

EVALUACIÓN DE LA BIODEGRADACIÓN AEROBIA DE POLIURETANO RESIDUAL GENERADO EN LA INDUSTRIA DE FABRICACIÓN DE REFRIGERADORES

Gustavo Adolfo Hincapié Llanos^{*†}, Margarita Enid Ramírez Cardona^{}**

**Facultad de Ingeniería Agroindustrial. Universidad Pontificia Bolivariana, Cq. 1
#70-01, Bloque 9 Of 211, Medellín, Colombia,*

*** Centro de Estudios y de Investigación en Biotecnología. Facultad Ingeniería
Química. Universidad Pontificia Bolivariana. Cp. 1° N° 70-01 Bloque 11. Medellín
/ Colombia.*

Recibido 20 Junio 2009; aceptado 25 Junio 2009
Disponible en línea: 30 Junio 2009

Resumen: Se evaluó la biodegradación del poliuretano residual, utilizando *Aspergillus niger*. Se realizaron ensayos de respirometría en un equipo OXITOP, en los que se consumió el 98% del oxígeno disponible a las 200 horas. La biodegradación se realizó en un reactor de acumulación aireada, con una humedad del 40% y 25°C de temperatura durante 45 días. Se realizaron análisis de espectroscopía IR apareciendo una banda en 610 cm⁻¹, correspondiente a anillos aromáticos liberados cuando los enlaces de los grupos amida II y IV se rompen. Se efectuó Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) observándose el cambio en la superficie del poliuretano. *Copyright © 2008 UPB.*

Abstract: Biodegradation of residual polyurethane by means of *Aspergillus niger* was evaluated. Respirometric tests were performed using an OXITOP equipment, tests which showed a 98% of consumed oxygen in a 200 hours lapse. Biodegradation was done in an aerated accumulation reactor, at 40% humidity and 25 °C temperature during 45 days. Spectroscopy IR analysis showed a 610 cm⁻¹ band, which corresponds to aromatic rings that were released when the amide II and IV links were broken. Sweep Electronic Microscopy (SEM) showed changes in the polyurethane surface.

Keywords: Polyurethane. Biodegradation. SEM. Spectrophotometer IR. *Aspergillus niger*

[†] Autor al que se le dirige la correspondencia:
Tel. (+574) 3544532 ext 118
E-mail: gustavo.hincapie@correo.upb.edu.co (Gustavo Adolfo Hincapié Llanos).

1. INTRODUCCIÓN

En 1996 la producción mundial anual de materiales poliméricos estaba alrededor de 150 millones de toneladas, con un promedio de consumo per cápita de plásticos en los países desarrollados de 80–100 k/año, por ejemplo, en la China se estimó la producción de desechos plásticos en 16 millones de toneladas en el año 2000, siendo el quinto país en el mundo responsable de estos residuos, después de EEUU, Japón, Alemania y Corea del sur. El consumo per cápita en países como Colombia es más bajo debido a la limitada producción y utilización de estos materiales por los hábitos de consumo ([Ren, 2003](#)).

Para el año 2002, en Colombia se produjeron cerca de 4 millones de toneladas de residuos sólidos ([Ren, 2003](#)), Medellín generó 58.572 toneladas/año de plásticos (Empresas Varias de Medellín, 2000). Dow Polyurethanes estimó que, en 1999, el consumo mundial de poliuretanos fue de aproximadamente 6.8 millones de toneladas métricas. Siendo Europa y Norteamérica las regiones con mayor producción ([Dow Polyurethanes, 1999](#)).

En Colombia la demanda de poliuretano ha aumentado en los últimos tres años, pasó de aproximadamente 1000 toneladas en el año 2003, a 2000 toneladas en el año 2005 y según proyecciones el mercado sigue en aumento, estos datos no incluyen el poliuretano que se produce dentro del país por reacción de un poliisocianato y un polioliol (BASF, 2006).

Los principales compradores de poliuretano en Medellín son empresas del sector calzado y de empaques plásticos, industrias como Calzado Fratello LTDA compró 58 toneladas de poliuretano en el año 2005 y genera una cantidad de residuo de poliuretano de aproximadamente 5040 kilogramos al año, lo que equivale al 8.7%, sin tener un método de disposición final adecuado, además empresas como Eduardoño, utiliza el poliuretano como base para lanchas y muebles de las mismas, no se obtuvieron datos de residuos. La empresa HACEB emplea poliuretano como aislamiento térmico y como refuerzo estructural de los equipos de refrigeración; generando en el proceso de llenado de las paredes, aproximadamente 0.5 Ton/mes de residuo sólido de este polímero que en la actualidad se dispone en relleno sanitario.

Las técnicas más utilizadas para tratar residuos sólidos poliméricos son el reciclaje, el compostaje, la incineración y el relleno sanitario ([Ren, 2003](#)). Investigaciones sobre la pirólisis de poliuretanos concluyen que se producen compuestos poliaromáticos y radicales libres que pueden ser contenidos y atrapados ([Duquesne, 2001](#)), también se pueden producir compuestos como isocianatos que pueden generar problemas a la salud y al ambiente ([Boutin et al, 2004](#)). Una de las propiedades físicas de este polímero es que es termoestable, lo que descarta su reciclaje utilizando calentamiento ([McMurry, 2000](#)).

Una posible vía de minimización de este residuo, ya sea antes o después de su disposición en relleno sanitario, consistiría en recurrir a la biorremediación ([Carrasco, 1991](#); [Comisión técnica Platívica, 1998](#); [Morton et al, 1996](#)).

