



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN.

**“DEGRADACIÓN ENZIMÁTICA DE ESPUMAS
DE POLIURETANO DE DESECHO”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE LICENCIADA
EN
QUÍMICA INDUSTRIAL

PRESENTA
MARICEL JAZMIN PÉREZ RODRÍGUEZ

ASESORA: M. en C. MARÍA DEL ROSARIO RODRÍGUEZ HIDALGO.

CUAUTITLÁN IZCALLÍ, ESTADO DE MÉXICO.

2010



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

AGRADECIMIENTOS.

A mi madre: Ma. Carmen.

Mamá: gracias por todo el apoyo que hasta este día me has dado, por nunca dudar de mí y de lo que puedo llegar a hacer, por estar siempre conmigo y ayudarme a salir adelante, por escuchar mis problemas y darme consejos para ser mejor, por estar junto a mí en todas las cosas que he decidido hacer, por ser el gran motor que mueve mi vida y todas esas ilusiones que he cumplido, y sobre todo por haberme dado la vida porque sin tí nunca hubiera experimentado las emociones, tristezas y alegrías que he vivido.

A mi padre: Alfredo.

Papá: gracias por haberme dado todo para cumplir con este reto, ya que nunca tuve un “no” como respuesta cuando pedía tu opinión y apoyo, por confiar, por creer en mí, y por que se que tu nunca dudaste de que lo lograría, no se como agradecerte tanto amor que me has dado y sobre todo por haber estado conmigo en todo lo que he querido hacer.

A mi hermana: Adriana.

Que te puedo decir a tí hermana; solo un gran gracias por estar conmigo, por apoyarme siempre, por ser mi mejor amiga y por haberme dado las mejores alegrías de mi vida, y por todo lo que has compartido conmigo.

A mi familia.

A cada uno de ellos por el apoyo que he recibido, pero en especial a mis tíos Raymundo Olmos y Ma. Asunción Rodríguez por el apoyo incondicional que he tenido de ustedes, por motivarme a ser mejor cada día y dar lo mejor de mí, por enseñarme a no dejar mis sueños y a luchar por todo lo que yo desee hacer.

A todos mis amigos Químicos Industriales 8va Generación.

*Por todas las cosas que viví con ustedes y se que nunca las voy a olvidar, por haber dejado un poco de ustedes en mí, y por que de ustedes aprendí muchísimas cosas, pero en especial quiero agradecer a mis mejores amigos **Rosalía Pulido, Eva Villegas, Ana Celia, Eva Guadalupe, Eva Eunice y Daniel** por su amistad incondicional, porque ustedes cambiaron muchísimas cosas de mí y porque cada uno de ustedes tiene su propia historia, de esos cambios que yo realice, y sobre todo por haberme dejado los mejores recuerdos de mi vida y se que de ustedes tengo más que una amistad.*

A mi asesora de tesis M. en C. María del Rosario Rodríguez Hidalgo.

Profesora solo me queda darle las gracias por haber confiado en mí para realizar este proyecto, por todo el apoyo incondicional que recibí de usted, pero sobre todo por haberme aceptado como una amiga más, ya que en todo este tiempo no solo fue mi asesora sino una amiga, en quien puedo confiar y se que usted siempre me motivo a ser mejor y vencer los retos que se presentaron en cada momento de este proyecto y no solo en este proyecto sino en lo que la vida pueda tener para mí; por darme ánimos a seguir creciendo profesionalmente y por muchos consejos que me servirán mas adelante, profesora no se como agradecerle todo lo que me ha dado; solo me queda decirle ¡gracias de todo corazón!

Al Dr. Cesar Soto Figueroa.

Por todo su apoyo para la realización de este proyecto, y por confiar en mí para realizarlo, además por muchos de sus consejos para salir adelante y por motivarme a seguir creciendo profesionalmente, y por su amistad.

Al Dr. Luis A. Vicente Hinojosa.

Por el apoyo al acceso de los equipos de caracterización de la USAI-CU-UNAM.

Al Proyecto PAPIIT “Investigación Teórica-Experimental de Materiales Poliméricos Nanoestructurados”, Clave: IN101008.

Al Proyecto PACIVE “Investigación Teórica Experimental de Materiales”, clave VIASC-102.

A la Química Marisela Gutiérrez Franco.

Por su apoyo para la realización de cada uno de los análisis de Espectroscopía Infrarrojo por Transformada de Fourier, que se requirieron para la elaboración de este proyecto, ya que son parte fundamental del mismo.

Al Técnico académico Rafael Iván Puente Lee.

Por su apoyo para la realización de cada una de las microscopías electrónicas de barrido, que se requirieron para la elaboración de este proyecto, ya que son parte fundamental del mismo.

ÍNDICE.

| | Página. |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| GLOSARIO. | |
| RESUMEN..... | 1 |
| 1) OBJETIVO GENERAL..... | 3 |
| 2) OBJETIVOS PARTICULARES..... | 3 |
| 3) GENERALIDADES..... | 4 |
| 3.1) HISTORIA DEL POLIURETANO..... | 4 |
| 3.1.2) POLIURETANOS..... | 4 |
| 3.1.3) SÍNTESIS DE POLIURETANOS EN LA INDUSTRIA..... | 5 |
| 3.1.3.1) POLIOLES..... | 6 |
| 3.1.3.2) ISOCIANATOS..... | 8 |
| 3.1.3.3) EXTENDEDORES DE CADENA..... | 10 |
| 3.1.3.4) CATALIZADORES..... | 12 |
| 4) APLICACIONES DEL POLIURETANO..... | 13 |
| 5) ESPUMAS DE POLIURETANO..... | 15 |
| 6) RECICLAJE: “ESPUMAS DE POLIURETANO”..... | 17 |
| 7) BIODEGRADACIÓN DE POLIURETANOS CON MICROORGANISMOS..... | 22 |
| 8) ENZIMAS..... | 24 |
| 8.1) CLASIFICACIÓN DE LAS ENZIMAS..... | 25 |
| 8.1.2) FACTORES QUE AFECTAN LA VELOCIDAD CATALÍTICA DE LA ENZIMA..... | 27 |
| 8.2) ENZIMA PAPAÍNA..... | 28 |
| 8.3) ENZIMA UREASA..... | 31 |
| 8.4) ENZIMA ESTERASA..... | 32 |
| 9) DESARROLLO EXPERIMENTAL..... | 34 |
| MATERIAL Y EQUIPO..... | 35 |
| 9.1) DESCRIPCIÓN FÍSICA Y QUÍMICA DE LAS MUESTRAS ANTES DEL PROCEDIMIENTO DE DEGRADACIÓN..... | 37 |

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 9.2) PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS PARA SU DEGRADACIÓN..... | 40 |
| 9.3) PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE REACCIÓN (SOLUCIONES BUFFER DE FOSFATOS A DIFERENTES pH's)..... | 41 |
| 9.4) PROCEDIMIENTO PARA LA DEGRADACIÓN ENZIMÁTICA DE ESPUMAS DE POLIURETANO DE DESECHO GENERADAS POR DISTINTOS USOS..... | 42 |
| 9.5) EXTRACCIÓN DE PAPAÍNA A PARTIR DE FRUTOS VERDES DE PAPAYA..... | 44 |
| 9.6) EXTRACCIÓN DE UREASA A PARTIR DE FRÍJOL DE SOYA SECO..... | 45 |
| 9.7) CINÉTICA DE REACCIÓN PARA EL EXTRACTO UREASA/ETANOL DEL FRÍJOL DE SOYA SECO..... | 45 |
| 10) CARACTERÍSTICAS Y CONDICIONES DE REACCIÓN PARA CADA UNA DE LAS ENZIMAS. | 46 |
| 11) RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 47 |
| 11.1) RESULTADOS DE LA CINÉTICA ENZIMÁTICA PARA EL EXTRACTO “UREASA/ETANOL FRÍJOL DE SOYA”..... | 56 |
| 11.2) RESULTADOS DE LA CINÉTICA ENZIMÁTICA PARA EL EXTRACTO “UREASA/ACETONA FRÍJOL DE SOYA”..... | 57 |
| 11.3) RESULTADOS DE LAS DEGRADACIONES ENZIMÁTICAS DE LAS ESPUMAS DE POLIURETANO DE DESECHO..... | 59 |
| 12) CONCLUSIONES..... | 143 |
| 13) PERSPECTIVAS..... | 146 |
| 14) ANEXOS..... | 147 |
| 15) REFERENCIAS..... | 170 |

GLOSARIO.

Degradación enzimática: Es una degradación química catalizada por enzimas.

EIRTF: Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier.

Enzima: son catalizadores de los sistemas biológicos, y son de gran interés ya que determinan la pauta de las transformaciones químicas, sus características mas importantes son su alto poder catalítico y su especificidad.

HDI: Hexametileno-1,6-diisocianato.

MEB: Microscopia Electrónica de Barrido

MDI: 4,4'-Difenilmetanodiisocianato.

Polímero: Macromolécula constituida por una multitud de unidades de repetición llamadas monómeros.

Poliuretano: es un polímero sintético que en su estructura contiene unidades uretánicas repetitivas, el poliuretano se obtiene por una reacción de condensación entre un isocianato y un poliol.

PU: Poliuretano.

Risilencia: es la "capacidad de memoria" de un poliuretano, es decir la resistencia a la deformación por compresión mecánica.

TDI: Toluendiisocianato.

RESUMEN.

Se eligió una degradación enzimática para este proyecto, porque como se explica más adelante, el reciclaje para las espumas de poliuretano consiste en un reciclaje mecánico, químico e incineración, estos métodos además de utilizar instalaciones y equipos costosos, generan residuos que son contaminantes, como gases, disolventes, etc., y para los cuales no hay un tratamiento seguro para poder desecharlos.

Una degradación con microorganismos resulta complicada, ya que hay que tener habilidad y experiencia para manejar estos microorganismos, además que su mantenimiento y conservación resulta con altos costos, por los agares que se necesitan, recordemos que un microorganismo necesita de nutrientes esenciales y en cantidades exactas para su crecimiento y a veces no solo necesitan de un sólo nutriente.

Por las razones anteriores se decidió realizar una degradación enzimática, ya que las enzimas no requieren de grandes equipos e instalaciones, son inofensivas, de fácil conservación y se pueden manipular fácilmente, el residuo que genera no es contaminante, ya que estas enzimas presentan actividad en soluciones Buffer las cuales no son tóxicas dependiendo de la naturaleza del mismo, se inactivan fácilmente ya que son sensibles a la temperatura y pH. Pero la razón más importante es que estas enzimas son específicas y presentan actividad en los enlaces presentes en la cadena polimérica de las espumas de poliuretano, así se sabe que la enzima Papaína rompe enlaces amida y esterés, la enzima Ureasa rompe enlaces uretano y la enzima Esterasa rompe enlaces esterés⁽¹⁻⁵⁾.

En la presente investigación se estudió la biodegradabilidad de tres espumas de poliuretano de desecho: Muestra **“A y B”** (utilizadas como aislante en

refrigerador), Muestra “C” (utilizada para embalaje). Las espumas fueron sometidas a la acción de tres enzimas de uso comercial: PAPAÍNA, UREASA Y ESTERASA ya que estas enzimas han presentado especificidad sobre algún tipo de enlace presente en el poliuretano. Las condiciones de actividad para cada enzima fueron establecidas mediante experimentación.

Las espumas que presentaron pérdida de peso fueron seleccionadas para analizar la biodegradación mediante Espectroscopía de Infrarrojo por Transformada de Fourier (EIRTF) y Microscopía Electrónica de Barrido (MEB), para corroborar el efecto que tiene la enzima sobre los enlaces de las espumas de poliuretano de desecho.

La disminución de la intensidad de las bandas de los grupos funcionales característicos de la espumas de poliuretano, demostró que estas espumas fueron afectadas por la acción de las tres enzimas en estudio.

1) **OBJETIVO GENERAL.**

- Desarrollar una metodología basada en conocimientos experimentales para lograr la degradación de la espuma de Poliuretano.

1) **OBJETIVOS PARTICULARES.**

- Llevar acabo mediante reacciones enzimáticas la degradación de espumas de Poliuretano generados como residuos por distintos usos.
- Utilizar enzimas para la degradación de las espumas de Poliuretano.
- Determinar la enzima que efectúa una mayor degradación en la espuma de Poliuretano mediante espectroscopía infrarroja por transformada de fourier y microscopía electrónica de barrido.

1) GENERALIDADES.

3.1) HISTORIA DEL POLIURETANO.

Desde la primera síntesis de un poliuretano realizada por el Profesor Otto Bayer en el año de 1937 y colaboradores^(6, 7, 8), los poliuretanos han sido muy utilizados en distintas formas, sobre todo en espumas rígidas y flexibles. Hasta mediados de los años 70's debido a su alto costo, los poliuretanos eran considerados materiales de ingeniería por lo que se producían en cantidades relativamente pequeñas. A partir de 1980, la situación cambió debido fundamentalmente a la gran expansión que experimentaron las aplicaciones que precisaban los poliuretanos.

3.1.2) POLIURETANOS.

El término poliuretano incluye a todos a aquellos polímeros que contienen un número significativo de grupos uretano (Figura 1.) no necesariamente repetidos en forma regular. Estos polímeros se obtienen por reacción de poliisocianatos con moléculas que contenga grupos OH reactivos, aunque también pueden producirse reacciones con aminas o grupos carboxílicos. Además de los grupos uretano, un poliuretano típico puede contener grupos hidrocarbonados alifáticos o aromáticos, grupos éster, éter, amida, urea, etc. Por ello los poliuretanos son polímeros muy versátiles, siendo utilizados en gran número de aplicaciones como: elastómeros, recubrimientos, adhesivos, selladores, fibras "spandex", películas, espumas y otros. Las propiedades más relevantes de estos polímeros provienen de la existencia de los grupos uretanos.

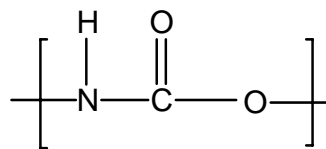


Figura 1. Grupo Uretano.

La preparación de los poliuretanos se realiza mediante la reacción entre un isocianato (R-N-C=O) y un compuesto que contenga grupos hidroxilo (R-OH). Si se utilizan reactivos bifuncionales se obtienen poliuretanos lineales cuya fórmula estructural se muestra en la Figura 2; si se incrementa la funcionalidad de los mismos se forman polímeros con cadenas entrecruzadas, dando lugar a estructuras reticuladas ^(6, 7, 9).

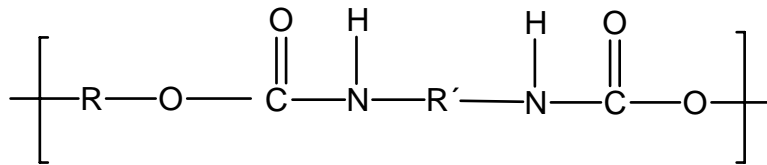


Figura 2. Fórmula estructural de un Poliuretano lineal.

3.1.3) SÍNTESIS DE POLIURETANOS EN LA INDUSTRIA.

En la industria la síntesis de poliuretanos se puede llevar a cabo mediante reacciones con:

◆ **POLIOLES.**

- Poliésteres.
- Poliéteres.

◆ **ISOCIANATOS.**

- Toluendiisocianato (TDI).
- Difenilmetanodiisocianato (MDI).

◆ **EXTENDEDORES DE CADENA.**

- Diol de cadena corta.
- Diaminas.

◆ **CATALIZADORES.**

- Organometálicos
- Aminas terciarias.

3.1.3.1) POLIOLES.

Los polioles más utilizados en la elaboración de poliuretanos son moléculas de tamaño relativamente grandes de peso molecular entre 200-10,000 g/mol, los cuales son bifuncionales. El poliol constituye el 50-80% de la masa del poliuretano, por lo que tiene una influencia notable en las propiedades finales del poliuretano. Los polioles más utilizados en la síntesis de poliuretanos son del tipo poliéster y poliéter.

A) POLIÉSTERES. Los ésteres son compuestos de condensación que se obtienen mediante reacción, reversible, de un ácido carboxílico con un alcohol, con eliminación de una molécula de agua. Esta reacción se muestra en la Figura 3 y se conoce como reacción de esterificación.

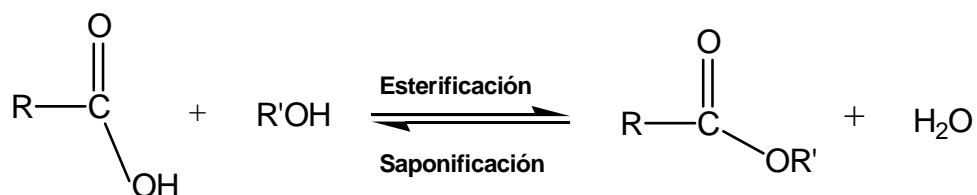


Figura 3. Reacción de esterificación de un ácido carboxílico con un alcohol.

Los poliésteres son moléculas que se obtienen por policondensación de ésteres. Cuando un ácido dicarboxílico $\text{R}(\text{COOH})_2$ reacciona con un glicol con dos grupos terminales $\text{R}'(\text{OH})_2$, se suele obtener un poliéster lineal (Figura. 4), cuyo peso molecular promedio puede llegar a ser cercano a 3000 g/mol.

Los polioles tipo poliéster con grupos hidroxilo terminales utilizados en la elaboración de poliuretanos, generalmente son sintetizados a partir de ácido adípico y un exceso de glicol como etilenglicol, 1,4-butanodiol, 1,6-hexanodiol o neopentilglicol, entre otros.

Las propiedades químicas de estos compuestos están determinadas en gran medida por los grupos hidroxilo terminales. El tipo y funcionalidad de los glicoles, así como el grado de policondensación alcanzado y la densidad de entrecruzamiento, determinan su estado físico y viscosidad.

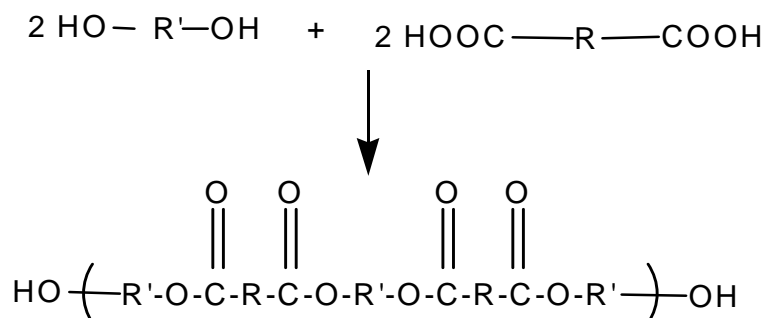


Figura 4. Reacción de policondensación de un ácido dicarboxílico con un glicol.

Otros poliésteres muy utilizados en la síntesis de poliuretanos son las policaprolactonas. Estos poliésteres se obtienen mediante reacción de polimerización de ϵ -policaprolactona con glicoles o trioles (Figura 5.)

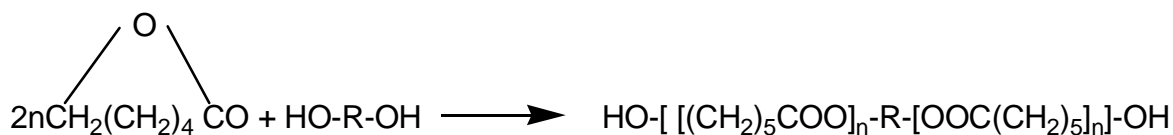


Figura 5. Síntesis de una policaprolactona.

La reacción es rápida y no hay competencia entre los hidroxilos terminales de una cadena y los grupos éster central de la otra. La reacción tiene la ventaja de no producir agua como subproducto. Para la síntesis de poliuretanos se suelen utilizar policaprolactonas lineales de muy variado peso molecular (desde 550 hasta 45000 g/mol).

Estos poliésteres son de especial interés en elastómeros de poliuretanos, espumas microcelulares, revestimientos y adhesivos ⁽⁸⁾.

B) POLIÉTERES. Son polímeros que contienen un grupo éter. Los éteres son considerados como óxidos de radicales alquílicos, su fórmula general viene definida por (R-O-R') y se obtienen por condensación de dos alcoholes con eliminación de agua (Figura 6.).

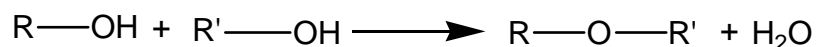


Figura 6. Reacción de policondensación del poliéter.

Algunos de los poliéteres más utilizados en la síntesis de poliuretanos son los glicoles de poli (tetrametilen-éter) y el poli (óxido de propileno).

En general, los poliuretanos obtenidos a partir de poliéteres presentan buena resistencia a la hidrólisis química, así como un buen comportamiento a bajas temperaturas, sin embargo los glicoles de tipo poliéster presentan excelentes propiedades adhesivas y cohesivas además de presentar valores más elevados de resistencia a la tracción y una mejor resistencia al calor.

Por otro lado, los poliéteres son menos reactivos con los isocianatos que los poliésteres, por lo que exigen el uso de catalizadores como el hexacianocobalto de zinc (Zn [Co(CN)₆]₂). Estas cualidades hacen que los glicoles tipo poliéster sean los más utilizados en la elaboración de poliuretanos.

