

00579



UNAM
POSGRADO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA
FACULTAD DE QUÍMICA**

**SÍNTESIS Y ESTUDIO DE BIODEGRADACIÓN DE
DOS FAMILIAS DE POLIURETANOS DE
ESTRUCTURA CONOCIDA**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN INGENIERÍA QUÍMICA
(PROCESOS - POLÍMEROS)
P R E S E N T A:
I.Q. LUIS FERNANDO PÉREZ LARA

ASESOR: DR. M. JAVIER CRUZ GÓMEZ



MÉXICO, D.F.

2005

0350028



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

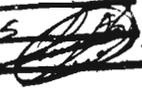
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Luis Fernando Pérez Lara

FECHA: 18/Nov/2005

FIRMA: 

JURADO ASIGNADO:

- | | |
|-----------------|-------------------------------|
| Presidente: | DR. GUSTAVO GARCÍA DE LA MORA |
| Secretario: | DR. FERNANDO ROJAS GONZÁLEZ |
| Vocal: | DR. ALFONSO DURÁN MORENO |
| 1er. Suplente | DRA. HERMINIA LOZA TAVERA |
| 2 do. Suplente: | DRA. ROCÍO ANTONIO CRUZ |

LUGAR O LUGARES DONDE SE REALIZÓ LA TESIS:

Laboratorio 212, Conjunto E, Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Química, UNAM
Laboratorio 105, Conjunto E, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas, Facultad de Química, UNAM

Asesor



DR. M. JAVIER CRUZ GÓMEZ

Sustentante



I.Q. LUIS FERNANDO PÉREZ LARA

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México y al Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería.

Muy especial al Dr. Javier Cruz Gómez, asesor de esta tesis, por el gran apoyo brindado en todos los aspectos para la realización del trabajo.

A la Dra. Herminia Loza Tavera del departamento de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas de la Facultad de Química, UNAM, por sus valiosos comentarios para este trabajo y en cuyo laboratorio se llevó a cabo el aislamiento de la cepa BIQ-08 y todas las pruebas de biodegradación.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, **CONACYT**, por la beca crédito otorgada con número de registro: *173281*, durante el periodo de agosto de 2002 a agosto de 2004, que comprende los 4 semestres de Maestría.

A la Dirección General de Estudios de Postgrado, **DGEP**, por el complemento de beca otorgado durante el periodo de agosto de 2002 a agosto de 2004 que comprende los 4 semestres de Maestría.

A la Unidad de Servicios Académicos y de Investigación, **USAI**, por todas las facilidades para la realización de las determinaciones de espectroscopia, en especial a la Q. Maricela Gutiérrez Franco de espectroscopia de infrarrojo, a la Q.F.B. Rosa Isela del Villar Morales de resonancia magnética nuclear y al I.Q. Iván Puente Lee de microscopia electrónica de barrido.

A la M. en C. Brenda Porta Briseño y el M. en C. Néstor Noé López Castillo por el apoyo técnico brindado. Al M. en C. Agustín Carrillo García y al Q.A. Alejandro Ocegüera Cervantes por su amplia colaboración para el montaje de las técnicas de biodegradación y el aislamiento de la cepa BIQ-08.

A todos los que son parte importante de mi vida

RESUMEN

Mediante un trabajo de colaboración multidisciplinario entre el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas, y el Departamento de Ingeniería Química, ambos de la Facultad de Química de la UNAM, se ha aislado una cepa bacteriana, de la especie *Comamonas testosteroni* o *Pseudomonas alcaligenes* (se requiere de pruebas adicionales para su clasificación precisa), a la que se denominó cepa BIQ-08, la cual es capaz de utilizar un poliuretano hidrosoluble (Hydroform®) como su única fuente de carbono. El análisis de los medios de cultivo muestra la actividad de una enzima esterasa. Se decidió estudiar la capacidad de estas bacterias para alimentarse de diversos poliuretanos y el posible mecanismo de degradación (teniendo estos materiales bien caracterizados). Se sintetizaron cuatro polioles dos alifáticos y dos aromáticos de peso molecular alrededor de 1,200 g/gmol y polidispersidades muy cercanas a 1; éstos fueron caracterizados por espectroscopia de infrarrojo (IR) y de resonancia magnética nuclear (RMN). Con los polioles sintetizados se prepararon dos familias de poliuretanos una con 4,4'-difenildisocianato de metileno (methylene 4,4'-diphenyldisocyanate: **MDI**) y otra con 2,4-diisocianato de tolueno (toluene disocyanate: **TDI**). Los poliuretanos tuvieron pesos moleculares peso promedio (Mw) alrededor de 100,000 g/gmol y distribuciones grandes de pesos moleculares. Los materiales se caracterizaron por IR (donde se encontró formación de ciclos de isocianatos, llamados isocianuratos, que son debidos al entrecruzamiento de los poliuretanos). Se encontró que estas bacterias son capaces de crecer en cultivos líquidos con polioliol como única fuente de carbono. En las pruebas con poliuretano como única fuente de carbono, se observa crecimiento sostenido en la población de bacterias en 6 días sin presentar caídas aparentes en la tasa de duplicación. El crecimiento de la cepa BIQ-08 con poliuretano como única fuente de carbono, es favorecido por la sección alifática presente en las cadenas de poliuretano, la presencia de metilos colgantes en las cadenas de polímero y por el grado de entrecruzamiento del polímero. Se encontró degradación de la superficie de todos los poliuretanos, siendo los más afectados los de bajo peso molecular, que no son los que sostienen un mayor crecimiento bacteriano. Mediante IR se logró identificar la presencia de cadenas de poliuretanos hidrolizadas en el sobrenadante de todos los cultivos, mientras que por cromatografía de gases acoplada a espectroscopia de masas, se logró identificar **dipropilen glicol (DPG)**, un adipato ácido de dipropilen glicol y ácido adípico, lo cual implica que las bacterias rompen las uniones éster presentes en las moléculas de poliuretano.

Índice de tablas	iv
Índice de figuras	v
Índice de abreviaturas	vii
Resumen	viii
Introducción	1
Planteamiento	3
Hipótesis	3
Objetivo	4
Metas	4
1. Generalidades	6
1.1 El entorno de los poliuretanos	6
1.2 Clasificación de los poliuretanos	9
1.3 Materias primas para la obtención de poliuretanos	11
1.3.1 Isocianatos	11
1.3.1.1 Diisocianato de tolueno (TDI)	13
1.3.1.2 Difenil diisocianato de metileno (MDI)	14
1.3.2 Polioles	17
1.3.2.1 Polioles – poliéter	17
1.3.2.2 Polioles – poliéster	20
1.3.2.3 Prepolímeros	21
1.3.3 Catalizadores	22
1.3.3.1 Aminas terciarias	24
1.3.3.2 Compuestos organometálicos	25
1.3.4 Agentes de espumado	26
1.3.5 Modificadores de propiedades	27
1.4 Métodos de obtención de poliuretanos	29
1.4.1 Formas de preparación	31
1.5 Métodos de caracterización de polímeros	32
1.5.1 Espectroscopia de infrarrojo (IR)	33
1.5.2 Espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN)	34

1.5.3	Cromatografía de permeación en gel (GPC)	35
1.5.4	Viscosimetría	36
1.6	Biodegradación de polímeros	37
1.6.1	Biodegradación de poliuretanos	39
1.7	Aislamiento de la cepa BIQ-08	42
1.7.1	Actividad enzimática asociada a la cepa BIQ-08	43
2.	Desarrollo experimental	44
2.1	Obtención y caracterización de polioles - poliéster	44
2.1.1	Polioles – poliéster a partir de un diácido carboxílico	45
2.1.2	Polioles – poliéster a partir de un anhídrido ftálico	47
2.1.3	Determinación de grupos hidroxilo (-OH) en los polioles	48
2.1.4	Viscosidad, densidad e índice de color	49
2.1.5	Pesos moleculares promedio de polioles	50
2.1.6	Espectroscopia de IR y RMN	51
2.2	Caracterización de isocianatos	51
2.2.1	Determinación de grupos isocianato	52
2.2.2	Caracterización de la estructura por IR y gases - masas	52
2.2.3	Determinación de peso molecular promedio y propiedades físicas	53
2.3	Obtención y caracterización de poliuretanos	54
2.3.1	Poliuretanos a partir de polioles sintetizados	54
2.3.2	Peso molecular de poliuretanos	55
2.3.2.1	Viscosimetría	58
2.3.2.2	Análisis por GPC	58
2.3.3	Determinación de la estructura de los poliuretanos por IR	59
2.4	Prueba de biodegradación	59
2.4.1	Preparación del medio de cultivo	60
2.4.2	Determinación de crecimiento bacterial	61
2.4.1.1	Método para DPG y DEG	61
2.4.1.2	Método para polioles	61
2.4.1.3	Método para isocianatos	62
2.4.1.4	Método para poliuretanos	62
2.4.3	Determinación de los productos de biodegradación	63
2.4.3.1	Preparación de muestras	63

2.4.3.2	Extracción de los productos de degradación	64
2.4.3.3	Identificación de los productos de degradación	64
3.	Resultados y discusión	66
3.1	Preparación y caracterización de polioles – poliéster	66
3.2	Caracterización de MDI y TDI	74
3.3	Preparación y caracterización de poliuretanos – poliéster	83
3.3.1	Caracterización de la estructura de los poliuretanos por IR	87
3.4	Resultados de pruebas de biodegradación	97
3.4.1	Pruebas de biodegradación de materias primas	97
3.4.2	Pruebas de biodegradación de poliuretanos	101
3.4.3	Obtención de los productos de degradación	111
4.	Conclusiones	118
	Bibliografía	122
	Apéndice A. Preparación de medios de cultivo	132
	Apéndice B. Caracterización de la bacteria	134
	Apéndice C. Diagramas de GPC	137

ÍNDICE DE TABLAS

CAPÍTULO 1

Tabla 1.1	Consumo mundial de polioles e isocianatos (1,000 t)	8
Tabla 1.2	Diisocianatos más comunes	12
Tabla 1.3	Iniciadores para polioles poliéter	18
Tabla 1.4	Algunos catalizadores a base de aminas terciarias	25
Tabla 1.5	Algunos catalizadores organometálicos	26

CAPÍTULO 2

Tabla 2.1	Resumen de reacciones de síntesis de polioles – poliéster	44
Tabla 2.2	Formulaciones de preparación de los poliuretanos	55
Tabla 2.3	Resumen de reacciones de síntesis de poliuretanos – poliéster	56

CAPÍTULO 3

Tabla 3.1	Contenido de grupos hidroxilo de los polioles obtenidos	67
Tabla 3.2	Pesos moleculares y viscosidad intrínseca de polioles	68
Tabla 3.4	Espectros de IR de los polioles aromáticos y señales características	70
Tabla 3.5	Espectros de IR de los polioles alifáticos y señales características	72
Tabla 3.6	Espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C de los polioles-poliéster	75
Tabla 3.7	Propiedades de los diisocianatos utilizados como materia prima	79
Tabla 3.8	Caracterización de los poliuretanos por GPC y viscosimetría	84
Tabla 3.9	Análisis de espectros de IR de los poliuretanos a partir de MDI	88
Tabla 3.10	Análisis de espectros de IR de los poliuretanos a partir de TDI	93
Tabla 3.11	Crecimiento de bacterias en materias primas (glicoles e isocianatos)	98
Tabla 3.12	Crecimiento de bacterias en polioles	99
Tabla 3.13	Cuantificación de crecimiento en polioles	100
Tabla 3.14	Conteo de viables en los cultivos con poliuretanos a partir de MDI (UFC/mL)	102
Tabla 3.15	Crecimientos $[\Delta(\text{UFC})]$ comparados para polioles y poliuretanos de MDI	102
Tabla 3.16	Conteo de viables en los cultivos con poliuretanos a partir de TDI (UFC/mL)	105

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1.1.	Áreas de aplicación del poliuretano en el mundo en el año 2000	9
Figura 1.2	Proceso de fabricación de TDI	13

CAPÍTULO 2

Figura 2.1	Sistema de reacción para obtención de polioles-poliéster	65
------------	--	----

CAPÍTULO 3

Figura 3.1	Curva de calibración universal de poliestireno en THF	68
Figura 3.2	Análisis por cromatografía del TDI utilizado	79
Figura 3.3	Análisis por cromatografía del MDI utilizado	80
Figura 3.4	Espectros de masas de los isómeros componentes del MDI	80
Figura 3.5	Espectros de masas de los isómeros componentes del TDI	81
Figura 3.6	Espectro de IR del MDI	82
Figura 3.7	Espectro de IR del TDI	82
Figura 3.8	Secuencia de reacciones de formación de un poliuretano	83
Figura 3.9	Curvas de crecimiento de la cepa BIQ-08 para poliuretanos de MDI	103
Figura 3.10	Placas de la dilución 10^{-5} correspondientes al tercer día de incubación	104
Figura 3.11	Curvas de crecimiento de la cepa BIQ-08 para poliuretanos de TDI	105
Figura 3.12	Comparativo global de crecimiento de los poliuretanos	106
Figura 3.13	Placas de microscopio electrónico de poliuretanos del MDI	109
Figura 3.14	Placas de microscopio electrónico de poliuretanos del TDI	110
Figura 3.15	Espectros de masas y estructuras propuestas de productos de degradación	112
Figura 3.16	Espectros de IR del polímero y del sobrenadante para el poliuretano MDI-2	114
Figura 3.17	Espectros de IR del polímero y del sobrenadante para el poliuretano TDI-2	115
Figura 3.18	Mecanismo propuesto de biodegradación de poliuretano con la cepa BIQ-08	117

APÉNDICE B

Figura B.1	Curva de crecimiento de la cepa BIQ-08 en LB	134
------------	--	-----

Figura B.2	Actividad enzimática de la cepa BIQ-08 a las 15h de incubación	135
Figura B.3	Crecimiento de la cepa BIQ-08 en poliuretano hidrosoluble	136
APÉNDICE C		
Figura C.1	Diagrama de GPC para poliol DPG-AAD-DPG	136
Figura C.2	Diagrama de GPC para poliol DPG-AFT-DPG	136
Figura C.3	Diagrama de GPC para poliol DEG-AAD-DEG	137
Figura C.4	Diagrama de GPC para poliol DEG-AFT-DEG	137
Figura C.5	Diagrama de GPC para MDI 2 (DPG-AFT-DPG-MDI)	138
Figura C.6	Diagrama de GPC para MDI 1 (DEG-AFT-DEG-MDI)	138
Figura C.7	Diagrama de GPC para TDI 1 (DPG-AAD-DPG-TDI)	139
Figura C.8	Diagrama de GPC para TDI 2 (DPG-AFT-DPG-TDI)	139
Figura C.9	Diagrama de GPC para TDI 3 (DEG-AAD-DEG-TDI)	140
Figura C.10	Diagrama de GPC para TDI 4 (DEG-AFT-DEG-TDI)	140

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

IR	Espectroscopia de Infrarrojo
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
¹³ C	de Carbono 13
¹ H	de protón (Hidrógeno)
GPC	Cromatografía de Permeación en Gel (de sus siglas en inglés <u>G</u> el <u>P</u> ermeation <u>C</u> hromatography)
R	Reacción
E	Estructura
EQ	Ecuación
R.A.	Reactivo Analítico
APHA	Unidades de medida de índice de color
THF	Tetrahidrofurano
MDI	4,4'-difenildiisocianato de metileno
TDI	2,6-/ 2,4-diisocianato de tolueno
DEG	Dietilen glicol
DPG	Dipropilen glicol
AAD	Ácido Adípico
AFT	Anhídrido ftálico
UFC	Unidades Formadoras de Colonias. Bacterias viables
LB	Luria Bertani
MB	Medio Basal
D.O.660	Densidad óptica a 660 nm
DP	Grado de polimerización (de sus siglas en inglés <u>D</u> egree of <u>P</u> olymerization)
DMSO	Dimetil sulfóxido

INTRODUCCIÓN

Hoy en día existe una gran preocupación por la acumulación de grandes cantidades de desechos no biodegradables en los rellenos sanitarios de las ciudades ya sean grandes o pequeñas. La principal razón es la creciente necesidad de uso de materiales sintéticos en casi todos los ámbitos de las cadenas productivas de los países. Estos materiales sintéticos, principalmente polímeros de alto peso molecular, son de difícil degradación y los procedimientos de reciclaje en general no alcanzan a cubrir la enorme cantidad de desechos generados.

Uno de los materiales poliméricos que más auge han tenido en los últimos años son los poliuretanos, obtenidos inicialmente en la búsqueda de polímeros competidores comerciales de las fibras de nylon en los años 30 del siglo pasado; los poliuretanos revolucionaron al mercado y establecieron los principios de polimerización etapa por etapa en la química de los polímeros. ⁽¹⁾ Debido a la gran versatilidad de uso de los poliuretanos, sus características de resistencia mecánica, física y química los han elevado a ser uno de los principales materiales presentes en muchos productos de consumo humano, directa o indirectamente.

Los poliuretanos se pueden obtener como espumas ya sean rígidas o flexibles, elastómeros y fibras, entre otras presentaciones; éstos se utilizan en una amplia gama de industrias y productos, como en empaques, adhesivos, muebles, acabados imitación madera, adornos, aislantes térmicos, muros y aislantes de construcciones, partes de autos e incluso implantes médicos.

Los poliuretanos tienen tantas y diversas formulaciones como aplicaciones. Esta característica les proporciona una gran complejidad en el tratamiento de sus desechos, ya que no se puede establecer un método general de tratamiento o reutilización. Existen poliuretanos que se utilizan para implantes en el cuerpo, los cuales en su fabricación y formulación, está implícito que sean biodegradables por los fluidos corporales; sin embargo, la gran mayoría de los poliuretanos que se formulan y fabrican, son para otro tipo de aplicaciones y sin haber hecho un plan para su disposición final cuando han

cumplido su vida útil, se acumulan como la mayoría de los otros materiales sintéticos, en los depósitos de basura.

En este entorno existen dos rutas principales de desarrollo a explorar. Una de estas rutas es modificar las formulaciones de poliuretanos para hacer que los que se utilizan en aplicaciones no biológicas, sean fáciles de biodegradar o degradar por tratamiento (químico o térmico), cuando éstos hayan cumplido su vida útil. Por otro lado, dado que ya existen grandes cantidades de poliuretanos acumulándose en los basureros, la otra ruta que se puede seguir es trabajar con métodos de tratamiento de los residuos actuales que no sean prohibitivos en términos económicos.

Se han desarrollado varios métodos para degradar algunos poliuretanos, principalmente lineales, mediante tratamientos térmicos ⁽²⁾, químicos ⁽³⁾ o biológicos ⁽⁴⁾. Los datos demuestran que se pueden biodegradar los poliuretanos con microorganismos que existen de manera natural. ^(5,6)

Mediante un trabajo de colaboración multidisciplinario entre el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas, y el de Ingeniería Química, ambos de la Facultad de Química de la UNAM, se ha aislado una cepa bacteriana, que fue clasificada como *Comamonas testosteroni* o *Pseudomonas alcaligenes* (se requiere de pruebas adicionales para su clasificación precisa, ver Apéndice B), la cual se denominó cepa BIQ-08. Esta cepa fue aislada por su capacidad de utilizar como su única fuente de carbono a un poliuretano hidrosoluble (Hydroform®). El análisis del sobrenadante de los medios de cultivo mostró la actividad de una enzima esterasa, capaz de romper los enlaces éster disponible en el sustrato. ⁽⁷⁾

Este trabajo pretende analizar como es el efecto de estas bacterias sobre un grupo de poliuretanos lineales de estructura conocida, obtenidos mediante una síntesis controlada. Realizando varias combinaciones de glicoles y diácidos carboxílicos se obtuvieron los polioles, que en combinación con las dos fuentes principales de isocianatos que se emplean en la industria, proporcionaron los poliuretanos que se utilizaron para las pruebas de biodegradación, cuya característica principal fue que la estructura genérica es bien conocida, lineal y de distribución de peso molecular conocido.

PLANTEAMIENTO

Se ha aislado una cepa bacteriana (BIQ-08), de la especie *Comamonas testosteroni* o *Pseudomonas alcaligenes*, que es capaz de utilizar a un poliuretano hidrosoluble comercial (Hydroform®), como su única fuente de carbono. Mediante el análisis de los medios de cultivo se observa una actividad esterasa. Sin embargo, debido a que el Hydroform® es un prepolímero de poliuretano de formulación no bien conocida, es necesario determinar si esta cepa es capaz de alimentarse sólo de cadenas de poliuretano – poliéster. Si se cultivara a estas bacterias en un medio de formulación conocida, sería posible detectar los productos de degradación de los poliuretanos después de un tiempo de crecimiento de las bacterias en dicho medio.

HIPÓTESIS

Con los poliuretanos – poliéster obtenidos se elaborará un cultivo inoculado con la cepa BIQ-08 en donde estos poliuretanos serán la única fuente de carbono. En estos medios se presentará degradación del poliuretano por las bacterias, por lo que se podrá cuantificar la capacidad de crecimiento de éstas.

En el sobrenadante del medio se podrá obtener los productos de degradación debidos al efecto de las bacterias.

Si los poliuretanos tienen la estructura controlada, la identificación de los productos de degradación dará información acerca del mecanismo de ruptura de la molécula de polímero que las bacterias provocan.

OBJETIVO

Obtener en forma controlada 8 poliuretanos, que tendrán algunas modificaciones estructurales entre cada uno, controlando en lo posible la síntesis para eliminar la presencia de materiales extraños.

Cuantificar la capacidad de crecimiento de la cepa BIQ-08 en un medio cuya única fuente de carbono sea cada uno de los poliuretanos sintetizados.

Realizar la determinación de los productos de degradación de poliuretanos producidos por la actividad enzimática de la cepa BIQ-08.

METAS

Obtener en el laboratorio, 4 polioles-poliéster lineales, a partir de las combinaciones siguientes: dietilen glicol (DEG) + ácido adípico, DEG + anhídrido ftálico, dipropilen glicol (DPG) + ácido adípico y DPG + anhídrido ftálico; los cuales tendrán funcionalidad teórica de 2.

Obtener en el laboratorio bajo condiciones controladas, dos familias de poliuretanos lineales, una familia a partir del 2,4-diisocianato de tolueno (toluene diisocyanate: TDI) y otra del 4,4'-difenildiisocianato de metileno (methylene 4,4'-diphenyldiisocyanate: MDI), utilizando como fuente de grupos hidroxilo de cadena lineal, los 4 polioles - poliéster obtenidos anteriormente.

Realizar la caracterización de los polioles obtenidos mediante IR, RMN, GPC y determinación de grupos hidroxilo.

Realizar la caracterización a cada uno de los poliuretanos obtenidos, mediante IR para determinar la estructura general de los polímeros y obtener por GPC su peso molecular promedio y su distribución de pesos moleculares.

Realizar pruebas de degradación en los 4 polioles obtenidos, con la cepa BIQ-08, para determinar la capacidad de ésta de alimentarse de los grupos funcionales presentes en

los poliols. Establecer de forma cualitativa un patrón preliminar de degradación de los poliuretanos que procedan de cada poliol.

Establecer si la cepa BIQ-08 es capaz de alimentarse de las materias primas originales de los poliuretanos; para ello se realizarán pruebas de crecimiento de las bacterias en DEG, DPG, MDI y TDI con la finalidad de establecer posibles desviaciones de los resultados de biodegradación por residuos de estos materiales en los poliuretanos.

Realizar en los 8 poliuretanos obtenidos, pruebas de degradación con la cepa BIQ-08, obteniendo las curvas de crecimiento de las bacterias en presencia de poliuretano como única fuente de carbono. Establecer relaciones preliminares entre el tipo de estructura química, peso molecular y grupos funcionales, que favorezcan la biodegradación con esta cepa bacteriana.

Identificar los productos de degradación presentes en los medios de cultivo con los diferentes poliuretanos, para establecer los posibles patrones de ruptura de las moléculas de polímero realizados por la cepa BIQ-08.

CAPÍTULO 1.

GENERALIDADES

1.1 El entorno de los poliuretanos

Desde el descubrimiento de los poliuretanos por el profesor Otto Bayer en 1937, éstos han adquirido gran importancia por su utilidad en el mercado, en donde se les ha encontrado una gran variedad de aplicaciones. Éstas se encuentran muy relacionadas con las características propias de cada uno de ellos, mismas que se pueden visualizar al estudiar un poco la química de los poliuretanos.

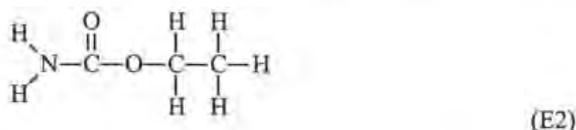
Para empezar es necesario aclarar a que se refiere el uso del término “poliuretano”, que más que una exactitud es una conveniencia, ya que este polímero no es un derivado de la polimerización de monómeros de uretano como se pensaría erróneamente, es más bien un polímero que contiene en su molécula muchos grupos uretano. Usualmente los poliuretanos son obtenidos por la combinación de un poli-isocianato y reactivos que tienen grupos terminales hidroxilo como poliéteres, aceite de ricino, glicoles, u otros grupos reactivos tales como aminas o carboxilos. Un poliuretano típico puede contener en adición a los grupos uretano, hidrocarburos alifáticos y/o aromáticos, ésteres, éteres, amidas y urea. A veces también se les llama uretanos o polímeros de isocianato.

Los poliuretanos pueden ser considerados como un éster del ácido carbámico, de tal forma que el grupo uretano tiene la configuración E1.

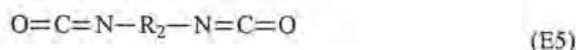
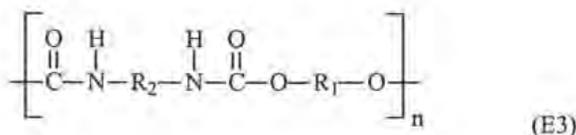


Los poliuretanos tienen un número significativo de estos grupos uretano, pero no necesariamente están repetidos en un orden regular.

Es importante nuevamente recalcar que los poliuretanos no son producto de la polimerización del etil carbamato (E2) que se ha conocido por muchos años con el término de "uretano" y los poliuretanos no pueden ser depolimerizados o hidrolizados para dar este compuesto, ni tampoco se puede utilizar este compuesto como una base para obtener la toxicidad o las características asociadas a cualquier poliuretano.



Existen muchas combinaciones de isocianatos di o polifuncionales con grupos de terminación hidroxilo di o polifuncionales. La estructura general idealizada de un poliuretano lineal (E3), será a partir de un diol (E4) y un diisocianato (E5).



Donde los grupos R_1 y R_2 pueden ser muy diversos y cambiar drásticamente entre un poliuretano y otro.

Las características descritas con anterioridad hacen que los poliuretanos sean muy versátiles, tanto que en la actualidad se les ha encontrado una amplia gama de aplicaciones que van desde productos para aislamiento térmico hasta implantes médicos.⁽⁸⁾

Los poliuretanos en el mercado son generalmente vendidos como preparaciones de polioles con aditivos incluyendo el catalizador de polimerización, que el usuario debe mezclar con un isocianato para obtener así su poliuretano con las características especiales para la aplicación deseada; aunque también en el menor de los casos es vendido en forma de piezas prefabricadas. Por lo anterior, para tener un estimado de cuál ha sido el consumo de poliuretano en los últimos años es necesario recurrir a las cifras reportadas de consumo de las materias primas, polioles e isocianatos (tabla 1.1).

El mercado de los poliuretanos, alcanzó un consumo mundial en el año 2000 del orden de 8.5 millones de toneladas, y se previó de 9.5 millones de toneladas, en el 2002, y de 10.6 millones de toneladas, para el 2004. Hoy en día, el poliuretano ocupa la sexta posición, con aproximadamente 5 % del mercado de los plásticos ampliamente vendidos en el mundo. Los centros de consumo más grandes son América del Norte, Europa y el Continente Asiático. ⁽⁹⁾

Tabla 1.1 Consumo mundial de polioles e isocianatos (1,000 t). ⁽⁹⁾

AÑO	2000	2002	2004
Poliol poliéter	3465	3880	4350
Poliol poléster	1180	1330	1490
MDI	2370	2650	2970
TDI	1441	1610	1800
TOTAL	8460	9470	10610

Actualmente los poliuretanos forman parte importante de la vida cotidiana, por ejemplo, en el área de espumas flexibles, el poliuretano se utiliza en la fabricación de colchones, tapicería y asientos para automóviles; las aplicaciones semi-rígidas son utilizadas en la industria automotriz para tableros, parachoques, descansa brazos, etc.; los elastómeros se enfocan más a la industria del calzado; y las espumas rígidas, son usadas para el aislamiento térmico de refrigeradores, congeladores y camiones, además de en la industria de la construcción. Por último, se tiene la aplicación del poliuretano como recubrimientos (pinturas, selladores, adhesivos, etc.). Aunque los campos de aplicación de los poliuretanos

son muy diversos, se han hecho estadísticas a nivel mundial sobre este punto, una de ellas se muestra en la figura 1.1. En la sección 1.2 se verán con más detalle las aplicaciones de los poliuretanos.

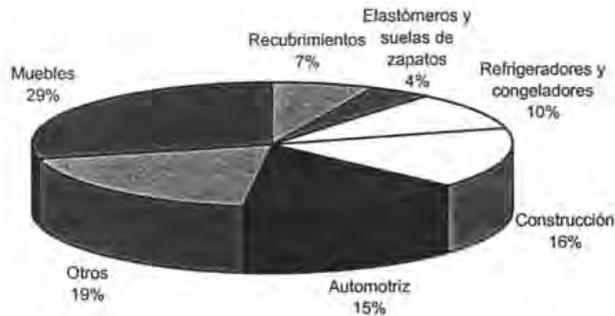


Figura 1.1 Áreas de aplicación del poliuretano en el mundo en el año 2000. ⁽⁹⁾

1.2 Clasificación de los poliuretanos

Debido a que los poliuretanos se pueden obtener de isocianatos y poliols que pueden ser de diversos tipos con gran variedad de puntos reactivos, además de utilizar diferentes aditivos en sus formulaciones, es posible obtener materiales con gran variedad de propiedades que definen la clasificación de sus diversos grados.

Los poliuretanos se clasifican de acuerdo con la aplicación en el mercado en tres grupos:

- a) Elastómeros
- b) Espumas
- c) Recubrimientos

Los poliuretanos elastoméricos son duros, resistentes a la abrasión, a los aceites y a la oxidación, sus principales usos se encuentran en la fabricación de suelas y tacones para zapatos, en la industria automotriz, para la elaboración de paneles elásticos, puertas, defensas, tableros, empaques para ventanas y otros componentes. Asimismo se utilizan para

la elaboración de rodillos industriales, sellos y juntas, empaques, llantas, bandas transportadoras, mangueras, tuberías y fibras elásticas, entre otros usos.

Las espumas de poliuretano se clasifican a su vez como flexibles, semi-rígidas o rígidas, dependiendo de sus propiedades mecánicas y densidades. Las aplicaciones de las espumas tienen que ver con la estructura celular de la espuma resultante.

En general las aplicaciones de las espumas de poliuretanos flexibles se encuentran en la industria mueblera y de transporte. Más del 90% de los poliuretanos flexibles se emplean para hacer colchones y para acolchonar muebles. En la industria de la transportación se consume un promedio de 16 kg de poliuretano flexible por coche, sólo para acolchonamiento y relleno. Otras aplicaciones conocidas son en la fabricación de laminados textiles y artículos de consumo, como esponjas, rodillos, aplicadores de pintura, juntas y forros.

El enorme uso de las espumas de poliuretano rígido para la industria de la construcción y como aislante industrial se debe a su propiedad aislante, su excelente capacidad de carga superior a otros materiales y su resistencia al fuego. Se usan como aislantes de tanques, recipientes, tuberías y aparatos electrodomésticos como refrigeradores y congeladores; en la industria de la construcción se utilizan en la elaboración de paneles, puertas, plafones decorativos, revestimientos residenciales y comerciales.

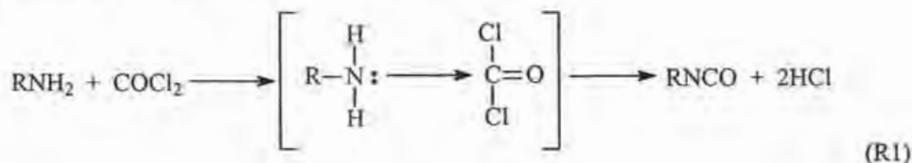
Los poliuretanos para recubrimientos se usan principalmente en la elaboración de pinturas, barnices, esmaltes, selladores, lacas, adhesivos, acabados para piel, como el charol; en recubrimientos empleados en la industria textil, automotriz y del transporte, en eléctrica, electrónica, así como en recubrimientos arquitectónicos; para maquinaria y equipo, maderas, productos de plástico, hule, artículos deportivos y acabados para pisos residenciales y marinos.

1.3 Materias primas para la obtención de poliuretanos

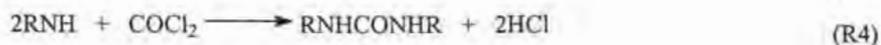
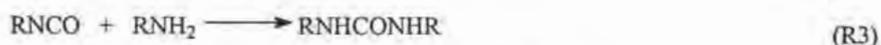
1.3.1 Isocianatos

Los isocianatos son compuestos cuya fórmula general es $R-N=C=O$, en la que R es un radical orgánico; su característica común es su elevada reactividad química frente a compuestos que disponen de hidrógenos activos, en este caso se encuentran los grupos hidroxilo (-OH), sulfhidrilo (-SH), amino (-NH₂), imino (=NH), carboxilo (-CO₂H), amida (-CONH₂), etc.

Existen diversos métodos descritos en la literatura sobre la producción de isocianatos. El método de mayor importancia comercial se basa en la fosgenación de aminas primarias. La reacción involucra el ataque nucleofílico del par libre del nitrógeno de la amina al carbono del carbonilo presente en el fosgeno (R1). La reacción se lleva a cabo generalmente en presencia de un solvente aromático clorado.



Se tienen además reacciones secundarias en donde se forman aminas hidrocloradas (R2), ureas sustituidas (R3 y R4) y cloruros de carbarilo (R5). Las aminas hidrocloradas también pueden reaccionar con el fosgeno, pero lo hacen bajo condiciones más severas de reacción.



Los isocianatos más utilizados en la industria son los diisocianatos (dos grupos isocianatos por molécula). En la tabla 1.2 se muestran los diisocianatos más comunes con algunas de sus propiedades fisicoquímicas.

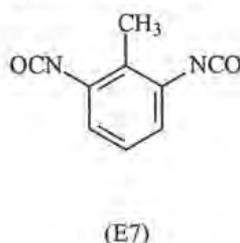
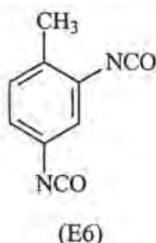
Los principales isocianatos empleados en la fabricación de poliuretanos son el 2, 4- y 2, 6- diisocianato de tolueno (toluene diisocyanate: TDI) y el 4,4'-difeníl diisocianato de metileno (methylene 4,4'-diphenyldiisocyanate: MDI). Aparte de estos dos isocianatos existen otros con aplicaciones específicas, por ejemplo, el 1,5 -diisocianato de naftaleno (1,5-naphthalene diisocyanate: NDI) se utiliza exclusivamente para elaborar elastómeros, debido a que le confiere al poliuretano resistencia a la abrasión y resistencia para exponerse a bajas temperaturas en comparación a cualquier otro isocianato; el 1,6 -diisocianato de hexametileno (1,6-hexamethylene diisocyanate: HDI) se utiliza para modificar recubrimientos y elastómeros; el diisocianato de isoforona (isophorone diisocyanate: IPDI) se emplea también en la modificación de recubrimientos, entre otras aplicaciones.

Tabla 1.2 Diisocianatos más comunes.

PROPIEDADES	TDI	MDI	HDI	NDI	IPDI
Fórmula	$C_9H_6N_2O_2$	$C_{15}H_{10}N_2O_2$	$C_8H_{12}N_2O_2$	$C_{12}H_6N_2O_2$	$C_{12}H_{18}N_2O_2$
CAS	584-84-9	101-68-8	822-06-0	3173-72-6	4098-71-9
Peso molecular	174.16	250.3	168	210	222.29
Punto de ebullición	251°C	314°C	212.8°C	263°C	158°C
Densidad	1.22	1.23	1.04	-	1.062
Presión de vapor (mm Hg)	0.05 (25°C)	0.00014 (25°C)	0.05 (24°C)	0.003 (24°C)	0.0003 (20°C)
Flash-point	135°C	196°C	140°C	155°C	155°C
Solubilidad	Hidrocarburos aromáticos, nitrobenzono, acetona, éter, ésteres	Hidrocarburos, nitrobenzono, acetona, éter, ésteres	Solventes orgánicos		Miscible con ésteres, cetonas, éteres e hidrocarburos alifáticos y aromáticos
Nomenclatura química	Diisocianato de tolueno	4,4'-Difeníl diisocianato de metileno	1,6-Diisocianato de hexametileno	1,5-Diisocianato de naftaleno	Diisocianato de isoforona

1.3.1.1 Diisocianato de tolueno (TDI)

El TDI ofrece mayor reactividad, por lo que es el compuesto con el que se alcanza menores tiempos en los ciclos de moldeo. Este isocianato identificado como un líquido incoloro o amarillento pálido, es difícil encontrarlo en su forma pura como 2,4-diisocianato de tolueno, más bien se logra encontrar como mezcla de sus isómeros 2,4-diisocianato de tolueno (E6) y 2,6-diisocianato de tolueno (E7) en una proporción 80/20 o 65/35.



El proceso de fabricación de TDI consiste en una primera etapa de nitración de tolueno para obtener una mezcla de los isómeros orto, meta y para-nitrotolueno. Estos isómeros se separan industrialmente a través de una destilación fraccionada. En una segunda etapa de nitración y dependiendo de los isómeros utilizados, se obtendrá el 2,4-dinitrotolueno o una mezcla en las proporciones antes mencionadas, como se muestra en la figura 1.2. Los grupo nitro de los dinitrotoluenos (DNT) son reducidos para obtener las toluendiaminas correspondientes para su posterior fosgenación (R6).

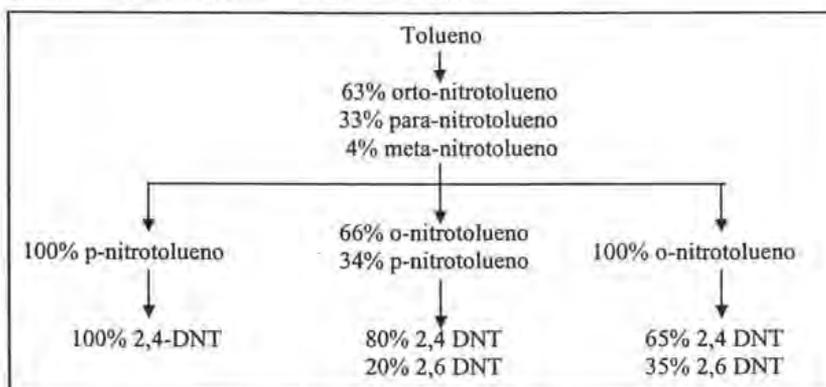
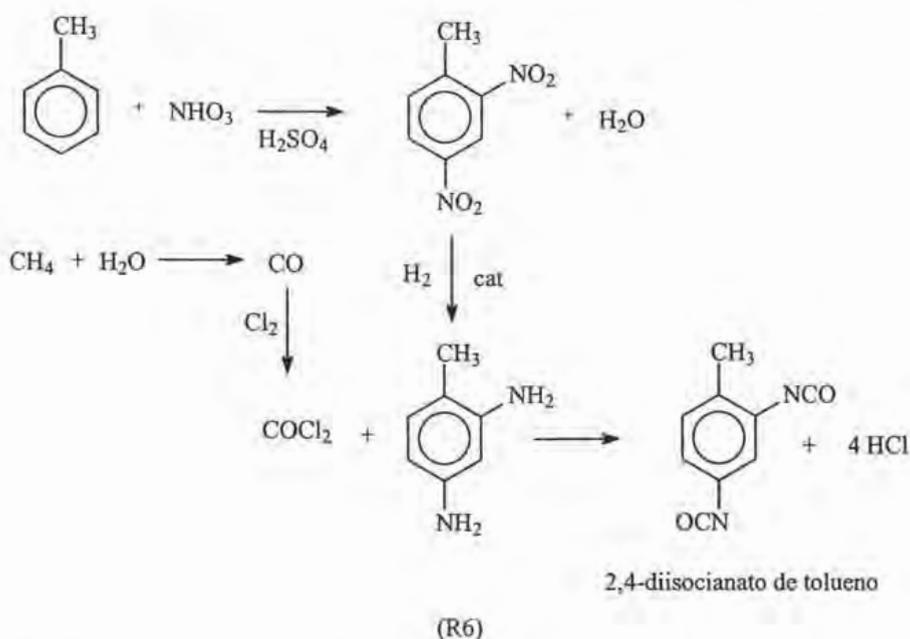


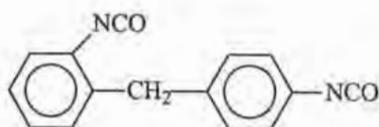
Figura 1.2 Proceso de fabricación de TDI. ⁽⁹⁾



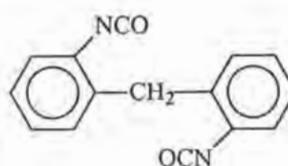
El TDI es normalmente utilizado para fabricar espumas flexibles de poliuretano, aunque en la actualidad se está restringiendo su uso por su elevada volatilidad y toxicidad.

