

**UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA**

**UNIDAD IZTAPALAPA.**

**DIVISION DE CIENCIAS BIOLOGICAS Y DE LA SALUD**



**CASA ABIERTA AL TIEMPO**

**BIODEGRADACION DE POLIETILENO DE BAJA  
DENSIDAD POR HONGOS FILAMENTOSOS.**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRA EN BIOTECNOLOGIA**

**P R E S E N T A :**

**I.Q. MARGARITA LIMON GONZALEZ**

MEXICO, D. F.

JUNIO DE 2001

El jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Unidad Iztapalapa aprobó la comunicación de resultados que presentó:

**I.Q. Margarita Limón González**

El día 29 de junio de 2001

Jurado:

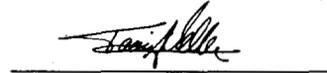
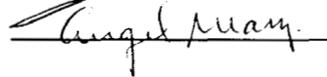
Director: Dr. Ernesto Favela Torres

Asesor: Dr. Angel Manzur Guzmán

Sinodal: Dra. María Esther Martínez Pardo

Sinodal: Dra. Tania Lorena Volke Sepúlveda

Sinodal: Dr. Roberto Olayo González



El Posgrado en Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana está incluido en el Padrón de Posgrados de Excelencia del CONACyT y además cuenta con apoyo del mismo Consejo, con el convenio **471-0/Maestría en Biotecnología**.



## AGRADECIMIENTOS

Durante el transcurso de este trabajo tuve la fortuna de contar con el apoyo de muchas personas, las cuales de una u otra forma contribuyeron para la realización del mismo. Agradezco a cada uno de ellos su valiosa cooperación, pero especialmente quiero expresar mi gratitud a las siguientes:

Con todo mi amor, a mis padres, **Guillermina y Arturo** por que con su cariño, apoyo, paciencia y comprensión, demostrados durante toda mi vida, me han motivado a superarme. Gracias a ustedes hoy veo realizada una de mis metas. Este trabajo está dedicado a ustedes. Gracias por llenar mi vida de cosas buenas y por hacerme tan feliz...

A mi abuelito **Plutarco**, por ser parte importante de mi vida, por todo tu apoyo y cariño que me has brindado siempre de forma incondicional, te quiero mucho...

A mis hermanos **Claudia y Arturo** por que con su cariño y apoyo cambiaron mis momentos difíciles por momentos de felicidad. Quiero que sepan que yo también estoy orgullosa de ustedes.

Agradezco de manera especial al **Dr. Angel Manzur Guzmán** por todos sus comentarios y acertadas críticas a lo largo de este trabajo. Gracias por todos sus consejos y apoyo que me ha brindado durante mi estancia en la UAM. Gracias por su buen humor, su tiempo y por su calidad de ser humano.

Con gran afecto al **Dr. Ernesto Favela Torres**, por sus comentarios que siempre me proporcionaron valiosos conocimientos, por su gran paciencia, por todo su apoyo incondicional, durante la dirección de este trabajo. Gracias por tu buen humor y por brindarme siempre una sonrisa motivante.

Al **Dr. Humberto Vázquez Torres, M.C. Raúl Montiel, Dra. Judtih Cardoso, Fis. Luciana Rubio Vega, M.C. Eloisa Anleu Avila** y al **Dr. Mariano Gutiérrez Rojas** por su colaboración y sugerencias en este trabajo y por compartir sus conocimientos conmigo.

Al **Dr. José Sepúlveda** y a la **Ing. Patricia Castillo**, por su importante participación en la preparación de las muestras para la observación de éstas por microscopía electrónica de barrido.

A la **Dra. Tania L. Volke Sepúlveda** por sus valiosos comentarios y ayuda durante gran parte este trabajo, por su tiempo y dedicación para la revisión de esta tesis.

A la **Dra. María Esther Martínez Pardo** y al **Dr. Roberto Olayo González** por la atención y por el tiempo invertido en la revisión de esta tesis. Gracias por su colaboración y por los comentarios acertados y valiosos que enriquecieron este trabajo.

Agradezco a la Universidad Autónoma de México por el tratamiento de envejecimiento acelerado del polietileno de baja densidad.

Con cariño a **Gabriel**, por todo lo que me has brindado, tu compañía, tu paciencia, tus cuidados, por estar conmigo...pero sobre todo por la amistad que me has demostrado en todo momento. Quiero que sepas que eres parte importante de este trabajo.

A **Denise**, por que a pesar de la distancia me has demostrado que eres mi amiga, gracias por todos tus consejos, apoyo y ayuda cuando los he necesitado.

A **Rubens** por todo tu apoyo y ayuda incondicional y desinteresada. Gracias por los ánimos que me has dado siempre. Gracias por ser mi amigo.

A **Juan y Migue**, por su amistad, por todo su apoyo y ayuda...por los momentos tan gratos que hemos pasado juntos, por que gracias a ustedes mi estancia en el laboratorio fue especial.

A mis compañeros de la **Maestría en Biotecnología**, de la **Planta Piloto de Fermentaciones sólidas** y del **Laboratorio de Polímeros** por el apoyo brindado.

Agradezco al CONACyT, por el apoyo económico que me brindó y que hizo posible la realización de este trabajo.

## RESUMEN.

El polietileno de baja densidad (LDPE) es uno de los plásticos más utilizados para la fabricación de empaques. Debido a sus propiedades físicas, resistencia química y resistencia a la degradación biológica, el LDPE sin tratamiento permanece inalterado por decenas de años.

Con el objetivo de modificar las propiedades originales del LDPE y facilitar la acción de los microorganismos, el LDPE fue sometido a dos tratamientos fisicoquímicos (TFQ): *i*) uno térmico (TT), en donde se emplearon 5 diferentes temperaturas (90, 105, 120, 135 y 150°C) durante 5 días y *ii*) otro con envejecimiento acelerado (ENV, simulando intemperismo equivalente a 10 años) utilizando radiación UV (310 nm) y temperatura (70°C) durante 29 días. Para el tratamiento biológico (TB), el LDPE fue incubado con un consorcio de cuatro hongos filamentosos: *Aspergillus niger*, *Penicillium pinophilum*, *Gliocadium virens* y *Phanerochaete chrysosporium* en condiciones aeróbicas durante 9 meses.

Para la evaluación de las muestras después del TFQ y TB se utilizaron las técnicas: calorimetría de barrido diferencial (DSC), difracción de rayos X a ángulo grande (WAXS), espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR), microscopía electrónica de barrido (SEM) y cromatografía de gases (CG).

Los cambios morfológicos debidos a los TFQ se determinaron a partir de cambios en la temperatura de inicio de fusión ( $T_o$ ), en el punto de fusión ( $T_m$ ), en la cristalinidad ( $\Phi$ ) y en el tamaño promedio de cristal ( $L_{110}$ ). Las muestras con TT presentaron disminuciones en  $T_o$  (hasta 8.7°C) y en  $T_m$  (hasta 3°C). La  $\Phi$  disminuyó (hasta 38.6%) en función de la temperatura usada en el TT. La muestra con ENV presentó una disminución del 11.7% en  $L_{110}$ .

La exposición simultánea a temperatura o radiación UV y oxígeno dio como resultado la degradación oxidativa del LDPE. Todas las muestras con TFQ presentaron aumentos en los grupos carbonilo. La muestra ENV presentó el mayor aumento (14.5 veces con respecto al LDPE sin tratar). Las muestras más oxidadas (150°C y con ENV) presentaron también un incremento en la banda correspondiente a dobles enlaces como resultado de la ruptura de cadenas.

En las muestras con TT y TB, se observaron disminuciones en  $T_o$  de hasta  $1.6^{\circ}\text{C}$ .  $T_m$  disminuyó en las muestras con TFQ a los 3 meses de TB, el cambio fue mayor en las muestras con TT. El LDPE sin tratar sufrió una disminución más tardía y menor en  $T_m$ . A los 3 meses de TB, se observó un aumento en  $\Phi$  en las muestras con TT (debido posiblemente al ataque microbiano sobre el material que divide a los cristales provocando así su fraccionación), a partir de aquí se presentaron disminuciones en  $\Phi$  en todas las muestras con y sin TFQ. La disminución en  $L_{110}$  (9 meses de TB) puede indicar el ataque microbiano sobre los cristales más pequeños o imperfectos. Se observó crecimiento superficial de microorganismos en todas las muestras con TFQ y penetración de hifas en las muestras más oxidadas.

Los cambios en las propiedades medidas en el LDPE después de los tratamientos fisicoquímicos muestran la modificación de su morfología. Estos tratamientos pudieron provocar la formación de imperfecciones en los cristales por la existencia de grupos oxidados. Se observaron algunas diferencias entre las muestras TT y ENV, los resultados encontrados en esta última pueden indicar cierto grado de entrecruzamiento. Los cambios en la estructura química por el TB en la muestra con ENV acelerado indicaron oxidación microbiana en las cadenas cortas. Las muestras con TT tratadas con temperaturas mayores al punto de fusión del LDPE presentaron una disminución en los grupos carbonilo, lo que indicó el ataque microbiano sobre las cadenas más oxidadas. Los cambios observados después del TB sugieren que los microorganismos no solo atacaron la fracción amorfa del LDPE sino que es posible que pudieran atacar a cristales menos perfectos.

## LISTA DE ABREVIATURAS

105/MZ	Tratamiento térmico a 105 °C con la mezcla de hongos
120MZ	Tratamiento térmico a 120 °C con la mezcla de hongos
150/MZ	Tratamiento térmico a 150°C con la mezcla de hongos
CF	Calor de fusión
CG	Cromatografía de gases
DSC	Calorimetría de barrido diferencial
ENV	Envejecimiento acelerado
ENV/MZ	Tratamiento con envejecimiento acelerado con la mezcla de hongos
FTIR	Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier
HDPE	Polietileno de alta densidad
IC	Índice carbonilo
IDE	Índice de dobles enlaces
IM	Índice metilo
IR	Espectroscopia infrarroja
IV	Índice vinilo
LDPE	Polietileno de baja densidad
L <sub>110</sub>	Tamaño promedio de cristal
LDPE/MZ	Polietileno de baja densidad con la mezcla de hongos
LLPE	Polietileno lineal de baja densidad
MZ	Mezcla de hongos
PM	Peso molecular
SEM	Microscopia electrónica de barrido
TB	Tratamiento biológico
TFQ	Tratamiento fisicoquímico
T <sub>m</sub>	Temperatura de fusión
T <sub>o</sub>	Temperatura de inicio de fusión

TT	Tratamiento térmico
TT 120	Tratamiento térmico a 120 °C
TT 135	Tratamiento térmico a 135 °C
TT 150	Tratamiento térmico a 150 °C
TT 90	Tratamiento térmico a 90 °C
UV	Ultravioleta
WAXS	Difracción de rayos X (ángulo grande)
Å	Amnstrongs
$\alpha$	Nivel de significancia
$\Phi$	Cristalinidad
$\lambda$	Longitud de onda

# ÍNDICE

## RESUMEN

<b>CAPÍTULO I</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO II</b>	<b>ANTECEDENTES</b>	<b>3</b>
<b>CAPÍTULO III</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>11</b>
3.2	Objetivo General	11
3.3	Objetivos Específicos	11
<b>CAPÍTULO IV</b>	<b>MARCO TEÓRICO</b>	<b>12</b>
4.1	POLÍMEROS	12
4.2	MORFOLOGÍA Y CRISTALINIDAD	13
4.3	POLIETILENO	14
4.3.1	Tipos de polietileno	15
4.3.2	Polietileno de baja densidad	16
4.3.2.1	Morfología	17
4.3.2.2	Propiedades	18
4.4	DEGRADACIÓN DE POLÍMEROS	20
4.4.1	Tipos de degradación	21
4.4.2	Factores que influyen en la degradación	23
4.4.3	Degradación térmica	25
4.4.4	Termo-oxidación	27
4.4.5	Degradación foto-oxidativa	30
4.4.6	Degradación biológica	32
4.4.6.1	Degradación enzimática	33
4.4.6.2	Degradación de polímeros sintéticos	35
4.4.6.3	Mecanismos de biodegradación ( $\beta$ -oxidación)	39

4.5	CARACTERIZACIÓN DE POLÍMEROS	41
4.5.1	Calorimetría de barrido diferencial (DSC)	41
4.5.2	Difracción de rayos X a ángulo grande (WAXS)	42
4.5.3	Espectroscopia infrarroja (IR)	45
4.5.4	Microscopía electrónica de barrido (SEM)	47
<b>CAPÍTULO V MATERIALES Y MÉTODOS</b>		<b>49</b>
5.1	PRETRATAMIENTO DEL LDPE	49
5.1.1	Tratamiento térmico	49
5.1.2	Tratamiento con envejecimiento acelerado	50
5.1.3	Esterilización del LDPE	50
5.2	MÉTODO MICROBIOLÓGICO	50
5.2.1	Reactivos	50
5.2.2	Microorganismos	51
5.2.3	Producción del inóculo	51
5.2.4	Recuperación y conteo de esporas	51
5.2.5	Medio de cultivo	52
5.3	TRATAMIENTO BIOLÓGICO	53
5.3.1	Cultivo en medio líquido	53
5.3.2	Dispositivo experimental	54
5.3.3	Condiciones de cultivo	54
5.4	TÉCNICAS ANALÍTICAS	55
5.4.1	Calorimetría diferencial de barrido (DSC)	56
5.4.2	Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)	57
5.4.3	Difracción de rayos X (WAXS).	58
5.4.4	Microscopía electrónica de barrido (SEM).	59
5.4.5	Cromatografía de gases.	61

<b>CAPÍTULO VI.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>62</b>
6.1	EVALUACIÓN DEL TRATAMIENTO FÍSICOQUÍMICO	62
6.1.1	Cambios en las propiedades térmicas	62
6.1.2	Cambios morfológicos	72
6.1.3	Cambios químicos	73
6.2	EVALUACIÓN DEL TRATAMIENTO BIOLÓGICO	78
6.2.1	Cambios térmicos.	79
6.2.2	Cambios morfológicos.	86
6.2.3	Cambios químicos	88
6.2.4	Producción de CO <sub>2</sub>	95
6.2.5	Cambios superficiales	97
<b>CAPÍTULO VII.</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>102</b>
<b>CAPÍTULO VIII.</b>	<b>RECOMENDACIONES</b>	<b>103</b>
<b>REFERENCIAS</b>		<b>i</b>
<b>ANEXOS</b>		<b>I</b>

## CAPÍTULO I

### INTRODUCCIÓN

Los plásticos representan un gran problema en los rellenos sanitarios; sus propiedades físicas como densidad, resistencia mecánica y propiedades químicas hacen que permanezcan inalterados y ocupando el mismo volumen por más de 20 años, dependiendo de la humedad o presencia de residuos orgánicos (Cain, 1992).

La incineración es una alternativa que algunos países han explotado en los últimos años para la producción de energía eléctrica y calorífica, pero en ocasiones sus altos costos de inversión y operación hacen que esta técnica sea difícil de utilizar (Tena, 1995). El reciclado de materiales plásticos es otra opción para solucionar el problema en la disposición de residuos plásticos, pero sólo una pequeña cantidad de material plástico es utilizado para reciclado, y tarde o temprano se convierten en basura una vez que han perdido las propiedades que los hicieron útiles.

En años recientes, la degradación microbiana de los plásticos está siendo considerada como una opción alternativa para solucionar el problema de la disposición final de los residuos plásticos donde, a diferencia de la incineración, las condiciones de operación no son drásticas ni costosas. La biodegradación de un compuesto consiste en su transformación bioquímica hasta llegar finalmente a su mineralización (con CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O como productos finales en condiciones aeróbicas) y producción de biomasa (Palmisano y Pettigrew, 1992). Sin embargo, los polímeros sintéticos, como el polietileno de baja densidad (LDPE), son difíciles de biodegradar debido a su hidrofobicidad y alto peso molecular.

El peso molecular, área superficial, grado de cristalinidad, hidrofobicidad y estructura química de los polímeros, entre otras variables, están relacionadas con su biodegradabilidad. Para que el LDPE pueda ser empleado por los microorganismos como fuente de carbono y energía tiene que ser primero transformado en compuestos de bajo peso molecular (Vert, 1992).

Existen reportes indicando que un pretratamiento oxidativo puede favorecer y acelerar el proceso de biodegradación del LDPE (Albertsson y col., 1985; Weiland y col., 1995).

días de tratamiento térmico a 150°C favorecía la biodegradación del LDPE (Limón y Trejo, 1996).

Debido a que la oxidación por tratamientos térmicos y por radiación UV han sido sugeridas como alternativa para la reducción del peso molecular y formación de grupos carbonilos en el LDPE, en el presente trabajo se presentan los principales mecanismos involucrados en la termo y foto-oxidación.

Para promover la oxidación del LDPE, éste fue sometido a uno de dos tratamientos fisicoquímicos (TFQ): tratamiento térmico (utilizando 5 temperaturas diferentes) o con envejecimiento acelerado (simulando condiciones de intemperismo equivalente a 10 años). Las temperaturas probadas para el tratamiento térmico del LDPE en este trabajo fueron: 90, 105, 120, 135 y 150°C.

El LDPE pretratado fue incubado durante 9 meses en cultivo líquido con un consorcio de 4 hongos filamentosos. El efecto del TFQ y del biológico (TB) en el LDPE fue evaluado por cambios en sus características cristalinas (cristalinidad, temperatura de inicio de fusión y punto de fusión), en la morfología (tamaño promedio de cristal) y en la estructura química. Las modificaciones en la estructura química del LDPE pueden atribuirse a una serie de mecanismos involucrados durante la degradación oxidativa del polímero, como oxidación (cambios en grupos carbonilo, banda 1715  $\text{cm}^{-1}$ ), ruptura de cadenas, y ramificaciones (cambios en grupos vinilo, 905  $\text{cm}^{-1}$ ; dobles enlaces, 1653  $\text{cm}^{-1}$  y grupos metilo, 1375  $\text{cm}^{-1}$ ). Se determinó el  $\text{CO}_2$  producido a partir del LDPE y se observó la acción del consorcio sobre la superficie del LDPE.

A continuación se presenta una revisión bibliográfica acerca de la problemática que los plásticos presentan como residuos sólidos, su biodegradación como una solución alternativa al problema y las estrategias usadas comúnmente para incrementar la biodegradabilidad del LDPE. También se menciona el efecto de la estructura del polímero en su biodegradabilidad.

En el capítulo 6 se analizan y discuten los cambios en el LDPE, obtenidos por efecto del TFQ, así como los cambios por efecto del TB en las muestras del LDPE con y sin tratamiento fisicoquímico.

## CAPÍTULO II

### ANTECEDENTES

El incremento en el uso de diferentes polímeros como materiales para recipientes, empaques, envolturas, etc. ha creado problemas en la disposición final de dichos productos.

La Organización Mundial de la Salud, considera a la Zona Metropolitana de la Ciudad de México y a Sao Paulo (Brasil) como los asentamientos humanos que generan más basura en el mundo. La generación de residuos sólidos aumentó de 300 gramos por habitante por día (en la década de los cincuentas) a más de 853 gramos en promedio en 1998; durante el mismo periodo la población en México se incrementó de 30 millones a más de 98 millones. La generación a nivel nacional de residuos sólidos estimada en 1998 fue de 83,594 toneladas diarias. Lo que significa que la generación de residuos sólidos se incrementó 93 veces y sus características se transformaron de materiales mayoritariamente orgánicos a elementos cuya descomposición es lenta y requiere de procesos físicos, biológicos o químicos complementarios para efectuarse (Sancho y Rosiles, 1999).

Actualmente se estima que en el país, la generación nacional de residuos sólidos es de 83,830 toneladas diarias y se recolecta el 83% del total de los residuos generados, mismos que representan 69,600 toneladas, quedando dispersas diariamente 14,230 toneladas. Del total generado, poco más del 49% (41,200 toneladas por día) se deposita en sitios controlados, lo que quiere decir que 42,630 toneladas se disponen diariamente a cielo abierto en tiraderos no controlados o clandestinos. De seguir esa tendencia, la situación de por sí ya grave, puede adquirir un perfil crítico (Sancho y Rosiles, 1999).

En la Tabla 2.1 se muestra la composición de los residuos sólidos a nivel nacional. La composición de los residuos sólidos en el período 1991 a 1997 muestra un incremento importante en productos desechables como plástico, papel y vidrio, 4.57, 3.06 y 1.14 % respectivamente, mientras que los residuos orgánicos (residuos de comida y jardinería principalmente) han tenido un decremento del 7.62%.

**Tabla 2.1. Composición de residuos sólidos en los años 1991 y 1997.**

COMPOSICIÓN	AÑO		
	1991 (%)	1997 (%)	Diferencia en el período (97-91) (%)
Papel, cartón y productos de papel	14.07	17.13	3.06
Textiles	1.49	2.15	0.66
Plásticos	4.38	8.95	4.57
Vidrio	5.90	7.04	1.14
Metales	2.90	3.82	0.92
Residuos de comida, jardinería y materiales similares (orgánicos)	52.40	44.78	-7.62
Otros tipos de residuos variados: residuos finos, hule, pañal desechable, etc.	18.86	16.13	-2.73
TOTAL	100.00	100.00	

Sancho y Rosiles, 1999. \* Diferencia aritmética entre el año 1997-1991, el signo - indica disminución.

Se observa un mayor incremento en la presencia de productos plásticos debido a que éstos tienen una gran versatilidad de usos.

Desde su aparición, la industria de fabricación de materiales plásticos ha tenido un desarrollo importante. Este desarrollo es debido principalmente a su amplio campo de aplicación, ya que los plásticos pueden ser ocupados lo mismo para envases, paquetería, construcción o electrónica llegando a sustituir al vidrio, papel, madera y otros materiales utilizados en construcción, uso doméstico, comercial e industrial. En la Figura 2.1 se muestra el área de aplicación de los materiales plásticos. Sus propiedades, tales como peso ligero, impermeabilidad al agua, estabilidad química, resistencia a reactivos corrosivos y a la degradación biológica, son las razones de su extenso uso en la actualidad. La estabilidad en sus propiedades, hacen que el 75% de los plásticos sean utilizados en productos con vida útil larga, el 25% restante se destina para envolturas o productos de usos similares que son desechados rápidamente (Cain, 1992).

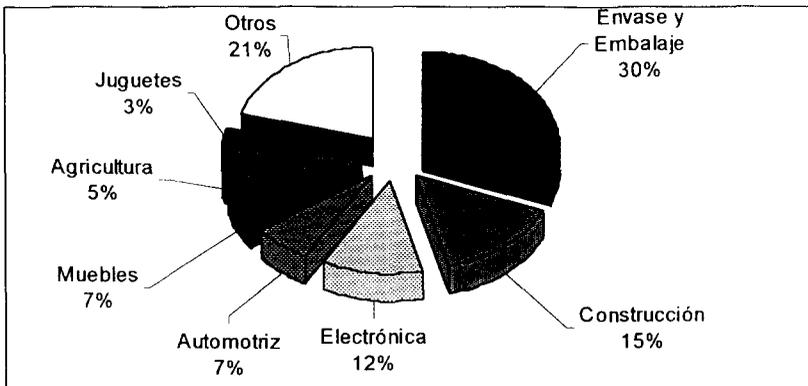


Figura 2.1 Aplicaciones de materiales plásticos (Muñoz,1989).

En la Figura 2.2 se presenta el volumen de producción de los principales plásticos. Los distintos tipos de polietileno, de alta densidad (HDPE) y de baja densidad (LDPE), ocupan el 64% de los plásticos utilizados para empaques. Ambos tipos de polímeros, junto con el poliestireno (PS), polipropileno (PP), polietilentereftalato (PET) y policloruro de vinilo (PVC) suman el 96% de los plásticos más utilizados para envolturas (Johnson, 1987). Las propiedades como durabilidad, resistencia química y estabilidad que hacen al LDPE tan indispensable en nuestros días, son las mismas que provocan que éste permanezca inalterado por mucho tiempo (en muchos casos decenas de años) causando un gran problema en su disposición final.

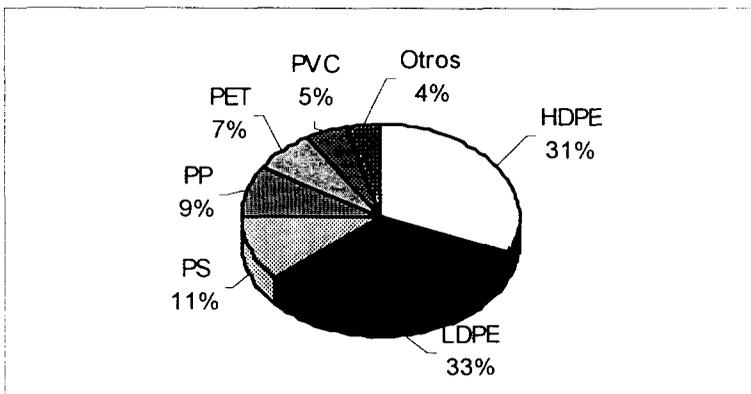


Figura 2.2. Volumen de Producción de diferentes plásticos (Johnson, 1987).

Una estrategia para solucionar el problema de los desechos sólidos es su disposición en rellenos sanitarios, desgraciadamente la disponibilidad de éstos ha disminuido considerablemente. En nuestro país se cuenta con 40 rellenos sanitarios, sin embargo, las 83,830 toneladas diarias de basura que se producen en el país requerirían un espacio de 111,775 m<sup>3</sup> por día para ser depositadas (Sancho y Rosiles, 1999). Esto da idea de la necesidad de la disposición de terreno para el manejo adecuado de residuos sólidos por esta vía.

El problema en la disposición final de los residuos plásticos ha llamado la atención de legisladores y organizaciones ecológicas que insisten en que los plásticos con vida útil corta sean fotodegradables o de materiales biodegradables, de tal manera que éstos puedan desaparecer más rápidamente de la basura y de los rellenos sanitarios.

La Tabla 2.2. presenta las tendencias mundiales de diferentes procesos para el tratamiento y la disposición final de los residuos sólidos.

**Tabla 2.2. Tendencias mundiales de diferentes procesos para el tratamiento de residuos sólidos**  
(Cifras expresadas en porcentaje)

PAIS	Relleno Sanitario	Incineración	Compostaje	Reciclaje
E.U.A.	73	14	1	12
JAPON	27	25	2	46
ALEMANIA	52	30	3	15
FRANCIA	48	40	10	2
SUECIA	40	52	5	3
MÉXICO	94	0	0	6 al 10

Sancho y Rosiles, 1999.

Puede observarse que los procesos de incineración y composteo no son utilizados en México para solucionar el problema de la disposición final de los residuos sólidos. En nuestro país, los únicos procesos utilizados hasta ahora para solucionar el problema, son los rellenos sanitarios (94%) y el reciclaje (6 al 10%). Cuatro entidades han optado por el proceso de composteo pero cuatro de estas plantas han cesado operaciones por falta de mercado, altos costos de operación y mala calidad de producto terminado (Guadalajara, Monterrey, Oaxaca y el D.F.).

Para solucionar el problema de la disposición de los residuos sólidos se han planteado diversas opciones, entre éstas se encuentran las mencionadas anteriormente. No obstante, resultan insuficientes (rellenos sanitarios), o son muy costosos (incineración) o solo una pequeña proporción es utilizada para el reciclaje. Debido a que la biodegradación requiere de condiciones menos drásticas, en comparación a las otras técnicas, el estudio de ésta ha cobrado gran interés como una solución en el tratamiento de los residuos plásticos.

La mayoría de los polímeros sintéticos son inertes al ataque de los microorganismos. Para que el carbono contenido en los polímeros pueda ser utilizado por los microorganismos, el polímero tiene que ser transformado a compuestos de bajo peso molecular a través de reacciones químicas (como las inducidas por la termo- o foto-oxidación). Durante la termo- o foto-oxidación de polímeros, se forman hidroperóxidos que al descomponerse dan por resultado la formación de ácidos carboxílicos que pueden ser bioasimilados por diferentes microorganismos (Scott y Gilead, 1995).

Algunos de los polímeros sintéticos que son reportados como biodegradables son: los poliéteres (Kawai, 1987), algunos poliésteres (Potts y col., 1973), poliuretanos (Darby y Kaplan, 1968) y poliamidas (Bailey y col., 1976). Los polibetahidroxialcanoatos (PHAs) son también biodegradables, pero a diferencia de los anteriores, éstos son producidos por una variedad de microorganismos como la bacteria *Alicycobaculum eutrophus* (Palmisano y Pettigrew, 1992).

Desde 1932 existen reportes sobre la biodegradación de hidrocarburos de bajo peso molecular. Hopkins y Chibnall (1932), encontraron evidencia de crecimiento de mohos sobre alcanos de cadena corta (C<sub>34</sub>). Más tarde, Potts y col. (1973) encontraron resultados similares en el LDPE pirolizado, reportando crecimiento superficial de microorganismos en muestras de LDPE con peso molecular menor a 2100 Da.

Los esfuerzos para hacer biodegradables a los plásticos han tomado dos direcciones: a) el diseño de nuevos polímeros con estructuras que sean sensibles a la foto y/o biodegradación o la modificación de la estructura de los ya existentes para el mismo propósito o b) la incorporación de aditivos biodegradables, de tal manera que al ser consumidos por los microorganismos las propiedades originales del plástico cambian para que sufra una degradación.

Griffin (1976) sugiere que la biodegradabilidad de los polímeros se incrementa por la incorporación de aditivos biodegradables al material polimérico. En estudios de composteo en películas de LDPE mezclado con almidón (material biodegradable) se encontró oxidación del LDPE. Cuando se emplea un aditivo biodegradable, los microorganismos pueden utilizarlo fácilmente para su crecimiento, dando por resultado un aumento en la porosidad y una disminución en las propiedades mecánicas del polímero (Albertsson y Rånby, 1979).

Albertsson y Rånby (1979) reportan la liberación de <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> en una mezcla de HDPE (marcado aleatoriamente mezclando monómero marcado con <sup>14</sup>C [1 <sup>14</sup>C por 1.16 X 10<sup>6</sup> <sup>12</sup>C] con monómero sin marcar) y dotriacontano (C<sub>32</sub>H<sub>56</sub>, 10%). La producción de <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> fue escasa durante los primeros dos años de incubación con *Fusarium redolens*. Sin embargo, en combinación con otros factores que favorecen la degradación (presencia de oxígeno, disponibilidad de nutrientes, pH, temperatura y humedad adecuados), esta parafina podría tener un efecto positivo en la biodegradación del polietileno.

La biodegradabilidad de los polímeros es usualmente estudiada haciendo observaciones del crecimiento microbiano en la superficie o por mediciones de cambios químicos o físicos.

Algunos de los resultados más sobresalientes en la biodegradación del polietileno de baja densidad son presentados en la Tabla 2.3.

Tabla 2.3. Estudios de biodegradación de LDPE

LDPE	MICROORGANISMO	RESULTADOS
Con diferente PM	<i>A. niger</i> , <i>A. flavus</i> , <i>C. globosum</i> , <i>P. pinophilum</i>	El crecimiento de los microorganismos depende del PM. (Potts y col., 1973)
Tratado con UV (300 W)	<i>Acinetobacter</i> y <i>Micrococcus</i> .	Disminución del índice carbonilo, aumento del índice de dobles enlaces. (Albertsson y col., 1987)
Con tratamiento térmico (70°C)	<i>A. niger</i> , <i>P. variotii</i> , <i>G. virens</i> y <i>P. funiculosum</i>	Aumento en el peso molecular e incremento en la cristalinidad, crecimiento superficial de microorganismos. (Weiland y col., 1995)
Con tratamiento térmico (100°C)	<i>Arthrobacter paraffineus</i>	Disminución de PM, cristalinidad y tamaño promedio de cristal. (Albertsson y col., 1995)
Con tratamiento térmico (150°C)	<i>A. niger</i> , <i>G. virens</i> , <i>P. chrysosporium</i> , <i>P. pinophilum</i> y <i>C. globosum</i> .	Disminución del calor de fusión, tamaño promedio de cristal e índice carbonilo, aumento del índice vinilo. (Limón y Trejo, 1996)
Mezclado con bagazo de caña de azúcar	<i>P. chrysosporium</i>	Disminución de cristalinidad, punto de fusión y tamaño promedio de cristal. (Manzur y col., 1997)

La susceptibilidad de un polímero al ataque microbiano depende de su estructura química. Los polímeros con enlaces mixtos como C=O y C=N muestran mayor susceptibilidad a la biodegradación que los polímeros que solo tienen enlaces C-C (como el polietileno). Los dobles enlaces son susceptibles a la hidrólisis, fotólisis y oxidación.

El deterioro fisicoquímico en el LDPE puede ser iniciado por su oxidación. Los productos de la degradación oxidativa tienen un menor peso molecular y una mayor hidrofiliidad y de esta manera son más susceptibles al ataque microbiano. Las enzimas microbianas pueden atacar los segmentos más pequeños, produciendo intermediarios de bajo peso molecular que pueden ser incorporados a la biomasa

celular o ser completamente degradados hasta la producción de bióxido de carbono y agua bajo condiciones aeróbicas (Palmisano y Pettigrew, 1992).

Para que un polímero pueda ser biodegradado, las enzimas microbianas necesitan tener acceso en el polímero, es decir, los polímeros deben tener grupos susceptibles al ataque microbiano, por ejemplo, grupos carbonilos (Palmisano y Pettigrew, 1992). La foto-oxidación puede disminuir el peso molecular de los polímeros y por lo tanto dar lugar a la formación de cadenas más cortas que eventualmente pueden ser biodegradadas. Albertsson y col. (1995) reportan que el paso inicial para la biodegradación del LDPE es la foto-oxidación, la cual promueve la formación de grupos carbonilo y cadenas más cortas en el LDPE. Estos reportes sugieren entonces que cualquier tratamiento fisicoquímico (TFQ) que promueva la formación de cadenas más cortas y grupos carbonilos, podría favorecer y acelerar la biodegradación del LDPE.

La biodegradación de algunos polímeros procede por medio de la hidrólisis y la oxidación. La mayoría de los polímeros biodegradables poseen en sus cadenas grupos hidrolisables (amidas, ésteres, urea, uretano, enol-cetona, etc.), éstos junto con la presencia de enlaces fácilmente oxidables y el balance de hidrofobicidad e hidrofiliidad contribuyen a la biodegradabilidad en polímeros sintéticos (Scott y Gilead, 1995).

A continuación se presenta una revisión bibliográfica acerca del polietileno, sus propiedades, tipos de degradación fisicoquímica y biológica en polímeros y algunos factores que ejercen un efecto en éstas. Por último se presenta la descripción de algunas técnicas para la caracterización de polímeros.

## CAPÍTULO III

### OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo General.

Evaluar el efecto de dos diferentes tratamientos fisicoquímicos, uno térmico y otro con envejecimiento acelerado sobre la biodegradación del polietileno de baja densidad por un consorcio de cuatro hongos filamentosos en un cultivo líquido en condiciones aerobias.

#### 3.2. Objetivos Específicos.

1. Evaluar el efecto del tratamiento térmico y del envejecimiento acelerado sobre las propiedades térmicas, químicas y estructurales del LDPE sin y con tratamiento biológico.
2. Evaluar la mineralización del LDPE sin y con tratamiento fisicoquímico a través de la producción de CO<sub>2</sub>.
3. Determinar el efecto del crecimiento de microorganismos en la superficie del LDPE por medio de la microscopía electrónica de barrido (SEM).

## CAPÍTULO IV

### MARCO TEÓRICO

#### 4.1. POLÍMEROS

Los polímeros son el producto de la combinación de dos o más moléculas denominadas monómeros que forman enormes cadenas de las formas más diversas.

Los polímeros se dividen en dos clases: naturales y sintéticos. Ejemplos de polímeros naturales son las proteínas, los ácidos nucleicos, el almidón, la celulosa (polisacáridos) y el hule (poliisopreno). Los polímeros sintéticos son en su mayoría compuestos orgánicos, ejemplos comunes son el nylon, el dacrón, polietilentereftalato y polietileno.

La unidad repetitiva en el polímero es usualmente el monómero o material iniciador a partir del cuál el polímero es formado (Ureta, 1989). En algunos casos la repetición es lineal, en otros casos son ramificadas o interconectadas en redes tridimensionales. Las estructuras esqueléticas de los polímeros son presentadas en la Figura 4.1.

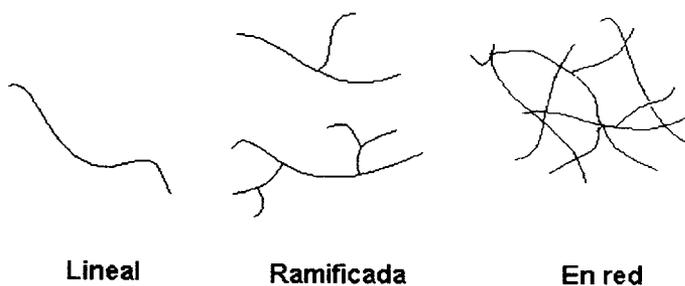
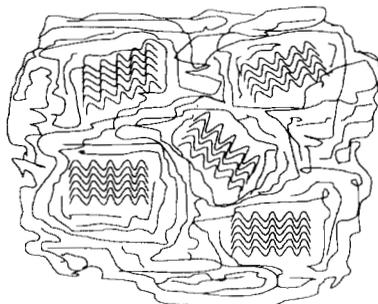


Figura 4.1. Estructuras representativas de polímeros lineales y no lineales (Young y Lovell, 1991).

## 4.2. MORFOLOGÍA Y CRISTALINIDAD

Todos los materiales sólidos pueden clasificarse, de acuerdo a su morfología, en cristalinos y amorfos. En los sólidos cristalinos las moléculas se encuentran ordenadas en tres dimensiones, esto es denominado generalmente ordenamiento periódico y lo pueden presentar moléculas pequeñas. En el caso de los polímeros, las cadenas son muy largas y fácilmente se entrecruzan, además cuando se encuentran en estado fundido se mueven en un medio muy viscoso de tal manera que no se puede esperar un orden perfecto, algunos polímeros exhiben ordenamiento parcial en regiones llamadas cristalitas.

En la Figura 4.2. se muestra esquemáticamente la presencia de las regiones cristalinas y amorfas en un polímero. En las regiones cristalinas, las cadenas dobladas varias veces en zigzag están alineadas formando los cristalitas; y en las otras regiones denominadas amorfas las cadenas se encuentran en un completo desorden.



**Figura 4.2. Representación esquemática de zonas cristalinas y amorfas**

El grado de cristalinidad de un polímero depende del tamaño y número de las áreas cristalinas y amorfas. La proporción o porcentaje de zonas cristalinas puede ser muy alto, como en el caso del polietileno. En otros polímeros como el policloruro de vinilo (PVC), el grado de cristalinidad es mucho menor. Existen otros polímeros completamente amorfos como es el caso del poliestireno atáctico.

El grado de cristalinidad de los polímeros, que por la estructura regular y por la flexibilidad de sus cadenas tienen mayor tendencia a cristalizar, depende de las condiciones de la cristalización. Si el polímero cristaliza a partir del material fundido, habrá más imperfecciones porque las cadenas se entrecruzan y el medio es muy viscoso, lo que dificulta el ordenamiento entre ellas. En cambio, si el polímero cristaliza a partir de una solución diluida, es posible obtener cristales aislados, con estructuras bien definidas como es el caso del polietileno en donde se pueden distinguir capas llamadas lamelas, formadas por cadenas dobladas muchas veces sobre ellas mismas.

El número y tamaño de cristales, así como la proporción de material amorfo puede controlarse mediante la velocidad de enfriamiento. Si ésta es rápida produce cristales más pequeños, por lo tanto, un enfriamiento muy rápido puede reducir considerablemente el grado de cristalinidad (Ureta, 1989).

El grado de cristalinidad, el tamaño y arreglo de los cristales en un polímero semicristalino, tienen un efecto importante en las propiedades físicas y mecánicas de los polímeros (Young y Lovell, 1991). La zona cristalina exhibe un punto de fusión y una mayor densidad en comparación con la parte amorfa, es de esperarse entonces que la región cristalina será más resistente a la solubilización y menos permeable a otras moléculas (como el oxígeno) que la región amorfa. Por lo tanto, las regiones altamente cristalinas de un polímero son más resistentes al deterioro químico y físico (Conley, 1970).

### 4.3. POLIETILENO

El polietileno es el polímero de mayor importancia comercial debido principalmente a:

- Su bajo costo como consecuencia de que la materia prima es barata
- Su resistencia química
- La facilidad de su procesamiento por técnicas muy variadas
- Sus propiedades mecánicas
- Su baja absorción de agua

### 4.3.1. Tipos de polietileno

El ejemplo más claro de la importancia de las ramificaciones en el grado de cristalinidad es el polietileno, del cual hay básicamente tres variedades, que se presentan a continuación:

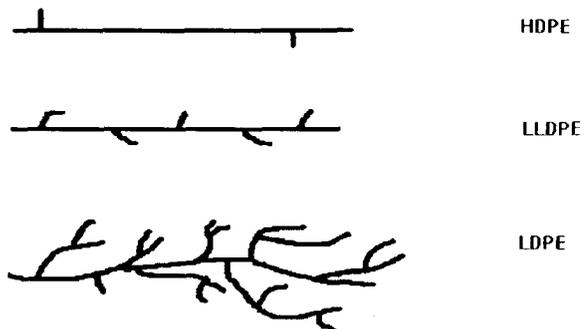


Figura 4.3. Tipos de polietileno (Ureta, 1989)

a) *Polietileno de alta densidad (HDPE)*: El polietileno de alta densidad ( $0.94$  a  $0.97$   $\text{g/cm}^3$ ) es un material con alto grado de cristalinidad (85 a 95%) y temperaturas de fusión de aproximadamente  $135^\circ\text{C}$ . La alta cristalinidad de este polímero se debe a que sus cadenas tienen pocas ramificaciones por lo que pueden tener un arreglo casi perfecto. Este material tiene buenas propiedades físicas, químicas y eléctricas en combinación con su bajo costo. El ataque químico puede producir fisuras, hinchamiento, coloraciones o pérdida de la resistencia mecánica. En general estos efectos son menores en los polietilenos de alta densidad, que en los de baja. La permeabilidad a los gases, vapores y líquidos es menor en los polietilenos altamente cristalinos en comparación a los otros. El HDPE se usa para cuerdas, tuberías de alta presión, en recipientes de gran capacidad, rodillos y en películas para bolsas con alta resistencia al desgarre (Ureta; 1989).

- b) *Polietileno lineal de baja densidad (LLDPE)*: Este material se fabrica polimerizando etileno con otras olefinas. Tiene ramificaciones, por lo que se puede considerar de baja densidad, pero las ramificaciones o grupos laterales son de tamaño uniforme, este polímero tiene grados de cristalinidad mayores que el polietileno normal de baja densidad, la mayor cristalinidad le imparte propiedades (mayor resistencia al impacto y al desgarre) que lo hacen mejor que el LDPE. Este tipo de polietileno se utiliza principalmente para bolsas para artículos pesados (Ureta, 1989).
- c) *Polietileno de baja densidad (LDPE)*. El primer tipo de polietileno fabricado fue el polietileno de baja densidad, éste es polimerizado a una alta presión. Este tipo de polietileno es descrito con más detalle a continuación.

#### **4.3.2. Polietileno de baja densidad**

Este término es empleado para polietilenos con alto índice de ramificaciones y con densidades de 0.91 a 0.93 g/cm<sup>3</sup>, grados de cristalinidad entre 50 y 70% y temperaturas de fusión entre 100 y 110°C. Son ramificados porque se fabrican en condiciones muy drásticas: presiones de 1 500 a 3 000 atm y temperaturas entre 200 y 250°C, con peróxidos como iniciadores. Los peróxidos generan radicales libres que por su enorme reactividad producen las ramificaciones.

El LDPE es el polímero de mayor consumo en comparación con los polietilenos lineales o de alta densidad. Las aplicaciones más importantes de los polietilenos de baja densidad son:

- El 55% se procesa en forma de películas, principalmente para bolsas y para usos agrícolas, cubiertas para invernaderos y túneles, así como para impermeabilizar canales y depósitos de agua. Las películas también se emplean en muchos tipos de empaques.

- 10 a 15% se ocupa para hacer una gran variedad de artículos moldeados.
- Del 15 al 20% se usa para aislar cables y alambres eléctricos.
- El resto se extruye para laminarlo con papel, cartón, hojas metálicas o se mezcla con otros plásticos. También se moldea por soplado para hacer botellas (Ureta, 1989).

#### 4.3.2.1. Morfología.

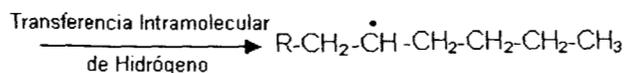
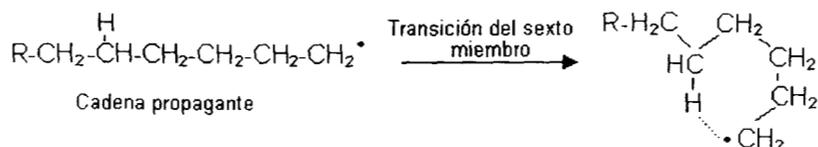
En 1940 la espectroscopía infrarroja reveló que el polietileno de baja densidad posee cadenas ramificadas. Estas ramificaciones son de dos tipos:

- Las debidas a transferencia intermolecular a partir de las siguientes reacciones:



Dando lugar a cadenas formadas a partir de una transferencia de hidrógeno intermolecular, estas ramificaciones son en promedio tan largas como la cadena principal del polímero. Este tipo de cadenas tienen un efecto importante en la viscosidad del polímero.

- El segundo mecanismo de ramificación denominado de transferencia intramolecular es el correspondiente a la producción de ramificaciones cortas en el polietileno y es mostrado a continuación:



Este mecanismo sugiere una longitud de cuatro carbonos en las ramificaciones cortas (Billmeyer, 1971). Un polietileno de baja densidad típico puede contener de 25 a 30 ramificaciones cortas y no más de una ramificación larga en un número promedio de 1000 carbonos (Ureta, 1989).

#### 4.3.2.2. Propiedades

Las propiedades de los polímeros sintéticos son función de tres variables estructurales: peso molecular, distribución de peso molecular y ramificaciones. Las ramificaciones cortas tienen un marcado efecto en el grado de cristalinidad y por lo tanto en la densidad del LDPE; las propiedades que dependen de la cristalinidad tales como dureza, resistencia al impacto, resistencia química, etc., incrementan con la densidad o disminuyen con la cantidad de ramificaciones cortas en el LDPE.

Para efecto de comparación en la Tabla 4.1 se presentan los tres tipos de polietileno y la variación en la cristalinidad, densidad y punto de fusión como efecto de las ramificaciones.

**Tabla 4.1. Efecto de las ramificaciones en algunas propiedades del polietileno**

Polietileno	Grado de cristalinidad (%)	Densidad (g/cm <sup>3</sup> )	Punto de fusión (°C)
Alta densidad (HDPE)	80-95	0.94 - 0.97	Hasta 135
Lineal de baja densidad (LLDPE)	70-90	0.92 - 0.95	110-125
Baja densidad (LDPE)	50-75	0.91 - 0.93	105 - 110

El efecto del peso molecular es observado en algunas propiedades mecánicas del material. Cuando el peso molecular incrementa, la resistencia tensil, al rasgado, al impacto y al medio ambiente también aumentan.

*Propiedades Físicas.*

Las propiedades mecánicas del LDPE se encuentran entre las de los materiales rígidos, como el poliestireno y entre los polímeros blandos, como los vinilos. El polietileno tiene buena dureza y flexibilidad en un amplio intervalo de temperatura. El punto de fusión relativamente bajo (cerca de 110°C) limita el intervalo de temperatura en donde existen buenas propiedades mecánicas. En la Tabla 4.2. se presentan algunas de las propiedades físicas del LDPE.

**Tabla 4.2. Propiedades generales del LDPE.**

<b>Propiedad</b>	
Densidad (g/cm <sup>3</sup> )	0.91 – 0.93
Resistencia a la tensión	600 – 2300 psi 4.1 – 15.8 (Pa)
Elongación (%)	90 –800
Resistencia al impacto (ft-lb/in de corte)	>16
Constante dieléctrica (1000 ciclos)	2.25-2.35
Absorción de agua (1/8 in, 24 h, %)	<0.015

Datos obtenidos de Billmeyer (1971).

Las propiedades eléctricas del LDPE son excelentes, probablemente superiores a las del politetrafluoretileno que tiene un amplio uso en esta área. Las secciones gruesas del LDPE son translúcidas debido a su cristalinidad pero en películas delgadas se obtiene una alta transparencia (Billmeyer, 1971).

*Propiedades químicas.*

El LDPE es inerte químicamente, no lo disuelve ningún disolvente a temperatura ambiente, es hinchado ligeramente con benceno y tetracloruro de carbono, los cuales lo pueden disolver a altas temperaturas. Tiene buena resistencia a ácidos y álcalis. No es modificado en 24 hr a 100°C con ácido sulfúrico o clorhídrico; sin embargo, es carbonizado por ácido nítrico concentrado. Por sus resistencia química es empleado como recipiente para ácidos incluyendo el ácido fluorhídrico (Billmeyer, 1971).

El LDPE envejece o se degrada bajo la exposición de luz y oxígeno, esta degradación se ve reflejada por la pérdida de elongación, resistencia al impacto y al desgarre. Los estabilizadores retardan el deterioro, pero pocos son los suficientemente compatibles con el LDPE. El LDPE también experimenta entrecruzamiento cuando es calentado a elevadas temperaturas (Billmeyer, 1971).

#### 4.4. DEGRADACIÓN DE POLÍMEROS.

La química clásica utiliza el término "degradación" como un sinónimo de descomposición o desarreglo de la estructura química; en términos poliméricos, la degradación está referida a una disminución en el peso molecular; sin embargo, esta definición no es aplicable en todos los casos. La decoloración de los polímeros, por ejemplo, es en la mayoría de los casos referida a una degradación, pero las reacciones químicas que provocan este efecto pueden incrementar el peso molecular (Mark y col., 1966).

El término de "degradación de un polímero", es usado para denotar cambios en las propiedades físicas causadas por reacciones químicas que pueden involucrar rompimientos de enlaces en la estructura de la macromolécula. En los polímeros estas reacciones químicas conducen a una reducción en el peso molecular por la disminución de la longitud de cadena (Figura 4.4), o bien un incremento en el peso molecular por la combinación de los radicales formados por el ambiente químico o físico durante la degradación (Schnabel, 1981).

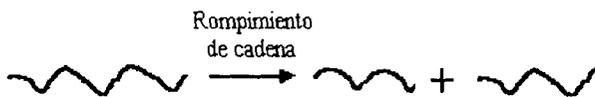


Figura 4.4. Formación de cadenas más cortas por degradación (Schnabel, 1981).

#### 4.4.1. Tipos de degradación

La degradación de los polímeros es causada principalmente por reacciones de rompimiento de enlaces en las macromoléculas. Existen diferentes tipos de degradación de un polímero: térmica, mecánica, fotoquímica, química, por radiación de alta energía, biológica, etc. (Schnabel, 1981).

- ❖ *Degradación térmica:* El término de degradación térmica se aplica cuando el polímero experimenta cambios químicos después de ser sometido a temperatura sin la intervención simultánea de otro compuesto. Sin embargo, es difícil distinguir entre una degradación térmica y una termoquímica, debido a que los materiales poliméricos son raramente "puros" químicamente, ya que las impurezas o aditivos presentes en el material podrían reaccionar con la matriz polimérica si la temperatura es alta.
- ❖ *Degradación mecánica:* La degradación mecánica produce cambios macroscópicos por efecto de fuerzas de corte. Aparte del papel importante que la fractura del polímero desempeña en las aplicaciones de los plásticos, se debe señalar que los procesos con esfuerzos de corte grandes están frecuentemente acompañados del rompimiento de enlaces entre las cadenas del polímero.
- ❖ *Fotodegradación:* La degradación de un polímero inducida por la luz es denominada fotodegradación, que se refiere a los cambios físicos y químicos producidos por la radiación con UV o luz visible. Para que se lleve a cabo este tipo de degradación la radiación debe ser absorbida por el polímero. Por lo tanto, es un pre-requisito la existencia de grupos cromóforos (que absorben la luz), generalmente estos grupos absorben radiación en un rango a longitudes de onda menores de 400 nm.

- ❖ *Degradación química*: es promovida por procesos que son inducidos por reactivos químicos (ácidos, bases y disolventes). En muchos casos es observada una serie de conversiones químicas de los compuestos químicos presentes en el material, en otros, sin embargo, es necesario el empleo de altas temperaturas.
- ❖ *Degradación por radiación de alta energía*: Este tipo de degradación es inducido por radiación electromagnética (rayos X o  $\gamma$ ) o radiación de partículas ( $\alpha$ , neutrones, productos de fisión) y no es específica de la absorción. La existencia de grupos cromóforos no es un pre-requisito como en el caso de la fotodegradación, ya que todas las moléculas son capaces de interactuar con la radiación. La extensión y carácter de los cambios físicos y químicos depende de la estructura química del material irradiado, de las condiciones durante la radiación (temperatura, rapidez de dosis, atmósfera, humedad) y de las impurezas y aditivos (Martínez Pardo 1990). Se han observado que la radiación del LDPE bajo una atmósfera con oxígeno y una dosis de 150 kGy (15 Mrad) da por resultado una disminución en el tamaño promedio de cristal y en el calor de fusión (Limón y Trejo, 1996). La radiación a alta energía provoca la generación de radicales libres e iones en el sustrato, de esta manera la irradiación a alta energía es un método de iniciación de reacciones químicas que se llevan a cabo a través de mecanismos de radicales libres o iónicos (Schnabel, 1981).
- ❖ *Degradación biológica* (biodegradación): el término se emplea para describir cualquier cambio en la estructura química del polímero por efecto de la actividad de agentes biológicos (Cain, 1992). La biodegradación es una transformación bioquímica de compuestos por la acción de microorganismos. La biodegradación de un compuesto ocurre debido a la actividad de varias enzimas que son producidas por los microorganismos (Potts, 1984). Las enzimas pueden atacar los segmentos más pequeños, produciendo intermediarios de bajo peso molecular que pueden ser incorporados a la biomasa celular o mineralizados, es decir, completamente degradados, hasta la producción de bióxido de carbono y agua en condiciones aeróbicas, o metano y bióxido de carbono en condiciones anaeróbicas (Palmisano y Pettigrew, 1992).

Frecuentemente, las circunstancias predominantes dan origen a que ocurran simultáneamente varios tipos de degradación. Los factores más comunes son: (a) condiciones ambientales, las cuales involucran la acción coincidente de radiación UV, oxígeno, humedad, temperatura etc., o (b) condiciones de fabricación del material que incluye el deterioro oxidativo de polímeros termoplásticos durante el procesamiento debido a efectos simultáneos de calor, fuerzas mecánicas y oxígeno (Schnabel, 1981).

#### **4.4.2. Factores que influyen en la degradación**

- ❖ *Cristalinidad*: Además de la estabilidad térmica, ya que un material más cristalino tiene un punto de fusión mayor, la cristalinidad puede ejercer un efecto en la estabilidad química y oxidativa. Se ha demostrado que el ataque de un reactivo químico ocurre más fácilmente sobre la estructura amorfa que en la parte cristalina. Un incremento en la fracción cristalina implica también un incremento en la estabilidad oxidativa. Weiland y col. (1994), encontraron que únicamente las regiones amorfas del polietileno semicristalino son susceptibles a la oxidación. Además, la oxidación de regiones amorfas puede dar por resultado un incremento aparente en la cristalinidad. Luongo (1963, citado por Reich y Stivala, 1971) reportó un incremento en la cristalinidad durante la oxidación del polietileno, explicada por la formación de grupos polares que podrían ejercer una fuerza de atracción provocando de esta manera una mayor densidad del polímero.
- ❖ *Rigidez de la cadena principal*: Un incremento en la rigidez de la cadena da por resultado una mayor estabilidad térmica. En general, los polímeros con estructura cíclica en sus cadenas tienden a ser más duros y más resistentes a la deformación. El punto de fusión y la temperatura de transición vítrea (T<sub>g</sub>) se incrementan por este efecto, y aunque la presencia de compuestos cíclicos aumenta su estabilidad térmica y mecánica, la presencia de grupos carbonilo o fenilos los hacen susceptibles a la radiación ultravioleta. Tales polímeros son vulnerables también a procesos de degradación fotoquímicos en presencia o ausencia de oxígeno. Otros polímeros con estabilidad térmica y rigidez de la cadena alta, generalmente muestran resistencia relativamente buena a la degradación oxidativa.

- ❖ *Ramificaciones*: La presencia de ramificaciones en una macromolécula generalmente disminuye la estabilidad térmica conforme la longitud de las ramificaciones incrementa. Los polímeros ramificados tienden a oxidarse más fácilmente que los lineales debido a factores que debilitan las fuerzas intra- e inter- moleculares y a la presencia de carbonos terciarios producto de las ramificaciones. En el último caso se espera que los hidrógenos unidos a carbonos terciarios sean más susceptibles al ataque químico que los hidrógenos unidos a carbonos secundarios o primarios.
- ❖ *Entrecruzamiento*: La flexibilidad de las cadenas puede ser disminuida a través de su entrecruzamiento. La rigidez de la cadena como consecuencia del entrecruzamiento hace que la estabilidad química y térmica aumenten en el polímero. La estabilidad del polímero depende del número de entrecruzamientos por unidad de peso o volumen, la longitud, estructura química, entre otros. Aunque generalmente el entrecruzamiento da por resultado que los polímeros adquieran una mayor estabilidad química y térmica, estudios realizados por Winslow y col. en 1963 (citado por Reich y Stivala, 1971) muestran una disminución en el grado de cristalinidad en el polietileno lineal de alto peso molecular, entrecruzado por radiación, debido a que el entrecruzamiento favoreció el porcentaje de reacción del oxígeno durante la degradación térmica de éste a 100°C.
- ❖ *Impurezas*: La presencia de compuestos traza ejercen un efecto en los procesos de oxidación. Dicho efecto se ve reflejado por modificaciones en los mecanismos de reacción de iniciación y terminación durante la oxidación y descomposición de peróxido. Los compuestos traza durante los procesos de polimerización pueden interactuar con los radicales peroxi y con el polímero (Norling y Tobolsky, 1970). El efecto de los compuestos traza, que actúan como catalizadores, depende de las condiciones experimentales como el medio y concentraciones, entre otras. Sin embargo, la principal función de éstos consiste en inducir la descomposición de hidroperóxidos por reacciones redox.

### 4.4.3. Degradación térmica

Las macromoléculas orgánicas, así como las moléculas orgánicas de bajo peso molecular (compuestas principalmente de carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno) son estables por debajo de cierto límite de temperatura, usualmente de 100° a 200°C, debido principalmente a que los átomos están ligados por enlaces covalentes. La energía de disociación para este tipo de enlaces se encuentra en el orden de 150 a 400 kJ/mol a 25°C. Las reacciones químicas que llevan a la degradación térmica de un polímero son el resultado del rompimiento de enlaces químicos al sobrepasar las energías de disociación de éstos.

Los cambios químicos ocurridos durante el tratamiento térmico de los polímeros son caracterizados por la disminución en el peso molecular y a elevadas temperaturas por la producción de compuestos gaseosos de bajo peso molecular. Las reacciones químicas típicas son ciclizaciones y eliminaciones; en el caso de los polímeros lineales, puede ocurrir entrecruzamiento, lo que da por resultado un aumento en el peso molecular. A temperaturas muy elevadas (400 a 600°C), el polímero puede descomponerse en monómeros, este mecanismo es generalmente conocido como despolimerización. En la Figura 4.5 se presenta en forma esquemática las reacciones que pueden ocurrir durante una degradación térmica (Schnabel, 1981).

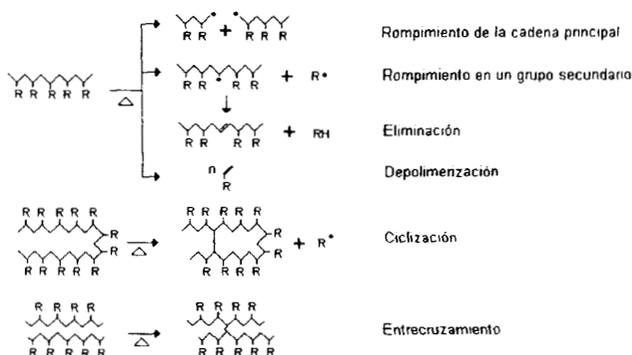


Figura 4.5. Representación esquemática de reacciones químicas durante la degradación térmica (Schnabel, 1981).

Los mecanismos mostrados dependen de la estructura del polímero, conforme la temperatura se incrementa, la probabilidad de rompimiento de enlaces aumenta. El polietileno puede tener una pequeña cantidad de grupos con diferentes estructuras, en la Figura 4.6 se muestra (con flechas) el sitio con más probabilidad de ruptura.

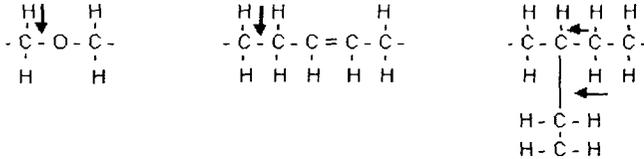


Figura 4.6. Sitios de ruptura de enlaces en el polietileno (Schnabel, 1981).

El polietileno en ausencia de oxígeno se entrecruza a temperaturas entre 200 y 290°C, por arriba de esta última se empieza a descomponer. Los mecanismos de rompimiento y entrecruzamiento ocurren competitivamente pero mientras mayor es la temperatura, el rompimiento es favorecido por la presencia de carbonos terciarios en las ramificaciones (Hansen, 1970).

El LDPE es estable térmicamente aproximadamente hasta 290°C, a esta temperatura es despreciable la presencia de material volátil. Durante las primeras etapas de la degradación térmica son formadas cadenas con dobles enlaces. Los tipos de dobles enlaces formados para el caso del polietileno son mostrados en la Figura 4.7.

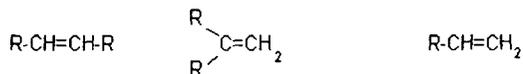


Figura 4.7. Tipos de dobles enlaces formados durante las primeras etapas de degradación térmica en el polietileno (Grassie, 1964).

Los dos primeros tipos son formados como consecuencia del rompimiento en las ramificaciones de la cadena.

#### 4.4.4. Termo-oxidación

A temperatura ambiente la estructura química de los polímeros es muy estable al ataque del oxígeno molecular ( $O_2$ ). Como se mencionó anteriormente la morfología y estructura química de un polímero desempeñan un papel importante en la degradación. Los polímeros altamente ramificados, cuyas ramificaciones no sean muy largas, son fácilmente oxidados en comparación a polímeros lineales. La termo-oxidación empieza en los átomos de carbono terciarios, si éstos están presentes, y continúa a través de las regiones más accesibles del material (usualmente la parte no cristalina). A una temperatura alrededor de  $100^\circ C$  el LDPE es casi totalmente amorfo, por lo cual la termo-oxidación empieza instantáneamente. El espesor de la capa del polímero desempeña un papel importante durante este tipo de degradación, el tiempo requerido para la oxidación se incrementa cuando se utilizan muestras muy gruesas, debido a que la difusión de oxígeno y productos de la oxidación son deficientes (Hansen, 1970).

El primer paso en la oxidación de un material es la generación de radicales libres que reaccionan rápidamente con el oxígeno, éstos pueden ser formados por reacciones promovidas por radiación, calor o esfuerzos mecánicos (Schnabel, 1981).

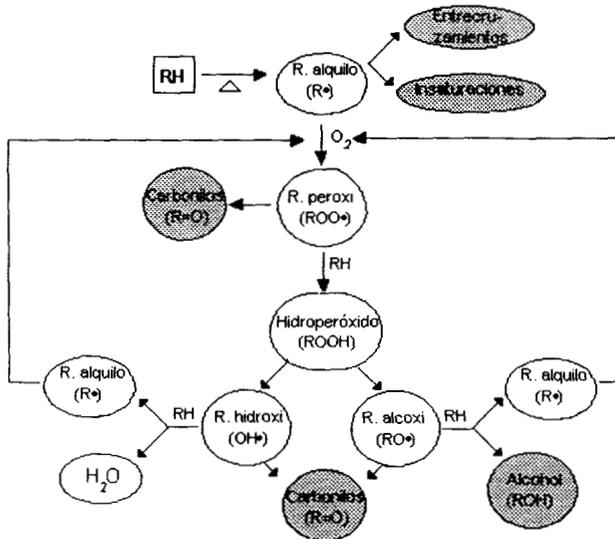


Figura 4.8. Mecanismo de termo-oxidación

En la Figura 4.8 se presenta el mecanismo de termo-oxidación. El primer paso es la formación de radicales alquilo ( $R\cdot$ ) a partir del polímero. Una vez que los radicales alquilo son formados, reaccionan rápidamente con el oxígeno generando radicales peroxi ( $ROO\cdot$ ), éstos pueden extraer entonces hidrógeno de la cadena polimérica para formar hidroperóxidos ( $ROOH$ ). A elevadas temperaturas los hidroperóxidos se descomponen rápidamente para formar radicales alcoxi e hidroxi ( $RO\cdot$  y  $OH\cdot$ ). Estos compuestos son muy inestables y extraen rápidamente hidrógeno de la cadena del polímero para formar más radicales alquilo. Este proceso es el motor que conduce a una serie de otros procesos de reacción, tales como la desproporción de los radicales libres para formar cetonas ( $R=O$ ) o grupos vinilo a lo largo de la cadena polimérica.

Para aumentar la oxidación de polímeros semicristalinos es necesario incrementar la temperatura, de tal manera que al fundir el polímero se fomente un desorden en su estructura lo que permite una mayor difusión de oxígeno en el material.

Algunos de los productos resultantes de la termo-oxidación son alcoholes, aldehídos, cetonas y ácidos, estos compuestos pueden causar cambios en la apariencia física del material. Se ha demostrado que las insaturaciones se incrementan con el tiempo, temperatura y concentración de oxígeno (Holmström y Sörvik, 1974). La termo-oxidación puede también ejercer un efecto sobre el peso molecular que se ve reflejado con cambios en la viscosidad del material. La viscosidad se incrementa o disminuye dependiendo si existe rompimiento o entrecruzamiento durante la degradación. Las reacciones de rompimiento y entrecruzamiento son descritas a continuación:

- a) *Rompimiento*: Entre las reacciones que alteran el peso molecular, existen dos mecanismos de mayor importancia en el rompimiento de cadenas durante la termo-oxidación. El primero es el que involucra el rompimiento en la posición  $\beta$  de los radicales alcoxi o peroxi ( $RO\cdot$  y  $ROO\cdot$ ). Este rompimiento ("oxidativo") tiene una energía de activación baja (59 kJ/mol). Este es el tipo de rompimiento predominante a temperaturas moderadas o bajo condiciones de alta concentración de oxígeno.

El segundo mecanismo se refiere al rompimiento de los radicales alquilo en la posición  $\beta$ . El rompimiento de un radical alquilo secundario produce un grupo vinilo monosustituido ( $\text{CH}_2=\text{CHR}$ ) y un radical alquilo, mientras que el rompimiento de un radical alquilo terciario da por resultado la formación de un grupo vinilo bisustituido ( $\text{CH}_2=\text{CRR}'$ ) y un radical alquilo. Este tipo de reacción no necesita la presencia del oxígeno. Sin embargo, la formación de grupos alquilo también ocurre durante la termo-oxidación y por lo tanto, este tipo de rompimiento puede existir también en la termo-oxidación. El tipo de rompimiento "térmico" llega a ser más predominante que la "oxidativa" conforme la temperatura se incrementa (Johnston y Morrison, 1993).

- b) *Entrecruzamiento*: El entrecruzamiento del polietileno bajo condiciones de termo-oxidación ha sido atribuido al acoplamiento de radicales alquilo. Esta reacción sin embargo, es fuertemente dependiente de las insaturaciones que pueda tener el polímero por las condiciones de fabricación. En el HDPE el entrecruzamiento es acompañado por una disminución en los grupos vinilo. El HDPE carente o con pocos grupos vinilo (proceso Ziegler) no se entrecruza, mientras que el HDPE con alta concentración de grupos vinilo (proceso Phillips) sí se entrecruza.

La temperatura desempeña también un papel importante en la determinación del mecanismo dominante durante la degradación del polietileno. Se ha demostrado que el entrecruzamiento predomina a bajas temperaturas y el rompimiento a altas temperaturas (Johnston y Morrison, 1993).

Los principales productos reportados por Albertsson y Karlsson (1990) como productos de la termo-oxidación del LDPE (después de 17 semanas a  $95^\circ\text{C}$ ) son: 2-butanol, ácido propiónico, 1-pentanol, ácido butírico, ácido valérico y ácido caprónico. Después de 20 semanas pudieron ser detectados algunos alcanos como: n-octano, n-nonano, n-decano, n-dodecano y n-tetradecano.

#### 4.4.5. Degradación foto-oxidativa

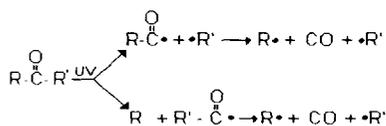
La degradación de una cadena polimérica por luz UV, es debida a la absorción de energía por grupos específicos funcionales (cromóforos) que pueden estar presentes en la cadena. La mayoría de las veces las impurezas que presenta el material pueden actuar como grupos cromóforos. Boustead y Charlesby (1967) (citados por Rånby y Rabek, 1975), encontraron las siguientes impurezas en el LDPE: alquil-aril cetona, ácido benzoico, naftaleno, antraceno, fenantreno y sus derivados, la mayoría de éstos son originados durante los procesos de polimerización.

Durante la fotodegradación pueden ocurrir rompimientos de cadena, entrecruzamientos y formación de otros productos de menor peso molecular (Reich y Stivala, 1971). Los rompimientos de cadena ocurren por reacciones al azar a lo largo de la cadena, los entrecruzamientos son debidos a procesos secundarios de radicales libres (Rånby y Rabek, 1975).

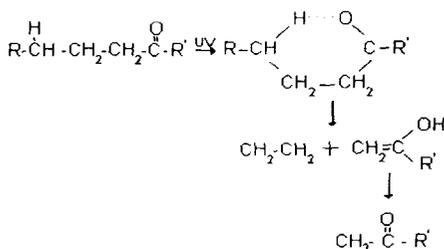
Un fenómeno interesante durante la foto-oxidación de polímeros es la formación de grupos cromóforos adicionales durante las reacciones de propagación, estos compuestos pueden promover otras reacciones provocando una rápido deterioro del polímero (Schnabel, 1981). La foto-oxidación ocurre preferentemente sobre la superficie del polímero pero después de un tiempo, la oxidación se extiende en todo el polímero. Se ha observado también que los grupos carbonilo y peróxidos en muestras sometidas a foto-oxidación son los mismos a los encontrados en muestras tratadas a altas temperaturas (250-300°C).

El mecanismo de foto-oxidación es similar al mecanismo de termo-oxidación. A temperatura ambiente y en ausencia del oxígeno, el polietileno puro es un material estable a la radiación UV. Se ha observado que después de una larga exposición a la luz UV en vacío o en una atmósfera con nitrógeno se pueden presentar rompimientos de cadenas y entrecruzamientos (Rånby y Rabek, 1975).

Otra característica de la foto-oxidación es la fotólisis de las cetonas formadas durante la foto-oxidación, que ocurre a través de dos tipos de reacciones denominadas Norrish I y Norrish II:



Reacción Norrish I



Reacción Norrish II

En exposición a la luz los grupos cetónicos absorben fotones. En las reacciones Norrish I es roto un enlace C-C y son formados dos radicales. Frecuentemente se pierde monóxido de carbono (CO) a partir del radical carbonilo y los radicales generados reaccionan rápidamente con el oxígeno, lo más importante en este tipo de reacción es el rompimiento de cadenas. Esto es importante ya que, las propiedades físicas de los polímeros dependen de la longitud de las cadenas. Cuando las cadenas largas son degradadas por el proceso de fotólisis, las cadenas más pequeñas no contribuyen de manera significativa en las propiedades del material, por esto las muestras eventualmente sufren pérdida de resistencia mecánica (Klemchuk, 1990).

La reacción Norrish II procede intramolecularmente a través de la formación de un intermediario cíclico. La extracción de un hidrógeno da por resultado la descomposición en una olefina y un alcohol o un aldehído, este tipo de reacción no produce radicales como en el tipo I (Rånby y Rabek, 1975). En la fotodegradación del polietileno predomina el mecanismo de reacción Norrish tipo II (Reich y Stivala, 1971).

227623

#### 4.4.6. Degradación biológica

Es conocido que los organismos vivos no únicamente sintetizan biopolímeros como proteínas, ácidos nucleicos y polisacáridos, sino también son capaces de degradarlos. La biodegradación consiste en la transformación bioquímica de compuestos por la acción de microorganismos.

La degradación de los polímeros a pequeñas moléculas por medio de la acción biológica es llevada a cabo por mecanismos bioquímicos. Los organismos vivos son capaces de producir enzimas que pueden atacar a los biopolímeros. El ataque es usualmente específico con respecto al acoplamiento enzima/polímero y del sitio del ataque en el polímero. La mayoría de los polímeros sintéticos son inertes al ataque enzimático microbiano. Inicialmente este hecho fue considerado favorable, pero más tarde surgieron problemas cuando la producción de los plásticos se incrementó notablemente junto con la cantidad de residuos plásticos, creando grandes problemas en su disposición final y provocando serios problemas ecológicos (Schnabel, 1981).

En algunos casos los polímeros naturales y sintéticos pueden ser atacados por los organismos vivos mecánicamente. Este tipo de biodegradación de polímeros corresponde al ataque de ciertos mamíferos (en especial roedores) e insectos. En un número de casos, las razones de este ataque involucran las necesidades nutricionales del ser viviente (por ejemplo, algunos escarabajos y termitas digieren madera). Por otra parte, en los polímeros sintéticos (por ejemplo, PE y PS) el ataque de los animales, si se llegase a presentar provocaría una degradación mecánica en el material por la mordedura del animal sobre éste.

#### 4.4.6.1. Degradación enzimática

Durante la degradación del polímero, se encuentran involucradas las enzimas microbianas. Los procesos de descomposición son altamente específicos, es decir, no son operativos sobre sustratos con diferente naturaleza química a la que el microorganismo haya sido adaptado.

Aunque los microorganismos, como las bacterias y hongos, son altamente específicos en la degradación del sustrato, muchos de éstos son capaces de adaptarse a otro sustrato. La capacidad de adaptación de los microorganismos a nuevos sustratos es de gran importancia en el problema de biodegradabilidad de los polímeros sintéticos. Existe una gran variedad de microorganismos que tienen la capacidad de degradarlos (Schnabel, 1981).

La degradación biológica de un compuesto se lleva a cabo por acción de varios tipos de enzimas que son producidas por los microorganismos. Las enzimas son proteínas con diferente estructura química y peso molecular (de  $10^3$  a  $10^6$  Da), poseen grupos hidrofílicos ( $\text{COOH}$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{NH}_2$ ) y son solubles generalmente en medios líquidos. Su precipitación es causada por altas concentraciones de sales univalentes y bajas concentraciones de iones metálicos multivalentes. La actividad catalítica de las enzimas está relacionada a su conformación molecular. Los cambios conformacionales inducidos por la variación de pH, temperatura y adición de disolventes orgánicos, incrementan la probabilidad de "desnaturalización", es decir pérdida de actividad catalítica. Contrariamente a los procesos químicos, los procesos enzimáticos operan bajo condiciones no drásticas, a temperaturas moderadas y presión atmosférica.

Frecuentemente, las enzimas son designadas de acuerdo a su modo de acción. Las hidrolasas, por ejemplo, son enzimas que catalizan la hidrólisis de ésteres, éteres, o aminas. Las enzimas proteolíticas (hidrolizan proteínas) son llamadas proteasas y las enzimas que hidrolizan a los polisacáridos (carbohidratos) son denominadas carbohidrasas. Algunas enzimas, junto con sus sustratos poliméricos son presentadas en la Tabla 4.3.

Tabla 4.3. Enzimas con capacidad de rompimiento de cadenas en polímeros naturales

Tipo	Enzima	Sustrato	Localización
Carbohidrasas	Amilasa	Amilosa	Bacterias, páncreas, malta
	Fosforilasa	Amilosa, amilopectina	Bacterias, levaduras, plantas, animales
	Celulasa	Celulosa	Bacterias y hongos
	Lisosima	Polisacáridos en la pared celular	Secreciones del cuerpo, clara del huevo
Proteasas	Pepsina	Proteínas	Mucosa gástrica
	Tripsina	Proteínas	Páncreas
	Carboxipeptidasa	Proteínas	Bacterias, páncreas
Esterasas	Ribonucleasas	Ac. ribonucleico (RNA)	Bacterias, plantas, páncreas, bazo
	Desoxiribonucleasas	Ac. desoxiribonucleico (DNA)	Bacterias, páncreas.
	Fosfodiesterasas	Ácidos nucleicos (DNA; RNA)	Veneno de víbora, mucosa intestinal

Algunas de las aplicaciones de los procesos enzimáticos de degradación de polímeros naturales son la degradación de los polisacáridos utilizados en la industria textil. El almidón también es removido por las amilasas, este compuesto es también empleado en mezclas con polímeros sintéticos como el LDPE para acelerar su biodegradación (Griffin, 1988).

Baptist y col. (1963), evaluaron la oxidación de un hidrocarburo lineal de bajo peso molecular (n-octano) utilizando la preparación de una enzima libre a partir de *Pseudomonas oleovorans*, esto dió como resultado la formación de octanol, octanaldehído y octanoato, además se encontró evidencia de la acción mixta de oxidasas y de alcohol deshidrogenasas (Schnabel, 1981). Este trabajo y otros como el de Schlegel (1976) demostraron que la oxidación enzimática de los hidrocarburos ocurre en el extremo de la cadena. Esto explica la alta resistencia de los polímeros sintéticos al ataque microbiano.

#### 4.4.6.2 Biodegradación de polímeros sintéticos

Bajo condiciones apropiadas, el crecimiento de los microorganismos puede ocurrir simultáneamente con la descomposición del sustrato. Los factores ambientales que influyen en la biodegradabilidad de los plásticos incluyen factores físico-químicos como pH, temperatura, humedad (la presencia de agua es un requisito indispensable), y disponibilidad de oxígeno y nutrientes. La distribución, abundancia, diversidad y adaptación de los microorganismos son también factores que influyen en la biodegradabilidad de los polímeros sintéticos (Palmisano y Pettigrew, 1992).

Generalmente, la biodegradabilidad de los polímeros sintéticos es estudiada por pruebas de crecimiento en medio de agar sólido. En las pruebas de biodegradación, los hongos o bacterias son inoculados en el material polimérico (en forma de película, polvo, placas o pellets). Los microorganismos empleados comúnmente en estas pruebas son mostrados en la Tabla 4.4.

**Tabla 4.4. Microorganismos empleados en pruebas de biodegradabilidad de polímeros sintéticos (Schnabel, 1981).**

Hongos	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Chaetomium globosum</i> , <i>Penicillium funiculosum</i> , <i>Pullularia pullulans</i> .
Bacterias	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Coryneformis bacterium</i> , <i>Bacillus sp.</i>
Actinomycetes	<i>Streptomyces sp.</i>

En la Tabla 4.5 se presentan algunos de los resultados de crecimiento microbiano superficial en algunos plásticos comerciales.

Tabla 4.5. Degradación microbiana de plásticos comerciales (Potts y col., 1973)

Polímero	Clasificación de crecimiento microbiano superficial en placas de agar*
Poliisobuteno, poli-4-metil-1-penteno, Polimetilmetacrilato, polibutiral de vinilo, poliformaldehído, poli(vinil etil éter), acetato de celulosa, policarbonato de bisfenol A, terpolímero ABS	0
Poli(acetato de vinilo), estireno-butadieno, copolímero en bloque, policloruro de vinilo, polietilentereftalato, poliestireno, polipropileno.	1
Polietileno (con aditivo)	2
Cloruro de polivinilo plastificado	3
Poliuretano	4

\* Pruebas estándar con *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Chaetomium globosum* y *Penicillium funiculosum* y 3 semanas de incubación. Donde 0 indica muestras sin crecimiento microbiano superficial; 1, menos del 10% de la superficie cubierta; 2, del 10 a 30% cubierta; 3, del 30 al 60% cubierta y 4 del 60% a 100% cubierta.

Como se observa en la Tabla 4.5 la mayoría de los polímeros son resistentes a la biodegradación, el polietileno y el policloruro de vinilo son los más resistentes al ataque microbiano. Sin embargo, con la presencia de aditivos en su matriz estos polímeros presentan crecimiento superficial de microorganismos. Se ha observado que los aditivos de bajo peso molecular son biodegradables mientras que la matriz del polímero es escasa o nulamente modificada. Estos hallazgos son importantes ya que muchos plásticos contienen aditivos.

En algunos casos, el crecimiento microbiano observado en pruebas de biodegradación en materiales plásticos es debido a la interacción de los

microorganismos con los plastificantes, estabilizadores, etc. y no a la biodegradación del polímero.

Existen estudios que han demostrado que las mezclas de polímeros inertes biológicamente, tales como el polietileno, con un 50% (p/p) de compuestos biodegradables como el almidón o glucosa sufren un consumo del material biodegradable por la acción de los microorganismos. Esta acción da por resultado una muestra plástica con orificios. Los diámetros de éstos, dependen del tamaño de la partícula utilizada en la mezcla (Potts, 1984).

La biodegradabilidad de un polímero está fuertemente influenciada por sus ramificaciones y su longitud de la cadena (Tabla 4.6).

**Tabla 4.6. Efecto del peso molecular y ramificación en la degradación microbiana de hidrocarburos (Potts y col., 1984)**

Hidrocarburo	PM	Ramificación	Clasificación de crecimiento sobre placas de agar*
n-dodecano (C <sub>12</sub> H <sub>26</sub> )	170	No	4
2,6,11-trimetildodecano (C <sub>15</sub> H <sub>32</sub> )	212	Si	0
n-hexadecano (C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> )	226	No	4
2,6,11,15-tetrametilhexadecano (C <sub>20</sub> H <sub>42</sub> )	283	Si	0
n-tetracosano (C <sub>24</sub> H <sub>50</sub> )	339	No	4
esqualano (C <sub>30</sub> H <sub>62</sub> )	423	Si	0
n-dotriacontano (C <sub>32</sub> H <sub>66</sub> )	451	No	4
n-tetracontano (C <sub>40</sub> H <sub>82</sub> )	563	No	0
n-tetratetracontano (C <sub>44</sub> H <sub>90</sub> )	619	No	0

\* Para denotación consultar Tabla 4.5.

El efecto de las ramificaciones sobre la biodegradabilidad de los plásticos ha sido ampliamente estudiada (Potts y col., 1973). La Tabla 4.6 presenta un estudio de biodegradabilidad de parafinas con pesos moleculares entre 170-619, se observa que las moléculas lineales con peso molecular menor a 451 son asimiladas por los microorganismos. En este estudio ninguno de los hidrocarburos ramificados fueron

biodegradados. Las moléculas con peso molecular arriba de 451 no presentaron crecimiento microbiano.

En la Tabla 4.7 se presenta el efecto del peso molecular en la biodegradabilidad del polietileno de alta y baja densidad. Una de las características de los polímeros, es que son mezclas de cadenas de diferentes tamaños y, en consecuencia, el peso molecular es un número promedio, existe por lo tanto, una distribución del PM para cada muestra.

**Tabla 4.7. Efecto del peso molecular en la biodegradabilidad del polietileno (Potts, 1973)**

Muestra	Tipo de Polietileno	PM	Clasificación de crecimiento sobre placas de agar*
1	Alta densidad	10 970	2
2	Alta densidad	13 800	2
3	Alta densidad	31 600	0
4	Alta densidad	52 500	0
5	Alta densidad	97 300	0
6	Baja densidad	1 350	1
7	Baja densidad	2 600	3
8	Baja densidad	12 000	2
9	Baja densidad	21 000	1
10	Baja densidad	28 000	0

\* Para denotación consultar Tabla 4.5.

Puesto que el polietileno de alta densidad (HDPE) es una molécula lineal no ramificada, la distribución del peso molecular en las muestras 1 y 2 es tal que las especies de bajo peso molecular (cerca de 500) se encuentran presentes en una concentración que permite el crecimiento microbiano. Conforme el peso molecular se incrementa, la distribución de éste cambia de tal manera que las especies de bajo peso molecular no están presentes en cantidad suficiente para que los

microorganismos puedan ocuparlas. La misma conclusión puede ser aplicada para las muestras de polietileno de baja densidad (LDPE), a excepción de las muestras 6 y 7. La muestra 6 corresponde a una grasa, es una muestra de baja densidad altamente ramificada que contiene pocas moléculas lineales. La muestra 7 corresponde a una cera cristalina con alta densidad y una mayor cristalinidad que la muestra 6, contiene más moléculas de cadena lineal con peso molecular menor a 500 y por lo tanto presenta un mayor crecimiento superficial que la muestra 6 (Potts, 1973).

#### **4.4.6.3 Mecanismos de biodegradación ( $\beta$ -oxidación)**

Como se ha mencionado anteriormente, la mayoría de los plásticos no son biodegradables ya que en general son hidrofóbicos. Para aumentar su susceptibilidad al ataque microbiano, éstos deben ser modificados. Los plastificantes y aditivos inducen la biodegradación, ya sea por el ataque de los microorganismos sobre el aditivo de bajo peso molecular o por la aceleración de la oxidación de los plásticos, dando como resultado un plástico más accesible a los microorganismos (Scott, 1990). Un polímero que ha sido oxidado con diferentes procedimientos químicos, y que ha alcanzado una etapa de fragmentación espontánea es una entidad química diferente del polímero normal. Esta muestra modificada absorbe una cantidad de agua debido a la presencia de grupos carbonilo en su matriz, es decir, cambia de un material hidrofóbico a uno hidrofílico lo que permite a los microorganismos actuar en la estructura del polímero (Scott, 1994). La oxidación biológica de los hidrocarburos lineales a ácidos grasos o derivados ha sido reportada (Schlegel, 1976), esta oxidación da como productos alcoholes, grupos cetónicos y/o aldehídos durante el ataque microbiano en el penúltimo carbono.

La biodegradación de estos ácidos ocurre como resultado de la acción catalítica de las enzimas oxidasas por el proceso conocido como  $\beta$ -oxidación (Figura 4.9). En este proceso es removido un segmento con dos carbonos del ácido graso (en la posición beta), en forma de acetil Coenzima A, a través de la acción de varias enzimas; ésta entra al ciclo de Krebs para dar como resultado final  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ . Este

proceso ocurre de manera repetitiva hasta que el ácido graso es completamente degradado (Klemchuk, 1990).

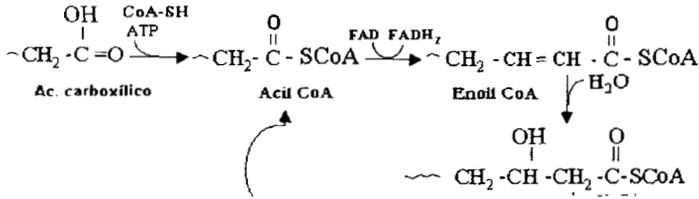


Figura 4.9. Biodegradación de ácidos carboxílicos (β-oxidación).

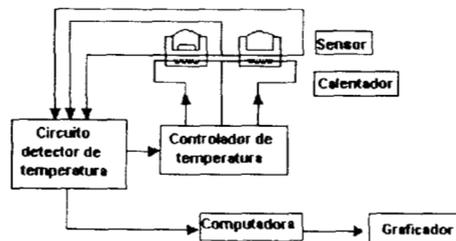
En conclusión, se puede decir que en principio los plásticos sintéticos son susceptibles al ataque microbiano. Aparte de casos excepcionales, no existen microorganismos preparados para atacar plásticos sintéticos, aunque muchos tienen la capacidad de adaptación. Las condiciones de crecimiento adecuadas son un factor importante para el crecimiento de los microorganismos y por lo tanto una mejor conversión de los nutrientes. En los casos de los polímeros que son la fuente de carbono, la conversión de los nutrientes corresponde a la descomposición del material polimérico (Schnabel, 1981).

## 4.5. CARACTERIZACIÓN DE POLÍMEROS

La caracterización de un polímero es un paso esencial cuando se trabaja con él. En la síntesis de nuevos productos, son determinados primero la composición, peso molecular y propiedades físicas, entre otras. Existen diferentes técnicas para el análisis de un polímero y cada una de ellas tiene un objetivo específico (Kroschwitz, 1990). Esta sección se enfoca solo a las técnicas utilizadas en este trabajo para la caracterización del LDPE.

### 4.5.1. Calorimetría de barrido diferencial (DSC)

La calorimetría de barrido diferencial es una técnica en la cual, el flujo de calor dentro o a partir de una muestra y una referencia es medido como una función del tiempo o temperatura. La DSC ha sido usada para medir temperaturas y calores de transición, calor específico, y ciertas funciones isotérmicas. Dentro de éstas se encuentran mediciones de la temperatura de transición vítrea y a partir de los termogramas se determina la cristalinidad, pureza, velocidad de reacción y velocidad de cristalización (Hatakeyama y Quinn, 1994). El diagrama de un sistema de DSC es mostrado en la Figura 4.10



227623

Figura 4.10. Diagrama de un dispositivo de DSC (Hatakeyama y Quinn, 1994).

El rango de temperatura a la que trabajan estos equipos es muy variable, en algunos es entre  $-163^{\circ}\text{C}$  y  $727^{\circ}\text{C}$ , mientras que otros están diseñados para operar a partir de los  $17^{\circ}\text{C}$  (Hatakeyama y Quinn, 1994).

El error más frecuente que se puede cometer durante la experimentación es la encapsulación defectuosa de la muestra o la suciedad de las celdas. Es importante que la base de la muestra encapsulada sea lo más plana posible. Las mediciones del área de la endoterma o exoterma requieren de la construcción de una línea base la cual conduzca a un cierto grado de selectividad para su análisis (Hatakeyama y Quinn, 1994). La línea base es construida dibujando una línea recta utilizando como límites los puntos térmicos antes y después de la transición (Figura 4.11).

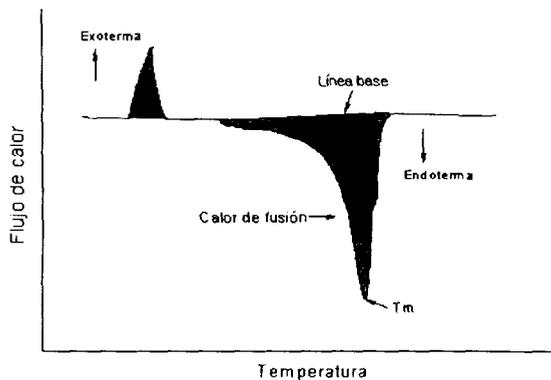


Figura 4.11. Termograma de DSC (Hatakeyama y Quinn, 1994).

El área bajo la curva resultante (Figura 4.11) es una medida directa del calor de transición de la muestra (Billmeyer, 1971). La línea base representa la porción de la curva térmica donde la diferencia en el flujo de calor es aproximadamente de cero. Una curva exotérmica se presenta cuando la temperatura de la muestra se alza por encima de la temperatura del material de referencia debido a un cambio físico o químico, en una curva endotérmica la temperatura de la muestra cae por debajo de la de referencia.

#### 4.5.2. Difracción de rayos X a ángulo grande (WAXS)

Un método muy útil para determinar la estructura cristalina en un material es la técnica de difracción de rayos X a ángulo grande (WAXS). En un sentido general, la principal aplicación de la difracción de los rayos X, se debe a su capacidad para detectar orden o desorden en el estado de las sustancias sólidas.

Los rayos X son producidos por el bombardeo a un metal, con un haz de electrones a alto voltaje. Esto se hace en un tubo a vacío, los rayos X pasan a través de una ventana de mica o de berilio en el tubo en forma de un haz bien definido. La elección del metal y voltaje aplicado determinan la longitud o longitudes de onda (Billmeyer, 1971).

De acuerdo con Bragg (1913) cada uno de los puntos de los planos paralelos puede actuar como un espejo de los rayos incidentes, siempre y cuando el ángulo de incidencia tenga cierto valor específico (Figura 4.12).

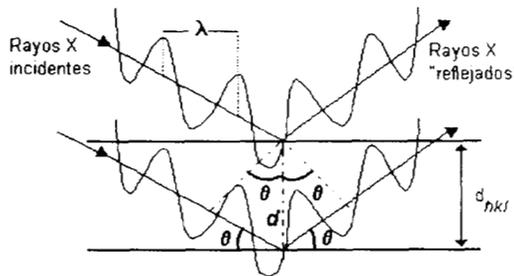


Figura 4.12. Geometría de la analogía de Bragg (Alexander, 1979).

La posición de la reflexión está dada por la longitud de onda ( $\lambda$ ) del haz incidente del rayo X, la distancia interplanar entre los planos paralelos y el ángulo  $\theta$  entre el rayo incidente y el plano del retículo (Figura 4.12). Lo anterior queda expresado como:

$$N\lambda = d_{hkl} \text{ sen } 2\theta$$

Donde  $N$  es el orden de la reflexión, en los polímeros la reflexión con la intensidad más fuerte es frecuentemente igual a 1 (Elias, 1977);  $d_{hkl}$  es la distancia entre los planos sucesivos e idénticos de los átomos en el cristal, los índices  $hkl$  son los "índices de Miller". Estos son usados comúnmente para designar un grupo de planos y son proporcionales al recíproco de las intersecciones de estos planos con los ejes  $a$ ,  $b$ ,  $c$  de una celda unitaria (Miller, 1965). La celda unitaria del polietileno es rectangular con dimensiones de  $a=7.41 \text{ \AA}$ ,  $b=4.94 \text{ \AA}$  y  $c=2.55 \text{ \AA}$  (Figura 4.13).

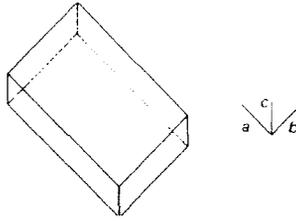


Figura 4.13. Celda unitaria del polietileno

Una curva típica de WAXS para polímeros semi-cristalinos la presenta el polietileno (Figura 4.14), donde la intensidad de la dispersión de rayos X es graficada contra el ángulo de difracción  $2\theta$ .

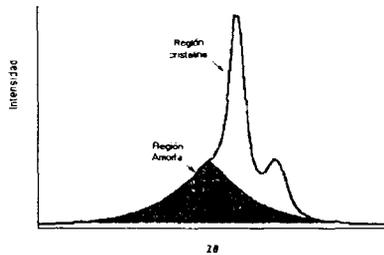


Figura 4.14. Espectro de difracción de rayos X del LDPE.

La forma de los picos es debida a la dispersión a partir de las regiones cristalinas. Para partículas pulverizadas, de cristales relativamente perfectos, el tamaño promedio de cristal puede ser determinado por la ecuación de Scherrer:

$$L_{hkl} = \frac{K \lambda}{\beta \cos \theta}$$

Donde,  $L_{hkl}$  es el tamaño promedio de cristal ( $\text{\AA}$ ),  $K$  es una constante del orden de 1,  $\lambda$  es la longitud de onda de la radiación (cobre,  $1.5418 \text{ \AA}$ ),  $\theta$  corresponde a la posición angular y  $\beta$  es el ancho a la mitad del pico cristalino. Para el polietileno el plano principal ( $hkl$ ) es el 110 (Alexander, 1979).

### 4.5.3. Espectroscopía infrarroja (IR)

La espectroscopía es el estudio de la interacción de la radiación con los átomos y las moléculas. Dentro de esta técnica se encuentran la resonancia magnética nuclear, espectrometría de masas, espectroscopía UV y de luminiscencia y la espectroscopía infrarroja, entre otras.

En el espectro infrarrojo de absorción de una sustancia se reflejan las interacciones de las radiaciones electromagnéticas de esta zona espectral con las posibilidades de vibración de los átomos en las moléculas. Todas las moléculas están formadas de átomos unidos por enlaces químicos. Estos átomos vibran alrededor de sus posiciones de equilibrio y el enlace actúa como un resorte que los conecta entre sí. Cada molécula tiene un conjunto de frecuencias de vibración en la región infrarroja que son características de los enlaces químicos que la forman (Martínez de las Marías, 1972).

En la espectroscopía IR, la posición de las bandas se reporta en longitudes de onda,  $\lambda$  ( $\mu\text{m}$ ) o en números de ondas,  $\nu=1/\lambda$  ( $\text{cm}^{-1}$ ), esta técnica abarca la región de longitudes de onda de 1 a 25  $\mu\text{m}$ .

En general, cada grupo molecular presenta varias zonas de absorción, pues puede vibrar en varias formas. Los tipos de vibración se presentan en la Figura 4.15

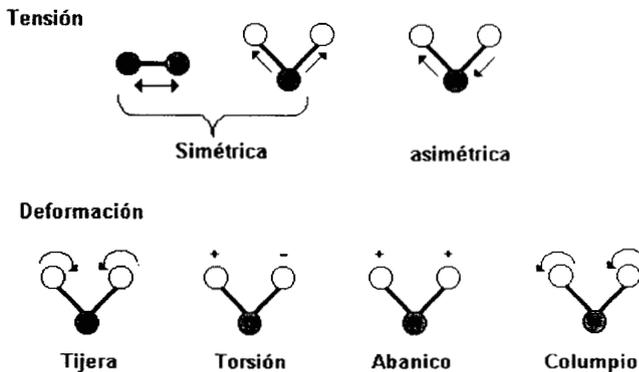


Figura 4.15. Tipos de vibraciones ("+" y "-" significan movimiento hacia arriba o hacia abajo del plano del papel, respectivamente, Lora de la Fuente, 1998).

Hay dos tipos de vibración molecular: vibraciones de tensión y de deformación. Una *vibración de tensión* es un movimiento rítmico a lo largo del eje del enlace, de tal forma que la distancia interatómica aumenta y decrece, estas vibraciones pueden ser simétricas o asimétricas. Una *vibración de deformación* consiste en un cambio en el ángulo de enlace con un átomo común, es decir vibran perpendicularmente al enlace. Las vibraciones de deformación se subdividen en tijera, torsión, abanico y columpio.

La fuente de radiación en los espectroscopios de infrarrojo es, por lo general, carburo de silicón que al ser calentado eléctricamente emite radiación infrarroja. Para dispersar la radiación son usadas rejillas y prismas de sales inorgánicas. Los materiales más comunes de un prisma son: NaCl, KBr, y CsBr. Este método puede ser aplicado en muestras sólidas, líquidas y gaseosas. Una de las dificultades para el análisis de ciertas muestras es que éstas tienen que ser suficientemente delgadas.

En la Figura 4.16 se muestran algunos de los tipos de enlaces o grupos químicos más importantes de los polímeros que pueden ser detectados en el espectro de un polímero.

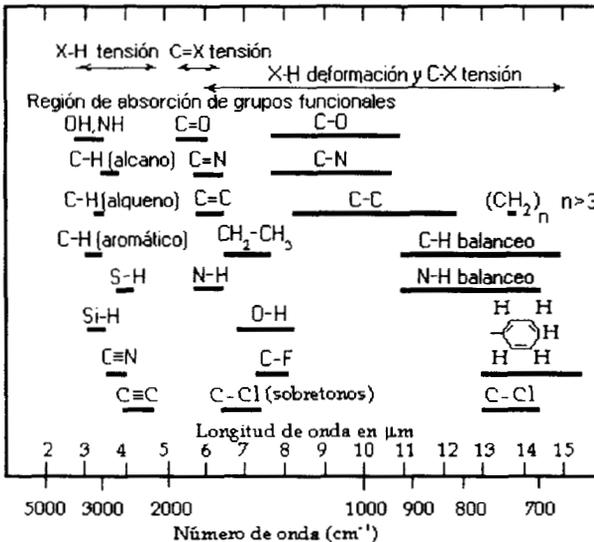


Figura 4.16. Bandas de absorción de infrarrojo de interés en polímeros (Billmeyer,1962).

El polietileno es un polímero parcialmente cristalino que presenta dos bandas vecinas ( $730$  y  $769\text{ cm}^{-1}$ ) atribuidas a vibraciones del grupo  $\text{CH}_2$ . El contenido de grupos metilo ( $\text{CH}_3$ ) es una indicación del grado de ramificaciones del polietileno. La mayoría de las determinaciones de ramificaciones por esta técnica, dependen de la intensidad de la banda de  $1375\text{ cm}^{-1}$ . La determinación cuantitativa de las insaturaciones en el polietileno se realiza a través de las bandas de  $900\text{ cm}^{-1}$  (vibración de balanceo),  $909\text{ cm}^{-1}$  (flexión fuera del plano),  $971\text{ cm}^{-1}$  (flexión) y  $1653\text{ cm}^{-1}$  (tensión) (Pages y col., 1996). En muestras fuertemente oxidadas se observa una banda ancha, que se incrementa conforme la oxidación aumenta, la banda de carbonilos ( $1720\text{ cm}^{-1}$ ) corresponde a varios tipos de grupos  $\text{C}=\text{O}$  (cetonas, aldehídos, ácidos o ésteres); el aumento en esta banda es generalmente acompañada por un incremento en las bandas de  $3000\text{-}3300\text{ cm}^{-1}$  correspondientes a los grupo hidroxilo ( $\text{OH}$ ) (Groenewe y col., 1965).

#### **4.5.4. Microscopía electrónica de barrido (SEM)**

El microscopio electrónico de barrido, permite realizar observaciones con aumentos desde 4 hasta  $500\,000\text{ X}$ , con una alta resolución. El poder resolutivo es la distancia mínima a la cual se pueden distinguir de manera nítida puntos o estructuras muy cercanas entre sí de manera independiente, es decir, sin superposición.

En el microscopio electrónico se utiliza un haz de electrones (que es enfocado mediante campos eléctricos y magnéticos) en lugar de la luz usada en un microscopio óptico. En este último, la longitud de onda (aproximadamente  $600\text{ nm}$ ) es mayor que el tamaño de los detalles de las partículas a observar, en cambio, como la longitud de onda del haz electrónico es inferior a  $0.1\text{ nm}$  se pueden observar más detalles en un material (Martínez de las Marías, 1972).

La característica esencial de la SEM es que la imagen es formada punto por punto por el barrido del material a través de un haz de electrones, la señal es detectada como una imagen de televisión. Las imágenes que se obtienen en la microscopía de barrido tienen una gran profundidad de campo y abarcan áreas amplias, en este tipo de dispositivo se pueden hacer determinaciones de la composición de las muestras por medio de los rayos X generados. El compartimento de muestras es grande y se pueden emplear muestras de gran espesor.

La preparación de las muestras es relativamente sencilla. Las muestras no conductoras, como lo son la mayoría de los polímeros, requieren recubrimientos de un material conductor o el uso de voltajes bajos. Sin embargo, esta técnica tiene la desventaja de la observación sólo de la superficie del material.

El microscopio de barrido presenta un embobinado deflector cuya función es "barrer" la muestra con el haz de electrones, esto da por resultado la generación de electrones secundarios, retrodispersados y rayos X que son detectados mediante detectores específicos.

En estos dispositivos existen tres señales de importancia: de los electrones retrodispersados, electrones secundarios y de rayos X.

- Los *electrones retrodispersados* son principalmente haces de electrones que han sido dispersados por el núcleo de la muestra y escapan de su superficie. Estos tienen alta energía y pueden penetrar la muestra en profundidades de 1  $\mu\text{m}$  o más. Sin embargo, su resolución es baja, pero combinado con los microanálisis de rayos X es un método poderoso para la determinación de la composición química local de un material. Después de dejar la muestra estos electrones viajan en línea recta, el detector a un lado dará entonces el contraste topográfico.
- Los *electrones secundarios* son emitidos por la muestra, pero con baja energía de tal manera que éstos solo tocan la superficie del material o lo llegan a penetrar algunos nanómetros. Estos electrones son los responsables de la alta resolución topográfica de las imágenes. Los electrones secundarios son los más utilizados en la microscopía electrónica de barrido debido a la facilidad en la formación de la imagen por la eficiencia en la formación y colección de la señal.
- *Rayos X*: cuando un haz de electrones de alta energía invade un objeto, son producidos los fotones de rayos x. Los rayos X son producidos por casi toda la interacción con el volumen de la muestra.

Las condiciones que deben ser ocupadas para minimizar el daño a la muestra son un bajo voltaje y periodos cortos de exposición, pero estas condiciones disminuyen también la resolución (Sawyer y Grubb, 1987).

## **CAPÍTULO V**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

En este capítulo se describen los materiales, metodologías y técnicas utilizados para la evaluación de la biodegradación del LDPE con pretratamiento fisicoquímico (térmico o envejecimiento acelerado) en medio líquido con una mezcla de hongos filamentosos.

Este capítulo se divide en 4 partes: tratamiento fisicoquímico del LDPE, método microbiológico, tratamiento biológico del LDPE y técnicas analíticas.

#### **5.1. PRETRATAMIENTO DEL LDPE**

El LDPE utilizado en este trabajo fue adquirido de PEMEX con las siguientes especificaciones:

Pellets PX 17070 L. Densidad de 0.917 g/cc. Índice de fluidez 7.0 g/10 min. Este tipo de polietileno es adecuado en la elaboración de empaques para alimentos.

##### **5.1.1 Tratamiento térmico**

El tratamiento térmico se realizó en un horno Yamato AD-31 en una atmósfera con oxígeno (aire). Se utilizaron cinco temperaturas: 90°C, 105°C, 120°C, 135°C y 150°C durante 5 días.

Con la finalidad de incrementar la parte amorfa del LDPE, después del tratamiento térmico, las muestras fueron sacadas del horno y enfriadas súbitamente en nitrógeno líquido (-180 °C) durante 5 minutos para producir un acomodamiento diferente de las moléculas; disminuyendo la cristalización e incrementando la proporción de la parte amorfa.

### 5.1.2 Tratamiento con envejecimiento acelerado

El LDPE fue tratado en un intemperómetro Weathering Tester, en la UNAM. El intemperómetro está compuesto de ocho lámparas, en forma de tubos fluorescentes, similares a los tubos de luz eléctrica blanca fluorescente estándar. Las lámparas emiten radiación UV con gran uniformidad sobre las muestras. El intemperizador también cuenta con una cámara de humedad, la cual es suministrada con agua, que posteriormente se calienta hasta proporcionar la temperatura deseada.

Las condiciones utilizadas para el tratamiento del LDPE fueron: 29 días de tratamiento a una temperatura de 70°C, radiación UV con longitud de onda de 310 nm e intensidad de 0.82 W/m<sup>2</sup>.

### 5.1.3. Esterilización del LDPE

Finalizado el tratamiento del LDPE, las muestras se molieron en un molino Brabender Ohu Doisburg, y se tamizaron hasta un tamaño de partícula de 0.54 mm.

Para mantener condiciones asépticas, las muestras de LDPE molidas y tamizadas se esterilizaron bajo una lámpara de UV a una distancia de 25 cm e intensidad de 460 μW/cm<sup>2</sup> durante 14 h.

## 5.2 MÉTODO MICROBIOLÓGICO

### 5.2.1. Reactivos

Los reactivos utilizados en la parte experimental fueron los siguientes:

Dextrosa (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub> · H<sub>2</sub>O), nitrato de amonio (NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>), fosfato monobásico de potasio (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), sulfato de magnesio (MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O), sulfato de manganeso (MnSO<sub>4</sub> · 4H<sub>2</sub>O), sulfato de zinc (ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O), sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O), cloruro de cobalto (CoCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O), etanol (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O). BAKER ANALYZED

Agar Papa y Dextrosa (PDA). BIOXON

Tetróxido de Osmio (OsO<sub>4</sub>), glutaraldehído (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>). ELECTRONIC MICROSCOPY SCIENCE

### 5.2.2. Microorganismos

Para el tratamiento biológico del LDPE se utilizó una mezcla de 4 cepas de hongos filamentosos (Tabla 5.1).

**Tabla 5.1. Cepas de hongos filamentosos degradadores de celulosa utilizados durante el estudio de degradación de polietileno de baja densidad**

Microorganismo	Cepa*
<i>Aspergillus Níger</i>	ATCC 9642
<i>Gliocadium virens</i>	ATCC 9645
<i>Penicillium pinophilum</i>	ATCC 11797
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	H-298

\* Las primeras tres cepas fueron donadas por el Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Valencia, España (Colección Española de Cultivos Tipos). La cepa de *P. chrysosporium* se adquirió en el CINVESTAV, México.

### 5.2.3 Producción del inóculo

El inóculo fue sembrado en forma de estría en tubos de ensayo inclinados con PDA con la cepa correspondiente. Estos tubos se esterilizaron previamente en una autoclave All-American Modelo No. 930, a 1.03 Mpa (15 lb/in<sup>2</sup>) a 120°C. Los tubos inoculados con cada cepa se incubaron durante 8 días a 35°C. De estos tubos se obtuvo una suspensión de esporas utilizando solución de Tween 80 al 0.1% (v/v).

La propagación de la cepa se realizó utilizando 1 ml de la suspensión de esporas anterior e inoculando en matraces de 125 ml con 30 ml de PDA que se incubaron durante 8 días a 35°C.

### 5.2.4. Recuperación y conteo de esporas

Las esporas se recuperaron de los matraces inoculados adicionando 30 ml de solución de Tween 80 al 0.1% (v/v), agitando delicadamente (con un agitador magnético) en condiciones asépticas.

227623

La concentración de esporas se calculó por un conteo en cámara de Neubauer. Se utilizó una dilución de la suspensión de esporas recuperada de los matraces. El conteo para cada cepa se realizó colocando una gota sobre la cámara de Neubauer, el conteo del número de esporas se llevó a cabo en 10 cuadros al azar con la ayuda de un microscopio American Optical. Mod. 101310

La concentración de esporas para cada microorganismo se calculó con la siguiente fórmula:

$$C = \frac{e \cdot n \cdot d}{v}$$

Donde:

C= Concentración de esporas [esp/ml]

e= Número de esporas promedio [esp]

v= Volumen de la cámara de Neubauer (  $1 \times 10^{-4}$  ml)

n= Número de cuadros de la cámara de Neubauer (25).

d= dilución utilizada en el conteo de esporas.

### 5.2.5 Medio de cultivo

El medio de cultivo se diseñó utilizando una concentración limitante de dextrosa (2 g/l) con el objetivo de tener una producción de biomasa inicial que actuara sobre el LDPE. El pH del medio se ajustó a 5 antes de su esterilización (120°C y 1.03 Mpa, 15 min) . La composición del medio de cultivo se presenta en la Tabla 5.2.

Tabla 5.2. Composición del medio líquido

COMPUESTO	CONCENTRACION (g/L)
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1.510
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.345
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	1.482
MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	0.021
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.007
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.006
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.006

## 5.3 TRATAMIENTO BIOLÓGICO

### 5.3.1. Cultivo en medio líquido

El tratamiento biológico consistió en la incubación de las muestras de LDPE con 25 ml de medio de cultivo inoculado con una mezcla de esporas de los 4 hongos mencionados en la sección 4.2.2. Se agregó una concentración de  $1 \times 10^6$  esporas/ml de cada cepa.

Los mililitros utilizados de cada suspensión de esporas, para la concentración final, se calcularon con la siguiente fórmula:

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

Donde:

$C_1$ : es la concentración promedio de esporas, calculada en la cámara de Nuebauer (esp/ml)

$V_1$ : es el volumen de la suspensión de esporas requerida de cada cepa, para 25 ml de medio de cultivo (ml)

$C_2$ : es la concentración final de esporas de cada cepa en el medio líquido ( $1 \times 10^6$  esp/ml)

$V_2$ : es el volumen de medio líquido ocupado en el dispositivo experimental (25 ml)

### 5.3.2. Dispositivo experimental

El dispositivo experimental utilizado en este trabajo, fueron botellas serológicas de vidrio con una capacidad de 125 ml (Figura 5.1).

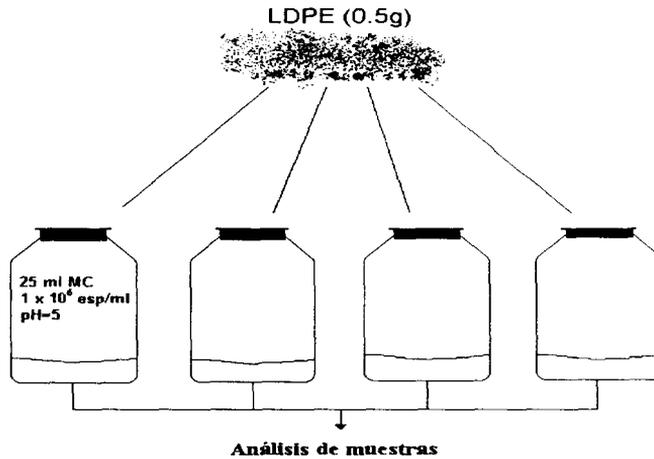


Figura 5.1. Dispositivo experimental utilizado para el tratamiento biológico del LDPE.

El tratamiento biológico se realizó por cuadruplicado para cada tratamiento fisicoquímico y para el LDPE sin tratar. El contenido de cada botella serológica fue: 0.5 g de LDPE,  $4 \times 10^6$  esporas/ml totales ( $1 \times 10^6$  esporas/ml de cada cepa) y 25 ml de medio de cultivo.

### 5.3.3. Condiciones de cultivo

- La duración del experimento fue de 9 meses, durante los cuales se hicieron 3 muestreos físicos del LDPE (cada 3 meses) para análisis fisicoquímicos.
- Con el objetivo de cuantificar la producción de  $\text{CO}_2$ , a partir del LDPE, las botellas se mantuvieron cerradas herméticamente una vez consumida la glucosa (a los 8 días de incubación). La producción de  $\text{CO}_2$  se cuantificó mensualmente.
- Los cultivos fueron incubados a una temperatura de  $29^\circ\text{C}$  y se airearon periódicamente (mensualmente) para mantener condiciones aeróbicas

#### 5.4. TÉCNICAS ANALÍTICAS

Las diferentes técnicas analíticas y las variables medidas para la evaluación de los cambios por el efecto fisicoquímico y biológico del LDPE son presentadas en la Tabla 5.3.

**Tabla 5.3. Técnicas analíticas utilizadas para la evaluación del tratamiento fisicoquímico y biológico del LDPE.**

Técnica	Tipo de cambio	Variables evaluadas
Calorimetría de barrido diferencial (DSC)	Cambios térmicos	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Temp. de inicio de fusión.</li> <li>• Cristalinidad</li> <li>• Punto de fusión</li> </ul>
Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)	Cambios químicos	<p>Áreas relativas de los picos de interés:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 11715/1460 (Índice carbonilo)</li> <li>• 1653/1460 (Índice dobles enlaces)</li> <li>• 1375/1460 (Índice metilo)</li> <li>• 905/1460 (Índice vinilo)</li> </ul>
Difracción de Rayos X a ángulo grande (WAXS)	Cambios estructurales	Tamaño promedio de cristal .
Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)	Interacción hongo-superficie	Crecimiento superficial
Cromatografía de gases (CG)	Actividad microbiana	Producción de CO <sub>2</sub>

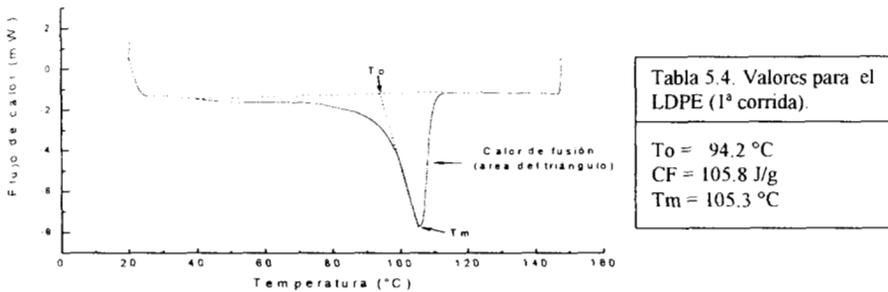
Para las tres primeras técnicas citadas en la Tabla 5.2 (DSC, FTIR, WAXS), se requirió hacer previamente una separación de biomasa del LDPE. La biomasa fue separada del LDPE agitando vigorosamente, con el uso de un agitador Ultra Turrax (Tekmar). Con la finalidad de precipitar la biomasa separada por la agitación, las muestras de LDPE fueron centrifugadas con agua en una centrifuga Hettich Universal a una velocidad de 7000 rpm por 15 minutos. El polietileno en la parte superficial fue extraído y secado a temperatura ambiente para los análisis fisicoquímicos posteriores.

#### 5.4.1 Calorimetría de barrido diferencial (DSC)

Este análisis se realizó en un calorímetro de barrido diferencial (910S TA Instruments), utilizando una atmósfera inerte de nitrógeno, con un flujo de 50 cc/min. Las muestras de LDPE (aproximadamente 5 mg) se encapsularon en charolas de aluminio. La calibración del equipo se realizó con indio.

Se utilizó una rampa de calentamiento de 10°C/min en un intervalo de 20°C a 150°C, con una isoterma a esta última temperatura durante 3 minutos. La velocidad de enfriamiento no fue controlada por el equipo, pero se procuró mantener una velocidad de enfriamiento similar. Las muestras se corrieron por triplicado utilizando dos corridas de DSC. Este análisis se realizó cada tres meses durante el tratamiento biológico.

En la Figura 5.2 se muestra un termograma (DSC) típico del LDPE (1ª corrida) utilizado en este trabajo con las variables analizadas en todas las muestras. Los valores para el LDPE (1ª corrida) son presentados en la Tabla 5.4. La cristalinidad es calculada utilizando el calor de fusión (representado por el área del triángulo de la endoterma) que corresponde a la energía necesaria para fundir los cristales más grandes. El triángulo fue trazado a partir de la recta tangente desde el vértice del pico (que a su vez corresponde al punto de fusión,  $T_m$ ) hasta la intersección con la línea base que tiene como límites 2 temperaturas a las cuales el LDPE empieza a fundir (40°C) y cuando finaliza la fusión (113°C). El área de la endoterma con estos límites corresponde al calor de fusión total para el LDPE. La intersección de la recta tangente con la línea base se definió como la temperatura a la que empiezan a fundir los cristales más grandes ( $T_0$ ).



**Figura 5.2. Termograma del LDPE con las variables analizadas. Temperatura de inicio de fusión ( $T_0$ ), punto de fusión ( $T_m$ ) y calor de fusión (CF).**

Para calcular la cristalinidad ( $\Phi$ ), el calor de fusión (área del triángulo) se dividió entre el calor reportado en la literatura por Wunderlich (1973) para el LDPE 100% cristalino (293 J/g). En este trabajo también se evaluó el calor de fusión total para cada muestra.

#### 5.4.2. Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR).

Para este análisis se utilizó un espectroscopio IR con transformada de Fourier (Perkin Elmer System 2000 FT-IR) con microscopio integrado [Perkin Elmer]. La observación de cambios químicos se llevó a cabo utilizando 18 partículas de LDPE por cada muestra (3 muestras). Las partículas fueron aplanadas previamente y por separado, se colocaron sobre un cristal de ZnSe y se observaron en el microscopio. Las condiciones de operación fueron:

- Resolución:  $4 \text{ cm}^{-1}$
- Apodización Kaiser-Bessel: 1.19
- Ganancia: 1
- OPD Velocity: 0.2 cm/s
- Número de barridos: 12 (para cada partícula)
- Rango de análisis: 600 a 3500 nm (infrarrojo medio)

El análisis de las muestras se realizó cada tres meses durante el tratamiento biológico. Para el análisis estadístico de las muestras se utilizó el paquete estadístico SAS. Las muestras fueron clasificadas dentro de grupos Duncan en función de la diferencias significativas.

#### 5.4.3. Difracción de rayos X (WAXS).

Para esta técnica, el LDPE pulverizado, se colocó sobre un portaobjetos de vidrio. Las mediciones se realizaron utilizando un generador Phillips con blanco de cobre, con una corriente de 30 mA y un voltaje de 45 kV utilizando un barrido de  $0.25^\circ/10$  s.

Debido a que esta técnica utiliza una cantidad significativa de muestra, el análisis se realizó sólo al inicio y al final del tratamiento biológico.

En la Figura 5.3 se presenta un espectro del LDPE utilizando la técnica de difracción de rayos X a ángulo grande (WAXS), se muestran también las variables utilizadas para calcular el tamaño promedio de cristal ( $L_{110}$ ) usando la ecuación de Scherrer (Alexander, 1974).

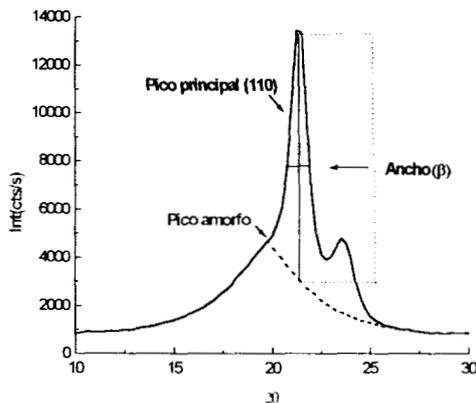


Figura 5.3. Espectro de Rayos X del LDPE con las variables utilizadas para calcular el tamaño promedio de cristal.

La ecuación de Scherrer es la siguiente:

$$L_{110} = \frac{K \lambda}{\beta \cos \theta}$$

Donde:  $L_{110}$  es el tamaño promedio de cristal (Å)

$K$  es una constante del orden de 1

$\lambda$  es la longitud de onda (cobre) 1.5418 Å

$\theta$  corresponde a la posición angular.

$\beta$  es el ancho a la mitad del pico.

La posición angular  $2\theta$  del pico principal (110) tiene un valor de aproximadamente  $21.5^\circ$ .  $\beta$  representa el ancho a la mitad de la altura del pico 110, sin considerar la parte amorfa la cual está representada por una curva simétrica al "pico" amorfo (en la posición angular  $2\theta$  igual a  $19.5^\circ$ ).

#### 5.4.4. Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Este análisis se realizó a los 6 y 9 meses de tratamiento biológico. Las muestras de LDPE tratadas biológicamente, fueron tratadas de la siguiente manera para su observación por microscopía electrónica de barrido:

**a) Obtención de la muestra:** Las muestras fueron extraídas de las botellas serológicas en condiciones asépticas y colocadas posteriormente en viales.

**b) Fijación:** Este procedimiento sirve para detener la actividad microbiológica. A las muestras del LDPE se les extrajo el medio de cultivo y se les adicionó de 2 a 3 ml de glutaraldehído al 6% en solución amortiguadora de fosfatos 0.02 M (pH 7.2). Las muestras se fijaron durante 24 horas en glutaraldehído a  $10^\circ\text{C}$ . Después de la fijación, las muestras se lavaron con la solución amortiguadora por lo menos 3 veces.

**c) Post-fijación:** Con el objetivo de lograr la fijación final del material biológico las muestras de LDPE con biomasa fúngica deben ser tratadas con osmio. El glutaraldehído se retiró de las muestras por medio de una pipeta Pasteur, y se reemplazó por una solución de osmio al 2% durante 30 minutos. Posteriormente las muestras se lavaron con solución amortiguadora hasta la eliminación total de osmio.

**d) Deshidratación:** El siguiente paso en el tratamiento de las muestras de LDPE, consistió en su deshidratación. Para este fin se utilizaron series de soluciones de etanol:agua (30-100%.V/V) Las muestras se deshidrataron sustituyendo el amortiguador por la solución de etanol, se utilizaron tres lavados de etanol a la misma concentración cada 5 o 10 minutos. Este proceso se repitió, hasta llegar a la solución de etanol al 100%.

La deshidratación total concluye con una desecación al punto crítico, utilizando un desecador de punto crítico Samdri mod 780B. Las muestras fueron colocadas en microcápsulas porosas embebidas en etanol al 100%. La desecación al punto crítico consiste en la sustitución del alcohol por CO<sub>2</sub> líquido, el cual es transformado después a gas utilizando una temperatura de 36.1 °C y una presión de 1070 lb/in<sup>2</sup> (7.37 Pa). El CO<sub>2</sub> gaseoso es eliminado lentamente y las muestras son retiradas para su recubrimiento. Después de la deshidratación las muestras fueron colocadas y fijadas en un portaobjetos de aluminio, con la ayuda de cinta de carbón.

**e) Recubrimiento:** El propósito de este procedimiento es el de colocar una capa de carbono y oro sobre las muestras para permitir la conducción de los electrones. El recubrimiento se realizó bajo una atmósfera de argón en vacío. El recubrimiento de las muestras con carbono, se realizó con un hilo de carbón colocado en una evaporadora Baltec mod. SCD 050. Después las muestras se recubrieron con 3 capas delgadas de oro cada 50 segundos.

Las muestras de LDPE así preparadas se observaron en un microscopio electrónico Zeiss DMS 940 A.

#### 5.4.5. Cromatografía de gases (CG).

La producción de bióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) se determinó cada mes extrayendo 50  $\mu\text{l}$  de la fase gaseosa de las botellas serológicas tapadas herméticamente. El  $\text{CO}_2$  se cuantificó utilizando un cromatógrafo de gases GOW-MAC serie 580-TCDGC con un detector de conductividad térmica, una columna CTR1 (Alltech) y las siguientes condiciones de operación:

- Gas acarreador                      Helio
- Flujo del gas acarreador          40 mL/min
- Temperatura de la columna      45 °C
- Temperatura del detector        45 °C
- Temperatura del inyector        45 °C
- Corriente del detector            150 mA

Para este análisis se utilizaron 3 mezclas gaseosas estándar con la finalidad de calibración:

- a) 5% de  $\text{CO}_2$  y 14.1% de  $\text{O}_2$
- b) 6% de  $\text{CO}_2$  y 18.0% de  $\text{O}_2$
- b) 10% de  $\text{CO}_2$  y 20.9% de  $\text{O}_2$

En cada cuantificación de  $\text{CO}_2$ , se recambió totalmente la atmósfera de cada botella, bajo una campana de flujo laminar, durante 4 horas.

227523

## CAPITULO VI

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se presentan los resultados de degradación y biodegradación del LDPE después del tratamiento fisicoquímico (térmico o por envejecimiento acelerado) y posteriormente tratado biológicamente (durante 9 meses). A continuación se presentan los resultados de las propiedades térmicas y químicas del LDPE en función del tratamiento fisicoquímico.

#### 6.1 EVALUACIÓN DEL TRATAMIENTO FISICOQUÍMICO

##### 6.1.1. Cambios en las propiedades térmicas

Albertsson y col. (1992), reportan que la formación de radicales libres en el LDPE con tratamiento térmico ocurre después de 5 días a 100°C. Con base en este reporte, se emplearon 5 temperaturas alrededor del punto de fusión del LDPE ( $105 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ): una por debajo ( $90^\circ\text{C}$ ), otra que corresponde al punto de fusión ( $105^\circ\text{C}$ ) y 3 por arriba del  $T_m$  ( $120$ ,  $135$  y  $150^\circ\text{C}$ ) durante 5 días.

En la Figura 6.1 se muestran los termogramas de DSC (primera corrida) para el LDPE sin tratar, y con TT por 5 días a  $90$ ,  $105$ ,  $120$ ,  $135$  y  $150^\circ\text{C}$ . Se pueden apreciar diferencias en los termogramas por efecto de la temperatura usada en el tratamiento térmico, las cuales se ven reflejadas por disminuciones del punto de fusión ( $T_m$ ) y cambios en la forma de la endoterma ya sea por disminuciones o ensanchamiento en el pico de flujo de calor. Estas observaciones dan evidencia de cambios en las propiedades térmicas del LDPE. La muestra con tratamiento térmico a  $105^\circ\text{C}$  es la que presenta un mayor cambio en la forma de la endoterma (disminución del calor de fusión) y un decremento en el punto de fusión con respecto al LDPE sin tratar.

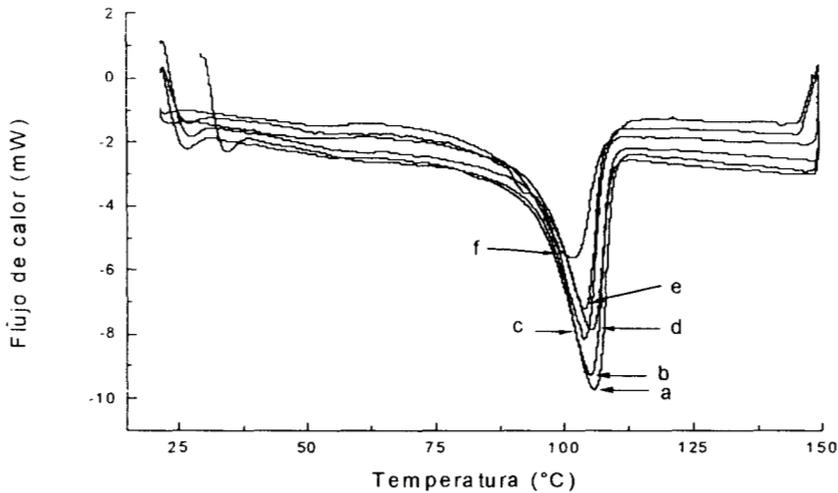


Figura 6.1. Termogramas de DSC en primera corrida. LDPE sin tratar (a), con tratamiento térmico (TT) a 90°C (b), 120°C (c), 135°C (d), 150°C (e) y 105 °C (f).

La primera corrida contiene la información de la historia térmica del material. La historia térmica consiste en la forma en que cristalizó el polímero y está dada por las condiciones de fabricación (caso del LDPE sin tratar) y/o por el tratamiento fisicoquímico (por las diferentes temperaturas utilizadas y por lo tanto a las diferentes velocidades para alcanzar la temperatura del  $N_2$  (liq.) durante el enfriamiento en el TT). Después de la primera corrida todas las muestras tienen la misma historia térmica debido a la utilización de una misma rampa de calentamiento (10 °C/min) y un enfriamiento bajo las mismas condiciones experimentales. De esta manera, la segunda corrida proporciona información acerca del reacomodo (cristalización) de las cadenas del polímero después de ser calentadas hasta una misma temperatura y enfriadas bajo las mismas condiciones.

En la Figura 6.2 (Tabla A1 del Anexo A) se presentan los datos de la temperatura de inicio de fusión ( $T_0$ ), en la primera y segunda corridas, del LDPE sin tratar y las muestras con TT y ENV. Los resultados obtenidos son comparados con la muestra sin tratamiento fisicoquímico (LDPE).

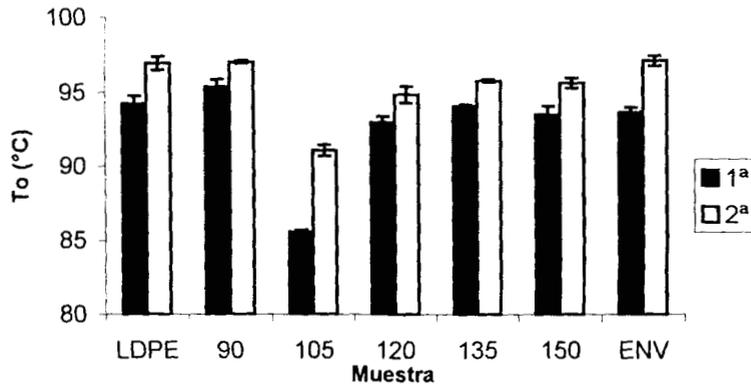


Figura 6.2. Temperatura de inicio de fusión ( $T_0$ ), en primera (barras oscuras) y segunda corridas (barras claras), del LDPE sin tratar, tratado térmicamente (90, 105, 120, 135 y 150 °C) y con envejecimiento acelerado (ENV).

En la Figura 6.2 se observa la diferencia entre ambas corridas. La primera corrida (barras oscuras) tiene valores numéricos menores a los de la segunda corrida (barras claras). Las muestras al ser calentadas hasta una misma temperatura y enfriadas con las mismas condiciones experimentales (primera corrida) adquieren la misma historia térmica. Durante la segunda corrida, las muestras con la misma historia térmica presentan un reacomodo molecular en función del tamaño de las cadenas formadas durante el tratamiento fisicoquímico. La velocidad de enfriamiento empleada después de la primera corrida también influye en cómo cristalizarán las cadenas de diferentes tamaños. Esta velocidad de enfriamiento es menor que cuando se usó nitrógeno líquido (historia térmica en los tratamientos térmicos).

El tiempo de cristalización después de la primera corrida es mayor que el tiempo durante el TT, por lo tanto, las moléculas sufren un reacomodo diferente, dando por resultado un incremento en los valores numéricos de los datos en la segunda corrida en comparación con los de la primera corrida. Es importante resaltar que las muestras en la segunda corrida tienen la misma historia térmica y que los cambios observados en ésta indican una modificación en su morfología como resultado del tratamiento fisicoquímico.

En la Figura 6.2 se observa que las tendencias entre la primera corrida y segunda corrida son similares. Las muestras con TT a 105 y 120 °C (primera corrida) presentaron una disminución en la temperatura de inicio de fusión de los cristales más grandes de 8.7 °C y de 1.2°C respectivamente comparada con el LDPE sin tratar. En la segunda corrida todas las muestras con TT (excepto a 90°C) presentaron una disminución con respecto al LDPE. La muestra ENV no presentó cambios significativos en la temperatura de inicio de fusión con respecto al LDPE sin tratar en ninguna de las 2 corridas.

En conclusión, las muestras tratadas a temperaturas mayores al punto de fusión del LDPE presentaron disminuciones en la temperatura de inicio de fusión. Estas disminuciones podrían deberse a la presencia de cristales de menor tamaño o más imperfectos (los que originalmente tenía el LDPE sin tratar), los cuales requieren menor energía para fundir y se refleja en una disminución en la temperatura de fusión.

En la Figura 6.3 (Tabla A2 del Anexo A) se presentan los resultados del punto de fusión ( $T_m$ ) del LDPE sin tratar, con tratamiento térmico y con envejecimiento acelerado (primera y segunda corrida).

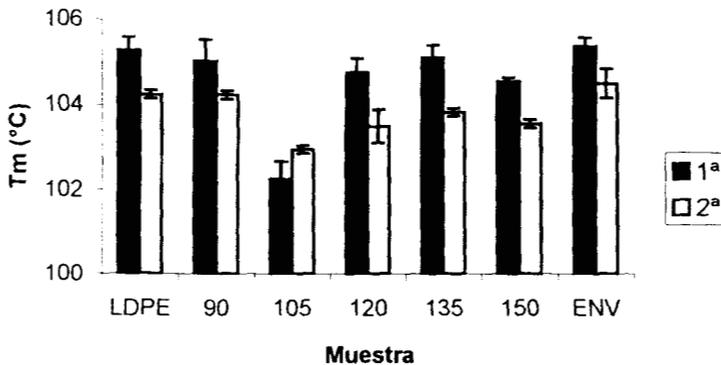


Figura 6.3. Punto de fusión ( $T_m$ ), en primera (barras oscuras) y segunda (barras claras) corridas, del LDPE sin tratar, tratado térmicamente (90,105,120,135 y 150°C) y por envejecimiento acelerado (ENV).

En el punto de fusión ( $T_m$ ), los valores numéricos de la segunda corrida son menores a los de la primera (por el contrario de la  $T_o$ ).  $T_m$  representa la temperatura a la cual funden los cristales más grandes. Esta temperatura puede dar idea del reacomodo de las cadenas en el LDPE, que como se mencionó antes, depende del tamaño de las cadenas. Debido a que la cristalización después de la primera corrida se produce bajo las mismas condiciones, el factor importante es el tamaño de las cadenas; mientras más pequeñas sean las cadenas, el tamaño o perfección de los cristales será menor y el punto de fusión se corre a temperaturas menores.

En la Figura 6.3 sólo se observan cambios con respecto al LDPE (primera corrida) en las muestras con TT a 105 y 150°C (3.1 y 0.8°C); en la segunda corrida se observan disminuciones en estas mismas muestras y además en muestras con TT a 120 (0.7°C). La muestra con TT a 90°C no presentó cambios significativos en ninguna de las 2 corridas debido a que a esta temperatura se provoca un efecto de recocido (reacomodo), y a que por debajo de la temperatura de fusión la lamela cristalina es impermeable a la oxidación. La muestra tratada a 105°C es la que tiene cristales más pequeños o más imperfectos como consecuencia del tratamiento térmico.

Un factor que puede ejercer un efecto en los valores de  $T_o$  y  $T_m$  en la primera corrida es la diferencia en la rapidez para alcanzar el equilibrio en el  $N_2$  (liq) después del tratamiento térmico. La rapidez de enfriamiento está en función de la temperatura usada en el tratamiento; con una rapidez de enfriamiento lenta se incrementa la probabilidad de una mejor cristalización.

En este trabajo se utilizaron incrementos de 15°C entre cada tratamiento térmico, por lo tanto se partió de diferentes temperaturas y ésto dió lugar a que las velocidades de enfriamiento fueran diferentes para cada muestra; por ejemplo entre la muestra con TT a 150° C y con TT a 105°C existen 45°C de diferencia, por consiguiente la velocidad de enfriamiento en  $N_2$  (liq) de cada muestra fue diferente. Con el tratamiento utilizado, la probabilidad de que se formen cristales más imperfectos (mayor parte amorfa) está en función de la temperatura usada para el tratamiento, esta probabilidad es mayor si la velocidad de enfriamiento es más alta.

El corrimiento de  $T_o$  y  $T_m$  hacia temperaturas menores, en algunas muestras con tratamiento térmico, demuestra cambios en las propiedades térmicas originales en el LDPE debidos a la presencia de cristales más pequeños o imperfectos.

Con el objeto de evaluar el efecto del tratamiento fisicoquímico en el LDPE, además de la evaluación de  $T_o$  y  $T_m$ , se analizaron el calor de fusión total y la cristalinidad ( $\Phi$ ), ésta última calculada con el criterio del triángulo (Figura 5.2, Sección 5.4.1).

Con la finalidad de ilustrar las diferencias entre ambas corridas, en la Figura 6.4 se presentan las dos corridas de una misma muestra de LDPE.

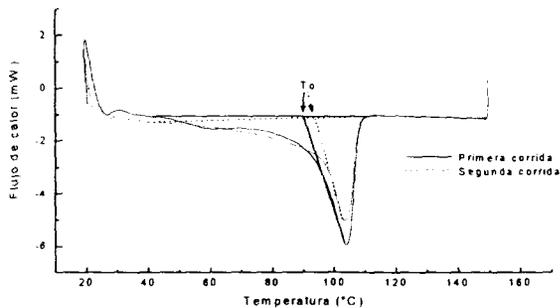


Figura 6.4 Termogramas del LDPE con primera y segunda corrida de DSC.

En la Figura 6.4 se pueden observar diferencias en la forma de la endoterma en la segunda corrida (línea punteada) por la disminución en el flujo de calor y en el área de la endoterma en comparación con la primera corrida (línea continua). En los termogramas se observa también el corrimiento de la  $T_o$  hacia temperaturas mayores en la segunda corrida.

El calor de fusión total (CF) del LDPE, con TT y con ENV, en primera y segunda corridas, se presenta en la Figura 6.5 (Tabla A3 del Anexo A).

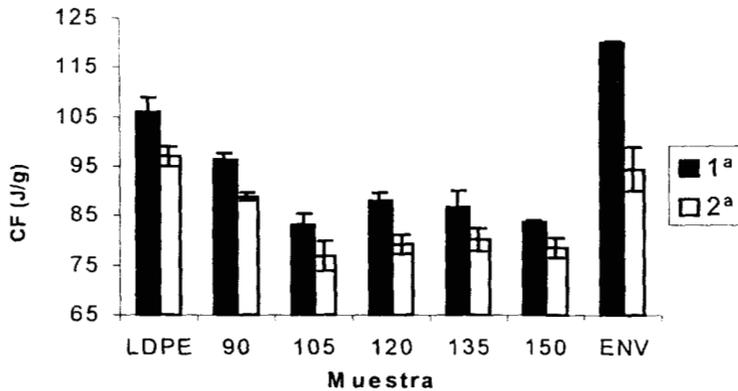


Figura 6.5. Calor de fusión (CF), en primera (barras oscuras) y segunda (barras claras) corridas, del LDPE sin tratar, tratado térmicamente (90,105,120,135 y 150°C) y por envejecimiento acelerado (ENV).

En la Figura 6.5 se observa que los valores del calor de fusión en la primera corrida son mayores a los de la segunda corrida debido a que el área de la endoterma en la segunda corrida disminuye, en parte, como resultado de la posible eliminación de aditivos o compuestos formados durante los tratamientos fisicoquímicos y de agua que pudo ser absorbida en la parte oxidada del LDPE, dando lugar a una endoterma con un pico de menor tamaño. La disminución también puede deberse a la formación de cristales de tamaño menor. Las tendencias entre ambas corridas son similares.

Se observó una disminución en el calor de fusión en todas las muestras con TT con respecto al LDPE, en primera corrida. Las muestras con TT a 105 y 150 °C presentaron disminuciones del 21.3 y 20.6%. En la primera corrida, la muestra ENV presentó un incremento en el calor de fusión del 13.4%. En la segunda corrida (barras claras) todas las muestras con tratamiento térmico presentaron una disminución en el calor de fusión de hasta 20.3% (muestra con TT a 105°C) en comparación con el LDPE.

Estos resultados muestran que el tratamiento térmico favorece la formación de cristales más pequeños o imperfectos los cuales necesitan menor energía para fundir. Después de la primera corrida, las moléculas se ordenan con una velocidad de enfriamiento y bajo las mismas condiciones. La disminución en el CF en la segunda corrida indica la existencia de cristales más pequeños o imperfectos, comparados con el LDPE sin tratar, debido a la formación de cadenas más cortas.

Los resultados en la muestra ENV muestran la posibilidad de la existencia de un grado de entrecruzamiento por efecto del tratamiento UV (incluido en el envejecimiento acelerado) que se refleja por el requerimiento de mayor energía para fundir el material. Albertsson y col. (1992), reportan un incremento en la cristalinidad del LDPE con un tratamiento UV debido a la ruptura limitada de las moléculas entre los bloques cristalinos.

La disminución en el calor de fusión (segunda corrida) en las muestras con tratamiento fisicoquímico podría indicar un incremento en la parte amorfa o en la presencia de cristales más pequeños o imperfectos provocando cambios en la relación entre material amorfo y cristalino.

Es importante enfatizar que las primeras contribuciones en la endoterma en la primera corrida (40 a 80°C, Figura 6.4) pueden ser debidas a impurezas (como aditivos o compuestos formados durante la oxidación como resultado de los diferentes tratamientos) y a la existencia de cristales más pequeños e imperfectos. El criterio del triángulo se usó con el fin de eliminar posibles errores que pueden cometerse si se incluyeran estas impurezas, y para homogeneizar el análisis para todas las muestras; la cristalinidad ( $\Phi$ ) calculada bajo este criterio corresponde sólo a la contribución de los cristales más grandes o perfectos.

En Figura 6.6 (Tabla A4 del Anexo A), se presentan los resultados de la cristalinidad ( $\Phi$ ), en primera y segunda corridas, del LDPE sin tratar, con TT y con ENV.

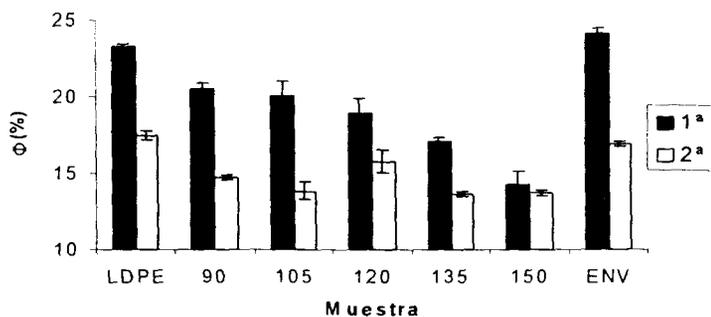


Figura 6.6. Cristalinidad ( $\Phi$ , calculada con el criterio del triángulo) en primera (barras oscuras) y segunda (barras claras) corridas, del LDPE sin tratar, tratado térmicamente (90,105,120,135 y 150°C) y con envejecimiento acelerado (ENV).

En la Figura 6.6 se observa un decremento gradual en  $\Phi$  en la primera corrida (barras oscuras) en todas las muestras con TT, con respecto al LDPE, en función de la temperatura usada en el tratamiento. La muestra con TT a 150°C presentó una disminución del 38.6% (9 unidades). La muestra ENV presentó un incremento del 3.9% (1 unidad) en  $\Phi$  comparada con el LDPE sin tratar. Este resultado puede deberse a la combinación de efectos como: reacciones de entrecruzamiento de cadenas y a que durante la ruptura de las cadenas éstas pudieran realinearse con los cristales existentes debido a que la temperatura utilizada para este tratamiento (70°C) estuvo por debajo del punto de fusión del LDPE.

En la segunda corrida se observó también una disminución de  $\Phi$  en todas las muestras con TT con respecto al LDPE. La muestra ENV no presentó cambios significativos. El hecho, de que esta muestra no presentara cambios en la cristalinidad, calculada por el criterio del triángulo, no descarta la existencia de cambios en su morfología, ya que esta técnica utilizada no es muy sensible para la evaluación de dichos cambios, más adelante se mostrarán los resultados sobre la estructura cristalina de la muestra con envejecimiento acelerado evaluada por una técnica más sensible (WAXS).

Nuestros resultados coinciden parcialmente con los reportados en la literatura. Weiland y col. (1994) y Albertsson y col. (1995), reportan un incremento en la cristalinidad después de un TT a temperaturas menores al punto de fusión del LDPE, a causa de un rearrreglo molecular (recocido). Las condiciones utilizadas en este trabajo para el tratamiento térmico (temperaturas por arriba del punto de fusión y un enfriamiento rápido) provocaron la oxidación y la formación de cadenas cortas que cristalizaron de manera diferente. Al hacerlo, algunos grupos oxidados pudieron haber quedado introducidos en la estructura cristalina dando por resultado entonces, la formación de cristales más pequeños o imperfectos.

El incremento de  $\Phi$  en la muestra ENV concuerda con los resultados de Erlandsson y col. (1997), que reportan un incremento del 3% (1 unidad) en  $\Phi$  después de la irradiación del LDPE con UV. El tratamiento ENV simula condiciones de intemperismo con una combinación de variables (radiación UV, humedad y temperatura). Los cambios en las propiedades térmicas del LDPE son diferentes en las muestras con TT y ENV, esto indica que los mecanismos de degradación para los 2 tratamientos son distintos. Como se mencionó antes, la muestra ENV fue sometida a condiciones de temperatura (70°C) y radiación UV (310 nm); muestras con tratamiento a temperaturas menores de su punto de fusión sufren sólo un reacomodo de cadenas, esto implica que el nivel de degradación en el LDPE con envejecimiento acelerado depende en su mayoría de la radiación UV.

La radiación UV da por resultado la formación de hidroperóxidos, que a diferencia del TT, son muy sensibles a la radiación UV, conduciendo a una rápida descomposición de radicales libres. La probabilidad de que éstos reaccionen entre sí se incrementa, lo que da por resultado la formación de cadenas más largas. Erlandsson y col. (1997), proponen que las reacciones de crecimiento de cadena predominan en las primeras etapas del tratamiento UV antes de que ocurra la degradación del material en cadenas más pequeñas.

En conclusión, los cambios mostrados en las Figuras anteriores indican la existencia de cambios en la morfología del LDPE debidos al tratamiento fisicoquímico. Las disminuciones en la  $T_o$ ,  $T_m$ , calor de fusión y  $\Phi$  en las muestras con TT dan evidencia de la presencia de cristales más pequeños o imperfectos que requieren menor energía y temperatura para fundir.

### 6.1.2. Cambios morfológicos

En nuestro trabajo, el tratamiento térmico (TT) provocó rompimiento y oxidación en el LDPE, el enfriamiento súbito en  $N_2$  (liq), da por resultado un reacomodo diferente de las moléculas, de manera que, al cristalizar el LDPE, los cristales son más imperfectos o de menor tamaño a los que originalmente tenía. Albertsson y col. (1995), reportan un incremento en el tamaño promedio de cristal después de un tratamiento térmico a 100°C por 6 días, explicado por un reacomodo de las moléculas del LDPE.

En nuestro caso, se observó una disminución en el tamaño promedio de cristal ( $L_{110}$ ) en las muestras con TT 105, 150 y ENV, con respecto al tamaño promedio del LDPE sin tratar: 6.2%, 8.4% y 11.7% respectivamente (Tabla 6.2, Sección 6.2.2). Estas disminuciones implican un aumento en el número de cristales más pequeños en el LDPE debido al efecto de los TFQ (TT o ENV).

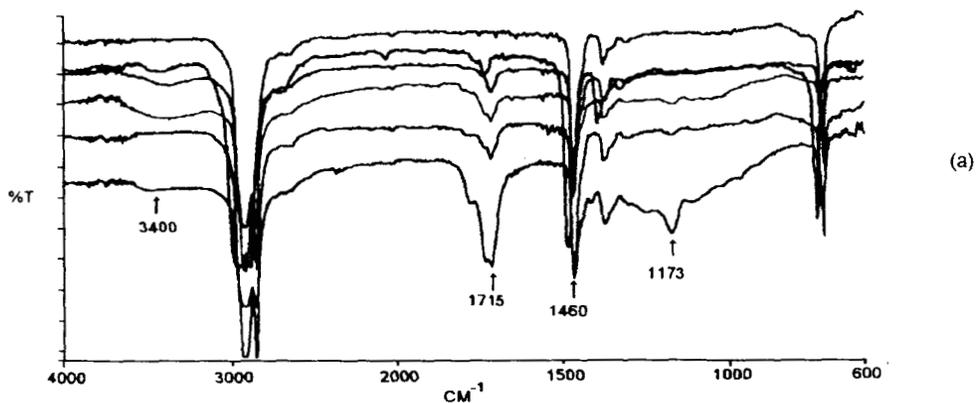
Los resultados obtenidos en este trabajo indican que el enfriamiento súbito evitó que se presentara el recocido del material reportado por Albertsson y col.(1995).

La disminución en el tamaño promedio de cristal ( $L_{110}$ ) en las muestras con TT refuerza los resultados obtenidos en DSC, ya que las muestras con TT a 105 y 150°C presentaron una disminución en el calor de fusión, punto de fusión y en la cristalinidad, por la presencia de cristales más pequeños o imperfectos los cuales requieren menor energía para fundir y una menor temperatura de fusión.

La disminución en el tamaño promedio de cristal en la muestra con envejecimiento acelerado indica una modificación en la morfología del LDPE por efecto del tratamiento, este cambio fue observado por la técnica de WAXS que permite cuantificar cambios en la fase cristalina del polímero. Lee y col. (1991), reportan una disminución del peso molecular en el LDPE tratado con radiación UV (365 nm).

### 6.1.3. Cambios Químicos.

Tabb y Koenig (1975), fueron los primeros autores en usar la técnica de FTIR para evaluar la degradación del LDPE bajo condiciones ambientales. Musto y col. (1993), utilizaron la técnica de FTIR para cuantificar el efecto del envejecimiento acelerado (en laboratorio) en diferentes polímeros. Los mecanismos de termo- y foto-oxidación están bien establecidos, en ambos tratamientos se han reportado que los principales productos son grupos carbonilo, los cuales son observados por FTIR en la región de  $1710\text{-}1780\text{ cm}^{-1}$ . En la Figura 6.7 (a y b) se presentan los espectros FTIR de las muestras de LDPE con tratamiento térmico (TT a 90, 105, 120, 135 y 150°C) y con envejecimiento acelerado, también se muestran las bandas de interés para el análisis de las muestras.



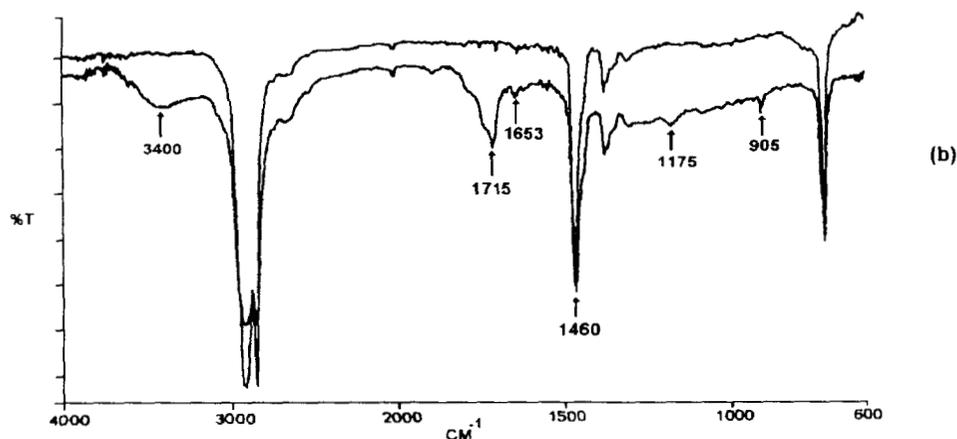


Figura 6.7. Espectros de LDPE. (a) de arriba hacia abajo LDPE sin tratar, tratado térmicamente a 90, 105, 120, 135 y 150°C. (b) LDPE sin tratar y con envejecimiento acelerado

En las Figuras 6.7 (a) y (b) se observa un incremento en la región de grupos carbonilo ( $1715\text{ cm}^{-1}$ ) en todas las muestras tratadas fisicoquímicamente, con respecto al LDPE. Algunas muestras con TT presentaron un aumento en la banda en la posición de  $3400\text{ cm}^{-1}$ , característica de grupos hidroxilo (OH, presentes en las primeras etapas de degradación). En las muestras con TT a  $150\text{ °C}$  y ENV se observó además la presencia de una banda en  $1173\text{ cm}^{-1}$ , ésta es reportada en muestras de LDPE fuertemente oxidadas y es usualmente referido a grupos carbonilo (Groenawe y col., 1965). La exposición simultánea de un polímero al calor y oxígeno lo lleva a su degradación termo-oxidativa, el resultado de ésta incluye la formación de grupos oxidados (aldehídos, cetonas y ácidos, según Albertsson y col., 1992).

Por otra parte, el envejecimiento acelerado provoca una degradación termo- y foto-oxidativa en el LDPE. Además de la presencia de grupos carbonilo característicos de una muestra fuertemente oxidada, la muestra con envejecimiento acelerado presentó la aparición de la banda correspondiente a grupos hidroxilo (OH) en el intervalo  $3000\text{-}3450\text{ cm}^{-1}$ , y de dobles enlaces ( $1653\text{ y }905\text{ cm}^{-1}$ ).

Xingzhou (1997), reporta el incremento en estos grupos durante la foto-oxidación del LDPE después de 180 h de radiación UV. A diferencia de la termo-oxidación, la foto-oxidación de cetonas formadas conduce a la producción de un gran número de compuestos a través de las reacciones Norrish tipo I y II. Los productos de la foto-oxidación en el LDPE son principalmente compuestos con grupos carbonilo así como grupos vinilo (Al Malaika y col., 1995).

Los cambios químicos en las muestras con TT y ENV fueron evaluados con el cálculo de las áreas relativas de las bandas de interés, mismos que aparecen en el LDPE utilizado en este trabajo:  $1715\text{ cm}^{-1}$ , típicamente referido al grupo carbonilo ( $\text{C}=\text{O}$ ),  $1375\text{ cm}^{-1}$  que corresponde a los grupos metilo ( $-\text{CH}_3$ ),  $1653\text{ cm}^{-1}$  representa a los grupos con doble enlace ( $-\text{CH}=\text{CH}-$ ) y  $905\text{ cm}^{-1}$  referido a los grupos vinilo ( $-\text{CH}=\text{CH}_2$ ). La banda  $1460\text{ cm}^{-1}$ , que corresponde a los grupos metileno ( $-\text{CH}_2-$ ) se utilizó como referencia en el cálculo de las áreas relativas; a éstas se les conoce como índices. De acuerdo con Albertsson y col. (1987), esta banda no debe cambiar en el LDPE como respuesta a la degradación de la molécula. En nuestro caso, los valores obtenidos se sometieron a la prueba estadística de SAS.

El índice carbonilo (IC,  $1715/1460$ ) se muestra en la Figura 6.8 y en la Tabla 6.1. Se observó un incremento en la región de los grupos carbonilo en todas las muestras sometidas a tratamiento fisicoquímico comparadas con LDPE sin tratar. La generación de grupos carbonilo da evidencia de reacciones de ruptura de cadena (Sánchez y Estrada, 1996).

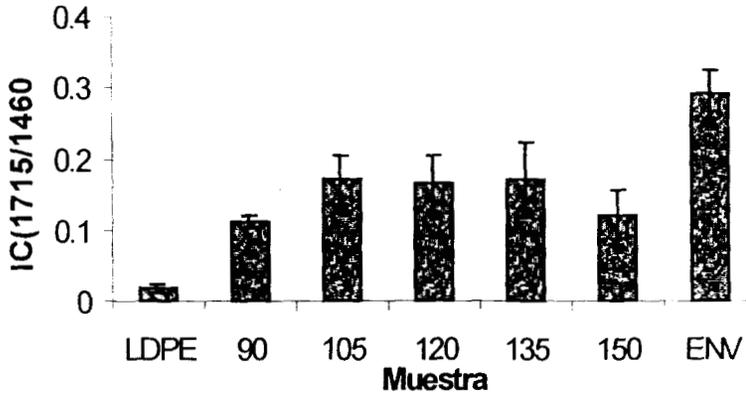


Figura 6.8. Índice carbonilo (IC) del LDPE, con tratamiento térmico ( 90, 105, 120, 135 y 150°C) y con envejecimiento acelerado (ENV).

El grado de oxidación de las muestras con TT está en función de la temperatura usada. Sin embargo, la muestra con TT a 150°C no presentó el mayor IC debido a una falta de reproducibilidad durante el análisis a causa de la existencia de partes más oxidadas en el LDPE, es decir las partículas analizadas no estaban uniformemente oxidadas. El valor del IC en la muestra ENV es 70% mayor al valor máximo obtenido en las muestras con TT.

Estos resultados dan información acerca de la degradación química del LDPE sometido a los tratamientos fisicoquímicos. Los mecanismos combinados de termo- y foto- oxidación provocan que la presencia de grupos carbonilo sean mayores en la muestra ENV que en las muestras con TT que únicamente sufren degradaciones termo-oxidativas.

La Tabla 6.1 presenta los índices carbonilo, de dobles enlaces, de grupos metilos y de vinilos en las muestras sometidas a TFQ y del LDPE sin tratar. En el índice de dobles enlaces (IDE, 1653/1460) se observó un incremento significativo estadísticamente en las muestras con TT a 135 y 150°C, de aproximadamente el doble, con respecto al polietileno sin tratar (LDPE).

Tabla 6.1. Índices de grupos químicos del LDPE tratado térmicamente y con envejecimiento acelerado (ENV). Índice carbonilo (IC, 1715/1460), de doble enlace (IDE, 1653/1460), de metilo (IM, 1375/1460) y de vinilo (IV, 905/1460).

MUESTRA	ÍNDICES DE GRUPOS QUÍMICOS							
	Carbonilo (IC)		Doble enlace (IDE)		Metilo (IM)		Vinilo (IV)	
LDPE	0.018 ± 0.006	D	0.014 ± 0.006	B	0.242 ± 0.010	A	0.014 ± 0.003	B
90*	0.110 ± 0.008	C	0.014 ± 0.002	B	0.239 ± 0.010	BA	-----	D
105*	0.171 ± 0.035	B	-----	C	0.237 ± 0.010	BA	0.011 ± 0.004	C
120*	0.169 ± 0.041	B	-----	C	0.239 ± 0.010	BA	-----	D
135*	0.171 ± 0.053	B	0.022 ± 0.005	A	0.233 ± 0.010	BA	-----	D
150*	0.121 ± 0.034	C	0.023 ± 0.009	A	0.203 ± 0.020	C	-----	D
ENV	0.291 ± 0.035	A	-----	C	0.213 ± 0.010	B	0.032 ± 0.004	A

Muestras con tratamiento térmico ----- Ausencia de banda.

\*\* Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

a:  $R^2=0.8768$ ;  $\alpha=0.0001$ ; b:  $R^2=0.8293$ ;  $\alpha=0.0001$ ; c:  $R^2=0.4414$ ;  $\alpha=0.0001$ ; d:  $R^2=0.9505$ ;  $\alpha=0.0001$

Para el caso del índice vinilo (IV) se encontró un incremento significativo (3 veces) en la muestra ENV con respecto al LDPE. En la foto-oxidación el mecanismo Norrish tipo II es el responsable de la formación de dobles enlaces terminales, a través de este mecanismo la molécula se fragmenta provocando que el material pierda sus propiedades originales. Sánchez y Estrada (1992), reportan que dos grupos químicos son los que cambian en el tiempo después de un tratamiento de ENV, los grupos vinilo y grupos carbonilo; este reporte concuerda con los resultados aquí obtenidos para la muestra ENV.

En el índice de grupos metilo (IM, 1375/1460) se observó una disminución del 17% y del 12% en las muestras con tratamiento térmico a 150°C y con envejecimiento acelerado (respectivamente) con respecto al LDPE, debido posiblemente a reacciones entre los radicales libres formados durante la degradación. La disminución en los grupos metilo indica que existieron reacciones que dieron lugar a la formación de dobles enlaces.

En conclusión, el aumento de grupos vinilo junto con el de grupos carbonilo reflejan la degradación química del polímero, que junto con las disminuciones en la temperatura de inicio de fusión, en el punto de fusión y en la cristalinidad muestran una modificación en la morfología original del LDPE. Se observó que el tratamiento térmico favoreció la formación de cristales más pequeños o imperfectos y de grupos carbonilo. Para el caso del tratamiento con envejecimiento acelerado se presentó otra serie de reacciones (Norrish I) que permitieron que el aumento en los grupos carbonilo fuera mayor que en las muestras tratadas térmicamente.

Con base a los resultados obtenidos se seleccionaron las muestras que serían tratadas biológicamente. Con respecto al tratamiento térmico, las muestras con mayores cambios en la morfología fueron con TT a 105, 120 y 150 °C. La muestra con TT a 120 °C, se eligió además porque representa una temperatura intermedia. La muestra ENV se seleccionó por tener el mayor nivel de oxidación, ya que la presencia de los grupos carbonilo puede favorecer la biodegradación del LDPE (Albertsson y col., 1995).

## 6.2. EVALUACIÓN DEL TRATAMIENTO BIOLÓGICO.

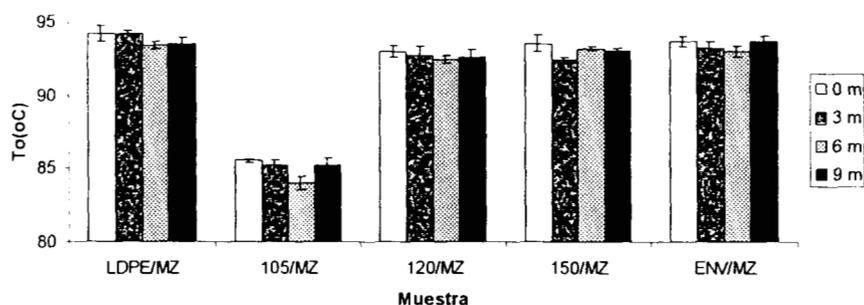
Se ha reportado que las parafinas de bajo peso molecular ( $M_w < 600$ ) son fácilmente asimiladas por diferentes microorganismos (Barna y col., 1970). La reducción de peso molecular e introducción de grupos oxidados en la cadena del polietileno parecen ser condiciones adecuadas para acelerar su biodegradación. En los resultados anteriores se pudieron observar cambios en las propiedades térmicas y químicas del LDPE después del tratamiento fisicoquímico; una vez seleccionadas las muestras se procedió a su tratamiento biológico.

A continuación se presentan los resultados del tratamiento biológico del LDPE durante 9 meses con la mezcla de hongos (*A. niger*, *G. virens*, *P. chrysosporium*, *P. pinophilum*). Para evaluar la biodegradación, se utilizaron diferentes técnicas de análisis: DSC (cambios térmicos), FTIR (cambios químicos), WAXS (cambios morfológicos), producción de CO<sub>2</sub> (actividad microbiana) y SEM (cambios superficiales).

### 6.2.1. Cambios térmicos

Las variables utilizadas para la evaluación de las propiedades térmicas de las muestras después del tratamiento biológico (TB), fueron las mismas que para las muestras tratadas fisicoquímicamente ( $T_o$ ,  $T_m$  y  $\Phi$ ).

En la Figura 6.9 (Tabla B1 del Anexo B) se presentan los resultados de la temperatura de inicio de fusión (primera corrida) de las muestras de LDPE, LDPE con TT y LDPE con ENV incubadas durante 9 meses con la mezcla de hongos (MZ).



**Figura 6.9.** Temperatura de inicio de fusión ( $T_o$ , primera corrida) de muestras de LDPE, tratado térmicamente (105, 120 y 150 °C) y con envejecimiento acelerado (ENV); incubado durante 9 meses con la mezcla de hongos (MZ)

La primera corrida contiene la información de la historia térmica producto de la fabricación (LDPE sin tratar) o del tratamiento fisicoquímico (térmico o por envejecimiento acelerado) y del efecto de los microorganismos durante el tratamiento biológico (de 3 a 9 meses). Durante los primeros 3 meses de TB se observó una disminución en  $T_o$  (1 °C) sólo en la muestra 150/MZ, con respecto a la misma muestra sin TB (0 m). A los 6 meses de TB dos muestras presentaron una disminución en la  $T_o$ , con respecto a las muestras sin TB: el LDPE de 0.8°C (y permaneció sin cambios significativos hasta el final del tratamiento biológico) y la muestra con TT a 105°C con la mezcla de hongos (105/MZ) que presentó una disminución de 1.5 °C. También a los 6 meses de TB se observó en la muestra 150/MZ un incremento en la  $T_o$  de 0.7°C con respecto a la muestra con 3 meses de TB y permaneció sin cambios significativos hasta el final del tratamiento.

En la Figura 6.10 se presentan los resultados de  $T_o$  en la segunda corrida en muestras del LDPE tratadas biológicamente durante 9 meses (Tabla B2, Anexo B).

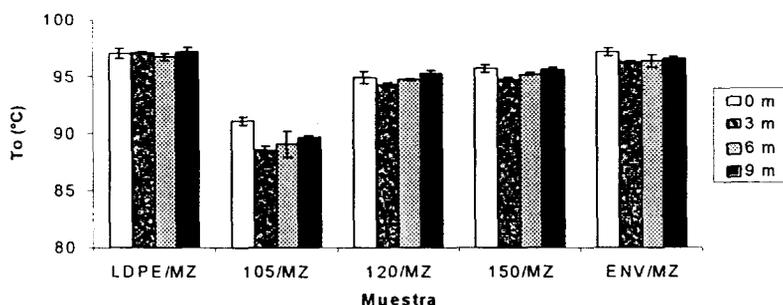


Figura 6.10. Temperatura de inicio de fusión ( $T_o$ ) en segunda corrida del LDPE, tratado térmicamente (105,120 y 150 °C) y con envejecimiento acelerado (ENV); incubado durante 9 meses con la mezcla de hongos (MZ).

A los 3 meses del TB se presentó una disminución en  $T_o$  en todas las muestras con tratamiento fisicoquímico (con excepción de la muestra 120/MZ). La muestra con TB y TT a 105°C presentó una disminución de 2.5°C y las muestras con TT a 150 °C y con ENV presentaron disminuciones de 0.9°C. En los siguientes muestreos (6 y 9 meses ) del TB no se observaron cambios significativos en esta variable en ninguna de las muestras con TB. El ataque microbiano a la parte amorfa que separa a los bloques cristalinos podría provocar disminuciones en  $T_o$ , debido a la formación de cristales más pequeños o imperfectos los cuales empiezan a fundir a temperaturas menores.

Después del TB las muestras de LDPE fueron separadas de la biomasa por agitación y centrifugación. Sin embargo, este método de separación no tiene eficiencia de 100%, para evitar errores debidos a la contribución que podría tener la biomasa en cada muestra, la cristalinidad se calculó utilizando el criterio del triángulo (Fig. 5.2, sección 5.4.1). La cristalinidad ( $\Phi$ ), en primera corrida, de las muestras con y sin tratamiento fisicoquímico, tratadas biológicamente durante 9 meses es presentada en la Figura 6.11 (Tabla B3 del Anexo B).

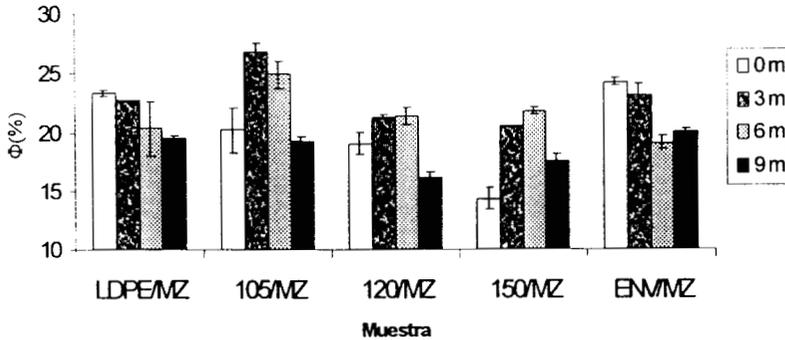


Figura 6.11. Porcentaje de cristalinidad ( $\Phi$ , calculada a partir del criterio del triángulo), en primera corrida. LDPE, tratado térmicamente (105, 120 y 150 °C) y con envejecimiento acelerado (ENV) e incubado durante 9 meses con la mezcla de hongos (MZ).

En la Figura 6.11 se observa un incremento de  $\Phi$  a los 3 meses de tratamiento biológico, en todas las muestras con TT con respecto a las muestras sin TB (0 m) de hasta el 32.2% (6.5 unidades, muestra 105/MZ). El incremento en la cristalinidad en las muestras con TT puede deberse a la eliminación de cadenas cortas y/u oxidadas situadas en la parte amorfa del LDPE por acción de los microorganismos. En las muestras con TT, las temperaturas por arriba del punto de fusión del LDPE y el enfriamiento drástico favorecieron el incremento de la fase amorfa. Los resultados mostrados anteriormente son similares parcialmente a los reportados en la literatura, Weiland y col. (1995), reportan incrementos (de 17%) en la cristalinidad en el LDPE con tratamiento térmico y biológico, después de 5 meses de incubación con una mezcla de hongos.

En la Figura 6.11 se observa también una disminución de 21.5% (5.2 unidades) en la muestra con ENV y permanece sin cambios significativos hasta el final del TB. A los 9 meses de TB las muestras LDPE/MZ y 120/MZ presentaron una disminución de  $\Phi$  de 16.3% y de 15.3% (3.8 y 2.9 unidades, respectivamente), con respecto a las muestras sin TB. Las muestras 105/MZ y 150/MZ presentaron disminuciones de 28.1% y de 14.2% (7.5 y 2.9 unidades, respectivamente) comparadas con las mismas muestras a los 3 meses.

Los resultados de la cristalinidad, en segunda corrida, del LDPE con y sin tratamiento fisicoquímico sometido a TB, durante 9 meses, son presentados en la Figura 6.12 (Tabla B4 del Anexo B).

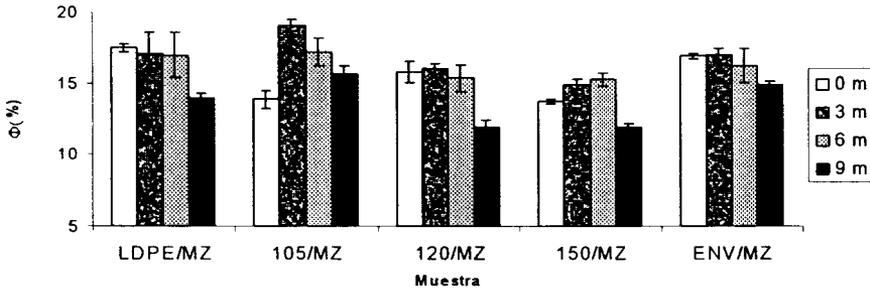


Figura 6.12. Porcentaje de cristalinidad ( $\Phi$ ), en segunda corrida. LDPE, tratado térmicamente (105, 120 y 150 °C) y con envejecimiento acelerado (ENV) e incubado durante 9 meses con la mezcla de hongos (MZ).

En la Figura 6.12 se observa una tendencia en la cristalinidad similar a la de la primera corrida (pero las escalas numéricas son diferentes). A los 3 meses de TB se presentó un incremento de  $\Phi$ , con respecto a las muestras sin TB (0m), en las muestras 105/MZ (37.4%, 5.2 unidades) y 150/MZ (7.9%, 1.1 unidades). Todas las muestras con y sin tratamiento fisicoquímico, a excepción de la muestra 105/MZ, presentaron una disminución en  $\Phi$ , de 24.7% (3.9 unidades) y de 11.8% (2 unidades) en las muestras 120/MZ y ENV/MZ, respectivamente, a los 9 meses de TB con respecto a la muestra sin TB (0 meses).

A los 9 meses de TB los comportamientos en la primera y segunda corridas fueron similares para todas las muestras (se observó una disminución en  $\Phi$  con respecto a las muestras sin TB) con excepción de la muestra 150/MZ, en la que se observó un aumento en la primera corrida y una disminución en la segunda corrida. En la primera corrida se puede detectar la modificación de la cristalinidad debido a la acción de los microorganismos. El efecto de los microorganismos sobre la

morfología, en la segunda corrida, se observa después de calentar la muestra hasta una misma temperatura y enfriar con un mismo procedimiento, el arreglo que tengan las cadenas después de este procedimiento estará en función del tamaño que tengan después del ataque microbiano. La disminución de  $\Phi$  en la muestra 150/MZ (9 m) sugiere la existencia de cristales más pequeños a los que existían originalmente.

Lo observado en las dos Figuras anteriores puede deberse a un mecanismo de biodegradación con dos etapas: durante los primeros 3 meses (primera etapa), en donde se observó un aumento en la cristalinidad (muestras con TT) que puede ser debido a una disminución en la fracción amorfa del LDPE por acción de los microorganismos durante los 3 primeros meses. Weiland y col. (1995), reportan un aumento en el peso molecular promedio después de 5 meses de incubación con una mezcla de hongos (*Aspergillus niger*, *Paecilomyces variotii*, *Gliocadium virens* y *Penicillium funiculosum*) en muestras de LDPE tratadas térmicamente (70°C), esto sugiere que puede existir bioasimilación de las cadenas de bajo peso molecular ubicadas en la fase amorfa del LDPE. Por otra parte, a partir de los tres meses de TB (segunda etapa) se observó una disminución general en la cristalinidad en todas las muestras con TB. A los 9 meses de incubación con los microorganismos, todas las muestras presentaron una disminución en la cristalinidad con respecto a las muestras sin TB (a excepción de la muestra 105/MZ).

Los efectos observados durante el TB pueden ser debidos a un mecanismo cuya primera etapa es dominante al principio en donde el material que separa a los cristales sufre un ataque por acción de los microorganismos, provocando su fraccionación (primeros 3 meses), y la segunda etapa (3 a 9 meses) en donde los microorganismos atacan a los cristales más pequeños o imperfectos. Esto explica el aumento y posterior disminución en la cristalinidad.

El punto de fusión, en primera corrida, de las muestras sometidas a tratamiento biológico durante 9 meses es mostrado en la Figura 6.13 (Tabla B5 en el Anexo B).

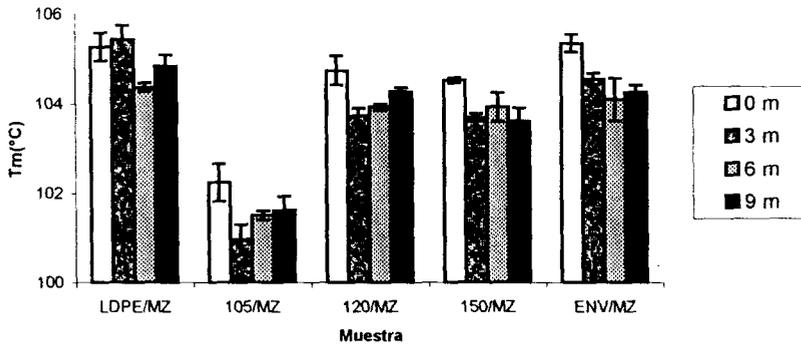


Figura 6.13. Punto de fusión ( $T_m$ ) en primera corrida. LDPE, tratado térmicamente (105, 120 y 150 °C) y con envejecimiento acelerado (ENV) incubado durante 9 meses con la mezcla de hongos (MZ).

A los 3 meses de TB se observó una disminución de  $T_m$ , con respecto a las muestras sin TB (0m), en todas las muestras con tratamiento fisicoquímico. En las muestras con TT se observó una disminución de  $T_m$  de hasta 1.2°C (muestra 105/MZ). Las muestras con tratamiento térmico permanecieron sin cambios significativos de los 3 a 9 meses del tratamiento biológico. A los 6 meses de TB las muestras LDPE/MZ y ENV/MZ presentaron una disminución de 0.9°C y 1.3°C, respectivamente y no se detectaron cambios significativos hasta el final del TB. Estas disminuciones en  $T_m$  indican la formación de cristales más pequeños o imperfectos por efecto del TB, y necesitan una temperatura menor para fundir. Este efecto probablemente se deba a la acción de los microorganismos sobre la parte amorfa que separa los bloques cristalinos del LDPE y de esta manera se fraccionan.

En la Figura 6.14 (Tabla B5 en el Anexo B6) se presenta  $T_m$  en segunda corrida para todas las muestras con y sin tratamiento fisicoquímico y con tratamiento biológico durante 9 meses con la mezcla de hongos.

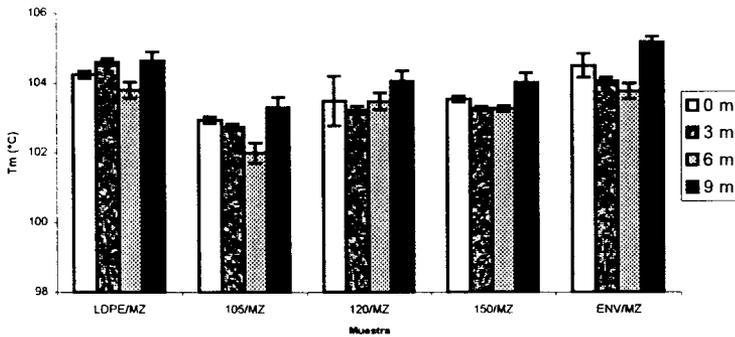


Figura 6.14. Punto de fusión ( $T_m$ ) en segunda corrida. LDPE, tratado térmicamente (105, 120 y 150 °C) y con envejecimiento acelerado (ENV) incubado durante 9 meses con la mezcla de hongos (MZ).

A los 6 meses las muestras 105/MZ y ENV/MZ presentaron una disminución, con respecto a las muestras sin TB (1°C y 0.7°C, respectivamente). Los cambios observados en la segunda corrida fueron menores a los de la primera; sin embargo, ambas corridas muestran la formación de cristales más pequeños o imperfectos debido al ataque de los microorganismos sobre la parte amorfa, dando como resultado la formación de cadenas de menor tamaño las cuales al arreglarse forman cristales que necesitan menor temperatura para fundir.

$T_m$  representa la temperatura a la cual funden los cristales más grandes o perfectos. Las disminuciones en  $T_m$  indican una disminución en la contribución de los cristales más grandes o perfectos.

Nuestros resultados sugieren que los microorganismos no solo atacan partes amorfas, sino posiblemente también cristalinas (o cristales menos perfectos). Los diferentes tratamientos fisicoquímicos pudieron provocar la formación de imperfecciones en los cristales por la existencia de grupos oxidados que pudieron quedar atrapados en la fracción cristalina del LDPE después de los tratamientos fisicoquímicos.

En conclusión, los cambios detectados (por la técnica de DSC) producidos por el tratamiento biológico en la muestra con envejecimiento acelerado son menores comparados con las muestras con tratamiento térmico. Lee y col. (1991), reportan que el LDPE con tratamiento UV (365 nm) es más recalcitrante que el LDPE tratado térmicamente (70°C). Esta diferencia es debida posiblemente a la existencia de fenómenos de entrecruzamiento (Akmal y col., 1993) y a que la biodegradación en la muestra con ENV se lleve a cabo sólo en las partes más oxidadas, localizadas principalmente en los carbonos terciarios (Albertsson y col., 1995).

### 6.2.2. Cambios morfológicos

En Tabla 6.2 se presenta el tamaño promedio de cristal ( $L_{110}$ ) para muestras con y sin tratamiento fisicoquímico, después de 9 meses de tratamiento biológico.

**Tabla 6.2. Tamaño promedio de cristal ( $L_{110}$ ) de LDPE, tratado fisicoquímicamente (TT y ENV) y con tratamiento biológico después de 9 meses de incubación con la mezcla de hongos.**

MUESTRA	Tamaño promedio de cristal ( $L_{110}$ , en Å)	
	1 mes	9 meses
LDPE	74.1	91.5
105	69.5	95.4
120	74.1	75.3
150	67.9	71.7
ENV	65.4	66.4

\* Muestras LDPE y con tratamiento Físicoquímico (TT y ENV).

Después de 9 meses de TB se observó un incremento en  $L_{110}$ , en todas las muestras de LDPE, con respecto al tiempo inicial. Para la muestra 105/MZ se obtuvo hasta 37.3% de aumento, mientras que  $L_{110}$  en la muestra ENV/MZ solamente aumento 1.5%.

Las muestras LDPE y 105 presentaron el mayor incremento en esta variable, esto podría indicar el posible ataque microbiano sobre la fracción amorfa que divide los bloques cristalinos provocando de esta manera que se fraccionen en cristales de menor tamaño.

Se puede notar nuevamente que las muestras con TT y con TB presentaron mayores cambios que la muestra ENV con la mezcla de hongos. Estos resultados no coinciden con los reportados por Albertsson y col. (1995), que observaron una disminución (4%) en el LDPE tratado a 100°C después de 10 meses de tratamiento microbiano con *A. paraffineus*.

Los resultados observados en el tamaño promedio de cristal después del TB pueden ser debidos al ataque a cristales más pequeños o imperfectos formados durante la primera etapa del mecanismo de biodegradación (ver cambios térmicos a los 3 meses). En la Figura 6.15 se presenta esquemáticamente el mecanismo propuesto para la biodegradación del LDPE, se espera que el efecto de los microorganismos ocurra principalmente en la parte más accesible del polietileno (amorfa, A). El ataque de los microorganismos sobre la fracción amorfa (etapa a) puede provocar entonces la fraccionación de los cristales, dando por resultado la formación de cristales más pequeños o imperfectos después del TB. Después de que la fraccionación ocurra, no se descarta un ataque microbiano sobre los cristales más pequeños o imperfectos (etapa b). Los aumentos en el tamaño promedio del cristal son debidos posiblemente, a la desaparición o disminución en el número de los cristales más pequeños o imperfectos en el LDPE por lo que el promedio de los cristales aumenta debido a que los más grandes permanecen. Manzur y col. (1997), reportan una disminución en  $L_{110}$  después de 32 días de TB con *Phanerochaete chrysosporium* en una mezcla de bagazo de caña de azúcar y LDPE, a causa de un rompimiento de cadenas en la región amorfa que separa los cristales lo que da lugar a la presencia de cristales más pequeños.

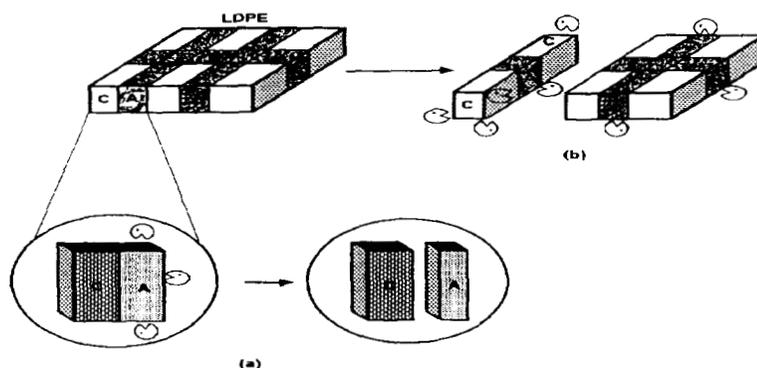


Figura 6.15. Mecanismo de biodegradación de LDPE en dos etapas: (a) consumo de la parte amorfa (A) y formación de cristales (C) más pequeños, (b) posible ataque a los cristales más pequeños o imperfectos.

### 6.2.3. Cambios químicos

El paso fundamental para la biodegradación del LDPE es su transformación a compuestos de bajo peso molecular, para que éstos puedan ser asimilados por los microorganismos. Estos compuestos pueden producirse a través de distintos mecanismos de foto- y/o termo- oxidación. El siguiente paso consistiría en el ataque de los microorganismos en las partes más oxidadas del LDPE (Albertsson y col., 1987).

Al inicio de este capítulo se presentaron los resultados obtenidos después de someter el LDPE a distintos tratamientos fisicoquímicos, donde se observan cambios químicos en el LDPE, reflejados principalmente por cambios en el índice carbonilo (IC, 1715/1460). La muestra con la mayor producción de grupos carbonilo correspondió al LDPE con ENV (70% mayor con respecto al valor máximo de IC de las muestras con TT).

En la Figura 6.16 se presentan los valores del IC del LDPE tratado biológicamente durante 9 meses.

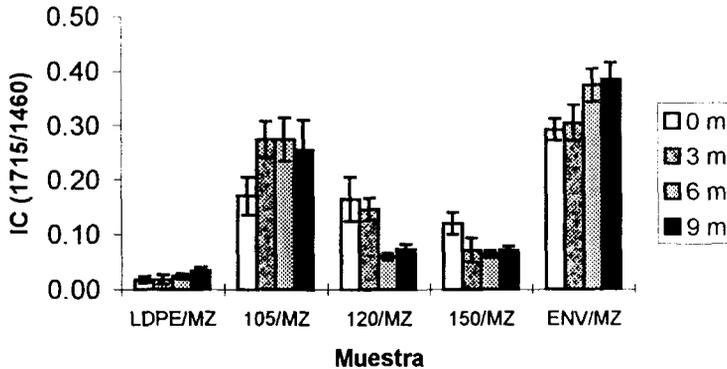


Figura 6.16. Índice carbonilo (IC, 1715/1460) del LDPE tratado biológicamente con la mezcla de hongos (MZ) durante 9 meses.

Las muestras 105/MZ (3 meses de TB) y ENV/MZ (6 meses de TB) presentaron incrementos en el IC de 62% y 28%, respectivamente, comparadas con las muestras sin TB; estos valores permanecieron sin cambios significativos a partir de los 6 meses de incubación (Tablas C2 y C5 del Anexo C). En contraste, las muestras 120/MZ y 150/MZ presentaron una disminución en el valor del IC; la primera, de 64% a los 6 meses de TB con respecto a la misma muestra sin TB y permaneció sin cambios significativos hasta los 9 meses (Tabla C3 del Anexo C). En la muestra con TT a 150 °C y con TB, se observa un decremento en el IC de 40% a los 3 meses de incubación comparada con la muestra sin TB (Tabla C4 del Anexo C). Resultados análogos encontraron Albertsson y col. (1987), que reportan una disminución de los grupos carbonilo por la acción de microorganismos. Weiland y col. (1995), también observaron una reducción en el IC después de 5 meses de incubación con un cultivo mixto de hongos (*Aspergillus niger*, *Penicillium uniculosum*, *Paecilomyces variotii* y *Gliocadium virens*).

Las disminuciones en el IC encontradas en este trabajo indican que existe un ataque, por acción de los microorganismos, en las cadenas más oxidadas del LDPE, tal como lo propone Albertsson y col. (1987), en su mecanismo de biodegradación (Figura 6.17), en el cual el grupo oxidado es transformado a un ácido carboxílico (banda en la posición  $1700-1725\text{ cm}^{-1}$ ) que posteriormente es metabolizado por la vía de la  $\beta$ -oxidación. Las enzimas que participan en la  $\beta$ -oxidación catalizan una serie de reacciones en las que se separan unidades de dos carbonos del extremo carboxilo de la cadena del ácido carboxílico, que son liberadas como acetil -CoA. La acetil-CoA producida por esta vía, es oxidada a  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$  por una serie de enzimas en el ciclo de Krebs.

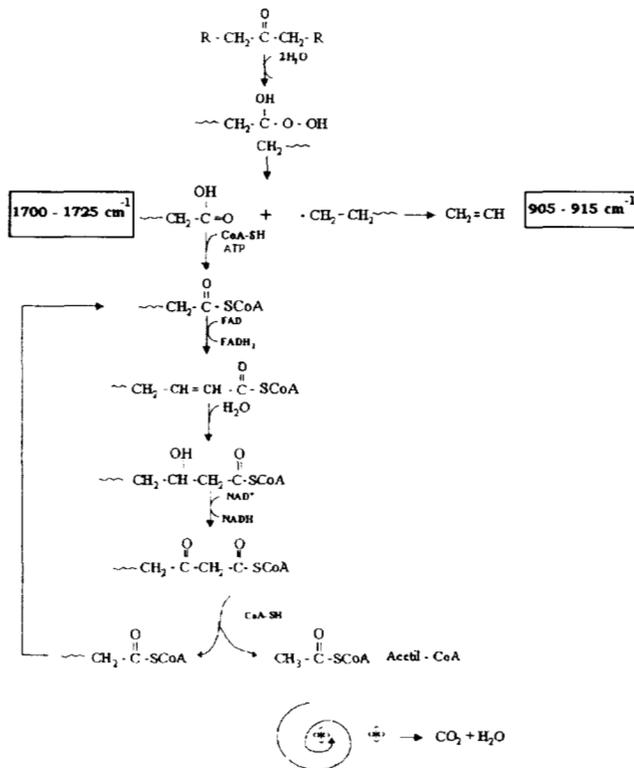


Figura 6.17. Mecanismo propuesto para la biodegradación del LDPE (Albertsson y col., 1987).

Por otra parte, el incremento en el IC se puede explicar por la oxidación (por acción microbiana) de los productos formados por los 2 tratamientos fisicoquímicos, que por lo general son alcanos insolubles en agua. Las vías catabólicas incluyen diversas reacciones de oxido-reducción. En la Figura 6.18 se presenta un mecanismo de biodegradación propuesto por Schlegel (1976) para alcanos de alto peso molecular. En este mecanismo participan enzimas especializadas en el transporte de electrones para dar lugar a la oxidación de la cadena del alcano y dar como resultado la formación de ácidos carboxílicos, que a través de la  $\beta$ -oxidación producen la acetil-CoA para dar  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$  como productos finales del ciclo de Krebs.

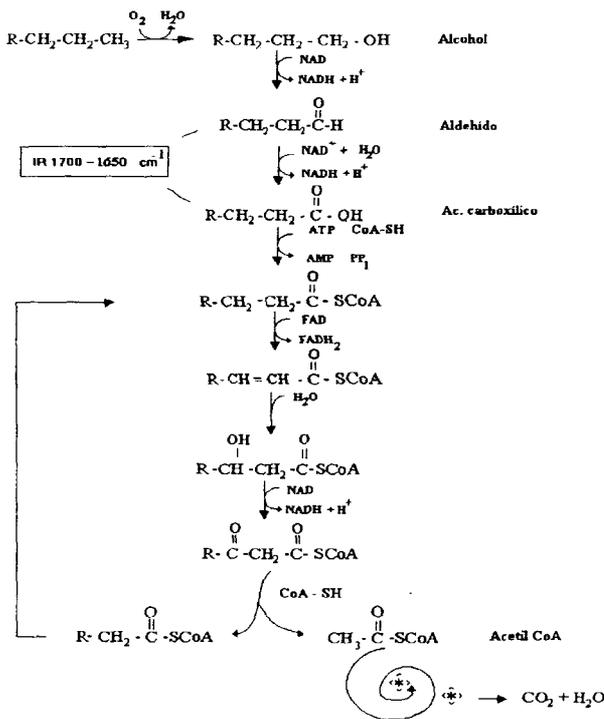


Figura 6.18. Mecanismo de biodegradación de alcanos de alto peso molecular propuesto por Schlegel (1976).

Durante la degradación térmica y con UV del LDPE se forman una serie de compuestos de bajo peso molecular. Está reportado (Albertsson y col., 1987), que los microorganismos preferentemente utilizan parafinas lineales en lugar de isómeros ramificados. El mecanismo de biodegradación de parafinas propuesto por Schlegel (1976) muestra una serie de pasos en donde se involucran varias enzimas para oxidar la cadena formando un alcohol, después un aldehído y finalmente un ácido carboxílico, estos dos últimos emiten señal en las bandas en el intervalo de 1750 - 1650  $\text{cm}^{-1}$ .

En la Tabla 6.3 se presentan los resultados del índice de dobles enlaces (IDE, 1653/1460) del LDPE tratado biológicamente durante 9 meses. La muestra LDPE/MZ no presentó cambios significativos en este índice durante el TB, con respecto a la muestra sin TB. El IDE permaneció sin cambios significativos en todas las muestras con TT durante el TB, con excepción de la muestra 120/MZ en la que se detectó la aparición de dobles enlaces (IDE) en el sexto mes de TB. La muestra con ENV y TB mostró una aparición del IDE a los 3 meses comparada con la muestra sin TB (ENV/MZ, 0 meses). El rompimiento de cadenas, la formación de radicales libres y la reacción entre estos puede producir dobles enlaces.

**Tabla 6.3. Índice de doble enlace (IDE, 1653/1460) del LDPE tratado biológicamente con la mezcla de hongos (MZ) durante 9 meses.**

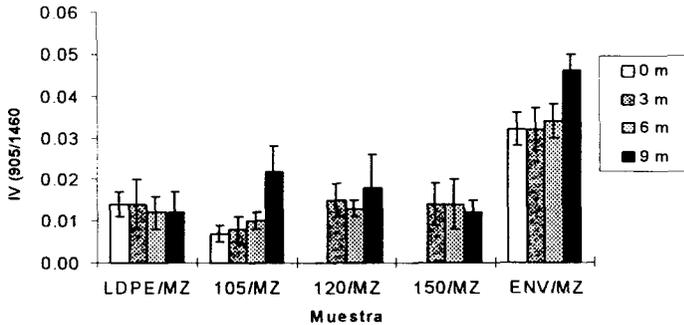
MUESTRA		Tiempo de Tratamiento Biológico (meses)							
		0		3		6		9	
LDPE/MZ	a*	0.014 ± 0.006	B	0.016 ± 0.006	B	0.021 ± 0.005	A	0.021 ± 0.007	A
105/MZ		-----		-----		-----		-----	
120/MZ	b*	-----	C	-----	C	0.012 ± 0.003	B	0.013 ± 0.005	A
150/MZ	c*	0.023 ± 0.006	A	0.022 ± 0.009	A	0.008 ± 0.005	B	0.023 ± 0.006	A
ENV/MZ	d*	-----	C	0.029 ± 0.006	A	0.011 ± 0.005	B	0.026 ± 0.006	A

— Indica ausencia de banda

\* Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

a:  $R^2=0.2160$ ;  $\alpha=0.0002$ ; b:  $R^2=0.8534$ ;  $\alpha=0.0001$ ; c:  $R^2=0.2768$ ;  $\alpha=0.0001$ ; d:  $R^2=0.8411$ ;  $\alpha=0.0001$

En la Figura 6.19 se presenta el índice vinilo (IV, 905/1460) del LDPE tratado biológicamente 9 meses. Se observa que la muestra LDPE/MZ no presentó diferencias significativas (Tabla C11 del Anexo C) durante el TB. Dos muestras con TT y con TB (120/MZ y 150/MZ) presentaron la aparición IV a los 3 meses de TB.



**Figura 6.19.** Índice vinilo de muestras de LDPE, tratado térmicamente (105, 120 y 150 °C) y con envejecimiento acelerado (ENV), tratadas biológicamente durante 9 meses.

La muestra 105/MZ presentó un incremento del doble en el IV a los 9 meses de TB. Los resultados estadísticos del IV de las muestras con TB son presentados en las Tablas C11 a C15 del Anexo C. En la muestra ENV/MZ se observó un aumento de 45% en el IV al final del TB. El consumo de los grupos carbonilo puede producir rompimientos de cadena en el LDPE y los segmentos formados pueden promover a su vez la formación de dobles enlaces.

En resumen, las disminuciones del IC acompañadas con la aparición en el IV en las muestras 120/MZ y 150/MZ durante el TB son explicadas a partir del mecanismo de biodegradación propuesto por Albertsson y col. (1987, Fig. 6.17), en el cual se presenta un decremento en el IC junto con el incremento en los dobles enlaces en el LDPE foto-oxidado con TB. Las muestras 105/MZ y ENV/MZ también presentaron evidencia de actividad microbiana por la formación de dobles enlaces y de grupos carboxílicos por un mecanismo de oxidación promovido por los microorganismos (Fig. 6.18).

En la Figura 6.20 se presenta el índice del grupo metilo (IM, 1375/1460) de muestras de LDPE con tratamiento biológico durante 9 meses.

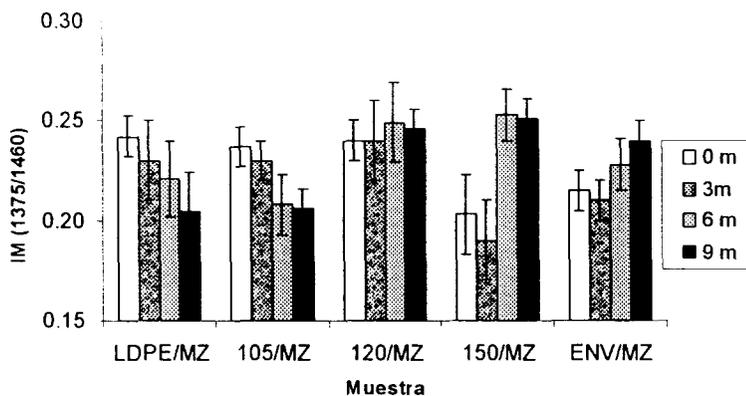


Figura 6.20. Índice metilo de muestras de LDPE, tratado térmicamente (105, 120 y 150 °C) y con envejecimiento acelerado (ENV), tratadas biológicamente durante 9 meses.

Los resultados estadísticos del IM para todas las muestras con TB son presentados en las Tablas C6 a C10 del Anexo C. La muestra LDPE/MZ no presentó diferencias significativas en el IM durante el TB. A los 6 meses de TB, la muestra 105/MZ presentó un decremento de 11% con respecto a la muestra sin TB. También se observaron incrementos en el IM en las muestras 150/MZ y ENV/MZ con respecto a las muestras sin TB (25% a los 6 meses y 12% a los 9 meses, respectivamente).

Las disminuciones en los grupos metilo ( $-CH_3$ ) pueden indicar una disminución en las ramificaciones del LDPE por la acción microbiana, mientras que la formación de cadenas más cortas incrementará los grupos metilo. Albertsson y col. (1995), reportaron que el LDPE es biodegradado principalmente en los carbonos terciarios, lo que daría por resultado una disminución de grupos metilo y aumento en grupos vinilo (muestra 105/MZ).

Una vez que se introducen grupos carbonilo en el LDPE, se produce el ataque microbiano en las partes oxidadas o cadenas cortas que posteriormente pueden ser oxidadas y metabolizadas por los microorganismos. La muestra ENV/MZ presentó un incremento en el IC y en el IM, lo que podría significar que ocurran las reacciones antes citadas.

#### 6.2.4. Producción de CO<sub>2</sub>

La biodegradabilidad de los polímeros es usualmente estudiada y evaluada por observaciones del crecimiento microbiano, o por mediciones de cambios físicos, químicos, mecánicos, etc. de los sustratos, además del consumo de oxígeno y producción de CO<sub>2</sub>. Albertsson y col. (1978), reportan un incremento en la producción de CO<sub>2</sub> cuando se disminuye el tamaño de partícula, en muestras pulverizadas, indicando que el acceso de los microorganismos a las fracciones metabolizables del polietileno podría ejercer un efecto en el grado de biodegradación.

En la Figura 6.21 se presenta la producción de CO<sub>2</sub> durante el tratamiento biológico, a partir de muestras de LDPE con y sin tratamiento fisicoquímico. Los resultados mostrados en la Figura 6.21 representan el CO<sub>2</sub> producido por los microorganismos a partir solamente del carbono contenido en el LDPE, ya que se le restó el CO<sub>2</sub> obtenido en las muestras con medio de cultivo inoculado (sin LDPE). La muestra con ENV es la que presentó la mayor producción de CO<sub>2</sub>. Albertsson y col. (1987), reportan resultados similares y un incremento en la producción de CO<sub>2</sub> con el incremento del IC. En nuestro caso la muestra con envejecimiento acelerado, que presentó el mayor IC (70% más con respecto al valor máximo de las muestras con TT) es la que presentó el valor máximo de producción de CO<sub>2</sub> (Figura 6.21)

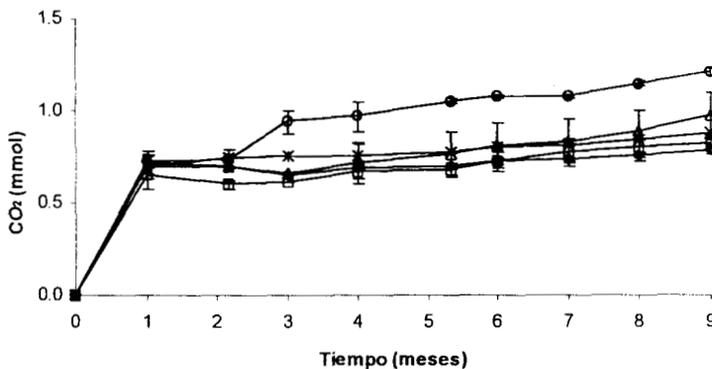


Figura 6.21. Producción de CO<sub>2</sub> en muestras de LDPE con tratamiento fisicoquímico incubadas 9 meses con la mezcla de hongos (MZ). —□— LDPE/MZ, —△— 105/MZ, —×— 120/MZ, —◇— 150/MZ, —○— ENV/MZ.

Los oligómeros (que corresponden a alcanos de alto peso molecular) formados por los tratamientos fisicoquímicos podrían degradarse de manera similar a las parafinas, las cuales primero son transformadas a ácidos carboxílicos y posteriormente mineralizadas a  $\text{CO}_2$  (Figura 6.18).

Albertsson y col. (1988), sugieren 3 etapas en la biodegradación del LDPE:

1. Un cambio rápido en las propiedades mecánicas del polímero y alta producción de  $\text{CO}_2$ .
2. Una etapa en donde los cambios son pequeños con una baja producción de  $\text{CO}_2$  y pocos cambios en la cristalinidad y peso molecular.
3. Finalmente reportan un incremento en la velocidad de degradación, vinculada con un aumento en la producción de  $\text{CO}_2$ .

En este trabajo, con 9 meses de tratamiento biológico, se detectaron cambios que coinciden con las primeras etapas citadas por Albertsson y col. (1988). En todas las muestras se observó una rápida producción de  $\text{CO}_2$  durante el primer mes de TB debido al ataque microbiano sobre las cadenas más cortas formadas por el TFQ. Durante los 8 meses restantes todas las muestras permanecieron sin cambios significativos a excepción de la muestra ENV que presentó al tercer mes de incubación un incremento en la producción de  $\text{CO}_2$ . Esto puede ser debido a que los microorganismos pudieron atacar cadenas cortas liberadas durante el tratamiento con ENV.

Durante el TB se detectaron cambios en las propiedades térmicas y químicas en algunas muestras (cambios en la cristalinidad, en las muestras con TT, cambios en la  $T_0$  en las muestras 105/MZ, 150/MZ y ENV/MZ (segunda corrida) y aumentos o disminuciones en el IC). A los 6 meses de TB los cambios observados fueron pequeños o no significativos, sin embargo, a los 9 meses de TB se detectaron cambios importantes en la cristalinidad y tamaño de cristal en la mayoría de las muestras con TB. La muestra ENV presentó incrementos en el IC debido a la acción microbiana sobre cadenas cortas. Albertsson y col. (1988), citan que 10 años es todavía poco tiempo para apreciar los efectos de la última etapa de biodegradación en el caso del polietileno.

### 6.2.5. Cambios superficiales

Debido a que el ataque microbiano comienza con la colonización de la superficie del polímero, el crecimiento microbiano debe ser confirmado por medio de la examinación microscópica de la superficie polimérica. La microscopía electrónica es usada para la observación de cambios físicos en el material.

La superficie del LDPE sin TFQ se muestra en la Figura 6.22 (a). Después de 9 meses de TB la muestra LDPE presentó un escaso crecimiento de microorganismos y una gran cantidad de esporas en su superficie (Figura 6.22 (b), (c)), a diferencia de las muestras con TT y con ENV en donde la presencia de esporas fue escasa. La presencia de esporas puede ser debida a la carencia de una fuente de carbono accesible para los microorganismos.

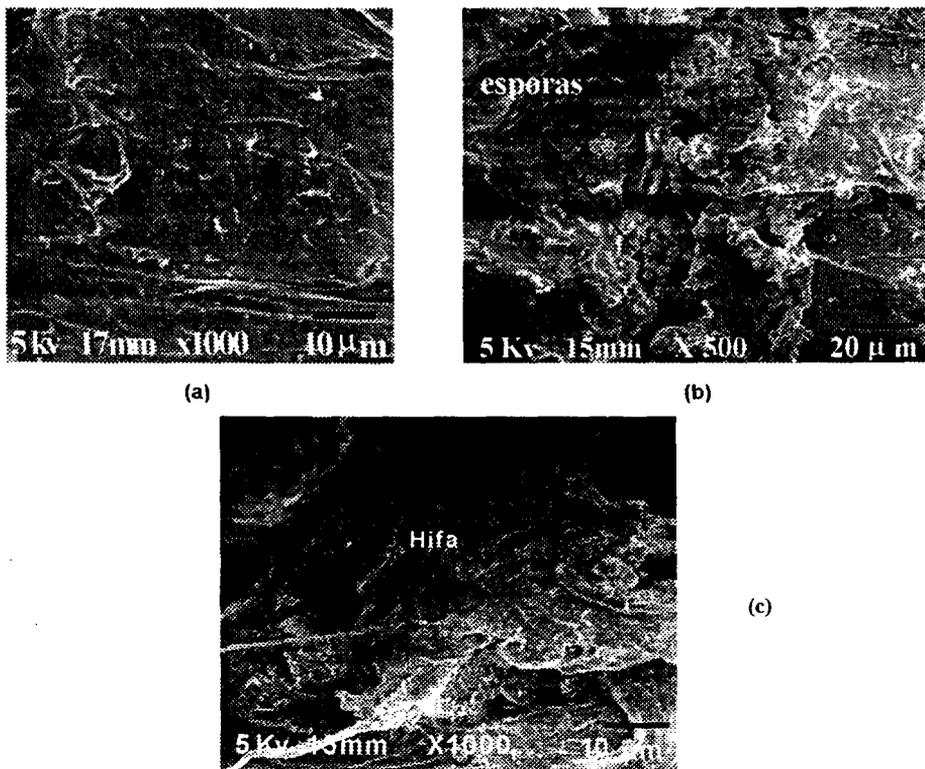
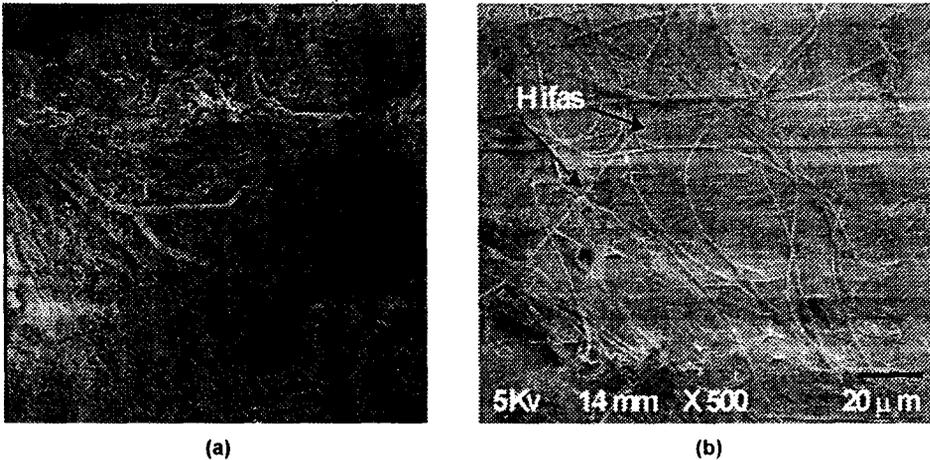


Figura 6.22. Micrografías del LDPE sin tratamiento (a), y a los 9 meses de tratamiento biológico con presencia de esporas (b) y una hifa (c).

En todas las muestras con TT se observó crecimiento superficial de microorganismos. En la Figura 6.23 se muestra el crecimiento superficial de hifas en muestras con TT a 105 y 120°C después de 9 meses de TB. Se observó que el crecimiento superficial de hifas se incrementó con el aumento en el IC y la presencia de esporas fue menor en comparación a las muestras sin tratar.



**Figura 6.23. Micrografías del LDPE tratado térmicamente con crecimiento superficial de hifas (a) a 105 °C (b) a 120°C con 9 meses de tratamiento biológico.**

Weiland y col. (1995), observaron que el crecimiento superficial de los microorganismos estaba en función del grado de oxidación de la muestra. Esto concuerda con nuestros resultados, ya que se observó que mientras mayor era el grado de oxidación mayor era también el crecimiento superficial de las hifas.

Además del crecimiento superficial de los microorganismos, la degradación en el LDPE se observó por la penetración de hifas en el material. En todas las muestras con TT se presentó este efecto. La muestra con TT a 150°C presentó el mayor número de penetraciones, en comparación con el resto de las muestras con TT. En la Figura 6.24 (a) se observa el crecimiento superficial de los microorganismos y la penetración de hifas (b), en la muestra con TT a 150°C con 9 meses de TB.

Otake y col. (1995), encontraron evidencia de biodegradación en el LDPE (enterrado durante 32 años) por la presencia de hoyos y de "canales" con la forma de la estructura del hongo (*Aspergillus niger* o *Penicillium* sp.).

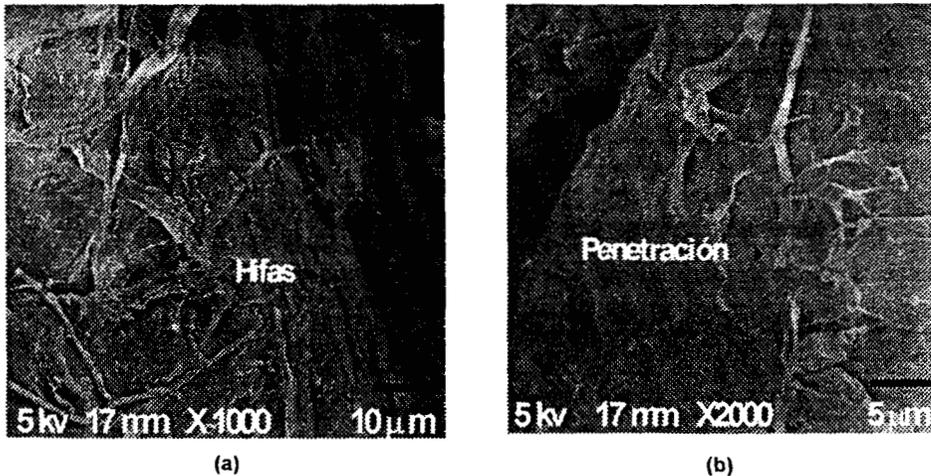


Figura 6.24. Micrografías del LDPE tratado térmicamente a 150°C con (a) crecimiento superficial de microorganismos y (b) penetración de hifa

En la Figura 6.25 se presentan micrografías del LDPE con envejecimiento acelerado, esta muestra presentó el mayor número de penetraciones de hifas y también el nivel más elevado de oxidación en comparación a las muestras con TT. Las hifas pudieron penetrar entonces en la parte más degradada del LDPE.

Otake y col. (1995), observaron la presencia de hifas en la parte más degradada del LDPE, distinguida por el cambio de transparencia del material, la parte más degradada presentaba una apariencia opaca (blanquecina) atribuida a una erosión debida a la degradación, esta parte fue analizada por FTIR encontrando presencia de grupos carbonilo y dobles enlaces (estos grupos no se encontraron en la parte más transparente del material).

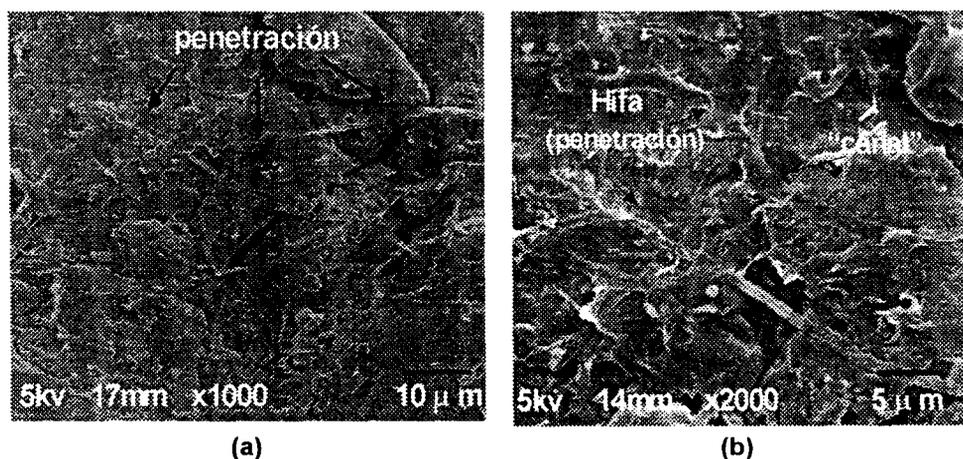


Figura 6.25. Micrografías del LDPE con envejecimiento acelerado; (a) con penetración de hifas y (b) con hifas formando un "canal".

En conclusión, se encontró un mayor crecimiento de microorganismos en las muestras con un mayor grado de oxidación. Se observaron hifas incrustadas en la superficie del LDPE, sobretodo en las muestras más oxidadas (un mayor número en la muestra con ENV). Las muestras con TT a 150°C y ENV sometidas a TB presentaron además el mayor IDE después de 9 meses, estos resultados son similares a los encontrados por Otake y col. (1995) en muestras de LDPE altamente biodegradadas, después de 32 años. La penetración de hifas en el polímero da como resultado la formación de canales, posiblemente por la acción enzimática de los microorganismos aquí empleados.

Estas observaciones podrían sugerir la existencia de distintas zonas cercanas a la superficie del LDPE: una más dura (posiblemente rica en fracción cristalina) en donde sólo se observó crecimiento superficial de hifas y otra más blanda (rica en fracción amorfa) en donde se apreció penetración de hifas de los hongos utilizados.

En este capítulo se han presentado los resultados obtenidos después del tratamiento biológico del LDPE tratado térmicamente o con envejecimiento acelerado. Algunos de nuestros resultados coinciden con los reportados en la literatura, la cual en su mayoría muestra evidencia de biodegradación en el LDPE con hongos filamentosos después de un largo tiempo de tratamiento biológico (de 10 a 32 años). Albertsson y col. (1988), reportan que 10 años es poco tiempo para apreciar un deterioro en el LDPE. Nuestros resultados, mostraron cierta biodegradación en menos de un año de tratamiento biológico con una mezcla de hongos filamentosos. En este trabajo se observaron dos etapas en la biodegradación del LDPE, la primera representada por un aumento en la cristalinidad posiblemente debida a un ataque de los microorganismos en la parte amorfa del material (durante los primeros 3 meses de TB) y la segunda etapa (después de 3 meses de TB) representada por una disminución en la cristalinidad, producción de dobles enlaces y aumento en el tamaño promedio de cristal, lo que podría indicar un posible ataque de los microorganismos sobre los cristales más pequeños o imperfectos.

## CAPÍTULO VII

### CONCLUSIONES

- El tratamiento térmico (TT) del polietileno de baja densidad (LDPE) promovió una disminución en la cristalinidad, en la temperatura de inicio de fusión y en el punto de fusión. Estos cambios indican la formación de cristales más pequeños. Las muestras con tratamiento fisicoquímico (TFQ) provocaron un incremento en los grupos carbonilo y vinilo. El envejecimiento acelerado (ENV) promovió el mayor nivel de oxidación (70% mayor comparado con TT), pero también pudo provocar reacciones de entrecruzamiento y/o recocado en el LDPE.
- Durante el tratamiento biológico (TB) del LDPE se observó un mecanismo con 2 etapas. La 1ª durante los primeros 3 meses, en donde se presentó un aumento en la cristalinidad asociado con el consumo de la parte amorfa del LDPE. En la 2ª etapa (después de 3 meses) se detectó una disminución en la cristalinidad, asociada con el ataque microbiano sobre cristales más pequeños, esto fue confirmado por la disminución en tamaño promedio de cristal ( $L_{110}$ ).
- La disminución en el índice carbonilo (IC) observado después del TB (muestras con TT mayor a 105°C) sugiere que los microorganismos preferentemente utilizaron las moléculas más oxidadas; sin embargo, el aumento en el IC en las muestras TT a 105°C y ENV indica una oxidación microbiana sobre las cadenas más cortas. Lo anterior sugiere la coexistencia de dos mecanismos químicos de biodegradación.
- Aunque ambos TFQ promovieron cambios químicos y morfológicos en el LDPE, el TT favoreció más la biodegradabilidad del LDPE; los efectos de recocado o entrecruzamiento de la muestra con ENV pudieron dificultar la acción de los microorganismos provocando que la biodegradabilidad fuera menor. Sin embargo, el alto nivel de oxidación por el ENV favoreció la mineralización del LDPE.
- Los TFQ favorecieron la biodegradación del LDPE pero ésta fue limitada. Sin embargo, a partir de los cambios morfológicos y químicos observados durante el TB se concluye que la biodegradación del LDPE procede por la coexistencia de diferentes mecanismos de biodegradación que pueden depender de la accesibilidad que los microorganismos tengan sobre los grupos oxidados.

## CAPÍTULO VIII

### RECOMENDACIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos se puede recomendar para otros estudios de biodegradación lo siguiente:

1. La utilización de un tratamiento fisicoquímico en donde no se favorezcan reacciones de entrecruzamiento y recocido del polímero
2. El tratamiento térmico utilizado en este trabajo es recomendable para un incremento en la fracción amorfa del LDPE
3. Debido a la complejidad del mecanismo de biodegradación del polietileno de baja densidad, se sugiere un estudio de biodegradación utilizando sustancias modelo para el polímero (oligómeros).
4. En estudios de biodegradación de compuestos en condiciones aerobias, es importante el uso de un dispositivo experimental en donde no exista limitación de oxígeno.
5. Debido a que algunos polímeros son difíciles de asimilar por los microorganismos, se pueden emplear compuestos de fácil asimilación que puedan actuar como co-sustrato durante la biodegradación.
6. La utilización de la técnica de cromatografía de permeación en gel (GPC) para la evaluación del efecto de la acción microbiana sobre el peso molecular.

## REFERENCIAS

1. Akmal, N. and Usmani, A.M. Regulated cross-linking and degradation of polyolefins. Citado por Vasile, C. and Seymour, R.B. (eds.) Handbook of polyolefins: synthesis and properties. Marcel Dekker Inc. USA, 553-560, 1993.
2. Al -Malaika, S., Chohan, S., Coker, M., Scott, G., Arnaud, R., Dabin, P., Fauve, A and Lemaire, J. (1995). A comparative study of the degradability and recyclability of different classes of degradable polyethylene. *Journal of Macromolecular Science: Pure and Applied Chemistry*, **A32(4)**: 709-730.
3. Albertsson, A.C., Bánhidi, Z.G. and Beyer-Ericsson, L.L. (1978). Biodegradation of synthetic polymers. III. The liberation of  $^{14}\text{CO}_2$  by molds like *Fusarium redolens* from  $^{14}\text{C}$  labeled pulverized high density polyethylene. *Journal of applied polymer science*, **22**: 3435-3477.
4. Albertsson, A.C. and Rånby B. (1979). Biodegradation of Synthetic polymers. IV. The  $\text{CO}_2$  method applied to linear polyethylene containing a biodegradable additive. *Journal of Applied Polymer Science: Applied Polymer Symposium*, **35**: 423-430.
5. Albertsson, A.C., Andersson S. O. and Karlsson, S. (1987). The Mechanism of biodegradation of Polyethylene. *Polymer Degradation and Stability*, **18**: 73-87.
6. Albertsson, A.C. and Karlsson, S. (1988). The three stages in degradation of polymers-polyethylene as a model substance. *Journal of Applied Polymer Science*, **35**: 1289-1302.
7. Albertsson, A.C. and Karlsson, S. Citados por Glasser, J.E. and Swift, G. (Eds.). Agricultural and Synthetic Polymers. Biodegradability and Utilization. ACS Symposium Series No. 433, American Chemical Society, Washington, DC, 1990, p. 60.
8. Albertsson, A.C., Barenstedt, C., Karlsson, S. and Linberg T. (1992). Susceptibility of enhanced environmentally degradable polyethylene to thermal and photo-oxidation. *Polymer Degradation and Stability*, **37**:163-171.

9. Albertsson, A.C., Barenstedt, C., Karlsson, S. and Linberg, T. (1995). Degradation product pattern and morphology changes as means to differentiate abiotically and biotically aged degradable polyethylene. *Polymer*, **36** (16): 3075-3083.
10. Alexander, L.A. X-Ray Diffraction method in polymer Science, Krieger R.E. New York, 1979.
11. Atlas, R. M., (1981), Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbons: an Environmental Perspective. *Microbial Reviews*, **45**(1):180-209.
12. Bailey, W.J., Okamoto, Y., Kuo, W. and Narita T. (1976). Biodegradable polyamide. In *Proceedings of the 3<sup>rd</sup> International Biodeterioration Symposium*. Sharpley, J.M. and Kaplan, A.M. (eds.), London; Applied Science Publishers., 765-773. Citado por Cain, R.B. (1992). Microbial Degradation of Synthetic Polymers. Microbial Control of Pollution. Cambridge University Press. Cambridge, 293-338.
13. Baptist, J.N., Gholson, R. K. and Coon, M.J. (1963), *Biochim. Biophys. Acta* 69, 40. Citado por Schnabel, W. (1981). Polymer Degradation. Principles and Practical Applications. Hanser. New York.
14. Barna, P.K., Bahat, S.D., Pillai, K.R., Singh, H.D., Barnah J.N. and Iyengar, M.S. (1970), *Appl. Microb.*, 20(5), 657. Citado por Weiland. M., Daro, A. and David, C. (1995). Biodegradation of thermally oxidized polyethylene. *Polymer Degradation and Stability*, **48**: 275-289 (1995).
15. Billmeyer, F. W. Textbook of Polymer Science. John Wiley and Sons, Tokio, 1971.
16. Boustead, I. and Charlesby , A. (1967), *Europ. Polym. J.*, **3**, 459. Citado por Ranby, B. and Rabek, J. F. Photodegradation, Photo-oxidation and Photostabilization of Polymers. Principles and Applications. John Wiley and Sons. London, 1975.
17. Cain, R.B. (1992). Microbial Degradation of Synthetic Polymers. Microbial Control of Pollution. Cambridge University Press. Cambridge, 293-338.
18. Colin, G., Cooney, D. and Wiles, D.M. (1976). Some factors influencing the microbial degradation of polyethylene. *International Biodeterioration Bulletin*, **12**: 67-71.

19. Conley, R.T (Ed.). Thermal Stability of Polymers. Marcel Dekker, New York, Vol. 1, 1970.
20. Darby, R.T. and Kaplan, A.M. (1968). Fungal susceptibility of polyurethanes. *Applied Microbiology*, 16, 900-905. Citado por Cain, R.B. (1992). Microbial Degradation of Synthetic Polymers. Microbial Control of Pollution. Cambridge University Press. Cambridge, 293-338.
21. Dolezel, B. (1967). *Britt. Plastics*, 49:105. Citado por Raghavan, D. and Torma, A.E. (1992). DSC and FTIR characterization of biodegradation of polyethylene. *Polymer Engineering and Science*, 32(6): 438-442.
22. Erlandsson, B., Karlsson, S. and Albertsson, A.C. (1997). The mode of action of corn starch and a prooxidant system in LDPE: influence of thermooxidation and UV-irradiation on the molecular weight changes. *Polymer degradation and Stability*, 55: 237-245.
23. Gowariker, V. R., Viswanathan, N. V. and Sreedhar, J. Polymer Science. John Wiley and Sons., India, 1986.
24. Grassie, N en Mark, H. F., Gaylord, N. G. and Bikales, N. M. (Eds.). Encyclopedia of Polymer Science and Technology. Plastics, Resins, Rubbers, Fibers. Vol. 4. Ed. Board, 1966.
25. Grassie, N. (1964). Thermal Degradation. En Fettes, E.M. (Ed.). Chemical Reactions of Polymers. Interscience Publishers. New York, 1964.
26. Griffin, G.J. L. (1988). Citado por Albertsson, A.C., Barenstedt, C., Karlsson, S. and Linberg. (1995). Degradation product pattern and morphology changes as means to differentiate abiotically and biotically aged degradable polyethylene. *Polymer*, 36 (16): 3075-3083.
27. Griffin, G. L.(1973, 1976, 1980). Citado por Albertsson, A.C. and Karlsson, S. En Glasser, J.E. and Swift, G. (Eds.). Agricultural and Synthetic Polymers. Biodegradability and Utilization. ACS Symposium Series No. 433, American Chemical Society, Washington, DC, 1990, p. 60.
28. Groenawe, M. P., Schuyer, J., Smidt, J. and Tuijman, A. F. Absorption and Relaxion Spectra of Polyolefins (1965). En Raff, R. A. and Doak, K. W. (Eds).

- High Polymers. Crystalline Olefin Polymers. Vol. 20 (I). Interscience Publishers, New York, 1965.
29. Gugumus, F. (1996). Thermooxidative degradation of polyolefins in the solid state. Part 1. Experimental kinetics of functional group formation. *Polymer Degradation and Stability*, **52**: 131-144.
30. Haines, J.R. and Alexander, M. (1974), *Appl. Microb.*, **28** (6): 1084. Citado por Weiland, M., Daro, A. and David, C. (1995). Biodegradation of thermally oxidized polyethylene. *Polymer Degradation and Stability*, **48**: 275-289.
31. Hansen R. H. (1970). Thermal and Oxidative degradation of Polyethylene, Polypropylene and Related Olefin Polymers En Conley, R.T (Ed.). Thermal Stability of Polymers. Marcel Dekker, New York, Vol. 1, 1970.
32. Herman, M. and Gaylord, N (Eds). Encyclopedia of Polymer Science and Technology, Vol. 4. Board, New York, 1966.
33. Holmström, A. and Sörvik, E. (1974). Thermal Degradation of Polyethylene in a Nitrogen Atmosphere of Low Oxygen Content. III. Structural Changes Occurring in Low-Density Polyethylene at Oxygen Contents Bellow 1.2%. *Journal of Applied Polymer Science*, **18**: 3153-3178
34. Hopkins, S.J. and Chibnall, A.C. (1932). Growth of *Aspergillus versicolor* on higher paraffins. *Biochemistry journal*, **26**: 133-142.
35. Johnson, R. (1987). An SPI overview of degradable plastics. In *Proceedings of Symposium on Degradable Plastics*, pp. 6-12. Washington DC: Society of the Plastics Industry. Citado por Cain, R.B. (1992). Microbial Degradation of Synthetic Polymers. Microbial Control of Pollution. Cambridge University Press. Cambridge, 293-338.
36. Kawai, F. (1987). The Biochemistry of Degradation of Polyethers. *CRC Critical Reviews in Biotechnology*, **6**, 273-307. Citado por Cain, R.B. (1992). Microbial Degradation of Synthetic Polymers. Microbial Control of Pollution. Cambridge University Press. Cambridge, 293-338.
37. Klemchuk, P. P. (1990). Degradable Plastics: A critical Review. *Journal Degradation and Stability*. **27**: 183-202

38. Leahy, J. G. and Colwell, R.R. (1990), *Microbiol. Rev.*, **54**: 305. Citado por Weiland, M., Daro, A. and David, C. (1995). Biodegradation of thermally oxidized polyethylene. *Polymer Degradation and Stability*, **48**: 275-289.
39. Lee, B., Pometto III, A. L., Fratzke, A. and Bailey T.B. (1991). Biodegradation of degradable plastic polyethylene by *Phanerochaete* and *Streptomyces* species. *Applied and environmental microbiology*, **57**(3): 678-685.
40. Limón González Margarita y Trejo Quintero Gabriel. Tesis de licenciatura de Ingeniería Química. "Evaluación de los Efectos Físicoquímicos y Microbiológicos en el Polietileno de Baja Densidad". Universidad Autónoma de Tlaxcala, 1996.
41. Lora de la Fuente O. Análisis Cuantitativo de Mezclas de Sulfametoxazol y Trimetropin por Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier. Tesis para la obtención del título de Química, México, 1998.
42. Luongo, J. P.(1963). *Journal Polymer Science*, **B-1**:141 en Reich, L. and Stivala, S. S. Elements of Polymer degradation. Mc. Graw Hill, 1971.
43. Luongo, J. P. (1963). *Polymer Science*, **B-1**: 141. Citado por Reich L. and Stivala S. (1971). Elements of Polymer Degradation. Mc. Graw-Hill, 1971.
44. Manzur, A., Cuamatzi, F. and Favela, E. (1997). Effect of the growth of *Phanerochaete chrysosporium* in a blend of low density Polyethylene and sugar cane bagase, *Journal of Applied Polymer Science*, **66**: 105-111.
45. Martínez de las Marías, P. Química y Física de los altos polímeros. Alhambra, Madrid, 1972.
46. Martínez Pardo María E. Tesis de Maestría en Ciencias. "Física de Radiaciones y Seguridad Radiológica". Universidad Nacional Autónoma de México, 1990.
47. Miller, R. L. (1965). Crystalline and Spherulitic Properties. En Raff, R. A. and Doak, K. W. (Eds). High Polymers. Crystalline Olefin Polymers. Vol 20 (I). Interscience Publishers, New York, 1965.
48. Muñoz, S. A.(1989). Residuos sólidos plásticos. Tratamiento y reciclado. CIFCA. Madrid. p.9.

49. Musto, P., Karasaz, F.E. and Macknight, W.J. (1993), *Polymer*, **34**(14): 2934.  
Citado por Pages, P., Carrasco, F., Saurina, J. and Colom, X. (1996). FTIR and DSC study of HDPE structural changes and mechanical properties variation when exposed to weathering aging during canadian winter, *Journal of Applied Polymer Science*, **60**: 153-159.
50. Norling, P. M. and Tobolsky, A. V. (1970). En Conley, R.T (Ed.). *Thermal Stability of Polymers*. Marcel Dekker, New York, Vol. 1, 1970.
51. Otake, Y., Kobayashi, T., Assabe, H. and Murakami, N. (1995). Biodegradation of low-density polyethylene, polystyrene, polyvinyl chloride and urea formaldehyde resin buried under soil for over 32 years. *Journal of Applied Polymer Science*, **56**:1789-1796.
52. Pages, P., Carrasco, F., Saurina, J. and Colom, X. (1996). FTIR and DSC study of HDPE structural changes and mechanical properties variation when exposed to weathering aging during canadian winter. *Journal of Applied Polymer Science*, **60**: 163-159.
53. Palmisano, A. C. and Pettigrew, C. A. (1992). Biodegradability of Plastics. Consistent methods for testing claims of biodegradability need to be developed. *BioScience*, **42** (9) 680-685.
54. Potts, J.E, Clendinnig, R. A., Ackart, W.B. and Niegisch, W.D. (1973). The biodegradability of synthetic polymers. *Polymers and ecological problems*. Polymer Science and Technoloy. Vol. 3. Plenum Press, New York-London. p. 61-79.
55. Potts, J.E. (1984). Plastics, environmentally degradable. *Encyclopedia of Chemical Technology*. M. Graysin, M (Ed.). Wiley-Interscience, New York, p. 626-668.
56. Raghavan, D. and Torma, A.E. (1992). DSC and FTIR characterization of biodegradation of polyethylene. *Polymer Engineering and Science*, **32**(6): 438-442.
57. Ranby, B. and Rabek, J. F. *Photodegradation, Photo-oxidation and Photostabilization of Polymers. Principles and Applications*. Wiley and Sons. London, 1975.

58. Reich L. and Stivala S. (1971). Elements of Polymer Degradation. Mc. Graw-Hill, 1971.
59. Sánchez S. A. and Estrada M.R. (1992). On the influence of sands on low density polyethylene photodegradation. *Polymer Degradation and Stability*, **52**: 305-309.
60. Sancho, J. y Rosiles, G. (1999). Situación Actual del Manejo Integral de los Residuos Sólidos en México. SEDESOL.
61. Sawyer L. C. and Grubb D. T. Polymer Microscopy . Chapman and Hall, London 1987.
62. Scott, G. (1990). Photo-biodegradable Pastics: Their Role in the Protection of the Environment. *Polymer Degradation and Stability*, **29**:135-154.
63. Scott, G. (1994). Polymer Stabilization and Controlled Degradation: Two Sides of the Same Coin. *Journal of Applied Polymer Science: Applied Polymer Symposium*, **55**: 3-14
64. Schlegel H.G. (1976), *Allgemeine Mikrobiologie*, 4 Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 356. Citado por Albertsson, A.C., Andersson S. O. and Karlsson, S. (1987). The Mechanism of biodegradation of Polyethylene. *Polymer Degradation and Stability*, **18**: 73-87.
65. Schnabel, W. (1981). Polymer Degradation. Principles and Practical Applications. Hanser. New York.
66. Tabb, D. L. and Korning, J.L. (1975), *Macromolecules*, **8**, 929. Citado por Pages, P., Carrasco, F., Saurina, J. and Colom, X. (1996). FTIR and DSC study of HDPE structural changes and mechanical properties variation when exposed to weathering aging during canadian winter, *Journal of Applied Polymer Science*, **60**: 153-159.
67. Tena, Gerardo. (1995). La Basura Recurso Desperdiciado. *Ciencia y Desarrollo*. **121**: 88-121.
68. Trubiroha, P. (1989) In Int. Conf. Advances in stabilization and controlled degradation of polymers, A.V. Patsis (ed.), Vol. 1 Technomic Publishing Lancaster, PA, p.236. Citado por Xingzhou Hu. (1997) Wavelength sensitivity of photo-oxidation of polyethylene. *Polymer Degradation and Stability*, **55**: 131-134.

69. Ureta, B. E. Polímeros. Estructura, Propiedades y Aplicaciones. Limusa. México. 1989.
70. Valle, L. E. e Islas J.M. (1995) Tesis de licenciatura en Química: Degradación del LDPE formulado con fécula de maíz. Facultad de Química. UNAM.
71. Vert, M. (1992) in *Biodegradable Polymers and Plastics* (Vert M. *et al.*, eds.), Royal Society of chemistry, p.1. Citado por Scott, G. and Gilead, D. (eds.). *Degradable Polymers, Principles and applications*, Chapman &Hall, London. 1995.
72. Vuillemin, N., Dupeyron, C., Lelulan, G. and Bory, J. (1981), *Ann. Pharma. Francaises*, **39**(2): 155. Citado por Weiland. M., Daro, A. and David, C. (1995). Biodegradation of thermally oxidized polyethylene. *Polymer Degradation and Stability*, **48**: 275-289.
73. Weiland, M. and David, C. (1994). Thermal oxidation of polyethylene in compost environment. *Polymer Degradation and Stability*, **45**: 371-377.
74. Weiland, M., Daro, A. and David, C. (1995). Biodegradation of thermally oxidized polyethylene. *Polymer Degradation and Stability*, **48**: 275-289.
75. Winslow, F.H., Aloisio, C. J., Hawkins, W. L., Matreyek, W and Matsuoka, S. (1964). *Chem. Ind. (London)*, 533. Citado por Reich L. and Stivala S. (1971). *Elements of Polymer Degradation*. Mc. Graw-Hill.
76. Wunderlich, B. (1973). *Macromolecular Physics*; Academic Press: New York, Vol. 1. Citado por Butler, M.F., Donald, A.M., Bras, W., Mant, G.R., Derbyshire, G.E. and Ryan, A.J. (1995). A real-Time Simultaneous Small- and Wide-Angle X-ray Scattering Study of *In-Situ* Deformation of Isotropic Polyethylene. *Macromolecules*, **28** (19): 6383-6393.
77. Xingzhou Hu. (1997). Wavelength sensivity of photo-oxidation of polyethylene. *Polymer Degradation and Stability*, **55**: 131-134.
78. Young, R, J. and Lovell, P.A. (Eds.). *Introduction to Polymers*. Chapman and Hall. London, 1991

## ANEXO A

En éste anexo se presentan los resultados en algunas propiedades térmicas del LDPE después de ser sometido a dos tratamientos fisicoquímicos: térmico (a 90, 105, 120, 135 y 150°C) o por envejecimiento acelerado (70°C y 310 nm).

**Tabla A1. Temperatura de inicio de fusión del LDPE sin tratar, tratado térmicamente (90,105,120,135 y 150) o con envejecimiento acelerado (ENV).**

MUESTRA	Temperatura de inicio de fusión (°C)	
	Primera corrida	Segunda corrida
LDPE	94.2 ± 0.6	97.0 ± 0.5
90	95.4 ± 0.5	97.1 ± 0.1
105	85.5 ± 0.1	91.1 ± 0.4
120	93.0 ± 0.4	94.9 ± 0.6
135	94.1 ± 0.0	95.8 ± 0.0
150	93.5 ± 0.6	95.7 ± 0.3
ENV	93.7 ± 0.3	97.2 ± 0.4

**Tabla A2. Punto de fusión (T<sub>m</sub>) del LDPE sin tratar, tratado térmicamente (90,105,120,135 y 150) o con envejecimiento acelerado (ENV).**

MUESTRA	Punto de fusión (°C)	
	Primera corrida	Segunda corrida
LDPE	105.3 ± 0.3	104.2 ± 0.0
90	105.0 ± 0.5	104.2 ± 0.1
105	102.2 ± 0.4	102.9 ± 0.1
120	104.7 ± 0.3	103.5 ± 0.4
135	105.1 ± 0.3	103.8 ± 0.1
150	104.5 ± 0.1	103.5 ± 0.1
ENV	105.4 ± 0.2	104.5 ± 0.3

**Tabla A3. Calor de fusión (CF) del LDPE sin tratar, tratado térmicamente (90,105,120,135 y 150) o con envejecimiento acelerado (ENV).**

MUESTRA	Calor de fusión (J/g)	
	Primera corrida	Segunda corrida
LDPE	105.8 ± 3.2	96.4 ± 1.9
90	96.2 ± 1.4	88.9 ± 1.0
105	83.3 ± 2.1	76.8 ± 3.0
120	88.0 ± 1.7	79.3 ± 1.9
135	86.9 ± 3.1	80.2 ± 2.4
150	83.9 ± 0.2	78.6 ± 1.9
ENV	120.1 ± 0.4	94.5 ± 4.4

**Tabla A4. Cristalinidad ( $\Phi$ ) del LDPE sin tratar, tratado térmicamente (90,105,120,135 y 150) o con envejecimiento acelerado (ENV).**

MUESTRA	Cristalinidad (%)	
	Primera corrida	Segunda corrida
LDPE	23.3 ± 0.2	17.5 ± 0.3
90	20.6 ± 0.3	14.7 ± 0.0
105	20.2 ± 0.9	13.9 ± 0.6
120	19.0 ± 1.0	15.8 ± 0.8
135	17.1 ± 0.2	13.6 ± 0.2
150	14.3 ± 0.9	13.8 ± 0.2
ENV	24.2 ± 0.3	16.9 ± 0.2

## ANEXO B

Éste anexo contiene los resultados del LDPE, tratado térmicamente o con envejecimiento acelerado y después sometido a un tratamiento biológico durante 9 meses con una mezcla de hongos (*Aspergillus niger*, *Gliocadium virens*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Penicillium pinophilum*).

**Tabla B1. Temperatura de inicio de fusión, en primera corrida del LDPE, tratado térmicamente (105,120 y 150) o con envejecimiento acelerado (ENV) incubado durante 9 meses con la mezcla de hongos (MZ)**

MUESTRA	Temperatura de inicio de fusión (°C)			
	0 meses	3 meses	6 meses	9 meses
LDPE/MZ	94.2 ± 0.6	94.2 ± 0.2	93.4 ± 0.3	93.5 ± 0.4
105/MZ	85.5 ± 0.1	85.2 ± 0.4	84.0 ± 0.4	85.2 ± 0.5
120/MZ	93.0 ± 0.4	92.7 ± 0.7	92.4 ± 0.3	92.6 ± 0.5
150/MZ	93.5 ± 0.6	92.5 ± 0.2	93.2 ± 0.1	93.1 ± 0.2
ENV/MZ	93.7 ± 0.3	93.2 ± 0.5	93.0 ± 0.4	93.7 ± 0.3

**Tabla B2. Temperatura de inicio de fusión, en segunda corrida, del LDPE, tratado térmicamente (105,120 y 150) o con envejecimiento acelerado (ENV) incubado durante 9 meses con la mezcla de hongos (MZ)**

MUESTRA	Temperatura de inicio de fusión (°C)			
	0 meses	3 meses	6 meses	9 meses
LDPE/MZ	97.0 ± 0.5	97.1 ± 0.0	96.7 ± 0.3	97.2 ± 0.4
105/MZ	91.1 ± 0.4	88.6 ± 0.3	89.1 ± 1.1	89.7 ± 0.2
120/MZ	94.9 ± 0.6	94.3 ± 0.2	94.8 ± 0.1	95.3 ± 0.3
150/MZ	95.7 ± 0.3	94.8 ± 0.1	95.2 ± 0.1	95.7 ± 0.0
ENV/MZ	97.2 ± 0.4	96.3 ± 0.2	96.4 ± 0.6	96.6 ± 0.2

**Tabla B3. Cristalinidad ( $\Phi$ ), en primera corrida, del LDPE, tratado térmicamente (105,120 y 150) o con envejecimiento acelerado (ENV) incubado durante 9 meses con la mezcla de hongos (MZ)**

MUESTRA	Cristalinidad (%)			
	0 meses	3 meses	6 meses	9 meses
LDPE/MZ	23.3 $\pm$ 0.2	22.7 $\pm$ 0.1	20.3 $\pm$ 2.3	19.5 $\pm$ 0.2
105/MZ	20.2 $\pm$ 1.9	26.7 $\pm$ 0.8	24.9 $\pm$ 1.2	19.2 $\pm$ 0.4
120/MZ	19.0 $\pm$ 1.0	21.2 $\pm$ 0.2	21.4 $\pm$ 0.7	16.1 $\pm$ 0.4
150/MZ	14.3 $\pm$ 0.9	20.4 $\pm$ 0.1	21.7 $\pm$ 0.3	17.5 $\pm$ 0.6
ENV/MZ	14.2 $\pm$ 0.3	23.1 $\pm$ 0.9	19.0 $\pm$ 0.5	19.9 $\pm$ 0.3

**Tabla B4. Cristalinidad ( $\Phi$ ), en segunda corrida, del LDPE, tratado térmicamente (105,120 y 150) o con envejecimiento acelerado (ENV) incubado durante 9 meses con la mezcla de hongos (MZ)**

MUESTRA	Cristalinidad (%)			
	0 meses	3 meses	6 meses	9 meses
LDPE/MZ	17.5 $\pm$ 0.3	17.1 $\pm$ 1.5	17.0 $\pm$ 1.6	14.0 $\pm$ 0.3
105/MZ	13.9 $\pm$ 0.6	19.1 $\pm$ 0.0	17.2 $\pm$ 1.0	15.6 $\pm$ 0.6
120/MZ	15.8 $\pm$ 0.8	16.0 $\pm$ 0.4	15.4 $\pm$ 1.0	11.9 $\pm$ 0.5
150/MZ	13.8 $\pm$ 0.2	14.9 $\pm$ 0.4	15.3 $\pm$ 0.5	11.9 $\pm$ 0.2
ENV/MZ	16.9 $\pm$ 0.2	17.1 $\pm$ 0.4	16.2 $\pm$ 1.2	14.9 $\pm$ 0.0

**Tabla B5. Punto de fusión (Tm), en primera corrida, del LDPE, tratado térmicamente (105,120 y 150) o con envejecimiento acelerado (ENV) incubado durante 9 meses con la mezcla de hongos (MZ)**

MUESTRA	Punto de fusión (°C)			
	0 meses	3 meses	6 meses	9 meses
LDPE/MZ	105.3 ± 0.3	105.4 ± 0.3	104.4 ± 0.0	104.8 ± 0.3
105/MZ	102.2 ± 0.4	101.0 ± 0.3	101.5 ± 0.0	101.6 ± 0.3
120/MZ	104.7 ± 0.3	103.7 ± 0.2	103.9 ± 0.1	104.3 ± 0.1
150/MZ	104.5 ± 0.1	103.7 ± 0.1	103.9 ± 0.3	103.6 ± 0.3
ENV/MZ	105.4 ± 0.2	104.6 ± 0.1	104.1 ± 0.5	104.3 ± 0.2

**Tabla B6. Punto de fusión (Tm) en segunda corrida del LDPE, tratado térmicamente (105, 120 y 150 °C) y con envejecimiento acelerado (ENV) incubado durante 9 meses con la mezcla de hongos (MZ),.**

MUESTRA	PUNTO DE FUSIÓN (°C)			
	0 meses	3 meses	6 meses	9 meses
LDPE/MZ	104.2 ± 0.1	104.6 ± 0.1	103.8 ± 0.2	104.6 ± 0.3
105/MZ	102.9 ± 0.1	102.7 ± 0.1	102.0 ± 0.3	103.3 ± 0.3
120/MZ	103.5 ± 0.7	103.2 ± 0.1	103.5 ± 0.2	104.1 ± 0.3
150/MZ	103.5 ± 0.1	103.3 ± 0.1	103.3 ± 0.1	104.0 ± 0.3
ENV/MZ	104.5 ± 0.3	104.0 ± 0.1	103.8 ± 0.2	105.2 ± 0.2

## ANEXO C

El análisis estadístico de las muestras de LDPE con tratamiento fisicoquímico y biológico se realizó utilizando el paquete estadístico SAS. La variable analizada correspondió al índice de los grupos químicos de interés en este trabajo: Índice carbonilo (IC), de dobles enlaces (IDE), de metilo (IM) y de vinilo (IV).

Este anexo contiene las clasificaciones, en grupos Duncan, de las muestras en función de las diferencias significativas, considerando  $\alpha= 0.0001$  (confiabilidad del 99%).

NOTA: Los datos son considerados no significativos si:

1.  $\alpha$  menor a 0.0001
2. Tienen letras iguales en los grupos Duncan.

Los resultados presentados a continuación corresponden a muestras de LDPE, con tratamiento térmico o con envejecimiento acelerado sometidas a un tratamiento biológico durante 9 meses con la mezcla de hongos. Los resultados estadísticos son presentados en función del tiempo del tratamiento biológico.

**Tabla C1. Grupo Duncan para el índice carbonilo (1715/1460) del LDPE durante 9 meses de tratamiento biológico.**

TIEMPO DE TB	MEDIA	GRUPO DUNCAN
0	0.0180	C
3	0.0178	C
6	0.0245	B
9	0.0344	A

$R^2=0.4691$

$\alpha=0.0001$

**Tabla C2. Grupo Duncan para el índice carbonilo (1715/1460) del LDPE con TT a 105°C durante 9 meses de tratamiento biológico.**

TIEMPO DE TB	MEDIA	GRUPO DUNCAN
0	0.1691	B
3	0.2738	A
6	0.2712	A
9	0.2558	A

$R^2=0.8300$

$\alpha=0.0001$

**Tabla C3. Grupo Duncan para el índice carbonilo (1715/1460) del LDPE con TT a 120°C durante 9 meses de tratamiento biológico.**

TIEMPO DE TB	MEDIA	GRUPO DUNCAN
0	0.1665	A
3	0.1498	A
6	0.0597	B
9	0.0739	B

$R^2=0.8071$

$\alpha=0.0001$

**Tabla C4. Grupo Duncan para el índice carbonilo (1715/1460) del LDPE con TT a 150°C durante 9 meses de tratamiento biológico.**

TIEMPO DE TB	MEDIA	GRUPO DUNCAN
0	0.12135	A
3	0.07223	B
6	0.06395	B
9	0.07187	B

$R^2=0.8426$

$\alpha=0.0001$

**Tabla C5. Grupo Duncan para el índice carbonilo (1715/1460) del LDPE con ENV durante 9 meses de tratamiento biológico.**

TIEMPO DE TB	MEDIA	GRUPO DUNCAN
0	0.2907	B
3	0.3040	B
6	0.3727	A
9	0.3975	A

$R^2=0.7276$

$\alpha=0.0001$

**Tabla C6. Grupo Duncan para el índice metilo (1375/1460) del LDPE durante 9 meses de tratamiento biológico.**

TIEMPO DE TB	MEDIA	GRUPO DUNCAN
0	0.2421	A
3	0.2287	A
6	0.2208	AB
9	0.2049	B

$R^2=0.1370$

$\alpha=0.0135$

**Tabla C7. Grupo Duncan para el índice metilo (1375/1460) del LDPE con TT a 105°C durante 9 meses de tratamiento biológico.**

TIEMPO DE TB	MEDIA	GRUPO DUNCAN
0	0.2327	A
3	0.2257	A
6	0.2076	B
9	0.2065	B

$R^2=0.7032$

$\alpha=0.0001$

**Tabla C8. Grupo Duncan para el índice metilo (1375/1460) del LDPE con TT a 120°C durante 9 meses de tratamiento biológico.**

TIEMPO DE TB	MEDIA	GRUPO DUNCAN
0	0.2397	A
3	0.2403	A
6	0.2491	A
9	0.2459	A

$R^2=0.0286$

$\alpha=0.5883$

**Tabla C9. Grupo Duncan para el índice metilo (1375/1460) del LDPE con TT a 150°C durante 9 meses de tratamiento biológico.**

TIEMPO DE TB	MEDIA	GRUPO DUNCAN
0	0.2028	B
3	0.1988	B
6	0.2529	A
9	0.2515	A

$R^2=0.7814$

$\alpha=0.0001$

**Tabla C10. Grupo Duncan para el índice metilo (1375/1460) del LDPE con ENV durante 9 meses de tratamiento biológico.**

TIEMPO DE TB	MEDIA	GRUPO DUNCAN
0	0.2150	B C
3	0.2102	C
6	0.2280	A B
9	0.2400	A

$R^2=0.5618$

$\alpha=0.0001$