3.1.3.2 ISOCIANATOS.

Los isocianatos se consideran formalmente derivados del ácido isocianico HNCO.

Para la síntesis de los poliuretanos se utilizan diisocianatos (con dos grupos NCO en la molécula), que pueden ser alifáticos o aromáticos, siendo los isocianatos aromáticos los más utilizados, debido a que son más reactivos y baratos.

Los isocianatos de tipo alifático solo se utilizan cuando se requieren productos con propiedades determinadas, por ejemplo, estabilidad mejorada frente a la luz. El primer isocianato alifático comercial fue el hexametilen-1,6-diisocianato (HDI).

El método anteriormente usado para la obtención de isocianatos es la fosgenación de la correspondiente amina primaria (Figura 7.)⁽¹⁰⁾.

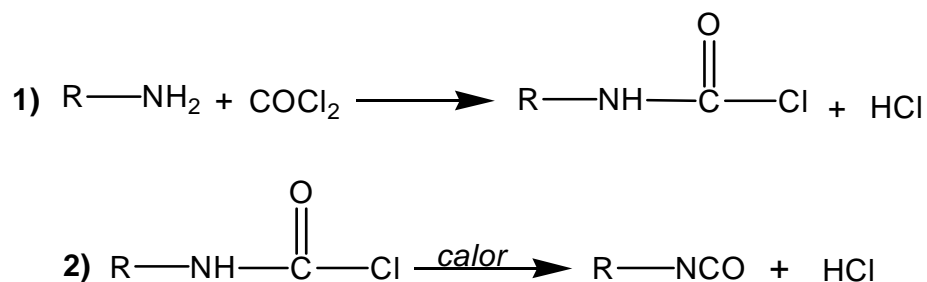


Figura 7. Reacción de fosgenación para la obtención de isocianatos.

Los isocianatos utilizados en la síntesis de poliuretanos son el TDI y el MDI.

A) TDI (Toluendiisocianato). Es un líquido muy reactivo y tóxico que se obtiene a partir del tolueno en sucesivas etapas de nitración, cristalización, reducción y por último fosgenación. El TDI fue el isocianato utilizado por Otto Bayer en la síntesis del primer poliuretano. Se utiliza en la elaboración de espumas flexibles de poliuretano. El producto comercial es un líquido incoloro compuesto por una mezcla 80:20 de los isómeros 2,4 y 2,6 Toluendiisocianato (Figura 8.).

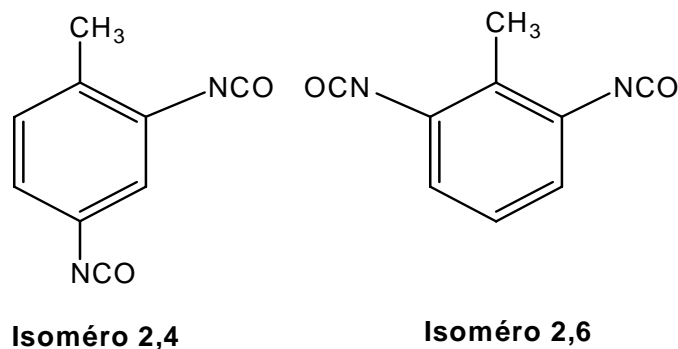


Figura 8. Estructuras de Toluendiisocianato.

El uso del TDI representa problemas debido a su elevada volatilidad y toxicidad. Por ello el isocianato mas utilizado es el MDI, cuya volatilidad es mucho menor, lo cual lo hace mas seguro en su manipulación.

B) MDI (4,4'-Difenilmetanodiisocinato). Se obtiene por condensación de formaldehído y anilina, con posterior fosgenación. El MDI es el isocianato de mayor producción en el mundo al igual que el TDI. Este isocianato en una mezcla consistente en muchas especies químicas; el MDI (Figura 9.), se utiliza en la elaboración de elastómeros de poliuretano de altas densidades.

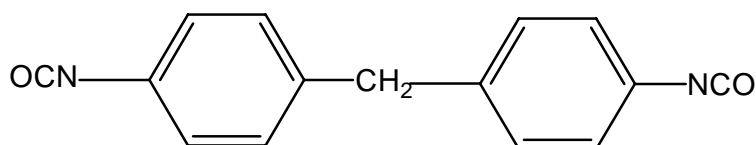


Figura 9. Estructuras de 4,4'-Difenilmetanodiisocianato.

También existe el MDI polimérico o también conocido como 2,4'-difenilmetanodiisocianato (Figura 10.).

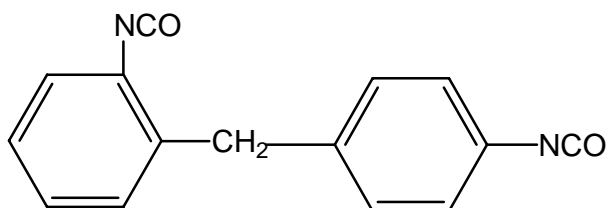


Figura 10. 4,4'-Difenilmetanodiisocianato polimérico.

3.1.3.3 EXTENDEDORES DE CADENA.

Los extendedores de cadena son compuestos que facilitan el crecimiento de las cadenas poliméricas durante la síntesis de los poliuretanos y pueden ser glicoles, agua o aminas.

Los extendedores de cadena más utilizados son glicoles lineales como el etilenglicol, 1,4-butanodiol, 1,6-hexanodiol y el 4,4-metilen-bis-2-cloroanilina (MOCA). Los glicoles ramificados no se utilizan normalmente en la obtención de poliuretanos termoplásticos ya que los polímeros obtenidos no cristalizan y tienen propiedades no deseables.

Para la obtención de poliuretanos lineales se utilizan extendedores de cadena bifuncionales, ya que si se incrementa la funcionalidad de los mismos, se forman poliuretanos con cadenas bien reticuladas. En la Tabla 1 se muestran algunos extendedores de cadena.

Tabla 1. Ejemplos de agentes extendedores de cadena.

| AGENTE EXTENDEDOR. | FÓRMULA. |
|---------------------------|------------------------------|
| Etilenglicol. | $C_2H_4(OH)_2$ |
| Dietilenglicol. | $O(C_2H_4OH)_2$ |
| Propilenglicol. | $C_3H_6(OH)_2$ |
| Dipropilenglicol. | $O(C_3H_6OH)_2$ |
| 1,4-Butanodiol. | $C_4H_8(OH)_2$ |
| Agua. | H_2O |
| Dietanolamina. | $HN(CH_2CH_2OH)_2$ |
| Trietanolamina. | $N(CH_2CH_2OH)_3$ |
| Glicerol | $CH_2OHCHOHCH_2OH$ |
| m-fenilendiamina | $C_6H_4(NH_2)_2$ |
| Toluendietilamina. | $C_6HCH_3(C_2H_5)_2(NH_2)_2$ |

3.1.3.4 CATALIZADORES.

En la síntesis de poliuretanos se utilizan dos tipos de catalizadores (ver Tabla 2.):

- Ⓢ Complejos organometálicos de Sn, Br, Hg, Zn, Fe y Co.
- Ⓢ Aminas Terciarias (triethylamina, triethylendiamina).

En ambos casos, la actividad catalítica es una combinación de efectos electrónicos y estéricos. El efecto electrónico aumenta con la capacidad de la molécula (catalizador) de donar o aceptar electrones. De este modo las aminas terciarias que son bases de Lewis fuertes, son buenos catalizadores. Así mismo, los metales de transición con orbitales electrónicos vacíos también son buenos catalizadores.

Los catalizadores, además de aumentar la velocidad de reacción, pueden modificar el orden de reactividad de los reactivos. Los catalizadores del tipo amina no modifican las reactividades relativas de los isocianatos, sin embargo los complejos de Zinc, Hierro y Cobalto aumentan la reactividad de los isocianatos alifáticos por encima de los isocianatos aromáticos ^(9, 10).

Tabla 2. Ejemplos de catalizadores utilizados en la síntesis de poliuretanos.

| CATALIZADORES (AMINAS TERCIARIAS) | CATALIZADORES (ORGANOMETÁLICOS) |
|----------------------------------------------|--------------------------------------------|
| N,N-Dimetiletanolamina. | Octoato de Estaño. |
| N,N-Dimetilciclohexilamina. | Dilaurato de dibutil estaño |
| N,N-Dimetilbencilamina. | Propionato fenilmercurico. |
| N,N-Dimetilcetilamina. | Acetilacetato Ferrico |
| Diaminobiciclooctano. | Tiocarboxilato de dibutil estaño. |

4) APLICACIONES DEL POLIURETANO.

La versatilidad de los poliuretanos queda demostrada en cinco importantes áreas de aplicación industrial ver Figura 11.

AUTOMOTRÍZ: Como asientos, relleno de interiores para la amortiguación de vibración y ruido, paneles exteriores, volantes, spoilers, alerones, salpicaduras.

MUEBLES: Generalmente las espumas flexibles de poliuretano se utilizan como relleno de colchones, almohadas, cojines y sillones.

CONSTRUCCIÓN: Se utilizan espumas en forma de sándwich entre metales, plásticos o madera. La espuma rígida puede sustituir convencionalmente estructuras de ladrillo, cemento, madera o metal, particularmente cuando se combina con otros materiales de aislamiento como espumas de poliestireno, fibra de vidrio o lana mineral.

AISLAMIENTO TÉRMICO: Se utiliza sin ningún problema la espuma rígida de poliuretano, en aplicaciones para aislamiento térmico de casas, edificios, refrigeradores, transportes con sistema de refrigeración y otras aplicaciones domesticas. La espuma de poliuretano se mezcla con otros materiales como: corcho, madera, fibra de vidrio, lana mineral, espuma de poliestireno, urea formaldehído y fenol formaldehído.

CALZADO: Suelas y algunos materiales sintéticos para muchos tipos de calzado, fueron hechos de poliuretano. Los poliuretanos comenzaron a competir en esta área con materiales que se usaban tradicionalmente para la elaboración de calzado como: cuero, caucho, cloruro de polivinilo y poli (etilen-vinil-acetato). Así como los adhesivos de poliuretano son extensamente usados para la fabricación de zapatos y zapatillas. Los revestimientos de poliuretano son utilizados para mejorar la apariencia y evitar el deterioro del calzado ^(6,9).

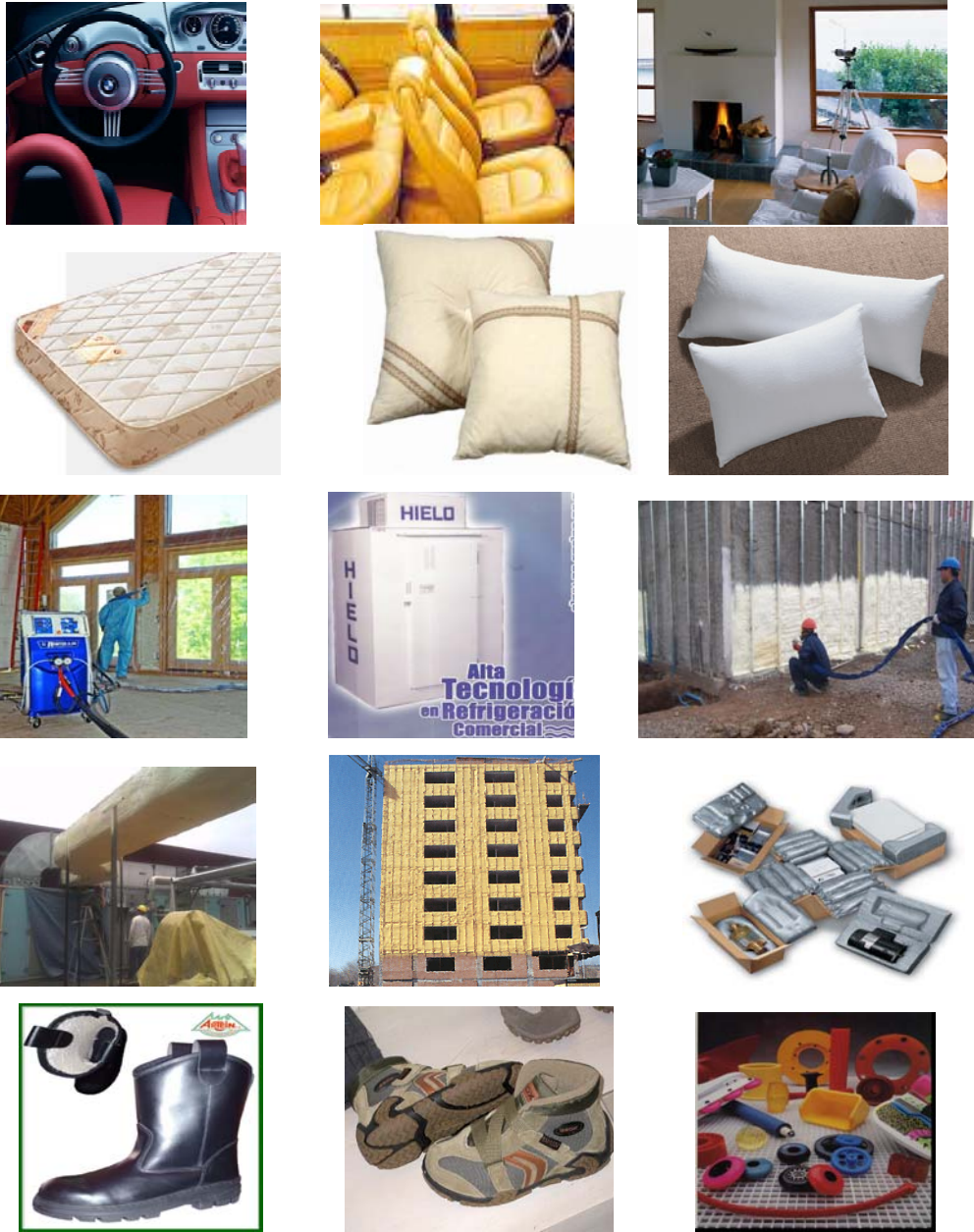


Figura 11. Diversas aplicaciones del poliuretano*.

5) ESPUMAS DE POLIURETANO.

Las espumas de poliuretano (PU) poseen celdas abiertas y/o cerradas (ver Figura 12), son permeables al aire, son reversibles a la deformación y pueden ser producidas con diversas propiedades incluyendo firmeza y resiliencia, ofreciendo características que ningún otro material proporciona, permitiendo diversas aplicaciones, los usos de estos materiales proporcionan comodidad, durabilidad, bajo peso y bajo costo.

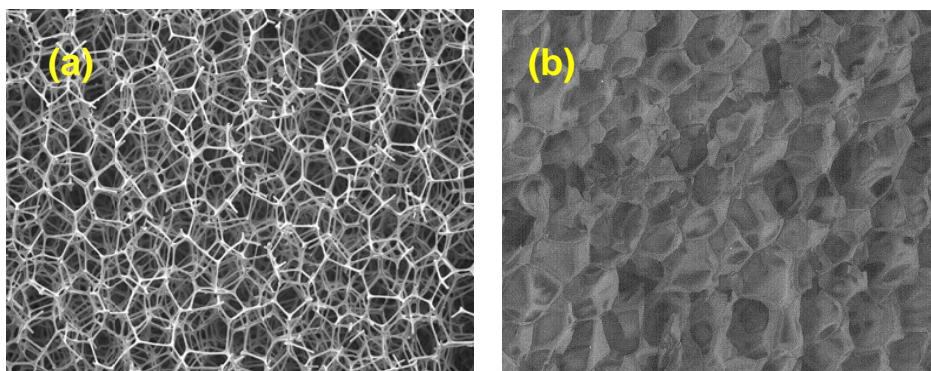


Figura 12. Celdas abiertas (a) y cerradas (b) de las espumas de poliuretano.

La primera producción de este tipo de espumas, basadas en la reacción entre un isocianato aromático y un polioliol tipo poliéster, fue llevada en 1954. Sin embargo, esas espumas no soportaron las condiciones de humedad y temperatura severa a las que fueron sometidas, y para solucionar esto fueron desarrollados los polioliol poliéter, cuyas espumas suministraron mejor durabilidad. Desde entonces ha aumentado el desarrollo de formulaciones para diversas aplicaciones y mayor resistencia ⁽¹¹⁾.

La formación de espumas de poliuretano depende de dos reacciones básicas: la reacción entre el isocianato con el polioliol (gelación) para formar los enlaces uretano y la reacción del isocianato con el agua (soplado) para formar los enlaces urea y desprendimiento de CO₂.

Debe existir un balance entre las dos reacciones, para que la celda sea de una estructura estable y presente buenas propiedades físicas. Este balance se logra con la adición de catalizadores amínicos los cuales ayudan a controlar esas dos reacciones y la adición de un surfactante que homogeniza los componentes de la mezcla ayudando a la nucleación de las burbujas que originan las celdas en la espuma. Además, se adicionan una gran variedad de productos químicos que se utilizan para controlar y modificar tanto la reacción de formación de los poliuretanos, como sus propiedades finales. Estos aditivos incluyen, extendedores de cadena, disolventes, pigmentos, rellenos, antioxidantes, estabilizadores, agentes espumantes (óxido de metileno) y retardantes de flama.

Dependiendo de las familias de materias primas que se utilicen, las espumas de Poliuretanos tienen las siguientes características generales:

Poliolios de base poliéster:

- ◆ Muy buenas propiedades mecánicas.
- ◆ Resistencia a la temperatura y al envejecimiento.
- ◆ Resistencia a los aceites minerales y a gasolinas e hidrólisis química.

Poliolios de base poliéter:

- ◆ Mayor resistencia a la hidrólisis química y a al envejecimiento.
- ◆ Mayor flexibilidad a bajas temperaturas.
- ◆ Resistencia a los microorganismos.

Las espumas de poliuretano según su densidad se puede clasificar en espuma rígida o flexible; la densidad para la espuma rígida va de 30 a 500 kg/m³, y para la espuma flexible va de 10 a 80 kg/m³, de esto depende el uso al que será destinada ^(7, 12).

6) RECICLAJE: “ESPUMA DE POLIURETANO”.

En la actualidad debido a la gran cantidad de residuos existentes de plásticos el reciclado resulta necesario y de gran importancia. Por esta razón, las técnicas de reciclado de poliuretano han evolucionado de forma importante.

Dependiendo del tipo de espuma de poliuretano (de acuerdo a sus propiedades y aplicación), de factores económicos, logísticos y ecológicos, podemos hablar de tres tipos de técnicas de reciclado a emplear:

- **Reciclado mecánico.**
- **Reciclado químico.**
- **Recuperación de energía mediante incineración.**

La viabilidad de cada técnica depende del tipo de poliuretano como ya se menciono así como del uso posterior y de su costo.

➤ El reciclado mecánico se puede llevar a cabo por los siguientes métodos:

- **Adhesión por presión.**
- **Moldeo por compresión.**
- **Espuma flexible injertada.**
- **Pulverización.**

Brevemente se describirán cada uno:

● **Adhesión por presión:** El porcentaje de contenido de residuo en el producto final es muy elevado (en muchos casos llega hasta un 90%) y el proceso consiste en 4 pasos principales que se describen en la Figura 13.

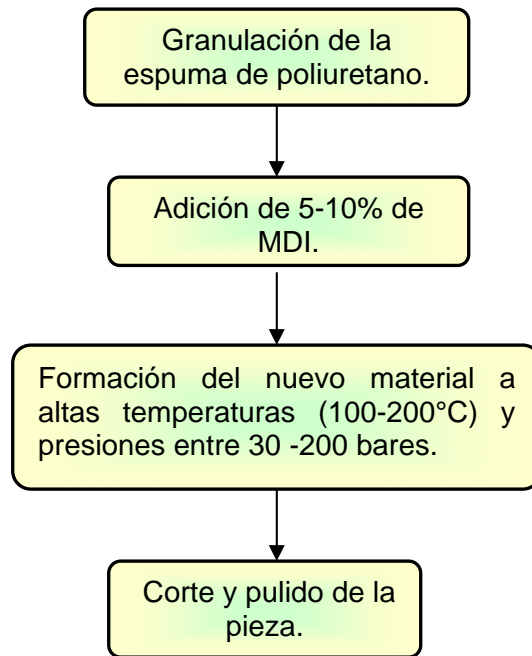


Figura 13. Pasos para el reciclaje mecánico mediante “Adhesión por presión.”

El poliuretano utilizado en este método puede proceder de: espuma empleada en las defensas de los autos, espuma termo formable, poliuretano integrable (volantes), poliuretano empleado en las alfombras de los coches, espuma semi-rígida empelada en paneles de refrigeración.

El material resultante por este método se emplea en: restauración de edificios antiguos (en el caso del poliuretano que proviene en origen de automotriz), muebles para embarcaciones (ya que no les afecta el agua), alfombrado de gimnasios (debido a su elasticidad) y muebles de cocina (en fase de investigación).

● **Moldeo por compresión:** Mediante esta técnica el poliuretano es molido en partículas muy finas y sometido a presiones y temperaturas altas (mayores a 350 bar. y 180-195°C) con objeto de generar un material para aplicaciones automovilísticas. Tanto el molido como la compresión deben ser altamente controladas para cada tipo de aplicación que se desee obtener con este método.

Los materiales resultantes de este método son adecuados para múltiples aplicaciones como asientos de coches, alfombras, etc. Además contiene el 100% del material reciclado.

- **Espuma flexible injertada:** La espuma injertada es un producto moldeado hecho de espuma de poliuretano flexible triturada que se mantiene adherida gracias a un agente injertador.

La relativa alta densidad y excelente resiliencia conseguida con esta técnica la hace adecuada para aplicaciones como descansa brazos, cabezales, aislantes, alfombrado, y muebles de oficina. El proceso consta de 9 pasos:

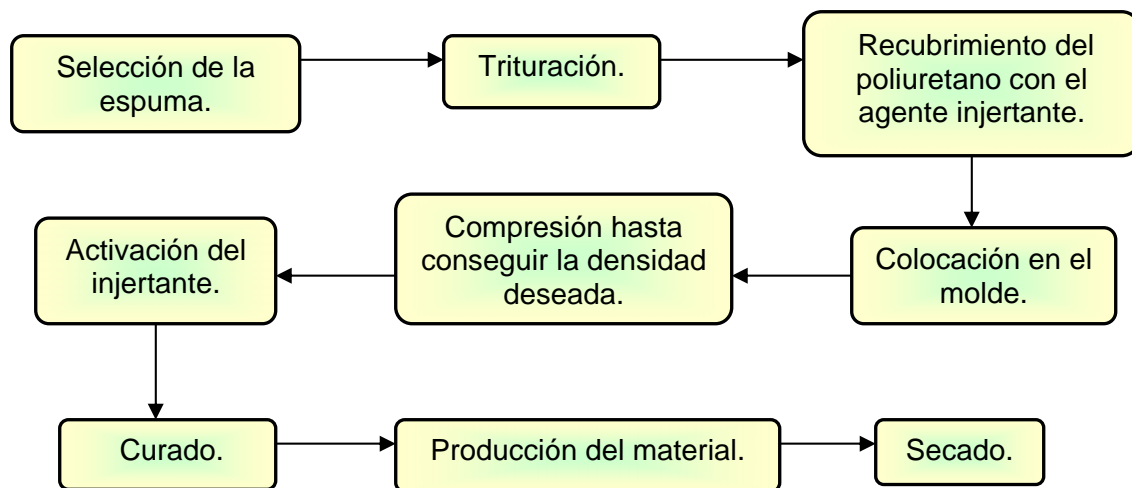


Figura 14. Pasos para el reciclaje mecánico por medio del método “Espuma flexible injertada”.

- **Pulverización:** Este método es extremadamente versátil en un amplio intervalo de aplicaciones del poliuretano. Consiste en la transformación de la espuma en polvo fino (el tamaño de partícula es de 50-200 micras y es alcanzado gracias a 2 cilindros que giran en sentido contrario) que es mezclado con el polioli y usado para la fabricación de nuevos productos de poliuretano. Esta técnica se

emplea para el reciclado de asientos de poliuretano los cuales, (15-20 % de material reciclado) presentan excelentes características, dependiendo del tipo de espuma las propiedades físicas están afectadas en mayor o menor medida.

➡ **Reciclado Químico:** Este reciclado no se utiliza en grandes proporciones hoy en día. Las técnicas se basan en la aplicación de diversos procesos químicos y térmicos que rompen los materiales poliméricos en fracciones de bajo peso molecular.

Las técnicas más empleadas son:

Hidrólisis: La hidrólisis es la reacción de poliuretano con agua y puede producir polioles y aminas. Los polioles recuperados pueden ser usados como combustibles siendo estos muy efectivos, y las aminas pueden ser reusadas para producir otros componentes del poliuretano, como los isocianatos.

Aminólisis: Este método utiliza aminas, presiones bajas y elevadas temperaturas, las aminas empleadas en el proceso son dibutilamina, etanolamina, etc. El desperdicio de poliuretano es disuelto con una solución de hidróxido de sodio a 120°C, de este primer paso se obtienen tres principales productos: polioles, aminas aromáticas y carbamatos. En el segundo paso se obtiene óxido de eteno u óxido de propeno, el cual es usado para convertir las aminas obtenidas a otros derivados.

Glicólisis: Es el método más usado para reciclar espumas rígidas y flexibles de poliuretano. Este método utiliza dioles a temperaturas por encima de 200°C, en esta técnica se recupera el polioliol que contiene el poliuretano, para producir nuevo material de poliuretano. La glicólisis es un proceso basado en una interacción termoquímica entre el poliuretano y compuestos que contienen grupos hidroxilo como son dietilenglicol o dietanolamina.

Pirólisis: Este método consiste en aplicar calor, bajo atmósfera inerte (Nitrógeno), para dar lugar a hidrocarburos líquidos y gaseosos.

Hidrogenación: consiste en aplicar H₂ a altas temperaturas y presiones, dando como resultado la obtención de productos líquidos y gaseosos.

➡ **Recuperación de energía por incineración:**

La incineración es la forma más efectiva de reducir los materiales orgánicos (en volumen) que de otra forma irían a parar a un vertedero. Sin embargo, tiene el problema de que en la misma se genera dióxido de carbono perjudicial para el medio ambiente ya que es responsable del efecto invernadero, además de que en la incineración se desprenden cianuros, cianatos, amoníaco, óxidos de nitrógeno y óxidos de azufre, los cuales terminan contaminando el medio ambiente. Pero si la energía que se genera de esta técnica se emplea se evita el consumo de combustibles fósiles ayudando así a la conservación de los recursos naturales sin aumento adicional de dióxido de carbono.

Se espera que en un futuro la recuperación de energía por incineración sea “ecológica” y factible para que sea una solución responsable desde el punto de vista del medio ambiente en el reciclaje de los residuos de poliuretano, ya que la tecnología ha avanzado a pasos agigantados y asegurara que las emisiones producidas de esta técnica sean controladas ^(13, 14, 15).

7) BIODEGRADACIÓN DE POLIURETANOS CON MICROORGANISMOS.

Desde hace 10 años se sabe que el poliuretano se puede biodegradar.

La biodegradación a diferencia del reciclado, se produce por medios naturales, tales como microorganismos como bacterias u hongos y enzimas.

La biodegradación microbiana de los poliuretanos depende de las propiedades del polímero, como su orientación molecular, cristalinidad, entrecruzamiento y grupos funcionales presentes en la cadena polimérica del mismo.

En la biodegradación de los poliuretanos se pueden utilizar microorganismos como son bacterias del género *Corynebacterium sp.*, *Pseudomona aeruginosa*, *Pseudomona flourescens*, *P. cloruraphis* y *Bacillus subtilis*.

Actualmente existe una bacteria que puede atacar al poliuretano sólido, la cual lleva por nombre *Comamonas acidovorans* TB-35, a recientes fechas se ha descubierto una bacteria que utiliza al poliuretano en forma de barniz como fuente de carbono, y que realmente lo consume, esta bacteria tiene por nombre *Alicyclophilus sp.*

También se están utilizando enzimas de carácter proteolítico (degradación de proteínas) e hidrolítico para degradar el poliuretano.

Las ventajas de utilizar enzimas en las degradaciones en lugar de microorganismos se debe a que algunos de los microorganismos no se pueden desarrollar debido a la alta toxicidad de los contaminantes, y las enzimas son capaces de hidrolizar compuestos altamente tóxicos como por ejemplo la Peroxidasa que degrada fenoles y aminas aromáticas presentes en aguas residuales.

Además de que las enzimas son catalizadores muy activos en medios acuosos y en condiciones muy suaves de temperatura, presión y pH. En cambio para un tratamiento biológico se deben tener en cuenta el tipo y concentración del contaminante, concentración del microorganismo para degradar el contaminante, concentración de nutrientes necesarios para el desarrollo del microorganismo, aireación, temperatura, humedad, pH, presencia de inhibidores y biodisponibilidad

del contaminante (que el contaminante sea la principal fuente de carbono para el microorganismo) ⁽¹⁶⁾.

Y las enzimas se pueden extraer de 3 fuentes importantes:

- ◆ Enzimas de origen vegetal.
- ◆ Enzimas de origen animal.
- ◆ Enzimas producidas por bacterias y hongos.

8) ENZIMAS.

Las enzimas, conocidas como biocatalizadores, son moléculas de gran interés científico ya que determinan la pauta de las transformaciones químicas. Las características más sobresalientes de las enzimas son su poder *catalítico* y su *especificidad*. La catálisis tiene lugar en un centro específico de las enzimas llamado *centro activo*.

La catálisis enzimática presenta dos características: por una parte la enzima no se modifica tras su acción catalítica y por otra la enzima aumenta la velocidad de reacción sin afectar las propiedades termodinámicas del sistema con el que interactúa. Solo unos 5 de los 20 aminoácidos proteinógenos que forman parte de la cadena proteica de una enzima participan directamente en el fenómeno de catálisis, los aminoácidos cisteína, histidina, serina, asparragina, glutamina y lisina contribuyen, a través de determinados grupos funcionales de su molécula, en la catálisis enzimática.

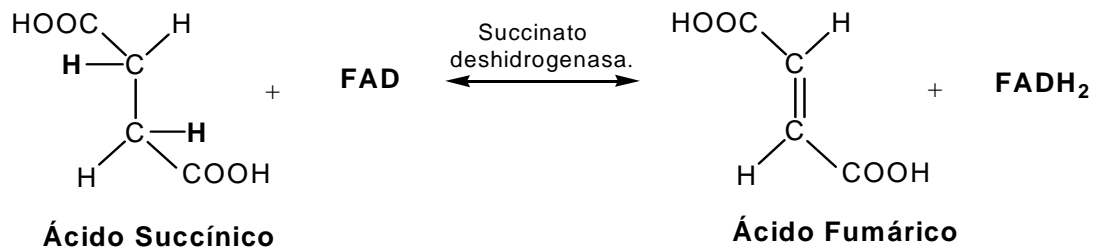
Casi todas las enzimas conocidas son proteínas. Las enzimas son una clase de macromoléculas muy eficientes en catalizar una gran diversidad de reacciones químicas, debido a su capacidad para unirse específicamente a un gran número de moléculas. Valiéndose de fuerzas intermoleculares, las enzimas acercan los sustratos hasta lograr una orientación óptima, siendo este el inicio para establecer o romper enlaces químicos.

Las enzimas aceleran las reacciones multiplicando su velocidad por un millón de veces e incluso más. Estas son altamente específicas, tanto en la reacción que catalizan como en la selección de las sustancias reaccionantes, denominadas sustratos ^(17, 18).

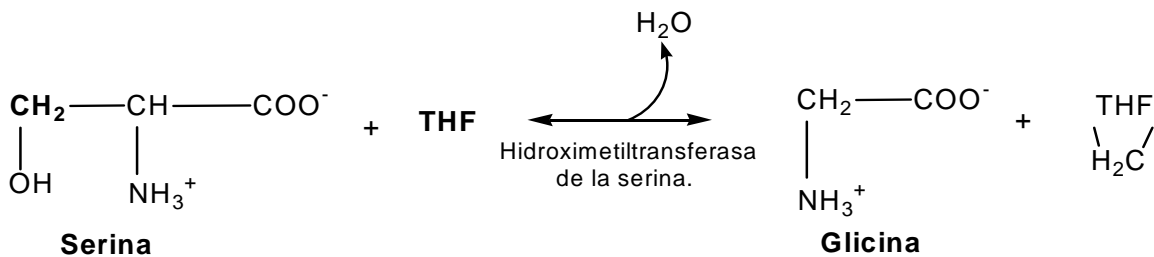
8.1) CLASIFICACIÓN DE LAS ENZIMAS.

La Comisión de Enzimas (EC) de la Unión Internacional de Bioquímica y la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) en el año 1972 dieron una clasificación de las enzimas en 6 grandes grupos, cuyas diferencias se basan en la especificidad de la reacción que catalizan:

Grupo 1- **ÓXIDO-REDUCTASAS:** catalizan reacciones de óxido-reducción o transferencia de hidrógeno o electrones de un sustrato a otro. Existen 14 subclases, entre las cuales destacan las *deshidrogenesas* y las *oxidases*.

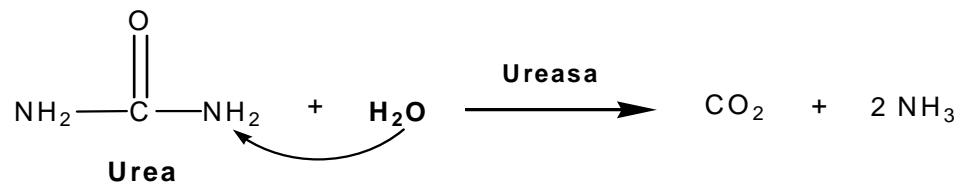


GRUPO 2- **TRANSFERASAS:** Estas enzimas están implicadas en la catálisis de la transferencia de grupos funcionales. Los fragmentos que con más frecuencia son transferidos son grupo amino, acilo, fosfato, glucosilo y monocarbonados.

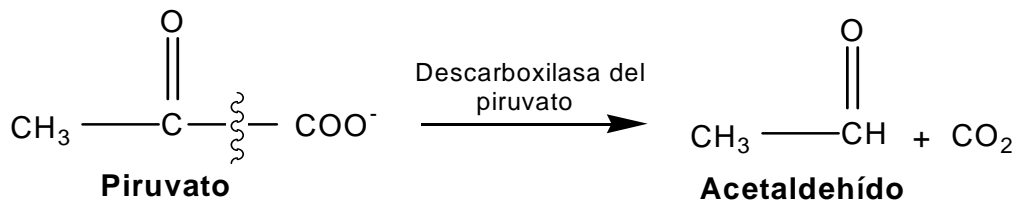


GRUPO 3- HIDROLASAS: Este grupo de enzimas se puede considerar como una clase especial de transferasas en las que el sustrato es roto siendo sus fragmentos transferidos a los componentes del agua (OH y H).

Las reacciones catalizadas por hidrolasas implican la ruptura hidrolítica de enlaces C-O, C-N, O-P, C-C y C-S. Según el enlace que rompen se conocen 9 subclases, siendo las más importantes la *esterasas*, *carbohidrasas*, *amilasas* y *peptidasas*.



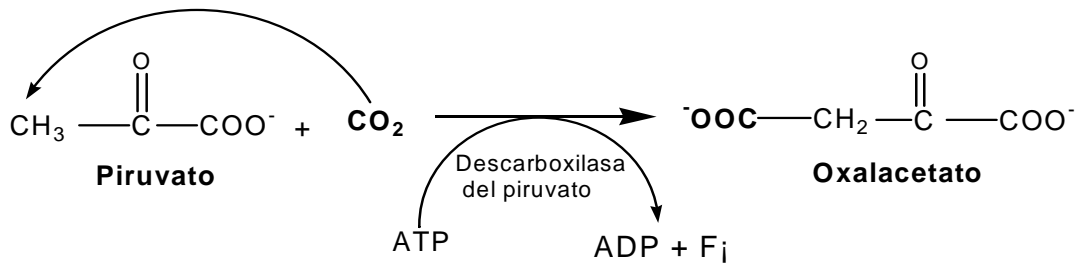
GRUPO 4- LIASAS: Estas enzimas catalizan reacciones en las cuales se rompen enlaces C-C, C-N y C-O, sin intervención de agua y con pérdida de grupos funcionales simultánea a la aparición de dobles enlaces. Dentro de esta clase podemos citar las *desaminasas* y las *descarboxilasas*.



GRUPO 5- ISOMERAZAS: Catalizan reacciones de isomerización.



GRUPO 6- LIGASAS: Catalizan la formación de enlaces entre carbono y oxígeno, azufre y nitrógeno acoplada con hidrólisis de fosfatos de alta energía.



8.1.2 FACTORES QUE AFECTAN LA VELOCIDAD CATALÍTICA DE LA ENZIMA.

- A) **Concentración de sustrato:** la velocidad de la reacción que cataliza una enzima aumenta con la concentración del sustrato hasta que se llega a una velocidad máxima. La nivelación de la velocidad de reacción a concentraciones del sustrato elevadas refleja la saturación con el sustrato de todos los sitios de fijación disponible en las moléculas existentes de la enzima.
- B) **Temperatura:** la velocidad de la reacción aumenta con la temperatura hasta que se llega a una velocidad máxima. Este incremento es el resultado del aumento de moléculas que tienen energía suficiente para sobrepasar la barrera energética y formar los productos de la reacción. Una

elevación superior de la temperatura da por resultado disminución de la velocidad de reacción como consecuencia la desnaturalización de la enzima.

- C) **pH:** la concentración de H^+ afecta la velocidad de la reacción de diversas maneras. En primer lugar, el proceso catalítico suele requerir que enzima y sustrato se encuentren con grupos químicos específicos en estado ionizado a fin de que puedan entrar en interacción. Los extremos del pH pueden dar también por resultado la desnaturalización de la enzima, porque la estructura de la molécula proteínica activa depende desde el punto de vista catalítico del carácter iónico de las cadenas laterales de los aminoácidos.^(19, 20, 21)

8.2) ENZIMA PAPAÍNA.

La papaya es uno de los seis cultivos tropicales que en los últimos años ha sostenido un mayor crecimiento en las zonas costeras. México es el segundo productor y el principal exportador de este fruto desde hace varios años, en el 2002 las exportaciones de papaya redituaron a nuestro país una ganancia de 31 millones de dólares. La razón de que la papaya ha logrado un alto valor comercial es porque de ella se puede extraerse la enzima papaína la cual tiene diversas aplicaciones.

La papaína es una proteasa que se extrae del látex de la papaya (*Carica papaya*). Por su amplia especificidad y gran abundancia esta enzima es uno de los miembros de la superfamilia de las proteasas sulfhidríticas más utilizadas en procesos de la industria alimentaría y farmacéutica.

De manera natural, las proteasa sulfhidríticas se sintetizan como precursores inactivos, que requieren la remoción de un dominio estructural para dar lugar a la enzima activa. Esta enzima es incapaz de readquirir su estructura original una vez que las condiciones del medio que ha hidrolizado la han desplegado.

| | |
|--------------|-------------|
| Fenilalanina | Hidrofóbico |
| Glicina | Hidrofóbico |
| Glutamina | Hidrofílico |
| Histidina | Hidrofílico |
| Isoleucina | Hidrofóbico |
| leucina | Hidrofóbico |
| Lisina | Hidrofílico |
| Prolina | Hidrofóbico |
| Serina | Hidrofílico |
| Tirosina | Hidrofílico |
| Treonina | Hidrofílico |
| Triptofano | Hidrofóbico |
| Valina | Hidrofóbico |

Usos⁺:

- ❖ Industria alimentaria: como ablandador de carne y clarificador de cerveza.
- ❖ Industria farmacéutica: polvo para ayudar al sistema digestivo, inyecciones para aliviar dolores lumbares y el tratamiento de males hepáticos.
- ❖ Curtido de pieles.
- ❖ Fabricación de caucho.
- ❖ Remedios caseros.

* DRENTH J., JANSONIOUS J. N., et al, "The structure of the papain molecule", Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B, Biological Science, 1970 (B 257) 231-236.

+http://www.pncta.com.mx/pages/pncta_investigaciones_04f.asp?page=04e2 (06/Noviembre/2009)

+<http://www.smb.org.mx/XXVICONGRESO/text/Carteles/Lunes> (06/Noviembre/2009)

8.3) ENZIMA UREASA.

La enzima se extrae de las semillas de *Canavalia ensiformis* o frijol de seda, ya que esta semilla es una fuente industrial de ureasa, la cual es utilizada en laboratorios de análisis clínicos como reactivo para determinar las concentraciones de urea.

En su estructura presenta un arreglo bipiramidal trigonal, el sitio activo esta compuesto por un dímero de Ni (II) de alto spin, su geometría de coordinación es octaédrica distorsionada* ver Figura16.

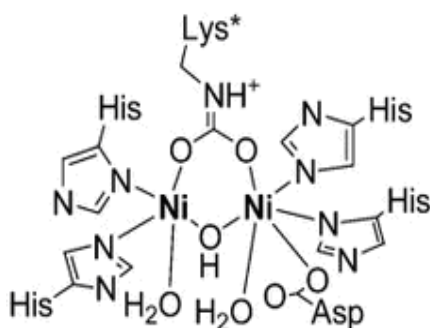


Figura 16. Estructura molecular de la Enzima Ureasa*.

Esta enzima pertenece al grupo de las hidrolasas, contiene en su estructura grupos amida, además contiene 3 de los 20 aminoácidos más importantes, los cuales se describen a continuación:

***Aminoácidos que componen la estructura de la enzima Ureasa.**

| AMINOÁCIDO | TIPO DE AMINOÁCIDO |
|------------|--------------------|
| Asparagina | Hidrofílico |
| Histidina | Hidrofílico |
| Lisina | Hidrofílico |

+ <http://al-quimicos.blogspot.com/2007/05/ureasa-primera-enzima-en-ser.html> (06/Noviembre/2009).

8.4) ENZIMA ESTERASA.