1.3.1.2 Difenil diisocianato de metileno (MDI)

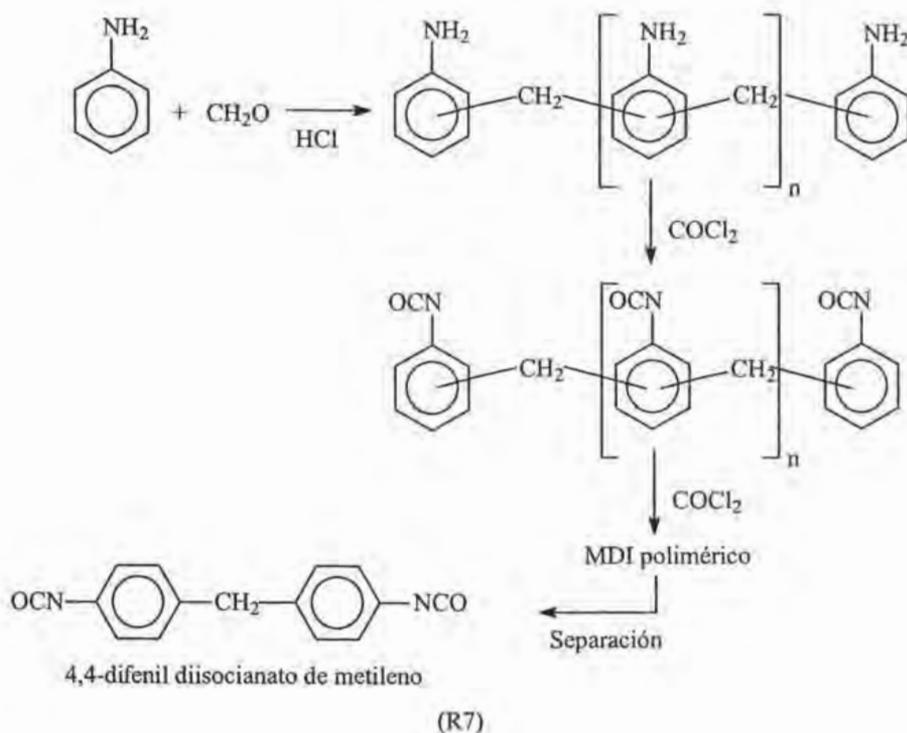
El MDI es fabricado a partir de difenil-metil-dianilina que es obtenida de una serie de reacciones que involucran a la anilina, formaldehído y fosgeno, seguidas por la purificación mediante destilación (R7). Previo a la destilación, la mezcla cruda contiene niveles significativos de di, tri e isocianatos de alta funcionalidad. Estos componentes consisten en múltiples estructuras en forma de anillos y se nombran como MDI poliméricos. Sin embargo, las reacciones para producir MDI son usualmente optimizadas para producir los dos isómeros aromáticos del MDI, el 2,4-difenil diisocianato de metileno (E8) y el 2,2-difenil diisocianato de metileno (E9).



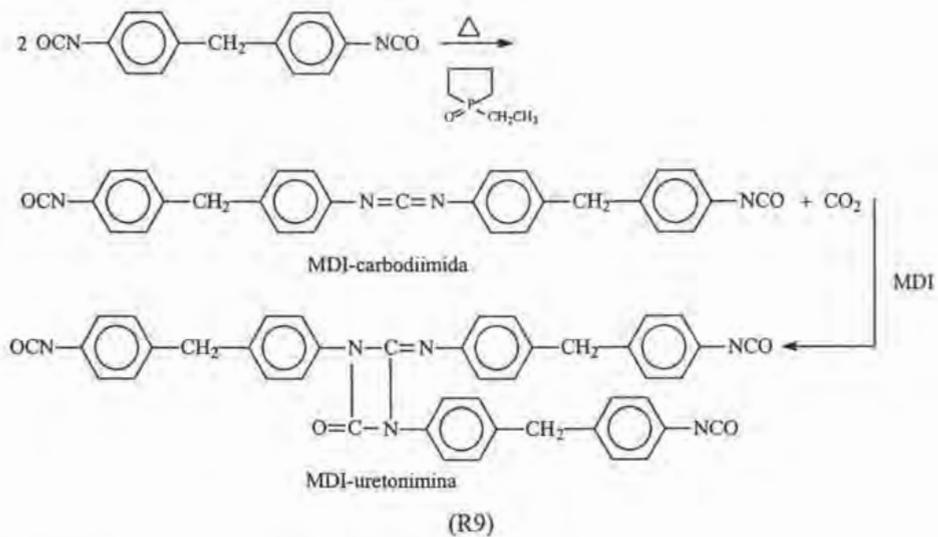
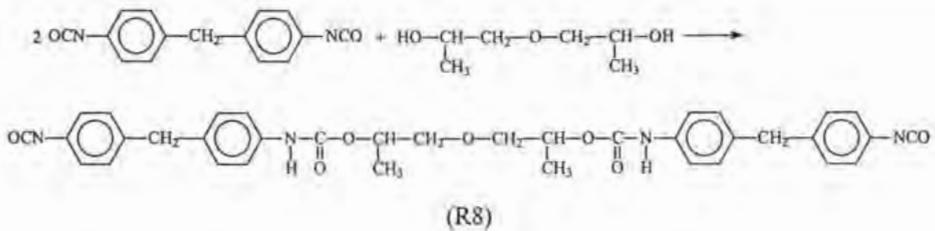
(E8)



(E9)



El MDI puro y sus isómeros son sólidos a temperatura ambiente, pero se pueden tratar para obtener un compuesto líquido manejable; uno de los métodos que se emplean para tal fin consiste en hacerlos reaccionar con un diol en una proporción 2:1 (R8); un segundo método involucra la conversión de parte del isocianato en carbodiimida, la cual reacciona con un exceso de isocianato para formar uretonimina (R9).⁽⁹⁾



El MDI es actualmente el isocianato más usado en el mercado, a pesar de su alto costo y el problema de manejo de sólidos, ya que es un compuesto con presión de vapor menor a la de otros isocianatos, como el TDI, lo cual repercute en los cuidados que se tienen que tener en su manejo. ⁽¹⁰⁾

Los MDI poliméricos o mezclas de éstos con isómeros puros se utilizan en formulaciones de espumas rígidas de poliuretano y en algunas flexibles. Éstos se diferencian entre sí por sus características de viscosidad, funcionalidad y reactividad.

1.3.2 Polioles

Los polioles son alcoholes polihidroxilicos, producto de la reacción de un óxido orgánico y un compuesto que contiene dos o más átomos de hidrógeno activo. El iniciador que se selecciona determina la funcionalidad del polioliol, siendo ésta definida como el número de grupos -OH reactivos por mol de polioliol.

Las características moleculares del polioliol afectan el tipo de poliuretano que se produce. Así por ejemplo, los productos que poseen peso molecular (PM) entre 1,000 y 6,000 g/gmol, con funcionalidad entre 1.8 y 3.0 dan origen a espumas flexibles y elastómeros. Los polioles de cadena corta con PM entre 250 y 1,000 g/gmol y alta funcionalidad (3 a 12) son usados en espumas rígidas y tintas de alto desempeño.⁽⁹⁾

Aparte de su funcionalidad y su estructura molecular, los polioles pueden ser caracterizados determinando analíticamente:

- a) El número de OH's disponibles para la reacción.
- b) El peso equivalente del grupo hidroxilo, que en teoría es el peso molecular del polioliol dividido entre su funcionalidad y en la práctica, el número de OH's obtenidos del análisis anterior se utiliza en lugar de la funcionalidad.⁽¹⁰⁾
- c) El porcentaje de agua residual en el polioliol resultado del uso de soluciones acuosas del catalizador (éste debe de estar por debajo del 0.05%).
- d) El número de ácido.

En la fabricación de poliuretanos se utilizan una gran variedad de polioles entre los que se encuentran:

- a) Polioles – poliéter
- b) Polioles - poliéster
- c) Prepolímeros

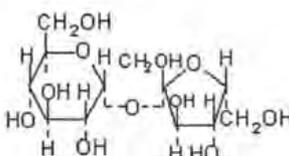
1.3.2.1 Polioles - poliéter

El uso comercial de los polioles poliéter es un desarrollo de las últimas décadas. El primer reporte de experimentos con poliéteres como intermediarios de poliuretanos utilizan

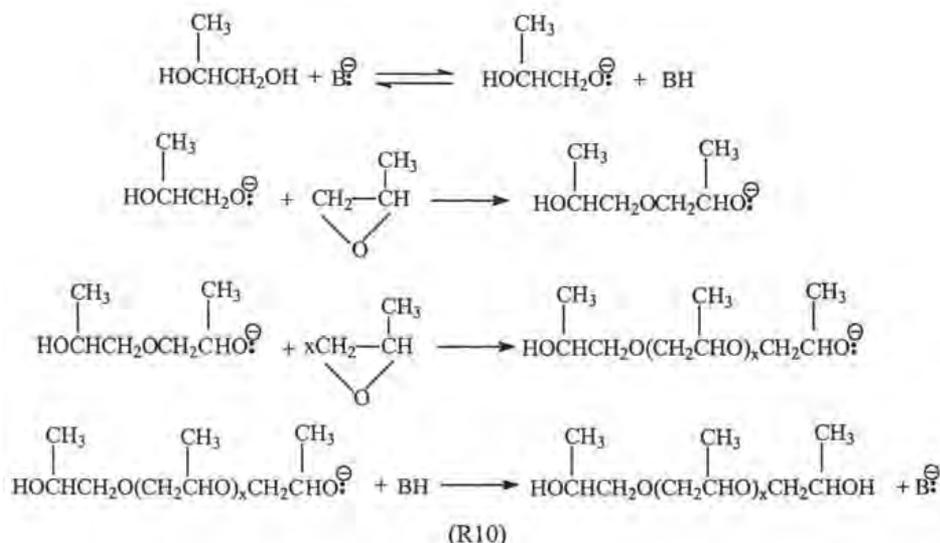
poliéteres derivados del óxido de etileno y el óxido de propileno. El primer poliéter diseñado específicamente para usarse en preparaciones de poliuretanos fue el poli(oxitetrametilen) glicol derivado del tetrahidrofurano. Hoy en día, la mayoría de los poliéteres usados en la manufactura de espumas de poliuretano son productos derivados del óxido de propileno obtenidos de compuestos como sacarosa, sorbitol y manitol, que al descomponerse y polimerizarse producen glicoles y polioles.

El método más significativo comercialmente para la fabricación de poliéteres es la reacción de un óxido de alquileno con un iniciador que contenga en su estructura hidrógenos activos. Estas reacciones se llevan a cabo en presencia de un catalizador ácido o base. La tabla 1.3 muestra algunos compuestos comúnmente utilizados como iniciadores.

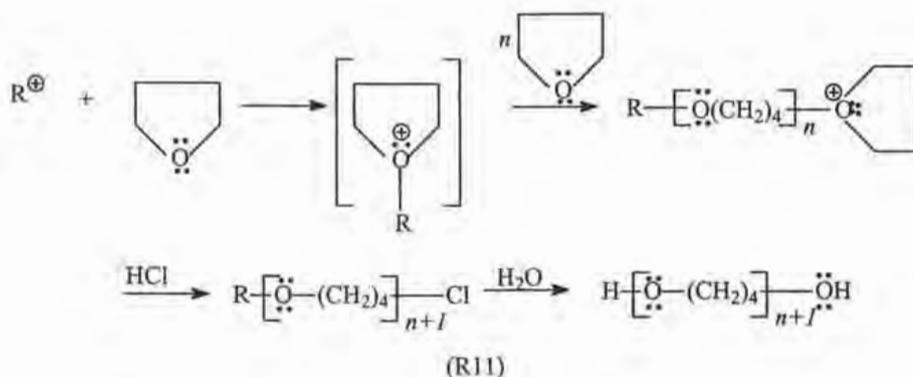
Tabla 1.3 Iniciadores para polioles poliéter.

INICIADOR	ESTRUCTURA QUÍMICA	FUNCIONALIDAD
Agua	HOH	Dos
Etilenglicol	HOCH ₂ CH ₂ OH	Dos
Glicerina	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{C}-\text{CH}-\text{CH}_2 \\ \quad \quad \\ \text{OH} \quad \text{OH} \quad \text{OH} \end{array}$	Tres
Trietanol amina	N(CH ₂ CH ₂ OH) ₃	Tres
Pentaeritritol	C-(CH ₂ OH) ₄	Cuatro
Etilen diamina	H ₂ NCH ₂ CH ₂ NH ₂	Cuatro
Dietilen triamina	H ₂ N-CH ₂ -CH ₂ -NH-CH ₂ -CH ₂ -NH ₂	Cinco
Sorbitol	$\begin{array}{ccccccc} & \text{OH} & \text{H} & \text{OH} & \text{OH} & & \\ & & & & & & \\ \text{HOH}_2\text{C}- & \text{C} & -\text{C} & -\text{C} & -\text{C} & -\text{CH}_2\text{OH} \\ & & & & & & \\ & \text{H} & \text{OH} & \text{H} & \text{H} & & \end{array}$	Seis
Sacarosa		Ocho

Por ejemplo, comercialmente el poli(oxipropilen) glicol se prepara a partir de adicionar al propilen glicol o dipropilen glicol una base como catalizador para formar el iniciador, el cual se hace reaccionar con óxido de propileno dándose la polimerización aniónica (R10). La cadena se propaga por ataques sucesivos del monómero con aniones resultantes de la apertura del anillo oxirano. La terminación ocurre por la desactivación del polímero aniónico con un protón. ⁽¹⁾



Por otro lado, el poli(oxitetrametilen) glicol se prepara a partir de la polimerización catiónica del tetrahidrofurano (R11). En general la polimerización del monómero es provocada por el uso de ácidos de Lewis como catalizador, entre ellos el BF_3 , SnCl_4 , SbCl_5 , SbCl_3 , PF_5 y SO_2Cl_2 . La polimerización se da por la formación de un ión oxonio seguido por la ruptura del anillo tetrahidrofurano generando un ión carbonio. Este ión reacciona con un segundo anillo y entonces se propaga la polimerización. La reacción en cadena se termina con un anión. Para que el poliéter sea utilizado en síntesis de poliuretanos es necesario que tenga grupos terminales hidroxilo, esto se logra con la presencia de agua o un diol, o por el uso de catalizadores con grupos terminales como el cloro, acetoxi o sulfato. ⁽¹⁾

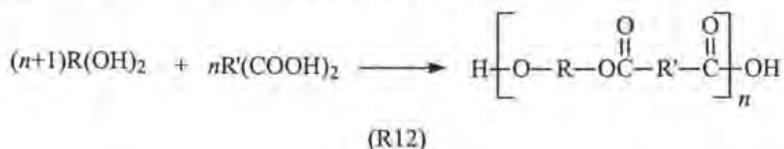


1.3.2.2 Polioles - poliéster

Los polioles poliéster son producidos por la policondensación de un diácido con exceso de diol. Los monómeros difuncionales son utilizados para obtener polímeros lineales y los monómeros con funcionalidad mayor a 2, como la glicerina, se utilizan para formar cadenas ramificadas. Los ácidos más usados son el adípico y el ftálico. Los polioles poliéster basados en ácido adípico se utilizan en espumas flexibles y elastómeros, mientras que los basados en ácido ftálico o anhídrido ftálico se utilizan en la fabricación de espumas rígidas y recubrimientos de alto desempeño.

La preparación de los poliésteres requiere de eliminar el agua producto de la reacción, para que ésta se lleve a una velocidad adecuada, y obtener así el peso molecular requerido. La reacción generalmente se lleva a cabo a través del uso de alta temperatura y vacío o mediante el arrastre con un gas inerte. Una de las mejores formas de preparación de poliésteres es efectuar la reacción sin solventes. El glicol (etileno, propileno, 1,3-butileno, 1,4-butileno, dietilén glicol, etc.) o triol (glicerina, 1,2,6-hexanotriol, trimetilolpropano, trimetiletano, etc.), según el caso, es adicionado al reactor y calentado con agitación hasta 60 – 90 °C. El componente ácido es adicionado rápidamente, manteniendo la agitación; la mezcla es calentada a tal rapidez que el agua se elimina por destilación. Se requiere además, adicionar un exceso de grupos hidroxilo para que todos los grupos ácidos reaccionen y controlar de esta manera el peso molecular en el intervalo deseado; la reacción

genérica es la R12. La reacción usualmente es forzada a completarse por medio de calentamiento hasta cerca de los 200 °C, mientras se adiciona un flujo de un gas inerte como nitrógeno o dióxido de carbono, o se le mantiene en vacío. La reacción se detiene cuando el número de ácido ha sido reducido entre 1 – 4, el contenido de agua es menor a 1% y el número de grupos hidroxilo está en el intervalo deseado.



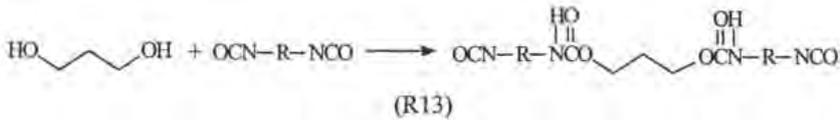
Para hacer más corto el tiempo de esterificación se pueden utilizar catalizadores ácidos, por ejemplo, el ácido p-toluensulfónico u óxidos de metales, como el óxido de plomo. La decisión del uso del catalizador deberá tomar en consideración el posible efecto del catalizador residual en las reacciones subsecuentes con los isocianatos y también alguna posibilidad de que se presente degradación del poliuretano por oxidación o hidrólisis. ⁽¹⁾

1.3.2.3 Prepolímeros

Los prepolímeros son mezclas de poliol/isocianato que han reaccionado parcialmente, casi siempre a temperaturas que exceden los 50 °C (R13). Se preparan con un exceso ya sea de poliol o isocianato, de tal manera que el prepolímero permanece líquido y contiene todavía grupos funcionales sin reaccionar. Por estas características los prepolímeros proporcionan una serie de ventajas a los productores de poliuretanos, entre ellas:

- a) Reducen el peligro de exposición al vapor como consecuencia de su elevado peso molecular, lo que ocasiona una baja presión de vapor en comparación a que si fuera solo isocianato.
- b) Incrementan la viscosidad, lo cual conduce a un mejor mezclado de los componentes de la espuma.
- c) Mejoran el control de la formación de los segmentos duros mediante la reacción previa de los extensores de cadena que son incompatibles con la mayoría de los componentes normales de la espuma.

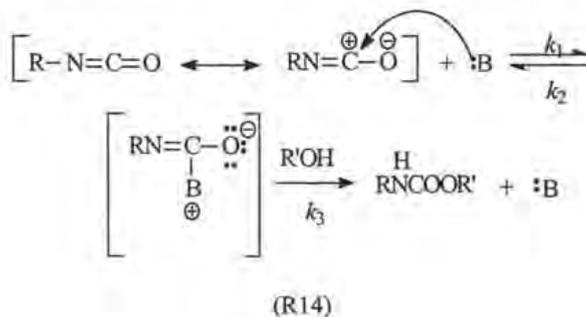
- d) Mejoran el control de las reacciones secundarias por la reacción previa de algunos componentes de la espuma bajo condiciones controladas. ⁽¹¹⁾



1.3.3 Catalizadores

En términos de productividad industrial se hace necesario el uso de catalizadores en la fabricación de poliuretanos. Los catalizadores más utilizados son las aminas terciarias y ciertos compuestos organometálicos. Además, se pueden usar combinaciones de catalizadores para balancear la velocidad de formación de polímeros (isocianato con grupos hidroxilo), con la velocidad de formación de gas (isocianato con agua). Si las velocidades de reacción no están balanceadas, el polímero gelado no tiene la suficiente fuerza para capturar el dióxido de carbono dentro de las paredes de las celdas que se encuentran en expansión.

En la reacción el catalizador debe ser suficientemente nucleofílico para estabilizar por resonancia a un grupo isocianato o activar a un compuesto que contenga un átomo de hidrógeno activo. El esquema general de reacción (R14) fue presentado por Baker y sus colaboradores ⁽¹²⁾, como la combinación de una reacción catalizada por una base (:B) y una reacción no catalizada.



El estado de transición para la ecuación catalizada final puede ser como se muestra en la siguiente ecuación:



Se asume que la condición de estado estacionario y la concentración del complejo (RNCO:B) está dada por:

$$(\text{complex}) = k_1 (\text{RNCO}) (\text{B}) / [k_2 + k_3 (\text{R'OH})]$$

y la rapidez de desaparición del isocianato, junto con la rapidez de formación del producto está dada por:

$$-d(\text{RNCO})/dt = k_0 (\text{R'OH}) (\text{RNCO}) + \left\{ k_1 k_3 (\text{RNCO}) (\text{R'OH}) (\text{B}) / [k_2 + k_3 (\text{R'OH})] \right\}$$

Experimentalmente se ha encontrado que la expresión de la constante de rapidez es:

$$k_{\text{exp}} = k_0 + \left\{ k_1 k_3 (\text{B}) / [k_2 + k_3 (\text{R'OH})] \right\}$$

Si el valor de k_2 es mucho mayor a $k_3 (\text{R'OH})$, o si el (R'OH) es constante en el grupo de experimentos, la expresión anterior se puede simplificar a:

$$k_{\text{exp}} = k_0 + k_c (\text{B})$$

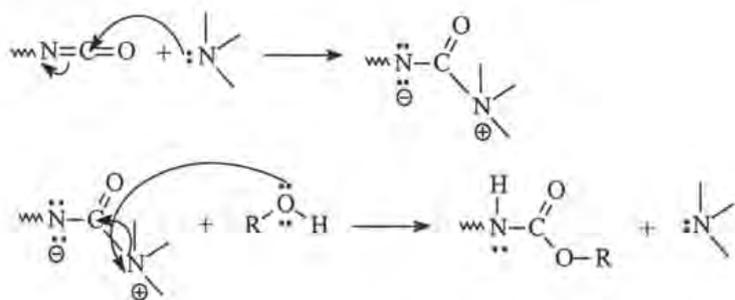
en donde k_c es la constante de rapidez catalítica que esta dada por la siguiente ecuación:

$$k_c = k_1 k_3 / [k_2 + k_3 (\text{R'OH})] \quad (\text{EQ1})$$

1.3.3.1 Aminas terciarias

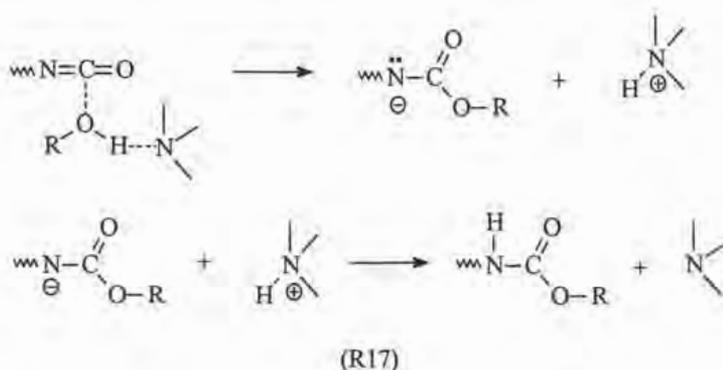
Las aminas terciarias son los catalizadores más usados en la manufactura de poliuretanos celulares y sólidos. Algunas de las aminas terciarias más utilizadas se muestran en la tabla 1.4. La principal función de las aminas terciarias es controlar las etapas de crecimiento y gelificación. También controlan las reacciones de formación de urea, uretano/urea, uretano/isocianato e isocianato/isocianato, teniendo por consecuencia, un papel muy relevante en las propiedades finales de la espuma.

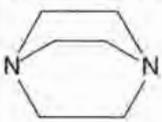
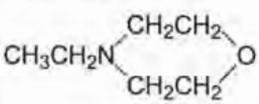
Los mecanismos de reacción de isocianatos con alcoholes (reacciones de gelificación) o con agua (reacciones de expansión) catalizados por aminas terciarias han sido estudiados por diversos autores, y en particular por Baker ⁽¹³⁾ y Farkas ⁽¹⁴⁾. Por su parte, Baker postuló que la atracción ocurre por la formación de un complejo entre la amina terciaria y el grupo isocianato, como se muestra en el mecanismo de reacción R16. Seguido por la reacción con un compuesto prótico, como un alcohol o agua, y entonces es cuando ocurre la reacción de polimerización por expansión.



(R16)

Farkas basó su teoría en la formación inicial de un complejo entre un agente nucleofílico (un alcohol o agua) y la amina terciaria (R17). Enseguida este complejo reacciona con un isocianato, ocurriendo la reacción de gelificación o de expansión y regenerando la amina terciaria.

Tabla 1.4 Algunos catalizadores a base de aminas terciarias. ⁽⁹⁾

CATALIZADOR	CARACTERÍSTICAS/APLICACIÓN
N,N-dimetiletanolamina (DMEA) (CH ₃) ₂ NCH ₂ CH ₂ OH	Catalizador de expansión, líquido de bajo costo, usado para espumas flexibles.
Bis (2-dimetilamino etil) éter (BDMAEE) (CH ₃) ₂ NCH ₂ CH ₂ OCH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₂	Catalizador muy reactivo, líquido de poco olor, usado en espumas flexibles.
1,4-diazo (2,2,2)biciclo-octano (DABCO) 	Catalizador de gelificación, sólido soluble en agua, glicoles y poliéteres, usado en todos los tipos de poliuretanos.
N-etilmorfina 	Catalizador de curado rápido, líquido volátil de olor característico con baja viscosidad, usado en espumas flexibles moldeadas.

1.3.3.2 Compuestos organometálicos

En la industria de los poliuretanos el uso de catalizadores organometálicos (tabla 1.5) posee un fuerte efecto en la reacción de polimerización. Los compuestos de estaño promueven la reacción de gelificación, sin embargo son muy sensibles a la presencia de agua, ya que pueden ser oxidados.

vía de desarrollo están eximidos y tienen un periodo de tolerancia de 10 años más.⁽¹⁶⁾ Estos compuestos se emplean principalmente en la fabricación de espumas rígidas.

- b) Químicamente: Adicionando agua a la mezcla reaccionante con la que el isocianato actúa generando CO_2 . El CO_2 al tratar de escapar genera las mismas celdas que en el caso de la espumación física.

Cuando los agentes de espumado se agregan en exceso o en menor cantidad a la requerida en la formulación de la espuma, se pueden presentar varios problemas, por ejemplo, si se trata de agua y ésta se agrega en exceso, se puede presentar excesiva fluidez en la mezcla reaccionante y un posible colapsamiento de la espuma fabricada; cuando se adicionan menores cantidades de agua se puede presentar una disminución de fluidez y pérdida de propiedades mecánicas en el producto resultante. Cuando se trabaja con HCFC's, el único efecto que se presenta es sobre la fluidez de la mezcla reaccionante, en donde con un exceso de éstos aumenta la fluidez y si se agregan en menor cantidad a la necesaria disminuye.

1.3.5 Modificadores de propiedades

Además de los catalizadores y los agentes de espumado mencionados en las secciones 1.3.3 y 1.3.4, existen otros productos químicos que se adicionan para controlar o modificar, tanto la reacción de formación de los poliuretanos como sus propiedades finales. Algunos de estos productos son: los surfactantes, extensores de cadena, retardantes de flama, agentes antienvjecimiento, colorantes y pigmentos, lubricantes, plastificantes, cargas, etc.

Los surfactantes, tienen varias funciones en la fabricación de poliuretanos, entre ellas: el abatir la tensión superficial, la emulsificación de los ingredientes incompatibles de la formulación, la estabilización de la espuma en el momento del crecimiento, el control del efecto dañino de cualquier sólido adicionado o formado durante la reacción, la regulación del tamaño de la celda, entre otras. El uso correcto de los surfactantes repercute en la formación de espumas estables, con adecuados tamaños de celda. Los surfactantes más

empleados son los fenoles, el poliéter-siloxano y las tierras diatomáceas. Casi todas las espumas de poliuretano flexibles usan surfactantes no aniónicos a base de silicona.⁽¹⁷⁾

Los extensores de cadena, también llamados agentes de curado, son los encargados de producir enlaces dentro de la cadena, se adicionan a muchas formulaciones de espumas de poliuretanos flexibles para incrementar el módulo y la estabilidad térmica de la espuma. Los extensores de cadena son generalmente polioles de bajo peso molecular o poliamidas. A diferencia de los agentes entrecruzantes los cuales tienen funcionalidades de tres o más, los extensores de cadena son compuestos difuncionales.

Los retardantes de flama son frecuentemente adicionados para reducir la inflamabilidad de los poliuretanos. Los retardantes más usados son los fosfatos y compuestos halogenados. Los compuestos halogenados actúan en fase gaseosa, interrumpiendo el proceso de combustión por radicales libres; mientras que los compuestos fosforados presentan un efecto catalítico en donde se quiebra el poliuretano, a través de reacciones de deshidrogenación y deshidratación, lo cual conduce a la formación de una superficie protectora carbonizada.

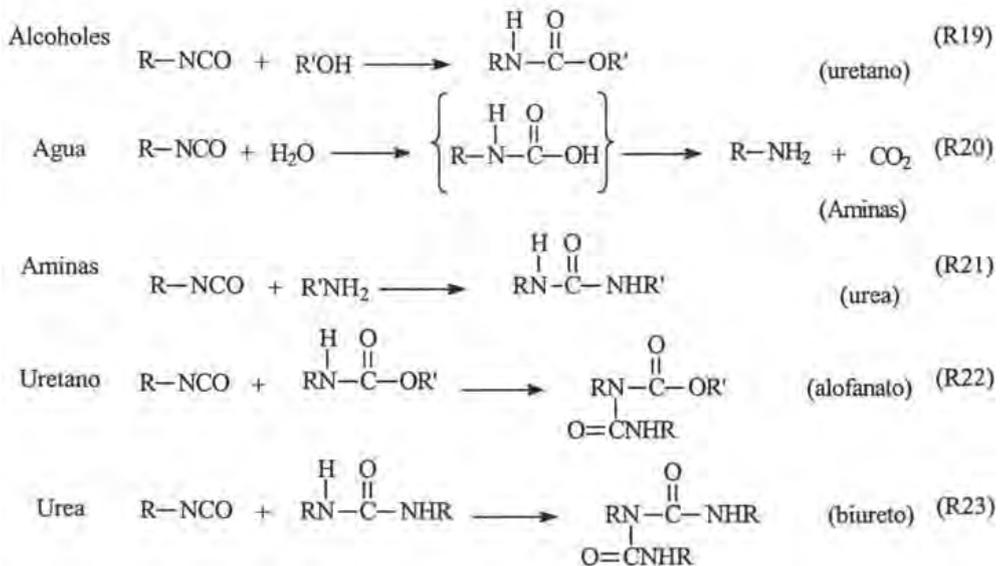
Como la mayoría de los materiales poliméricos, los poliuretanos también son susceptibles al envejecimiento, en donde sus propiedades físicas se ven afectadas negativamente. Normalmente los poliuretanos tienden a ponerse amarillos por la exposición a la luz. Este efecto es ocasionado por la oxidación fotoquímica de las ligaduras de uretano de los isocianatos aromáticos. Para evitar esta tendencia se utilizan los denominados agentes anti-envejecimiento, los más usados son las hidroxibenzofenonas, las aminas impedidas y los fosfitos.

A las formulaciones de poliuretano también se les puede adicionar pigmentos y colores para que tomen la apariencia deseada. Los pigmentos más utilizados son los dióxidos de titanio, óxidos de hierro, óxidos de cromo, negro de humo, etc. Los colores son derivados de azo-compuestos, ftalocianinas y dioxazinas.

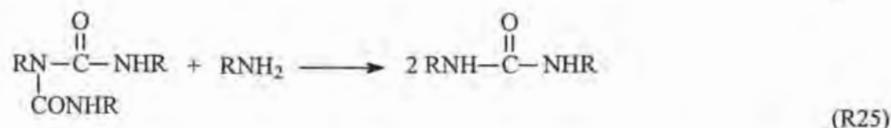
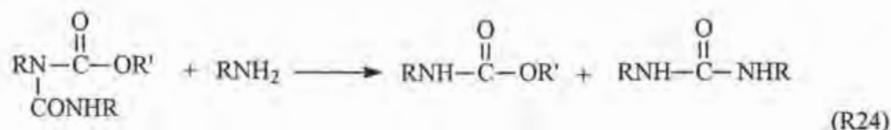
Las cargas son partículas de fibras usadas para reducir los costos y mejorar las propiedades de los poliuretanos. La mayoría de veces son carbonatos, fibras de vidrio, maderas, alúmina, sílica, asfalto, etc.

1.4 Métodos de obtención de poliuretanos

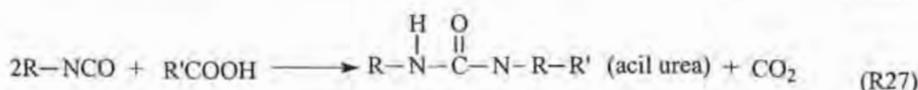
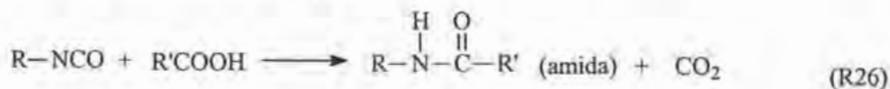
La reacción de isocianatos con compuestos que contienen átomos de hidrógeno reactivo ha permitido la obtención de diversos productos finales que han sido explotados en los últimos treinta años y que forman parte medular de la industria de la fabricación de los poliuretanos. Dentro de la tecnología de los poliuretanos existen cinco reacciones principales de los isocianatos con: polioles para formar poliuretanos (R19); agua originando poliureas y liberando dióxido de carbono, que es el principal agente de espumado para la fabricación de espumas de poliuretano (R20); aminas dando poliureas (R21); grupos uretano (R22) y urea (R23), resultando en la formación de ligaduras cruzadas alofanato y biureto, respectivamente.



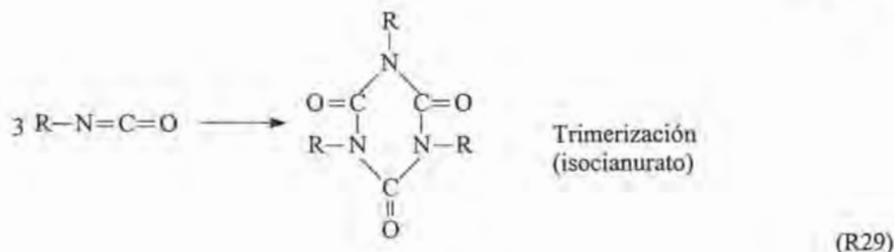
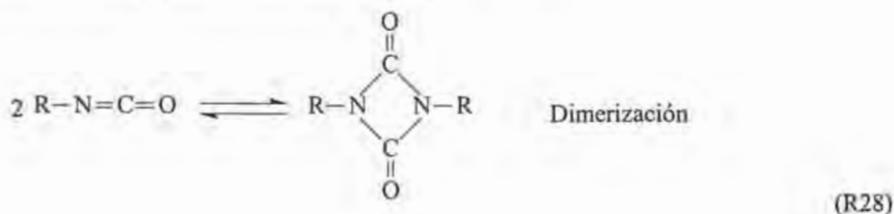
Las estructuras que se obtienen de la reacción de los isocianatos con los grupos uretano y urea, son relativamente poco estables como se muestra en las reacciones R24 y R25.

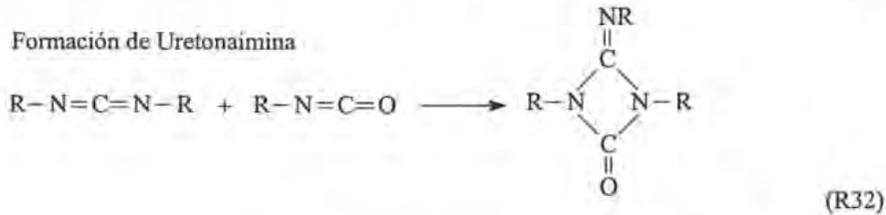
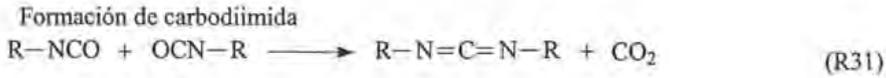
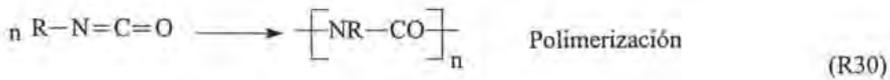


Además de las cinco reacciones descritas con anterioridad (R19 a R23), los isocianatos pueden reaccionar con ácidos, por ejemplo con ácidos carboxílicos obteniendo los productos de las reacciones R26 y R27.



Los isocianatos también pueden reaccionar entre si formando dímeros, trimeros, polímeros, carbodiimidas y uretanoimidas (R28 a R32).





Las reacciones descritas se llevan a cabo según el tipo de poliuretano que se desee obtener y las características físicas de los poliuretanos obtenidos dependerán mucho de cuales reacciones se llevaron a cabo cuando el polimero fue preparado.

1.4.1 Formas de preparación

Existen dos formas básicas para preparar una gran variedad de tipos de poliuretanos⁽¹⁸⁾:

- Mediante el mezclado de todos los materiales de la formulación para producir materiales termofijos.
- Mediante la unión de los componentes de la formula en un reactor para producir materiales termoplásticos.

En el primer caso, la mezcla se realiza directamente en los equipos de transformación, en una cámara dispuesta para este fin, y es muy común que se realice mediante un proceso discontinuo.

En el segundo caso, para obtener los materiales termoplásticos, se realiza la operación en un reactor eliminando el agua generada y posteriormente el material es convertido en pastillas (pellets) para su procesamiento en extrusoras.

McBrayer ⁽¹⁷⁾ menciona que los poliuretanos se pueden preparar por tres formas: prepolímeros, cuasi prepolímeros o en un solo paso (one shot).

En los prepolímeros, por lo general, todo el isocianato que se utiliza en la formulación es reaccionado con una fracción alta del polioliol, posteriormente se hace reaccionar el polioliol restante con todos los componentes adicionales de la formulación y comúnmente con catalizadores de aminas. Este método es muy utilizado en la elaboración de adhesivos y recubrimientos, además que en los inicios de la fabricación de poliuretanos éste fue el método original de producción.

El cuasi prepolímero es preparado mediante la reacción preliminar de una fracción pequeña del polioliol con todo el isocianato de la formulación; para la fabricación del poliuretano final, el cuasi prepolímero es mezclado con el resto de los componentes de la formulación.

La preparación por un solo paso implica, como su nombre lo dice, realizar una mezcla de todos los componentes de la formulación sin el isocianato, al cual se le llama sistema, y al que posteriormente se le adiciona el isocianato mezclando vigorosamente para producir el poliuretano deseado. Este método en la actualidad es el más comúnmente utilizado para la elaboración de las espumas.

1.5 Métodos de caracterización de polímeros

Existen diversas técnicas de caracterización de polímeros. En el caso de este estudio, la caracterización se realizó para determinar, por una parte la estructura del polímero y por otro lado el peso molecular y la distribución de éste en los polímeros obtenidos; las técnicas de caracterización de estructuras utilizadas fueron: espectroscopia de infrarrojo (IR) y de resonancia magnética nuclear (RMN), y para la determinación de los pesos moleculares se utilizó viscosimetría y cromatografía de permeación en gel (GPC).

1.5.1 Espectroscopia de infrarrojo (IR) ⁽¹⁹⁾

Ésta es una técnica analítica complementaria que permite la identificación de los grupos funcionales de una muestra y su posible caracterización. Aunque la radiación infrarroja no tiene suficiente energía para ocasionar la excitación de los electrones, da lugar a que los átomos y grupos funcionales de los compuestos orgánicos vibren alrededor de los enlaces covalentes que los conectan, estas vibraciones son cuantificadas conforme ocurren, así los grupos funcionales de los compuestos absorben energía infrarroja en regiones específicas del espectro.

La porción de radiación infrarroja útil para el análisis de compuestos orgánicos se encuentra en el intervalo de longitud de onda de 2500 a 16000 nm, con frecuencia entre 1.9×10^{13} y 1.2×10^{14} Hz.

Los requisitos previos para que ocurra una absorción infrarroja son que la frecuencia de la radiación debe ser igual a la frecuencia de vibración de enlace entre 2 átomos de la molécula y que el momento bipolar de la molécula debe sufrir un cambio cuando tiene lugar esta vibración molecular. Si se reúnen estas condiciones, entonces la molécula absorberá la energía del haz infrarrojo que la atraviesa.

La complejidad de un espectro en la región de 1450 a 600 cm^{-1} dificulta la asignación de bandas de absorción y dado que en este intervalo se observan modelos únicos para cada compuesto, se le conoce como región de huella digital. La región de bandas de absorción entre 4000 y 1450 cm^{-1} se debe normalmente a las vibraciones por estiramiento de unidades biatómicas y por ello se reconoce como región de frecuencias de grupo.

La espectroscopia por IR es útil para la determinación de la concentración de grupos terminales en una muestra de polímero, también es de gran utilidad para determinar la naturaleza de los cambios estructurales en polímeros, por ejemplo el proceso de degradación.

1.5.2 Espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN) ⁽²⁰⁾

La resonancia magnética nuclear (RMN) es un fenómeno que ocurre cuando se sumergen los núcleos de ciertos átomos en un campo magnético estático y posteriormente se exponen a un segundo campo magnético oscilante. Algunos núcleos experimentan este fenómeno y otros no, dependiendo de la propiedad nuclear llamada "spin".

El spin es una propiedad fundamental de las partículas subatómicas debida a su naturaleza como carga eléctrica y masa. El spin se expresa en múltiplos de $\frac{1}{2}$ y puede ser positivo o negativo. Los electrones, protones y neutrones no apareados poseen spin de $\frac{1}{2}$. Cuando existen dos o más partículas con spin de señales opuestas, se pueden eliminar las manifestaciones del spin. Casi todos los elementos de la tabla periódica tienen un isótopo con spin nuclear diferente de cero, pero la RMN sólo puede utilizarse en isótopos cuya abundancia en la naturaleza es tal que pueden ser detectados, entre ellos: hidrógeno, carbono y nitrógeno.

Cuando un protón se somete a un campo magnético externo, su vector spin se alinea con el campo externo, como un imán. Hay configuración de energía baja, donde los polos del spin se alinean N S-N S con respecto al campo magnético y una configuración de alta energía cuando el spin toma una alineación N N-S S. El protón puede sufrir transiciones entre los dos estados de energía, debido a la absorción de un fotón. Una partícula en el estado más bajo de energía absorbe un fotón para alcanzar el estado de energía superior. La energía de este fotón debe coincidir exactamente con la diferencia energética entre los dos estados.

La señal de espectroscopia de RMN, es un resultado de la diferencia entre la energía que absorben los spins que hacen una transición del estado más bajo de energía al estado de energía superior y la energía emitida por los spin que simultáneamente hacen una transición del estado de energía superior al estado de energía más bajo. La señal es proporcional a la diferencia de población entre los dos estados.