En esta investigación se realizó la evaluación de las condiciones de biodegradación del residuo sólido de poliuretano empleando el hongo *Aspergillus niger*, para lo cual se realizó curva de crecimiento del microorganismo en sustrato comercial, ensayos de respirometría en un equipo OXITOP. La biodegradación se realizó en un reactor de acumulación aireada, evaluando los cambios por análisis de espectroscopía Infrarroja y análisis por Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Poliuretano

Las muestras de poliuretano a biodegradar, se obtuvieron de los residuos generados en el proceso de vaciado y llenado de las paredes de refrigeradores en una empresa antioqueña, son espumas rígidas con densidades que varían entre 21 y 37 Kg/m³. Las muestras de residuo sólido de poliuretano fueron trituradas y homogenizadas.

2.2. Microorganismo *Aspergillus niger*

El microorganismo empleado fue *Aspergillus niger* del cepario del Centro de Estudios y de Investigación en Biotecnología (CIBIOT) de la Universidad Pontificia Bolivariana; se replicó en cajas de petri estériles con medio de cultivo

sólido de poliuretano, después de la adaptación que se realizó disminuyendo la cantidad de nutrientes utilizando medio Czapeak ([Abdel-Sater y El-Said 2001](#)) y aumentando la concentración de poliuretano. La adaptación se realizó como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Adaptación de *Aspergillus niger* al sustrato de poliuretano

Ensayo	Czapeak %	Poliuretano %
1	100	0
2	75	25
3	50	50
4	25	75
5	0	100

La adaptación se realizó en cada ensayo en medio líquido, en erlenmeyer de 250 mL, con agitación durante 30 días, (agitador Orbital Heidolph 1010) a 130 rpm y a una temperatura de 25 °C. La adaptación de los microorganismos se comprueba de forma cualitativa mediante la observación de los cambios en su crecimiento en cajas de agar Sabouraud (MERCK). A la adaptación final, ensayo 4, se le realizó el ensayo de respirometría.

2.3. Ensayo de Respirometría

Para evaluar si *Aspergillus niger* adaptado era activo o potencialmente activo metabólicamente, se realizó una serie de ensayos respirométricos que consistieron en la cuantificación del CO₂ producido por el hongo adaptado.

El ensayo se realizó en el equipo de biodegradabilidad Sistema OXITOP Box /115 WTW. La muestra se preparó con 10 g de poliuretano triturado y homogenizado, se inoculó con 20 mL de una solución de esporas adaptado al 75% de poliuretano, con una concentración celular de 10⁸ (esporas/mL), el tiempo de exposición fue de 45 días.

Este equipo determina directamente la caída de presión de oxígeno debido al consumo de este por el *Aspergillus niger* al descomponer el poliuretano. De manera indirecta se encontró el porcentaje de O₂ mediante el empleo de la ecuación de estado de los gases ideales.

Una vez obtenidas las moles de oxígeno consumido, el cálculo de las moles de dióxido de carbono producidas se realiza mediante la

manipulación estequiométrica de la reacción de degradación del poliuretano, se supone una oxidación primaria.

2.4. Ensayo de biodegradabilidad en el reactor de acumulación aireada

Se realizó la biorremediación empleando un reactor de acumulación aireada, la cual aplica los conceptos de una fermentación en estado sólido. Por lo anterior se utilizó un reactor con control de temperatura, control de volteo y suministro de nutrientes. Para la puesta en marcha, se acondicionó el poliuretano a los resultados de la adaptación del *Aspergillus niger* con el medio Czapeak.

El reactor fue cargado al 60% de su capacidad (2L), se adicionaron nutrientes de carbono, nitrógeno, fósforo, potasio y magnesio, en una proporción de 25% del medio Czapeak, de acuerdo al ensayo de adaptación realizado. Se trabajó con una humedad del 40% y a 25°C de temperatura. Se inoculó con una concentración celular de 10⁸ (esporas/mL), realizando volteo en intervalos de 10 y 30 minutos durante 45 días, después de los cuales se evaluó el poliuretano por análisis de espectro infrarrojo y microscopía electrónica de barrido (SEM).

2.5. Espectro infrarrojo de la espuma de poliuretano

Para determinar los cambios en la estructura química de la espuma de poliuretano, más propiamente en los enlaces de los grupos funcionales, se utilizó espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier, se le determinó el espectro al poliuretano sin ningún tratamiento y a la espuma después del ensayo de biodegradabilidad, para eso se empleó un espectrofotómetro FT-IR Nicolet modelo Protege 460. Las muestras en polvo de poliuretano previamente secas, fueron preparadas en solución sólida de KBr al 1% y analizadas en un intervalo de 400 a 5000 cm⁻¹ y de 0 a 100 % de transmitancia. La determinación fue realizada en el laboratorio de análisis de la empresa Andercol S.A.

2.6. Microscopía Electrónica de Barrido SEM

La Microscopía Electrónica de Barrido, es una técnica de laboratorio utilizada para la observación y caracterización de la superficie de materiales inorgánicos y orgánicos, entregando información morfológica del material analizado (Grageda, 2007). La morfología superficial de las muestras de espuma de poliuretano fue analizada con un microscopio electrónico de barrido marca JEOL, modelo LV6360. Previamente las muestras fueron sometidas a un proceso de recubrimiento con partículas de oro con un equipo de metalizado marca BALZERS UNION, modelo SCD-030, para crear una diferencia de densidades electrónicas que permitieron observar la morfología de su superficie. El análisis fue hecho en el laboratorio de química de la Universidad Nacional de Medellín.

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1. Adaptación del microorganismo

Después de realizar los ensayos de adaptabilidad, se obtuvieron resultados aceptables en los ensayos 1 al 4, la adaptación del microorganismo se comprueba mediante la observación del crecimiento en cajas de agar Sabouraud (MERCK), cotejando el color y la textura de las cepas.

Aspergillus niger no se adaptó al 100% de poliuretano, en el cual toda la fuente de carbono y nitrógeno provenía del residuo en estudio. No se comprobó crecimiento al inocular una muestra en el agar Sabouraud (MERCK). Es por eso que los ensayos posteriores se realizaron con el hongo adaptado al ensayo 4, (75% de poliuretano).

Los microorganismos son capaces de biodegradar un rango complejo de polímeros bajo ciertas condiciones, como una disponibilidad de carbono en exceso, por ejemplo una relación de C/N de 10. Se incluye una diversa clase de poliésteres, polisacáridos y seda. La biodegradación de polímeros depende de la composición de la molécula, peso molecular y la presencia de microorganismos específicos en la superficie del material. Algunos polímeros casi pueden utilizarse completamente como fuente de carbono y energía, mientras que otros sólo se degradan

parcialmente. Ejemplo de estos polímeros incluyen los poli(hydroxialcanoato)s (PHA)s, γ -poli(ácido glutámico), acetatos de celulosa con valores bajos de sustitución, poliéteres, poliuretanos y cauchos naturales (Gu, 2003).

Se reportó la degradación de poliuretano sólido por *Corynebacterium sp.* donde se observó una actividad esterasa de las enzimas. A un cultivo de *Comamonas acidovorans* le fue adicionado poliéster poliuretano sólido como única fuente de energía, carbono y nitrógeno (Kay et al., 1993). Se aislaron enzimas con actividad de esterasa y uretano hidrolasa del hongo *Chaetomium globosum* y *Aspergillus terreus*. Estos organismos no crecieron sin ayuda en el PU; estas enzimas deben ser inducidas mediante la adición de poliuretano líquido al medio de crecimiento, la actividad de las enzimas fue determinada por los cambios detectados en el grupo etil carbamato o uretano (Boubendir, 1993).

Se propuso un mecanismo para la degradación de los poliéster PU por medio de esterazas extracelulares, la degradación del PU es el resultado de la actividad sinérgica entre las endopoliuretanasas y las exopoliuretanasas, las endoenzimas hidrolizan la molécula de PU en lugares aleatorios a lo largo de la cadena polimérica llevando a la pérdida de la fuerza tensil. Las exoenzimas remueven unidades de monómeros sucesivas de los extremos de la cadena y se muestra una pequeña pérdida de la fuerza tensil (Wales y Sagar, 1988).

3.2 Ensayo de Respirometría

El agotamiento de oxígeno en el recipiente OXITOP, no indica que toda la cantidad de poliuretano haya sido degradada, simplemente es un factor que depende de las condiciones espaciales del recipiente utilizado para realizar la biodegradación, y su capacidad de almacenar oxígeno. Así mismo aunque se haya producido dióxido de carbono en el sistema, y el equipo llegue a no registrar cambio alguno en su porcentaje, no indica que el microorganismo esté inhibido por los niveles de este compuesto, esto es debido a que la precisión del equipo ha llegado a sus límites y su actividad biológica continua a niveles bajos de consumo de oxígeno y

producción de dióxido de carbono ([Cardona, 2007](#)).

En las [Figuras 1](#) y [2](#) se presentan los resultados del oxígeno consumido y la producción de dióxido de carbono en el proceso de biodegradación de poliuretano.

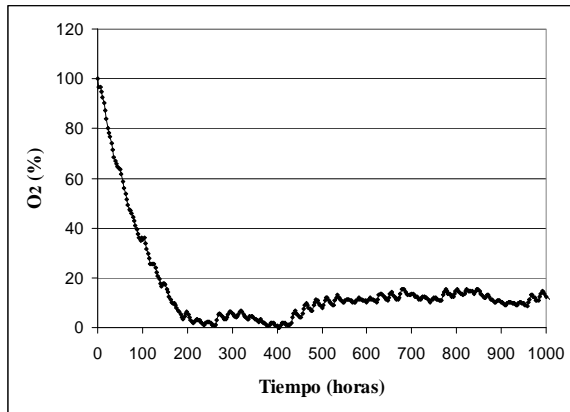


Fig. 1. Consumo de Oxígeno en el tiempo

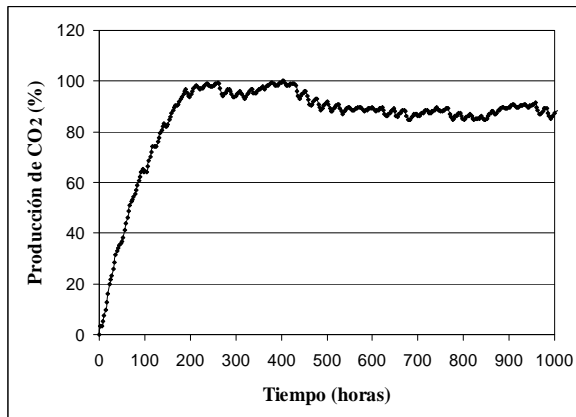


Fig. 2. Producción de CO₂ en el tiempo

Para la medición del oxígeno consumido en el proceso de biodegradación en este estudio se registró directamente la caída de presión generada por el consumo de oxígeno realizado por el hongo *Aspergillus niger*, con esta caída de presión se calculó el porcentaje de O₂ consumido y posteriormente la producción de CO₂.

Se observó en la [Fig. 1](#) que en las primeras 24 horas ya se había consumido el 20% del oxígeno presente en el equipo, y que a las 64 horas se había agotado la mitad del oxígeno del recipiente, lo que indica que el microorganismo está adaptado a las condiciones del ensayo y que se

está preparando para la biodegradación del material polimérico.

La pendiente de la curva va perdiendo fuerza y aproximadamente a las 200 horas se consume el 98 % del oxígeno total, en esta fase el *Aspergillus niger* está activo metabólicamente; después de este período se empieza a percibir una fluctuación periódica que puede indicar un aumento en la caída de presión en el día, que va disminuyendo en la noche, debido a los cambios de temperatura en estos períodos de tiempo ([Fiuza y Vila, 2005](#)).

Es posible que la reacción que esté ocurriendo en el poliuretano sea debido al ataque de enzimas esterases extracelulares ([Wales y Sagar, 1998](#)) o por varias hidrolasas ([Howard y Blake, 1998](#)) como las ureasas, proteasas y esterases, cuyos mecanismos han sido descritos por [Darby y Kaplan \(1968\)](#), lo que indica que la reacción es una hidrólisis, y el producto de esta reacción es agua, esto ayuda a indicar que en realidad el hongo sí está utilizando al poliuretano como fuente de carbono y nitrógeno, ya que sólo así es posible que se esté produciendo CO₂ en el medio. Es claro que la primera reacción que ocurre es la hidrólisis de la molécula de poliuretano que puede ser en lugares aleatorios o en los extremos de la cadena ([Wales y Sagar, 1998](#)) dependiendo del tipo de enzima que el microorganismo este utilizando.

En la investigación de biodegradación y biotrituración de llantas usadas, utilizando *Aspergillus niger*, realizada por [Peláez \(2005\)](#), se reportó que a las primeras 44 horas sólo se había consumido el 5% del oxígeno presente en el equipo, mientras que utilizando como sustrato el poliuretano, en el mismo tiempo, ya se había consumido un 25% aproximadamente.

Comparando con [Cardona \(2007\)](#), en donde se evaluó la biodegradación de polipropileno en suelo, se puede observar que en este último a las 48 horas hubo un consumo del 50% del oxígeno, mientras que utilizando poliuretano como sustrato este porcentaje se alcanzó sólo a las 64 horas, 16 horas después, como se observa en la [Fig. 2](#). Además la saturación del sistema se alcanzó en la mitad del tiempo cuando se observa el ensayo de respirometría en suelo contaminado por polipropileno (92 horas), mientras que en poliuretano se demoró cerca de 200 horas; esto se debe en gran parte a que en el ensayo del suelo se utilizó un cultivo mixto que contenía

Aspergillus fumigatus, *Aspergillus niger* y *Penicillium sp.* Lo que produce más eficiencia en la reacción de biodegradación debido a la diversidad enzimática, y a que el polipropileno es menos recalcitrante que el poliuretano.

Como se observa en la [Fig. 2](#) en las primeras 24 horas de producción de CO₂, la pendiente de la curva es elevada, llegando a un valor de un poco más del 20%; para alcanzar una producción del 40%, los microorganismos se demoran cerca de 56 horas, lo que muestra una pequeña caída en la pendiente. Esta tendencia sigue mostrándose hasta llegar a la producción máxima de CO₂ del 100%, según la capacidad del equipo, a las 200 horas. Después de este tiempo la actividad del hongo disminuyó, observándose en la curva una tendencia constante con fluctuaciones negativas de hasta un 12%, con esto se puede establecer que la producción final de CO₂ se da a las 200 horas y a partir de ese momento el equipo empieza a dar lecturas poco confiables.

[Mahmoud \(2000\)](#) estudió la producción de CO₂ al degradar guantes de látex en una incubación de 40 días. Los microorganismos *Gordonia sp. Kb2* y *Micromonospora aurantiaca W2B* mostraron un incremento en la mineralización del sustrato y una mayor eficiencia en la colonización, produciendo hasta un 30% de CO₂. Lo que sería una producción de 1/3 parte comparada con la obtenida en este ensayo.

[Montserrat \(2006\)](#) realizó ensayos de respirometría en suelos para valorar la toxicidad de un lodo que estaba contaminado con algunos metales pesados, en el estudio se observó que en las primeras 120 horas la producción de CO₂ indicaba una fuerte actividad microbiana cuando la concentración de los metales era de ppm, cuando la concentración aumentaba, la producción de CO₂ disminuía y por consiguiente la actividad microbiana, hasta llegar al punto en que se inhibía toda actividad de los microorganismos, esto debido a la toxicidad que presentan el Zn, Cr, y Ba en las cantidades estudiadas. Por lo anterior en este estudio el *Aspergillus niger* no se inhibe con el poliuretano, ya que siempre se presentó producción de CO₂, que dejó de obtenerse solo cuando la capacidad del recipiente se saturó, esta falta de inhibición del microorganismo se da a pesar de que el poliuretano es producido a partir de una sustancia tóxica como es el isocianato y que al hidrolizarse el polímero quedaría nuevamente como producto,

lo cual no se detectó en este ensayo, ni en el espectro infrarrojo obtenido.

Las caídas de presión del oxígeno consumido por el *Aspergillus niger*, están mostrando el aumento en la producción de CO₂ y la disminución de O₂, indicando que hay actividad del microorganismo en función de biodegradar el poliuretano, expresando el comienzo de la transformación de este en productos menos contaminantes y fáciles de degradar. Como los procesos de biodegradación no se pueden ligar a una sola estructura molecular o al ataque de los microorganismos en un solo punto de la molécula, es por esto que en estos procesos se cuantifica el grado de mineralización por el CO₂ producido ([Cantu et al., 1999](#)). Lo que propone que el ensayo de biodegradabilidad realizado al *Aspergillus niger* demuestra la actividad y capacidad de este, a iniciar una biodegradación al poliuretano, en este caso de tipo primaria.

El potencial de aplicación de la respirometría a la biorremediación de suelos contaminados no se ha explotado a fondo ([Mahendraer y Tiraraghavan, 1995](#)), menos en la biodegradación de materiales poliméricos como el poliuretano en estudio. Se han encontrado algunos estudios de respirometría para determinar la biodegradación de polímeros como el polietileno de baja densidad, este estudio quería determinar la mineralización de este material en suelos mediante la incubación en compost. Esta prueba de respirometría tuvo como objetivo simular el entierro en el suelo y propiciar condiciones de abonamiento con compost, se obtuvieron resultados del 60% de mineralización con tiempos largos de incubación ([Chiellini, 2003](#)).

La respirometría permite obtener datos extensos referentes al oxígeno y a la concentración de dióxido de carbono en la atmósfera del suelo, lo cual permite una fácil cuantificación de algunos parámetros del proceso de biorremediación: una determinación detallada de la cinética de los microorganismos presentes en él, una diferenciación completa en el tiempo de todas las fases de la evolución implicadas: adaptación, degradación activa y etapa de cierre; la cuantificación del uso acumulativo del oxígeno en el proceso total y en cada fase, el cálculo estequiométrico del proceso de la biodegradación con el cociente entre el CO₂ producido y el consumo de O₂ ([Fiuza y Vila, 2005](#)).

Otra aplicación de la respirometría fue la empleada por [Pintado et al. \(1998\)](#), que realizaron seguimiento a la producción de ácido cítrico mediante *Aspergillus niger*, en un cultivo en estado sólido, utilizando un soporte inerte. Se realizó midiendo las concentraciones de O₂ y CO₂, datos tomados en línea empleando un modelo automático que recolectaba los gases de salida, conectado a un cromatógrafo de gases y a un sistema de registro de datos.

3.2. Evaluación de la Biodegradabilidad del Poliuretano

3.2.1. Análisis por espectrofotometría Infrarroja

En la [Fig. 3](#) se observa el espectro del poliuretano antes y después de ser sometido a biodegradación durante 45 días en un reactor de aireación acumulada.

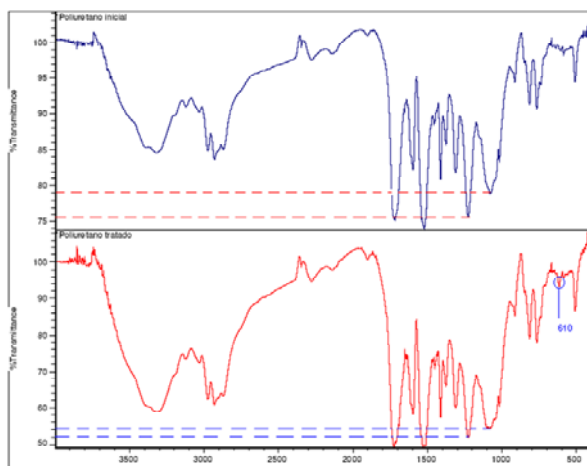


Fig. 3. Espectros infrarrojo de poliuretano inicial (arriba) y poliuretano tratado (abajo) luego de 45 días de biodegradación con *Aspergillus niger*.

La estructura del polímero estudiado fue afectada por la acción del *Aspergillus niger*, como se infiere del análisis de las variaciones de transmitancia de algunas bandas características. Se tomaron Iguales cantidades de muestras de poliuretano sin tratar y tratado, en este último se experimentó un incremento en la transmitancia de la banda de amida II, que responde a una vibración combinada de deformación del N-H y de tensión del C-N, oscilando su posición entre 1530-1540 cm⁻¹. Este resultado es coherente con el comparable incremento de transmitancia en la

zona de vibración combinada de deformación del N-H y de tensión del C-N (amida IV). Esta banda aparece en los poliuretanos obtenidos a partir de diisocianatos aromáticos, hacia 1227 cm⁻¹. La mayor simplicidad de la banda amida II, comparándola con la de vibración de tensión del grupo carbonilo, es la razón por la que ha sido elegida como banda de referencia en numerosos estudios relacionados con los cambios en la estructura del poliuretano por la acción de algún agente externo como la luz solar o la temperatura ([Irustra y Fernández, 1999](#)). Lo cual se podría aplicar también a cambios en la estructura por acción de microorganismos como sucede en este estudio.

En función de los resultados espectroscópicos, puede interpretarse que se produjo ruptura de la cadena del poliuretano en las uniones que involucran al grupo uretano. Ver [Fig. 4](#).



Fig. 4. Segmento de la estructura química del poliuretano

La ruptura se da en los enlaces que conforman el grupo uretano, liberando el grupo benceno que se encuentra en el medio, esto podría explicar la aparición de una pequeña banda en 610 cm⁻¹, que no aparece en el espectro Infrarrojo que se le tomó a la muestra sin ningún tratamiento y que corresponde a una vibración de deformación fuera del plano para anillos aromáticos disustituidos.

[Alonso y colaboradores \(2005\)](#), en su estudio de evaluación de la biodegradación de polipropileno empleando espectroscopía infrarroja, identificaron rupturas en la cadena del polímero en las uniones que involucran el carbono metínico, por el aumento de la transmitancia o disminución de la absorción en las bandas características de este grupo, después de someterlo al proceso de biodegradación.

Otro de los usos importantes del IR es el análisis cuantitativo de sustancias químicas. Debido a que las bandas de absorción son proporcionales a la concentración del compuesto causante de la banda ([Wade, 1993](#)).

3.2.2. Microscopía electrónica de Barrido SEM

Después de secar el poliuretano que fue sometido a biodegradación en un reactor de acumulación aireada, se recubre con oro, ya que para observar al microscopio las muestras deben ser conductoras, propiedad que no tiene este polímero. Las microfotografías se observan en blanco y negro por que el equipo no utiliza luz sino un haz de electrones que es disparado desde el cañón y un detector mide la cantidad de electrones enviados que arroja la intensidad de la zona de la muestra, es por esto que se observan las imágenes en tres dimensiones.

