

UN MODELO PARA EL ESTUDIO DE LOS MATERIALES BIOLÓGICOS: LA SEDA

J. Pérez Rigueiro[@], C. Viney^{*}, J. Llorca[@] y M. Elices[@]

[@] Departamento de Ciencia de Materiales. ETSI Caminos, Canales y Puertos. Universidad Politécnica de Madrid. 28040 Madrid.

^{*} University of Oxford. Department of Materials. Parks Road. Oxford. OX 1 3 PH. Great Britain

Resumen. En el presente trabajo se han realizado ensayos de tracción simple de hilos de seda del gusano *Bombyx mori*. Se ha encontrado una gran variabilidad en las características mecánicas medidas habiéndose estudiado los posibles factores que influyen en dicha variabilidad. En primer lugar se ha encontrado que la utilización de un diámetro aparente que tenga en cuenta la variación de la sección a lo largo de su longitud aumenta considerablemente la uniformidad de los resultados. Sin embargo, para explicar los datos observados es necesario considerar una segunda fuente de variabilidad. Se ha analizado la influencia de la manipulación del hilo previo a su ensayo, habiéndose encontrado que la carga del hilo por encima de su límite elástico no influye el módulo de elasticidad medido. Finalmente, se ha utilizado la teoría de Weibull para describir la gran dispersión de las tensiones de rotura.

Abstract. Tensile tests on silkworm silk (*Bombyx mori*) have been performed. A large variability of the mechanical properties of the fibers has been found. Several possible sources of variability have been considered. The use of an apparent diameter which accounts for the nonuniform section along the fiber increases the uniformity of the results. However, another source of variability has to be considered to fully explain the experimental results. The most likely explanation seems to indicate that changes in the external coating of the fiber may account for this variability. The wrong manipulation of the silk previous to its testing has been discarded, since it has been found the stretching the fiber beyond its yield limit does not affect the elastic modulus. Finally, Weibull's theory has been applied to describe the large scatter in the tensile strength.

1. INTRODUCCION

Los materiales biológicos constituyen un área muy prometedora dentro de la Ciencia de Materiales puesto que generalmente presentan una combinación de propiedades mecánicas que no ha podido ser reproducida en materiales artificiales. Por tanto, el estudio de los materiales biológicos puede contribuir a crear modelos a partir de los cuales diseñar nuevos materiales artificiales e incluso, a permitir el uso de los materiales biológicos directamente en estructuras.

Sin embargo, el estudio de los materiales biológicos presenta dos dificultades muy importantes. En primer lugar los materiales biológicos deben sus propiedades a una microestructura jerarquizada, cuya caracterización implica el estudio de estos materiales a diferentes escalas. Por otro lado, debido a su método de producción, los materiales biológicos presentan una gran variabilidad de muestra a muestra, por lo que resulta difícil definir las propiedades normalizadas del material.

El objetivo de este trabajo ha sido determinar la variabilidad de las propiedades mecánicas medidas en hilos de gusano de seda (*Bombyx Mori*), así como tratar de determinar los orígenes de estas variaciones. Se ha elegido la seda del gusano de seda como material modelo debido a la facilidad relativa con la que se pueden obtener muestras con una longitud de centímetros, lo que permite su ensayo en las máquinas de ensayos mecánicos usuales. Por otro lado, los resultados obtenidos se pueden comparar con la abundante literatura sobre las propiedades mecánicas de la seda [1-3] si bien, su uso fundamental como material

textil implica que la mayor parte de los datos encontrados se refieren al ensayo de haces de fibras, frente a los datos presentados en este trabajo que corresponden al ensayo de fibras individuales.

Es necesario aclarar que por su proceso de producción un hilo de seda individual (*bave*) está formado por dos subfilamentos (*brins*), que al ser extruidos de la glándula correspondiente son recubiertos por una capa adicional de proteína. La separación de los subfilamentos implicaría un proceso tan agresivo que alteraría las propiedades mecánicas de la seda, por lo que los ensayos mecánicos se han realizado directamente sobre el filamento compuesto.

Las propiedades de los hilos cuya variabilidad se ha estudiado incluyen: la geometría de los hilos, la determinación de las curvas fuerza-desplazamiento y su conversión en curvas tensión-deformación, obteniéndose a partir de ellas el módulo de elasticidad, el límite elástico y la tensión de rotura. Por último, se ha estudiado la posibilidad de que la manipulación varíe las propiedades mecánicas de la seda realizando ensayos de tracción en los que se carga y se descarga alternativamente la probeta.

2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Para la obtención de los hilos con los que se realizaron los ensayos se hirvió un capullo de gusano de seda (*Bombyx Mori*) en agua destilada durante 20 minutos. Se obtuvieron hilos con una longitud entre 15-25 cm tirando con cuidado de no someter al hilo a tensiones que pudiesen inducir deformaciones permanentes. Se

dejó secar los hilos al menos 16 horas antes de realizar ensayos mecánicos.

A partir de los hilos originales se cortaron fragmentos con una longitud aproximada de 6 cm, realizándose con cada uno de estos hilos un ensayo de tracción simple. Para ello se pegaron los extremos del hilo en una tarjeta de cartón con el centro perforado a lo largo de 5 cm. Tras fijar la tarjeta a las mordazas de la máquina de ensayos (Instron 4411) se cortaron los bordes de la misma, de tal forma que toda la tensión quedó transmitida a través del hilo. Debido a las cargas que es necesario medir (del orden de décimas de Newton), en lugar de una célula de carga convencional se empleó una balanza (Precisa 6100 C, resolución ± 10 mgf). Para la medida de la deformación se utilizó el desplazamiento del carro, habiéndose estimado que la flexibilidad del hilo es tres órdenes de magnitud superior a la de cualquier otra parte del dispositivo experimental. Los hilos fueron ensayados a una velocidad de deformación de 0.00017 /s (0.01 /min).

Tras el ensayo se recuperaron los fragmentos de hilo. A partir de ellos se prepararon nuevos fragmentos de 5 mm de longitud que se utilizaron para medir el diámetro de las fibras. Para ello se metalizaron las fibras con oro y se introdujeron en una microscopio electrónico de barrido (JEOL 6300), se tomaron micrografías a 0° y 50° para tener en cuenta que las fibras no presentan una sección circular.

3. RESULTADOS Y DISCUSION

3.1 Geometría de la seda.

El estudio de la geometría de la seda y, en particular, la determinación del área de los hilos resulta complicado por tres motivos. En primer lugar las fibras no presentan una sección circular; secciones elípticas y triangulares (como la mostrada en la figura 1) aparecen con una frecuencia similar. En segundo lugar, la seda no presenta una sección uniforme a lo largo de toda la longitud del hilo, por lo que es necesario tomar varias medidas para estimar la sección de un hilo determinado. Finalmente, la estructura del hilo, consistente en dos subfilamentos impide el uso de la difracción láser, método relativamente rápido para caracterizar la sección de otros

tipos de fibras [4]. Este hecho implica la necesidad de utilizar la microscopía electrónica de barrido para la caracterización de la sección, convirtiendo este proceso en una tarea mucho más lenta.



Figura 1. Ejemplo de sección triangular encontrada en el hilo del gusano de seda *Bombyx mori*. La barra corresponde a 1 μm .

Para compensar la falta de uniformidad de las secciones y su variación a lo largo de la fibra se tomaron micrografías en tres puntos diferentes y alejados a lo largo de la fibra en dos orientaciones diferentes 0° y 50° (Idealmente hubiesen debido ser tomadas a 0° y 90° , pero esta geometría no se puede realizar con el microscopio utilizado). Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 1.

diámetro medio del subfilamento (μm)	Desviación típica (μm)	Diferencia media entre las dos orientaciones $ D_0 - D_{50} $ (μm)	Desviación típica $ D_0 - D_{50} $ (μm)	Max D (μm)	MínD (μm)
11.5	0.2	2.1	0.4	16.7	6.8

Tabla 1. Estadística del diámetro aparente de las fibras de *Bombyx Mori*.

De la tabla 1 se obtiene un valor medio para el diámetro del subfilamento de 11.5 μm. Tomando directamente los valores obtenidos a partir de la desviación típica del diámetro parece que los datos se agrupan en un entorno pequeño de este valor medio. De hecho, el pequeño valor obtenido para la desviación típica es un efecto del gran número de datos utilizados (se han analizado quince fibras obteniendo al menos seis micrografías de cada una). Así se explica la paradoja de que la desviación típica de la diferencia $|D_0 - D_{50}|$ sea mayor que la desviación típica considerando todas las fibras, ya que la primera a sido calculada con la mitad de los datos. La gran dispersión en el valor del diámetro aparente se puede apreciar comparando los valores máximo y mínimo del diámetro, existiendo una diferencia superior al 100 % entre ellos.

3.2 Ensayos de tracción.

La longitud base de los hilos ensayados fue de $L_0 = 50$ mm, habiéndose tomado como medida de la deformación $\epsilon = \Delta L / L_0$ y ensayándose las fibras con una velocidad de deformación de 0.00017 /s. Los resultados de los ensayos de tracción se muestran en la figura 2, donde se representa la fuerza a la que está sometido el hilo en función de la deformación.

A partir de esta gráfica se observa la gran variabilidad de los resultados obtenidos que, como ha sido indicado en la Introducción, constituye una de las dificultades iniciales en el trabajo con materiales biológicos.

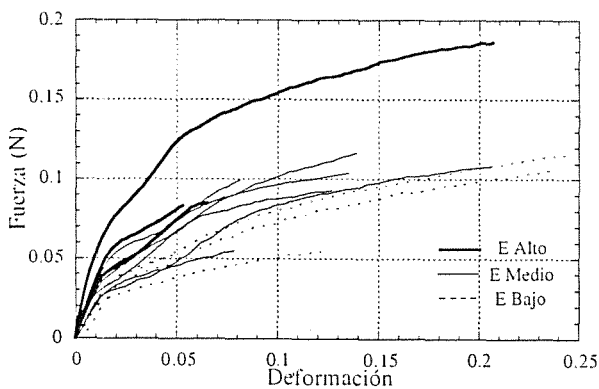


Figura 2. Característica fuerza-desplazamiento de los hilos ensayados.

A la vista de estos resultados cabe preguntarse el origen de esta gran dispersión. Como se ha indicado en el apartado 3.1, parte de esta dispersión puede ser debida a la variabilidad de la sección entre los diferentes hilos.

Para estudiar el efecto de la sección se ha determinado el diámetro aparente de cada uno de los hilos y con él se ha calculado la curva tensión-deformación. Es interesante destacar que las medidas del diámetro se han realizado sobre hilos previamente ensayados, habiendo sufrido una deformación de tipo plástico como se observa en la figura 2. Por tanto, para calcular la tensión (definida como fuerza entre área inicial) es necesario conocer la sección de los hilos antes del ensayo. Para la determinación de la sección inicial se ha realizado la hipótesis de material incompresible por lo que el área final (medido a partir de las micrografías electrónicas) e inicial vienen relacionadas por la expresión:

$$A_0 = \frac{A_f l_f}{l_0} \tag{1}$$

donde A_0 es el área inicial, A_f el área final, l_0 la longitud inicial de la fibra y l_f la longitud final debida a la plastificación de la fibra y que se ha tomado igual a la longitud final de la fibra.

A partir de las área obtenidas se han obtenido las curvas tensión-deformación que se muestran en la figura 3.

Se comprueba cómo la dispersión de los resultados experimentales se reduce del 200 % obtenida para las características fuerza-desplazamiento al 70 % cuando se considera el efecto de la sección, lo que demuestra que la variabilidad de la sección es un factor que influye en la dispersión de los resultados iniciales. Sin embargo,

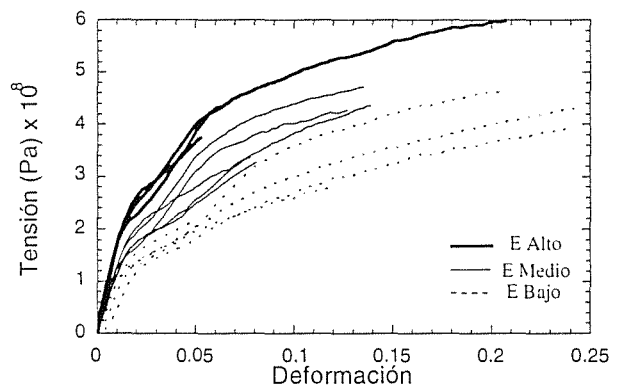


Figura 3. Características tensión-deformación de los hilos ensayados.

incluso considerando el efecto de la sección la variabilidad de los resultados resulta muy elevada. Es interesante comprobar cómo los resultados experimentales tienden a concentrarse en tres grupos marcados como E Alto, E medio y E bajo y cuyas características mecánicas se indican en la tabla 2.

	Módulo elástico bajo	Módulo elástico medio	Módulo elástico alto
Módulo elástico (GPa)	8.9±0.5	12.8±0.7	17.4±0.4
Límite elástico (MPa)	126±9	142±9	231±14

Tabla 2. Módulo elástico y límite elástico de la seda.

Como límite elástico se ha utilizado el límite elástico convencional al 0.2 %.

Como se ha indicado en el procedimiento experimental de los hilos obtenidos directamente del capullo se prepararon de dos a cuatro hilos que fueron posteriormente utilizados en los ensayos mecánicos. Es interesante destacar que las propiedades de estos hilos adyacentes presentaron una variabilidad mucho menor que la reflejado en las figuras 2 y 3. Así en la figura 4 se comparan las curvas tensión-deformación de cuatro hilos obtenidos a partir de la misma fibra original.

La reproducibilidad de los resultados obtenidos a partir de hilos adyacentes ya había sido indicada para el hilo de amarre de la araña *Nephila clavipes* [5], y tiene una importancia fundamental para discutir la influencia de las variables ambientales en las propiedades mecánicas de los hilos. En efecto, si fuese necesario obtener conclusiones a partir de datos con la dispersión mostrada en las figuras 2 y 3, sería necesario realizar un número muy grande de ensayos para obtener resultados estadísticamente significativos.

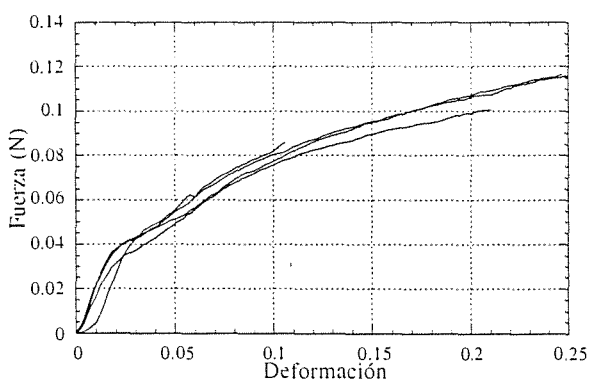


Figura 4. Comparación de las curvas tensión-deformación de cuatro fibras adyacentes obtenidas a partir del mismo hilo original.

Se puede concluir de la discusión anterior que los hilos adyacentes comparten algún tipo de propiedad entre sí y que puede diferir enormemente entre hilos diferentes. Una hipótesis que permitiría explicar la variación de las propiedades mecánicas para diferentes hilos es la

modificación de las propiedades mecánicas de los hilos durante su extracción. Para estudiar esta hipótesis se han realizado ensayos de tracción en los que la muestra se descargaba a determinados intervalos, para estudiar cuál es la respuesta del material que ha sido cargado previamente. En la figura 5 se puede apreciar el ensayo de tracción de un hilo al que se ha sometido a cuatro ciclos de carga-descarga.

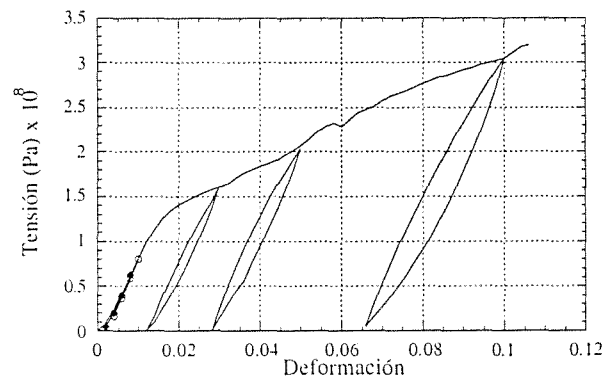


Figura 5. Ensayo de tracción con cuatro pasos de carga/descarga.

De la figura 5 es interesante destacar cómo el efecto de someter al hilo a una tensión y descargar posteriormente se observaría experimentalmente como un desplazamiento del límite elástico. Por otro lado, como se observa en el ciclo superpuesto a la carga inicial (marcado por rombos y círculos) existe una zona verdaderamente elástica dentro de la cual no se produce la deformación irreversible del hilo. En la tabla 3 se muestran los módulos de elasticidad correspondientes a la carga inicial y a los distintos pasos de carga y descarga, comprobándose el hecho indicado arriba de que el módulo de elasticidad no se ve afectado por una carga previa del material.

	inicial	1° paso	2° paso	3° paso	4° paso
E (GPa) cargas	8.2	8.2	8.6	8.7	8.9
E (GPa) descargas	-	8.2	15.0	14.7	17.0

El módulo de elasticidad de las descargas se ha calculado a partir del tramo inicial de la descarga. Este dato debe tomarse con reservas, debido a la influencia de las propiedades viscoelásticas del material en ese tramo, como se deduce de la histéresis de cada ciclo de carga y descarga.

De los resultados obtenidos a partir de los ensayos de tracción con ciclos de carga y descarga se puede concluir que las variaciones observadas en el módulo de elasticidad entre los diferentes hilos no se pueden atribuir a su diferente manipulación durante el proceso de extracción. Actualmente se está tratando de comprobar la hipótesis de que las variaciones observadas se deben a la presencia de una capa de sericina más o menos degradada recubriendo las fibras. Como se ha indicado en la introducción las fibras están inicialmente recubiertas de sericina, una proteína que actúa a modo de cemento para mantener íntegro el capullo. Los hilos utilizados por otros autores han sido obtenidos a partir de soluciones con un alto contenido en detergentes o sales, con objeto de eliminar el recubrimiento de sericina. Los hilos presentados en este estudio han sido obtenidos a partir de capullos hervidos en agua destilada, por lo que el recubrimiento de sericina ha permanecido, al menos parcialmente, en algunos de ellos. Según esta hipótesis, los hilos que presentan un módulo de elasticidad más alto corresponderían a las fibras con un recubrimiento de sericina intacto, el módulo de elasticidad medio a las fibras con un recubrimiento de sericina parcialmente degradado y las fibras con un módulo de elasticidad bajo a hilos en los que se ha eliminado el recubrimiento de sericina.

3.3 Tensión de rotura de las fibras.

Incluso si la hipótesis de la presencia de la sericina finalmente explica las grandes variaciones observadas en las propiedades mecánicas de los hilos por lo que respecta al módulo de elasticidad y límite elástico, se sigue observando una gran variación por lo que respecta a la tensión de rotura. De hecho incluso hilos adyacentes obtenidos a partir del mismo hilo original pueden

presentar una diferencia próxima al 50 % en la tensión de rotura.

Esta gran variabilidad en la tensión de rotura se da con mucha frecuencia en fibras artificiales (carbono, carburo de silicio, etc) utilizándose la teoría de Weibull [6,7] para describir su comportamiento.

La teoría de Weibull parte de la hipótesis de que la probabilidad de rotura de una fibra es:

$$F = 1 - \exp\left(-\frac{L}{L_0}\left(\frac{\sigma}{\sigma_0}\right)^m\right) \quad (2)$$

donde m , σ_0 y L_0 son parámetros característicos del material. Para el caso en el que las fibras ensayadas tengan la misma longitud (como en el caso de los ensayos sobre hilo de seda), la ecuación (2) se simplifica a:

$$F = 1 - \exp\left(-\frac{\sigma}{\sigma_0}\right)^m \quad (3)$$

A partir de la ecuación (3) se concluye que una representación $\text{Ln}(\text{Ln}(1/1-F))$ frente a $\text{Ln}\sigma$ tiene que resultar una línea recta, a partir de la cual se pueden determinar los parámetros m y σ_0 .

Para realizar este análisis con los hilos de seda se realizaron 25 ensayos sobre las fibras de 50 mm de longitud inicial. El resultado de la representación $\text{Ln}(\text{Ln}(1/1-F))$ frente a $\text{Ln}\sigma$ se muestra en la figura 6.

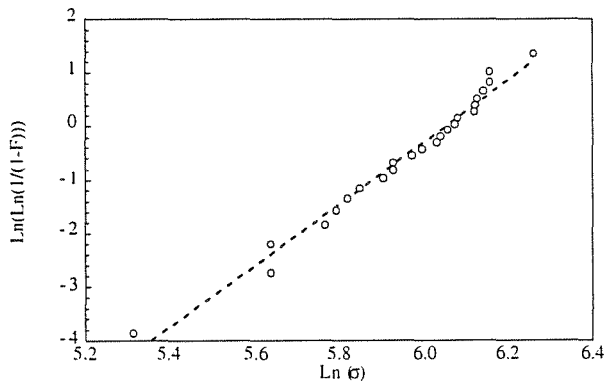


Figura 6. Determinación de los parámetros de Weibull de la seda.

Los resultados se ajustan a una recta con una coeficiente de correlación $r=0.989$ y a partir de estos datos se pueden obtener unos valores de $m=5.8$ y $\sigma_0=403$ MPa. El valor obtenido para el parámetro de Weibull m es similar al obtenido para el vidrio ($m=5$) y para otras fibras artificiales [7,8].

4. CONCLUSIONES

El objetivo del presente trabajo ha sido caracterizar las propiedades mecánicas del hilo de gusano de seda después de comprobar que se encuentra una gran variabilidad en los resultados obtenidos a partir de ensayos de tracción. La primera fuente de variabilidad que se ha estudiado ha sido la no uniformidad del hilo a lo largo de su extensión. La utilización de un diámetro aparente a partir de medidas tomadas a lo largo del hilo ha permitido reducir las diferencias observadas en las curvas carga-desplazamiento. Sin embargo, incluso teniendo en cuenta la variabilidad geométrica las diferencias encontradas en las propiedades mecánicas de las fibras es próxima al 70 %. Es importante destacar que esta variabilidad se reduce drásticamente cuando se comparan ensayos de hilos provenientes de la misma hebra original, hecho que puede ser utilizado para estudiar la influencia que diversas condiciones (humedad, temperatura, etc) tienen sobre las propiedades mecánicas.

La siguiente fuente de variabilidad estudiada ha sido la manipulación de las fibras durante su preparación, obteniéndose que la carga de los hilos por encima de su límite elástico, no modifica el módulo de elasticidad. Actualmente se está estudiando la hipótesis de que el recubrimiento de sericina sea el responsable de la variabilidad en las propiedades mecánicas, correspondiendo los hilos con mayor módulo de elasticidad a fibras con el recubrimiento intacto y disminuyendo el módulo de elasticidad al degradarse este recubrimiento.

Finalmente se ha estudiado la tensión de rotura de los hilos aplicándose la teoría de Weibull. Se ha encontrado un exponente de Weibull $m=5.8$, próximo al que presentan el vidrio y las cerámicas.

6. REFERENCIAS

- [1]. Y. Kawahara, M. Shioya, A. Takaku, J. Appl. Polym. Sci., 61, 1359-1364, (1996)
- [2]. G. Freddi, M.R. Massafra, S. Beretta, S. Shitaba, Y. Gotoh, H. Yasui, M. Tsukada, J. Appl. Polym. Sci., 60, 1867-1876, (1996)
- [3]. D. L. Kaplan, S.J. Lombardi, W.S. Muller, S.A. Fossey en "Biomaterials" (editado por D. Byrom), Stockton Press, New York, pp. 1-53, (1991)
- [4]. J.V. Bancik, A. Datyner, Textile Res. J., 662-665, October 1977
- [5]. R.W. Work, Textile Res. J., 47, 650-662, (1977)
- [6]. "Microstructural design of fiber composites", T.W. Chou, Cambridge University Press, Cambridge, pp. 98-168, (1992)
- [7]. G. Simon, A.R. Bunsell, J. Mater. Sci., 19, 3949-3657, (1984)
- [8]. "Materials for Engineering", B. Derby, D. Hills y C. Ruiz, Longman Scientific and Technical, pp. 225-228, (1992)