Debido a que las frecuencias de resonancia para cada núcleo son una consecuencia de sus ambientes moleculares diferentes, la espectroscopía de resonancia magnética nuclear es una herramienta confiable para elucidar la estructura química de un material, sin embargo también es usada para determinar la estereoregularidad e isomerismo de los materiales poliméricos.

1.5.3 Cromatografía de permeación en gel (GPC) ^(21, 22)

Cuando se trata con polímeros comunes no es posible hablar de un peso molecular único, sino de una distribución de pesos moleculares. Normalmente se habla de un peso molecular promedio y se describe la distribución de pesos moleculares alrededor del promedio. El principio de la técnica de GPC (de sus siglas en inglés Gel Permeation Chromatography) consiste en hacer pasar una solución que contiene el polímero de interés a través de una columna empacada con material poroso. Debido a la difusión, el polímero intenta entrar en los poros del material del empaque, pero sólo las moléculas de menor tamaño pueden entrar en los poros. De esta manera, las moléculas grandes viajan rápidamente a través del volumen libre, mientras que las moléculas pequeñas viajan a través del material de empaque poroso, deteniéndose a lo largo de la columna por lo que la abandonan más tarde que las moléculas grandes.

La cromatografía de permeación en gel no es un método absoluto, ya que no se mide la masa, sino el volumen hidrodinámico de las moléculas del polímero, es decir cuanto espacio ocupa una molécula cuando se encuentra en solución en un determinado solvente. Para relacionar el volumen hidrodinámico de una muestra de polímero con su peso molecular, es necesaria la construcción de una curva de calibración con estándares de peso molecular conocido y distribución estrecha; sin embargo estos estándares existen sólo para ciertos polímeros cuya síntesis lo permite.

El peso molecular obtenido por GPC es relativo al estándar, para obtener los pesos moleculares corregidos se debe utilizar una curva de calibración universal, la cual requiere

de los datos de viscosidad intrínseca del polímero a caracterizar. En la curva de calibración universal se traza al volumen de elusión contra el término $[\eta] \cdot M$.

1.5.4 Viscosimetría ^(22, 23)

La viscosidad es una propiedad de los fluidos que caracteriza su resistencia a fluir, debido a las fuerzas de fricción entre capas de fluido que se desplazan a diferentes velocidades.

En el caso de una disolución, la viscosidad, al igual que muchas otras propiedades, depende no sólo de la naturaleza de los materiales mezclados, sino también de la cantidad presente de cada uno de ellos en la mezcla. En particular, la variación de la viscosidad de una solución de un material polimérico en un solvente de moléculas pequeñas es de gran utilidad para la caracterización de polímeros.

En la práctica se puede describir la dependencia viscosidad – concentración de manera general a partir de la ecuación empírica de Mark-Houwink: $[\eta] = K \cdot M^\alpha$, donde K y α son dos parámetros que dependen del solvente y polímero de estudio. Una vez que K y α se conocen para una combinación de polímero – solvente, es posible usar la viscosidad intrínseca para determinar el peso molecular promedio de un material (peso viscoso M_v).

Para la determinación de la viscosidad intrínseca se utiliza un viscosímetro capilar, con el cual se registra el tiempo que le toma a un volumen de solución del polímero fluir a través del capilar y se compara con el tiempo de flujo del solvente puro a la misma temperatura. El tiempo de flujo es proporcional a la viscosidad e inversamente proporcional a la densidad del fluido (EQ2 y EQ3).

$$\eta_{\text{solvente}} = \frac{t_{\text{solvente}}}{\rho_{\text{solvente}}} \quad (\text{EQ2})$$

$$\eta_{\text{sol'n}} = \frac{t_{\text{sol'n}}}{\rho_{\text{sol'n}}} \quad (\text{EQ3})$$

De lo anterior se define a la viscosidad relativa, η_{rel} , como la relación $\eta_{\text{sol'n}} / \eta_{\text{solvente}}$. Para la mayor parte de los polímeros a las concentraciones de interés, esta relación es cercana a 1,

así que, en una muy buena aproximación la viscosidad relativa es una proporción del tiempo simple (EQ4).

$$\eta_{rel} = \frac{t_{sol'n}}{t_{solvente}} \quad (EQ4)$$

También se define una viscosidad específica, que se refiere al cambio fraccionario en la viscosidad por adición del polímero al solvente (EQ5).

$$\eta_{sp} = \frac{\eta_{sol'n} + \eta_{solvente}}{\eta_{solvente}} \quad (EQ5)$$

La viscosidad intrínseca se determina por medio de un método gráfico a partir de la viscosidad específica y la viscosidad inherente, mediante la relación EQ6.

$$[\eta] = \lim_{C \rightarrow 0} \frac{\eta_{sp}}{C} = \lim_{C \rightarrow 0} \frac{\ln \eta_{rel}}{C} \quad (EQ6)$$

1.6 Biodegradación de polímeros

La biodegradación consiste en una degradación química causada por reacciones bioquímicas, especialmente aquellas catalizadas por enzimas producidas por microorganismos bajo condiciones aeróbicas o anaeróbicas.⁽²⁴⁾

Las enzimas son catalizadores muy eficientes y específicos, éstas son sintetizadas por las células a partir de su información genética. Estructuralmente, las enzimas son proteínas complejas y altamente especializadas producidas por las células con la finalidad de catalizar tipos específicos de reacciones químicas de importancia biológica.⁽²⁴⁾

Las enzimas pueden ser altamente específicas para un cierto tipo de estructura química o sustrato y pueden incrementar la rapidez de transformación del sustrato mediante un factor de 10^6 a 10^{20} , sin crear productos indeseables de reacción.

Se ha descrito que la biodegradabilidad de los polímeros está influenciada por varios factores, entre los más importantes están la estructura química de los polímeros, especialmente la presencia de determinados grupos funcionales, el balance de hidrofiliidad – hidrofobicidad en la cadena de polímero y también la estructura ordenada tal como la cristalinidad, la orientación y otras propiedades morfológicas. ^(24, 25)

La biodegradación de polímeros involucra primeramente reacciones químicas catalizadas por enzimas; tales reacciones pueden ocurrir por medio de un ataque aleatorio a lo largo de la cadena del polímero o en determinados grupos funcionales internos de la molécula, o bien, mediante ataque específico a las terminaciones de la cadena del polímero. En el primer caso el resultado son escisiones en la cadena con un sustancial decremento en el peso molecular del polímero, mientras que para el segundo caso resulta sólo en la remoción de las unidades terminales, las cuales pueden ser monómeros, dímeros y quizás hasta trimeros; en este caso el efecto inmediato en el peso molecular del polímero residual es mucho menor. ⁽²⁴⁾

Los microorganismos que pueden proveer las enzimas para tales procesos incluyen bacterias, hongos, levaduras, algas y otros. Tales microorganismos pueden también secretar agentes reactivos al ambiente, los cuales pueden causar reacciones de degradación (especialmente ácidos), y similarmente algunas enzimas pueden catalizar la formación de agentes reactivos en el ambiente (tales como peróxidos), que pueden degradar al polímero. Incluso cuando las enzimas no estén involucradas directamente en la degradación, las reacciones de los productos bioquímicos son importantes. ^(24,25)

La degradación por microorganismos de los sustratos de los polímeros que contienen grupos funcionales hidrolizables en la cadena principal ocurre en dos pasos principales; el primero es la hidrólisis de la cadena en pequeños fragmentos solubles, la cual es llevada a cabo por los microorganismos, por un agente químico o por ambos. El segundo paso es el relacionado a la hidrólisis de los fragmentos solubles. ^(24,25)

Para los polímeros, la degradación puede ser descrita en términos tanto de cambios en la estructura molecular y/o en propiedades físicas o químicas. Los cambios estructurales deben incluir un cambio en el peso molecular y este decremento dependerá del polímero y del proceso. El último requerimiento para satisfacer la definición de biodegradación es por medio de la escisión de la cadena en donde ocurre fragmentación de la molécula del polímero.^(24,25)

1.6.1 Biodegradación de poliuretanos

Después de años de producción de poliuretanos, los fabricantes encontraron que éstos eran susceptibles a la degradación. Las variaciones en los patrones de degradación de diferentes muestras de poliuretanos fueron atribuidas a muchas de sus propiedades, tales como la topología, la composición química, la orientación molecular, la cristalinidad, el entrecruzamiento y los grupos terminales presentes en las cadenas de las moléculas; todas estas propiedades determinan la accesibilidad al sistema de las enzimas de degradación.⁽²⁶⁾

La degradación de poliuretanos puede ser llevada a cabo por hongos y por bacterias. Hay una gran cantidad de informes de hongos que tienen actividades de enzimas tipo hidrolasas capaces de degradar poliuretanos. Mientras que por otro lado se han descrito también un número considerable de actividades bacterianas que pueden biodegradar poliuretanos, aunque la mayoría de los informes no son detallados sobre los caminos de degradación y no se ha aislado, ni caracterizado a la enzima.^(5,6)

Las actividades enzimáticas asociadas a la degradación de poliuretanos para el caso de los hongos son esterasa, ureasa y lipasa; mientras que en bacterias se han encontrado esterasa, ureasa y proteasa.^(5,6)

La mayor parte de enzimas que se han descrito como activas en la degradación de poliuretanos, corresponden a esterasas y lipasas, quizá debido a la presencia de gran cantidad de enlaces éster en los poliuretanos poliéster, quienes además han sido descritos como los más susceptibles a la biodegradación con respecto a los poliuretanos poliéter.

La hidrólisis del enlace uretano se debe a una enzima del tipo esterasa, pero esta hidrólisis sólo se observa en productos de bajo peso molecular y aunque existen informes de degradación de enlaces uretano en poliuretanos, no está claro si éstos son hidrolizados directamente o primero sufren una ruptura para producir compuestos de bajo peso molecular y luego ser hidrolizados. Por otro lado, los polioles tienen muchos grupos funcionales susceptibles de sufrir hidrólisis, además se ha descrito que los hongos son los mejores efectores conocidos en la degradación de este tipo de moléculas. ⁽⁵⁾

Se ha observado que la degradación procede de una manera selectiva, ocurriendo primero en las regiones amorfas del material y mucho después en las regiones cristalinas. Esto también fue descrito en los poliuretanos con largas unidades repetitivas y que contienen grupos hidrolíticos que son difícilmente compatibles en regiones de alta cristalinidad. ⁽³⁰⁾

Así, el proceso de degradación de poliuretanos se puede dividir de forma simple en dos rutas, una es la degradación de los enlaces del grupo uretano y la segunda la degradación de los segmentos hidrolizables presentes en las secciones de molécula que tienen origen en el polirol utilizado en la síntesis.

Se ha probado la posibilidad de biodegradación de poliuretanos con enzimas provenientes de composta en donde se encontraron pérdidas de peso del poliuretano cercanas al 20% en un tiempo de tres meses, en espumas de poliuretano fabricadas con polioles de aceite de soya. ⁽¹¹⁾ Labrow y colaboradores ⁽³¹⁾ trataron poliuretanos poliéster y poliuretanos poliéter con enzimas provenientes de secreciones de glándulas de animales y humanos; las pruebas se realizaron con una enzima de humano y una de cerdo, encontrando que la de cerdo degradó a los poliuretanos 10 veces más rápido que la de humano. Estos resultados indican una inconfundible similitud a la degradación de poliuretanos por la enzima colesterol-esterasa. ^(32, 33)

Pathirana y Seal ⁽²⁶⁾ determinaron la actividad involucrada en la degradación microbiana del poliuretano. Ellos describieron una actividad proteasa en varias especies de hongos. Sin embargo no se tienen informes de purificación de estas enzimas ni de la determinación de

sus propiedades bioquímicas o moleculares. Santerre, y colaboradores ⁽²⁷⁾, describieron a partir de un estudio de mejoramiento de poliuretano con fines médicos, que enzimas hidrolíticas tales como la colesterol-esterasa eran capaces de atacar el poliuretano *in vitro*.

Pathirana y Seal, también describieron actividades del tipo ureasa presentes en la degradación de poliuretano por parte de hongos. No existen informes de actividades similares detectadas en bacterias y hasta ahora no se ha informado sobre la purificación de enzimas de este tipo, capaces de degradar poliuretano. ⁽⁵⁾

Existen dos grupos de investigación que han realizado pruebas de biodegradación de poliuretano con bacterias. Howard y Blake ⁽³⁴⁾ aislaron una cepa bacteriana que degradaba poliuretano - poliéster hidrosoluble (Impranil DNL). Ellos fueron los primeros en identificar una actividad extracelular del tipo proteasa en *Pseudomonas fluorescens* ⁽²⁸⁾, esta enzima fue posteriormente purificada. ⁽²⁹⁾ El patrón de degradación involucrado es el rompimiento de las celdas de poliuretano con la subsecuente formación de flóculos y la degradación del sustrato.

Varios miembros del género *Pseudomonas* han sido aislados por su habilidad para utilizar poliuretano - poliéster como su única fuente de carbono y energía. Los datos obtenidos de estas bacterias aisladas sugieren que las actividades involucradas en la degradación de Impranil son del tipo esterazas y/o proteasas.

Cultivos de *Pseudomonas chlororaphis* en poliuretano llevaron a la purificación y caracterización de dos enzimas, una esterasa y otra proteasa, capaces de degradar poliuretano. ⁽³⁵⁾ Actualmente se ha clonado el gen que codifica la proteína en *Escherichia coli*.

Por su parte, Nakajima - Kambe y colaboradores ⁽³⁶⁾ aislaron una cepa bacteriana que se caracterizó como *Comamonas acidovorans* cepa TB 35, de la cual se han aislado dos enzimas, ambas esterazas, una extracelular y otra unida a la membrana. El análisis de la actividad de ambas enzimas indica que atacan la porción éster del poliuretano, pero la que

se encuentra unida a la membrana ataca el poliuretano y la que secreta al medio solo ataca los segmentos correspondientes al polioli. La hidrofobicidad de la enzima secretada al medio es menor que la que se encuentra unida a la membrana. ⁽³⁷⁾

La determinación de los productos de degradación de *Comamonas acidovorans* cepa TB 35 indica la presencia de secciones de 2,4-diamino tolueno y segmentos de ácido adípico, los cuales se consideran derivados de los segmentos de poliuretano originalmente sintetizado de TDI y poli(adipato de dietilenglicol). Se considera que la biodegradación del poliuretano poliéster es debida a la hidrólisis de los enlaces éster por una enzima hidrolítica. ⁽³⁸⁾

1.7 Aislamiento de la cepa BIQ-08 ⁽⁷⁾

Para obtener la cepa bacteriana se tomaron muestras de poliuretano en proceso de deterioro, provenientes de distintos residuos encontrados en sillones y en el suelo, en varias zonas del basurero municipal de Nezahualcoyotl, Estado de México. Las muestras fueron obtenidas en invierno y la temperatura promedio de la zona no superaba los 20 °C. Las muestras se inocularon el mismo día de la colecta.

Para el aislamiento las muestras se incubaron en medio basal (MB), con poliuretano hidrosoluble Hidroform® (PUh), el cual ha sido empleado exitosamente en el aislamiento de bacterias afines al poliuretano por el grupo de Howard (ver Apéndice A). ^(28, 29, 35, 39) Lo anterior, resultó en la disminución del número de cepas bacterianas inicialmente obtenidas, a solo 8. Las cepas presentaron crecimiento en MB+PUh, sin embargo la determinación de las curvas de crecimiento, midiendo densidad óptica a 660 nm, mostró que las de mayor crecimiento fueron la cepa 01 y la cepa 08. Las curvas de crecimiento se presentan en el Apéndice B.

La caracterización biológica realizada por el Cepario del Departamento de Biología de la Facultad de Química de la UNAM (Apéndice B), establece que ambas cepas pertenecen a la especie *Comamonas testosteroni* o *Pseudomonas alcaligenes*, pues no fue posible establecer con certeza la especie. Sin embargo, pese a que las cepas fueron clasificadas

como miembros de una misma especie, el comportamiento es diferente, como se observa en las curvas de crecimiento en MB más poliuretano hidrosoluble (ver Apéndice B).

1.7.1 Actividad enzimática asociada a la cepa BIQ-08

Las actividades que se han sugerido en informes anteriores, como capaces de degradar poliuretano son proteasas, esterases y ureasas; sin embargo, en bacterias sólo se han encontrado las primeras dos. ^(5,6)

Las pruebas realizadas a las cepas BIQ-01 y BIQ-08 muestran que no hay presencia de actividades proteasas y ureasas. Por otro lado, se observa que la actividad presente en el sobrenadante de los cultivos con MB más Hydroform® con las bacterias, presenta una actividad esterasa que pudiera ser la responsable de la degradación, ya que no se presenta ninguna otra actividad. ⁽⁷⁾

En el Apéndice B se muestra la curva de actividad esterasa que presenta la cepa BIQ-08 después de 15 días de incubación en MB más poliuretano hidrosoluble. En ésta se observa que en el sobrenadante existe una actividad de éste tipo.

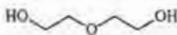
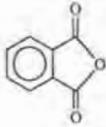
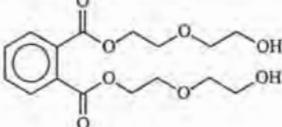
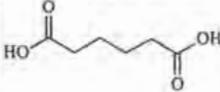
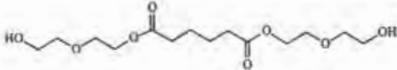
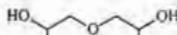
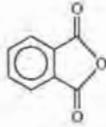
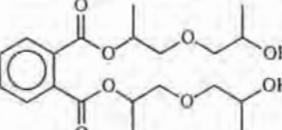
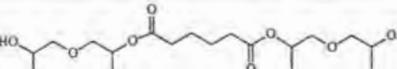
CAPÍTULO 2.

DESARROLLO EXPERIMENTAL

2.1 Obtención y caracterización de polioles – poliéster

Se prepararon 4 polioles – poliéster, dos a partir de dietilen glicol (DEG) y dos partir de dipropilen glicol (DPG). Se utilizó como fuente de grupos carboxilo al ácido adípico (AAD), que es un diácido carboxílico, y al anhídrido ftálico (AFT); en la tabla 2.1 se presentan las combinaciones realizadas con los dos polioles y las dos fuentes de grupos carboxilo.

Tabla 2.1 Resumen de reacciones de síntesis de polioles – poliéster.

Glicol	Fuente de diácido	Diol obtenido (estructura idealizada)
 DEG +	 AFT	 DEG-AFT-DEG
	 AAD	 DPG-AAD-DPG
 DPG +	 AFT	 DPG-AFT-DPG
	 AAD	 DEG-AAD-DEG

En la síntesis de los polioles propuestos se busca que estos tengan pesos moleculares bajos, una polidispersidad estrecha y que existan muchas terminaciones de moléculas con grupos hidroxilo (-OH). Para esto se controlan las proporciones estequiométricas de glicol a diácido, la eliminación eficiente de agua y la eliminación del glicol no reaccionado para la posterior reacción con el diisocianato.

2.1.1 Polioles - poliéster a partir de un diácido carboxílico

Se llevaron a cabo las reacciones de DEG y DPG con ácido adípico, como una esterificación de ácidos carboxílicos con alcoholes. Se buscó obtener polioles lineales de bajo peso molecular, con dos moléculas de glicol unidas a una de ácido adípico, así que las relaciones estequiométricas se propusieron con exceso de glicol para llevar a cabo este control. ^(40, 41, 42)

La metodología para las dos reacciones es la siguiente:

1. Se pesan 0.25 moles de ácido adípico grado R. A. (aproximadamente 36.53 g), y se colocan en un matraz de tres bocas, con agitación magnética, una boca con un termómetro y otra boca conectada a un condensador con conexión al sistema de vacío. El esquema del sistema utilizado se presenta en la figura 2.1.
2. Se adiciona al matraz el glicol en proporción molar 1,2 a 1 con el ácido adípico. Se utiliza un 20 % de exceso del glicol con el fin de favorecer la reacción de formación del éster y de tratar de evitar en lo posible la formación de cadenas con muchas moléculas de diéster adípico en su estructura (grado de polimerización de 10).
3. Se coloca en una mantilla de calentamiento, para llevarlo hasta 50 °C donde se adiciona 1 % en mol, respecto al ácido adípico, de H₂SO₄ concentrado como catalizador y se conecta el reactor al vacío. Para 0.25 mol de ácido adípico se adiciona 0.25 g (0.0025 moles) de H₂SO₄ concentrado (98 % en peso).

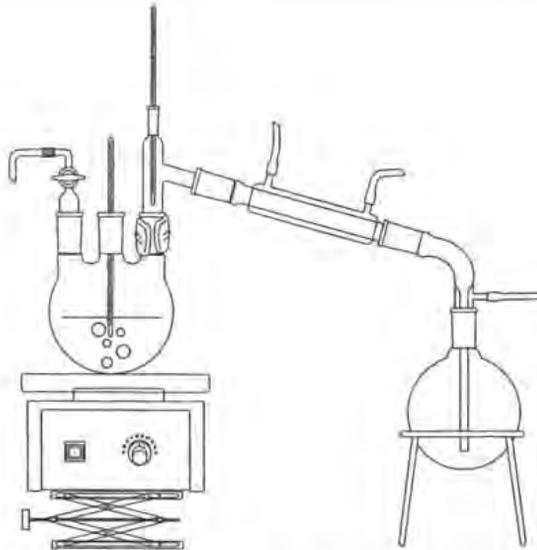


Figura 2.1 Sistema de reacción para obtención de polioles-poliéster.

4. Se eleva la temperatura del reactor hasta 90 °C de forma rápida con el reóstato al 80% de su potencia total, cuando se ha alcanzado la temperatura se disminuye la potencia del reóstato al 45 % para mantener por 3 horas la temperatura de reacción, en las que se aprecia el cambio de viscosidad y color de la mezcla de reacción.
5. Luego de las 3 horas, se eleva la temperatura del reactor a 120 °C durante 1 hora, para agotar la reacción mediante la eliminación del agua y luego del glicol en exceso.
6. Se deja enfriar la mezcla de reacción hasta aproximadamente 50 °C sin eliminar el vacío del sistema.
7. Se elimina el vacío del sistema y se adiciona hidróxido de sodio al 3 % en agua para neutralizar el ácido catalizador. Para 0.25 g (0.0025 moles) de H_2SO_4 se adicionan 3.33 g (0.0025 moles) de disolución de NaOH.
8. Se adiciona aproximadamente 50 mL de agua caliente entre 60 y 70 °C, como agua de lavado, mezclando con el agitador magnético del reactor.

9. El contenido del reactor se vacía a un embudo de separación donde el poliol es eliminado como la fase más pesada. Se realiza un lavado más con agua caliente al poliol y se realiza la misma separación.
10. El poliol húmedo es cargado en el reactor, y conectado nuevamente al vacío; se lleva el producto de reacción hasta 120 °C por 10 horas para eliminar la humedad completamente.⁽⁴³⁾
11. Se retira el poliol del reactor y se filtra con tierras diatomáceas.
12. Se coloca en un frasco ámbar y se procede a realizar la caracterización.

En algunos trabajos se describe la utilización de ácidos orgánicos preferentemente para realizar la catálisis de esterificación, debido a que la presencia de un ácido inorgánico fuerte favorece la reacción de equilibrio de hidrólisis de los ésteres; sin embargo, una eliminación rápida y eficiente del agua de condensación, llevará a polioles con alta conversión y pocos grupos carboxílicos terminales.⁽⁴⁴⁾

2.1.2 Polioles - poliéster a partir de un anhídrido ftálico

Para obtener los polioles a partir de anhídrido ftálico, se utiliza un catalizador de esterificación, como TTB (titanato de ter-butilo, TBT de sus siglas del inglés ter-butyl titanate).^(43,45) La presencia de este catalizador aumenta considerablemente la rapidez de formación del producto, sin embargo es necesario adicionar exceso de glicol para evitar alcanzar el equilibrio químico y que en el poliol existan grandes cantidades del anhídrido sin reaccionar.

La metodología para las dos reacciones es la siguiente:

1. Se pesan 0.25 moles de anhídrido ftálico grado R. A. (aproximadamente 37 g), y se colocan en un matraz de tres bocas, con agitación magnética, una boca con un termómetro y otra boca conectada a un condensador con conexión al sistema de vacío, de forma idéntica al sistema del método anterior.

2. Se adiciona el glicol al matraz en proporción molar con un 20 % de exceso del glicol; esta proporción molar lleva a un grado de polimerización teórico de 10, con lo que se obtiene una baja cantidad de grupos carboxílicos terminales.
3. Se coloca en una mantilla de calentamiento y se arma el equipo según la figura 2.1; se inicia el calentamiento sin conectar al vacío, para llevarlo hasta 60 °C.
4. Cuando ya casi todo el anhídrido ftálico se ha fundido, se adiciona el catalizador TBT, se conecta el vacío del sistema y se inicia el calentamiento rápido con el reóstato al 80 % de la potencia total. Cuando la temperatura del reactor llega a 95 °C se disminuye la potencia del reóstato hasta el 50 % para mantener la temperatura del reactor en 100 °C por 3 horas, en las que se aprecia el cambio de viscosidad y color de la mezcla de reacción.
5. Luego de las 3 horas, se eleva la temperatura del reactor hasta 125 °C durante 1 hora, para aumentar la conversión del glicol al éster y eliminar el glicol en exceso.
6. Se deja enfriar la mezcla de reacción hasta aproximadamente 50 °C sin eliminar el vacío del sistema.
7. Se procede a lavado, secado y filtrado del polirol de la misma forma que en la técnica anterior para los polioles a partir del ácido adípico.

2.1.3 Determinación de grupos hidroxilo (-OH) en los polioles

Existen diversas técnicas de determinación de grupos hidroxilo, algunas no catalizadas y otras catalizadas. La gran mayoría de las técnicas están basadas en hacer reaccionar los grupos hidroxilo presentes en la muestra con grupos anhídrido, comúnmente anhídrido acético^(46,47) o anhídrido ftálico⁽⁴⁸⁾, para formar ésteres; las técnicas determinan los grupos anhídrido hidrolizados (ácidos carboxílicos) remanentes que se hacen reaccionar con una base fuerte como el hidróxido de sodio. Se prefiere generalmente el uso del anhídrido ftálico, ya que éste tiene la ventaja de ser un sólido no volátil a diferencia del anhídrido acético que es un líquido volátil, con el cual se deben tener muchos cuidados en la preparación de la muestra para tener una precisión adecuada en los resultados.

Ambos métodos utilizan disolventes tales como piridina que favorecen la reacción del grupo anhídrido, hidrolizándolo y acelerando la reacción del ácido carboxílico con los grupos hidroxilo de la muestra; adicionalmente la piridina se comporta como una base débil por lo que es posible titular los ácidos carboxílicos con una base fuerte sin interferencia de ésta. En el caso de la técnica catalizada se utiliza ácido perclórico como catalizador.

En todos los métodos las muestras son disueltas en una mezcla recién preparada del disolvente y el anhídrido seleccionado, y son se dejan en reposo para que reaccionen totalmente los grupos hidroxilo; el tiempo de reposo dependerá del tipo de técnica, requiriéndose hasta 1 hora en las no catalizadas. Se requiere preparar un blanco para comparar los grupos carboxílicos totales presentes en la solución.

Las muestras requieren tener una cantidad detectable de grupos hidroxilo, por lo que es necesario tener un estimado de la cantidad presente de estos grupos por gramo, de tal forma que los volúmenes del blanco y la muestra estén en rangos adecuados. ⁽⁴⁶⁾

Para realizar el análisis de los grupos hidroxilo, se utilizó una técnica no catalizada, empleando anhídrido acético y piridina en solución en proporción 1 a 3. Para titular los ácidos carboxílicos resultantes, se utilizó una solución alcohólica de hidróxido de sodio 0.1N que proporciona mejor claridad del punto de equilibrio. ⁽⁴⁹⁾

2.1.4 Viscosidad, densidad e índice de color

A) Viscosidad

Para la obtención de la viscosidad de los polioles se utilizó un viscosímetro Brookfield Modelo DV-II+ programable, de usillos intercambiables y velocidad variable. La facilidad para determinar la viscosidad de esta forma fue debida a que los polioles son fluidos.

La muestra fue colocada en un contenedor de 12 mL a temperatura constante de 40 °C, se utilizó un usillo de disco de 3.2 mm de diámetro, para máxima viscosidad de 33,333 cp a

120 rpm, 44,444 cp a 90 rpm y 66,666 cp a 60 rpm. Se realizaron las mediciones de viscosidad para las tres velocidades propuestas. ⁽⁵⁰⁾

B) Densidad

La densidad fue medida en un picnómetro de Bingham de 10 mL a 20 °C, que fue puesto a peso constante en una estufa a 160 °C durante la noche; se colocó cada una de las muestras y se pesaron. ⁽⁵¹⁾

C) Índice de Color

Se determina el índice de color (APHA) como característica física de control de la etapa de purificación del polioli. Se midió mediante un equipo HELDIGE AQUA TESTER, Modelo 611-a, según la norma ASTM-D4052-95. ⁽⁵²⁾

2.1.5 Pesos moleculares promedio de los polioles

Se obtuvo el peso molecular promedio aparente M_n y la polidispersidad M_w/M_n de los polímeros, mediante cromatografía de permeación en gel (GPC). La polidispersidad se obtuvo con la finalidad de comparar los efectos de degradación de las bacterias sobre los polioles y el peso molecular como una variable de caracterización de cada poliuretano.

Las estimaciones de peso molecular aparente para los polioles se realizaron a partir de una curva de calibración con estándares de poliestireno de pesos moleculares entre 500 y 20,000 g/gmol, los cuales se disolvieron en tetrahidrofurano (THF) a una concentración de 1 mg/mL, de los cuales se inyectó un volumen de muestra de 20 μ L a un equipo Alltech de GPC con una columna HP MIXED-B de 10 μ m de tamaño de partícula y para rangos de peso molecular de 500 a 1×10^6 g/gmol; la temperatura de la columna fue de 40 °C y el detector un Alltech ELSD 2000 de evaporación y dispersión de luz (Evaporative Light Scattering). El eluyente fue THF y se utilizó un flujo de 1 mL/min. ⁽⁵³⁾

Los poliíoles se disuelven en THF a una concentración de 1 mg/mL, y se inyectaron 20 μ L de muestra al equipo descrito anteriormente, utilizando THF como eluyente a un flujo de 1 mL/min.⁽⁵⁴⁾

2.1.6 Espectroscopia de IR y RMN

El análisis mediante infrarrojo de los poliíoles se llevó a cabo con la finalidad de identificar los grupos funcionales esperados en los poliíoles - poliéster. Los OH terminales que se esperan, deberán aparecer en la región de 3500 a 3200 cm^{-1} y los grupos éster R-COO-R' que se esperan, deberán estar en la región de 1750 a 1710 cm^{-1} para el grupo C=O alifático en el caso de los poliíoles a partir de ácido adípico y 1730 a 1715 cm^{-1} para el grupo C=O del éster aromático; además de que los grupos CO-O esperados, deberán aparecer en rangos entre 1330 a 1050 cm^{-1} .⁽⁵⁵⁾ Adicional a los grupos mencionados, deberán estar los grupos característicos de cada poliíol - poliéster. Las determinaciones se llevaron a cabo en película con ventanas de KBr, en un equipo FTIR 1605 Perkin-Elmer de rango 4000 a 400 cm^{-1} de infrarrojo medio.

Para el caso de la caracterización por resonancia magnética nuclear, 0.1 g de cada poliíol se disuelve en cloroformo deuterado, posteriormente las muestras se colocan en las celdas para RMN y se les determina H^1 y C^{13} . El equipo utilizado fue un espectrómetro de resonancia magnética nuclear de alta resolución VARIAN (Unity Inova) de 400 MHz.

2.2 Caracterización de isocianatos

Como ya se mencionó, existen varios isocianatos comerciales, sin embargo los dos más utilizados son el MDI y TDI, razón por la que en el presente trabajo se propuso analizar los poliuretanos a partir de estos dos isocianatos. Es necesaria entonces, una caracterización adecuada de los isocianatos utilizados para la síntesis de los poliuretanos, con el propósito de poder controlar las características del polímero obtenido.

2.2.1 Determinación de grupos isocianato

El parámetro más importante para la síntesis de los poliuretanos, es la cantidad de isocianatos presentes por gramo de muestra. Debido a que los isocianatos comerciales son mezclas de isómeros, se requiere un análisis para establecer cuantas moles de isocianato capaces de reaccionar son puestas en la elaboración de los poliuretanos y realizar el balance estequiométrico.

El método para determinación de grupos isocianato más utilizado es el de "equivalentes de amina", que como su nombre lo indica se basa en la reacción del grupo $-N=C=O$ con una amina. El método consiste en disolver una cantidad conocida del isocianato o polímero conteniendo grupos isocianato en un disolvente adecuado y que permita la reacción en solución del isocianato con una amina en exceso a concentración estandarizada, tal como dibutilamina al 1 N. La amina que no reacciona es entonces titulada con una solución estándar de ácido clorhídrico. La amina consumida por la reacción con el isocianato se puede calcular como porcentaje de $-N=C=O$ en la muestra y como equivalentes de isocianato en peso. ⁽⁵⁶⁾

La determinación se realizó mediante la disolución de una muestra en THF, para ser titulada con una solución 1 N de n-butilamina en THF y titular las aminas residuales con una solución de ácido sulfúrico al 0.1 N. ^(57, 58)

En el caso del TDI se contó con una muestra que sólo contenía una mezcla de los isómeros 2,4- y 2,6- en una proporción aproximada 80 a 20 respectivamente, por lo que no fue necesario practicarle esta prueba.

2.2.2 Caracterización de la estructura por IR y gases - masas

Se realizó un análisis de infrarrojo de los dos isocianatos utilizados, para observar las bandas de absorbancia de los grupos funcionales presentes en cada molécula, como complemento en la caracterización de los poliuretanos. En el caso de los isocianatos las

bandas esperadas más importantes son las del grupo funcional isocianato $-N=C=O$ alrededor de 2280 a 2230 cm^{-1} debida al estiramiento asimétrico y a 1450 a 1380 cm^{-1} para el estiramiento simétrico.⁽⁵⁵⁾

Para determinar cualitativamente las características de composición de los isocianatos utilizados para la elaboración de los poliuretanos, se utilizó un cromatógrafo de gases HP 6890 acoplado a un espectrómetro de masas HP 5973. Las pruebas se realizaron disolviendo 1 mg de muestra en 5 mL de tolueno; la muestra se inyectó al cromatógrafo en una rampa de temperatura desde 50 hasta $250\text{ }^{\circ}\text{C}$ en 45 minutos con helio como fase móvil.

2.2.3 Determinación de peso molecular promedio y propiedades físicas

La determinación de peso molecular se realizó mediante cromatografía de permeación en gel para el caso del MDI, en el equipo mencionado en la sección 2.1.5; se tomó 0.1 g de muestra y se disolvió en THF para obtener una concentración de 1 mg/mL . Se inyectaron $20\text{ }\mu\text{L}$ de muestra a la columna MIXED-B ya descrita, a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, con un flujo de THF de 1 mL/min .

Para poder obtener un valor absoluto del peso molecular del MDI se obtuvo la viscosidad de éste con el viscosímetro Brookfield, bajo las mismas condiciones descritas para los polioles en la sección 2.1.4.

Debido a que el TDI es una mezcla de los isómeros 2,4- y 2,6-, el peso molecular es establecido por la suma de los pesos de los átomos que componen la molécula.

Se determinó la densidad de los isocianatos mediante un pignómetro de Bingham de 10 mL a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, previamente puesto a peso constante.

2.3 Obtención y caracterización de poliuretanos

Una vez obtenidos y caracterizados los 4 polioles y los isocianatos, se elaboraron las mezclas para obtener los poliuretanos. Las polimerizaciones se llevaron a cabo en masa para evitar al máximo la presencia de agentes extraños en los polímeros resultantes, tales como disolventes. Se requirió de utilizar un catalizador, el cual, se usó en cantidades de 0.01% de la mezcla de polimerización.

El catalizador utilizado fue el 1,4-diazó (2,2,2)biciclo-octano, que es conocido como DABCO, cuya estructura se presenta en la tabla 1.4. Este catalizador es proporcionado en solución al 10 % en peso en DPG. La tabla 2.3 presenta un resumen de las reacciones que se llevaron a cabo, mostrando las combinaciones propuestas, así como la estructura idealizada de los poliuretanos obtenidos.

2.3.1 Poliuretanos a partir de polioles sintetizados

Las proporciones estequiométricas, se obtuvieron a partir del número de grupos funcionales por gramo presentes en cada uno de los componentes de la polimerización y se estimaron mediante el grado de polimerización a partir de un modelo de reacción de polimerización en etapa.

Las formulaciones utilizadas para los poliuretanos se resumen en la tabla 2.2, en donde los valores que se muestran se obtuvieron considerando un grado de polimerización tal que, permitiera obtener un polímero procesable (sólido) y que pudiera ser adicionado a los cultivos en forma de polvo o pequeños trozos. Las formulaciones utilizadas requieren una cantidad en exceso de isocianato para lograr este objetivo.

Es bien sabido en la industria del poliuretano que es necesario utilizar un exceso de diisocianato debido a que las reacciones secundarias del grupo isocianato con agua agotan la fuente de estos grupos utilizables para la reacción de formación de grupos uretano. ⁽⁵⁹⁾

Para la obtención de los poliuretanos, primero se eliminó la humedad presente en el diisocianato someténdolos a vacío por 24 horas a temperatura ambiente. La polimerización se realiza en cajas de vidrio bien secas donde se pesó polioliol, según la formulación de la tabla 2.2, y que también fue previamente secado a vacío por 24 horas; después se pesó el diisocianato y se mezclaron vigorosamente por 3 minutos, para después adicionar el catalizador y mezclar por aproximadamente 3 minutos; posteriormente se permite a la reacción llevarse a cabo sin intervención.

Tabla 2.2 Formulaciones de preparación de los poliuretanos.

<i>Material</i> MDI	MDI.1 MDI.DPG.AAD.DPG	MDI.2 MDI.DPG.AFT.DPG	MDI.3 MDI.DEG.AAD.DEG	MDI.4 MDI.DEG.AFT.DEG
Masa de Polioliol	3.817g	4.011g	4.905g	4.422g
Masa de Isocianato	1.144g	1.069g	1.518g	1.216g
Masa de catalizador*	0.03g	0.03g	0.03g	0.03g
<i>Material</i> TDI	TDI.1 TDI.DPG.AAD.DPG	TDI.2 TDI.DPG.AFT.DPG	TDI.3 TDI.DEG.AAD.DEG	TDI.4 TDI.DEG.AFT.DEG
Masa de Polioliol	5.322 g	5.944 g	4.905 g	5.457 g
Masa de Isocianato	1.045 g	1.089 g	1.044 g	1.035 g
Masa de catalizador*	0.03 g	0.03 g	0.03 g	0.03 g

(*) El catalizador es una solución al 10 % de DABCO en DPG. ⁽⁶⁰⁾

El tiempo de curado del polímero (tiempo para obtener la máxima polimerización en la mezcla de reacción) fue de aproximadamente 12 horas, posteriormente se retiraron del molde de vidrio, se pesaron y se molieron para caracterizarse.

2.3.2 *Peso molecular de poliuretanos*

Para obtener el peso molecular real de los poliuretanos, se utiliza una combinación de dos técnicas, viscosimetría y la determinación de los volúmenes de retención por GPC para cada polímero. Posteriormente con la curva de calibración universal mediante el producto $M \cdot [\eta]$ del polímero se obtienen los pesos reales. ^(61, 62)

Tabla 2.3 Resumen de reacciones de síntesis de poliuretanos – poliéster.