Las [esterasas](#) representan un amplio grupo de hidrolasas que catalizan hidrólisis de enlaces del tipo ésteres carboxílicos, amidas, ésteres de fosfato, etc., ver Figura 17, esta enzima se extrae del hígado de conejo.

El interés de estas enzimas reside en el factor que ellas no requieren cofactores, son estables y están a menudo activas en disolventes orgánicos*.



Figura 17. Estructura química de un éster hidrolizado por la enzima Esterasa.*

Usos:

Las esterasas tienen también especial importancia a nivel industrial, y esta radica en que como hidrolizan grasas y aceites, son en ocasiones diseñadas para su uso en sistemas alimenticios tales como el queso modificado enzimáticamente.

Este grupo de esterasas presentan aplicación industrial principalmente en la producción de: biocombustibles, alimentos, textiles, papel, agricultura y farmacéutica.

Un ejemplo de Esterasas comerciales:

ENZECO® ESTERASE / LIPASE, con actividad esterásica principalmente, hidroliza triglicéridos y produce niveles altos de ácidos grasos de cadena corta, minimizando la producción de ácidos grasos de cadena larga*.

Cabe mencionar que también existe otra fuente de ureasa como lo es el Fríjol de Soya (*Glycine max*) y esto se ha comprobado con la reacción de catálisis de la urea, utilizando el extracto que se obtiene del fríjol de soya ^(A).

La soya es un fríjol o una legumina originaria de china. Sin embargo, hoy en día este fríjol es popular en todo el mundo. Se cultiva tanto en México como en Brasil.

La composición del fríjol de soya es*:

- ◆ Proteína 40%: conteniendo aminoácidos como la histidina, isoleucina, leucina, cistina, fenilalanina, tirosina, treonina, triptofano, valina y lisina en una alta concentración.
- ◆ Grasa 20%.
- ◆ Hidratos de carbono 25%: sacarosa, rafinosa y estaquinosa.
- ◆ Agua 10%.
- ◆ Cenizas 5%.
- ◆ Minerales: calcio, magnesio, fosforo, cobre y hierro.
- ◆ Vitaminas.

*[http://recursostic.javeriana.edu.co/wiki/index.php/Bioinform%C3%A1tica de Esterasas](http://recursostic.javeriana.edu.co/wiki/index.php/Bioinform%C3%A1tica_de_Esterasas)(06/Noviembre/2009)

+<http://www.yerbasana.cl?a=138> (06/Noviembre/2009)

(A) MAELOR DAVIER H. and SHIH Lui-Mei, "UREASE FROM LEAVES OF GLICINE MAX AND ZEA MAYS", *Phytochemistry*, 1984, (vol. 23), pp 2741-2745,

9) DESARROLLO EXPERIMENTAL.

Material.

- vasos de precipitados de 100 mL
- vasos de precipitados de 50 mL
- probeta de 100mL
- Termómetro 5-200°C.
- Pinzas de disección.
- matraces aforados de 100 mL
- vidrio de reloj
- agitador de vidrio
- tubos para medio de cultivo de 16x150 “Kimax”
- pipetas volumétricas de 10 mL.
- pipetas volumétricas de 5 ml.
- pipetas volumétricas de 1 mL.

Equipo.

- parrilla de calentamiento con agitación.
- sistema de calentamiento con 4 lámparas de 40 W, con capacidad para 10 tubos de medio de cultivo de 16x150.
- reóstato.
- agitadores magnéticos.
- mecheros fisher con mangueras para gas.
- autoclave.
- Espectrofotómetro de infrarrojo “**PERKIN ELMER FT-IR**” Spectrometer, Spectrum RX I*.
- Microscopio electrónico de barrido “**JOEL**” JSM-5900LV*
- pH-metro “Conductronic PC18”, rango de 0 a 14 pH.
- Balanza analítica.

*Ver Anexo 1 y 2.

Reactivos.

- Residuos de espuma de poliuretano de distintos usos.
- Hidróxido de sodio (NaOH), J.T. Backer, grado analítico, pureza 98.0%
- Ácido cítrico (C₆H₈O₇), J.T. Backer, grado analítico, pureza 99.0-100.2%
- Fosfato dibásico de sodio (Na₂HPO₄) J.T. Backer, grado analítico, pureza 99.0%
- Fosfato monobásico de potasio (KH₂PO₄) J.T. Backer, grado analítico, pureza 99.0%
- Agua destilada
- Agua desionizada
- Ácido clorhídrico concentrado (HCl). J.T. Backer, grado analítico, pureza 99.0%
- Ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄). J.T. Backer, grado analítico, pureza 98.08%
- Ácido nítrico concentrado (HNO₃). J.T. Backer, grado analítico, pureza 69.0-70.0%
- Hidróxido de amonio concentrado (NH₄OH). J.T. Backer, grado analítico, pureza 28-30%
- Aceite mineral
- Benceno (C₆H₆.) J.T. Backer, grado analítico, pureza 99.0%
- Tolueno (C₇H₈.) J.T. Backer, grado analítico, pureza 99.5%
- Clorobenceno (C₆H₅Cl.) J.T. Backer, grado analítico, pureza 99.0%
- Metanol (CH₃OH.) J.T. Backer, grado analítico, pureza 99.8%
- Etanol (CH₃CH₂OH.) J.T. Backer, grado analítico, pureza 99.0%
- Acetona (CH₃COCH₃.) J.T. Backer, grado analítico, pureza 99.3%

- Cloruro de Metileno (CH_2Cl_2 .) J.T. Backer, grado analítico, pureza 99.5%
- Cloroformo (CHCl_3 .) J.T. Backer, grado analítico, pureza 99.8%
- Enzima Papaína. SIGMA (Aldrich), grado analítico.
- Enzima Ureasa. SIGMA (Aldrich), grado analítico
- Enzima esterasa. SIGMA (Aldrich), grado analítico
- Enzima Papaína extracto fresco obtenida en el laboratorio.
- Enzima Ureasa extracto fresco obtenida en el laboratorio.

9.1) DESCRIPCIÓN FÍSICA Y QUÍMICA DE LAS MUESTRAS ANTES DEL TRATAMIENTO DE DEGRADACIÓN.

Las muestras A, B y C antes de ser sometidas a la degradación se caracterizan mediante pruebas fisicoquímicas para observar su comportamiento.

🗑️ Muestra “A” (espuma de PU de desecho que fue usado como aislante en refrigerador):

La espuma de poliuretano (PU) presenta un color amarillento muy ligero, no deja residuos al tocarla, es compacta y rígida, resistente a la presión y no se deforma, presenta residuos de pegamento y tierra adheridos a ella ver Figura 18.



Figura 18. Muestra “A” espuma de PU usada como aislante en refrigeradores.

🗑️ Muestra “B” (espuma de PU de desecho que fue usado como aislante en refrigerador):

La espuma de poliuretano (PU) presenta un color blanquecino, no deja residuos al tocarla, es compacta y rígida, resistente a la presión y no se deforma, presenta residuos de pegamento y tierra adheridos a ella ver Figura 19.



Figura 19. Muestra “B” espuma de PU usada como aislante en refrigeradores.

🗑️ Muestra “C” (espuma de PU de desecho que fue usada como almohadilla de embalaje):

La espuma de poliuretano (PU) presenta un color blanquecino, no deja residuos al tocarla, es porosa y suave, no es resistente a la presión y se deforma, pero si regresa a su estado inicial, presenta residuos de pegamento adheridos a ella ver Figura 20.



Figura 20. Muestra “C” espuma de PU usada como almohadilla de embalaje.

Prueba de solubilidad: en tubos de ensaye colocar un pequeño trozo de espuma de poliuretano (muestra A) y adicionar aproximadamente 2 mL, de hidróxido de sodio, ácido clorhídrico concentrado (HCl), ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄), ácido nítrico concentrado (HNO₃), hidróxido de amonio concentrado (NH₄OH), aceite mineral, benceno (C₆H₆.), tolueno (C₇H₈.), clorobenceno (C₆H₅Cl.), metanol (CH₃OH.), etanol (CH₃CH₂OH.), acetona (CH₃COCH₃.), cloruro de metileno (CH₂Cl₂.) y cloroformo (CHCl₃.), en cada uno de los tubos y observar su comportamiento durante 25 días, repetir este procedimiento con las muestra B y C.

Prueba de combustión: sujetar un pequeño trozo de la espuma de poliuretano (muestra A) con unas pinzas de disección y exponerla a la llama, observar su comportamiento mientras arde. Realizar este procedimiento para las muestras B y C.

9.2) PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS PARA SU DEGRADACIÓN.

Antes de la degradación las muestras se prepararon de la siguiente forma:

1. Las espumas de poliuretano (PU) inicialmente se limpian con una navaja, desprendiendo los residuos de pegamento y polvo que están adheridos a ella.
2. Se corta la espuma de poliuretano (PU) obteniendo tiras muy delgadas, para lograr una mayor superficie de contacto en el medio que contiene la enzima ver Figura 21.



Figura 21. Espumas de poliuretano (PU) limpias y listas para la degradación.

9.3) PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE REACCIÓN (SOLUCIONES BUFFER DE FOSFATOS A DIFERENTES pH's).

- Pesar la cantidad necesaria de $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ para preparar 100 mL de solución a pH: 5, 6, 7 y 8.
- Pesar la cantidad necesaria de $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$ para preparar 100 mL de solución a pH: 5, 6, 7 y 8.
- Pesar la cantidad necesaria de $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{ácido cítrico}$ para preparar 100 mL de solución a pH: 6, 7.

Esterilizar los tubos de ensaye para medio de cultivo de 16x150, pipetas de 5 y 10 mL, frascos de vidrio de 100 mL y soluciones amortiguadoras de pH: 5, 6, 7 y 8, en la autoclave a las siguientes condiciones 20 min., 15 lb a 121°C.

9.4) PROCEDIMIENTO PARA LA DEGRADACIÓN ENZIMÁTICA DE ESPUMAS DE POLIURETANO DE DESECHO GENERADAS POR DISTINTOS USOS.

Degradación con enzima Papaína:

- 1) Pesar la cantidad necesaria de la enzima PAPAÍNA y adicionarla en 100 mL de solución Buffer de Fosfatos pH: 6, en condiciones de esterilidad.
- 2) En un tubo de cultivo estéril, adicionar 15 mL. de solución Buffer de Fosfatos de pH: 6 con la enzima, posteriormente colocar la espuma de poliuretano de desecho y tapar el tubo (realizar este procedimiento en condiciones de esterilidad)*.
- 3) Mantener el tubo a 60°C y agitación constante por 15 días. Después del término de reacción, inactivar la enzima PAPAÍNA, separar la espuma de poliuretano de desecho de la solución amortiguadora.
- 4) Enjuagar la espuma y secarla para que quede libre de agua para su análisis posterior.

Degradación con enzima Ureasa:

- 1) Pesar la cantidad necesaria de enzima UREASA y adicionarla en 100 mL de solución Buffer de Fosfatos de pH: 8, en condiciones de esterilidad.
- 2) En un tubo de cultivo estéril, adicionar 15 mL. de solución Buffer de Fosfatos de pH: 8 con la enzima, posteriormente colocar la espuma de poliuretano de desecho y tapar el tubo (realizar este procedimiento en condiciones de esterilidad)*.
- 3) Mantener el tubo a 25°C y agitación constante por 15 días. Después del término de reacción, inactivar la enzima UREASA, separar la espuma de poliuretano de desecho de la solución amortiguadora.
- 4) Enjuagar la espuma y secarla para que quede libre de agua para su análisis posterior.

- 5) Seguir los pasos anteriores para el Extracto Etanólico/Frijol de Soya y el Extracto Acetona/Frijol de Soya.

**** realizar este procedimiento para las muestra A, B y C.***

Nota: Para los extractos Ureasa etanol y acetona, después de haberlo adicionado; medir nuevamente el pH de la solución Buffer y ese será el nuevo pH de trabajo.

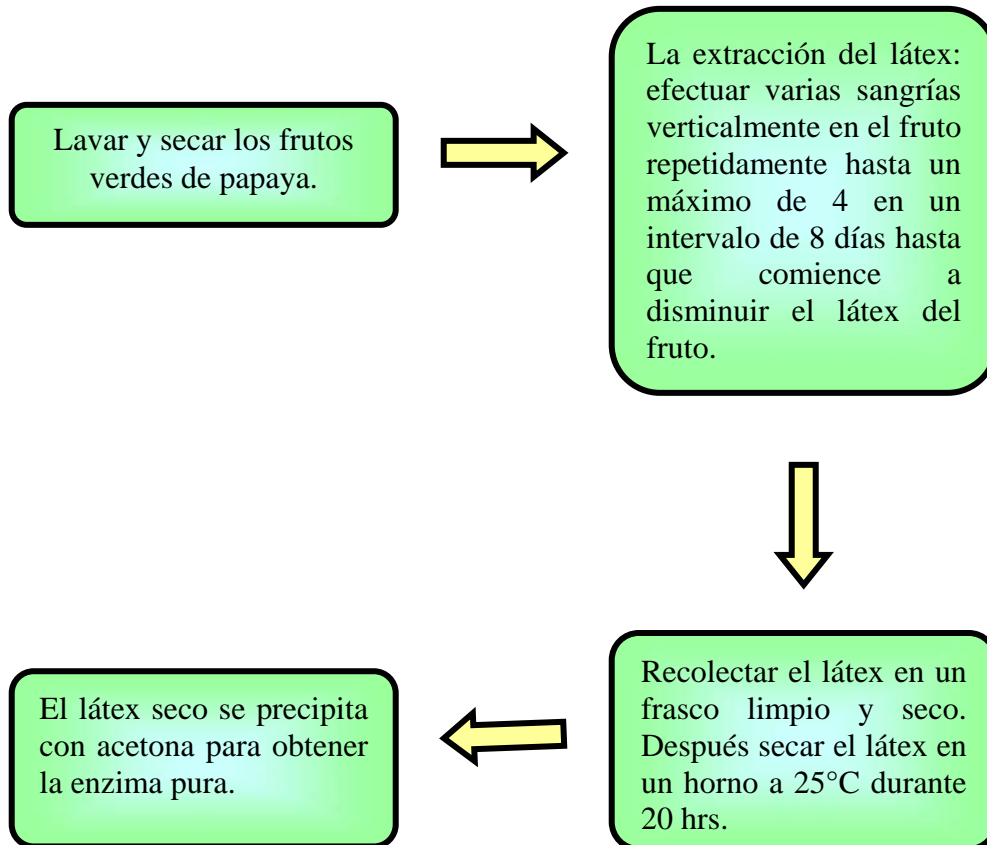
Degradación con enzima Esterasa:

- 1) Pesar la cantidad necesaria de enzima ESTERASA y adicionarla en 100 mL de solución Buffer de Fosfatos de pH: 8, en condiciones de esterilidad.
- 2) En un tubo de cultivo estéril, adicionar 15 mL. de solución Buffer de fosfatos de pH: 8 con la enzima, posteriormente colocar la espuma de poliuretano de desecho y tapar el tubo (realizar este procedimiento en condiciones de esterilidad)*.
- 3) Mantener el tubo a 25°C y agitación constante por 15 días.
- 4) Después del término de reacción, inactivar la enzima ESTERASA, separar la espuma de poliuretano de desecho de la solución amortiguadora.
- 5) Enjuagar la espuma y secarla para que quede libre de agua para su análisis posterior.

**** realizar este procedimiento para las muestra A, B y C.***

Además se realizó la caracterización antes de la degradación para las muestras A, B y C, por medio de la Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR), para identificar los grupos funcionales, característicos de una espuma de poliuretano.

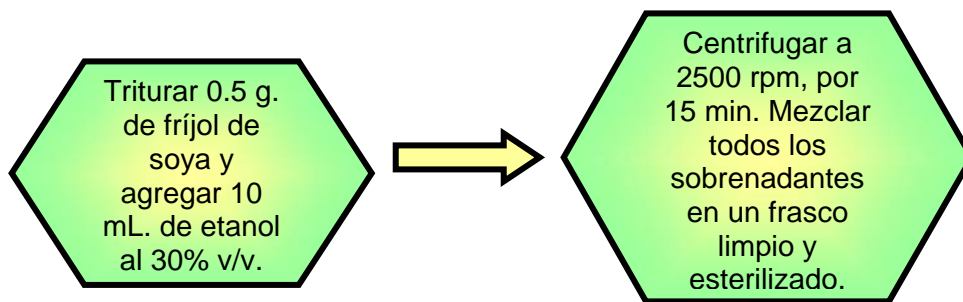
9.5) EXTRACCIÓN DE PAPAÍNA A PARTIR DE FRUTOS VERDES DE PAPAÑA.



Ver Anexo 4.

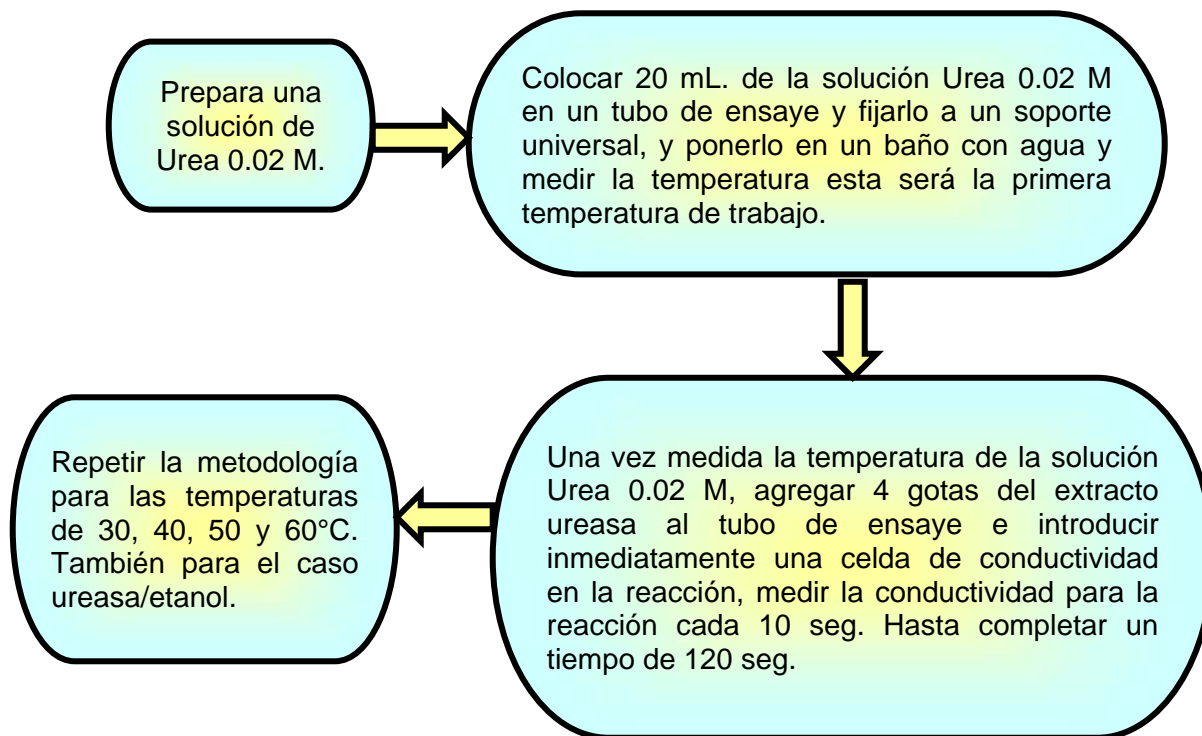
NITSAWANG Sarote, HATTI-KAUL Rajni, et al. "Purification of papain *Carica papaya* latex: Aqueous two-phase extraction versus two-step salt precipitation. *Enzyme and Microbial Technology*, Thailand, 2006, 39, 1103-1107.

9.6) EXTRACCIÓN DE UREASA A PARTIR DE FRÍJOL DE SOYA SECO.



**Realizar la extracción con acetona al 30% v/v, y repetir los pasos anteriores.*

9.7) CINÉTICA DE ENZIMÁTICA PARA EL EXTRACTO UREASA/ETANOL FRÍJOL DE SOYA.



Ver Anexo 5.

10) CARACTERÍSTICAS Y CONDICIONES DE REACCIÓN PARA CADA UNA DE LAS ENZIMAS EN ESTUDIO.

| NOMBRE COMERCIAL. | ENZIMAS. | FUENTE. | TEMPERATURA ÓPTIMA DE REACCIÓN °C. | PH ÓPTIMO. |
|------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|----------------------------------------|-----------------------------------------------------------|-------------------|
| Papaína reactivo analítico y extracto fresco obtenido en el laboratorio. | Proteasa | Látex de papaya. | 60 | 6 |
| Ureasa reactivo analítico. | Hidrolasa | <i>Canavalia ensiformis.</i> | 25 | 8 |
| Ureasa extracto fresco obtenido en el laboratorio. | Hidrolasa | Frijol de soya. (<i>Glycine max</i>) | Extracto Etanólico: 40, 50. Extracto Acetona: 21.9, 30 | 8 |
| Esterasa reactivo analítico. | Hidrolasa | Hígado de conejo. | 25 | 8 |

11) RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Tabla 3. Resultados de la estabilidad química de las espumas de poliuretano en diferentes medios. (Comportamiento después de 20 días a 25°C)

| PRODUCTOS QUÍMICOS | MUESTRA "A" | MUESTRA "B" | MUESTRA "C" |
|---------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| Álcalis y Ácidos. | | | |
| HCl concentrado. | Se hincha la espuma. | Se hincha la espuma. | Se hincho la espuma. |
| H ₂ SO ₄ concentrado. | Se solubiliza por completo la espuma y cambia de color, de amarillo a naranja. | Se solubiliza por completo la espuma dándole al ácido una coloración mas amarilla en las 3 primeras horas aproximadamente, en los días siguientes cambio por completo a color café intenso. | La espuma es atacada y se observan pequeñas redes de espuma de poliuretano de color naranja. |
| HNO ₃ concentrado. | La espuma es atacada y cambia de coloración de amarillo a café. | La espuma es atacada y cambia de coloración de amarillo claro a verde claro. | La espuma es atacada y cambia de color blanco a verde-café. |
| NaOH concentrado | Estable. | Estable. | Estable. |
| NH ₄ OH concentrado | Se hincha la espuma. | Se hincha la espuma. | Se hincha la espuma. |
| Hidrocarburos alifáticos. | | | |
| Aceite mineral | Estable. | Estable. | Se hincho la espuma. |

| | | | |
|----------------------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|
| Hidrocarburos aromáticos. | | | |
| C_6H_6 . | Estable. | Estable. | Estable. |
| C_7H_8 . | Estable. | Estable. | Estable. |
| C_6H_5Cl . | estable | Estable. | Estable. |
| Disolventes orgánicos. | | | |
| CH_3CH_2OH . | Se hincha la espuma. | Se hincha la espuma. | Se hincha la espuma. |
| CH_3OH . | Estable. | Estable. | Se hincha la espuma. |
| CH_3COCH_3 . | Estable. | Estable. | Se hincha la espuma. |
| CH_2Cl_2 . | La espuma es atacada. | Se hincho la espuma. | La espuma es atacada. |
| $CHCl_3$. | Se hincha la espuma. | Se hincho la espuma. | La espuma es atacada. |

Tabla 4. Resultados de la prueba de combustión para cada una de las Muestras.

| TIPO DE MUESTRA | OBSERVACIONES. |
|-----------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| MUESTRA "A" | Arde muy fácilmente, se mantiene la llama aproximadamente 5 seg. , el color de la llama es amarillo, desprende humo color negro de olor acre muy intenso al apagarse, deja un residuo color negro y muy poroso que se deshace muy fácilmente. |
| MUESTRA "B" | Arde muy fácilmente y rápido, se mantiene la llama por largo tiempo, el color de la llama es amarillo, desprende humo color blanco de olor acre al apagarse, no deja residuo. Prácticamente se consume en su totalidad la espuma. |
| MUESTRA "C" | Arde muy fácilmente y rápido, se mantiene la llama, el color de la llama es anaranjado, desprende humo color blanco de olor acre muy intenso al apagarse, deja un residuo grande y duro de color negro-café. |

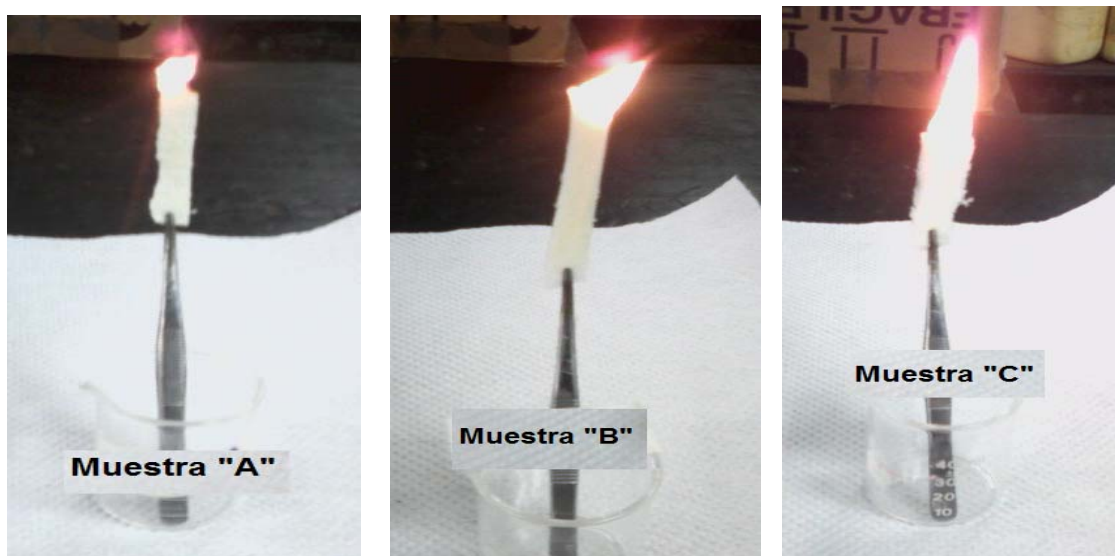


Figura 22. Pruebas de combustión para las Muestras "A, B y C".

Antes de ser sometidas a la degradación a las muestras se le realizaron pruebas fisicoquímicas de las cuales se puede mencionar que las muestra A y B presentaban un color amarillento, esto se debe a que estaban expuestas al sol, ya que estas espumas fueron recolectadas de la basura, la resistencia a la presión que presentaban estas dos muestras nos dan información de que se trata de una espuma rígida.

Para la muestra C, no presenta ningún cambio de color ya que como se observa en la Figura 18, esta espuma estaba cubierta por una bolsa de polietileno así que no había forma de ser afectada por la luz, su poca resistencia a la presión nos da información de que se trata de una espuma flexible.

Después de haber realizado las pruebas de solubilidad y combustión para cada una de las muestras, se demostró que el comportamiento que tuvieron las espumas de poliuretano, son iguales a las reportadas en la literatura⁽¹⁰⁾, es decir que son resistentes a ácidos diluidos, bases diluidos e hidrocarburos alifáticos, no son resistentes a ácidos concentrados, son resistentes al hinchamiento o encogimiento en un largo periodo de tiempo, con respecto al comportamiento a la combustión, estas espumas arden fácilmente y la llama se mantiene, se descompone y/o puede dejar residuos, el color de la llama suele ser amarilla o naranja. (Las características de combustión están definidas por el uso o riesgo al que es expuesta la espuma de poliuretano).

Las muestras también fueron analizadas por Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier y Microscopia Electrónica de Barrido (MEB) antes de ser sometidas a la degradación, los resultados de la Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (EIRTF) para las muestras A, B y C, mostraron las bandas características del poliuretano como son: vibraciones de los metilenos en la región 2700-3100 cm^{-1} , vibraciones de grupo del tipo N-H en la región 3350-3310 cm^{-1} , vibraciones del carbonilo en la región 1700-1740 cm^{-1} (22, 23, 24, 25), ver Figuras 23, 24 y 25 de las muestras A, B y C respectivamente.

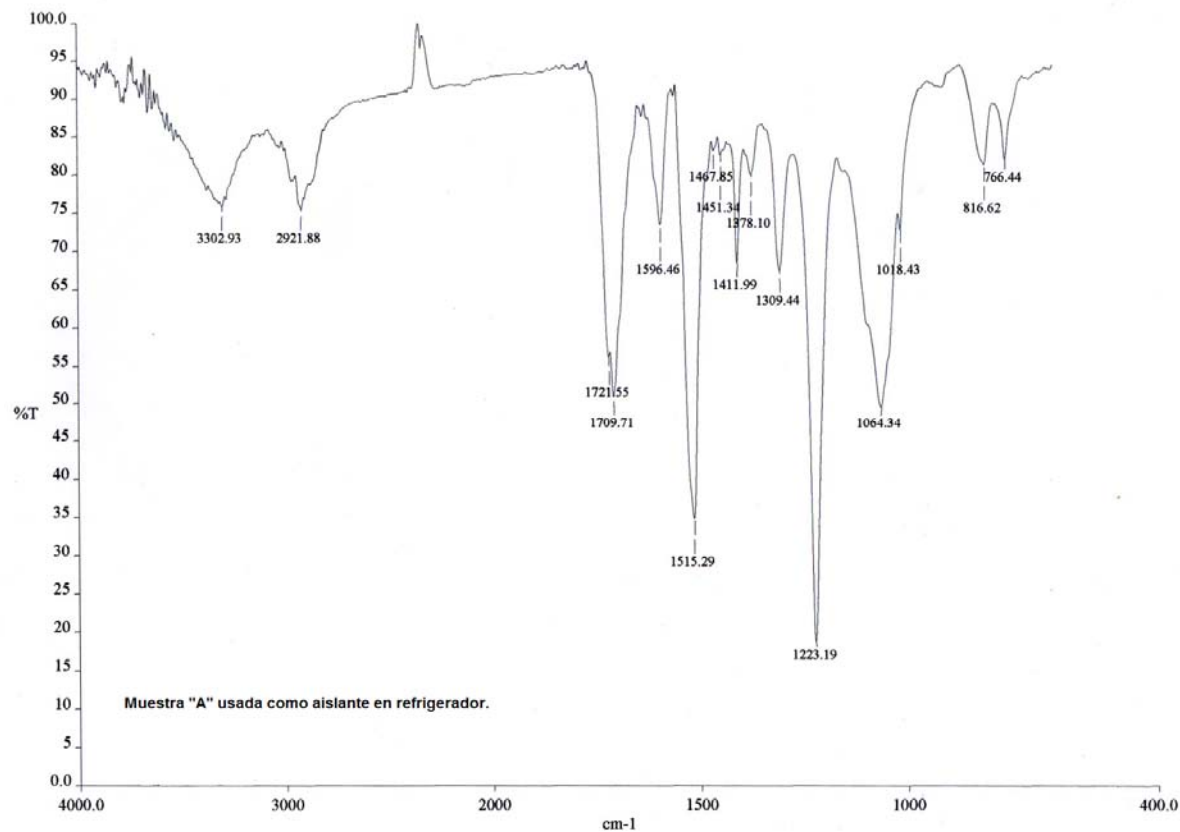


Figura 23. Espectroscopía de IRTF de la Muestra “A” usada como aislante en refrigerador, sin ser sometida a ningún tratamiento.

Tabla 6. Análisis funcional para la Muestra “A” usada como aislante en refrigerador, sin ser sometida a ningún tratamiento.

| GRUPO FUNCIONAL. | AMPLITUD DE BANDA CM. ⁻¹ | MUESTRA “A” |
|--------------------------------|----------------------------------------|-------------|
| v Metilenos (CH ₂) | 2700-3100 | 2921.88 |
| N-H | 3350-3310 | 3302.93 |
| C=O | 1700-1740 | 1709.71 |
| Compuesto aromático | Aprox. 1600 | ----- |

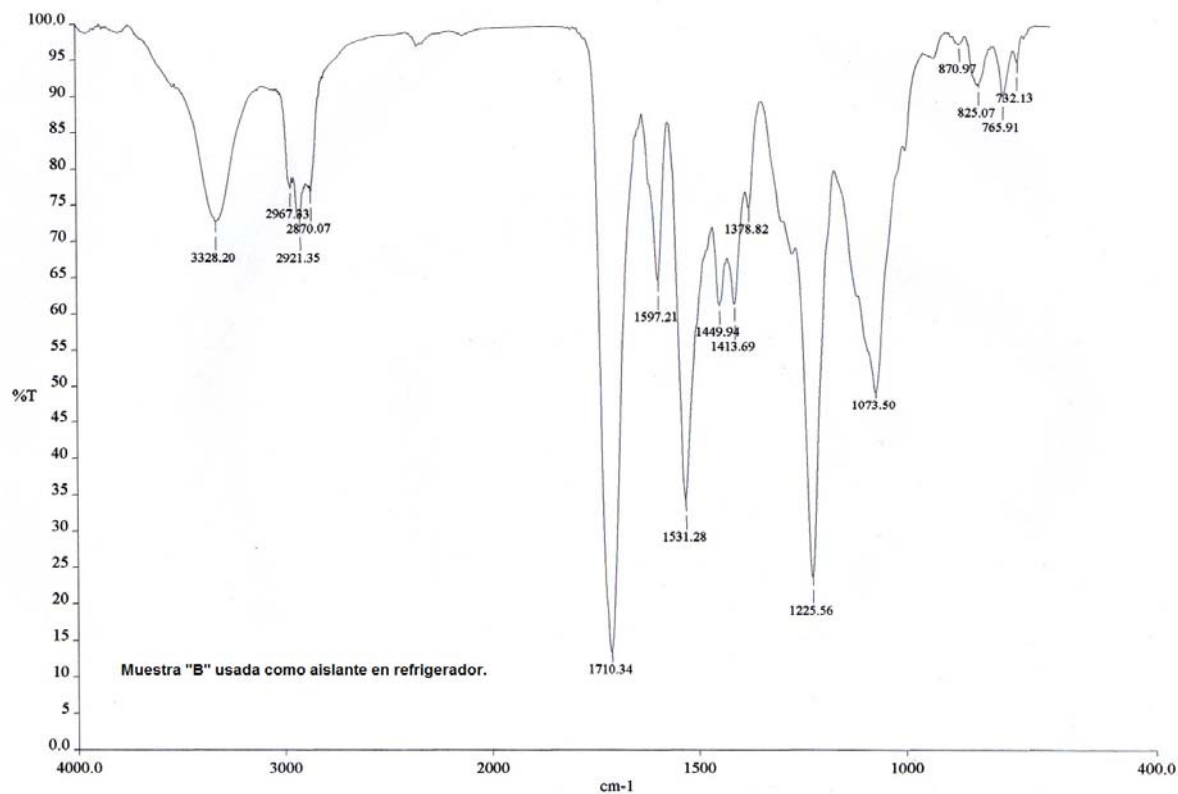


Figura 24. Espectroscopía de IRTF de la Muestra “B” usada como aislante en refrigerador, sin ser sometida a ningún tratamiento.

Tabla 7. Análisis funcional para la Muestra “B” usada como aislante en refrigerador, sin ser sometida a ningún tratamiento.

| GRUPO FUNCIONAL. | AMPLITUD DE BANDA CM. ⁻¹ | MUESTRA “B” |
|--------------------------------|----------------------------------------|-------------|
| v Metilenos (CH ₂) | 2700-3100 | 2870.07 |
| | | 2921.35 |
| | | 2967.33 |
| N-H | 3350-3310 | 3328.20 |
| C=O | 1700-1740 | 1710.34 |
| Compuesto aromático | Aprox. 1600 | ----- |

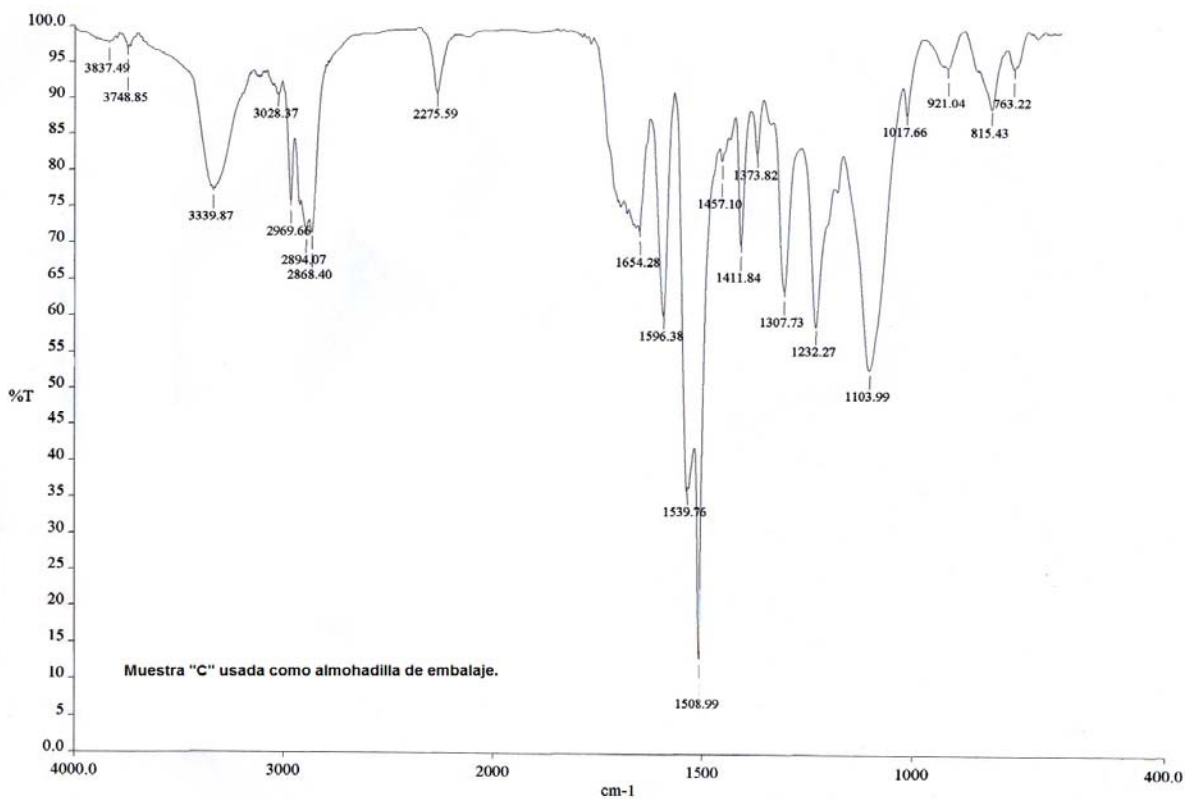


Figura 25. Espectroscopía de IRTF de la Muestra “C” usada como almohadilla de embalaje, sin ser sometida a ningún tratamiento.

Tabla 8. Análisis funcional para la Muestra “C” usada como almohadilla de embalaje, sin ser sometida a ningún tratamiento.

| GRUPO FUNCIONAL. | AMPLITUD DE BANDA CM. ⁻¹ | MUESTRA “C” |
|--------------------------------|----------------------------------------|-------------|
| v Metilenos (CH ₂) | 2700-3100 | 2868.40 |
| | | 2894.07 |
| | | 2969.66 |
| | | 3028.37 |
| N-H | 3350-3310 | 3339.87 |
| C=O (amida) | 1670-1640 | 1654.28 |
| Compuesto Aromático | Aprox. 1600 | ----- |

Resultados de las microscopías electrónicas de barrido para las muestras "A, B y C" antes de ser sometidas a la degradación enzimática.

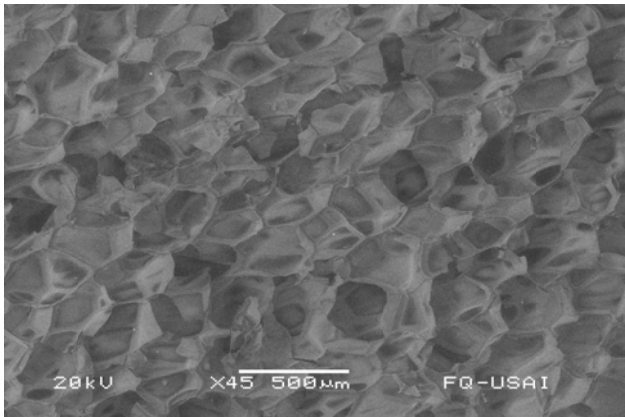


Figura 26. MEB para la Muestra "A", sin ser sometida a ningún tratamiento.

Figura 27. MEB para la Muestra "B", sin ser sometida a ningún tratamiento.

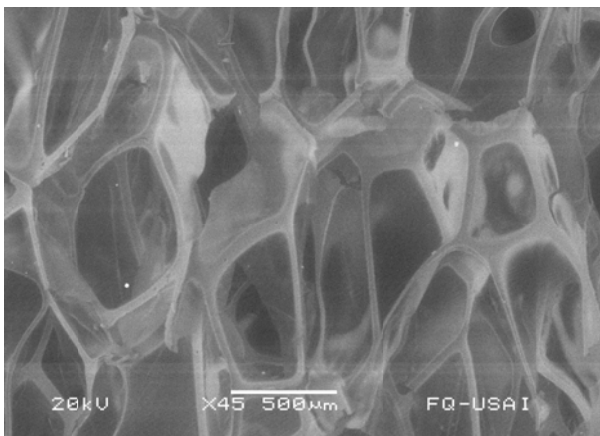
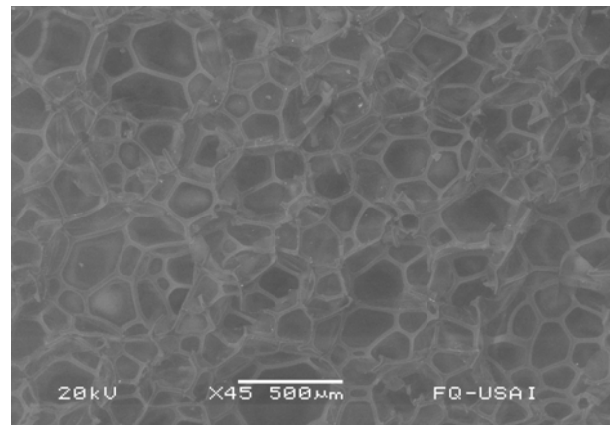


Figura 28. MEB para la Muestra "C", sin ser sometida a ningún tratamiento.

En los espectros de las espumas de poliuretano que se muestran en las Figuras 23, 24 y 25, se observan las bandas importantes que caracterizan a un poliuretano las cuales se han descrito en las Tablas 6, 7 y 8, además de que estos espectros dan idea de que se utilizó un isocianato alifático como el Hexameten-1,6-diisocianato (HDI), ya que si en caso contrario se hubiese producido esta espuma con un isocianato aromático, la banda de un compuesto aromático (aproximadamente en 1600 cm^{-1}) aparecería.

Con respecto a las microscopias que se le realizaron a las espumas de poliuretano antes de ser sometidas a la degradación en las Figuras 26, 27 y 28 podemos ver que sus celdas están completas y sin ningún tipo de daño, en la Figura 26 y 27 se observa que estas espumas de poliuretano presentan celdas cerradas, mientras que la Figura 28, nos muestra un tipo de celda abierta y bien formadas en ambos casos.

Durante la experimentación se trabajo con enzimas grado analítico, pero también se hizo la extracción de las enzimas Papaína (frutos verdes) y Ureasa (semillas frescas). Para la enzima Ureasa extracto fríjol de soya se realizo la cinética enzimática para determinar la condición óptima de temperatura de actividad para la misma, mediante medidas de conductividad a diferentes temperaturas obteniendo los siguientes resultados:

11.1) RESULTADOS DE LA CINÉTICA ENZIMÁTICA PARA EL EXTRACTO “UREASA/ETANOL FRÍJOL DE SOYA” 0.5 g. Y 1 g. RESPECTIVAMENTE.

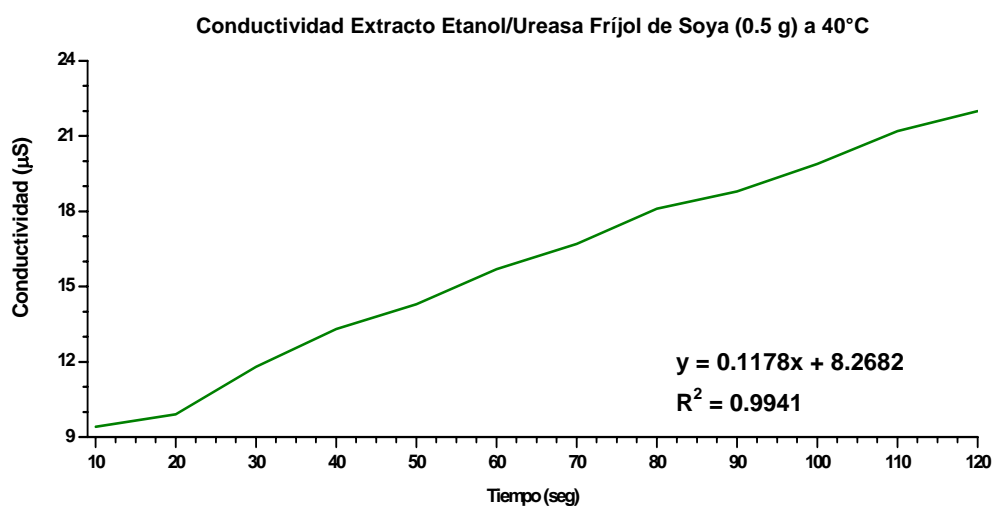


Figura 29. Grafica de la cinética enzimática para el extracto “etanol/ureasa” fríjol de soya (0.5 g.) a 40°C.

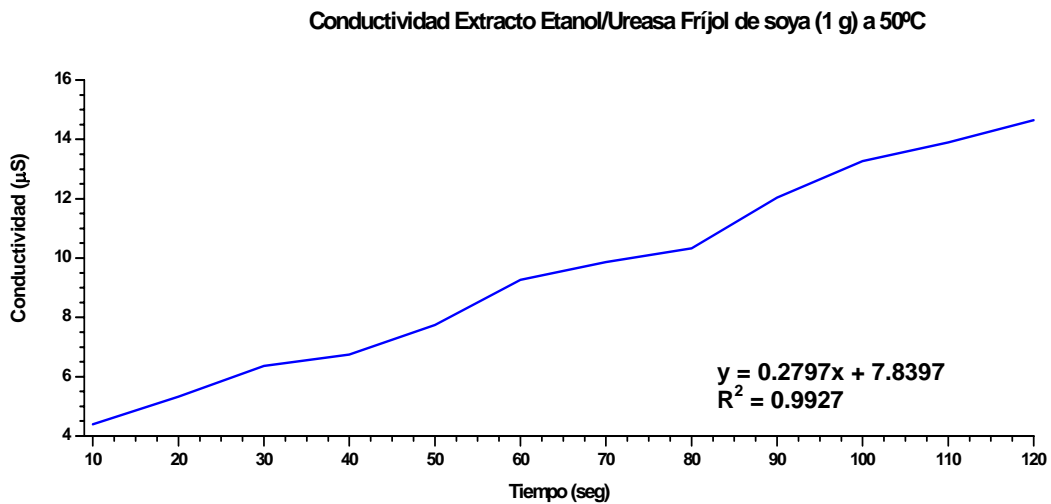


Figura 30. Grafica de la cinética enzimática para el extracto “etanol/ureasa” fríjol de soya (1 g.) a 50°C.

11.2) RESULTADOS DE LA CINÉTICA ENZIMÁTICA PARA EL EXTRACTO “ACETONA/UREASA FRÍJOL DE SOYA” 0.5 g. Y 1 g. RESPECTIVAMENTE.

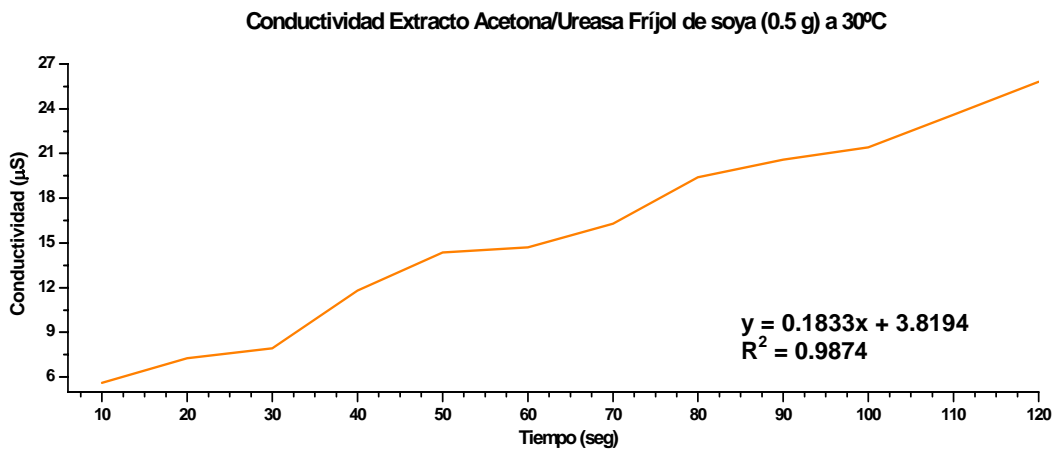
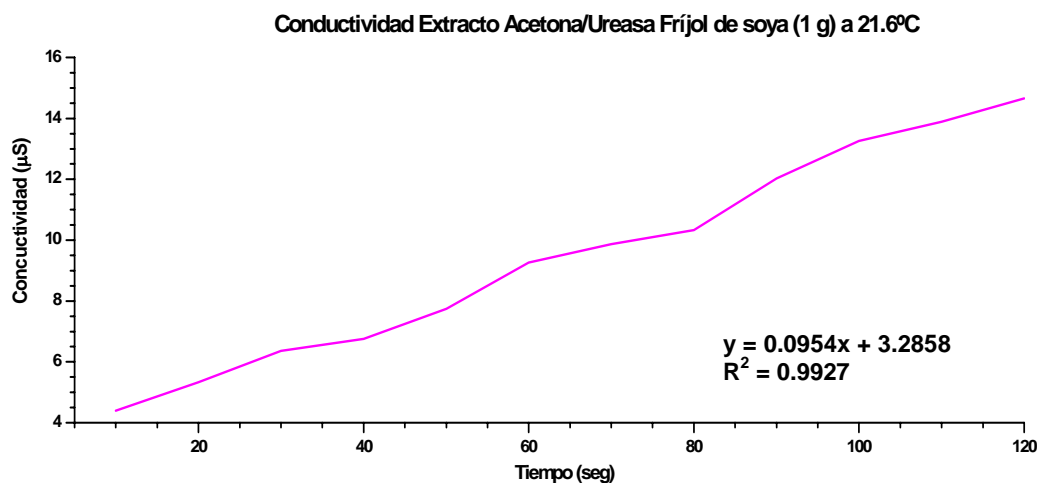


Figura 31. Grafica de la cinética enzimática para el extracto “acetona/ureasa” fríjol de soya (0.5 g.) a 30°C.



**Figura 32. Grafica de la cinética enzimática para el extracto “acetona/ureasa”
fríjol de soya (1 g) a 21.6°C.**

Las graficas anteriores, se utilizaron para obtener la temperatura a la que cada extracto se debe utilizar, para ser puestos en reacción con las muestras de espumas de poliuretano, para la degradación de las mismas, el parámetro que se eligió para escoger estas temperaturas fueron las mejores regresiones lineales que se obtuvieron de las medidas de conductividad y las temperaturas analizadas que fueron: 30 y 40°C para el extracto etanol/fríjol de soya, 30 y 21.6°C extracto acetona/fríjol de soya.

Para esta cinética no se impuso un pH, porque solo se quería saber la temperatura a la que la reacción tiene mejores resultados.

11.3) RESULTADOS DE LAS DEGRADACIONES ENZIMÁTICAS DE LAS ESPUMAS DE POLIURETANO DE DESECHO.

(Barrido de pH's)

“DEGRADACIÓN ENZIMÁTICA CON ENZIMA PAPAÍNA REACTIVO ANALÍTICO 0.1%, T= 60°C, pH: 5, 6, 7 y 8, AGITACIÓN CONSTANTE, PARA LA MUESTRA “A” (USADA COMO AISLANTE EN REFRIGERADOR)”.



****Reactor utilizado para las degradaciones enzimáticas.***

En el proceso para la degradación se hizo un barrido de pH's para asegurar las condiciones óptimas de actividad de la enzima papaína, dando los siguientes resultados (para este barrido solo se trabajó con enzima papaína, por cuestiones de tiempo, ya que recordemos que son 15 días de reacción para cada enzima a diferentes condiciones).

Tabla 9. Porcentaje antes de pérdida después de la degradación para la Muestra “A” con enzima Papaína reactivo analítico.

| BUFFER | PH. | % DE PÉRDIDA DE LA ESPUMA DE POLIURETANO DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|--------------------------------------------------|------|---------------------------------------------------------------------|
| $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$ | 5.16 | 0% |
| $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$ | 5.62 | 0% |



Figura 33. Muestras “A”, después de la degradación a) pH=5.16 buffer $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$, b) pH=5.62 Buffer $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$.

Como se puede ver en la Tabla 9, las espumas de Poliuretano no presentaron ningún cambio físico, las soluciones Buffer se observaron completamente cristalinas hasta concluir el tiempo de reacción.

Tabla 10. Porcentaje de pérdida después de la degradación para la Muestra “A” con enzima Papaína reactivo analítico.

| BUFFER | PH. | % DE PÉRDIDA DE LA ESPUMA DE POLIURETANO DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|-------------------------------------------------------------------|------|---------------------------------------------------------------------|
| Na ₂ HPO ₄ /ácido cítrico. | 6.41 | 0% |
| KH ₂ PO ₄ /NaOH | 6.0 | 0% |
| Na ₂ HPO ₄ /KH ₂ PO ₄ | 6.15 | 1.4% |



Figura 34. Muestra “A 6.15”, después de la degradación a pH=6.15 Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄.

Como se puede ver en la Tabla 10 en la muestra “A”, Na₂HPO₄/KH₂PO₄ pH=6.15, se observó un ligero ataque en la espuma de Poliuretano por la enzima, había pequeñas partículas de espuma de Poliuretano en la solución Buffer, la solución Buffer se observó cristalina hasta concluir el tiempo de reacción, la muestra se sometió a análisis de IRTF. En las muestras “A” pH=6.41 Buffer Na₂HPO₄/ácido cítrico y pH=6.0 Buffer KH₂PO₄/NaOH no se observó ningún cambio físico en las espumas de poliuretano.

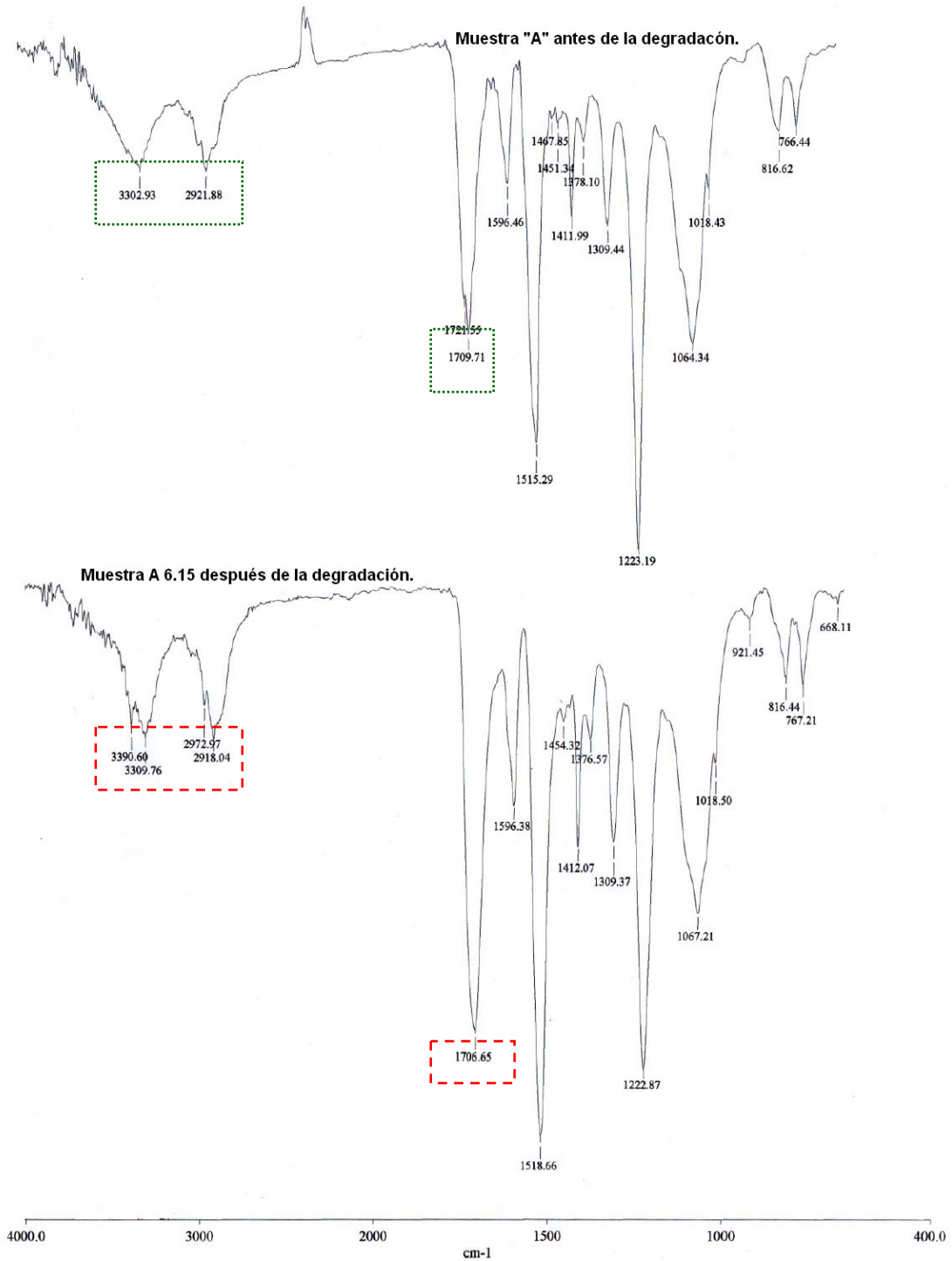


Figura 35. Espectroscopía de IRTF de la Muestra "A 6.15, pH= 6.15 Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄" usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Papaína.

Tabla 11. Análisis funcional para la Muestra “A 6.15, pH= 6.15 Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄” usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Papaína reactivo analítico.

| GRUPO FUNCIONAL. | AMPLITUD DE BANDA CM. ⁻¹ | MUESTRA “A” ANTES DE LA DEGRADACIÓN. | MUESTRA “A 6.15” DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|--------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------------|
| v Metilenos (CH ₂) | 2700-3100 | 2921.88 | - - - - . 2918.04 2972.97 |
| N-H | 3350-3310 | 3302.93 | - - - - . 3309.76 3390.60 |
| C=O | 1700-1740 | 1709.71 | - - - - . 1706.65 |
| Compuesto aromático | Aprox. 1600 | ----- | ----- |

En el espectro que se muestra en la Figura 35, se observa que la parte de la espuma de poliuretano que presenta enlaces CH₂-CH₂, se está rompiendo ya que apareció una nueva banda en 2972.97 cm⁻¹, y a la cual pertenecen los metilenos. También aparece una banda en 3390.60 cm⁻¹ lo que puede decir que se están rompiendo enlaces N-H, que son pertenecientes al hexametilendiisocianato, además se ve afectado el grupo carbonilo de es grupo uretano.

Estos cambios se deben a la actividad de la enzima Papaína la cual presenta especificidad sobre este tipo de enlaces a esta Temperatura y pH.

Tabla 12. Porcentajes de pérdida después de la degradación para la Muestra “A” con enzima Papaína reactivo analítico.

| BUFFER | PH. | % DE PÉRDIDA DE LA ESPUMA DE POLIURETANO DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|-------------------------------------------------------------------|------|---------------------------------------------------------------------|
| Na ₂ HPO ₄ /ácido cítrico. | 7.12 | La reacción se vio afectada por una contaminación. |
| KH ₂ PO ₄ /NaOH | 7.12 | 0% |
| Na ₂ HPO ₄ /KH ₂ PO ₄ | 7.0 | 0% |

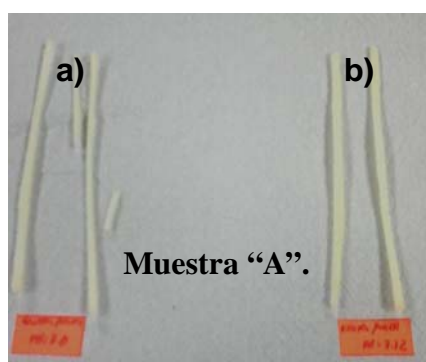


Figura 36. Muestra “A”, después de la degradación a) pH=7.0 Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄, b) pH= 7.12 Buffer KH₂PO₄/NaOH.

Como se puede ver en la Tabla 12, las espumas de Poliuretano no presentaron ningún cambio físico a los diferentes pH's de trabajo, las soluciones Buffer se observaron completamente cristalinas hasta concluir el tiempo de reacción.

Tabla 13. Porcentaje de pérdida después de la degradación para la Muestra “A” con enzima Papaína reactivo analítico.

| BUFFER | PH. | % DE PÉRDIDA DE LA ESPUMA DE POLIURETANO DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|--------------------------------------------------|------|---------------------------------------------------------------------|
| $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$ | 8.02 | 0% |
| $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ | 8.02 | 1.2% |

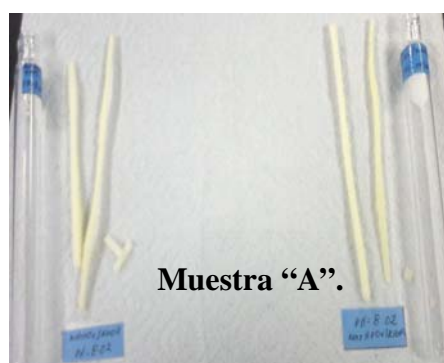


Figura 37. Muestra “A”, al termino de la degradación a pH=8.02.

Como se puede ver en la Tabla 13, en la muestra “A”, con el Buffer $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ pH=8.02, se observó un ligero ataque en la espuma de Poliuretano por la enzima, había pequeñas partículas de espuma de Poliuretano en la solución buffer, la solución Buffer se observó cristalina hasta concluir el tiempo de reacción, la muestra sometió a análisis de IRTF. En la muestra “A” pH=8.02 Buffer $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$ no se observó ningún cambio físico en la espuma de poliuretano.

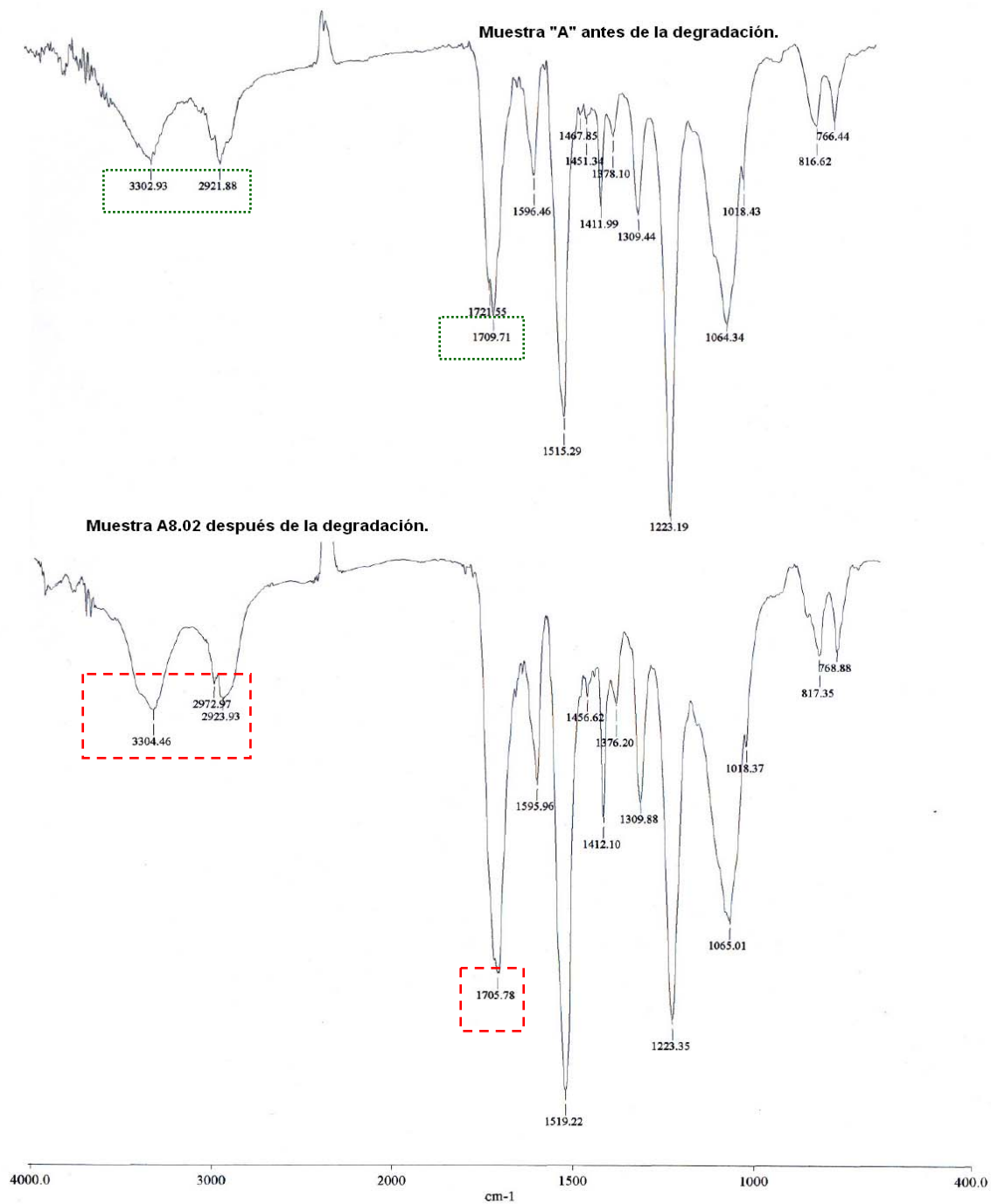


Figura 38. Espectroscopía de IRTF de la Muestra "A, pH=8.02, Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄ usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Papaína.

Tabla 14. Análisis funcional para la Muestra “A 8.02” usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Papaína reactivo analítico.

| GRUPO FUNCIONAL. | AMPLITUD DE BANDA CM. ⁻¹ | MUESTRA “A 8.02” ANTES DE LA DEGRADACIÓN. | MUESTRA “A 8.02” DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|--------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------------------------------|
| v Metilenos (CH ₂) | 2700-3100 | 2921.88 | ----- 2923.93 ----- 2972.97 |
| N-H | 3350-3310 | 3302.93 | ----- 3304.46 |
| C=O | 1700-1740 | 1709.71 | ----- 1705.78 |
| Compuesto aromático | Aprox. 1600 | ----- | ----- |

En el espectro que se muestra en la Figura 38, se observa que la espuma de poliuretano que presenta enlaces CH₂-CH₂, se está rompiendo ya que apareció una nueva banda en 2972.97 cm⁻¹, la cual pertenecen los metilenos.

También se intensifica un poco la banda en 3304.46 cm⁻¹ con respecto a la espuma antes de ser degradada lo que puede decir que se están rompiendo parcialmente los enlaces N-H de la cadena polimérica de poliuretano, además la banda del carbonilo del grupo uretano disminuye un poco su intensidad a 1705.78 cm⁻¹.

Con respecto a estos resultados podemos decir que la enzima Papaína presenta actividad a pH=6 y 8 a 60°C y agitación constante, ya que con los espectro se corrobora la especificidad que tiene la enzima Papaína sobre los enlaces característicos de la espuma de poliuretano.

Como se pueden ver en los resultados anteriores para pH=5 no hay cambios, esto se debe a que la enzima papaína es afectada a pH's muy bajos este pH pudo inactivar la enzima, para el pH=7 que no hubo cambios podemos decir que

Después de haber realizado la experimentación con los distintos pH's se comenzó a experimentar con el pH que presento una buena actividad enzimática, además se volvió a repetir la degradación a pH=7 procurando buenas condiciones de esterilidad y trabajo, dando los siguientes resultados.

“DEGRADACIÓN ENZIMÁTICA CON PAPAÍNA REACTIVO ANALÍTICO 0.1%, T= 60°C, pH: 6 y 7, AGITACIÓN CONSTANTE, PARA LA MUESTRA “B” (USADA COMO AISLANTE EN REFRIGERADOR)”.



**Reactor utilizado para las degradaciones enzimáticas.*

Tabla 15. Porcentaje de pérdida después de la degradación para la Muestra “B” con enzima Papaína reactivo analítico.

| BUFFER | PH. | % DE PÉRDIDA DE LA ESPUMA DE POLIURETANO DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|-------------------------------------------------------------------|------|---------------------------------------------------------------------|
| Na ₂ HPO ₄ /ácido cítrico. | 6.06 | 0% |
| Na ₂ HPO ₄ /NaOH | 6.02 | 0% |
| Na ₂ HPO ₄ /KH ₂ PO ₄ | 6.04 | 8.5% |



Figura 39. Muestra “B”, afectada por la degradación enzimática a pH=6.04.

Como se puede ver en la Tabla 15, en la muestra “A”, Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄ pH=6.04, se observó un ligero ataque en la espuma de Poliuretano por la enzima, había pequeñas partículas de espuma de Poliuretano en la solución buffer, esta solución se observó cristalina hasta concluir el tiempo de reacción, esta muestra se sometió a análisis de IRTF. En las muestras “A” pH=6.06 Buffer Na₂HPO₄/ácido cítrico y pH=6.02 Buffer Na₂HPO₄/NaOH no se observaron cambios físicos en las espumas de poliuretano.

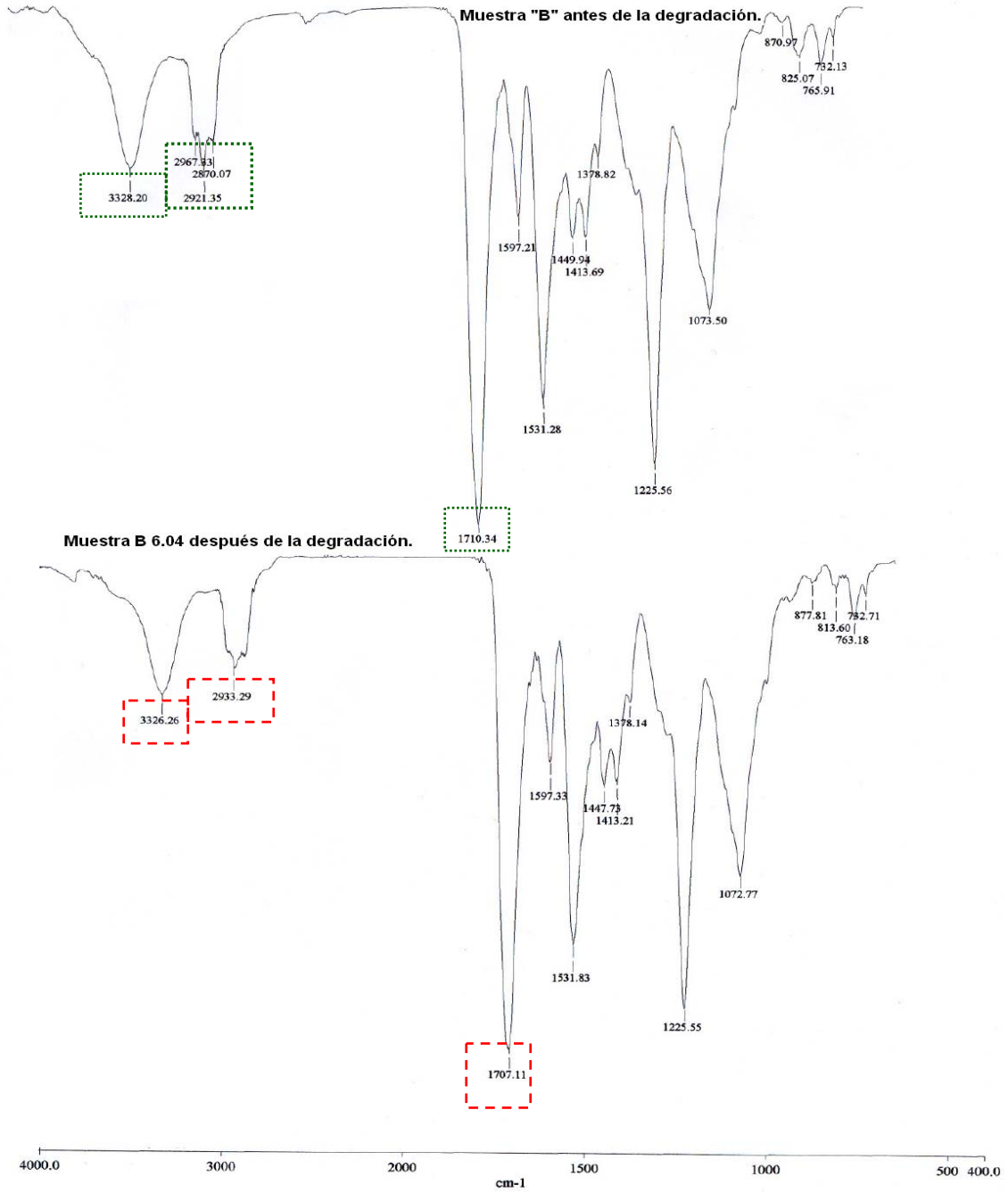


Figura 40. Espectroscopía de IRTF de la Muestra "B", pH= 6.04, Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄ usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Papaína.

Tabla 16. Análisis funcional para la Muestra “B 6.04” usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Papaína reactivo analítico.

| GRUPO FUNCIONAL. | AMPLITUD DE BANDA CM. ⁻¹ | MUESTRA “B 6.04” ANTES DE LA DEGRADACIÓN. | MUESTRA “B 6.04” DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|--------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------------------------------|
| v Metilenos (CH ₂) | 2700-3100 | 2870.07 2921.35 2967.33 | ----- 2933.29 |
| N-H | 3350-3310 | 3328.20 | ----- 3326.26 |
| C=O | 1700-1740 | 1710.34 | ----- 1707.11 |
| Compuesto aromático | Aprox. 1600 | ----- | ----- |

En el espectro que se muestra en la Figura 40, se observa que la espuma de poliuretano que presenta enlaces CH₂-CH₂, desaparecen 2 bandas 2870.07 cm⁻¹ y 2967.33 cm⁻¹, lo que indica una ruptura completa de la cadena de metilenos.

La banda en 3328.20 cm⁻¹ disminuye su intensidad lo que puede indicar que se están rompiendo parcialmente enlaces N-H, que posiblemente pertenecen al hexametildiisocianato, el carbonilo del grupo uretano disminuye un poco su intensidad a 1707.11cm⁻¹.

Tabla 17. Porcentajes de pérdida después de la degradación para la Muestra “B” con enzima Papaína reactivo analítico.

| BUFFER | PH. | % DE PÉRDIDA DE LA ESPUMA DE POLIURETANO DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|-------------------------------------------------------------------|------|---------------------------------------------------------------------|
| Na ₂ HPO ₄ /ácido cítrico. | 7.12 | 0% |
| KH ₂ PO ₄ /NaOH | 7.12 | 7.4% |
| Na ₂ HPO ₄ /KH ₂ PO ₄ | 7.0 | 7.5% |

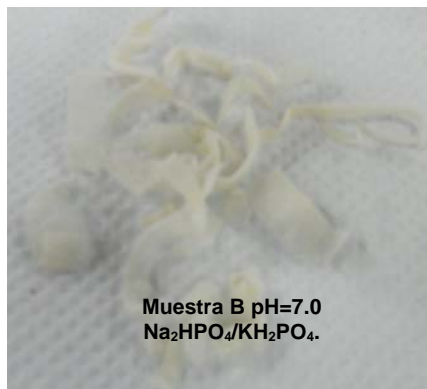


Figura 41. Muestra “B”, después de la degradación a pH=7.12, 7.0 con enzima Papaína.

Como se puede ver en la Tabla 17, en la muestra “B”, KH₂PO₄/NaOH pH=7.12 y Na₂HPO₄/KH₂PO₄ pH=7.0, se observó un ligero ataque en la espuma de Poliuretano por la enzima, había pequeñas partículas de espuma de Poliuretano en la solución buffer, estas soluciones Buffer se observaron cristalinas hasta concluir el tiempo de reacción, estas muestras se sometieron a análisis de IRTF. En la muestra “B” pH= 7.12 Buffer Na₂HPO₄/Ácido Cítrico no se observó ningún cambio físico en la espuma de poliuretano.

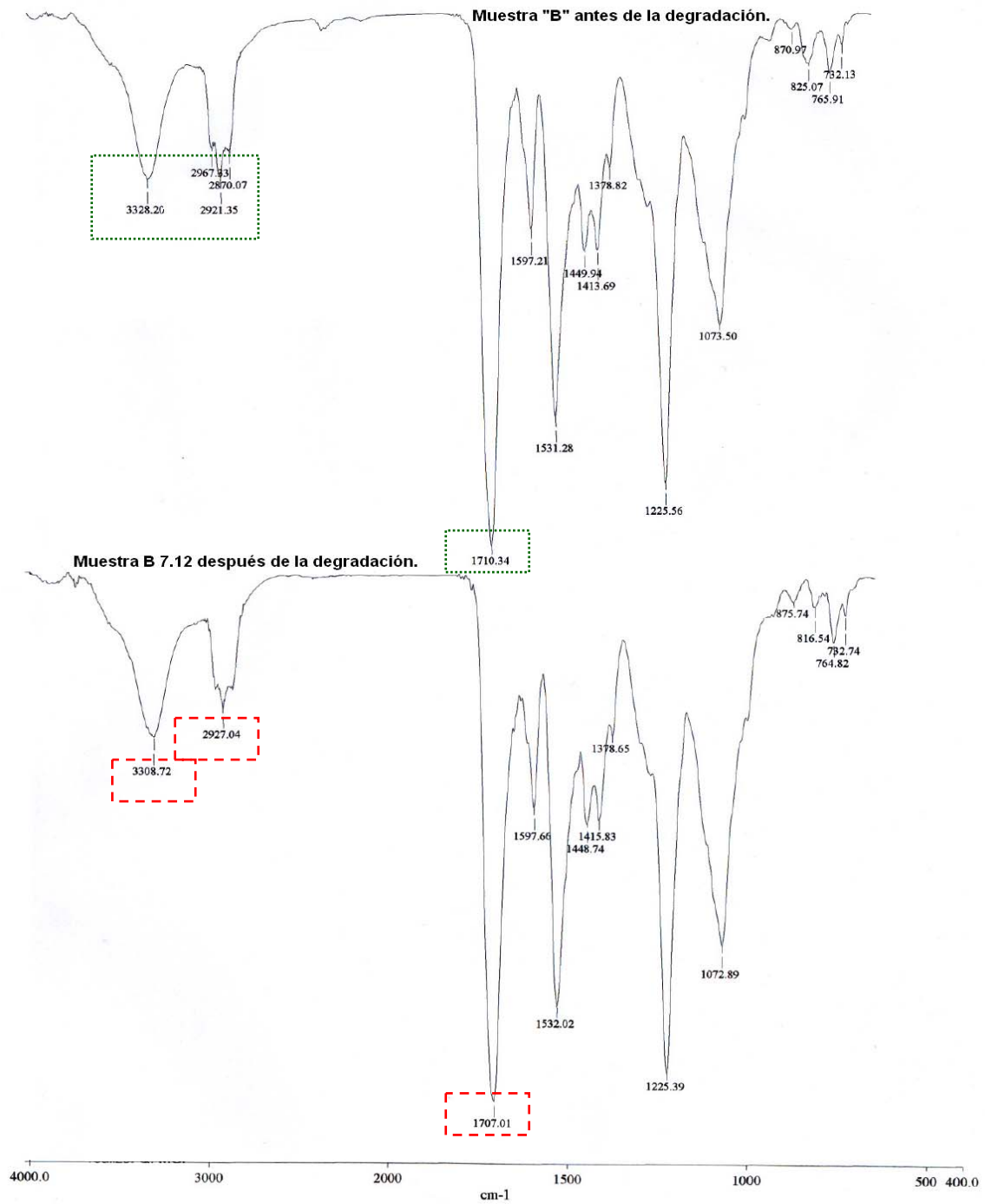


Figura 42. Espectroscopía de IRTF de la Muestra "B", pH=7.12 Buffer KH₂PO₄/NaOH usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Papaína.

Tabla 18. Análisis funcional para la Muestra “B”, pH=7.12 Buffer $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$ usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Papaína.

| GRUPO FUNCIONAL. | AMPLITUD DE BANDA CM^{-1} | MUESTRA “B 7.12” ANTES DE LA DEGRADACIÓN. | MUESTRA “B 7.12” DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|-----------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------------------------------|
| ν Metilenos (CH_2) | 2700-3100 | 2870.07 2921.35 2967.33 | ----- 2927.04 |
| N-H | 3350-3310 | 3328.20 | ----- 3308.72 |
| C=O | 1670-1640 | 1710.34 | ----- 1707.01 |
| Compuesto aromático | Aprox. 1600 | ----- | ----- |

En el espectro IRTF que se muestra en la Figura 42, se observa que la espuma de poliuretano presenta enlaces $\text{CH}_2\text{-CH}_2$, desaparecen 2 bandas 2870.07 cm^{-1} y 2967.33 cm^{-1} , lo que indica una ruptura completa de la cadena de metilenos.

La banda en 3328.20 cm^{-1} disminuyo su intensidad lo que puede decir que se están rompiendo parcialmente enlaces N-H, que posiblemente pertenecen al hexametildiisocianato, el carbonilo de el grupo uretano disminuye un poco su intensidad a 1707.01 cm^{-1} .

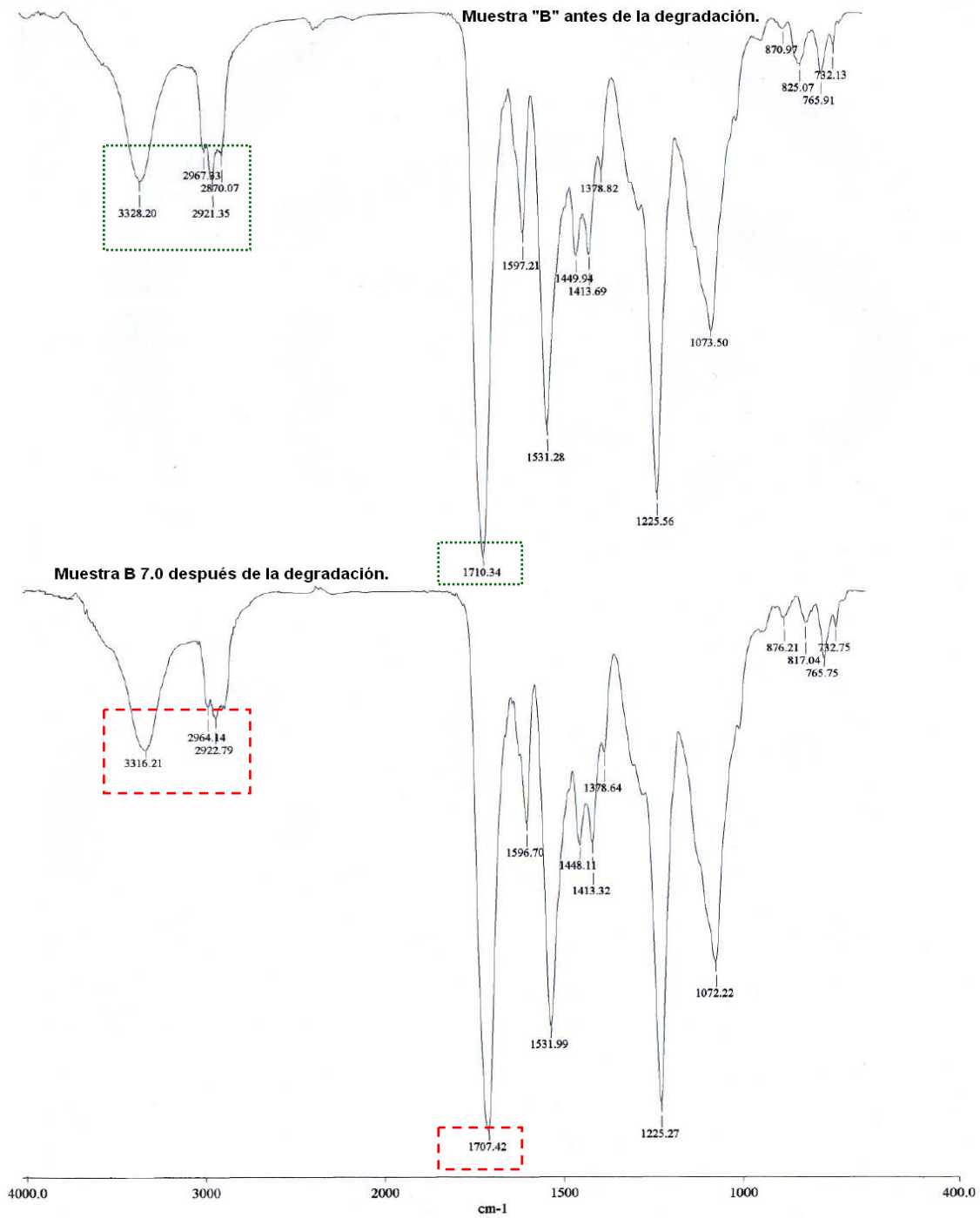


Figura 43. Espectroscopía de IRTF de la Muestra "B", pH=7.0 Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄ usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Papaína.

Tabla 19. Análisis funcional para la Muestra “B”, pH=7.0 Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄ usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Papaína.

| GRUPO FUNCIONAL. | CM. ⁻¹ | MUESTRA “B 7.0” ANTES DE LA DEGRADACIÓN. | MUESTRA “B 7.0” DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|--------------------------------|-------------------|------------------------------------------|--------------------------------------------|
| ν Metilenos (CH ₂) | 2700-3100 | 2870.07 | 2922.79 |
| | | 2921.35 | 2964.14 |
| | | 2967.33 | |
| N-H | 3350-3310 | 3328.20 | 3316.21 |
| C=O | 1670-1640 | 1710.34 | 1707.42 |
| Compuesto aromático | Aprox. 1600 | ----- | ----- |

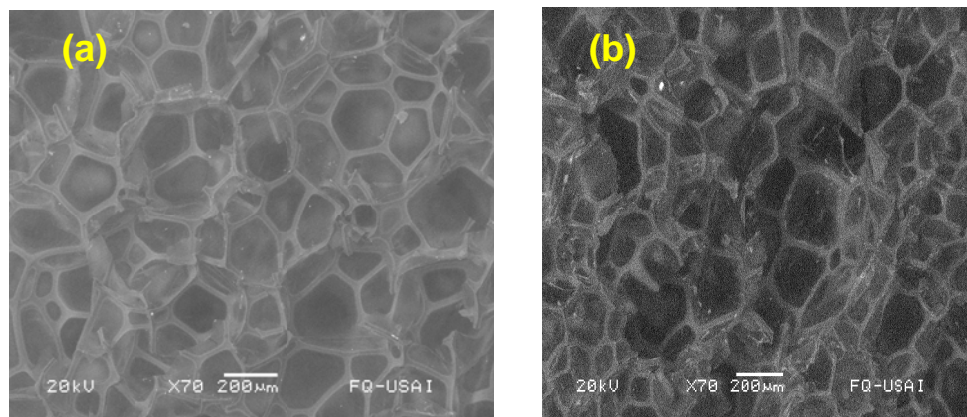


Figura 44. Microscopía Electrónica de Barrido para la Muestra “B” antes (a) y después (b) de la degradación con enzima Papaína R.A. pH=7.0 Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄.

En el espectro que se muestra en la Figura 43. se observa que la parte de la espuma de poliuretano que presenta enlaces $\text{CH}_2\text{-CH}_2$, desaparece una banda 2967.33 cm^{-1} , lo que indica una ruptura parcial de la cadena de metilenos.

La banda en 3328.20 cm^{-1} disminuyo su intensidad lo que puede decir que se están rompiendo parcialmente enlaces N-H que posiblemente pertenecen al hexametilendiisocianato, el carbonilo del grupo uretano disminuye un poco su intensidad a 1707.42 cm^{-1} .

Se realizo la microscopia electrónica de barrido a esta muestra Figura 44 porque tuvo una perdida del 7.5% y se deseaba observar el daño realizado por la enzima, además de corroborar con esta, la perdida de peso y se puede observar que la enzima papaína realmente esta rompiendo enlaces en la espuma de poliuretano, ya que las celdas presentan una ruptura importante y se observa que la estructura del la espuma tiene un grado de degradación importante.

Estos cambios que presentaron las muestras se deben a la actividad de la enzima papaína presenta especificidad sobre este tipo de enlaces a un $\text{pH}=6$ y 7 , a 60° C y agitación constante.

**“DEGRADACIÓN ENZIMÁTICA CON ENZIMA PAPAÍNA
EXTRACTO FRESCO (P.E.F.) Y ENZIMA PAPAÍNA REACTIVO
ANALÍTICO (P.R.A.) 0.1%, T= 60°C, pH: 6 Y AGITACIÓN
CONSTANTE, PARA LAS MUESTRAS “A, B Y C” ”.**



**Reactor utilizado para las degradaciones enzimáticas.*

Tabla 20 Porcentajes de pérdida después de la degradación, para las Muestras “A, B y C” con enzima Papaína reactivo analítico (P.R.A.) y Papaína extracto fresco (P.E.F.).

| BUFFER | PH. | % DE PÉRDIDA DE LA ESPUMA DE POLIURETANO DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|--------------------------------------------------------------------------|------|---------------------------------------------------------------------|
| Na ₂ HPO ₄ /ácido cítrico. P.R.A. | 6.01 | C) 0% |
| KH ₂ PO ₄ /NaOH P.E.F. | 6.11 | A) 6.2% |
| | | B) 3.8% |
| Na ₂ HPO ₄ /KH ₂ PO ₄ P.R.A. | 6.23 | C) 12.4% |



Figura 45. MUESTRA “A y C” después de la degradación a pH: 6.11, 6.23.

Como se puede ver en la Tabla 20, en la muestra “A”, Buffer KH₂PO₄/NaOH pH=6.11 y la muestra “C”, buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄ pH=6.23 al igual que la muestra “B” pH=6.11 Buffer KH₂PO₄/NaOH, se observó un ligero ataque en la espuma de Poliuretano por la enzima, había pequeñísimas partículas de espuma de Poliuretano en la solución buffer, estas soluciones se observaron cristalinas hasta concluir el tiempo de reacción, las muestras “A y C” se sometieron a análisis de IRTF ya que presentaron mayor pérdida de peso. En la muestra “C” pH=6.01 Buffer Na₂HPO₄/ácido cítrico no se observó ningún cambio físico en la espuma de poliuretano.

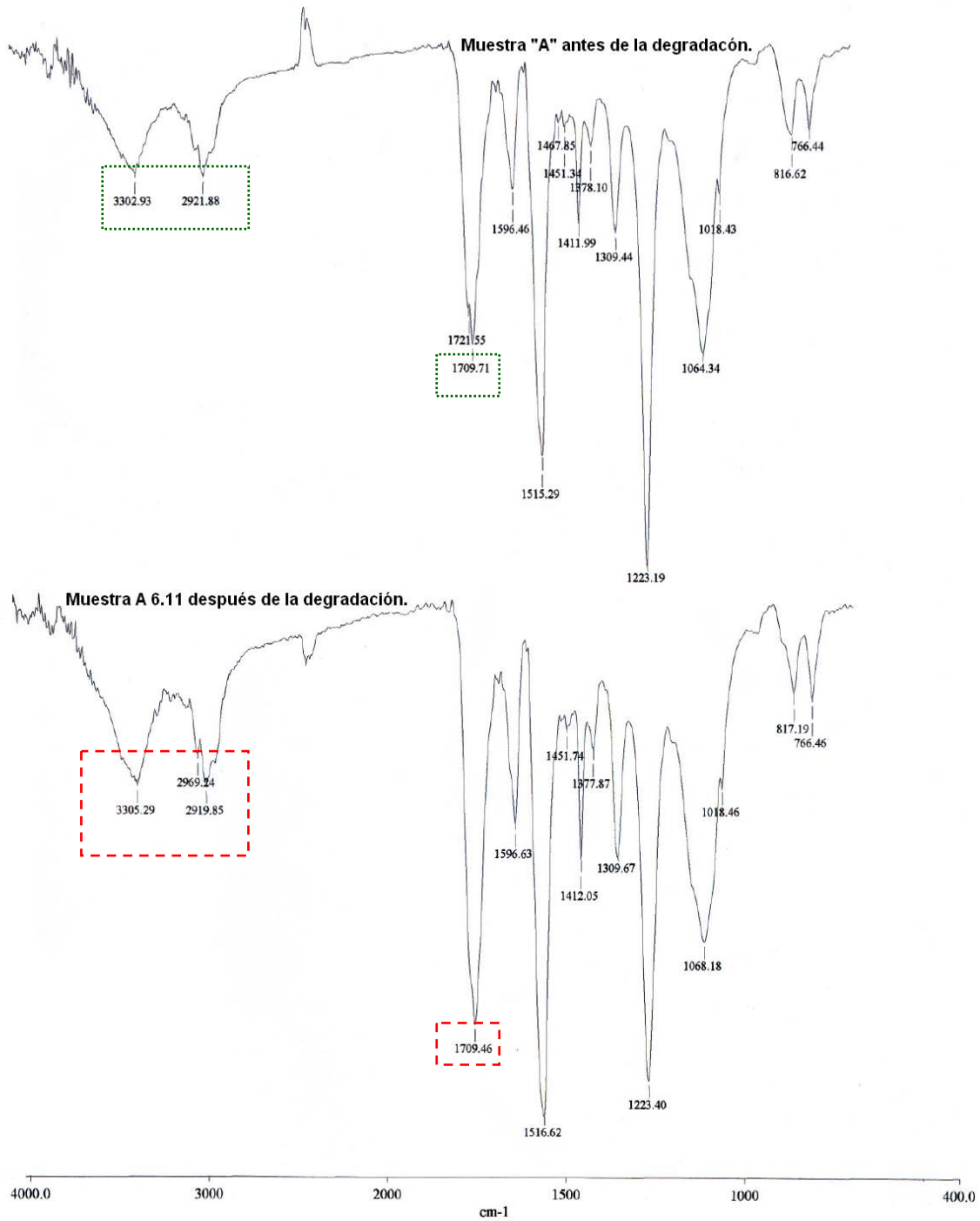


Figura 46. Espectroscopía de IRTF de la Muestra "A", pH=6.11 Buffer KH₂PO₄/NaOH usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Papaína extracto fresco.

Tabla 21. Análisis funcional para la Muestra “A 6.11” usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con Papaína extracto fresco.

| GRUPO FUNCIONAL. | AMPLITUD DE BANDA CM. ⁻¹ | MUESTRA “A 6.11” ANTES DE LA DEGRADACIÓN. | MUESTRA “A 6.11” DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|--------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------------------------------|
| v Metilenos (CH ₂) | 2700-3100 | 2921.88 | ----- 2919.85 ----- 2967.24 |
| N-H | 3350-3310 | 3302.93 | ----- 3305.29 |
| C=O | 1700-1740 | 1709.71 | ----- 1709.46 |
| Compuesto aromático | Aprox. 1600 | ----- | ----- |

En el espectro que se muestra en la Figura 46, se observa que la parte de la espuma de poliuretano que presenta enlaces CH₂-CH₂, aparece una banda 2967.24 cm⁻¹, lo que indica una ruptura parcial de la cadena de metilenos.

La banda en 3302.93 cm⁻¹ disminuyo su intensidad lo que puede decir que se están rompiendo parcialmente enlaces N-H, que posiblemente pertenecen al hexametildiisocianato, el carbonilo de el grupo uretano disminuye un poco su intensidad a 1709.46 cm⁻¹.

Estos cambios se deben a la actividad de la enzima Papaína (E.F.) presenta especificidad sobre este tipo de enlaces a un pH= 6.11 a 60°C y agitación constante.

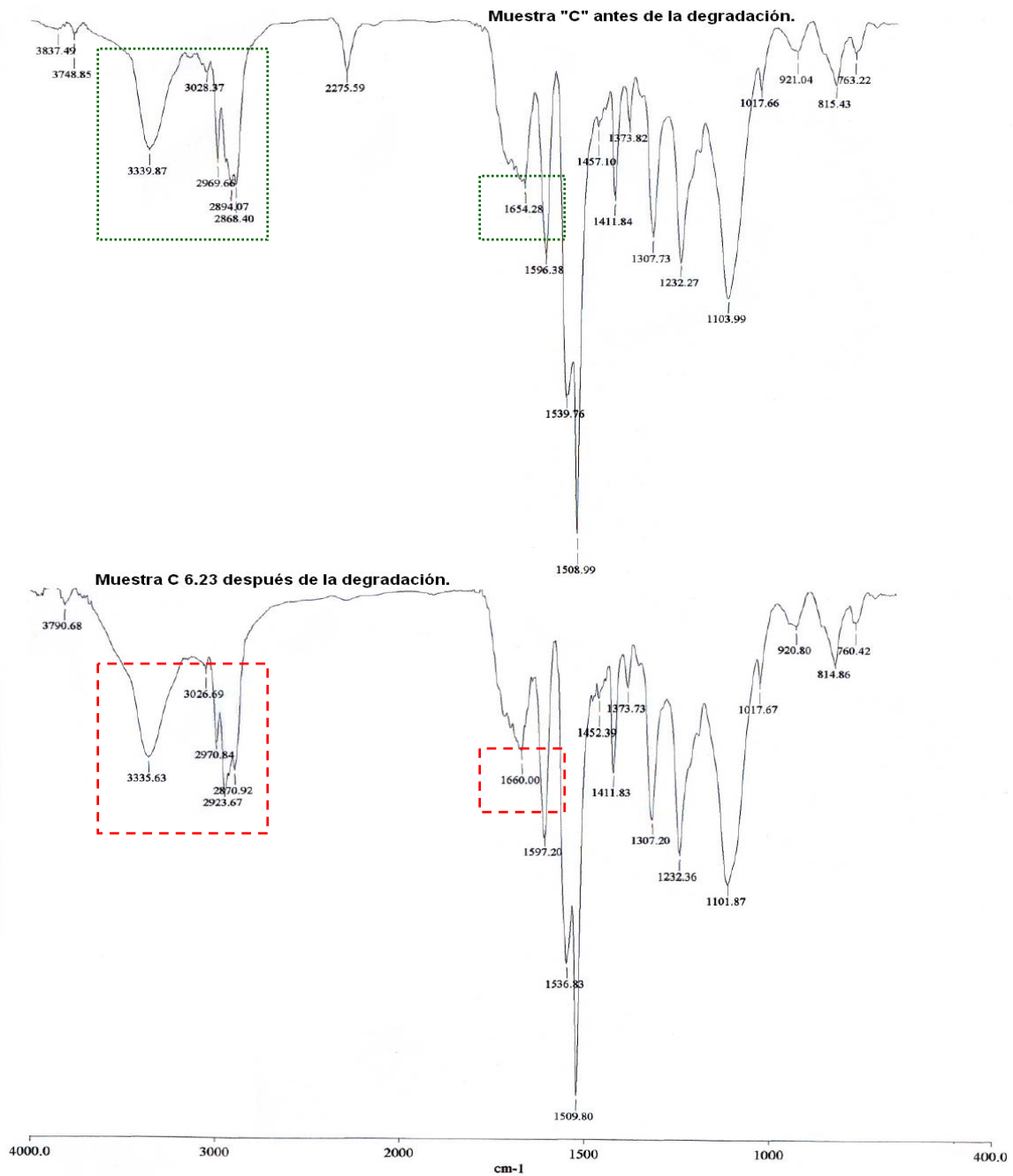
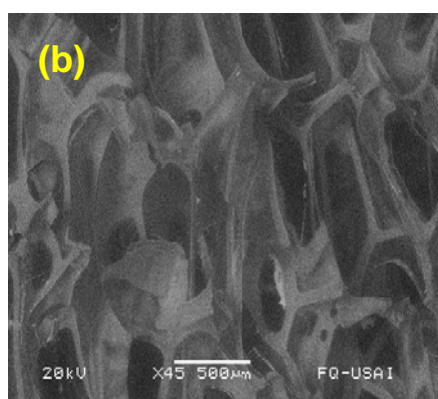
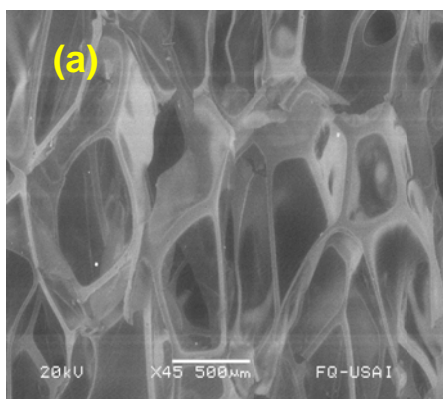


Figura 47. Espectroscopía de IRTF de la Muestra "C", pH=6.23 Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄ P.R.A. usada como almohadilla de embalaje, antes y después de ser sometida a la degradación con Papaína Reactivo Analítico.

Tabla 22. Análisis funcional para la Muestra “C 6.23” usada como almohadilla de embalaje, antes y después de haber sido sometida a la degradación con Papaína Reactivo Analítico (P.R.A.).

| GRUPO FUNCIONAL. | AMPLITUD DE BANDA CM. ⁻¹ | MUESTRA “C 6.23” ANTES DE LA DEGRADACIÓN. | MUESTRA “C 6.23” DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|--------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| v Metilenos (CH ₂) | 2700-3100 | 2868.40 2894.07 2969.66 3028.37 | 2870.92 2923.67 - - - - - 2970.84 3026.69 |
| N-H | 3350-3310 | 3339.87 | - - - - - 3335.63 |
| C=O (amida) | 1670-1640 | 1654.28 | - - - - - 1660.00 |
| Compuesto aromático | Aprox. 1600 | ----- | ----- |



**antes
paína**

En el espectro que se muestra en la Figura 47, se observa que la parte de la espuma de poliuretano que presenta enlaces $\text{CH}_2\text{-CH}_2$, las bandas presentan ligeros cambios al igual que la banda en 3339.87 cm^{-1} del N-H, el carbonilo disminuye un poco su intensidad a 1660.00 cm^{-1} , y desaparece la banda de la región 2275.59 cm^{-1} , además desaparece la banda de la región 3837.49 cm^{-1}

Estos cambios se deben a la actividad de la enzima Papaína (R.A.) presenta especificidad sobre este tipo de enlaces.

En la microscopia electrónica de barrido que se muestra en la Figura 48 se puede observar que la enzima papaína realmente esta rompiendo enlaces ya que las celdas presentan una ruptura importante y que la estructura de la espuma tiene un daño por la degradación.

Estos cambios se deben a la actividad de la enzima Papaína (R.A.) presenta especificidad sobre este tipo de enlaces a un $\text{pH}= 6.23$ a 60°C y agitación constante.

Podemos decir que la enzima papaína reactivo analítico y extracto fresco presentan su mejor actividad entre un $\text{pH}= 6$ y 7 a 60°C y agitación constante, corroborando esto con las pérdidas en peso de las muestras.

“DEGRADACIÓN ENZIMÁTICA CON PAPAÍNA EXTRACTO FRESCO (P.E.F.) Y PAPAÍNA REACTIVO ANALÍTICO (P.R.A.) 0.2%, pH=6.0, T= 60°C Y AGITACIÓN CONSTANTE PARA LAS MUESTRAS “A, B Y C”.



**Reactor utilizado para las degradaciones enzimáticas.*

Tabla 23. Porcentajes de pérdida después de la degradación para las Muestras “A, B y C”, con Papaína extracto fresco (P.E.F.) y reactivo analítico (P.R.A.).

| BUFFER | PH. | % DE PÉRDIDA DE LA ESPUMA DE POLIURETANO DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|-------------------------------------------------------------------|------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Na_2HPO_4 /Acido Cítrico. P.E.F. | 6.75 | A ₁) 1.4% B ₁) 5.4% C ₁) 2.2% C ₂) 0.2% |
| Na_2HPO_4 /KH ₂ PO ₄ P.R.A. | 6.05 | A ