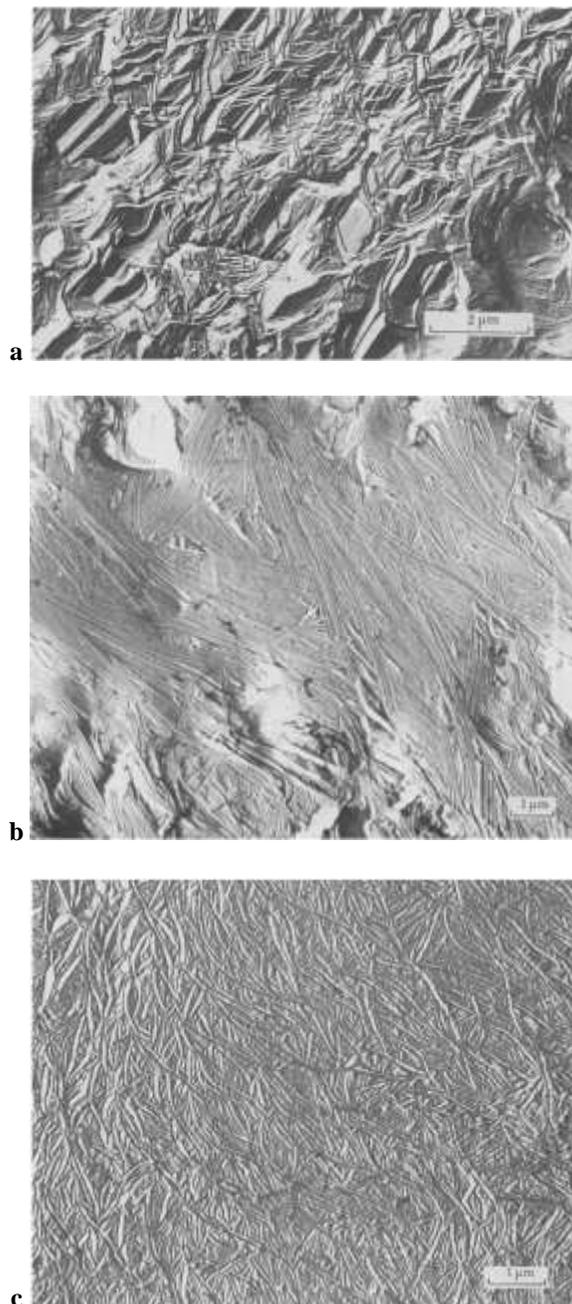


Fig. 11. Tipos de lamelas: a) acanaladas, b) planas y estriadas, c) en forma de S.

Prin y colaboradores, optimizaron algunas variables de la técnica de ataque permangánico para la preparación de diferentes muestras de polietileno para su observación por

Microscopía Electrónica de Transmisión antes y después de modificarlo químicamente con dietilmaleato (DEM) [31]. Los materiales estudiados corresponden a muestras comerciales de polietileno que poseen entre un 0,7% y 3,9% molar de ramas provenientes de la copolimerización del etileno con diferentes tipos de α -olefinas. Las muestras se sometieron al proceso de ataque químico permangánico a diferentes tiempos de exposición: 30, 80 y 120 minutos. Se utilizaron diferentes ángulos de sombreado: 30, 35, 45 y 90°, de igual manera utilizaron dos diferentes metales pesados para efectos del sombreado, Pd y Cr. Determinaron que el tiempo óptimo de exposición para el revelado morfológico fue de 80 min, mientras que para la preparación de las réplicas se obtuvieron las mejores observaciones para ángulos de sombreado entre 35° y 90° con Pd. Utilizando la calorimetría diferencial de barrido (DSC), Rojas de Gáscue, estudió la relación entre las propiedades térmicas en diferentes muestras de polietileno, comparando el espesor lamelar y las temperaturas de fusión del polietileno comercial con muestras de PE obtenidas en laboratorio, injertados con dietilmaleato (DEM) y sin injertar [32]. Los estudios de la morfología y los cambios estructurales en el polímero los realizaron través de la MET a partir de réplicas de superficie obtenidas mediante ataque permangánico seguido por replicación con carbono y sombreado con platino. Los autores encontraron una importante disminución del espesor lamelar promedio en el polietileno injertado con respecto a la muestra original. De igual manera determinaron una reducción en la temperatura de fusión y las entalpías de fusión en las muestras modificadas. Al comparar las micrografías de ambos tipos de muestras, encontraron una menor cantidad de cristales por unidad de área en el PE modificado.

Vaughan estudió las lamelas en las esferulitas del PVDF (poli(fluoruro de vinilideno)) cristalizado a la temperatura de fusión aplicando una técnica de ataque que permitió el estudio de morfologías representativas [33]. En este trabajo se utilizó para el ataque con un reactivo que

contiene trióxido de cromo y pentóxido de fósforo disueltos en ácido sulfúrico concentrado, aconsejando realizar este tratamiento con sumo cuidado porque la reacción del reactivo de ataque con el agua es extremadamente violenta. Para el uso de este reactivo tan fuerte la investigadora se basa en las propiedades del PVF₂ (o PVDF) señaladas por Lovinger, quien indica que este material es un polímero termoplástico semicristalino resistente a ácidos y bases fuertes y a una gran variedad de sustancias químicas corrosivas lo cual hace que el PVDF sea muy difícil de preparar para los estudios por ME [34]. El reactivo utilizado se describe a continuación: primero, se agregaron 10 g de pentóxido de fósforo lentamente, con agitación, a 20 cc de ácido sulfúrico concentrado hasta la disolución completa. Luego se añadieron 15 cc de esta solución a 60 mg de trióxido de cromo contenidos en un matraz, obteniendo una solución al 0,4% peso/volumen, después de ~ 30 minutos cuando el trióxido de cromo se ha disuelto para dar una solución color naranja, la solución de ataque está lista para su uso. El reactivo se añadió a las muestras de PVDF y se dejó entre 2 y 24 horas a 90°C, indica Vaughan que el tiempo exacto dependerá de las muestras. Una vez tratadas las superficies se procedió a replicarlas, el sombreado se realizó con una aleación de platino/paladio y posterior recubrimiento con carbono. La réplica así producida se separó con poli(ácido acrílico) en agua destilada [2]. Finalmente se recogió la réplica en una rejilla portamuestra. Entre sus resultados Vaughan reporta que las esferulitas α en bandas, que predominan a temperaturas de cristalización por debajo de ~165°C se encuentran compuestas por lamelas densamente empaquetadas con un hábito intrínsecamente plano, mientras que las esferulitas γ que se desarrollan preferentemente a temperaturas más altas, tienen una arquitectura curiosa en la que las lamelas adoptan una morfología muy curvada.

Bennett y colaboradores presentan un trabajo en el cual comparan los espesores lamelares de polietilenos

preparados por dos diferentes técnicas para su observación mediante MET [35]. Con tal fin estudian muestras de polietileno, cristalizadas desde el fundido tanto por enfriamiento rápido como por cristalización isotérmica a cinco temperaturas diferentes (119, 122, 126, 128 y 130 °C). Para monitorear el espesor lamelar usaron dispersión de rayos X de ángulo pequeño (SAXS). Los materiales poliméricos se prepararon utilizando la fijación con ácido clorosulfónico, seguida de seccionamiento [22], y por ataque permangánico, seguido de replicación [15]. Los espesores lamelares se midieron a partir de negativos de las micrografías obtenidas en cada una de las dos técnicas aplicadas. Los autores reportan que para ambas técnicas se obtuvieron valores de espesores cercanos a los de SAXS. Sin embargo, determinaron un valor demasiado bajo para los espesores lamelares cuando las muestras se fijaron con ácido clorosulfónico durante un tiempo insuficiente por lo que aconsejan utilizar tiempos relativamente largos, éste hecho lo atribuyen posiblemente a una penetración insuficiente del ácido clorosulfónico en la muestra lo que conduce a una fijación incompleta y la consiguiente interacción entre el haz y la muestra puede ser responsable para dar la contracción al menos de parte de la muestra. Por otra parte, en las muestras preparadas por ataque permangánico, seguido de replicación se registraron valores demasiado altos para los espesores lamelares cuando las muestras se sombrearon en un ángulo demasiado bajo, por lo que recomiendan usar ángulos de sombreado lo más altos posibles. En este mismo sentido, Cañizales y col., evaluaron por MET, MEB y DSC el comportamiento del PELBD (polietileno lineal de baja densidad), PEAD (polietileno lineal de alta densidad) y sus mezclas (PELBD/PEAD: 90/10, 80/20, 70/30, 50/50, 30/70, 20/80 y 10/90) bajo tratamientos isotérmicos por 24 horas a: 120°C, 124°C, 127°C, 128°C y 129°C, y tratamientos dinámicos que consistieron en enfriamientos a velocidades controladas de 1 °C/min y 10 °C/min [36,37]. Para los estudios por MET las muestras fueron preparadas mediante el teñido con RuO₄ [5], ataque

permangánico en medio ácido y posterior réplica [29-31] y teñido con HSO₃Cl [24]. Comparando los resultados obtenidos, los investigadores observaron que el menor espesor lamelar (inferiores a 10 nm) corresponden a las muestras tratada con RuO₄ seguido por los espesores medidos en las muestras teñidas con HSO₃Cl y los espesores de mayor dimensión corresponden a las lamelas medidas en las réplicas. Estos resultados los obtuvieron tanto para los materiales puros como para sus mezclas. Sin embargo, la tendencia en cuanto al aumento del espesor de las lamelas a medida que la mezcla se enriquece en PEAD, coincide en las medidas hechas sin importar la técnica aplicada para preparar las muestras para su observación por MET. Los estudios de MET, MEB y DSC permitieron determinar que el sistema estudiado es parcialmente miscible.

Los terpolímeros etileno-propileno-dieno no conjugados (EPDM) representan el 95% del consumo de copolímeros de olefinas debido a sus excelentes características de vulcanización y alta resistencia a fenómenos ambientales. Debido a la relación propiedades morfología y ésta a la composición, Caputo y col., [38,39] estudiaron diferentes EPDM. Se analizó la morfología de dos muestras, una corresponde a un EPDM convencional (MS-1) y la otra a uno modificado por la incorporación de una poliamida en el dieno no conjugado (MS-2). La MET permitió observar que MS-1 teñido con RuO₄ o por ataque permangánico seguido de réplica tiene un ordenamiento lamelar bien definido no así MS-2. Los resultados parecen indicar que la poliamida incorporada al terpolímero MS-2 inhibe el ordenamiento lamelar.

Microscopía Electrónica de barrido

Como ya se indicó al principio de esta revisión, las imágenes obtenidas por alguna técnica de microscopía electrónica deben interpretarse con precaución tomando en cuenta la posibilidad de que el daño por la radiación del haz haya cambiado la estructura del material durante la formación de imágenes. En el caso de los polímeros, tal

como ya se mencionó, algunos de estos cambios incluyen la ruptura de enlaces químicos, la pérdida de masa y la reducción de la cristalinidad como resultado de la exposición a la radiación ionizante y los efectos térmicos [1,6]. Sin embargo, opuesto a los problemas que pueden estar presentes al observar muestras poliméricas en un microscopio electrónico de barrido, la gran ventaja es que la preparación de la muestra es generalmente simple, pero de igual manera hay unas condiciones básicas exigidas por la técnica, es decir el material debe ser conductor, seco y estable a la irradiación con el haz de electrones [1,40] o pueden ser estudiadas en un tipo de MEB en el cual se modifica la condición requerida de que el espécimen esté en alto vacío, en estos equipos la muestra puede estar, por ejemplo, a la presión de (0,3-3 kPa) y no se produce acumulación de carga incluso con voltajes de aceleración entre 10-30 kV porque los iones positivos del gas neutralizan las cargas en la superficie de la muestra. A este tipo de microscopios se les conoce como MEB de presión variable o ambiental, aunque este último término es una marca comercial [41].

En el caso de trabajar con un microscopio electrónico de barrido de alto o ultra-alto vacío, el espécimen debe ser sometido a una “metalización” con un material conductor, como el C, Au o Pt/Pd, a fin de obtener la condición de conductividad eléctrica [1,2,6,40]. Existen diferentes procedimientos para la eliminación de carga en muestras, la evaporación en alto vacío es una de las formas más usadas de depositar películas delgadas de metal o de carbono en las muestras. Los metales nobles y sus aleaciones son altamente conductores y adecuados como material de recubrimiento para la mayoría de las muestras a fin de obtener imágenes utilizando electrones secundarios. Una aleación de oro/paladio 4:1 es preferible al oro puro porque éste último tiene partículas de mayor tamaño que pueden llevar a confusión cuando se trabaja en condiciones de alta resolución. Para estudios que involucran microanálisis de rayos X en el MEB, siempre que uno de los elementos de interés no sea el carbono, es

muy conveniente utilizarlo para el cubrimiento de la muestra, aunque es un conductor relativamente pobre, es excelente para recubrimientos. Para imágenes de alta resolución, es recomendable utilizar platino, carbono o una mezcla de platino-iridio-carbono como material de recubrimiento porque prácticamente su estructura no se observa en altos aumentos. Es posible evaporar una amplia gama de materiales metálicos y, aunque el procedimiento lleva más tiempo que el recubrimiento por pulverización catódica, se puede utilizar como un procedimiento de rutina para recubrir muestras tanto para su observación en MEB como para microanálisis de rayos X. Otra manera de hacer la muestra conductora, es mediante la técnica de pulverización catódica o “cubrimiento” iónico. Es un método relativamente simple de aplicar una capa de metales o de sus aleaciones a sustratos no conductores. En este caso, el material con el que se recubrirá la muestra, es expuesto a un plasma de gas energizado formado a partir de un gas inerte pesado, como el argón; sin embargo, también es posible obtener buenos resultados utilizando aire o N₂(g). En esta técnica, la superficie metálica es erosionada por el plasma, los átomos son expulsados y chocan con las moléculas de gas residual. Los átomos, así obtenidos, tienen un camino libre medio corto y proporcionan un revestimiento multidireccional [41,42].

En algunas ocasiones la muestra a ser estudiada por microscopía electrónica de barrido necesita de una preparación especial antes de ser metalizada; a continuación, se nombran algunas de ellas.

Réplicas

En esta técnica básicamente se toma la “huella digital” del espécimen a observar, el replicado permite realizar un estudio detallado de la superficie de éste y generalmente se aplica a muestras muy grandes para ser introducidas en el equipo, demasiado volátiles o muestras tipo polímeros en las cuales, por ejemplo, se ha eliminado una de las fases presentes bien sea su propia fase amorfa si se trata

de un polímero semicristalino o en polímeros multifases como son las polimezclas.

Técnicamente el método consiste en evaporar una película de carbono sobre la superficie de la muestra a estudiar, generalmente se utiliza un evaporador de alto vacío (10^{-5} mbar) a fin de copiar los detalles superficiales. Debido a que las réplicas tienen muy poco contraste, es necesario aumentarlo con un método de sombreado el cual consiste en evaporar una película delgada de un material "electrón denso", en cierto ángulo, sobre la superficie de la muestra o de la réplica tal como un metal pesado (Pt, Pd, Pt-C, Cr), este procedimiento se conoce como sombreado, seguidamente la réplica se separa de la muestra y se recoge en rejillas sin soporte para su observación por MET o por MEB.

En el tratamiento para la toma de la "huella digital" debe tenerse en cuenta que los disolventes, en el material de replicación pueden formar artificios. Las réplicas pueden ser de uno o dos pasos o etapas [2,41,42]. Las réplicas de una sola etapa son impresiones negativas de la superficie de la muestra y esto debe tenerse en cuenta al interpretar estas imágenes, mientras que las réplicas de dos etapas son más fáciles de interpretar. En las figuras 12 y 13, se muestran esquemas del procedimiento para obtener una réplica de uno o dos pasos, respectivamente [2, 42].

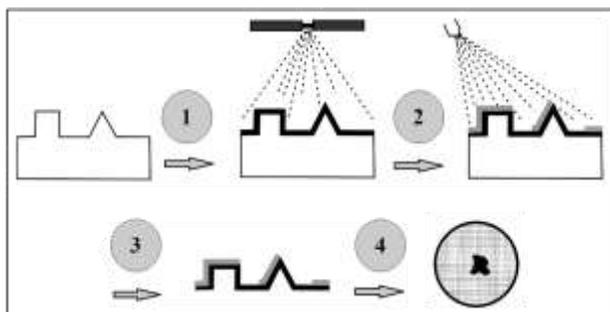


Fig. 12. Réplica de un solo paso: (1) Réplica con carbono, (2) sombreado con átomos pesados, (3) separación de la réplica, y (4) recoger en rejillas (> 200 mesh).

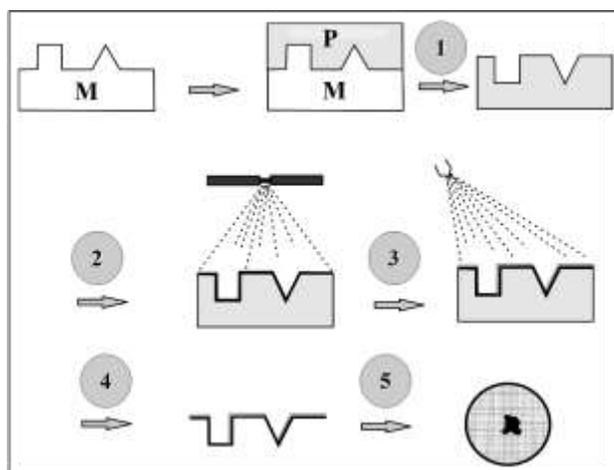


Fig. 13. Réplica de doble paso, donde la muestra "M" y el plástico "P": (1) Separación del plástico, (2) evaporación con Carbono, (3) sombreado, (4) disolver el plástico, (5) recoger en rejillas.

Secado

En el caso de muestras como los polímeros hidrogeles, además de ser inestables frente a la irradiación con el haz de electrones, ellas contienen una cantidad importante de agua, lo cual aumenta su inestabilidad estructural para ser observadas en la cámara de alto vacío del MEB. Se han reportado diferentes métodos para secar una muestra a ser observada en el microscopio Electrónico de barrido, entre ellas están la de secado mediante punto crítico y secado por congelamiento [1-3,40]. Una tercera opción es estudiar la muestra en un Microscopio electrónico de Barrido, en el cual, la cámara de la muestra se encuentra en un vacío bajo, impidiendo así, la deshidratación de la misma [4,41].

Secado por punto crítico

Como se comentó anteriormente, para observar una muestra en MEB el material debe ser conductor, seco y estable a la irradiación. Desde el punto de vista del de agua contenida en la muestra, ésta debe inmovilizarse o retirarse de la misma. El secado es un proceso delicado ya que puede causar daños a la muestra. Hay varias formas de eliminar el agua una de ellas es la deshidratación fisicoquímica la cual es un procedimiento estándar que se utiliza para todas las formas de microscopía, transmisión o

barrido, e implica pasar la muestra a través de soluciones de concentraciones crecientes de etanol, metanol o acetona lo que permite eliminar el agua presente en la muestra. En el secado por punto crítico, y el secado por congelamiento, el agua contenida en la muestra es llevada de la fase líquida a la gaseosa sin ningún efecto de tensión superficial perjudicial [40].

Quitens y col., prepararon una mezcla del polímero 60/40 de policarbonato de bisfenol A (PC) con el copolímero estireno-coacrilonitrilo (SAN), mediante la combinación en estado fundido [43]. Las láminas de esta mezcla, moldeadas por inyección, se recocieron a 200°C por diferentes tiempos. Las morfologías de las fases de estas láminas, se estudiaron mediante MET y MEB. Para las observaciones por MET, las secciones ultrafinas fueron contrastadas con los vapores de una solución acuosa de tetróxido de rutenio, al 1% en peso y durante 30 minutos. Los autores realizaron una caracterización más detallada de la morfología de las fases mediante MEB, a partir de láminas en orientaciones paralelas y perpendiculares a la dirección del flujo de inyección. Para ello, en primer lugar, se les realizó una fractura frágil de las muestras en nitrógeno líquido y, posteriormente, atacaron la fase de PC con una solución acuosa, al 30% en peso de hidróxido de potasio, por al menos, 4 días. Finalmente, lavaron la muestra con agua, y recubrieron la superficie de la fractura con oro, pudiendo así, evaluar la morfología de las fases en tres dimensiones de la superficie de la fractura. Encontraron que las fases se engrosaron en función del tiempo de recocido. Los datos iniciales de tensión-deformación por tracción, destacan la influencia de la microestructura en la ductilidad para estas mezclas co-continuas.

La figura 14 muestra algunos ejemplos de las imágenes de MEB para la muestra PC/SAN 60/40, tomadas en superficies de fractura perpendiculares a la dirección del moldeo por inyección, después del recocido a 200°C, y a diferentes tiempos. La fase PC aparece como la fase negra.

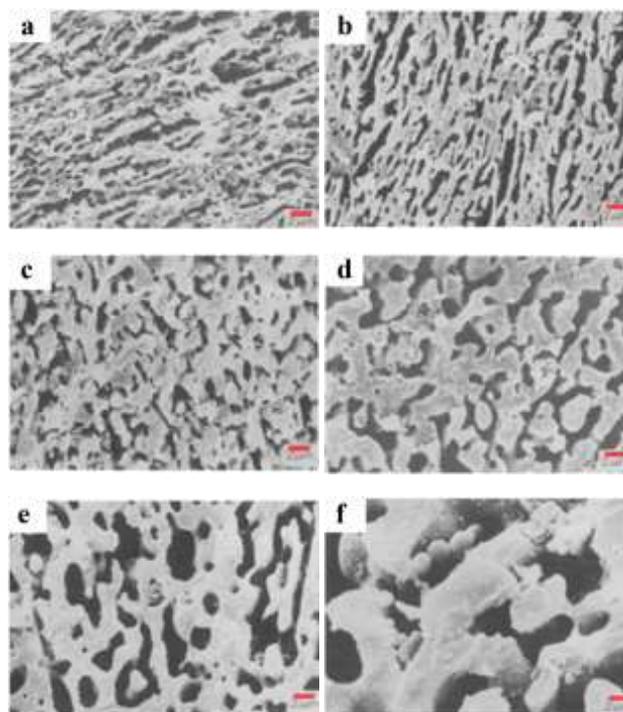


Fig. 14. Micrografías de MEB de las mezclas de PC/SAN60/40, después del recocido a 200°C durante: a) 0 min, b) 3 min, c) 6 min, d) 9 min, e) 12 min, f) 15 min.

Ríos y col., estudiaron la obtención del metilmetacrilato (PMMA) para aplicaciones dentales vía radical libre en un reactor discontinuo [44]. De acuerdo con la aplicación deseada, el polímero debe tener el menor tamaño posible y una distribución de tamaño de partícula homogénea, por lo que, los autores variaron algunos parámetros operacionales, tales como: la relación H₂O/monómero, velocidad de agitación, concentración y tipo de agente en suspensión, y el diseño del agitador, a fin de determinar los mejores parámetros de síntesis. Los productos obtenidos se caracterizaron mediante MEB, espectroscopía IR, viscosimetría, DSC y propiedades mecánicas. Para la observación por MEB, las muestras se cubrieron con Pd/Pt en un cubridor iónico, colocadas sobre teipe de grafito. Se realizó un estudio más detallado en aquellos productos con las mejores propiedades mecánicas, a fin de determinar si las mismas eran o no esferas huecas, por las propiedades necesarias para cumplir la función como base para cementos dentales. Para ello, los polímeros fueron incluidos en una resina

En la figura 16, se muestran algunos resultados obtenidos del tubo fallado en servicio; la figura 16a corresponde al tubo fallado tratado con el fluido de Vaughan durante 24 horas, pueden observarse esferulitas deterioradas. Por otra parte, las figuras 16b y 16c, muestran las esferulitas del PVDF reveladas por la acción del plasma químico de Ar y

O, respectivamente. Los resultados permitieron observar la presencia de estructuras cristalinas tipo α y tipo mixto, susceptibles al ataque químico del fluido de servicio, lo cual contribuyó al colapso de las tuberías PVDF en servicio.

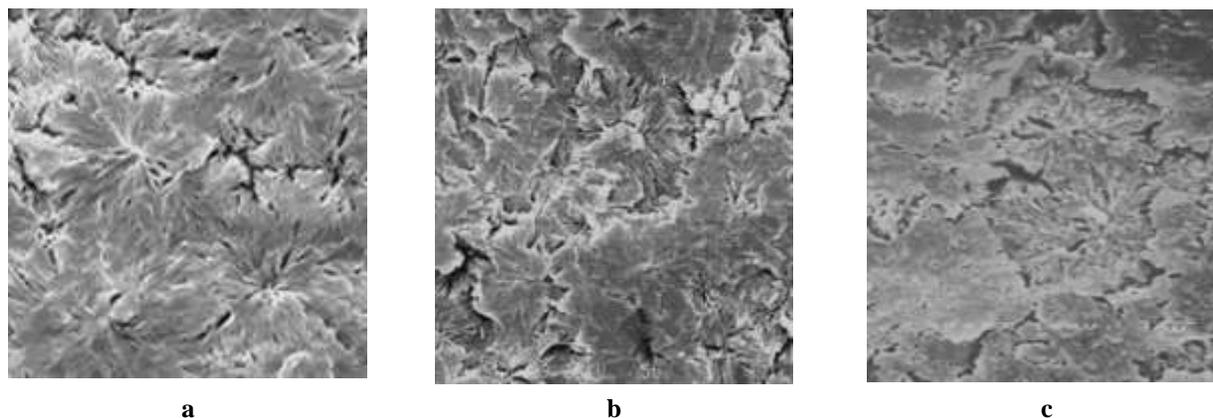


Fig. 16. Imágenes de la tubería fallada atacada con: a) el fluido de Vaughan (24 h), b) Plasma Ar (45 min), y c) Plasma O₂ (25 min). 5 μ m

Rojas y col., estudiaron la morfología de hidrogeles obtenidos a partir de copolímeros de poli(acrilamida-co-ácido acrílico), o también “poli(AAm-co-Aac)”, y de poli(acrilamida-co-ácido itacónico), o también “poli(Aam-co-AI)”, por microscopía electrónica de barrido; para lo cual, las muestras se prepararon por tres métodos diferentes: liofilización, secado por punto crítico (SPC) e hidrogeles hidratados en un MEB de presión variable [48]. Los hidrogeles liofilizados revelaron un mayor tamaño de poros para los copolímeros de poli(AAm-co-AI) (1-36 μ m), en comparación con los de poli(AAm-co-AAc) (0,5-7 μ m). Por su parte, mediante SPC, el hidrogel de poli(AAm-co-AAc) presentó una alta frecuencia de tamaños de poro de 2,5 μ m (23%), seguido de tamaños entre 1,7 y 3,33 μ m; mientras que el hidrogel de poli(AAm-co-AI) alcanzó tamaños de poros comprendidos entre 17 y 37 μ m. En la figura 17 se muestran imágenes obtenidas para los hidrogeles de poli(AAm-co-AAc) (figura 17a) y de poli(AAm-co-AI) (figura 17b).

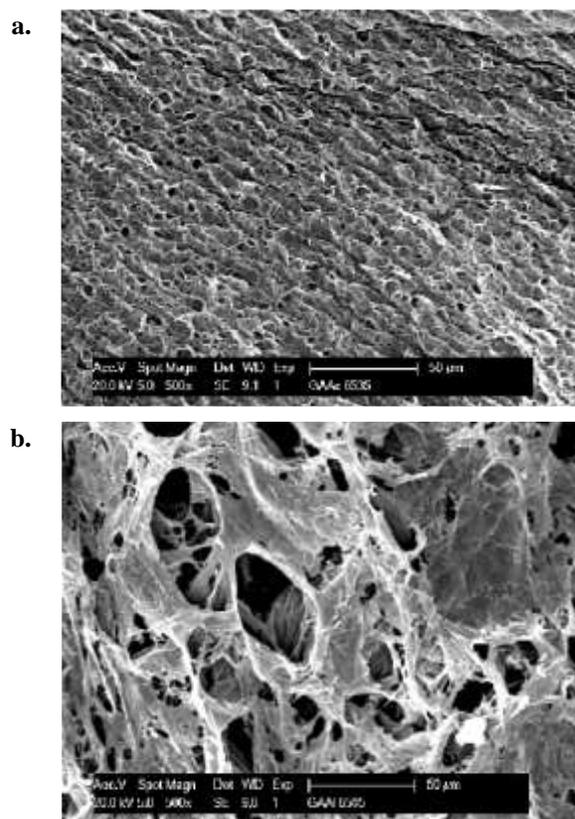


Fig. 17. a) poli(acrilamida-co-ácido acrílico) y b) poli(acrilamida).

Cuando este mismo hidrogel de poli (AAM-co-AAc) se colocó seco en la cámara del MEB y se sometió durante media hora a un ambiente de 100% humedad, se observó que, a medida que se sublimaba el agua de la superficie del hidrogel (-10°C), se desarrollaba una morfología como de vesículas o ampollas (figura 18a), algunas de las cuales se rompían para formar grandes poros de tamaños entre 30 y 60 μm . Para el hidrogel sintetizado con mayor cantidad

de ácido acrílico, poli(AAM-co-AAc), (a partir de una relación AAM/AAc, 60/40 y conservando la proporción de 1% del entrecruzante), sumergido en agua previamente por 24 h, se pudo observar un mayor carácter poroso en comparación al hidrogel análogo sintetizado sólo con 10% de AAc (figura 18b).

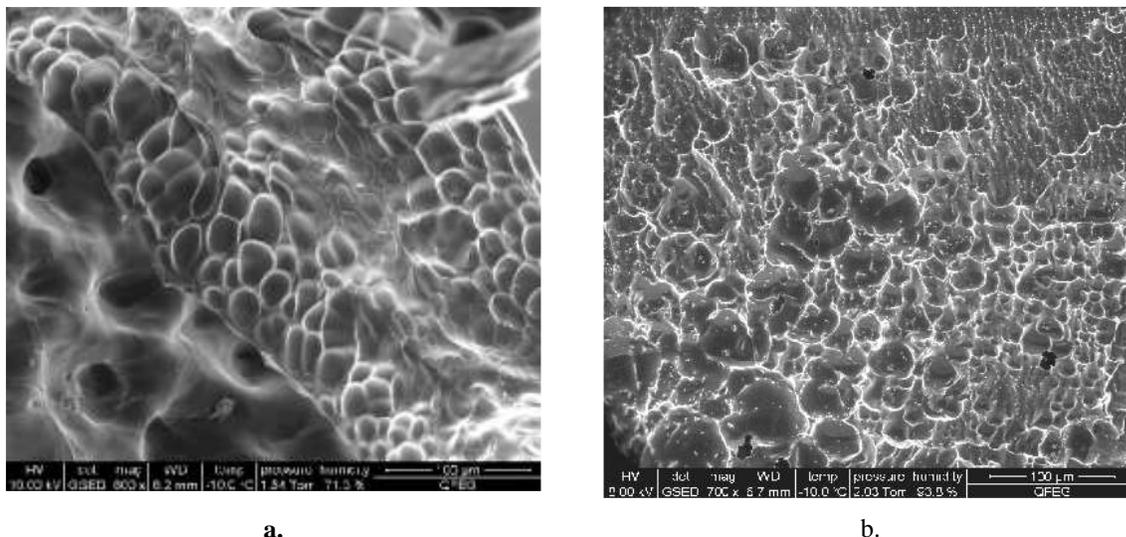


Fig. 18. Hidrogeles hidratados: a) Hidrogel de poli(AAM-co-Aac), sintetizado con AAM/AAc, 90/10, y humedecido en la cámara del MEB; y b) hidrogel de poli(AAM-co-Aac), sintetizado con AAM/AAc, 60/40, y umergido en agua durante 24 h.

REFERENCIAS

- [1] Sawyer, L.C. & Grubb, D.T. (1996) “*Polymer Microscopy*”, Salisbury, Springer 3era ed. Science+Business Media Dordrecht, pp. 17-18, 41, 160-161, 181-196. DOI: 10.1007/978-94-015-8595-8.
- [2] Urbina de Navarro, C. (2006) Trabajo de Ascenso. Universidad Central de Venezuela, Venezuela, pp. 34-40, 55-56.
- [3] Williams, D.B. & Carter, C.B. (1996) “*Transmission Electron Microscopy. A Textbook for Materials Science*”, 3era ed. USA: Springer Science+Business Media, pp. 371-372. DOI: 10.1007/978-1-4757-2519-3.
- [4] Reimer, L. & Kohl, H. (2008) “*Transmission Electron Microscopy. Physics of Image Formation*” 5ta ed. New York: Springer-Verlag, pp. 31-41. DOI: 10.1007/978-0-387-40093-8.
- [5] Montezinos, D., Wells, B.G. & Burns, J.L. (1985) “The use of ruthenium in hypochlorite as a stain for polymeric materials” *J. Polym. Sci., Polym. Lett. Edition* 23:421-425. DOI: 10.1002/pol.1985.130230805.
- [6] Michler, G.H. (2008) “*Electron Microscopy of Polymers*”. Berlin: Springer-Verlag, pp. 241, 243-259. DOI: 10.1007/978-3-540-36352-1.
- [7] Andrews, E.H. (1962) “Spherulite Morphology in Thin Films of Natural Rubber.” *Proc. R. Soc. Lond.*, A 270:232–241. DOI: 10.1098/rspa.1962.0214.

- [8] Kato, K. (1966) "Osmium tetroxide fixation of rubber lattices" *J. Polym. Sci., Part B: Polym. Lett.* 4(1):35-38. DOI: 10.1002/pol.1966.110040107 Citations: 182.
- [9] Kato, K. (1967) "The Osmium Tetroxide Procedure for Light and Electron Microscopy of ABS Plastics" *Polym. Eng. Sci.* 7(1):38-39. DOI: 10.1002/pen.760070110.
- [10] Andrews, E.H. & Reeve, B. (1971) "Some Structure-Property Relationships in Oriented Polychloroprene" *J. Mater. Sci.* 6:547-557. DOI: 10.1007/BF00550309.
- [11] Annighöfer, F. & Gronki W. (1983) "Blockpolymers of styrene and isoprene with variable interphase: Morphology and dynamic viscoelastic behaviour" *Colloid Polym. Sci.* 261:15-25. DOI: 10.1007/BF01411513.
- [12] Kim, G. & Libera, M. (1998) "Morphological Development in Solvent-Cast Polystyrene-Polybutadiene-Polystyrene (SBS) Triblock Copolymer Thin Films" *Macromolecules* 31(8):2569-2577. DOI: 10.1021/ma971349i.
- [13] Gil, G. (2001) "Influencia de las condiciones de preparación de muestra sobre la morfología de copolímero tribloque PS-b-PCL" (Trabajo Especial de Grado). Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- [14] Balsamo, V., Gil, G., Urbina de Navarro, C., Hamley, I.W., von Gyldenfeldt, F., Abetz, V., & Cañizales, E.J. (2003) "Morphological Behavior of Thermally Treated Polystyrene-*b*-polybutadiene-*b*-poly(-caprolactone) ABC Triblock Copolymers" *Macromolecules* 36(12):4515-4525. DOI: 10.1021/ma020129o.
- [15] Vitali, R., & Montani, E. (1980) "Ruthenium tetroxide as a staining agent for unsaturated and saturated polymers" *Polymer*, 21(10):1220-1222. DOI: 10.1016/0032-3861(80)90091-9.
- [16] Trent J. S., Scheinbeim J. I., Couchman P. R. (1981) "Electron microscopy of PS/PMMA and rubber-modified polymer blends: use of ruthenium tetroxide as a new staining agent" *J. Polym. Sci., Polym. Lett.* 19:315-319. DOI: 10.1002/pol.1981.130190607.
- [17] Trent, J.S., Scheinbeim, J.I., Couchman, P.R. (1983) "Ruthenium tetraoxide staining of polymers for electron microscopy" *Macromolecules* 16(4):589-598. DOI: 10.1021/ma00238a021.
- [18] Wolfe, S., Hasan, S.K., Campbell, J.R. (1970) "Ruthenium Trichloride-catalysed Hypochlorite Oxidation of Organic Compounds" *J. Chem. Soc. D* 21:1420-1421. DOI: 10.1039/C29700001420
- [19] Vera, V. (2008) "Caracterización morfológica y térmica de polimezclas de copolímeros dibloque AB y homopolímeros" (Trabajo Especial de Grado). Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- [20] Vera, V., Urbina de Navarro, C., Müller, A., Lorenzo, A., y López, J. (2009) "Caracterización morfológica y térmica de polimezclas: PE-*b*-PS/PS" *Acta Microscopica* Supp. C 18:341-342.
- [21] Kanig, G. (1975) "Neue elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Morphologie von Polyäthylenen" *Prog. Colloid Polym. Sci.* 57:176-191. DOI: 10.1007/BFb0117185.
- [22] Kanig G. (1980) "Direkte Beobachtung von Polyathylen-Feinstrukturen und Ihre Veränderungen beim Verstrecken und Tempern" *J. Cryst. Growth* 48(2):303-320. DOI: 10.1016/0022-0248(80)90218-3.
- [23] Kanig, G. (1983) "Application of the short-time staining for the electron microscopic investigation of the crystallization of polyethylene" *Colloid Polym. Sci.* 261:373-374. DOI: 10.1007/BF01413947.
- [24] Puig C.C. (1996) "The nucleation effect of linear polyethylene lamellae over the crystallization of branched polyethylene" *Polym. Bull.* 36:361-367. DOI: 10.1007/BF00319238.
- [25] Cedeño A., Puig C. C. (1999) "Isothermal lamellar thickening in blends of linear and low-density polyethylene" *J. Macromol. Sci. Part B Phys.* 38(5-6):505-514. DOI: 10.1080/00222349908248116.

- [26] Martínez-Salazar J., Keller A., Caglio M. E., Rueda D. R., Balt F. J., Calleja B. (1983) "Lamellar structure in melt crystallized low density polyethylene" *Colloid Polym. Sci.* 261:412-416. DOI: 10.1007/BF01418215.
- [27] Hobbs S. Y., Watkins V. H., Russell R. R. (1980) "TEM Studies of polymer blends stained with mercuric trifluoroacetate" *J. Polym. Sci.: Polym. Phys. Ed.* 18(2):393-395.
- [28] Olley R. H., Hodge A. M., Bassett D. C. (1979) "A permanganic etchant for polyolefines" *J. Polym. Sci.: Polym. Phys. Ed.* 17:627-643. DOI: 10.1002/pol.1979.180170406.
- [29] Bassett D. C., Hodge A. M. (1981) "On the Morphology of Melt-Crystallized Polyethylene I. Lamellar Profiles" *Proc. R. Soc. Lond, A* 377:25-37. DOI: 10.1098/rspa.1981.0113.
- [30] Olley R. H., Bassett D. C. (1982) "An improved permanganic etchant for polyolefines" *Polymer* 23(12):1707-1710. DOI: 10.1016/0032-3861(82)90110-0.
- [31] Prin J. L., Guerra D., Urbina C., Rojas de Gáscue B. (1999) "Optimización de las variables del ataque permangánico en polietilenos modificados químicamente" *Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales* 19(1 y2):57-60.
- [32] Rojas de Gáscue B., Prin J. L., Guerra D., Urbina de Navarro, C. (2002). "Relationship between the thermal properties and morphology in high density polyethylenes" *J. Therm. Anal. Calorim.* 67(2):343-347. DOI: 10.1023/A:1013966830517.
- [33] Vaughan A. S. (1993) "Etching and morphology of poly(vinylidene fluoride)" *J. Mater. Sci.* 28:1805-1813. DOI: 10.1007/BF00595749.
- [34] Lovinger A. J. (1982) "Developments in crystalline polymers-1" Springer Science+Business Media Dordrecht, pp. 195-218. DOI: 10.1007/978-94-009-7343-5.
- [35] Patrick M., Bennett V., Hill, M.J. (1996) "A comparation of methods of specimen preparation for transmission electron microscopy of bulk polyethylene" *Polymer* 37(24):5335-5341. DOI: 10.1016/S0032-3861(96)00384-9.
- [36] Cañizales E. (1998) "Estudio de la cristalización de muestras de Polietileno de Alta Densidad, Polietileno Lineal de Baja Densidad y sus mezclas sometidas a tratamientos térmicos" (Trabajo Especial de Grado). Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- [37] Urbina de Navarro C., Cañizales E., Arnal M. L., Müller A. J., Rodríguez P. (1999) "Estudio comparativo de los espesores lamelares en mezclas de polietilenos sometidas a diferentes tratamientos térmicos" *Proceedings of V Interamerican Electron Microscopy Congress.*
- [38] Caputo F., Urbina de Navarro C. (1995) "Estudio morfológico de EPDM mediante técnicas de Microscopía Electrónica" *Proceedings of III Interamerican Conference on Electron Microscopy and XV Meeting of the Brazilian Society for Electron Microscopy*, pp 101.
- [39] Caputo T. F., Morales R., Rojas A., Urbina C., Rojas C., González G., Páez J. (1994) "Estudio morfológico de un polímero de olefina mediante réplica de superficie para microscopía electrónica de transmisión" *VI jornadas venezolanas de Microscopía Electrónica*, pp 210-211.
- [40] Goldstein J. I., Dale E., Echlin P., Joy D. C., Lyman Ch. E., Lifshin E., Sawyer L., Michael J. R. (2003) "Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis" 3rd ed. New York: Kluwer Academic/Plenum, pp. 236, 567, 580, 647, 652-657, 597-598.
- [41] Stokes D. J. (2008) "Principles and Practice of Variable Pressure/Environmental Scanning Electron Microscopy (VP-ESEM)" United Kingdom: John Wiley and Sons, Ltd, pp. 63-68. DOI: 10.1002/9780470758731.

- [42] Thompson-Rusell K. C., Edington J.W. (1977) “*Electron microscope specimen preparation techniques in materials science*”. Londres: Mac Millan. DOI: 10.1007/978-1-349-03403-1.
- [43] Quitens D., Groeninck G. (1990) “Phase Morphology Coarsening and Quantitative Morphological Characterization of a 60/40 Blend of Polycarbonate of Bisphenol A (PC) and Poly(Styrene-Co-Acrylonitrile) (SAN)” *Polym. Eng. Sci.* 30(22):1484-1490. DOI: 10.1002/pen.760302209.
- [44] Ríos M. (1997) “Control del tamaño de partícula en la polimerización del metilmetacrilato vía radical libre en un reactor discontinuo” (Trabajo Especial de Grado). Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- [45] Díaz Valera N. (2003) “Estudio del PVDF preparado por bombardeo iónico para su observación por MEB y MET. Comparación con el ataque químico”. (Trabajo Especial de Grado). Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- [46] Urbina de Navarro C., Pérez-De Obanos M., Díaz Valera N., Caballero R. A. (2004) “Contribución al estudio de los factores que influyeron en falla de tuberías de PVDF” *Acta Microscópica* 13(1, 2):55-66.
- [47] Pérez-De Obanos, M. (2005) “Ataque cristalino selectivo del PVDF por hidróxido de sodio (NaOH) y su estudio por ME” (Tesis de Especialista en Evaluación de Materiales e Inspección de Equipos). Facultad de Ingeniería, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- [48] Urbina de Navarro C., Ramírez M., Bolívar G., Rodríguez R., Contreras D., Ramírez A., Prin J. L., Rojas de Gáscue B. (2016) “Análisis morfológico comparativo de hidrogeles copolímeros por microscopía electrónica de barrido” *Acta Microscópica* 25(2):111-120.