La superficie de la espuma del poliuretano es lisa en algunos segmentos y porosa en otros, debido a que en la síntesis se inyecta o se produce un gas que va a quedar atrapado en la estructura de la espuma, que da ciertas propiedades de conductividad y densidad al material. [Ver Fig. 5](#) y [Fig. 6](#).

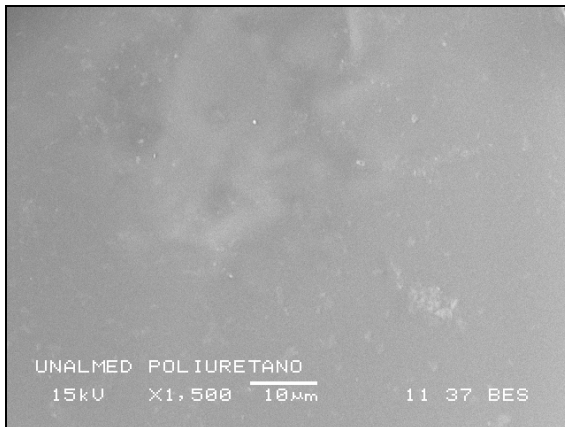


Fig. 5. Microfotografía SEM. Superficie del poliuretano sin biodegradar

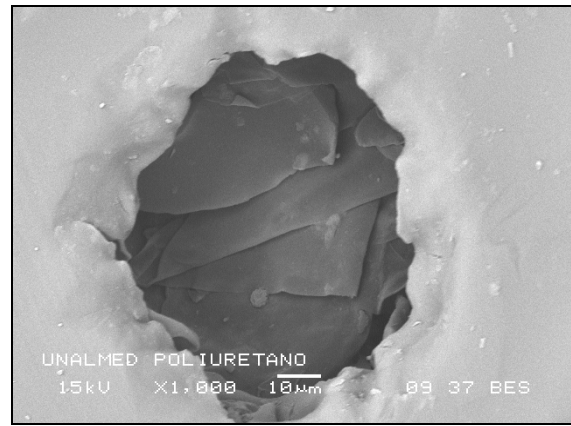


Fig. 6. Microfotografía SEM. Superficie porosa del poliuretano sin biodegradar

Los poros que se observan en la [Fig. 6](#) son de aproximadamente 50 µm de diámetro y se encuentran por toda la superficie del material. [Barón y Rodríguez \(2005\)](#) observaron e identificaron mediante el SEM, la morfología de la estructura de polímeros espumados de poliuretano en los cuales se evidencia una distribución mixta de celdas cuya geometría corresponde a dodecaedros y tetradecaedros con estructura de poro abierto.

Se apreció un deterioro en la superficie plana del poliuretano después de estar sometido a 45 días en un reactor de acumulación aireada. Ver [Fig. 7](#).

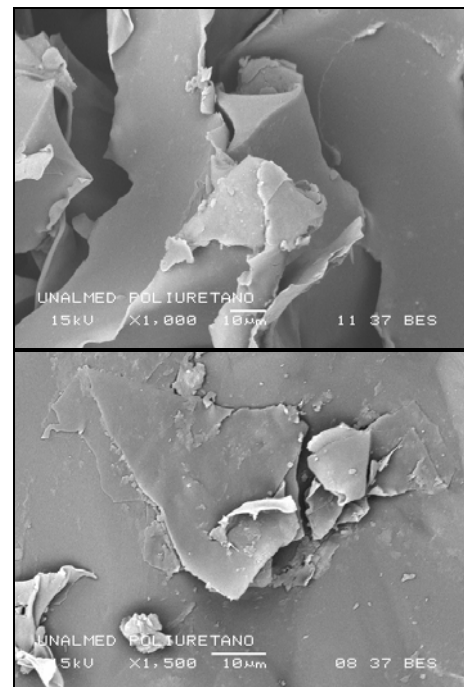


Fig. 7. Microfotografías SEM. Poliuretano Biodegradado

Una de las características del material polimérico estudiado son las burbujas que se forman en el interior del mismo por el gas que queda atrapado al realizarse la síntesis, cuando el material es cortado para someterlo a la biodegradación, esas burbujas se convierten en poros o celdas en la superficie, espacios que son propicios para la colonización de los microorganismos por su morfología. Ver [Fig. 8](#).

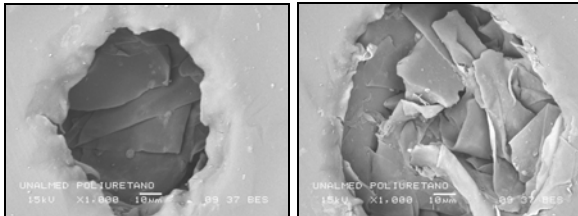


Fig. 8. Microfotografías SEM. Comparación de celdas sin tratamiento y después de biodegradar

En la microfotografía SEM de la izquierda de la [Fig. 8](#), se observa una celda del material polimérico sin tratar, en su interior existe homogeneidad en el color y en la disposición de sus pliegues. A la derecha se ve como ha sido atacada esta región en una muestra de poliuretano sometido a la biodegradación, existen diferentes zonas de intensidad, lo mismo que la aparición de dobleces en los pliegues internos, además se observa un deterioro de los bordes de la celda.

En un estudio realizado por [Lugauskas \(2003\)](#), se observó que materiales en forma de fibras de poliuretano fueron rápidamente colonizados por diferentes hongos, los microorganismos fueron: *A. pullulans*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium spp.*, *Alternaria spp.*, *Acremonium murorum*, *Paecilomyces sulphurellus* y *Trichoderma viride*. Las muestras se analizaron después de 4 años de estar expuestas al aire libre en una estación biológica situada en Jeringa (Juodkrantė, Lituania), la ventaja de este material sobre las espumas es que al ser fibrosos pueden servir como capilares para el movimiento y distribución de los líquidos y los componentes químicos dentro del polímero y además enlazan el hongo esparciéndolo dentro de éste. Por SEM, fue posible la observación de la colonización de los micelios de los hongos en varios escenarios del desarrollo sobre la superficie de los polímeros. Fueron observados *A. niger*, *Phoma spp.*, *P. Sulphurellus* and *Penicillium spp.*

El análisis por Microscopía Electrónica de Barrido junto con la Espectroscopía Infrarroja, indican que el material, a pesar de estar sometido a biodegradación con *A. niger* por un período de tiempo de tan sólo 45 días, presenta cambios importantes en su estructura y en su apariencia física, se presenta un rompimiento de enlaces en la cadena del polímero, liberando estructuras con anillos bencénicos provenientes del Diisocianato y además la superficie del polímero se ve deteriorada. En la estructura lo que primero está ocurriendo es un proceso llamado depolimerización, y es convertir cadenas largas del polímero en estructuras más pequeñas. Si la degradación continúa, las exoenzimas de los microorganismos atacarían los polímeros de cadena corta o moléculas pequeñas. Ej: oligómeros, dímeros y monómeros, que son lo bastante pequeñas para pasar las membranas celulares exteriores semi-impermeables para ser utilizados como fuente de carbono y energía. Cuando los productos finales son especies inorgánicas, Ej: CO₂, H₂O, o CH₄, la degradación es llamada mineralización ([Gu, 2003](#)).

Los grupos dominantes de microorganismos y los mecanismos de degradación asociados a la biodegradación del polímero, son a menudo determinados por las condiciones ambientales. Cuando el oxígeno está disponible, los microorganismos aerobios son los principales responsables de la destrucción completa del material, dejando como productos finales, biomasa microbiana, CO₂ y H₂O. Por el contrario, cuando las condiciones son anóxicas, un consorcio de microorganismos anaerobios son los responsables de la depolimerización, los principales productos son biomasa microbiana, CO₂, CH₄, y H₂O bajo condiciones metanogénicas ([Gu, 2003](#)).

[Urgun y colaboradores \(2007\)](#), estudiaron a nivel de laboratorio, la biodegradación de poliuretano en condiciones anaerobias durante 10 semanas, basándose en la pérdida de peso, el espectro infrarrojo y la fuerza tensil; no se observó ningún cambio. En este trabajo, si se observó cambio en la estructura por la espectroscopía I.R y por SEM, en condiciones aerobias. Es importante anotar que la biodegradación de un substrato de polímero raramente puede alcanzar el 100% de mineralización, y la razón es que una pequeña porción del polímero es incorporada dentro de la biomasa microbiana, humus y otros productos naturales.

4. CONCLUSIONES

Aspergillus niger no se adaptó totalmente al polímero en el tiempo expuesto (30 días en cada ensayo) como única fuente de carbono y nitrógeno, fue necesario adicionar medio Czapek en una proporción de 3:1, (poliuretano:Czapek), para que el hongo se desarrollara en este medio.

En el ensayo de respirometría se determinó que a las 200 horas se consumía todo el oxígeno presente en el equipo OXITOP, el microorganismo estaba listo en ese momento para empezar una biodegradación de tipo primaria, esto confirma las condiciones de estrés por las que atraviesa el hongo cuando se utiliza poliuretano como sustrato.

El análisis de espectroscopía infrarroja que se realizó a la muestra de poliuretano sometida a biodegradación con *Aspergillus niger* en el reactor de acumulación aireada durante 45 días, indica que hay una variación de las bandas de amida II y de amida IV, que se encuentran entre 1530-1540 cm^{-1} la primera y en 1227 cm^{-1} la segunda; estas bandas responden a una vibración combinada de deformación del N-H y de tensión del C-N, lo que sigue un rompimiento en los enlaces de la estructura química del polímero donde están involucrados estos elementos. Además aparece una banda en 610 cm^{-1} , que corresponde a anillos aromáticos disustituidos que se liberan cuando los enlaces anteriores se rompen.

El análisis por Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), permitió observar el cambio en la superficie del poliuretano cuando es sometido a biodegradación con *Aspergillus niger* durante 45 días en condiciones aerobias. Aparecen regiones amorfas en la superficie, formación de dobleces en los pliegues originales, además la intensidad de luz en las imágenes demuestran cambios en la composición química en algunos sectores, además se observa el ataque en los poros que se forman en los espacios que dejan las burbujas características de una espuma de poliuretano.

REFERENCIAS

- Abdel-Sater, M., A. El-Said (2001). Xylan-decomposing fungi and xylanolytic activity in abricultural and industrial waste. *Internacional Biodeterioration and Biodegradation*. 47: 15-21.
- Alonso, M., C. I. Viturro, M. G. Sueldo, A. R. Lozano, S. O. Madrigal (2005). Alonso.pdf. En línea, Biodegradación de polipropileno: evaluación gravimétrica y por espectroscopía infrarroja. [<http://www.ingenieroambiental.com/4014/alonso.pdf>] consultado en 2007-05-15.
- Barón, A., J. Rodríguez (2005). Caracterización de polímeros espumados. *Revista Colombiana de Física*. 37: 232-236.
- Boubendir, A. (1993). Purification and biochemical evaluation of polyurethane degrading enzymes of fungal origin. *Dissertation Abstracts Internacional*. 53: 1206-1255.
- Boutin, M. (2004). Identification of the isocyanates generated during the thermal degradation of a polyurethane car paint. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 71: 791-802.
- Cantu, L., M. Ramos y F. Avalos (1999). Estudios de biodegradación de polipropileno. *Ingeniería y Ciencias Ambientales*. 42: 25-32.
- Cardona, M. (2007). Aplicabilidad de la acumulación aireada en suelos contaminados con polipropileno a nivel de laboratorio. Trabajo de grado (Magíster en Ingeniería ambiental). Universidad Pontificia Bolivariana. Escuela de Ingenierías. Maestría en Ingeniería Ambiental.
- Carrasco, F. (1991). Residuos plásticos: reciclaje y medio ambiente. *Revista Ingeniería química*. 23: 181-185.
- Chiellini, E. (2003). Biodegradation of thermally-oxidized, fragmented low-density polyethylenes. *Polymer Degradation and Stability*. 81: 341-351.
- Comisión Técnica Plástivida (1998). Manual de valorización de los residuos plásticos. Fipma y Plástivida Argentina. Buenos Aires.
- Darby, D.T., A.M. Kaplan (1968). Fungal susceptibility of polyurethanes. *Applied Microbiology*. 16: 900-905.
- Dow Polyurethanes (1999). La fuerte demanda continua de productos de poliuretano impulsa el crecimiento de la industria. *Revista de plásticos modernos*. 78: 502-503
- Duquesne, S. (2001). Thermal degradation of polyurethane-backed poly(vinyl chloride) studied by Raman microline focus spectrometry. *Polymer Degradation and Stability*. 74: 493-499.

- Fiuza, A., M. Vila (2005). An insight into soil bioremediation through respirometry. *Environment International*. 31: 179-183.
- Grágeda, M., S. Montesinos (2007). Aplicaciones de Microscopia Electrónica de Barrido (SEM) y análisis de fractura de una aleación de Cu. *Revista Ciencia Abierta*. 28: 1-10.
- GU, J. (2003). Microbiological deterioration and degradation of synthetic polymeric materials: recent research advances. *International Biodeterioration and biodegradation*. 52: 69-91.
- Howard, G.T., R.C. Blake (1998). Growth of *Pseudomonas fluorescens* on a polyester-polyurethane and the purification and characterization of a polyurethanase-proteasa enzyme. *Internacional Biodeterioration & Biodegradation*. 42: 213-220.
- Irustra, L., M. Fernández-Berridi (1999). Aplicación de la espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier al estudio de recubrimientos de poliuretano. *Revista de plásticos modernos*. 78: 245- 254.
- Kay, M.J., R.W. McCabe, and L. Morton (1993). Chemical and physical changes occurring in polyester polyurethane during biodegradation. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 31: 209-225.
- Lugaukas, A. (2003). Micromycetes as deterioration agents of polymeric materials. *International Biodeterioration and biodegradation*. 52: 233-247.
- Mahendraer, V., T. Tiraraghavan (1995). Respirometry in environmental engineering. *Journal Environ Science Health*. 30: 713- 734.
- Mahmound, B. (2000). Effect of pretreatment of rubber material on its biodegradability by various rubber degrading bacteria. *Fems Microbiology Letters*. 184: 199-206.
- McMurry, J (2000). *Química Orgánica*. International Thomson. México.
- Montserrat, G. (2006). Discriminating inhibitory from enhancing effects in respirometry assays from metal polluted-sewage sludge amended soils. *Applied Soil Ecology*. 34: 52-61.
- Morton, L., S.B. Surman (1996). The involvement of biofilms in biodeterioration processes. *Biodegradation and biodeterioration in latin America*. 1: 85-90.
- Pelaez A. (2005). Biodegradación y biotrituración de llantas usadas. Medellín, Trabajo de grado (Ingeniero Químico). Universidad Pontificia Bolivariana. Facultad de Ingeniería. Programa de Ingeniería Química.
- Pintado J., B. K. Lonsane, I. Gaime-Perraud, and S. Roussos (1998). On-line monitoring of citric acid production in solid-state culture by respirometry. *Process Biochemist*. 33. 513-518.
- Ren, X. (2005). Biodegradable plastics: a solution or a challenge?. *Journal of Cleaner Production*. 11: 27-40.
- Urgun-Dermitas, M., D. Singh, and K. Pagilla (2007). Laboratory investigation of biodegradability of a polyurethane foam under anaerobic conditions. *Polymer Degradation and Stability*. PDST 5157: 1-42.
- Wade, L.D. (1993). *Química Orgánica*. Pearson Educación. México.
- Wales, D., B. Sagar (1998). Mechanistic aspects of polyurethane biodeterioration. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 7: 351-357.
- Wearcheck Ibérica (2007). En línea. Estudio de un lubricante mediante Espectrofotometría Infrarroja. [http://www.wearcheckiberica.es/documentacion/doctecnica/ESPECTROSCOPIA_INFRARROJA.pdf] Consultado en 2007-05-14.

SOBRE LOS AUTORES

Gustavo Adolfo Hincapié Llanos

Profesor de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Pontificia Bolivariana. Especialista y Magister en Ingeniería Ambiental de la Universidad pontificia Bolivariana. Área de interés Investigativo: Biodegradación de polímeros.

Margarita Enid Ramírez Carmona

Directora e Investigadora Centro de Estudios y de Investigación en Biotecnología (CIBIOT). Doctor en Bioprocesos, de la Universidad Federal do Rio de Janeiro. Principales áreas de interés investigativo: Biotecnología Ambiental, fermentaciones, Metodología de la Investigación, Diseño de experimentos.