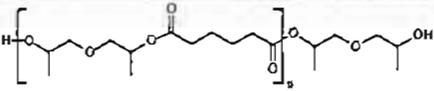
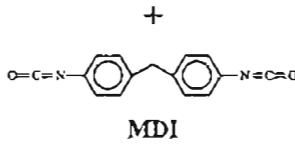
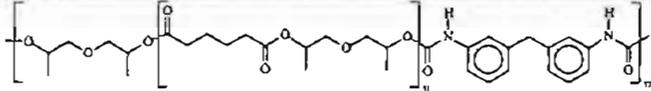
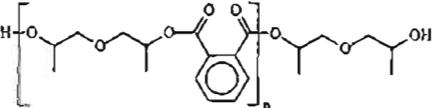
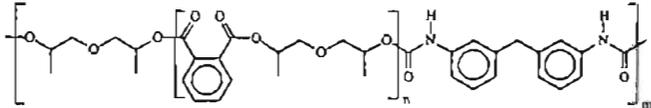
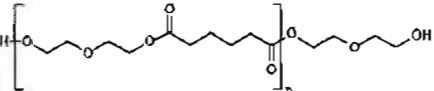
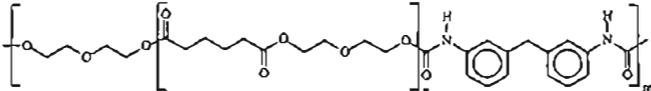
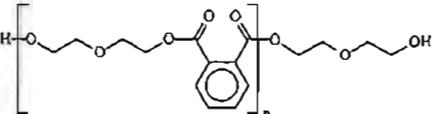
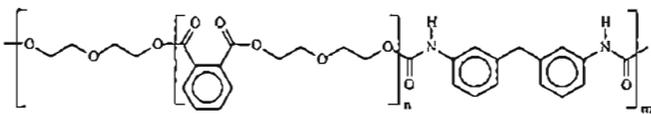
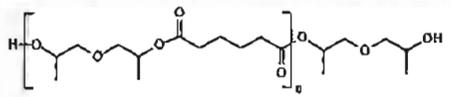
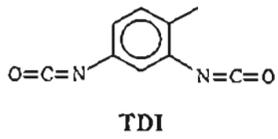
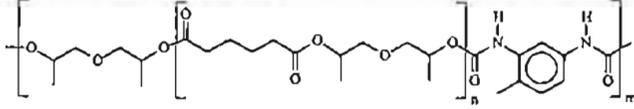
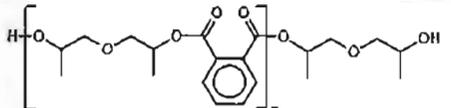
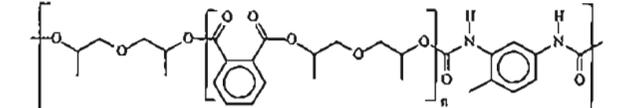
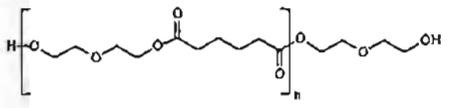
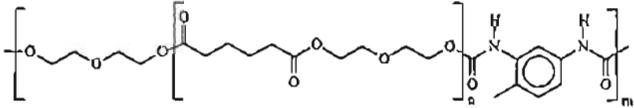
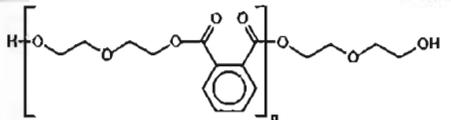
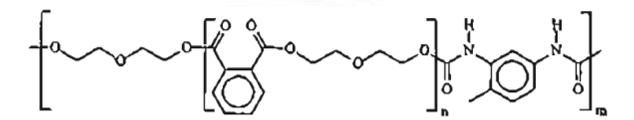
Clave	Poliol Materia – Prima (Estructura Idealizada)	Fuente de grupos Isocianato	Poliuretano (Estructura Idealizada)
MDI.1	 <p>DPG-AAD-DPG</p>	 <p>MDI</p>	 <p>.DPG.AAD.DPG.MDI.</p>
MDI.2	 <p>DPG-AFT-DPG</p>		 <p>.DPG.AFT.DPG.MDI.</p>
MDI.3	 <p>DEG-AAD-DEG</p>		 <p>.DEG.AAD.DEG.MDI.</p>
MDI.4	 <p>DEG-AFT-DEG</p>		 <p>.DEG.AFT.DEG.MDI.</p>

Tabla 2.3 Resumen de reacciones de síntesis de poliuretanos – poliéster. (Continuación)

Clave	Poliol Materia-Prima (Estructura Idealizada)	Fuente de grupos Isocianato	Poliuretano (Estructura Idealizada)
TDI.1	 <p>DPG-AAD-DPG</p>	<p style="text-align: center;">+</p>  <p style="text-align: center;">TDI</p>	 <p>- DPG.AAD.DPG.TDI -</p>
TDL2	 <p>DPG-AFT-DPG</p>		 <p>- DPG.AFT.DPG.TDI -</p>
TDI.3	 <p>DEG-AAD-DEG</p>		 <p>- DEG.AAD.DEG.TDI -</p>
TDI.4	 <p>DEG-AFT-DEG</p>		 <p>- DEG.AFT.DEG.TDI -</p>

2.3.2.1 Viscosimetría

La viscosidad de los polímeros se determinó mediante la utilización de un viscosímetro de Oswald. Para cada polímero se pesaron 0.2 g y se disolvieron en 10 mL de dimetil sulfóxido – tetrahidrofurano (DMSO-THF) al 1:3 en volumen. La solución se colocó en el viscosímetro, que estaba en un baño con agua a 40 °C, se esperó el suficiente tiempo para obtener una temperatura homogénea de la solución y se determinaron las pruebas de tiempo de recorrido, por triplicado, para promediar los tiempos. Luego se adicionó a la solución en el viscosímetro 2 mL de la mezcla disolvente, se esperó para que se obtuviera una adecuada disolución y se llegara a un equilibrio con la temperatura del baño; posteriormente se realizaron las tres determinaciones de tiempo de recorrido para esa nueva concentración de polímero. De la misma forma se realizaron pruebas para 5 diluciones distintas para cada polímero y para la mezcla disolvente.⁽⁶³⁾

2.3.2.2 Análisis por GPC

Para la obtención de los pesos moleculares promedio de los polímeros, se empleó la técnica de cromatografía de permeación en gel GPC y se hizo uso de una curva de calibración de estándares de poliestireno de peso molecular conocido contra su volumen de retención con la columna MIXED-B descrita en la sección 2.1.5, a 40 °C, con THF como eluyente a un flujo de 1 mL/min. Para realizar la corrección a los pesos moleculares de los poliuretanos de prueba, se construyó una curva de calibración universal, multiplicando el valor del peso molecular reportado para cada estándar de poliestireno por su viscosidad calculada con la ecuación de Mark – Houwink – Sakurada, utilizando las constantes reportadas para el poliestireno en THF a 40 °C.⁽⁶⁴⁾

Contando con la curva de calibración universal se determinaron los volúmenes de retención promedio para cada uno de los poliuretanos preparados y se obtuvieron los valores del parámetro de calibración universal $M \cdot [\eta]$, para cada poliuretano. Así, con los valores obtenidos previamente de la viscosidad intrínseca, se pudo determinar mediante la división del parámetro de calibración universal por ésta, los valores de los pesos moleculares promedio de los poliuretanos.

Las pruebas de GPC se realizaron con una columna HP MIXED-B de 10 μm de tamaño de partícula, para rangos de peso molecular de 500 a 1×10^6 g/gmol, la temperatura de la columna fue de 40 °C y el detector un Alltech ELSD 2000 de evaporación y dispersión de luz (Evaporative Light Scattering). El eluyente fue THF y se utilizó un flujo de 1 mL/min. ^(53, 63)

2.3.3 Determinación de la estructura de los poliuretanos por IR

Se utilizó espectroscopia de infrarrojo (IR), para determinar la presencia de los grupos funcionales en el polímero, el más importante es el grupo uretano cuyas señales, en el rango del infrarrojo, aparecerá como un estiramiento fuerte en el rango de los 1750 a 1680 cm^{-1} debido al enlace C=O; dos señales de estiramiento simétrico y asimétrico debidas a la presencia de los enlaces N-CO-O; una señal mediana en el rango de 1270 a 1210 cm^{-1} para el estiramiento asimétrico y una señal débil en el rango de 1050 a 850 cm^{-1} para el simétrico y dos señales más para el enlace N-H; una señal mediana para la deformación en el rango de 1650 a 1500 cm^{-1} y otra señal también mediana para el estiramiento, en el rango de 3500 y 3250 cm^{-1} ; adicionalmente, se esperan las señales debidas a los ésteres de los polioles ya descritas en la sección 2.1.6. ⁽⁵³⁾

2.4 Pruebas de biodegradación

Se prepararon diferentes tipos de cultivos para someter a cada una de las materias primas a la cepa BIQ-08, con el propósito de determinar si estas bacterias son capaces de crecer en un medio cuya única fuente de carbono fuera alguno de los materiales preparados. Se probaron a los diisocianatos utilizados en la síntesis de los poliuretanos, las materias primas de los polioles y los propios polioles obtenidos; cada uno de los diferentes materiales representó un reto distinto para establecer las características de los cultivos.

En el caso de las materias primas para la obtención de los polioles, es decir los glicoles, el ácido adípico, el anhídrido ftálico y de las materias para producir poliuretanos (diisocianatos y los 4 polioles), sólo se les realizaron pruebas para observar si estos presentaban un crecimiento de las bacterias suficiente como para provocar una desviación en sus curvas de crecimiento, debido a la presencia de residuos de éstos en

los poliuretanos. Por otro lado, en los poliuretanos se realizó la determinación de la cantidad de bacterias que presentaban reproducción por la presencia de una fuente de alimento adecuada.

2.4.1 Preparación del medio de cultivo

Con base a los medios de cultivos más utilizados en microbiología, se diseñaron diferentes medios donde la fuente de carbono para la cepa BIQ-08 fue alguno de los materiales utilizados en este trabajo. En todos los medios se conservaron las características principales de un Medio Basal (MB), que consiste en una disolución acuosa de las siguientes sales: 2 g/L de KH_2PO_4 , 7 g/L de K_2HPO_4 , 1 g/L de NH_4NO_3 , 100 mg/L de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1 mg/L de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.1 mg/L de CuSO_4 , 10 mg/L de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y 2 mg/L de $\text{MnSO}_4 \cdot 4-6\text{H}_2\text{O}$, con el que se obtiene un pH cercano a 7 y condiciones isotónicas.⁽³⁶⁾

El MB no incluye una fuente de carbono, por lo que funciona como base para la obtención de cultivos con fuentes diversas de éste; por otro lado el nitrato de amonio es la fuente de nitrógeno en el cultivo.⁽³⁶⁾

El medio Luria - Bertani (LB) es un medio de cultivo el cual se le ha adicionado extracto de levadura y peptona como fuentes de carbono y nitrógeno, haciéndolo un medio sumamente rico en carbono y nitrógeno de fácil disponibilidad para las bacterias.^(65, 66) El medio LB, al ser un medio no selectivo, permite el crecimiento de cualquier grupo de hongos y bacterias, por lo que este medio fue el utilizado para cuantificar las bacterias capaces de formar una colonia en un placa de LB en 24hrs, Unidades Formadoras de Colonias (UFC). La cuantificación de éstas UFC se realiza por mililitro (UFC/mL) presentes en un determinado momento en los cultivos de MB más poliuretano y así determinar el crecimiento bacterial. En el Apéndice A se presentan las formulaciones y métodos de preparación de todos los medios utilizados en este trabajo.

Uno de los parámetros más importantes en la medición de los cultivos en microbiología es la concentración de bacterias por mL de cultivo líquido; para la determinación de este parámetro es necesario determinar la absorbancia a 660 nm (Densidad Óptica D.O.₆₆₀) de una muestra de medio LB sin bacterias y uno con las bacterias, al paso de algunas

horas (al menos 24 horas); la correlación de esta lectura se hace mediante una curva de crecimiento patrón, elaborada por el seguimiento del cambio de la absorbancia de la muestra con el tiempo. La gráfica de la curva de densidad óptica contra el tiempo para la cepa BIQ-08 utilizada en este trabajo se presenta en el Apéndice B, donde el valor correspondiente a una densidad óptica de 1, indica que las bacterias se encuentran en la zona de mayor actividad. ⁽⁷⁾

2.4.2 Determinación del crecimiento bacterial

Se determinó el crecimiento de la cepa BIQ-08, utilizando como sustrato al MB más glicoles, diisocianatos y polioles, para establecer desviaciones y tendencias de crecimiento con los resultados de biodegradación de los poliuretanos. Para el caso de los poliuretanos se determinó cuantitativamente este crecimiento.

2.4.2.1 Método para DPG y DEG

Estas dos materias primas presentan solubilidad en el agua, por lo que fueron disueltas cada una al 3 % peso en MB; se les adicionó agar bacteriológico para solidificar el medio y fue puesto en cajas Petri (placas) para realizar el sembrado de las bacterias. Se realizó la extensión de las bacterias *Comamonas testosteroni* / *Pseudomonas alcaligenes* cepa BIQ-08, en un cuadrante de la placa. Las bacterias se tomaron de una colonia bien definida de un cultivo en placa proveniente de MB con poliuretano hidrosoluble ⁽⁷⁾; se pusieron además, tres especies de bacterias más como control negativo la *Escherichia coli*, *Pseudomonas* sp. y la *Proteus vulgaris*, cada una en un cuadrante de la placa; para incubar las placas fueron colocadas en estufa de flujo a 36 °C por 72 horas.

2.4.2.2 Método para polioles

A estos materiales se les realizaron también pruebas cualitativas de crecimiento con la cepa BIQ-08 y las tres especies de bacterias de control negativo. Para realizar la medición, los cuatro polioles fueron dispersos al 3 % en peso en MB. Se realizaron placas de medio de cultivo extendiendo en un cuadrante de éstas, cada una de las

especies de bacterias mencionadas y se incubó por 72 horas en una estufa de flujo a 36 °C.

2.4.2.3 Método para isocianatos

La preparación del cultivo con isocianatos se realizó dispersando estos al 3 % en peso en MB, se elaboraron placas de la misma forma que en los puntos anteriores, sembrando las tres especies de bacterias ya mencionadas como control negativo y la cepa BIQ-08 de prueba. Se incubaron por 72 horas a 36 °C en incubadora de flujo.

2.4.2.4 Método para poliuretanos

Se realizó la determinación de una curva de crecimiento de las bacterias con el tiempo, utilizando cada uno de los 8 poliuretanos obtenidos como única fuente de carbono. Los cultivos se realizaron en medio líquido, tomando como base MB.

Se preparó un cultivo con medio LB líquido de una colonia bien definida proveniente de una placa con MB + Hydroform® (medio selectivo), el cual se colocó durante 12 horas en incubación; luego se tomó una muestra y se inoculó nuevamente en medio LB fresco, para incubarlo por otras 12 horas; lo anterior con la finalidad de reactivar la cepa BIQ-08, a este cultivo se le denomina "over night". Posteriormente, se le determinó la absorbancia (D.O. ₆₀₀) al cabo de las 12 horas y se estimó los mililitros necesarios para obtener 0.2 de D.O.₆₀₀ en cada matraz, utilizando como referencia la curva B.1 del Apéndice B,⁽⁷⁾

Fueron pesados cuidadosamente 0.15 g de polímero (previamente molido) y esterilizados mediante UV⁽⁶⁷⁾, y colocados en un tubo de ensayo de 25 mL, agregándole 5 mL de MB sin NH₄NO₃ en condiciones de esterilidad. Se prepararon 8 tubos como éste por cada poliuretano, 7 para tomar una muestra diaria y uno como control de esterilidad al que se le llamará "blanco".

Los 7 tubos fueron marcados por día, del 0 al 6 y se les inoculó con la cepa BIQ-08, desde el cultivo LB ya mencionado, y fueron colocados para incubación a 220 rpm y 36°C en una incubadora de flujo.

Para la obtención del número de UFC's/mL por cada día, presente en los tubos del cultivo de poliuretano, se tomó un volumen de 0.1 mL del cultivo perfectamente agitado y se colocó en un tubo Ependorf con 0.9 mL de MB líquido, esta muestra corresponde a una dilución 10^{-1} ; de esta dilución se tomó 0.1 mL para adicionarlo a otro Ependorf que igualmente contenía 0.9 mL de MB líquido, así esta dilución corresponde a 10^{-2} ; de la misma forma se continuó hasta obtener tres diluciones más: 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} .

Para determinar las bacterias presentes se prepararon placas de medio LB sólido (Apéndice A), en las cuales se realizó el sembrado de 2 de las diluciones mencionadas, que en general fueron 10^{-3} y 10^{-5} , con lo que se buscaba observar las colonias formadas por las bacterias presentes en estas diluciones; así, el contenido de UFC's/mL del tubo de cultivo, al momento de la toma de la muestra, sería, para la dilución 10^{-3} , 1,000 veces más que el número de colonias presentes en la placa correspondiente y por tanto en 10^{-5} el contenido sería 100,000 veces más el número observado. La comparación de ambas cuentas, con lleva a un valor promedio de las UFC's/mL en el cultivo en cada tiempo.

2.4.3 Determinación de los productos de biodegradación

Para corroborar que la cepa BIQ-08 efectivamente se alimenta de los poliuretanos, fue necesario identificar del medio de cultivo, la presencia de los productos de degradación, llamados de forma más adecuada "metabolitos".^(38,39) Estos metabolitos tendrán que ser secciones de moléculas de los poliuretanos que no pertenezcan a productos de hidrólisis que pudiera también estar presente en el medio de cultivo acuoso.

2.4.3.1 Preparación de muestras

Se prepararon cultivos de cada uno de los 8 poliuretanos, colocando 50 mL de MB y agregándole 1.5 g del poliuretano estéril correspondiente, y además se prepararon 8 tubos de ensayo con 5 mL de MB y 0.15 g de poliuretanos, teniendo así por cada poliuretano dos cultivos: uno en un matraz y otro en un tubo. De la misma forma que se describió en la sección 2.4.2.4, se preparó un "over night" para obtener una concentración de bacterias controlada vía D.O.₆₆₀ y se adicionó a los matraces lo necesario para obtener 1 mg/mL de concentración inicial en el cultivo; los tubos se

preservaron sin inocular como control de esterilidad y base para la obtención de los productos de hidrólisis. Los tubos y los matraces se colocaron en la incubadora a 220 rpm y 36 °C por 7 días.

2.4.3.2 Extracción de los productos de degradación

Una vez que había transcurrido el tiempo de cultivo propuesto, se realizó la obtención de los productos de degradación en cada uno de los cultivos a partir del sobrenadante. El cultivo del matraz fue filtrado en papel poro medio para separar el polímero sólido del cultivo líquido, posteriormente el sólido fue lavado y secado a temperatura ambiente, mientras que el líquido fue centrifugado para eliminar las bacterias a 7000 rpm por 25 minutos.

Del líquido centrifugado se tomaron 2 alícuotas de 10 mL. La primera alícuota fue acidificada a pH 1 con una solución 1 N de HCl y se le realizó una extracción con acetato de etilo; posteriormente este extracto fue deshidratado mediante la adición de una pequeña cantidad de Na₂SO₄ anhidro. La segunda alícuota fue alcalinizada a pH 13 con una solución 1 N de NaOH e incubada a 120 °C por 20 minutos, para posteriormente realizar una extracción con acetato de etilo; este extracto fue deshidratado de la misma forma que la otra alícuota. En el caso del contenido de los tubos de ensayo también se realizó la misma operación.

2.4.3.3 Identificación de los productos de degradación

Del procedimiento anterior se obtuvieron 4 extractos por polímero, 2 de los productos de hidrólisis (si existieran) y 2 de los productos de degradación ácidos y básicos. La identificación de tales productos se realizó por cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas (CG-EM). El equipo utilizado fue un cromatógrafo de gases marca HP modelo CG 6890 acoplado a un detector selectivo de masas marca HP modelo 5973. Los extractos fueron metilados con diazometano e inyectados al CG-EM con una temperatura de inyección de 230 °C y programa de temperaturas como sigue: temperatura inicial de 50 °C hasta 80 °C con una rampa de 5 °C por minuto, una meseta de 1 minuto a 80 °C y luego una rampa de 10 °C por minuto hasta llegar a 230 °C; se utilizó como gas de arrastre He y una columna capilar HP-5 de 26 m x 0.32 mm.⁽³⁸⁾

En la figura 2.1 se presenta un resumen de la metodología experimental que se siguió en el presente trabajo, en donde se muestra el lugar que ocupa la etapa de identificación de los productos de degradación dentro del desarrollo experimental.

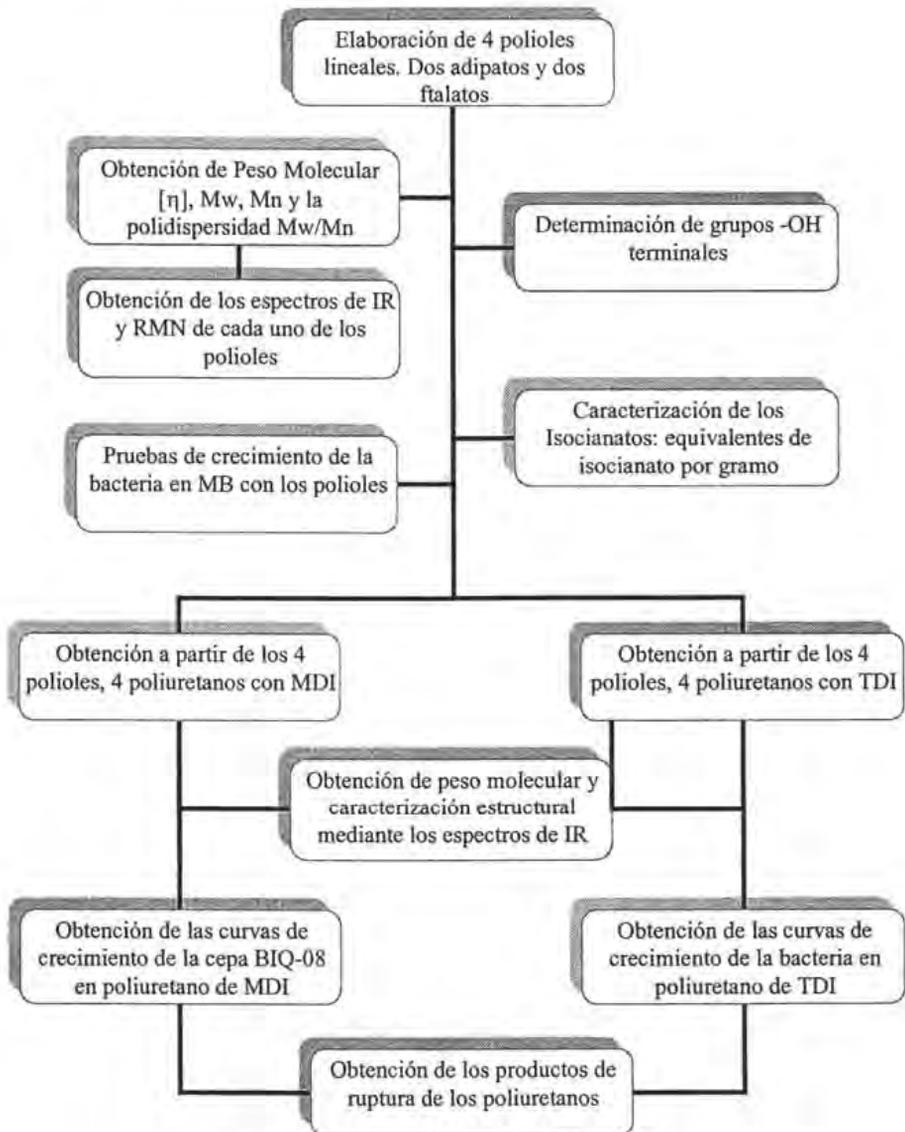


Figura 2.1 Resumen de la metodología de experimentación.

CAPÍTULO 3.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Preparación y caracterización de polioles – poliéster

La primera parte de la síntesis de los poliuretanos – poliéster, es la obtención de los polioles – poliéster que serán utilizados como fuente de grupos de hidroxilo para posteriormente reaccionarlos con los isocianatos y formar el grupo uretano.

Las relaciones utilizadas para la elaboración de los polioles se estimaron mediante la expresión para estequiometría no balanceada de polimerización etapa por etapa ⁽²²⁾, EQ7, considerando un 20 % de exceso en la fuente de grupos hidroxilo para la reacción de esterificación del ácido adípico y del anhídrido ftálico. El grado de polimerización, DP (de sus siglas en inglés Degree of Polymerization), teórico es de 11 en todos los casos.

$$DP = \frac{1+r}{r+1-2 \cdot r \cdot p} \quad (EQ7)$$

Siendo r la relación inicial de monómeros $r = N^{\circ}_A/N^{\circ}_B$ y p la conversión de la reacción; si se considera que $p = 1$ (se convierte todo el monómero A), se tiene la ecuación EQ8 que da los valores de DP respecto a la relación de monómeros r .

$$DP = \frac{1+r}{1-r} \quad (EQ8)$$

En las estimaciones para las relaciones de reactivos para la síntesis de los polioles se asume que el consumo del ácido adípico y/o del anhídrido ftálico es total, lo cual es demostrable mediante el número de ácido. ⁽⁵⁹⁾

El parámetro más importante en la caracterización de los polioles obtenidos, desde el punto de vista de la síntesis de los poliuretanos, es el contenido de grupos OH en el polirol, que se

expresa como los gramos de OH por gramo de polioliol y el cual determina las proporciones estequiométricas con los isocianatos.

Los 4 polioliolos que se obtuvieron fueron líquidos, con viscosidades entre los 4500 y 2500 cp. Estos polioliolos fueron disueltos en THF para el análisis de peso molecular y viscosimetría, y en cloroformo deuterado (CDCl_3) para la determinación de RMN. También presentaron buena solubilidad en tetracloruro de carbono, metanol, etanol y acetona.

En la tabla 3.1 se resumen los valores obtenidos del contenido de OH, determinados por titulación de la muestra de polioliol.

Tabla 3.1 Contenido de grupos hidroxilo de los polioliolos obtenidos.

<i>Polioliol</i>	<i>mg OH/g Polioliol</i>	<i>g polioliol/ eq. de OH</i>
DPG-AAD-DPG	31.9	532.22
DPG-AFT-DPG	28.6	594.45
DEG-AAD-DEG	34.6	490.53
DEG-AFT-DEG	29.5	576.79

El contenido de grupos OH de cada polioliol es de aproximadamente el 3 %, el cual es un valor bajo para los contenidos en polioliolos industriales; sin embargo a los polioliolos industriales se les adiciona normalmente una pequeña cantidad de algún triol o tetrol para aumentar este número. El peso equivalente del polioliol da la referencia del número de gramos de polioliol que se requieren para tener un equivalente de OH.

Por la forma en que fueron preparados, los polioliolos obtenidos son lineales, por lo que su funcionalidad es 2.

Para la determinación de los pesos moleculares, se utilizó en conjunto GPC y viscosimetría, y se usó como referencia la curva de calibración universal de estándares de poliestireno en THF, que se presenta en la figura 3.1.

En la tabla 3.2 se presentan los pesos moleculares peso promedio, M_w , de cada uno de los polioles, junto con su polidispersidad, M_w/M_n , siendo M_n el peso molecular número promedio. Adicionalmente se incluye el valor de la viscosidad intrínseca de los polioles, con la cual se determinó las distribuciones de pesos moleculares del polímero.

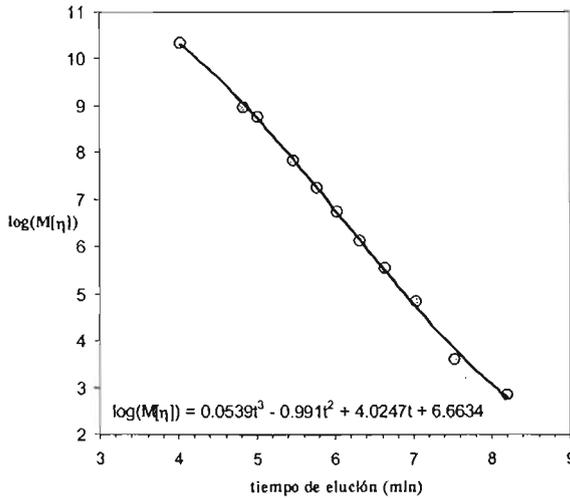


Figura 3.1 Curva de calibración universal de poliestireno en THF.

Tabla 3.2. Pesos moleculares y viscosidad intrínseca de polioles.

Poliol	DP teórico	M_w (g/gmol)	M_w/M_n	$[\eta]$	DP estimado
DPG-AAD-DPG	11	1370	1.30	3.2	9.8
DPG-AFT-DPG	11	1210	1.02	1.8	8.1
DEG-AAD-DEG	11	1410	1.35	3.7	11.2
DEG-AFT-DEG	11	1190	1.03	2.3	8.8

Se observan dos características importantes en los valores de la tabla 3.2, por un lado los polioles a partir de ácido adípico (polioles alifáticos), presentan mayor peso molecular que los polioles a partir de anhídrido ftálico (polioles aromáticos), considerando que el DP teórico es igual en todos los casos; mientras que por otro lado, los polioles aromáticos

presentan una polidispersidad muy baja, indicando una distribución de peso molecular muy estrecha, al contrario de los polioles alifáticos que presentan una distribución de peso molecular mayor. En el Apéndice C se presentan los diagramas de GPC correspondientes a los 4 polioles. Aun con las diferencias en la polidispersidad, los 4 polioles son de distribución de pesos moleculares muy cerrada.

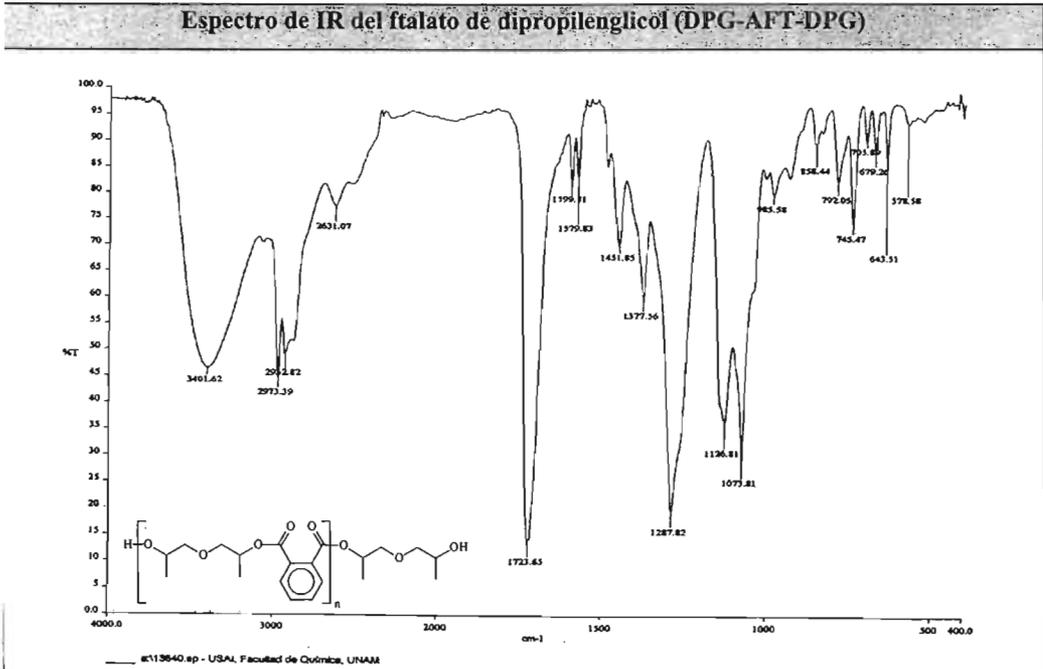
La determinación de la estructura molecular se llevó a cabo mediante IR y RMN de ^1H y ^{13}C . En los espectros de IR se pueden observar claramente las bandas de absorción debidas a la presencia de los OH terminales y las bandas de absorción de los grupos carbonilos $\text{C}=\text{O}$ del éster.

Los espectros de IR (ver tabla 3.4) no muestran la presencia de algún grupo carboxílico en la molécula de los polioles, a pesar de la presencia de las señales de los ésteres; si existiera un grupo carboxílico, se observaría la señal fuerte correspondiente al grupo OH de un carboxilo que aparece en el rango de los 1395 a 1440 cm^{-1} y que no está presente en ninguno de los espectros. ⁽⁶⁷⁾

La diferencia entre los dos polioles aromáticos es el grupo metilo presente en el propilenglicol que se utilizó como precursor, al igual que en los dos polioles alifáticos. Esta pequeña diferencia se observa en los espectros de IR como una señal fuerte en el rango de los 2952 a 2972 cm^{-1} , la cual puede ser observada de forma clara en los espectros como diferencia fundamental entre uno y otro. En la tabla 3.4 se presentan los espectros de IR de los polioles aromáticos y en la tabla 3.5 se presentan los correspondientes a los polioles alifáticos; en ambas tablas se incluye un resumen de las señales características de los grupos funcionales, que confirman la estructura general del polioliol-poliéster.

El caso de los polioles alifáticos es muy similar al anterior, las diferencias entre los espectros se observan en la señales pertenecientes a los metilos colgantes del DPG de origen, mientras que no se observa señales de ácidos carboxílicos presentes como grupo terminal, los cuales favorecerían las reacciones secundarias.

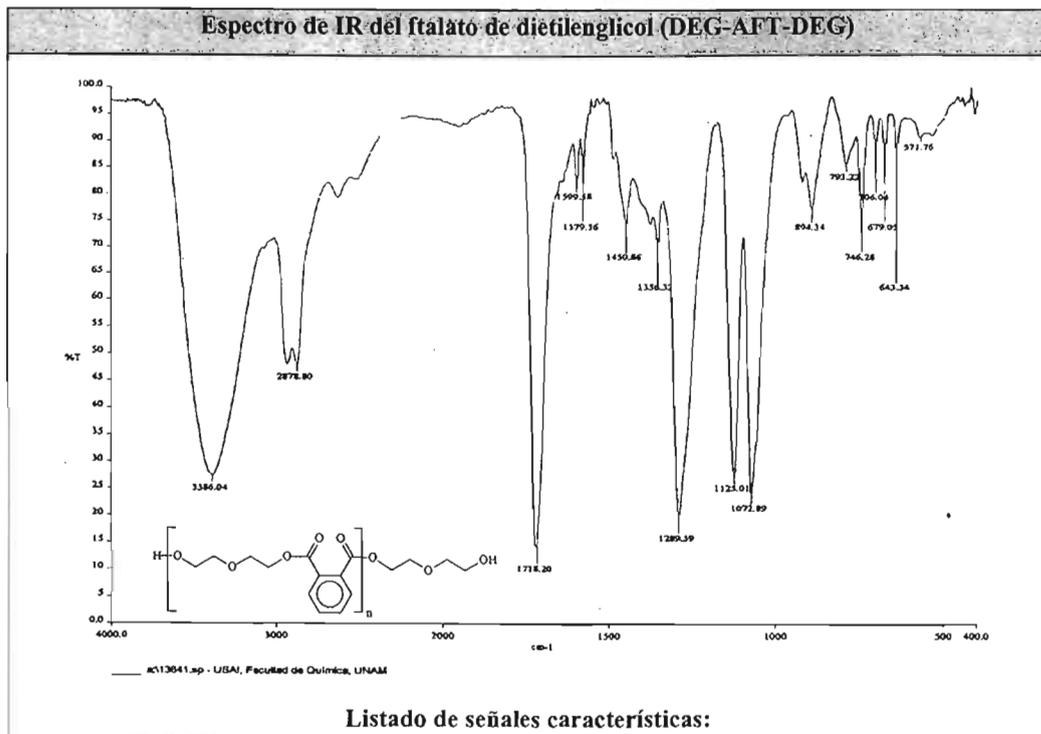
Tabla 3.4 Espectros de IR de los poliolo aromáticos y señales características.



Listado de señales características:

Longitud (cm ⁻¹)	Grupo Funcional ^(55, 68)	Notas
3401.62	-OH	Grupos terminales del poliol
1287.82	R-CH ₂ -OH, C-O-R	Grupo -OH terminal unido a un CH ₂ , y C-O del éster
1073.81	C-O-H	Enlace carbono-oxígeno del OH terminal
2973.39, 1377.56	R-CH ₃	Señales debidas al metilo presente proveniente del glicol
2932.82, 1451.85	R'-CH ₂ -R''	Señales debidas a los alcanos O-CH ₂ -CH ₂ -O
1599.81, 1579.83, 745.47		Señales debidas a los enlaces aromáticos
1723.65	-C=O	Señal del grupo carbonilo del éster
1126.81	-C-O-C-	Señal por la presencia de enlaces éter en la molécula

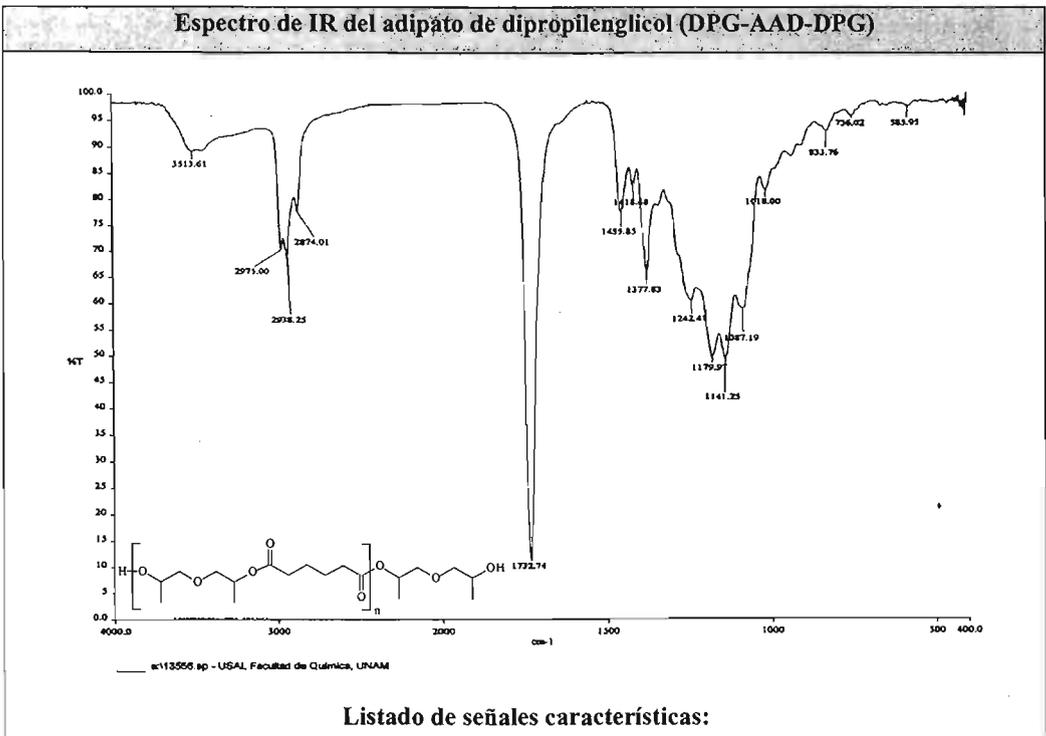
Tabla 3.4 Espectros de IR de los polioles aromáticos y señales características. (Continuación)



Listado de señales características:

Longitud (cm ⁻¹)	Grupo Funcional ^(55, 68)	Notas
3386.04	-OH	Grupos terminales del poliol
1289.59	R-CH ₂ -OH	Grupo -OH terminal unido a un CH ₂
1072.89	C-O-H, C-O-R	Enlace carbono-oxígeno del OH terminal
2878.80, 1450.66	R'-CH ₂ -R''	Señales debidas a los alcanos -CH ₂ -
1579.56, 1599.58, 746.28		Señales debidas a los enlaces aromáticos
1718.29	-C=O	Señal del grupo carbonilo del éster
1125.02	-C-O-C-	Señal por la presencia de enlaces éter

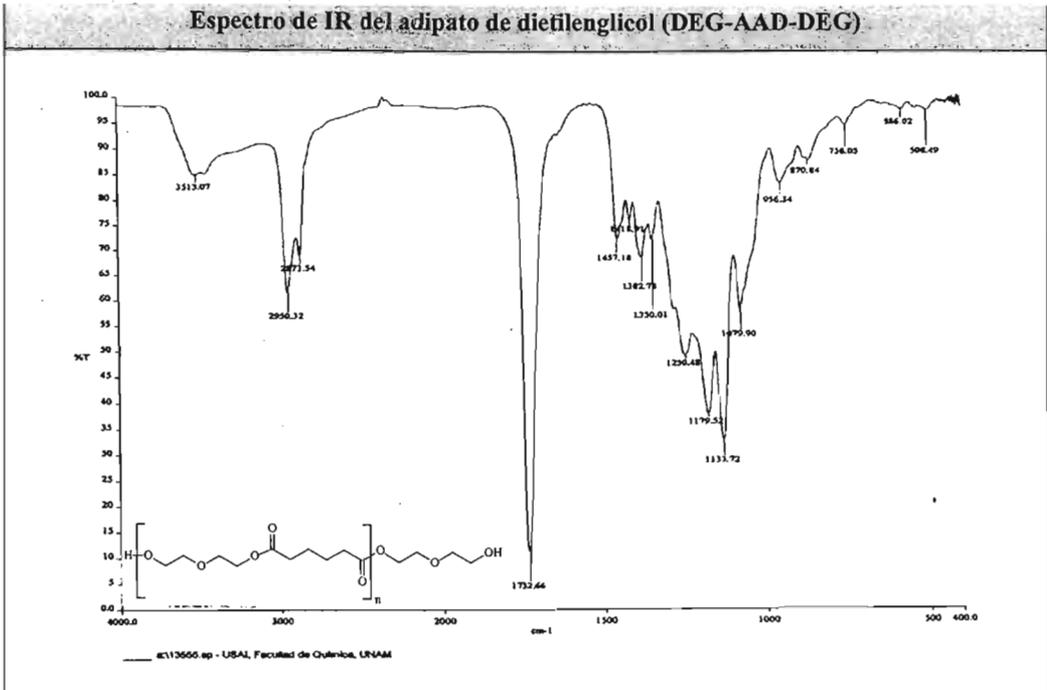
Tabla 3.5 Espectros de IR de los polioles alifáticos y señales características.



Listado de señales características:

Longitud (cm ⁻¹)	Grupo Funcional ^(55, 68)	Notas
3513.61	-OH	Grupos terminales del polirol
1242.41	R-CH ₂ -OH, C-O-R	Grupo -OH terminal unido a un CH ₂ , y C-O del éster
1087.19	C-O-H	Enlace carbono-oxígeno del OH terminal
2975.00	R-CH ₃	Señales debidas al metilo presente proveniente del glicol
2938.25, 2874.01, 1455.85	R'-CH ₂ -R''	Señales debidas a los alcanos O-CRH-CH ₂ -O
Anteriores, 756.02	-(CH ₂) ₄ -	Señal debida a la sección alifática del adipato, vibración C-C
1732.74	-C=O	Señal del grupo carbonilo del éster
1179.97	R-CO-O-R	Señal del enlace C-O del grupo éster
1141.25	-C-O-C-	Señal por la presencia de enlaces éter en la molécula

Tabla 3.5 Espectros de IR de los polioles alifáticos y señales características. (Continuación)



Listado de señales características:

Longitud (cm ⁻¹)	Grupo Funcional ^(55, 68)	Notas
3513.07	-OH	Grupos terminales del poliol
1250.48	R-CH ₂ -OH	Grupo -OH terminal unido a un CH ₂
1079.90	C-O-H	Enlace carbono-oxígeno del OH terminal
2950,2873.54, 1457.18	R'-CH ₂ -R''	Señales debidas a los alcanos O-CH ₂ -CH ₂ -O
Anteriores, 756.05	-(CH ₂) ₄ -	Señal debida a la sección alifática del adipato, vibración C-C
1732.66	-C=O	Señal del grupo carbonilo del éster
1179.52	R-CO-O-R	Señal del enlace C-O del grupo éster
1133.72	-C-O-C-	Señal por la presencia de enlaces éter

En el caso de los espectros de RMN, se confirman los resultados ya obtenidos por IR, las estimaciones para los átomos presentes en la molécula son los correspondientes a moléculas de éster con terminaciones de hidroxilo.

Los espectros de resonancia magnética nuclear se presentan en la tabla 3.6; se obtuvieron los espectros de ^{13}C y ^1H para establecer con mayor fidelidad la estructura de los poliols. Los espectros de RMN de ^1H muestran el agrupamiento de señales características de una molécula polimérica, mostrando un grupo de señales para los átomos en la zona terminal y otro para los correspondientes al polímero.⁽²⁰⁾ Por otro lado los espectros de ^{13}C dan una muy buena caracterización de la estructura de la molécula, ya que mediante tablas⁽⁵⁵⁾ y por medio de software de modelado de espectroscopia⁽⁶⁸⁾ se puede establecer fácilmente los carbonos característicos de la estructura de cada polioli; en éstos espectros se observa un desdoblamiento en las señales de los carbonos, lo cual es de esperarse por las diferencias que existen entre los carbonos según su posición en la cadena del polímero; es decir, aunque los carbonos son estructuralmente repetibles, la presencia de cadenas moleculares de distintos tamaños, da como resultado diferencias entre los carbonos por su posición ya sea en el centro de una cadena de polímero grande o por estar en una posición cercana al OH terminal.

3.2 Caracterización de MDI y TDI

Las propiedades resumidas de los isocianatos utilizados para la síntesis de los poliuretanos se presentan en la tabla 3.7. En el caso del TDI, como ya se mencionó en el Capítulo 2, se disponía de una mezcla aproximadamente 80-20 de los monómeros 2,4- y 2,6- respectivamente de marca Aldrich grado técnico. Se determinó por cromatografía de gases acoplada a un detector de masas (figura 3.2), que las impurezas presentes en el TDI utilizado no son cuantificables respecto a los isocianatos, mientras que el proveedor propone una pureza de más del 99.5%. De tal manera que el peso molecular del TDI es el de la suma de los átomos de la molécula.

Tabla 3.6 Espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C de los polioles-poliéster.

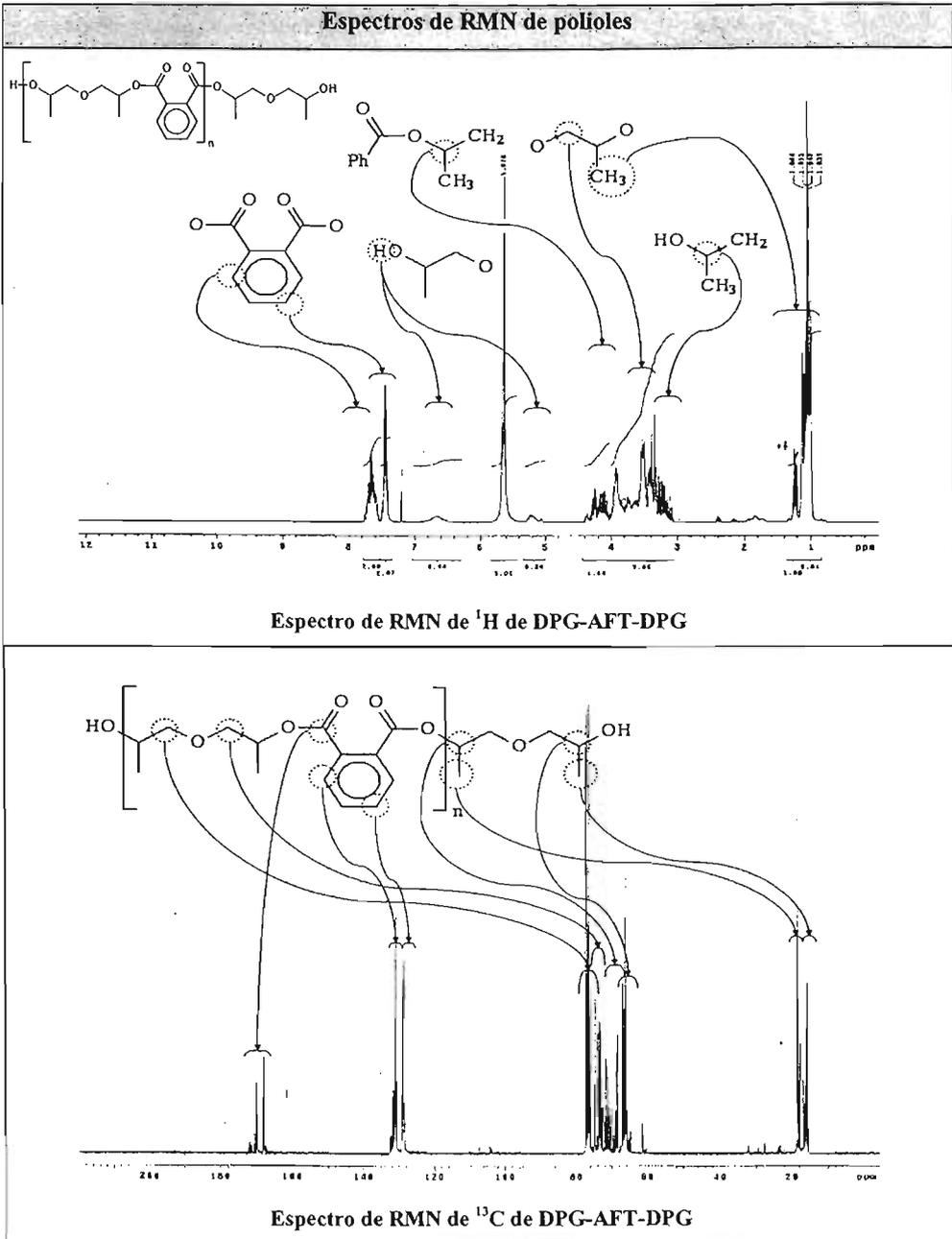


Tabla 3.6 Espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C de los polioles-poliéster.

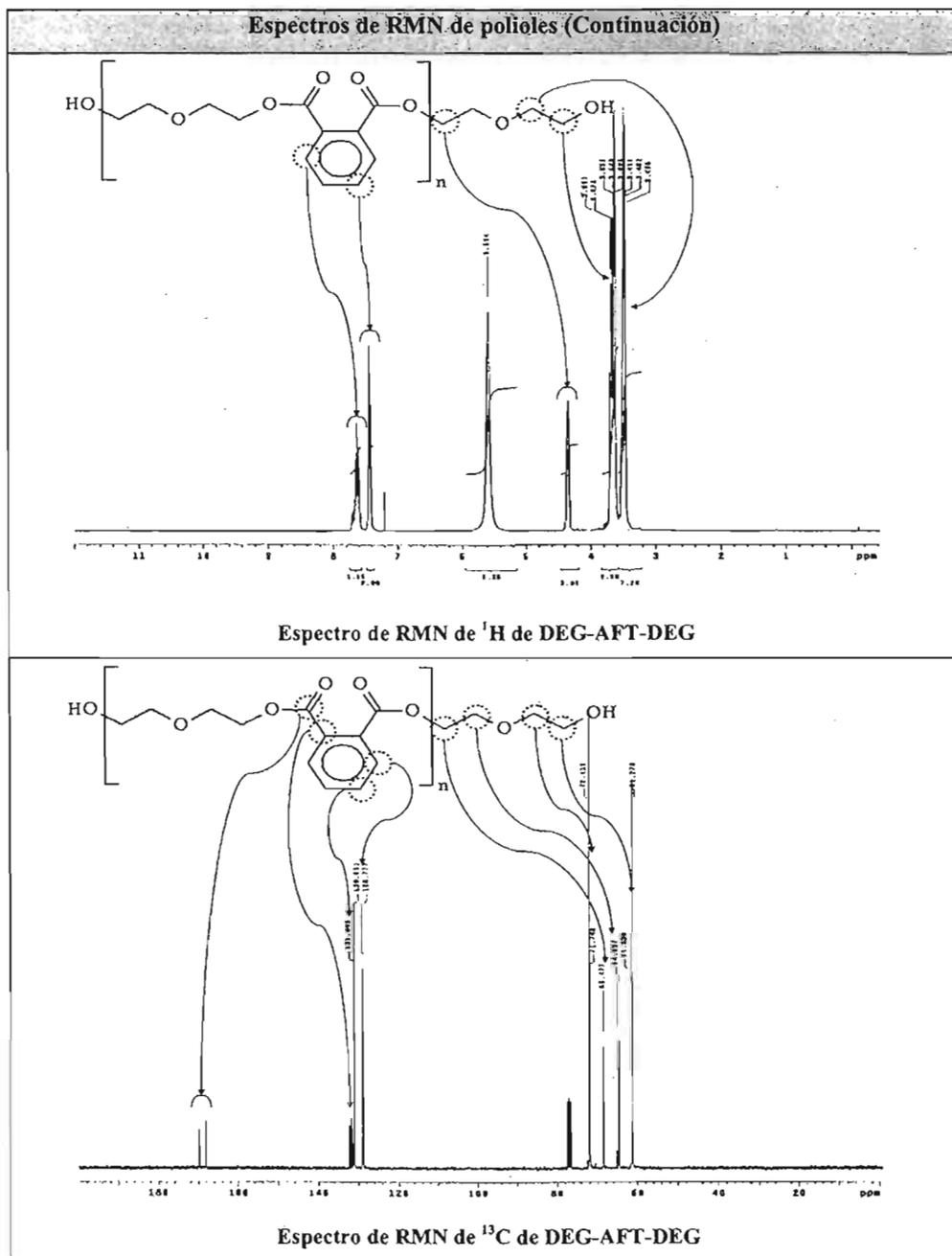


Tabla 3.6 Espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C de los polioles-poliéster.

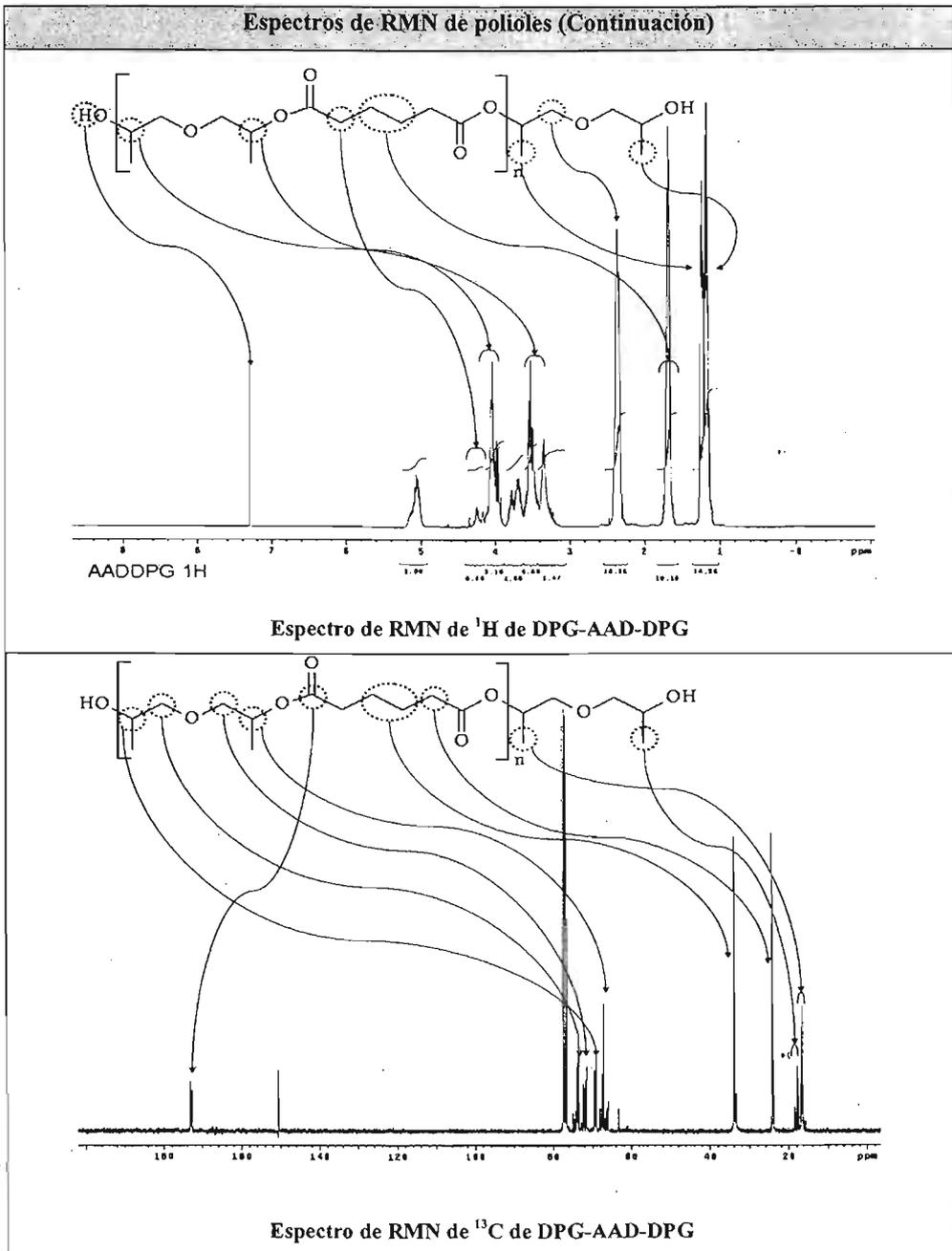
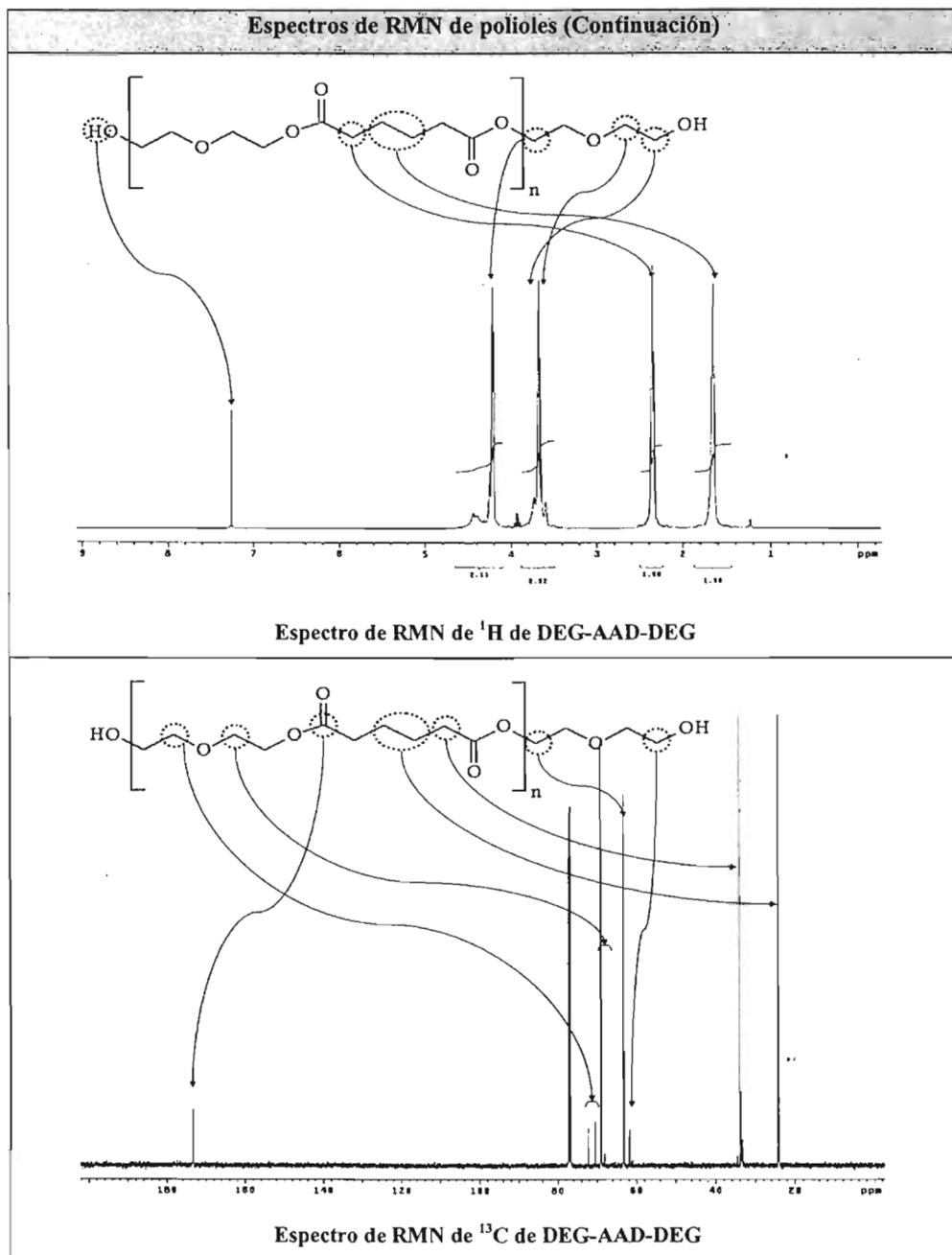


Tabla 3.6 Espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C de los polioles-poliéster.



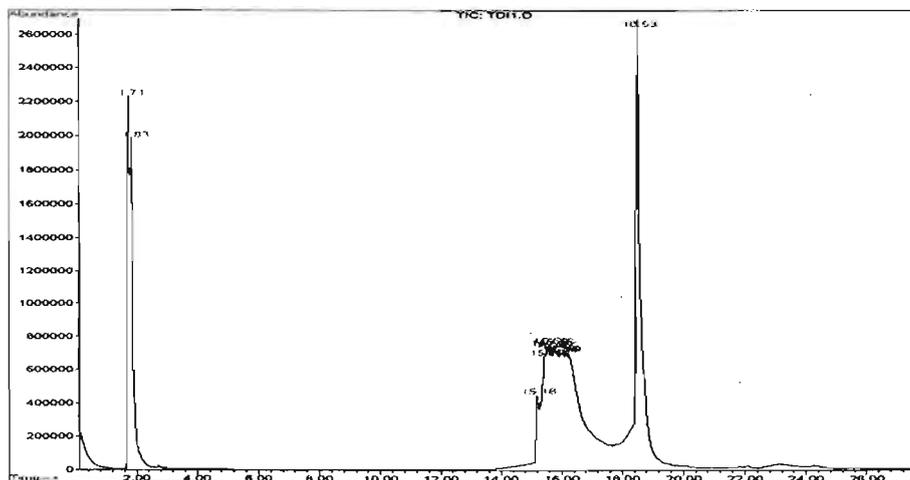


Figura 3.2. Análisis por cromatografía del TDI utilizado.

Para el caso del MDI se contó con una mezcla de Down Chemical con un contenido de isocianatos del 33.3 % (peso); las especificaciones lo reportan como una mezcla de isómeros 4,4'- y 4,2'- difenildiisocianato de metileno, que son los isómeros para- con contenido de 55 % y orto- con contenido de 25 % respectivamente, además de un 20 % de triisocianatos y especies de mayor peso molecular, con una distribución de peso molecular muy estrecha ⁽⁷¹⁾. El análisis por gases – masas del MDI muestra dos especies en abundancia y un grupo de especies de pesos moleculares mayores a 250 en pequeñas cantidades (figura 3.3).

Tabla 3.7. Propiedades de los diisocianatos utilizados como materia prima.

Propiedad	MDI	TDI
Eq de NCO/gramo	0.00757	0.0115
Peso Equivalente	132 g/eq NCO	87 g/eq NCO
Peso Molecular	304	174
Funcionalidad	2.3	2
Viscosidad (a 20°C)	240 cp	5 cp
Densidad (a 20°C)	1.22 g/mL	1.23 g/mL

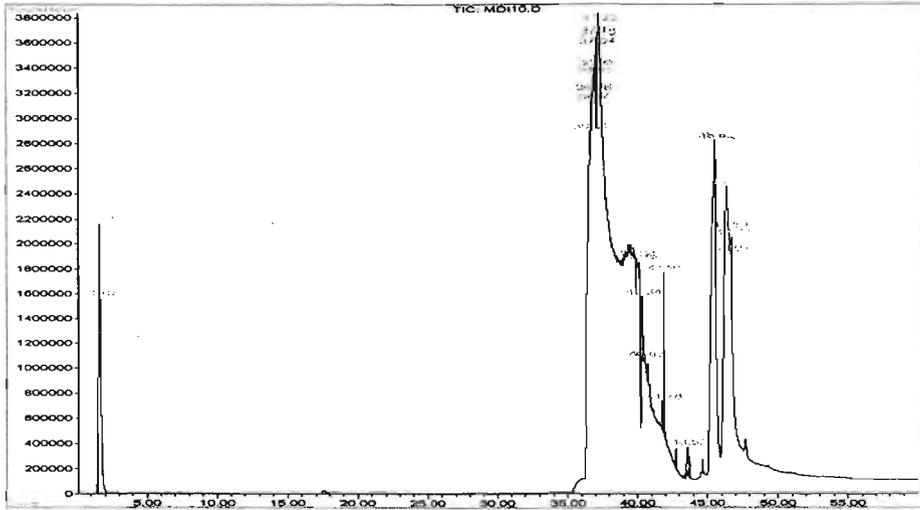


Figura 3.3. Análisis por cromatografía del MDI utilizado.

En la figura 3.4 se presenta el espectro de masas del 4, 4'- difenildiisocianato de metileno, presente en la mezcla de MDI utilizada en la síntesis de los poliuretanos; por cromatografía de gases se observa además, una segunda señal que presenta el mismo espectro, la cual es muy probable que sea debida al isómero 2,2', y por otro lado, se observa la presencia de un trímero.

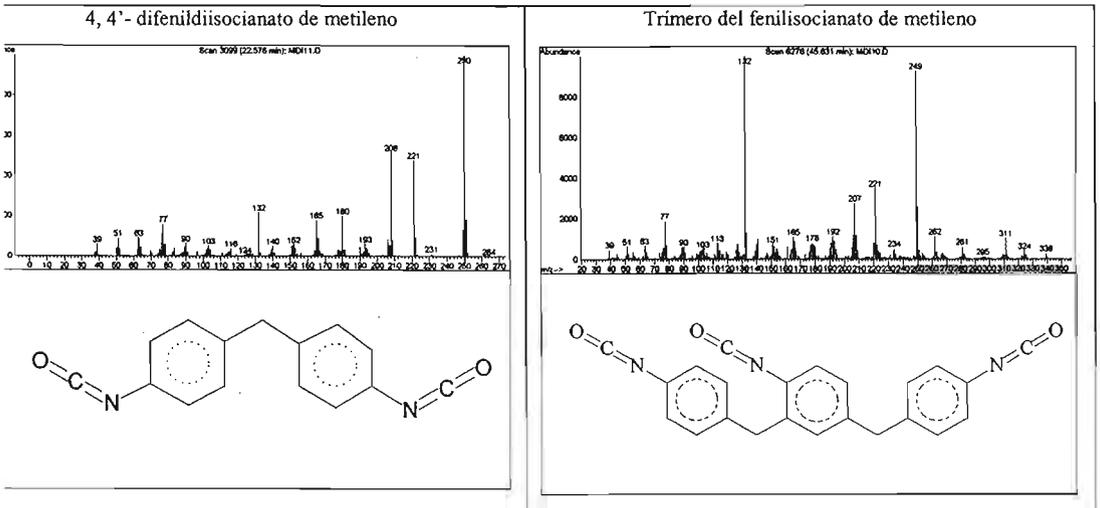


Figura 3.4 Espectros de masas de los isómeros componentes del MDI.

En la figura 3.5 se presentan los espectros de masas de los dos isómeros del TDI, donde además se realiza la comparación con los espectros de la base de datos del equipo ⁽⁶⁹⁾. En esta figura se observa una coincidencia de más del 98 %.

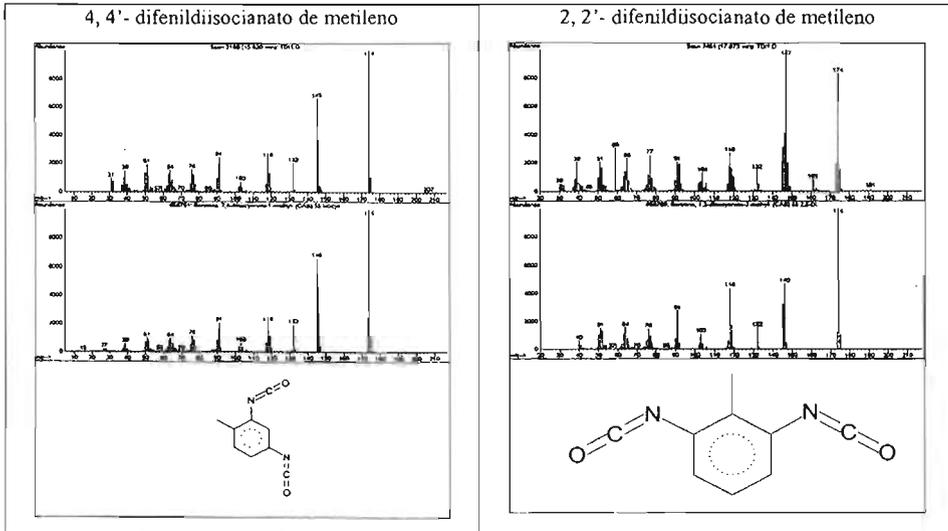


Figura 3.5 Espectros de masas de los isómeros componentes del TDI.

El espectro de IR del MDI se presenta en la figura 3.6, en donde se observan las bandas de absorción características debidas a los grupos isocianato ($-N=C=O$) en 2273 cm^{-1} , además de las que muestran la presencia del anillo aromático en 3026.7 , 1608.24 , 1577.32 , 1523.77 , 1434.41 cm^{-1} y la debida al enlace C-H en 2914.16 . ^(55, 68)

En la figura 3.7 se presenta el espectro de IR del TDI, en el cual se observan las bandas de absorción del isocianato ($-N=C=O$) en 2264.35 cm^{-1} , y las bandas de absorción características debidas al anillo aromático en 1616.51 , 1578.7 , 1524.75 , además de las señales del enlace fenilo- CH_3 en 2923.56 . ^(55, 68)

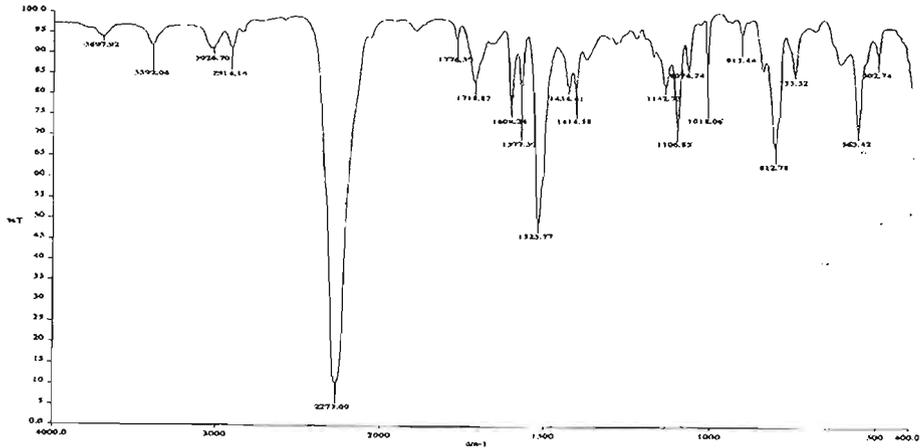


Figura 3.6 Espectro de IR del MDI.

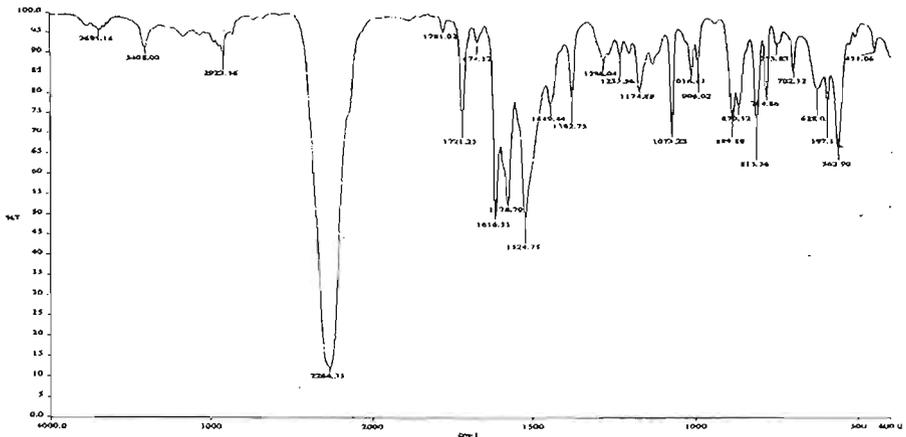


Figura 3.7 Espectro de IR del TDI.

La elaboración de los poliuretanos conlleva a una serie de reacciones secundarias a la formación del grupo uretano, que no son fácilmente controlables ⁽⁷⁰⁾, por lo que la caracterización adecuada de la materias primas para la obtención de los poliuretanos es fundamental en la síntesis controlada de éstos. El control real de síntesis, está en el control de la estructura de los polioles y su distribución de pesos moleculares, además en el conocimiento adecuado de los equivalentes del grupo $-N=C=O$ contenidos en los isocianatos disponibles para tal tarea. ⁽⁷²⁾

3.3 Preparación y caracterización de poliuretanos – poliéster

Para la elaboración de los poliuretanos se realizaron los cálculos correspondientes a un modelo de polimerización etapa por etapa (EQ8), así, con éste modelo de polimerización se obtuvieron los valores teóricos de relaciones molares para un DP deseado en la síntesis de los polímeros.

Las relaciones obtenidas debieron implicar un exceso de isocianato en la relación de equivalentes (tabla 2.2), esto es debido a que la humedad en el ambiente o la presente en alguno o en los dos componentes de la reacción, favorece la formación de amina terminal y luego una urea y con ésta, la serie de reacciones no controladas que se presentan en la figura 3.8.

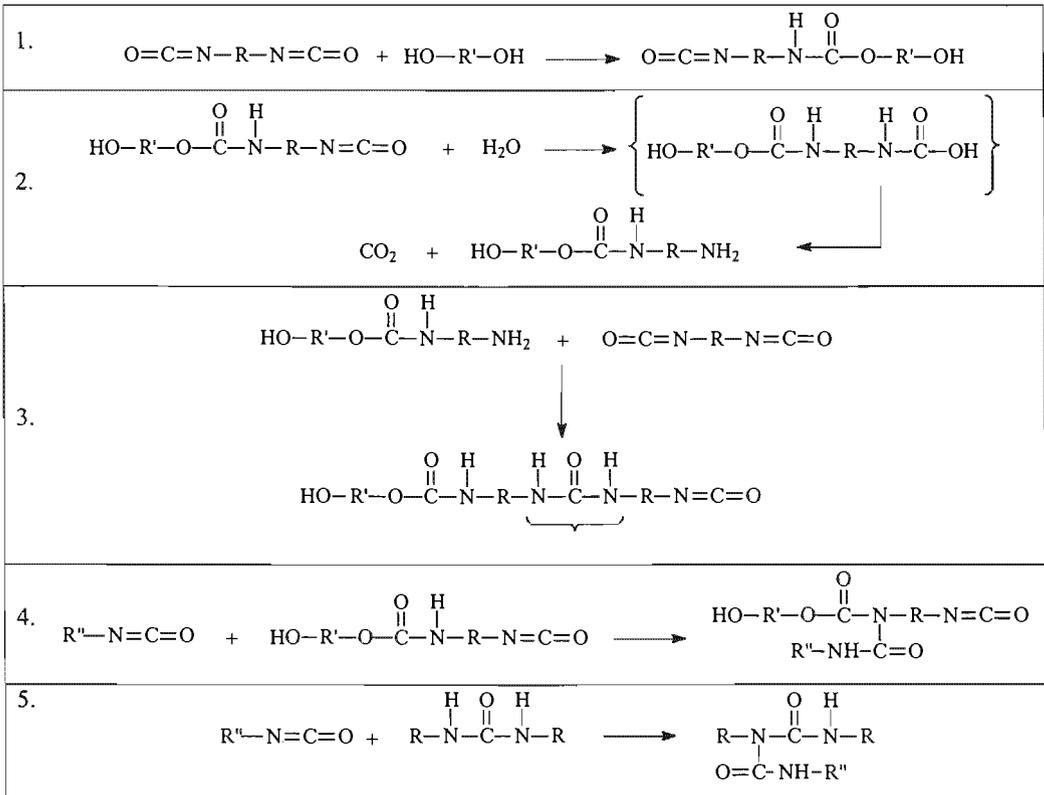


Figura 3.8 Secuencia de reacciones de formación de un poliuretano.

La preparación de los poliuretanos se llevó a cabo en masa, aunque el control de la reacción de polimerización se lleva a cabo mejor en solución ⁽⁷³⁾; al realizar la polimerización en masa se obtiene por un lado un poliuretano más cercano a un material común en la industria, pero sin los aditivos que pueden interferir en las pruebas de biodegradación; mientras que por otro lado, se elimina la presencia de residuos del disolvente en los poliuretanos, lo cual también sería una interferencia difícil de cuantificar en las pruebas de degradación y no dejaría claro el efecto del solvente sobre la capacidad de la cepa BIQ-08 de alimentarse del poliuretano⁽³⁶⁾.

Una vez que los poliuretanos fueron sintetizados se realizó la caracterización; para la obtención de sus pesos moleculares, éstos fueron disueltos en DMSO, el cual se determinó después de una búsqueda del mejor disolvente; la solución del polímero se aforó con THF hasta 10 mL para la concentración deseada. La tabla 3.8 muestra los resultados obtenidos, para el DP teórico de la formulación, el DP estimado según el Mw, los pesos moleculares obtenidos con la curva de calibración universal y la viscosidad intrínseca del material.

Tabla 3.8 Caracterización de los poliuretanos por GPC y viscosimetría.

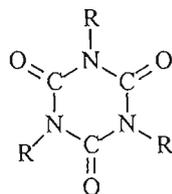
Clave	Poliuretano	DP teórico	DP calculado*	Mw (g/gmol)	Mz (g/gmol)	Mw/Mn	[η]
Polímeros a partir de MDI (Familia 1)							
MDI-1	DPG-AAD-DPG-MDI	11	Insoluble	-	-	-	-
MDI-2	DPG-AFT-DPG-MDI	11	45	67,800	310,000	120	21.3
MDI-3	DEG-AAD-DEG-MDI	11	Insoluble	-	-	-	-
MDI-4	DEG-AFT-DEG-MDI	11	25	36,600	157,600	27	15.5
Polímeros a partir de TDI (Familia 2)							
TDI-1	DPG-AAD-DPG-TDI	11	99	122,600	1,052,000	240	31.8
TDI-2	DPG-AFT-DPG-TDI	9	25	34,600	101,100	48	14.9
TDI-3	DEG-AAD-DEG-TDI	11	40	46,200	272,000	43	16.2
TDI-4	DEG-AFT-DEG-TDI	9	15	20,500	97,100	22	9.4

^(*)DP calculado es el grado de polimerización estimado según el Mw de la muestra.

La tabla 3.8 muestra los DP teóricos de los poliuretanos, calculados con la ecuación EQ8 y los datos de la tabla 2.2, donde el isocianato se consideró como el componente en exceso; aunque los valores de DP parecen muy bajos, se observa claramente en los resultados de la tabla, que los DP finales son muchísimo más grandes. Se tomó la decisión de calcular la formulación del poliuretano para DP bajos, considerando que podría existir un agotamiento no cuantificable, en la cantidad de grupos isocianato por la presencia de residuos de humedad en los materiales o el ambiente.

Sin embargo se observa que para los poliuretanos de MDI con polioles alifáticos (DPG-AAD-DPG-MDI y DEG-AAD-DEG-MDI, MDI-1 y MDI-2 respectivamente) no fue posible obtener su peso molecular por GPC ni su viscosidad intrínseca, ya que no pudieron ser disueltos; la razón de esto se atribuye al exceso de isocianato utilizado para lograr materiales sólidos, favoreciendo la formación del isocianurato, que se da por la reacción entre 3 grupos isocianatos formando un ciclo y provocando en los polímeros una red molecular. Observando la estructura del isocianurato (E10), se ve claramente como su presencia en un poliuretano genera polímeros muy ramificados capaces de tener pesos moleculares infinitos.

Así, los poliuretanos de MDI-1 y MDI-3, además de haber sido obtenidos a partir de un MDI con una fracción de moléculas ramificadas, es muy probable que el exceso de isocianato generara ramificaciones haciendo imposible su caracterización en términos de peso molecular.



(E10)

Con base en lo anterior, se puede observar también en los resultados de la tabla 3.8, que el grado de polimerización final de los poliuretanos aumenta varias veces más que el estimado

en las relaciones iniciales; esto demuestra que se cumple el supuesto inicial, del agotamiento de grupos isocianato debido a que ocurren las reacciones secundarias (reacciones 2 a la 5 de la figura 3.8, además de la posible formación del isocianurato), de tal forma que la relación isocianatos – hidroxilos se reduce generando un grado de polimerización mayor.

La tabla 3.8 muestra que la polidispersidad de los poliuretanos obtenidos es enorme, más aun lo demuestra la disparidad entre los valores de M_w y M_z , que muestran que en la distribución de pesos moleculares se tienen en abundancia suficientes pesos moleculares muy altos (del orden de 10^6) y al mismo tiempo, en proporciones similares, pesos muy pequeños; esto es probablemente debido a que las reacciones secundarias de los isocianatos generan entrecruzamiento y la unión de cadenas largas, mientras algunas cadenas pequeñas no reaccionan por el agotamiento de los grupos isocianato.

Un hecho que evidenció la presencia de reacciones secundarias, es que en todos los procesos de elaboración de los poliuretanos se presentó espumado, el volumen de la espuma fue de aproximadamente tres veces el volumen de la mezcla de reacción; en el caso de los poliuretanos hechos con los polioles – poliéster alifáticos (**DPG-AAD-DPG** y **DEG-AAD-DEG**), la espuma fue, a simple vista, de tamaño de celda grande y muy irregular, que además después de concluir el proceso de curado, resultó en un material semirígido; por otro lado los poliuretanos a partir de los polioles – poliéster aromáticos (**DPG-AFT-DPG** y **DEG-AFT-DEG**) presentó un tamaño de celda muy pequeño y muy uniforme, sin embargo el material después de curado es sumamente quebradizo, de tal forma que con sólo rasparlo se obtenía un polvo fino.

La presencia de espumado en los poliuretanos indica que las reacciones 1, 2 y 3 de la figura 3.8 se están llevando a cabo y que la reacción 3, del isocianato con la humedad, esta ocurriendo, eliminando una cantidad considerable de isocianatos sin tener una forma de cuantificarla. Las reacciones secundarias 4 y 5 se llevan a cabo en menor proporción, pero se efectúan, debido a la presencia de las aminas generadas como producto de la reacción 3 de la misma figura. ⁽⁷³⁾

Todos los materiales obtenidos presentan fluidez a temperaturas mayores a los 95 °C, lo cual es evidencia de la linealidad de las moléculas de polímero, ya que le permite fluir con más facilidad, además de que el Mw del material es relativamente bajo. ⁽⁷³⁾

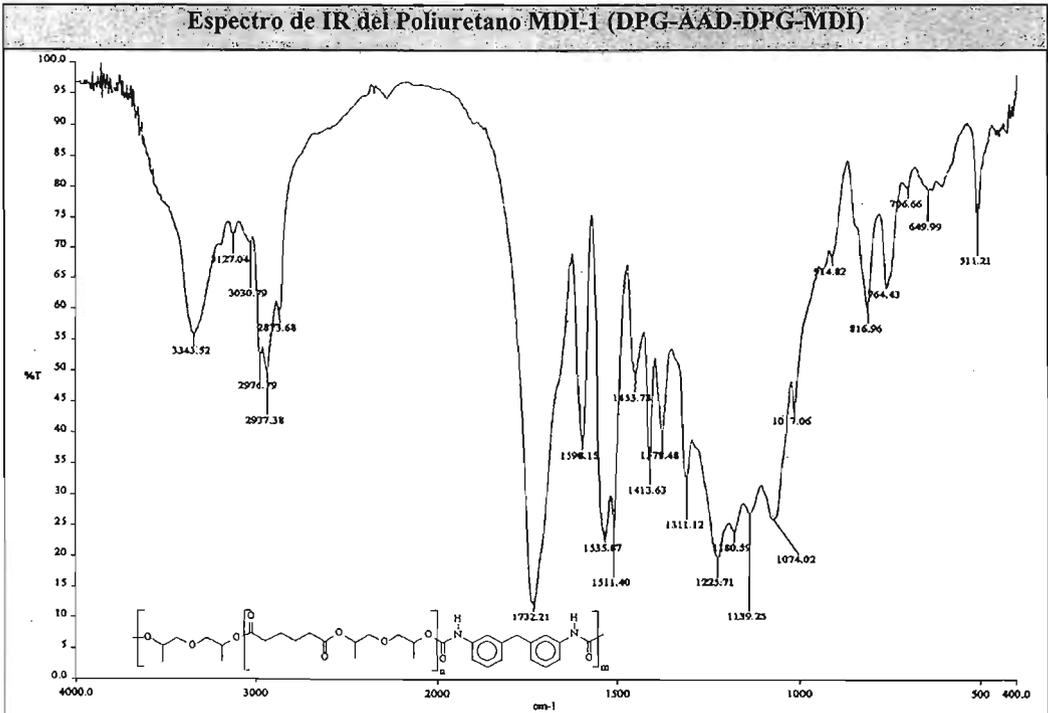
En la tabla 3.8 también se observa que todos los poliuretanos que se obtuvieron a partir de los polioles aromáticos (ftalatos), presentan los cuatro pesos moleculares más bajos; adicionalmente los poliuretanos de la familia del MDI son de pesos moleculares mayores a los elaborados con TDI. También se observa que los poliuretanos con DEG son de menor peso molecular que su contraparte con DPG.

3.3.1 Caracterización de la estructura de los poliuretanos por IR

Para determinar la estructura general de los poliuretanos se obtuvieron los espectros de infrarrojo para cada uno de ellos, en los cuales se observan diferencias claras para cada familia, entre los provenientes de los polioles aromáticos y los de polioles alifáticos. La tabla 3.9 muestra los espectros de IR y un listado de las señales debidas a los grupos funcionales presentes en los poliuretanos del MDI. El resumen correspondiente a los poliuretanos obtenidos con TDI se presenta en la tabla 3.10.

En los espectros de la tabla 3.9, se observan claramente las señales pertenecientes al grupo funcional uretano presente en los polímeros; el grupo hidroxilo terminal teórico se observa en todos los espectros en la región de 3120 cm^{-1} , aunque el valor de la integración del pico no esta presente en todos los espectros. Para verificar la presencia de un grupo terminal isocianato, se debería observar en los espectros las señales correspondientes a $-\text{NH}_2$ que es la amina resultante de la reacción del isocianato con el agua; sin embargo es difícil identificar esta amina por separado debido a la presencia también del grupo NH del uretano. Una de las señales más importantes a identificar es la correspondiente al isocianurato, la cual se presenta alrededor de los 1414 cm^{-1} ⁽¹¹⁾ y da la referencia de que en la estructura de los poliuretanos están presentes ramificaciones.

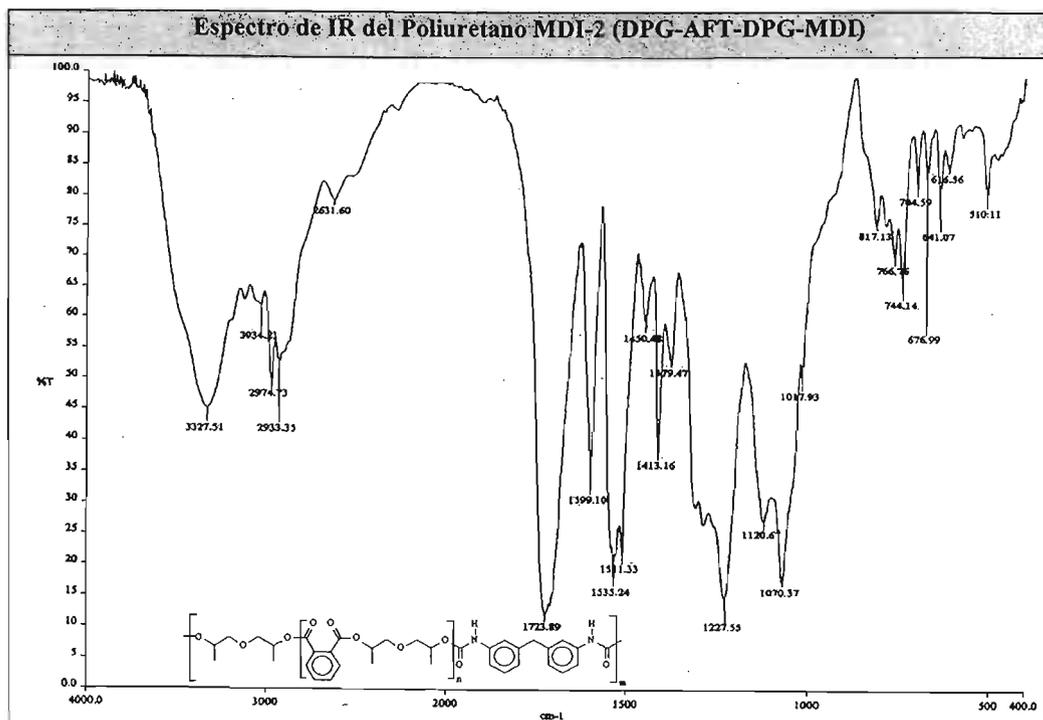
Tabla 3.9 Análisis de espectros de IR de los poliuretanos a partir de MDI.



Listado de señales características:

Longitud (cm ⁻¹)	Grupo Funcional ^(55, 68)	Notas
3343.52	f-NH-C	Grupo amina unido al fenilo, (grupo uretano y terminal)
1732.21	-C=O	Enlace carbonilo del grupo uretano y de los ésteres del poliol
1535.87	C-NH,	Enlace carbono - amina
1225.71	C-N & C-O	Enlaces de amida del grupo uretano
1074.02, 1180.59	C-O	Enlace carbono – oxígeno del grupo uretano y del éster resp.
2976.79, 1378.48	R-CH ₃	Señales debidas al metilo presente proveniente del glicol
2873.68	R ₃ -CH	Señal de los enlaces del carbono terciario
2937.38, 1453.73	R'-CH ₂ -R''	Señales debidas a los alcanos O-CH ₂ -CH ₂ -O
Anteriores, 764.43	-(CH ₂) ₄ -	Señal de la cadena alifática del adipato
1598.15, 1511.4, 706.66, 764.43		Señales debidas a los enlaces aromáticos
1139.25	-C-O-C-	Señal por la presencia de enlaces éter en la molécula

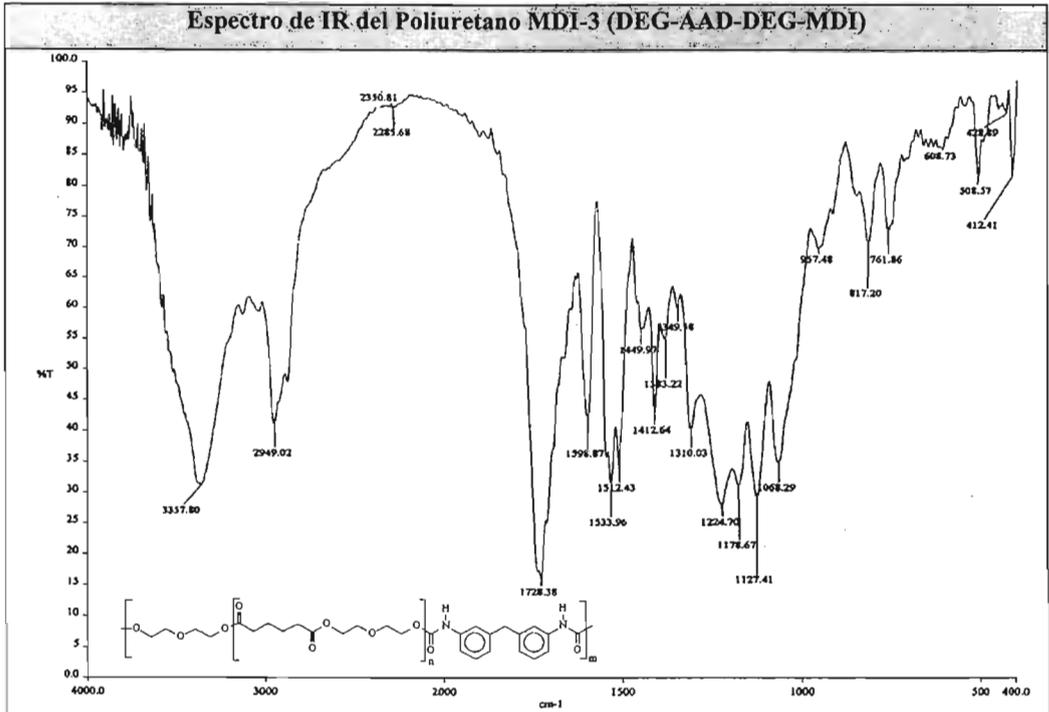
Tabla 3.9 Análisis de espectros de IR de los poliuretanos a partir de MDI. (Continuación)



Listado de señales características:

Longitud (cm ⁻¹)	Grupo Funcional ^(55, 68)	Notas
3327.51	f-NH-C	Grupo amina unido al fenilo, (grupo uretano y terminal)
1723.89	-C=O	Enlace carbonilo del grupo uretano y de los ésteres del poliol
1535.24	C-NH,	Enlace carbono - amina
1227.55	C-N & C-O	Enlaces de amida del grupo uretano
1070.37, 1250 a 1310	C-O	Enlace carbono – oxígeno del grupo uretano y del éster resp.
2974.73, 1379.47	R-CH ₃	Señales debidas al metilo presente proveniente del glicol
2880 a 2900	R ₃ -CH	Señal de los enlaces del carbono terciario
2933.35, 1450.48	R'-CH ₂ -R''	Señales debidas a los alcanos, R puede ser CH ₂ o fenilo (MDI)
1599.10, 1511.33, 817.13, 744.14	 orto- sustituido	Señales debidas a los enlaces aromáticos, para- sustituidos
Anteriores, 766.76, 704.59	 meta- sustituido	Señales debidas a los enlaces aromáticos, meta- sustituidos
1120.67	-C-O-C-	Señal por la presencia de enlaces éter en la molécula

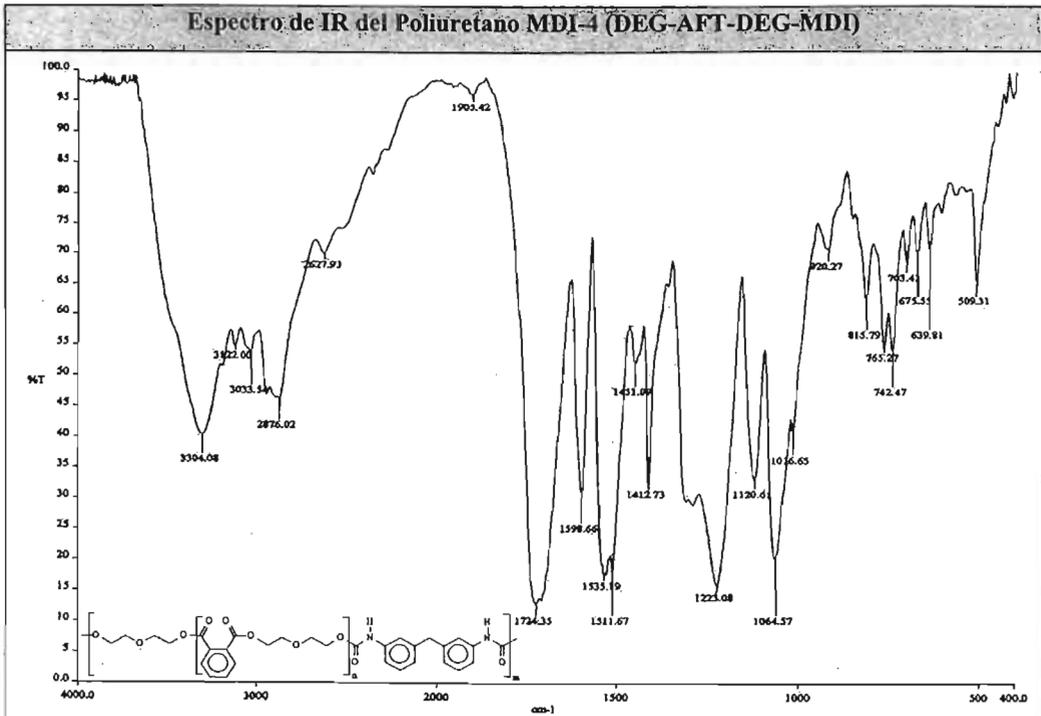
Tabla 3.9 Análisis de espectros de IR de los poliuretanos a partir de MDI. (Continuación)



Listado de señales características:

Longitud (cm ⁻¹)	Grupo Funcional ^(55, 68)	Notas
3357.8	f-NH-C	Grupo amina unido al fenilo, (grupo uretano y terminal)
1728.38	-C=O	Enlace carbonilo del grupo uretano y de los ésteres del poliol
1533.96	C-NH,	Enlace carbono - amina
1224.70	C-N & C-O	Enlaces de amida del grupo uretano
1068.29, 1178.67	C-O	Enlace carbono - oxígeno del grupo uretano y del éster resp.
2949.35, 1449.97	R'-CH ₂ -R''	Señales debidas a los alcanos, R puede ser CH ₂ o fenilo (MDI)
Anteriores, 761.86	-(CH ₂) ₄ -	Señal de la cadena alifática del adipato
1598.87, 1512.43, 957.48, 817.20, 761.76		Señales debidas a los enlaces aromáticos
1127.41	-C-O-C-	Señal por la presencia de enlaces éter en la molécula

Tabla 3.9 Análisis de espectros de IR de los poliuretanos a partir de MDI. (Continuación)



Listado de señales características:

Longitud (cm ⁻¹)	Grupo Funcional ^(55,68)	Notas
3304.08	f-NH-C	Grupo amina unido al fenilo, (grupo uretano y terminal)
1724.35	-C=O	Enlace carbonilo del grupo uretano y de los ésteres del polioli
1535.19	C-NH,	Enlace carbono - amina
1223.08	C-N & C-O	Enlaces de amida del grupo uretano
1064.57, 1178.67	C-O	Enlace carbono – oxígeno del grupo uretano y del éster resp.
3122.0	CH-OH	Enlace del grupo hidroxilo terminal
2876.02, 1451.09	R'-CH ₂ -R''	Señales debidas a los alcanos, R puede ser CH ₂ o fenilo (MDI)
Anteriores, 765.27	-(CH ₂) ₄ -	Señal de la cadena alifática del adipato
1598.66, 1511.67, 957.48, 742.47	 orto- sustituido	Señales debidas a los enlaces aromáticos, para- sustituidos
Anteriores, 815.79, 765.27, 703.43	 meta- sustituido	Señales debidas a los enlaces aromáticos meta- sustituidos
1120.61	-C-O-C-	Señal por la presencia de enlaces éter en la molécula

Como era de esperarse, no existen señales de grupos funcionales isocianato terminales en el polímero o de una señal debida al isocianato residual de la reacción de polimerización, muy probablemente debido a que la cantidad de isocianatos residuales es muy pequeña con respecto a la cantidad de los otros grupos funcionales presentes; lo mismo es probable que ocurra con los grupos hidroxilo terminales, que también presenta señales muy débiles aunque notables a diferencia de las otras.

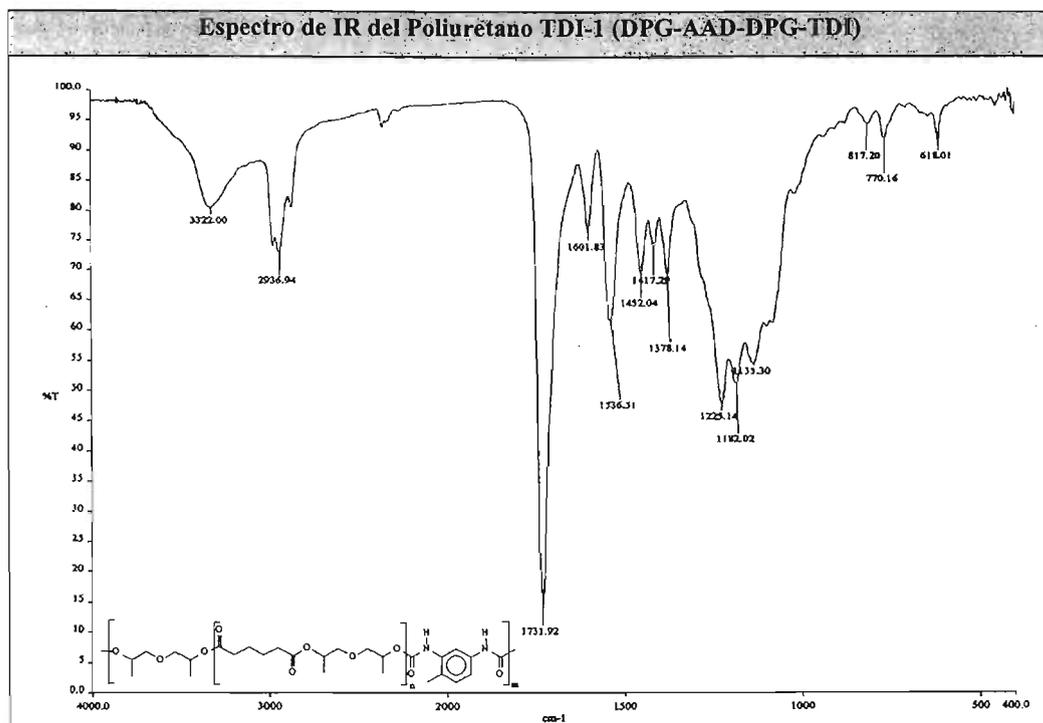
Por otro lado, la presencia de reacciones secundarias de las aminas subproducto con más isocianato, deberían formar el grupo urea (-NH-CO-NH-), el cual tiene señales parcialmente encimadas con las pertenecientes al grupo uretano, pero existe un desplazamiento en la señal debido al grupo carbonilo de la urea, que tendría que observarse en el rango de los 1615 a los 1670 cm^{-1} . Esta señal se puede observar en los espectros correspondientes a los poliuretanos MDI-2, 3 y 4, sin embargo no se observa en el MDI-1, lo cual puede ser debido a un traslape de la señal, ya que es probable que sea más débil respecto a la señal del carbonilo del grupo uretano.

Respecto a los demás subproductos de la reacción de los isocianatos con el agua, por espectroscopia de IR son difíciles de diferenciar, debido a que los grupos funcionales que se forman, en sus estructuras tienen enlaces muy similares entre sí y con el grupo uretano. La señal correspondiente al grupo funcional isocianurato se observa claramente en todos los espectros, inclusive en el MDI materia prima, y en todos, entorno a los 1414 cm^{-1} . Esto demuestra la existencia de ramificaciones en los poliuretanos y por tanto es la razón más probable de la dificultad para poder caracterizar a los polímeros alifáticos.

En los espectros de la tabla 3.10, que corresponden a los 4 poliuretanos del TDI, no se observa en ninguno de ellos señales correspondientes a grupos OH terminales, los cuales pueden estar en muy baja cantidad respecto a los otros grupos funcionales.

En el caso del grupo carbonilo del enlace éster, éste no se observa en ninguno de los espectros excepto en el correspondiente al TDI-4, en el cual se puede ver ligeramente como una señal junto a la señal de 1710 cm^{-1} .

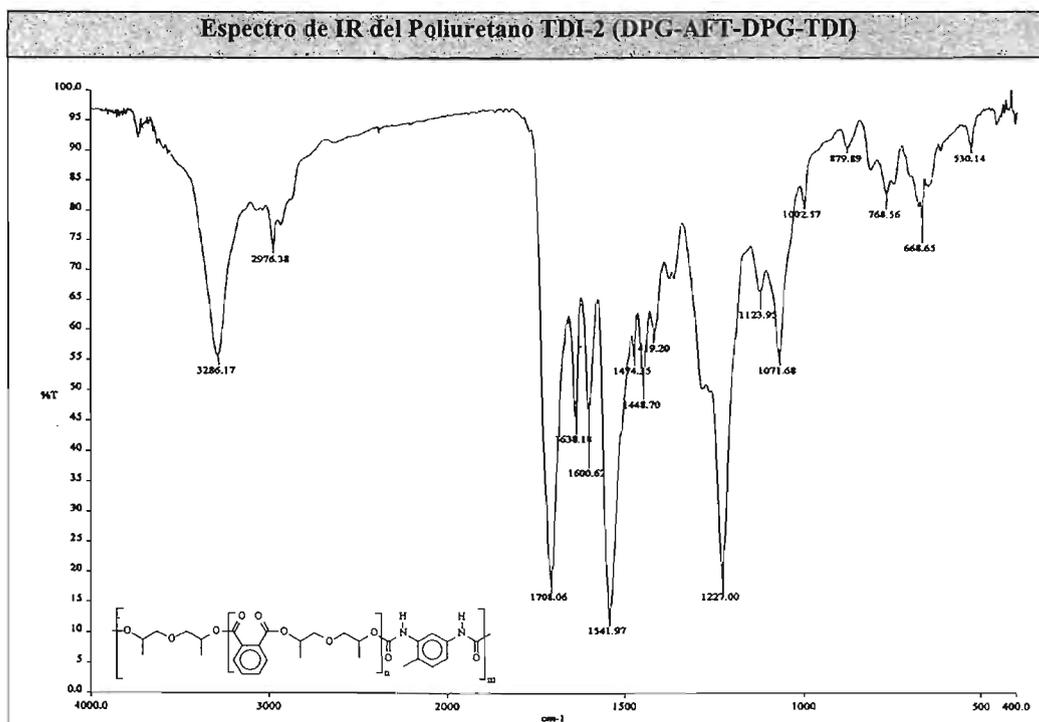
Tabla 3.10 Análisis de espectros de IR de los poliuretanos a partir de TDI.



Listado de señales características:

Longitud (cm ⁻¹)	Grupo Funcional ^(55, 68)	Notas
3322.52	ph-NH-C	Grupo amina unido al fenilo, (grupo uretano y terminal)
1731.92	-C=O	Enlace carbonilo del grupo uretano y de los ésteres del polioli
1536.51	C-NH ₂	Enlace carbono - amina
1225.14	C-N & C-O	Enlaces de amida del grupo uretano
1077, 1182.02	C-O	Enlace carbono - oxígeno del grupo uretano y del éster resp.
2952 a 2972, 1378.14	R-CH ₃	Señales debidas al metilo presente proveniente glicol
2843 a 2863	R ₃ -CH	Señal de los enlaces del carbono terciario
2936.94, 1452.04	R'-CH ₂ -R''	Señales debidas a los alcanos O-CH ₂ -CH ₂ -O
Anteriores, 770.16	-(CH ₂) ₄ -	Señal de la cadena alifática del adipato
1601.83, 770.16, 618.01		Señales debidas a los enlaces aromáticos, fenilo tri-sustituido
1135.30	-C-O-C-	Señal por la presencia de enlaces éter en la molécula

Tabla 3.10 Análisis de espectros de IR de los poliuretanos a partir de TDI. (Continuación)

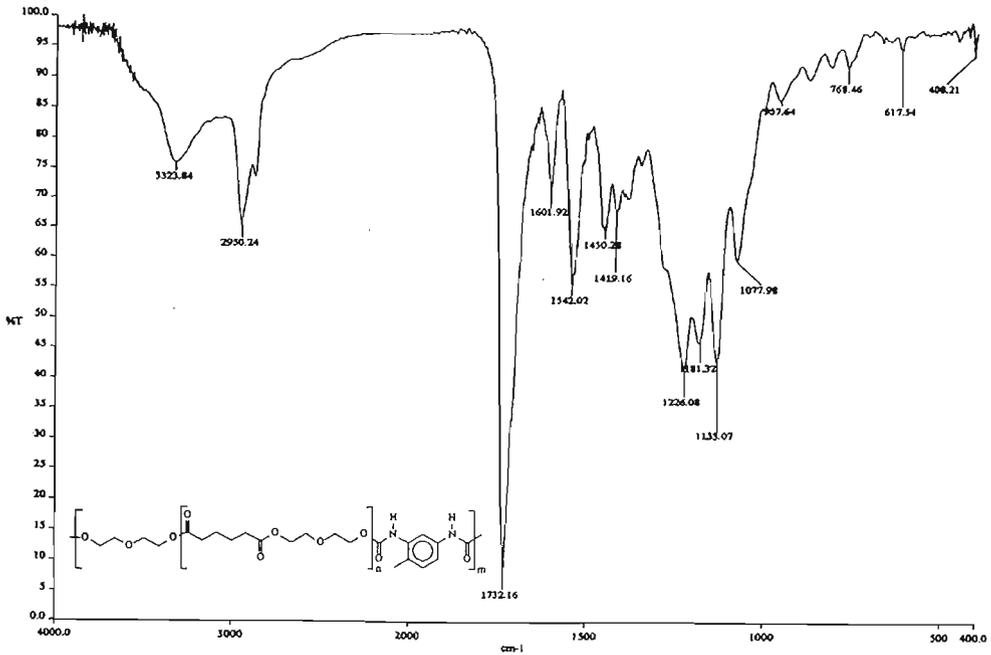


Listado de señales características:

Longitud (cm ⁻¹)	Grupo Funcional ^(55, 68)	Notas
3286.17	ph-NH-C	Grupo amina unido al fenilo, (grupo uretano y terminal)
1708.06	-C=O	Enlace carbonilo del grupo uretano y de los ésteres del poliol
1541.97	C-NH,	Enlace carbono - amina
1227.00	C-N & C-O	Enlaces de amida del grupo uretano
1071.68, 1250 a 1310	C-O	Enlace carbono – oxígeno del grupo uretano y del éster resp.
2976.38, 1379-1378	R-CH ₃	Señales debidas al metilo presente proveniente glicol
2862 a 2882	R ₃ -CH	Señal de los enlaces del carbono terciario
2933.35, 1448.70	R'-CH ₂ -R''	Señales debidas a los alcanos, R puede ser CH ₂ o fenilo (MDI)
1600.62, 879.89, 760 a 780		Señales debidas a los enlaces aromáticos, tri- sustituidos
Anteriores, 768.56	 orto- sustituido	Señales debidas a los enlaces aromáticos, para- sustituidos
1123.95	-C-O-C-	Señal por la presencia de enlaces éter en la molécula

Tabla 3.10 Análisis de espectros de IR de los poliuretanos a partir de TDI. (Continuación)

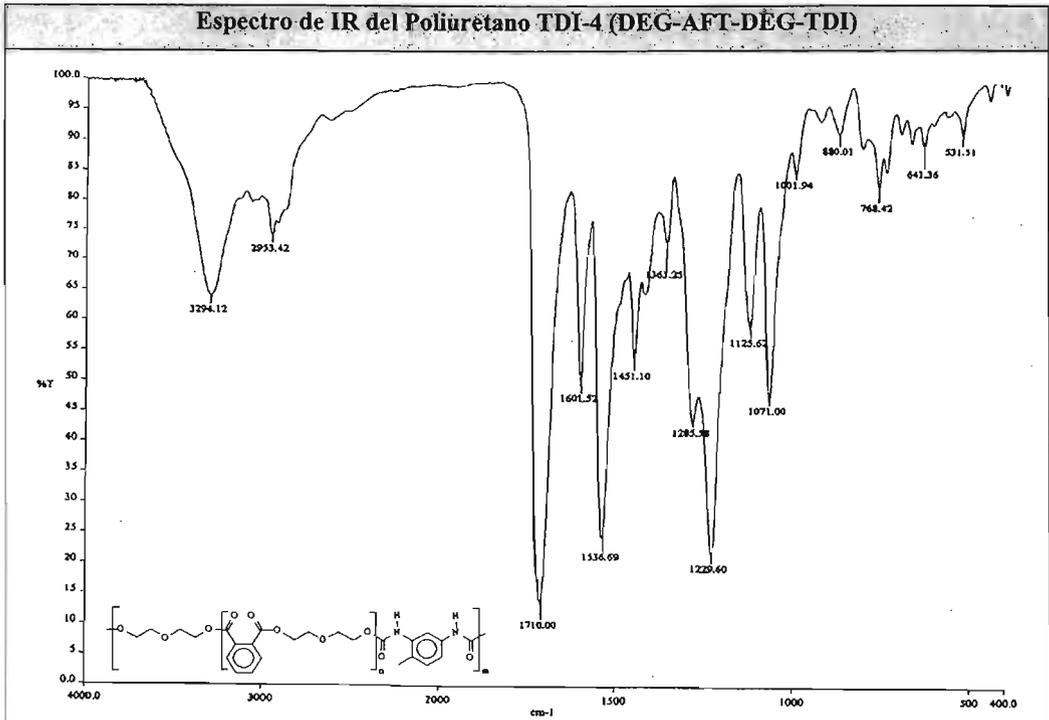
Espectro de IR del Poliuretano TDI-3 (DEG-AAD-DEG-TDI)



Listado de señales características:

Longitud (cm ⁻¹)	Grupo Funcional ^(55, 68)	Notas
3323.84	ph-NH-C	Grupo amina unido al fenilo, (grupo uretano y terminal)
1732.16	-C=O	Enlace carbonilo del grupo uretano y de los ésteres del poliuretano
1542.02	C-NH,	Enlace carbono - amina
1226.08	C-N & C-O	Enlaces de amida del grupo uretano
1077.98, 1181.32	C-O	Enlace carbono – oxígeno del grupo uretano y del éster resp.
2950.24, 1450.28	R'-CH ₂ -R''	Señales debidas a los alcanos, R puede ser CH ₂ o fenilo (MDI)
Anteriores, 768.46	-(CH ₂) ₄ -	Señal de la cadena alifática del adipato
1601.92, 957.64		Señales debidas a los enlaces aromáticos, tri-sustituido
1133.07	-C-O-C-	Señal por la presencia de enlaces éter en la molécula

Tabla 3.10 Análisis de espectros de IR de los poliuretanos a partir de TDI. (Continuación)



Listado de señales características:

Longitud (cm ⁻¹)	Grupo Funcional ^(55,68)	Notas
3294.12	ph-NH-C	Grupo amina unido al fenilo, (grupo uretano y terminal)
1710.00	-C=O	Enlace carbonilo del grupo uretano y de los ésteres del poliol
1536.69	C-NH,	Enlace carbono - amina
1229.60	C-N & C-O	Enlaces de amida del grupo uretano
1071.00, 1285.62	C-O	Enlace carbono – oxígeno del grupo uretano y del éster resp.
2953.42, 1451.10	R'-CH ₂ -R''	Señales debidas a los alcanos, R puede ser CH ₂ o fenilo (MDI)
Anteriores, 768.42	-(CH ₂) ₄ -	Señal de la cadena alifática del adipato
1601.52, 1001.94, 760 a 780		Señales debidas a los enlaces aromáticos, tri-sustituídos
Anteriores, 880.01	 orto- sustituido	Señales debidas a los enlaces aromáticos orto- sustituidos
1125.61	-C-O-C-	Señal por la presencia de enlaces éter en la molécula

En la elaboración de estos poliuretanos, a partir del TDI, también se presentó formación de espuma, pero no comparable con los poliuretanos del MDI; esto también se refleja en los espectros de IR donde las señales de los grupos funcionales se definen claramente. Sin embargo, en la formación de éstos poliuretanos las reacciones existen, pero no es posible asociar de forma contundente una señal a algún grupo funcional de los subproductos de la formación de poliuretanos.

Por otro lado, la presencia de la señal debida al isocianurato también muestra un grado de entrecruzamiento en los poliuretanos; esta señal, en éstos polímeros se presentó alrededor de los 1417 cm^{-1} , pero es una señal significativamente más débil que la que se observa en los poliuretanos de MDI.

La caracterización por IR de los poliuretanos brindó información muy valiosa respecto a los grupos presentes en los polímeros, estas señales pueden cambiar debido al efecto de las bacterias sobre algunos grupos funcionales en particular.

3.4 Resultados de pruebas de biodegradación

3.4.1 Pruebas de biodegradación de materias primas

Para realizar las pruebas de degradación, primero fue necesario establecer el efecto aparente de los residuos de polioles y glicoles en los poliuretanos, por lo que se realizaron pruebas de biodegradación de las materias primas. Los resultados para los glicoles y los isocianatos se presentan en la tabla 3.11. En general se esperaba que el crecimiento en los glicoles fuera positivo, debido a que se asumió que por ser moléculas pequeñas con grupos éster, serían fáciles de biodegradar; mientras que en los isocianatos se esperaba crecimiento negativo, ya que las pruebas son en medio acuoso y los isocianatos forman compuestos de urea en agua entre otros compuestos de nitrógeno, generando cadenas largas con grupos funcionales que no corresponden a la actividad ya establecida con la cepa BIQ-08.

Los resultados fueron como se esperaban, la cepa BIQ-08 fue capaz de alimentarse de los glicoles, sin embargo se debe considerar que éstas son moléculas pequeñas y además que en la reacción de formación de los poliuretanos funcionan como iniciadores, por lo que en teoría son agotados en su totalidad, en el caso de llegar a existir como residuos en los polioles.

Tabla 3.11 Crecimiento de bacterias en materias primas (glicoles e isocianatos).

Materia Prima	Cepa-BIQ-08	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Proteus</i> <i>vulgaris</i>
DEG	positivo	positivo	positivo	negativo
DPG	positivo	positivo	positivo	negativo
MDI	negativo	negativo	negativo	negativo
TDI	negativo	negativo	negativo	negativo

Cultivo en medio basal, con fuente de nitrógeno, después de 3 días de incubación

Se utiliza a la bacteria *Escherichia coli* como control negativo debido a su rapidez de duplicación y a que es una bacteria que no excreta enzimas al medio; la *Pseudomonas* sp. es una bacteria muy común y de fácil adaptabilidad mientras *Proteus vulgaris* es una bacteria que presenta actividad enzimática esterasa y ureasa.

De la misma forma se realizaron pruebas de crecimiento en los polioles, utilizando MB sólido con poliol al 3 % en peso, con la finalidad de observar la capacidad de la cepa BIQ-08 de alimentarse de poliol, el cual presenta enlaces éster en su molécula. Los resultados se presentan en la tabla 3.12.

Los resultados de crecimiento en poliol de las bacterias muestran la facilidad de la cepa BIQ-08 para alimentarse de los polioles alifáticos, mientras que los polioles aromáticos no presentan un crecimiento comparativo en las condiciones de cultivo establecidas. Aunque no se observa crecimiento en los cultivos del poliol aromático, esto no quiere decir que la cepa BIQ-08 no pueda alimentarse de los grupos éster del poliol, lo más probable es que sea debido a que el cultivo es en medio basal sólido con el poliol disperso, por lo que la

cantidad de poliol disponible para metabolizar en la cercanía de las bacterias plantadas, puede ser pequeña, y aunado a que el poliol tiene un núcleo aromático que dificulta la hidrólisis de los grupos éster, es probable que la adaptación de las bacterias a ésta condición podría ser más lenta con respecto a la necesaria para metabolizar el poliol alifático.

Tabla 3.12 Crecimiento de bacterias en polioles.

Poliol	Cepa BIQ-08	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
DPG.AAD.DPG	positivo	negativo	positivo	negativo
DPG.AFT.DPG	negativo	negativo	negativo	negativo
DEG.AAD.DEG	positivo	negativo	positivo	negativo
DEG.AFT.DEG	negativo	negativo	negativo	negativo

Cultivo en medio basal sólido, con fuente de nitrógeno, después de 3 días de incubación

Para verificar el crecimiento de la cepa BIQ-08 en poliol aromático, se realizaron pruebas de crecimiento en medio basal líquido con fuente de nitrógeno con los 4 polioles (una por poliol), conteniendo una concentración de poliol en el medio del 3 % en peso.

Se prepararon dos matraces de cultivo por cada poliol, utilizando uno como control de esterilidad y el otro inoculándolo con la cepa BIQ-08.

Los resultados encontrados tras 3 días de incubación fueron que aún existían bacterias vivas en el medio para los 4 polioles. Para determinar si existía crecimiento en el número de bacterias capaces de formar una colonia (UFC: Unidades Formadoras de Colonias), también llamadas viables, se tomó al tiempo de inoculación un conteo en placa de LB, donde se determinó el número de bacterias presentes mediante un conteo de colonias a las 24 horas y así se establecieron las UFC al tiempo de inoculación; posteriormente se realizó la misma operación para el día 2 de incubación de los matraces, estos valores se presentan en la tabla 3.13. El resultado demostró que existe un crecimiento comparativo para los 4 polioles utilizando a los polioles como fuente de carbono.

Tabla 3.13 Cuantificación de crecimiento en polioles.

Tiempo de cultivo	DPG.AAD.DPG (UFC/mL)	DPG.AFT.DPG (UFC/mL)	DEG.AAD.DEG (UFC/mL)	DEG.AFT.DEG (UFC/mL)
Inicial	233,000	236,000	230,000	234,000
2 días	1.85×10^6	1.69×10^6	1.88×10^6	1.72×10^6
$\Delta(\text{UFC})^*$	6.94	6.16	7.17	6.35

*La diferencia de crecimiento se establece como $[(\text{Valor final} - \text{Valor inicial}) / \text{Valor inicial}]$, es el número de veces que se duplicó la bacteria en términos de viables en el tiempo de observación.

El crecimiento presente en los polioles da una idea general de que la cepa BIQ-08 mantiene su capacidad de alimentarse de los grupos éster presentes en los polioles, mientras éstos estén por una parte, de forma accesible en términos estructurales de la molécula, y además en concentraciones abundantes, aún cuando no sean tan accesibles. Es decir, la cepa BIQ-08 requiere de que los enlaces éster estén accesible en la molécula para la actividad enzimática y aparentemente la estructura aromática afecta esta accesibilidad, haciéndose notable cuando esta fuente de carbono se encuentra a bajas concentraciones.

La importancia de estos resultados está en la información acerca del patrón de crecimiento de la cepa BIQ-08, ya que el crecimiento que pueda ser medido, cuando se realicen las pruebas a los poliuretanos, podría ser mantenido por la presencia de las moléculas de polioliol residuales en el polímero. Los análisis de GPC muestran que los poliuretanos contienen una cantidad aproximada del 2 al 3 % de moléculas de pesos moleculares menores a 5000 g/gmol, el cual fue el máximo peso molecular observado; igualmente por GPC, para los polioles. Sin embargo, la mayoría de estas moléculas en el polímero ya corresponden a poliuretanos – poliéster de bajo peso molecular formado en la reacción de polimerización.

Aún con esto, es necesario tener presente que podría presentarse un crecimiento debido a la presencia de trazas de polioliol en el polímero, por lo que su efecto se deberá corroborar con lo ya planteado, es decir, que estos residuos no son la razón del crecimiento observado en el polímero y que aunque se alimente de los pesos moleculares pequeños, las bacterias no mueren por el agotamiento de esta fuente de carbono.

3.4.2 Pruebas de biodegradación a poliuretanos

Para poder utilizar a los poliuretanos en los cultivos, éstos primero fueron esterilizados mediante UV ⁽⁶⁷⁾, ya que por la utilización de calor húmedo los materiales fundían. Para esterilizar por radiación se utilizó un equipo marca UVP, Ultraviolet Crosslinker modelo CL-1000 con energía máxima de emisión de UV de 99,900 $\mu\text{J}/\text{cm}^2$. Para determinar la energía necesaria se utilizó un modelo matemático, el cual se presenta en la ecuación EQ9, donde es posible determinar la fracción de población microbiana sobreviviente a una exposición por un tiempo específico a una energía de radiación determinada ^(75,76).

$$S = e^{-k \cdot I \cdot t} \quad (\text{EQ9})$$

En la EQ9, S es la fracción de microorganismos sobrevivientes, I es la intensidad UV (mJ/cm^2), t es el tiempo de exposición en segundos y k es la constante de rapidez estándar para un microorganismo específico y está en $\text{cm}^2/\mu\text{J}$. La constante k de este modelo está descrita en varias referencias para diferentes microorganismos en diversos medios, incluyendo en la que se presenta el modelo ⁽⁷⁷⁾. En la mayoría de las referencias la constante k se presenta como la energía de irradiación entre área por el tiempo de exposición necesario para eliminar al 99.99% de los microorganismos presentes. ^(77,78)

Se sabe que la energía UV es capaz de activar una polimerización, aumentar la polimerización y degradar un polímero, sin embargo los intervalos de tiempos de exposición y los de energías de irradiación utilizadas fueron muy bajas como para afectar la estructura o representar un efecto negativo en los poliuretanos. Los tiempos de irradiación calculados para una energía de 20 mJ/cm^2 fueron de 90 s, que con respecto a los reportados para activar una polimerización o degradar un polímero son muy pequeños (al menos en 100 veces). ⁽⁷⁹⁾

Con los poliuretanos estériles se realizaron las pruebas de crecimiento de la cepa BIQ-08 en medio basal, la gráfica de crecimiento para los poliuretanos de MDI se presenta en la figura 3.9, donde se compara el crecimiento de las bacterias obtenido después de una semana de cultivo.

En la tabla 3.14 se presentan los valores de las UFC/mL para la cepa BIQ-08, en MB con poliuretano como única fuente de carbono, los valores son el promedio de los resultados del conteo de colonias de las placas de LB (dilución 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5}) tomadas para cada tiempo.

Tabla 3.14 Conteo de viables en los cultivos con poliuretanos a partir de MDI (UFC/mL).

Tiempo(días)	MDI 1	MDI 2	MDI 3	MDI 4
0	517,500	507,000	509,000	527,500
1	1,345,000	933,500	1,240,500	890,000
2	2,005,500	894,500	1,712,000	720,000
3	7,445,000	3,908,000	6,525,000	3,525,000
4	18,280,000	15,780,000	17,645,000	11,595,000
5	29,500,000	22,230,000	25,900,000	18,505,000
6	35,070,000	29,725,000	27,500,000	22,105,000
Δ (UFC)*	66.77	57.63	53.03	40.91

*La diferencia de crecimiento se establece como [(Valor final-Valor inicial) / Valor inicial], es el número de veces que se duplicó la bacteria en términos de viables en el tiempo de observación.

En la tabla 3.14 se observa que la cepa BIQ-08 es capaz de duplicarse en el poliuretano hasta 60 veces más del contenido inicial en 7 días, lo cual demuestra que estas bacterias si son capaces de metabolizar al poliuretano. Si se compara los valores obtenidos para los poliuretanos del MDI con los polioles respectivos, para un tiempo de 2 días (tabla 3.15), el crecimiento obtenido en los polioles es mayor, como era de esperarse, ya que las cadenas de polioliol son de más bajo peso molecular que del poliuretano, por tanto son más accesibles al efecto enzimático, sin embargo, si existe una duplicación de la cepa BIQ-08 con los poliuretanos como sustrato.

Tabla 3.15 Crecimientos [Δ (UFC)] comparados para polioles y poliuretanos de MDI.

Material	DPG.AAD.DPG	DPG.AFT.DPG	DEG.AAD.DEG	DEG.AFT.DEG
Poliol	6.94	6.16	7.17	6.35
Poliuretano	2.88	0.76	2.36	0.36

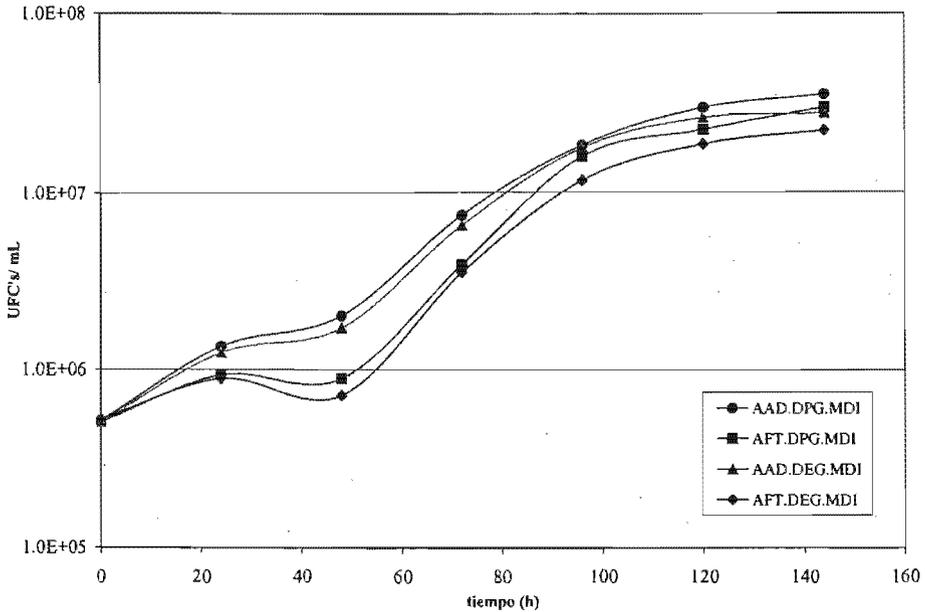


Figura 3.9 Curvas de crecimiento de la cepa BIQ-08 para poliuretanos de MDI.

La gráfica de la figura 3.9 muestra un periodo de adaptación de la cepa BIQ-08 al medio y luego un periodo de máxima actividad que después empieza a mantenerse. El tiempo de adaptación podría ser debido al agotamiento de las cadenas de bajo peso molecular del polímero y de las trazas de poliol presentes. En las condiciones del cultivo de poliuretano, el 2 % de pesos moleculares menores a 5000 g/gmol se convierte en aproximadamente el 0.06 % de contenido de estos pesos moleculares en el cultivo, por lo que podría afirmarse entonces que el crecimiento de la cepa BIQ-08 no parece ser sostenido por las trazas de poliol en el polímero.

En la figura 3.10 se presentan las imágenes de las colonias de la cepa BIQ-08 en placas de LB donde se realizó el conteo de colonias para la dilución 10^{-5} a los 3 días de incubación. Para el conteo de colonias se obtenían 2 placas por cada poliuretano, a dos distintas diluciones del cultivo original y se promediaba el número de UFC./mL obtenido.

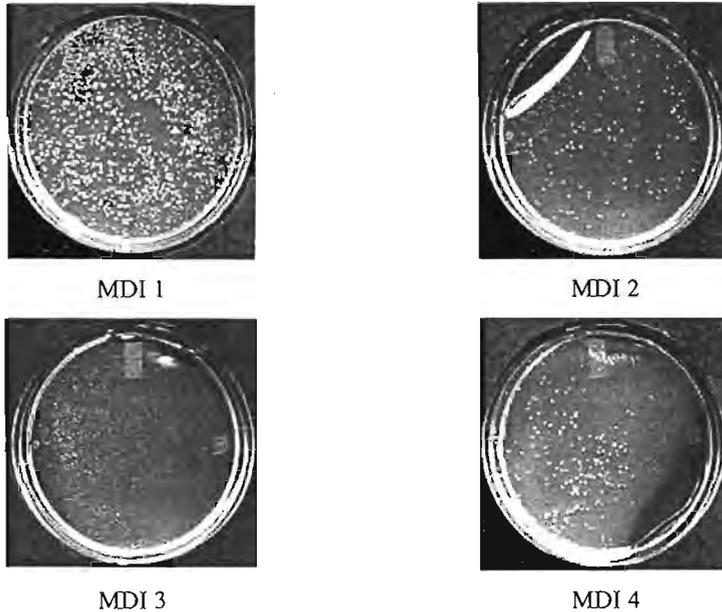


Figura 3.10 Placas de la dilución 10^{-5} correspondientes al tercer día de incubación.

Los resultados de las pruebas a los poliuretanos a partir del TDI se presentan en la tabla 3.16; para esta familia de polímeros también se observó crecimiento y las características de las curvas de crecimiento, que se presentan en la figura 3.11, son muy similares a las encontradas para el MDI. Se observa que existe una adaptación al medio, aunque en los poliuretanos de TDI parece ser menos marcada, ya que apenas se alcanza a ver un pequeño cambio en la pendiente de crecimiento, lo cual implica un tiempo de adaptación corto.

Los diferenciales de crecimiento de la cepa BIQ-08 para los poliuretanos de TDI son menores que para los de la familia del MDI, lo cual implica que para la cepa BIQ-08, aparentemente es más fácil asimilar a los polímeros de MDI. En la determinación de crecimientos de microorganismos, el tiempo entre las mediciones es un factor primordial ya que en un periodo muy corto de tiempo se puede dar un cambio en el comportamiento de las bacterias. Esto es probablemente la razón por la que no se observó el periodo de adaptación de la cepa BIQ-08, ya que se tomaban las muestras cada 24 horas y el cambio pudo ocurrir en un tiempo menor.

Tabla 3.16 Conteo de viables en los cultivos con poliuretanos a partir de TDI (UFC/mL).

Tiempo(días)	TDI 1	TDI 2	TDI 3	TDI 4
0	701,000	636,500	679,000	693,500
1	1,222,000	722,500	950,000	877,000
2	2,651,000	1,768,500	1,525,000	1,395,000
3	9,570,000	5,840,000	4,980,000	3,480,000
4	20,235,000	15,735,000	12,665,000	11,960,000
5	28,680,000	25,475,000	20,435,000	16,940,000
6	32,895,000	26,980,000	21,730,000	17,590,000
$\Delta(\text{UFC})^*$	45.93	41.39	31.00	24.23

*La diferencia de crecimiento se establece como $[(\text{Valor final}-\text{Valor inicial}) / \text{Valor inicial}]$, es el número de veces que se duplicó la bacteria en términos de viables en el tiempo de observación.

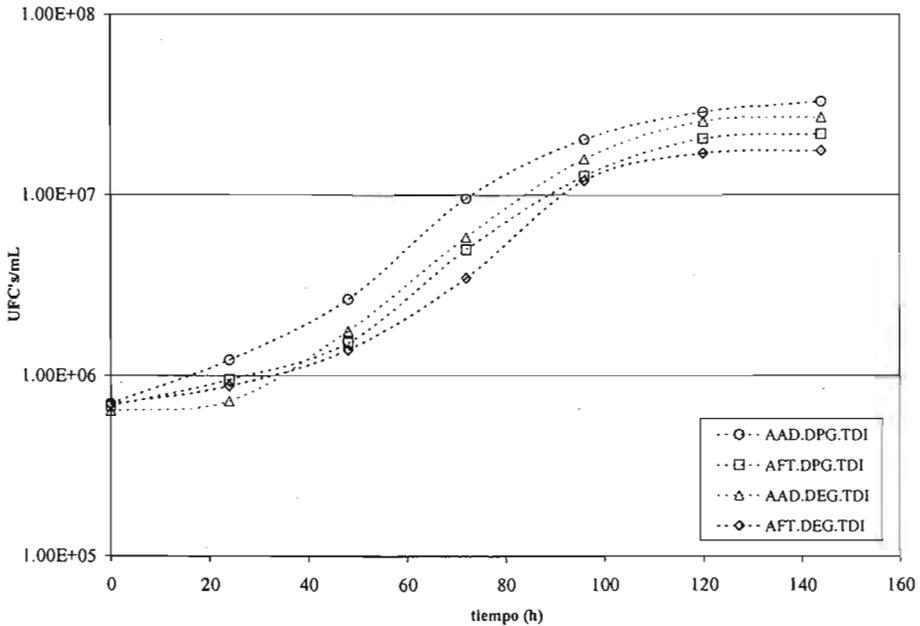


Figura 3.11 Curvas de crecimiento de la cepa BIQ-08 para poliuretanos de TDI.

En la figura 3.12 se comparan las curvas de crecimiento de la cepa BIQ-08 para las dos familias de poliuretanos, ahí se observa como los poliuretanos que tienen mayor crecimiento son los que provienen de los polioles alifáticos, tal y como se observó en los crecimientos de las bacterias en poliol. Esta gráfica no se presenta en formato logarítmico en el eje correspondiente a las UFC/mL, para poder observar mejor las diferencias que existen entre cada uno de los polímeros. Lo que se puede resaltar de esta gráfica es que son los polioles de origen los que determinan el comportamiento del crecimiento de la cepa BIQ-08, lo cual corrobora que la actividad enzimática, al ser esterasa, cataliza la ruptura de los grupos éster provenientes del poliol en el poliuretano y se conserva esta tendencia característica de crecimiento, aún en el polímero de poliuretano.

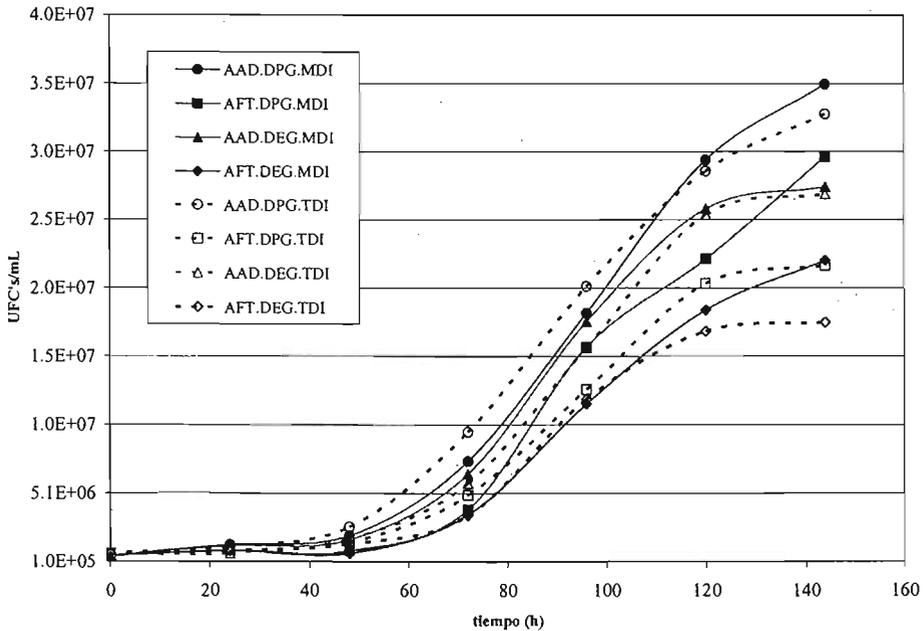


Figura 3.12 Comparativo global de crecimiento de los poliuretanos.

En todas las curvas para las dos familias, se observa que los poliuretanos elaborados con polioles del DPG tienen mayor crecimiento que las del DEG, esto podría deberse a un efecto de la cristalinidad del polímero por la linealidad de la molécula; esto es, en el caso de los poliuretanos con secciones de DEG el agrupamiento puede compactar las moléculas y

complicar el acceso a los grupos funcionales degradables por la cepa BIQ-08, mientras que en el caso de los polímeros con DPG el metilo colgante en las secciones de polioliol podría estar generando un impedimento estérico suficiente como para mantener espacios para la acción enzimática.

En el caso de la diferencia de crecimiento entre los polímeros de MDI con respecto a los de TDI, a pesar de que las moléculas de MDI tienen mayores pesos moleculares, se presenta más crecimiento en estos poliuretanos. Considerando la afirmación de la linealidad de las moléculas, es necesario recordar que el MDI utilizado en la elaboración era polimérico, por lo que ya era un material parcialmente ramificado, lo cual muy probablemente generó ramificaciones en los polímeros que de él se obtuvieron y que confirmaría el efecto del impedimento estérico en el agrupamiento de las moléculas permitiendo la acción enzimática en las mismas. Este efecto ya había sido informado en estudios anteriores de biodegradación de otros materiales.⁽⁸⁰⁾ Otra condición que conlleva a reforzar esta hipótesis es que los poliuretanos del MDI aparentemente formaron más isocianuratos, los cuales provocarían redes moleculares en el polímero, dejando muchos espacios entre las moléculas.

Se encontró además que la mayoría de los polímeros al final del tiempo de observación ya están llegando a un crecimiento estacionario, es decir la tasa de duplicación se está haciendo igual a la tasa de mortandad, esto normalmente ocurre en condiciones de abundante fuente de carbono y nitrógeno para el microorganismo, ya que de lo contrario se observaría un decremento en el número de duplicaciones.

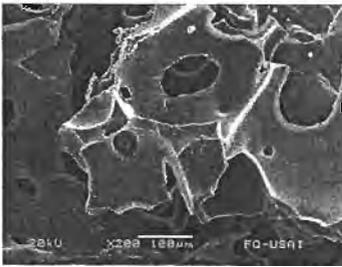
El crecimiento observado para los poliuretanos de MDI es apenas un poco mayor que el de los poliuretanos del TDI, comparados para el mismo polioliol de origen. Por otro lado, en los poliuretanos de MDI con ftalatos, después del periodo de observación no dejaron de crecer las bacterias, esto quizá debido al retraso que tuvieron para adaptarse, ya que además, estos dos poliuretanos son los que mostraron su periodo de adaptación más pronunciado; sin embargo el crecimiento que parecen alcanzar es comparativo con el de los demás materiales.

Mediante microscopio electrónico se tomaron imágenes de los polímeros después de ser expuestos a las bacterias, las imágenes se presentan en la figura 3.13 para los poliuretanos de MDI y en la figura 3.14 para los poliuretanos de TDI. Para esta determinación se prepararon 2 matraces con 50 mL de MB con 3 % en peso de poliuretano, uno sin bacterias y otro con bacterias, para comparar el efecto de hidrólisis del material con el cambio de los poliuretanos por la acción de la cepa BIQ-08. Los matraces se incubaron por 15 días y luego se separó el polímero por filtración. A simple vista la morfología de los materiales tuvo un cambio significativo entre los expuestos a la cepa BIQ-08 y los no expuestos, además de que los poliuretanos expuestos a las bacterias presentaron un cambio de color, tornándose amarillentos.

Las imágenes del microscopio electrónico muestran claramente un efecto de degradación del material. En todos los casos se presenta degradación, sin embargo en los poliuretanos alifáticos, a pesar de ser éstos donde más se apreció crecimiento de las bacterias, las imágenes muestran apenas un pequeño efecto sobre las superficies del material, lo cual puede deberse a un consumo inicial de las cadenas de más bajo peso molecular en el polímero.

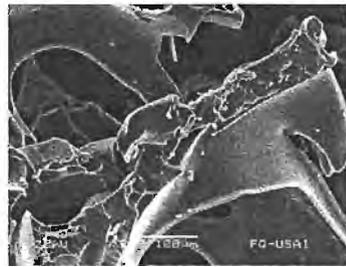
Una explicación para lo descrito en el párrafo anterior podría ser que, las cadenas de bajo peso molecular del polímero se hidrolizan fácilmente en estos polímeros y que en el medio líquido ocurra la catálisis enzimática de éstas moléculas; otra hipótesis es que las bacterias estén pegadas a la superficie del material y en el caso de estos poliuretanos la dificultad para atacar al material los mantenga en el medio líquido aprovechando las moléculas hidrolizadas, entonces, al tomar las muestras del sobrenadante en la técnica para seguir el crecimiento, se observen más viables en estos materiales que en los otros.

Poliuretano en MB sin bacterias

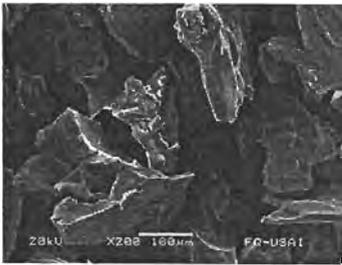


MDI-1 a 100 µm

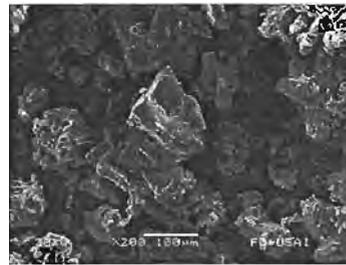
Poliuretano en MB con bacterias



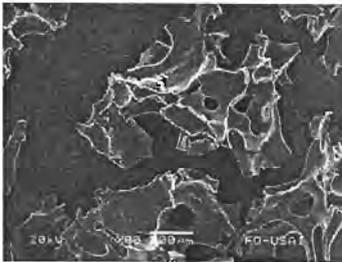
MDI-1 a 100 µm



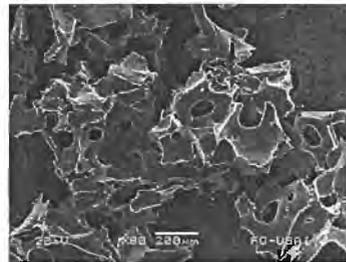
MDI-2 a 100 µm



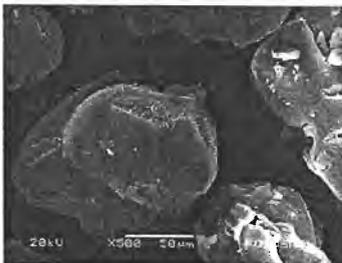
MDI-2 a 100 µm



MDI-3 a 200 µm



MDI-3 a 200 µm



MDI-4 a 50 µm

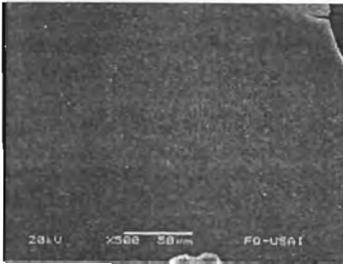


MDI-4 a 50 µm

Figura 3.13 Placas de microscopio electrónico de poliuretanos del MDI.

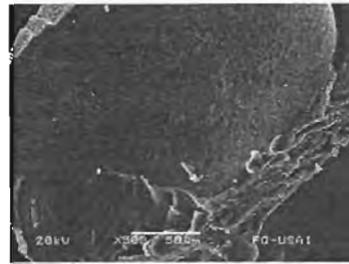
Muestras de 15 días de incubación.

Poliuretano en MB sin bacterias

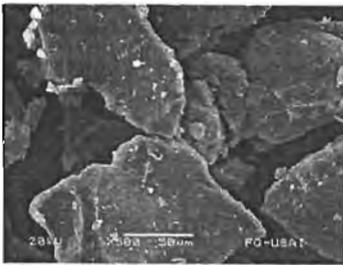


TDI-1 a 50 µm

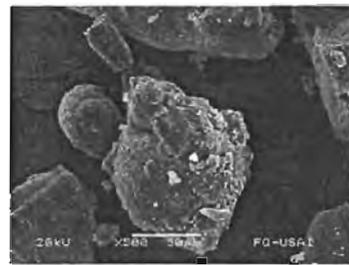
Poliuretano en MB con bacterias



TDI-1 a 50 µm



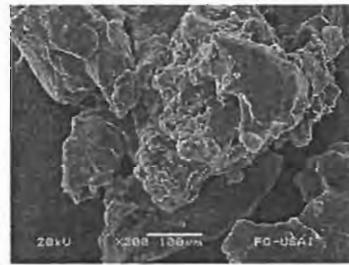
TDI-2 a 50 µm



TDI-2 a 50 µm



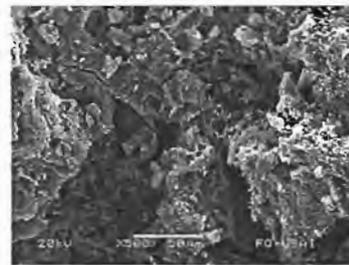
TDI-3 a 100 µm



TDI-3 a 100 µm



TDI-4 a 50 µm



TDI-4 a 50 µm

Figura 3.14 Placas de microscopio electrónico de poliuretanos del TDI.

Muestras de 15 días de incubación.

En los poliuretanos de TDI (fig. 3.14) el efecto sobre las superficies del material muestra una actividad intensa de la cepa BIQ-08 sobre éstos, de igual forma que en los poliuretanos de MDI; contrario a las curvas de crecimiento, los poliuretanos que muestran más degradación son los originarios de alguno de los polioles ftalatos, lo cual podría ser atribuible a las distribuciones de pesos moleculares más estrechas en estos polímeros, que permiten a la cepa BIQ-08 tomar material de cualquier lado del polímero.

Lo más importante de estos resultados es que comprueban de forma contundente que la cepa BIQ-08 utiliza al poliuretano como única fuente de carbono, ya que el efecto de degradación presente en los materiales expuestos a ésta es muy notable comparada con los efectos que tuvo la hidrólisis sobre el material provocada por el agua del medio.

3.4.3 *Obtención de los productos de degradación*

En principio no fue posible identificar productos de degradación de todos los polímeros. Se logró identificar mediante GC-MS propuesta en la sección 2.4.3, fracciones de moléculas de DPG, además de moléculas que parecen ser ácido adípico con un carboxilo esterificado con dipropileno glicol. No se logró establecer alguna asociación del tipo de poliuretano o poliol y el material del cual se pudo obtener o no productos de degradación. Sin embargo en general, los que más productos de degradación observables tuvieron, fueron los poliuretanos de polioles alifáticos, lo cual puede deberse a que al ser materiales de pesos moleculares grandes las fracciones de molécula hidrolizada aún estaban en proceso de ser asimiladas por las bacterias, cuando se extractaron del medio.

La figura 3.15 muestra los espectros de masas obtenidos de las extracciones de los poliuretanos de TDI-1; se presenta el espectro de masa correspondiente y el espectro de la base de datos del equipo, si es que éste existe, o bien la estructura más probable. Se puede observar que las coincidencias con el DPG reportado son razonables, mientras que en el segundo espectro los pesos coinciden con los patrones de rompimiento del ácido adípico de dipropileno glicol; en la figura se propone una estructura donde existen dos fracciones, una de 187 que se puede asociar a la señal en el espectro de masas y una fracción de 75 que no

se observa, pero que puede deberse a que de inmediato pierde un OH y el CH₃, apareciendo con un peso de 43 que si existe en el espectro; las señales de 55 y 84 son características de los ésteres de ácido adípico. El tercer espectro en la figura 3.15 corresponde al último componente que pudo observarse por cromatografía de gases; éste parece ser ácido adípico, aunque el espectro no es claro porque aparece en muy baja concentración.

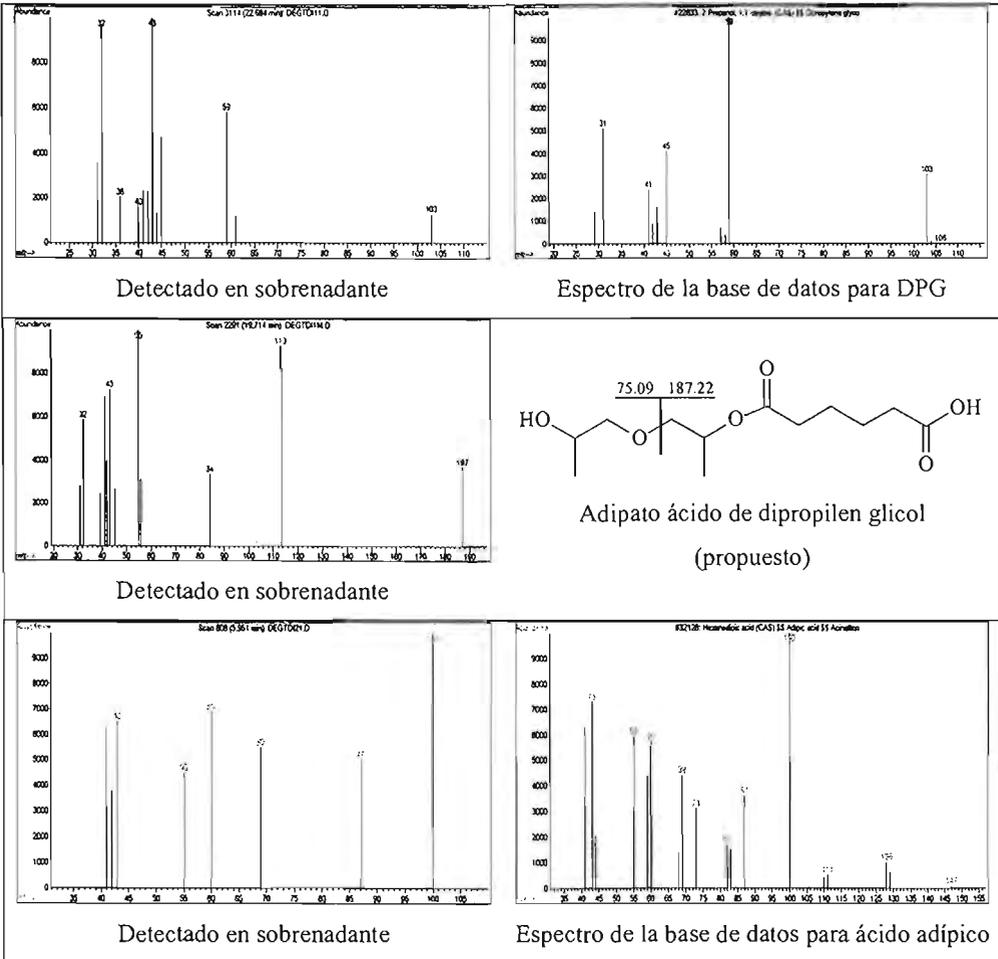


Figura 3.15 Espectros de masas y estructuras propuestas de productos de degradación en

TDI-I.

Los productos encontrados hacen suponer que la catálisis enzimática favorece la hidrólisis de los ésteres de las cadenas de polímero generando fracciones o secciones de DPG o DEG y diácidos carboxílicos, inclusive con un ácido y un éster en la cadena. No se pudieron observar en las determinaciones fracciones de ftalato o de ácido ftálico y tampoco se pudieron observar fracciones de molécula que contengan un grupo uretano o una fracción de molécula correspondiente al núcleo de los isocianatos utilizados.

Así, el mecanismo de acción de la cepa BIQ-08 parece ser debido a la hidrólisis enzimática de los enlaces éster cerca del extremo de la molécula de polímero, pero al parecer las moléculas que hidroliza son de tamaños grandes, ya que no son totalmente detectables por cromatografía de masas; después en el líquido de cultivo las moléculas ya hidrolizadas son fraccionadas más y asimiladas por las bacterias tan rápido como son creadas, ya que no se les puede identificar fácilmente; aparentemente la cepa BIQ-08 es capaz de asimilar también las secciones de molécula con contenido de grupos fenilo, ya que éstas no se pudieron observar en ninguna determinación. Sin embargo, existe una gran posibilidad de que sea la técnica de extracción la que no logra obtenerlas.

Para poder establecer si en todos los materiales existían productos de degradación y de qué tipo eran, se tomaron muestras líquidas de los cultivos después de haber eliminado el polímero por filtración y a las bacterias por centrifugación, y fueron llevadas hasta sequedad. De éste líquido se obtuvieron los residuos sólidos, a estos residuos secos se les caracterizó mediante IR. En la figura 3.16 se presenta una comparación de los espectros de IR de los productos presentes en el sobrenadante de los cultivos y los poliuretanos originales.

Se puede observar claramente en los espectros de IR que en el sobre nadante se encuentran moléculas del mismo polímero, que aparentemente se hidrolizaron, pero que probablemente aún tiene pesos moleculares altos, no detectables por CG-MS. En los espectros del sobrenadante se observa que aparece la señal perteneciente al OH de un ácido carboxílico y se intensifica la señal de un hidroxilo terminal, por otro lado disminuye de intensidad la señal que corresponde al enlace C-N del poliuretano.

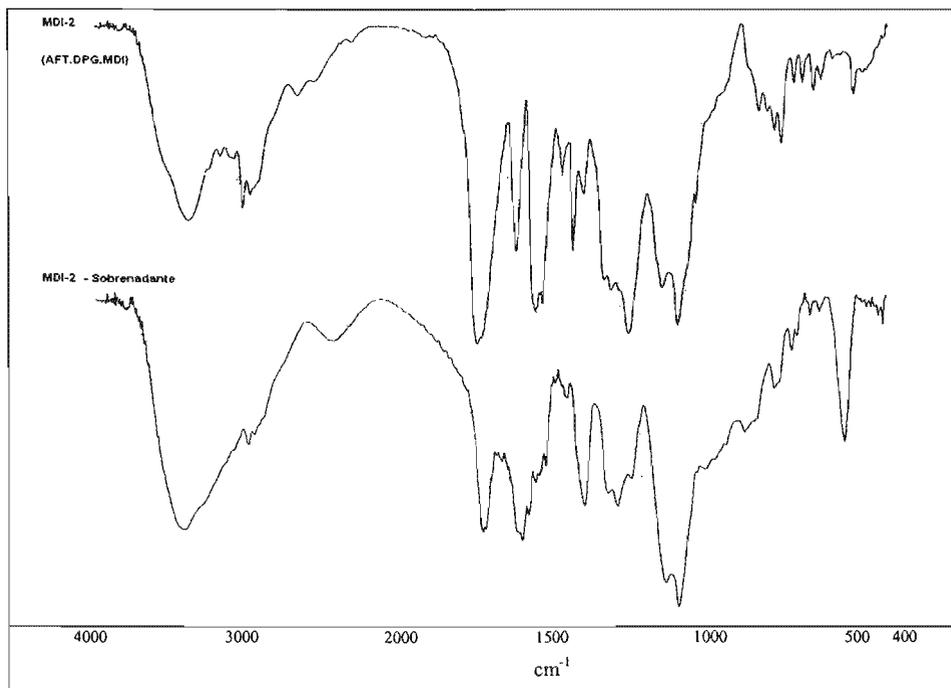


Figura 3.16 Espectros de IR del polímero y del sobrenadante para el poliuretano MDI-2.

Para los 8 polímeros se encontró esta misma característica en el sobrenadante, es decir, al parecer existen moléculas de polímero hidrolizadas, sin embargo en las muestras de referencia también parecen existir poliuretanos disueltos, pero además de no presentar la misma intensidad de señal, no hay señales de -OH terminales y de ácidos, por lo que se puede afirmar que fracciones grandes de molécula de polímero son hidrolizadas por las bacterias y son moléculas que contienen todos los grupos repetitivos que están en la molécula original de polímero.

En la figura 3.17 se presenta una comparación del IR del poliuretano TDI-2 (DPG-AFT-DPG-TDI), el cual muestra también un aumento en las señales del hidroxilo terminal y la presencia de una señal debida a un ácido carboxílico.

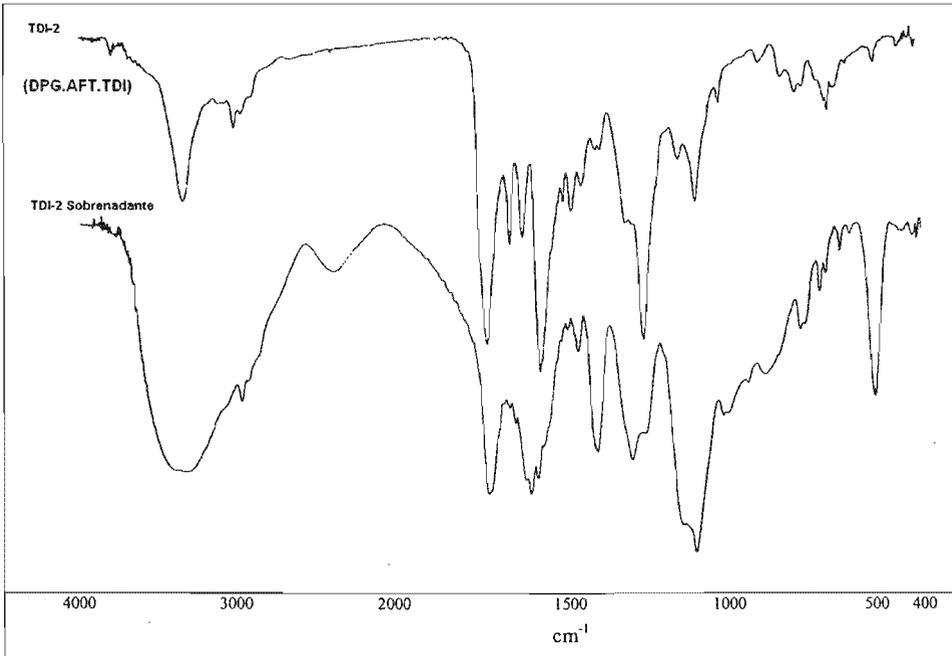


Figura 3.17 Espectros de IR del polímero y del sobre nadante para el poliuretano TDI-2.

De lo anterior se puede plantear que las moléculas de bajo peso molecular son solubles en el medio de cultivo (agua), pero al parecer, en los polímeros expuestos a la actividad de las bacterias, esta solubilidad aumenta mostrando ya un efecto de hidrólisis enzimática.

El mecanismo de acción que explica lo observado puede ser entonces, que la actividad enzimática de las bacterias, corta grandes secciones de la cadena de polímero mediante la hidrólisis de los enlaces éster, generando cadenas de polímero de tamaños tales que son solubles en el medio acuoso; ya en el sobrenadante, la actividad enzimática continúa la hidrólisis de los enlaces éster presentes en estas moléculas grandes, obteniendo a partir de estas cadenas, secciones pequeñas que conforme son cortadas las bacterias las asimilan, siendo ésta la razón por la que no es posible detectarlas fácilmente por cromatografía de gases.

Las razones para proponer un mecanismo como el descrito son las siguientes:

- a) Se observa un crecimiento en los cultivos después de 7 días y no se presenta decaimiento de la tasa de duplicación por agotamiento de la fuente de carbono.
- b) Las imágenes de microscopía electrónica muestran degradación de la superficie de las partículas de poliuretano, para los 8 materiales.
- c) Los espectros de IR del sobrenadante muestran la presencia de poliuretano hidrolizado en el cultivo con bacterias, que ésta en mayor cantidad que en los cultivos sin bacterias.
- d) La presencia de los poliuretanos en el sobrenadante en los cultivos sin bacterias es atribuible a la solubilidad de las cadenas de bajos pesos moleculares.
- e) Por cromatografía de gases acoplada a masas fue posible identificar trazas de pequeñas fracciones de polímero hidrolizadas, lo cual indica que estos productos se agotan conforme se van generando, pero que está acción enzimática existe.

Si lo observado en los espectros de IR del sobrenadante fueran poliuretanos de bajo peso molecular solubilizados, no se observaría la degradación de las superficies del material, además de que no aparecerían señales. Existe la posibilidad de que la cepa BIQ-08 sea capaz de asimilar moléculas grandes de polímero una vez que éstas se encuentren en el medio líquido, sin embargo, la actividad esterasa no debe estar limitada a la superficie del material, por lo que la catálisis enzimática debe ser mayor ya con una molécula parcialmente hidrolizada, haciendo moléculas más pequeñas y más fáciles de asimilar por la cepa BIQ-08.

La figura 3.18 presenta un esquema propuesto de la catálisis enzimática que probablemente podría utilizar la cepa BIQ-08 para asimilar a las cadenas de poliuretano, en ésta se proponen dos etapas de catálisis enzimática, una donde la enzima fracciona las cadenas de la superficie del polímero y otra donde los ésteres de esta cadena son hidrolizados para obtener fracciones de molécula que son asimilados por las bacterias.

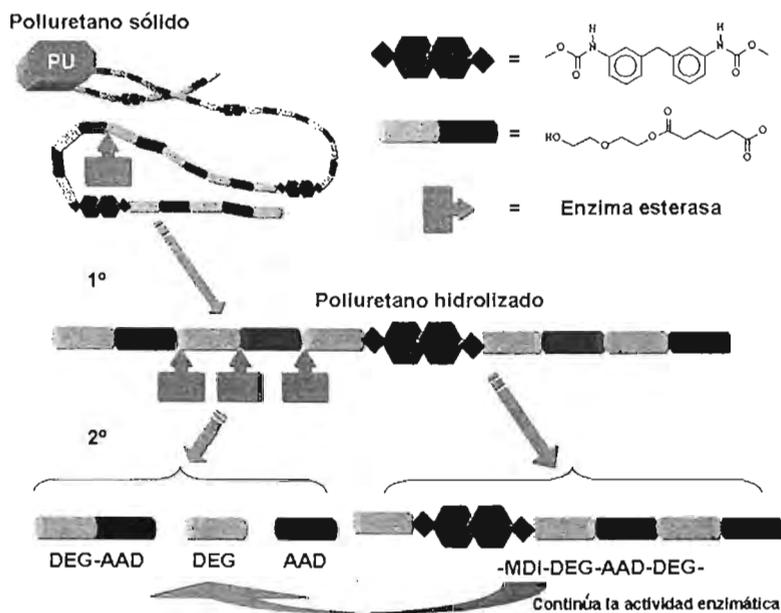


Figura 3.18 Mecanismo propuesto de biodegradación de poliuretanos con la cepa BIQ-08.

Debido a que los espectros de IR no distinguen entre varios tipos de moléculas, si el contenido del sobrenadante fuera una mezcla de todos los productos de ruptura (DEG, AAD y la sección con los grupos uretano) se obtendrían espectros muy similares a los que se encontraron, sin embargo, estos productos tendrían que ser extractables y detectables fácilmente por cromatografía de gases, lo cual no ocurrió, siendo ésta la razón más importante para suponer un mecanismo como el ya propuesto.

CAPÍTULO 4.

CONCLUSIONES

Fueron sintetizados 4 polioles – poliéster lineales, dos aromáticos y dos alifáticos, a través de una reacción de condensación entre ácido adípico o anhídrido ftálico, con un glicol. Sus pesos moleculares fueron entorno a los 1,200 g/gmol, su grado de polimerización en promedio de 9, su polidispersidad muy cercana a uno y su contenido de grupos hidroxilo fue cercano al 3 % en peso. La caracterización por espectroscopia muestra moléculas poliméricas, lineales y sin terminaciones de ácidos carboxílicos.

La primer familia de poliuretanos se obtuvo a partir de los 4 polioles con MDI, los balances de reactivos se realizaron considerando exceso de isocianato con lo que se logró materiales sólidos. No fue posible caracterizar por GPC a los poliuretanos a partir de los polioles alifáticos ya que no son solubles. Por otro lado los poliuretanos obtenidos con polioles aromáticos tuvieron pesos moleculares peso promedio (Mw) de 67,000 g/gmol para el MDI-2 y 36,600 g/gmol para el MDI-4 y polidispersidades de 120 y 27 respectivamente. La polidispersidad de estos materiales es prueba de la dificultad para controlar la polimerización en masa de un poliuretano.

En la síntesis de los poliuretanos se presentaron reacciones secundarias con la humedad y aunado a la utilización de MDI con funcionalidad de 2.3, se generó entrecruzamiento en los polímeros. El exceso de isocianato también generó entrecruzamiento de los poliuretanos originando la formación del grupo isocianurato, razón principal por la que no se pudieron solubilizar. La espectroscopia de IR de los poliuretanos de MDI muestra materiales con grupos poliuretano unidos a los polioles ya caracterizados y demuestra la presencia abundante de los grupos isocianurato formados por el exceso de isocianato.

La segunda familia de poliuretanos se elaboró a partir del TDI con los 4 polioles sintetizados inicialmente, todos estos polímeros fueron solubles en THF; los pesos moleculares peso promedio (Mw) fueron 122,000, 34,000, 46,000 y 20,000 g/gmol para el

TDI-1, TDI-2, TDI-3 y TDI-4 respectivamente; las polidispersidades fueron 240, 48, 43 y 22 en el mismo orden anterior. Los poliuretanos alifáticos son los de mayor peso molecular y los de mayor polidispersidad. Estos poliuretanos son de pesos moleculares más pequeños que su contraparte elaborada con MDI, aun cuando existieron 2 poliuretanos que no se caracterizaron, el entrecruzamiento de éstos es señal de pesos moleculares muy altos. Por otro lado, todos los poliuretanos elaborados a partir de los polioles ftalatos son los polímeros de menor peso molecular.

En la elaboración de los poliuretanos de TDI también se presentan reacciones secundarias, ya que existe formación de espuma (generación de CO₂ en la reacción), la espectroscopia de IR muestra la existencia de los grupos poliuretano con un grupo de señales que corresponden a las secciones de cadena provenientes del polirol de origen. Existe una disminución en la señal de los OH terminales y una señal débil que muestra la formación del grupo isocianurato, lo cual resulta en materiales aparentemente menos entrecruzado que los elaborados a partir de MDI.

Los 6 poliuretanos a los que se les determinó su distribución de pesos moleculares, presentan pesos moleculares peso promedio (*M_w*) bajos, pero en su distribución existe pesos moleculares de más de 1.5×10^6 g/gmol. Sin embargo con una distribución tan extensa se observan también pesos moleculares de hasta 1,000 g/gmol, lo cual es típico de un sistema de policondensación tipo Flory.⁽⁷³⁾

La cepa BIQ-08 es capaz de duplicarse en MB con DEG y DPG como única fuente de carbono, por el contrario no se presentó duplicación de las bacterias utilizando como sustrato a los isocianatos MDI y TDI utilizados en la síntesis de los poliuretanos.

El crecimiento de la cepa BIQ-08 en MB sólido con cada uno de los 4 polioles – poliéster como única fuente de carbono, es positivo sólo para los polioles alifáticos (los dos adipatos); por otro lado, los dos ftalatos no permiten que las bacterias crezcan en estas condiciones. Por el contrario, el crecimiento de la población de bacterias se similar en los 4 polímeros cuando la cepa BIQ-08 se cultiva en medio líquido.

El orden, de mayor a menor duplicación de la cepa BIQ-08, para cada poliol como única fuente de carbono es: 1° DEG-AAD-DEG, 2° DPG-AAD-DPG, 3° DEG-AFT-DEG y 4° DPG-AFT-DPG.

Se obtuvieron curvas de crecimiento de la cepa BIQ-08 en MB líquido con cada uno de los poliuretanos de MDI como única fuente de carbono. El crecimiento de las bacterias presenta al inicio un periodo de adaptación de aproximadamente 48 horas, donde la población de bacterias disminuye en el medio, después presenta un crecimiento sostenido hasta el sexto día, donde comienza a apreciarse una estabilización del crecimiento, debido a que la tasa de duplicación y muerte es similar.

Las curvas de crecimiento de la cepa BIQ-08 obtenidas con los poliuretanos de MDI, muestra que los poliuretanos elaborados a partir de polioles que a su vez fueron elaborados con DPG, presentan mayor crecimiento que sus contrapartes con DEG. Por otro lado, los poliuretanos con poliésteres alifáticos favorecen más la duplicación que sus contrapartes con poliésteres aromáticos.

Se obtuvieron las curvas de crecimiento de la cepa BIQ-08 en MB líquido con cada uno de los poliuretanos de TDI como única fuente de carbono. Los poliuretanos sintetizados a partir de TDI presentan un periodo de adaptación pero sin disminución de la población de bacterias, a diferencia de los poliuretanos con MDI. El crecimiento en los poliuretanos con TDI es sostenido hasta el quinto día, a partir del cual ya se observa la meseta que indica que la tasa de duplicaciones y muertes de las bacterias es muy similar.

Al igual que los poliuretanos con MDI, los poliuretanos con TDI muestran un mayor crecimiento de la cepa BIQ-08 en los polímeros con origen de polioles alifáticos y los poliuretanos de DPG presentan mayor crecimiento que sus contrapartes con DEG.

La tendencia encontrada para el crecimiento de la cepa BIQ-08 es a duplicarse más rápido en sustratos con poliuretanos – poliéster con ésteres alifáticos y cadenas ramificadas. Los medios con poliuretanos de MDI presentan más crecimiento de la cepa BIQ-08 y ya que los

poliuretanos de MDI son más ramificados y entrecruzados, se puede concluir que el impedimento estérico presente en las cadenas del polímero favorece la actividad enzimática.

Por microscopía electrónica se comprobó que la cepa BIQ-08 degrada la superficie de las partículas de poliuretano en el medio, observándose lo mismo en los 8 poliuretanos. Los materiales que más degradación superficial presentan son los poliuretanos elaborados con polioles ftalatos, que son los que muestran menor crecimiento bacteriano determinado por UFC.

Se logró identificar productos de degradación sólo en el sobrenadante del cultivo de TDI-1 y de MDI-1, en éstos se determinó la presencia de DPG y ácido adípico como producto de la biodegradación, también se identificó un adipato ácido de dipropileno glicol. Sin embargo, no se logró identificar alguna sección derivada del isocianato de origen del poliuretano.

El IR del sobrenadante mostró en todos los poliuretanos, que los productos de degradación son cadenas hidrolizadas del mismo poliuretano, pero no son detectables por cromatografía de gases, por lo que deben ser de pesos moleculares relativamente altos.

La capacidad de crecimiento de la cepa BIQ-08 en poliuretano - poliéster depende del tipo de éster presente en la estructura, siendo más favorable al crecimiento, un éster alifático que un éster aromático, las ramificaciones en las cadenas del polímero también favorecen el crecimiento; además, la degradación en el material es mayor cuando el peso molecular del polímero es menor y la distribución de pesos moleculares en el poliuretano es más estrecha.

Con base en todo lo anterior se afirma que, la cepa BIQ-08 es capaz de utilizar poliuretano como única fuente de carbono, en un medio acuoso con nitrógeno disponible. La degradación de los poliuretanos por la cepa BIQ-08 está favorecida por la facilidad de acceso de las bacterias a los enlaces éster presente en la estructura de los poliuretanos y por la distribución de pesos moleculares.

BIBLIOGRAFÍA

1. Saunders, J. H. and Frisch, K.C. "*Polyurethanes. Chemistry and technology. Part I: Chemistry*", Fourth edition, Interscience Publisher, EEUU, 1962.
2. Matuszak, Michel L. and Frischm K. C. "*Thermal degradation of linear polyurethanes and model biscarbamates*", Journal of Polymer Science: Polymer Chemistry Edition, Vol. 11 Issue 3, 2003. Pag. 637 – 648.
3. Eng-Liang C. and Zenjiro O. "*Study of the degradation of polyurethanes. I. The effect of various metal acetylacetonates on the photo - degradation of polyurethanes*", Journal of Applied Polymer Science, Volumen 19 Issues 11, 2003. Pag. 2947 – 2559.
4. Lipotova, T. E., Bakalo L. A. and Alekseyeva T. T., "*Comparative analysis of the degradation of polyurethanes in physiological solutions and in vivo*", Polymer Science U.S.S.R., Vol. 21, Issue 10, 1979. Pag. 2545 – 2551.
5. Howard, Gary T. "*Biodegradation of polyurethanes: a review*", International of Biodeterioration and Biodegradation, Vol. 49, Issue 4, 2002. Pag. 145 – 252.
6. Nakajima-Kembe T., Shigeno-Akutsu Y., Nomura N., Onuma F. and Nakahara T., "*Microbiological degradation of polyurethanes, polyester polyurethane and polyether polyurethane*", Applied Microbiology and Biotechnology, Vol. 51, No. 2 , 1999. Pag. 134 – 140.
7. Carrillo García, A. "*Identificación de una esterasa extracelular cuya actividad esta relacionada con el crecimiento de *Acinetobacter sp* en poliuretano*", Tesis de Maestría en Ciencias Bioquímicas, Facultad de Química, UNAM, 2004.
8. Chian, K. S. and Gan. L. H., "*Development of a rigid polyurethane foam from palm oil*", Journal of Applied Polymer Science, Vol. 68, Issue 3, 1998. Pag. 509-515.

9. Vilar W. D., "*Química e tecnologia dos poliuretanos*", 3ra. Ed., Rio de Janeiro, 2002.
10. Dow Plastics, "*Polyurethanes, A guide for flexible-foam manufactures*", EEUU, 2001.
11. Zavala Arce, R.E, "*Síntesis de espumas de poliuretano a partir de poliols de fuentes naturales*", Tesis de Doctorado en Ingeniería Química, ITCM, 2003.
12. Baker J.W. and Gaunt J., "*The mechanism of the reaction of aryl isocyanates with alcohols and amines. Part II. The base-catalysed reaction of phenyl isocyanate with alcohols*", Journal of the Chemical Society., Issue 1, 1949. Pag. 9 – 12.
13. Kometani H. et al., "*The characteristic and role of tertiary amine catalysts for PU foams*", Catalyst in PU Foams, Rapra, 1997.
14. Farkas A. and Flynn K., "*The catalytic effects of 1,4-diaza [2,2,2-] bicyclooctane for isocyanate reactions*", Journal of America Chemical Society, Vol. 82, Issues 3, 1960. Pag. 642 – 645.
15. Mullender C.S., "*Properties of auxiliary organo-tin catalysts in PU foams*", Catalyst in PU Foams, Rapra, 1997.
16. Zavala Alejo, S.L., "*Síntesis y caracterización de un poliols compatible con pentano en la formulación de espumas de poliuretano*", Tesis de Maestría en Ingeniería Química, ITCM, 1999.
17. McBrayer, R.L., "*Advances in polyurethane foams formulation*", Technomic Publishing Co., Inc., Lancaster, Pennsylvania, 1994.
18. Saunders, J. H. and Frisch, K.C. "*Polyurethanes. Chemistry and technology. Part II: Technology*", Fourth edition, Interscience Publisher, EEUU, 1962.

-
19. Young R. P., "*Basic infrared spectroscopy*", The University of Illinois, Chicago, EEUU, 1996.
 20. Homak J., "*The basic of nuclear magnetic resonance*", Center for Imaging Science, Rochester Institute of Technology, 1997.
 21. Barth H. and Mays J. Editors, "*Modern methods of polymer characterization*", Wiley Interscience Publication, New York, EEUU, 1991. Chapter 1, 2.
 22. Stevens M., "*Polymer chemistry. An introduction*", Second edition, Oxford University Press, Oxford, UK, 1990. Chapter 2, 10, 12, 13.
 23. Sperling L. H., "*Physical polymer science*", John Wiley & Sons, New York, EEUU, 1986.
 24. Schurz J., Zipper P. and Lenz J., "*Structural studies on polymers as prerequisites for degradation*", Journal of Macromolecular Science - Pure and Applied Chemistry, Vol. A30, n 9-10, 1993. Pag. 603-619.
 25. Ki H. C. and Park O., "*Synthesis, characterization and biodegradability of biodegradable aliphatic – aromatic random copolyesters*", Polymer, Vol. 42, Issues 5, 2001. Pag. 1849-1861.
 26. Pathirana R.A. and Seal K.J., "*A potential biodeteriogen of polyester – polyurethane elastomers*", Biodeterioration, Vol. 5, 1983. Pag. 679 – 689.
 27. Santerre, J.T., Labow R.S., Duguay D.G., Erfle D. and Adams G.A., "*Biodegradation evaluation of polyether and polyester – urethanes with oxidative and hydrolytic enzymes*", Journal of Biomedical Mater Research, Vol. 28, 1994. Pag. 1187 – 1199.

-
28. Howard G.T. and Blake R.C., "Growth of *Pseudomonas fluorescens* on a polyester-polyurethane and the purification and characterization of a polyurethane-protease enzyme", International Biodeterioration & Biodegradation, Vol. 42, 1999. Pag. 213 – 220.
29. Ruiz C., Main T., Hilliard N. and Howard G.T., "Purification and characterization of two polyurethane enzymes from *Pseudomonas chlororaphis*", International Biodeterioration & Biodegradation, Vol. 43, 1999. Pag. 43 – 47.
30. Huang S.J., Macri C., Roby M., Benedict C. and Cameron J.A., "Biodegradation of polyurethanes derived from polycaprolactone diols", Urethane Chemistry and Application, Edwards K.N. Editor, American Chemical Society, Washington D.C., EEUU, 1981. Pag. 471 – 487.
31. Labrow R.S., Erfle D.J. and Santerre J.P., "Elastase-induced hydrolysis of synthetic solid substrates: poly(ester-urea-urethane) and poly(ether-urea-urethane)" Biomaterials, Vol. 17, 1996. Pag. 2381 – 2388.
32. Santerre, J.P., Labrow R.S. "The effect of hard segment size on the hydrolytic stability of polyether-urea-urethanes when exposed to cholesterol esterase" Journal of Biomedical Materials Research, Vol. 36, 1997. Pag. 223 – 232.
33. Santerre J.P., Labrow R.S., and Adams G.A., "Enzyme – biomaterial interactions: effect of biosystems on degradation of polyurethanes", Journal of Materials Research, Vol. 27, 1993. Pag. 97 – 109.
34. Blake R.C. and Howard G.T., "Adhesion and growth of a *Bacillus sp* on a polyesterurethane", International Biodeterioration & Biodegradation, Vol. 42, 1998. Pag. 63 – 73.

35. Ruiz C., Hilliard N. and Howard G.T., "*Growth of **Pseudomonas chlororaphis** on a polyester – polyurethane and the purification and characterization of a polyurethanase – esterase enzyme*", International Biodeterioration & Biodegradation, Vol. 43, 1999. Pag. 7 – 12.
36. Nakajima-Kembe T., Onuma F., Kimpara N. and Nakahara T. "*Isolation and characterization of a bacterium which utilizes polyester polyurethane as a sole carbon and nitrogen source*", FEMS Microbiology Letters, Vol. 129, 1995. Pag. 39 – 42.
37. Akutsu Y., Nakajima-Kembe T., Nomura N. and Nakahara T. "*Purification and properties of a polyester polyurethane-degrading enzyme from **Comamonas acidovorans TB-35***", Applied and Environmental Microbiology, Vol. 64 No. 1, 1998. Pag 62 – 67.
38. Nakajima-Kembe T., Onuma F., Akutsu Y. and Nakahara T., "*Determination of the polyester polyurethane breakdown products and distribution of the polyurethane degrading enzyme of **Comamonas acidovorans** strain TB-35*" Journal of Fermentation and Bioengineering, Vol. 83, No. 5, 1997. Pag. 456 – 460.
39. Rowe L. Howard G.T., "*Growth of **Bacillus subtilis** on polyurethane and the purification and characterization of a polyurethanase-lipase enzyme*" International of Biodeterioration & Biodegradation, Vol. 50, 2002. Pag. 33 – 40.
40. Googman I. and Rhys J. R. "*Polyesters. Saturated polymers*", London Plastic Institute, London, England, 1965.
41. Morgan P. W., "*Condensation polymers; By interfacial and solution methods*", Wiley-Interscience, New York, EEUU, 1965.
42. Sorenson W. R., Sweeny W. and Campbell T. W., "*Preparative methods of polymer chemistry*", third edition, Wiley-Interscience, New York, EEUU, 2001.

43. López Castillo, N. "*Reciclaje terciario de poli-(tereftalato de etileno). Técnicas químicas de depolimerización*", Tesis de Maestría en Ingeniería Química, Facultad de Química, UNAM, 1995. Pag. 78 – 80.
44. Gudgeon, H. and Buist, J. M. Editors, "*Advances in polyurethane technology*" 1968, University of Manchester. Inst. of Science and Technology, John Wiley & Sons, New York, EEUU.
45. Caballero Martínez I, "*Estudio cinético y diseño de una planta continua para producir plastificante*", Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM, 1997. Pag. 35 – 40.
46. Ogg C. L., Porter W. L. and Willits C. O., "*Determination of hydroxyl content. Acetic anhydride method*", Industrial Engineering Chemistry, Analytical Edition, Vol. 17, 1945. Pag. 394 – 397.
47. Fritz J. S. and Schenk G. H., "*Acid-catalyzed acetylation of organic hydroxyl groups*", Analytical Chemistry, Vol. 31, No. 11, 1959. Pag. 1808 – 1812.
48. Elving P. J. and Warshowsky B., "*Determination of the alcoholic hydroxyl groups in organic compounds. Phthalic anhydride method*", Analytical Chemistry, Vol. 19, No.12, 1947. Pag. 1006 – 1010.
49. Siggia S., "*Quantitative organic analysis, via functional groups*", third edition, John Wiley, New York, EEUU, 1963.
50. BROOKFIELD, "*More solution to sticky problems*", Brookfield Engineering Laboratories, Massachusetts, EEUU, 1998.
51. ASTM D1480-02, "*Standard test method for density and relative density (specific gravity) of viscous materials by bingham pycnometer*", ASTM International, 2002.

-
52. ASTM D1045-95, "Standard test methods for sampling and testing plasticizers used in plastics", ASTM International, 2001.
53. Grubisic Z., Rempp P. and Benoit H., "A universal calibration curve for gel permeation chromatography", Journal of Polymer Science Part B. Polymer Letters. Vol. 5 Issues 9, 1967. Pag. 573 – 759.
54. Settle F. A. Editor, "Handbook of instrumental techniques for analytical chemistry", Prentice Hall, New Jersey, EEUU. 1997. Chapter 46.
55. Pretsch E., Bühlmann P. and Affolter C., "Structure determination of organic compounds. Tables of spectral data", Third edition, Springer, Berlin, Germany, 2000.
56. Siggia S. and Hanna J. G., "Determination of organic isocyanates and isothiocyanates", Analytical Chemistry, vol. 20, 1948. Pag.1084.
57. ASTM D-1638-74, "Methods of testing urethane foam isocyanate raw materials", ASTM International, 1974.
58. ASTM D-2572-97e1, "standard test method for isocyanate groups in urethane materials or prepolymers", ASTM International, 2003.
59. Kirk R. E., Othmer D. F., Kroschwitz J. I. and Howe-Grant M., Editors, "Kirk – Othmer. Encyclopedia of chemical technology", John Wiley Interscience, New York, EEUU, 1997. Vol. 15, Pag. 445 – 479.
60. The Down Corp., "DABCO Specifications, Cat 33LV", EEUU, 2004.
61. Hester R. D. and Mitchell P. H., "A new universal GPC calibration method", Journal of Polymer Science: Polymer Chemistry Edition, Vol. 18, Issue 6, 1980. Pag. 1727 – 1738.

-
62. Grubisic Z., Rempp P. and Benoit H., "*A universal calibration for gel permeation chromatography*", Journal of Polymer Science Part B: Polymer Letters, Vol. 5, Issue 9, 1967. Pag. 753 – 759.
63. Rabek J. F., "*Experimental methods in polymer chemistry physical principles and applications*", John Wiley & Sons, Chichester, EEUU, 1980.
64. Brandrup J., Immergut E. H. and Grulque E. A. Editors, "*Polymer handbook*", Fourth edition, Wiley Interscience, New York, EEUU, 1999.
65. Ausubel F. M. and Coeditors, "*Current protocols in molecular biology*", John Wiley & Sons, Vol. I, EEUU, 1997. Chapter 1.
66. Sambrook J., Fritsch E. F. and Maniatis T., "*Molecular cloning. A laboratory manual*", 2º edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, EEUU, 1989. Appendix A.
67. Chang J., Ossoff S., Lobe D., Dorfman M., Dumais C., Qualls R. and Johnson D., "*UV inactivation of pathogenic and indicator microorganisms*", Applied and Environmental Microbiology, Vol. 49, No. 6, 1985. Pag.1361 – 1365.
68. BIO RAD Laboratories, "*ChemWindow® Spectroscopy 6.0*", Sadtler Division, Philadelphia, EEUU, 1998-1999.
69. Sadtler Research laboratories, "*Standard Spectra: 1981-1987, Sadtler research laboratories*", Philadelphia, EEUU, 1987.
70. Dounis D. and Garth L. Wilkes, "*Structure – property relationships of flexible polyurethanes foams*", Polymer, Vol. 38, Issues 11, 1997. Pag. 2819 – 2828.

-
71. Dow Chemical, "*Información técnica, PAPI 27. MDI polimérico*", The Dow Chemical Company, Formulário No. 678-00030-302, 2005.
72. Król P. and Pilch- Pitera B., "*Study on the synthesis of urethane oligomers as intermediate products for the production of linear polyurethanes*", European Polymer Journal, Vol. 37, 2001. Pag. 251 – 266.
73. Król P. and Pilch- Pitera B., "*A study on the synthesis of urethane oligomers*", European Polymer Journal, Vol. 39, 2003. Pag. 1229 – 1241.
74. Dounis D. and Wilkes G., "*Structure – property relationships of flexible polyurethanes foams*", Polymer, Vol. 38, Issues 11, 1997. Pag. 2819 – 2828.
75. Kowalski W., Bahnfleth W., Witham D., Severin B. and Whittam T. "*Mathematical modeling of ultraviolet germicidal irradiation for air disinfection*", Quantitative Microbiology, Vol. 2, 2000. Pag. 249- 270.
76. Pennsylvania State University, "*Ultraviolet germicidal irradiation*", Aerobiological Engineering, 2004.
77. Rodriguez J., "*UV dosage and governmental*", Water conditioning and purification, Vol.6, 1997, Pag 38 – 42.
78. American Air and Water, "*UV irradiation dosage table. UV air and water purification*", American Air and Water Inc., 2004.
79. Gritz D., Lee T., McDonnell P., Shih K. and Baron N, "*Ultraviolet radiation for the sterilization of contact lenses*", Clao Journal, Vol. 16, Issues 4, 1990, Pag. 294 – 298.

-
80. Ki H. and Ok Park O., "*Synthesis, characterization and biodegradability of the biodegradable aliphatic – aromatic random copolyesters*", *Polymer*, Vol. 42, 2001. Pag. 1849 – 1861.
81. Matuszak, Michel L. and Frischm K. C., "*Thermal degradation of linear polyurethanes and model biscarbamates*", *Journal of Polymer Science: Polymer Chemistry Edition*, Vol. 11, Issues 3, 2003. Pag. 637 – 648.
82. Eng-Liang Cheu, Zenjiro Osawa "*Study of the degradation of polyurethanes. I. The effect of various metal acetylacetonates on the photo - degradation of polyurethanes*", *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 19, Issues 11, 2003. Pag. 2947-2559.
83. McMurry J., "*Química orgánica*", 3ª Edición, Gpo. Editorial Iberoamerica, México, 1994.
84. Kay M., McCabe R. and Morton L. H., "*Chemical and physical changes occurring on polyester polyurethane during biodegradation*", *International Biodeterioration and Biodegradation*, Vol. 31, Issues 3, 1993. Pag. 209 – 225.

APÉNDICE A

PREPARACIÓN DE MEDIOS

A) **Medio Basal.** (Composición por litro. Basado en el medio propuesto por Nakajima-Kambe *et. al.*, 1995).

Solución A. (10x)

- KH_2PO_4 20.0 g
- K_2HPO_4 70.0 g

Solución B. (100x)

- NH_4NO_3 100.0 g*
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 100.0 g

Solución elementos traza (1000x)

- $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.0 g
- $\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.10 g
- $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 10.0 g
- $\text{MgSO}_4 \cdot 4-6\text{H}_2\text{O}$ 2.0 g

*Omitir el NH_4NO_3 si se prueba poliuretano como única fuente de nitrógeno.

Preparación: Preparar las soluciones A y B y esterilizar en autoclaves a 120 °C por 20 minutos. Preparar la solución de elementos traza y esterilizar por filtración. A 800 mL de agua estéril adicionar en condiciones asépticas 100 mL de solución A, 10 mL de solución B y 1 mL de solución de elementos traza. Llevar a un litro y distribuir en matraces o tubos. En caso de adicionar la resina como fuente de carbono, sustituir 100 mL de agua estéril por 100 de solución 10x de resina esterilizada por filtración. En caso de usar polvo de poliuretano como fuente de carbono, adicionar 1 % del mismo al medio de cultivo. Por

último, si se preparan placas de agár MB, esterilizar el agua con el equivalente a 1.5 % de concentración final de agar. El pH final del medio es 7.2.

B) Medio Luria. (Composición por litro. Ausubel ed. Current Protocols in Molecular Biology, 1997).

Medio líquido

- Peptona 10.0 g
- Extracto de levadura 5.0 g
- NaCl 5.0 g

Preparación: Disolver en agua necesaria para completar un litro, ajustar pH a 7.0 mediante la adición de solución de NaCl 1.0 N y esterilizar en autoclave a 120 °C por 20 minutos y mantener en refrigeración.

Medio sólido

- Agar 15.0 g
- Peptona 10.0 g
- Extracto de levadura 5.0 g
- NaCl 5.0 g

Preparación: Disolver el agár en la mínima cantidad de agua posible por separado, y los otros componentes en 100 mL de agua. Mezclar las dos soluciones y completar a 1 L con agua. Esterilizar bajo las mismas condiciones que para la preparación del medio líquido. Enfriar hasta 65 °C. Para preparar placas vacías de 25 a 30 mL de la solución caliente en cajas Petri estériles. Mantenga las cajas en refrigeración y la solución restante.

APENDICE B

CARACTERIZACIÓN DE LA BACTERIA

B.1 Identificación de la bacteria

El resultado de la identificación de las cepas bacterianas en el cepario de la Facultad de Química es el siguiente:

Cepa BIQ-08: *Comamonas testosteroni* o *Pseudomonas alcaligenes*

La identificación se realizó utilizando tiras API 20NE y el Software correspondiente. Así como medios convencionales: Agar MacConkey, SS, Cetrimide, Agar P, Agar Nutritivo y Bioquímicas Caldo nitrato, SIM, MIO, UREA, Arginina, O/F/+ Glucosa.

B.2 Curva de cepa BIQ-08 en LB líquido

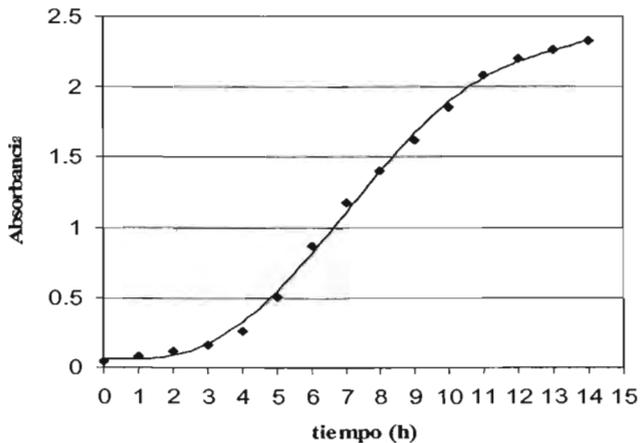
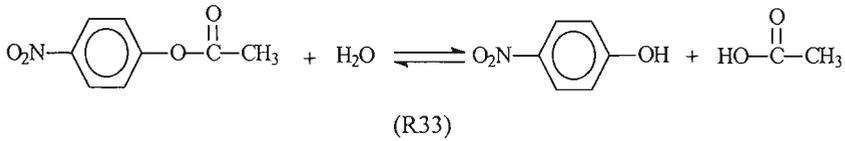


Figura B.1 Curva de crecimiento de la cepa BIQ-08 en LB.

Se determinó mediante densidad óptica a 660 nm, el crecimiento de la bacteria en LB líquido, para establecer el tiempo de mayor actividad de replicación de la bacteria. Esto ocurre mientras se mantenga en la zona de mayor pendiente.

B.3 Determinación de la actividad enzimática de la bacteria

Se determinó la actividad enzimática esterasa mediante la reacción de hidrólisis del acetato de p-nitrofenol, la reacción es como sigue:



La determinación se realiza mediante la medición de los moles de p-nitrofenol debidos a la hidrólisis enzimática debiendo restarle los moles generados por hidrólisis con el agua.

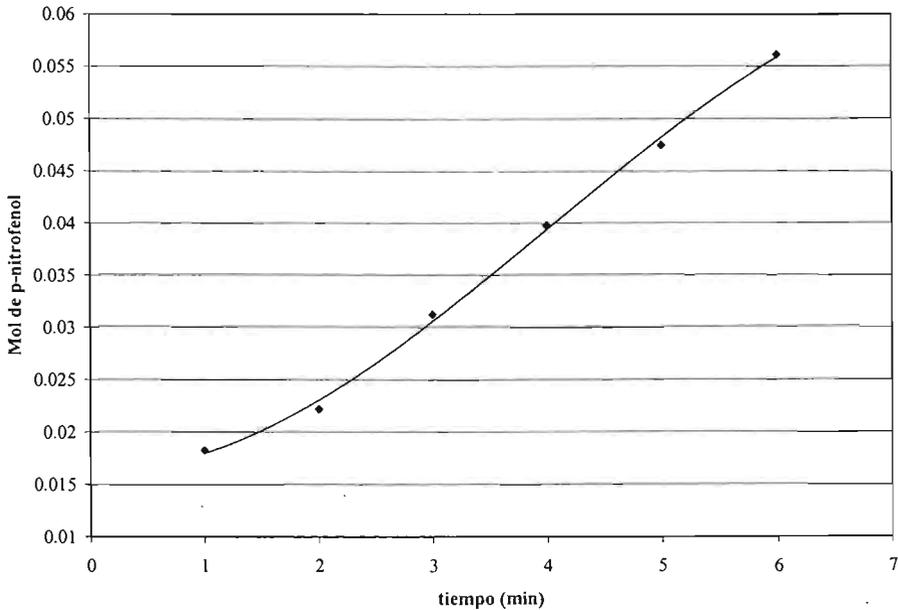


Figura B.2 Actividad enzimática de la cepa BIQ-08 a las 15h de incubación.

B.4 Determinación del crecimiento en MB con PU hidrosoluble.

La determinación se hace mediante el seguimiento de la densidad óptica a 660 nm cada hora, en un cultivo de MB con poliuretano hidrosoluble (Hydroform[®]) al 3% en peso, inoculado con una colonia de bacterias conservadas en cajas y sujetas a presión de selección.

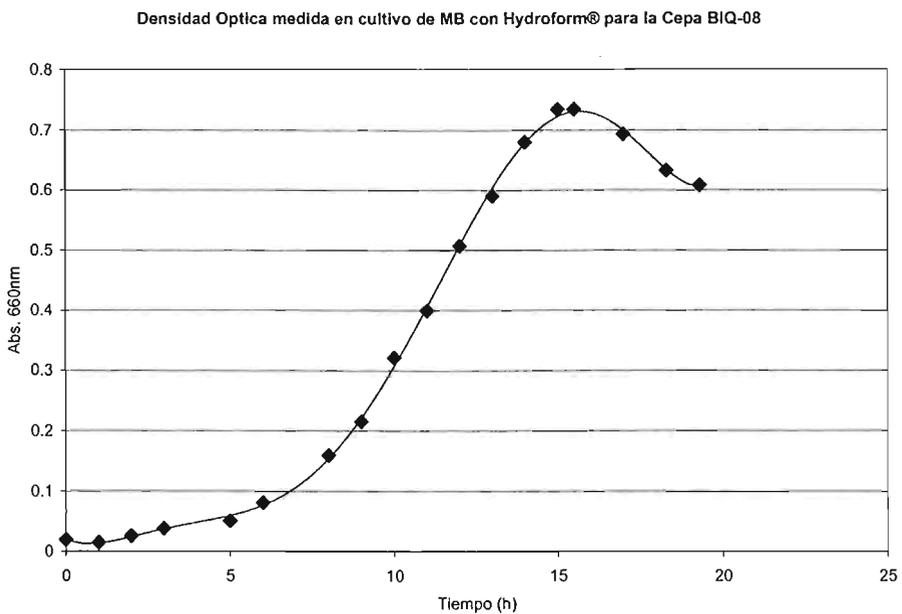


Figura B.3. Crecimiento de la cepa BIQ-08 en poliuretano hidrosoluble

Esta curva muestra que la bacteria es capaz de reproducirse en condiciones donde la única fuente de carbono disponible es el poliuretano hidrosoluble.

APENDICE C

DIAGRAMAS DE GPC

C.1 Diagramas de GPC de polioles

Las condiciones de la determinación fueron:

Solvente THF, Columna HP Mixed B, 10 μ m

Flujo de fase móvil: 1 mL/min,

Detector: Dispersión de Luz

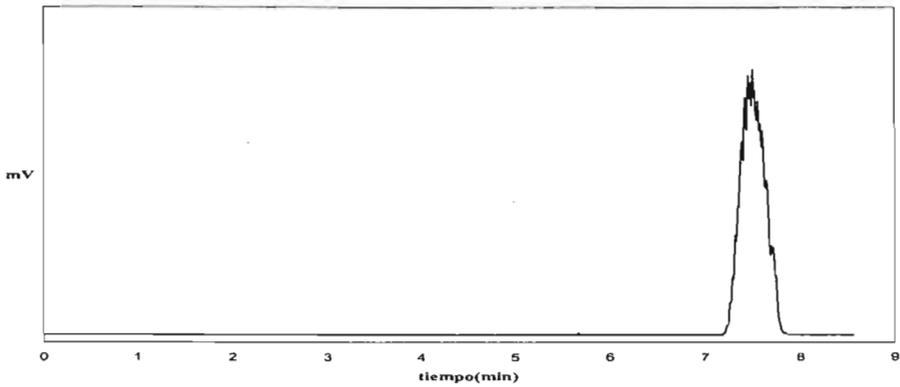


Figura C.1 Diagrama de GPC para poliol DPG-AAD-DPG.

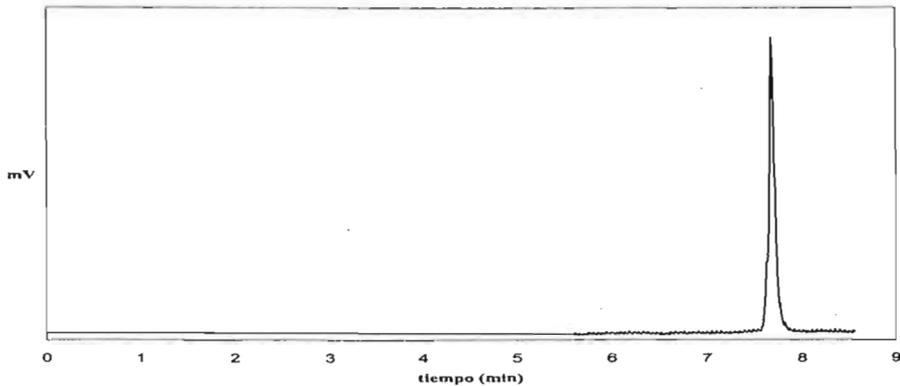


Figura C.2 Diagrama de GPC para poliol DPG-AFT-DPG.

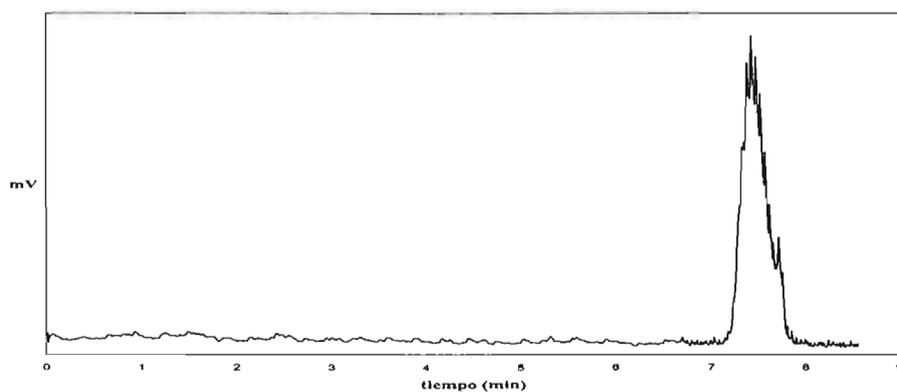


Figura C.3 Diagrama de GPC para polioli DEG-AAD-DEG.

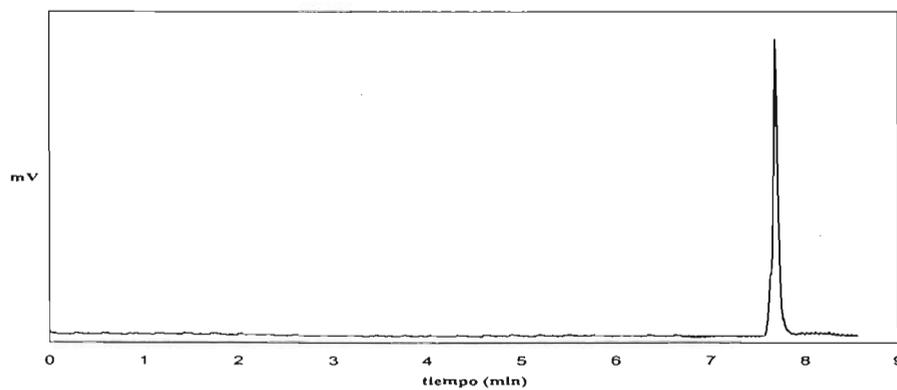


Figura C.4 Diagrama de GPC para polioli DEG-AFT-DEG.

C.2 Diagramas de GPC de poliuretanos del MDI

Las condiciones de la determinación fueron:

Solvente THF, Columna HP Mixed B, 10 μ m

Flujo de fase móvil: 1 mL/min,

Detector: Dispersión de Luz

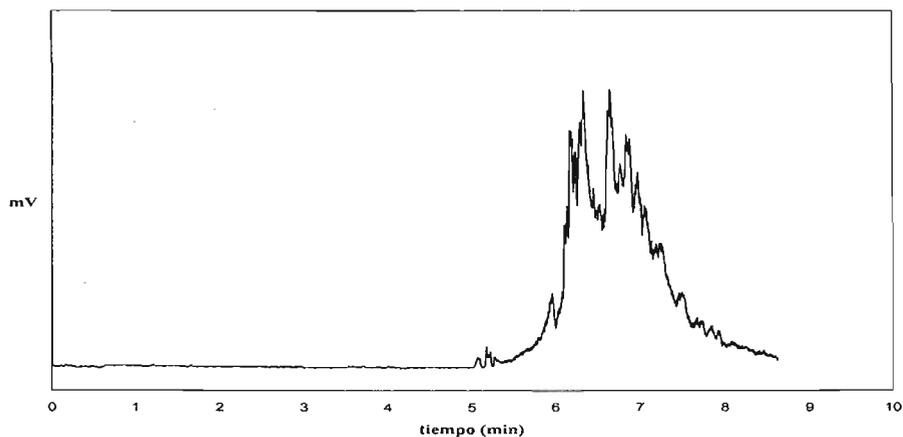


Figura C.5 Diagrama de GPC para MDI 2,(DPG-AFT-DPG-MDI).

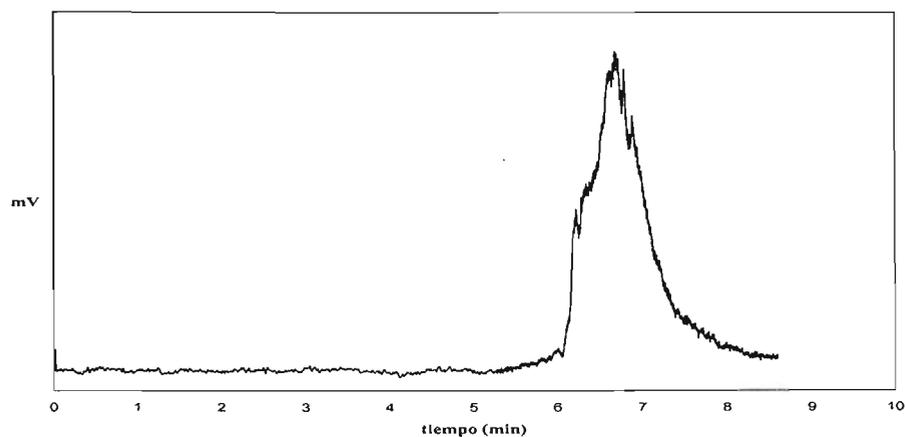


Figura C.6 Diagrama de GPC para MDI 4,(DEG-AFT-DEG-MDI).

C.3 Diagramas de GPC de poliuretanos del TDI

Las condiciones de la determinación fueron:

Solvente THF, Columna HP Mixed B, 10 μ m

Flujo de fase móvil: 1 mL/min,

Detector: Dispersión de Luz

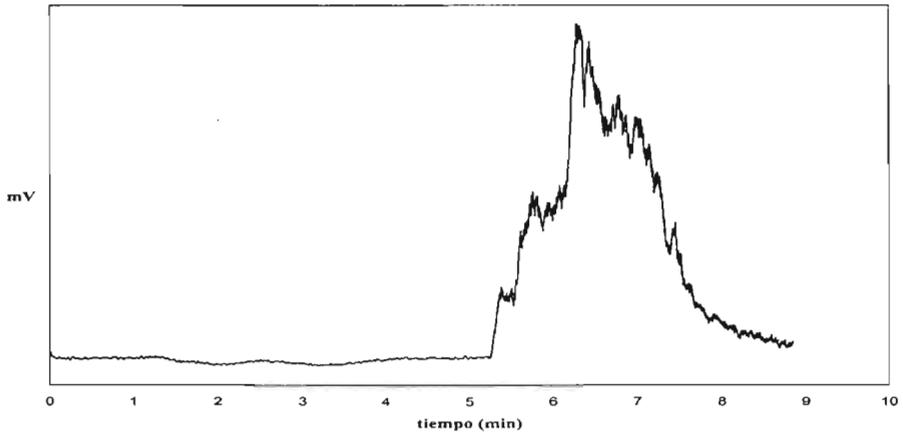


Figura C.7 Diagrama de GPC para TDI 1,(DPG-AAD-DPG-TDI).

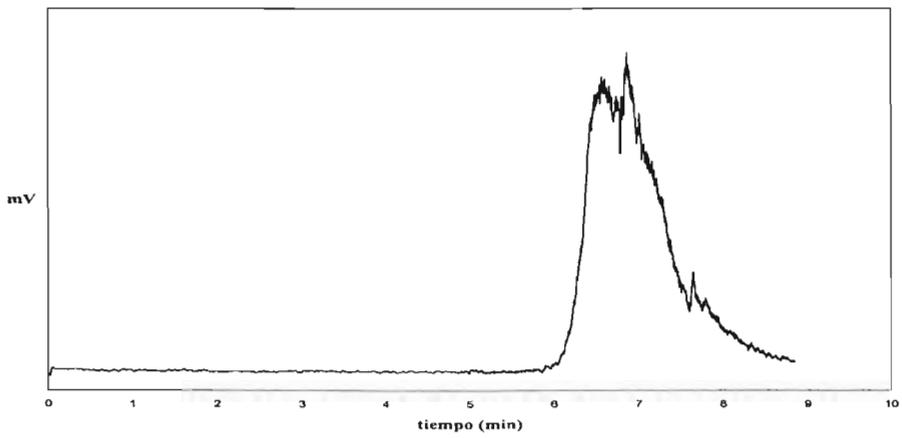


Figura C.8 Diagrama de GPC para TDI 2,(DPG-AFT-DPG-TDI).

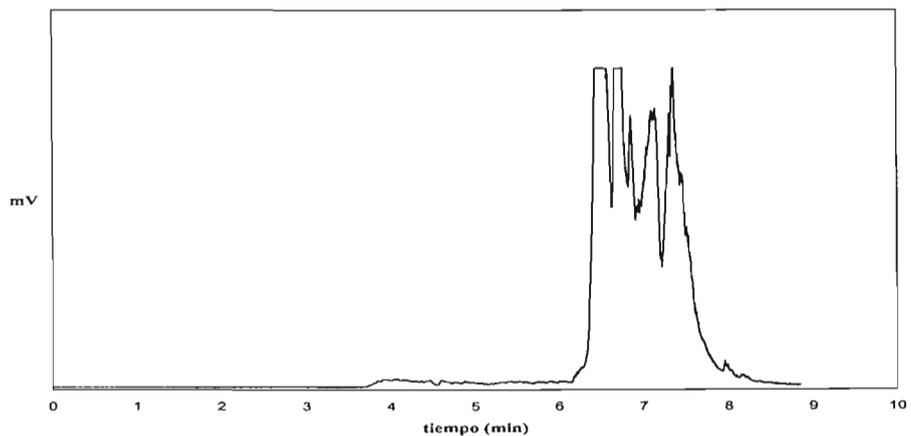


Figura C.9 Diagrama de GPC para TDI 3,(DEG-AAD-DEG-TDI).

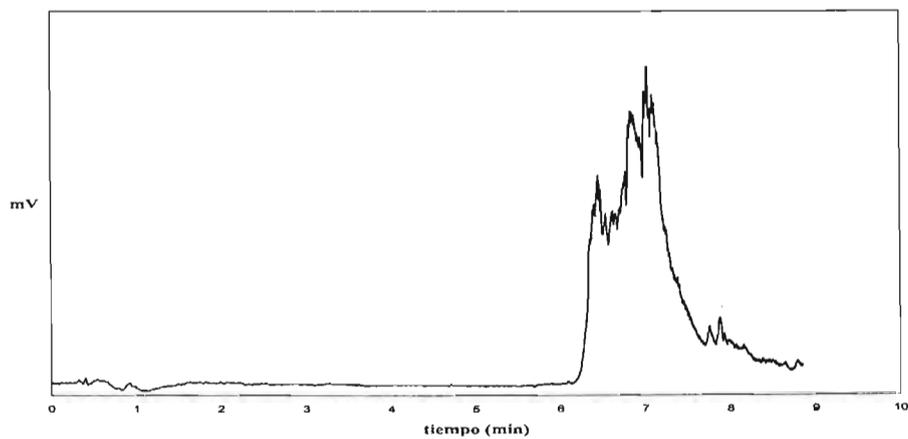


Figura C.10 Diagrama de GPC para TDI 4,(DEG-AFT-DEG-TDI).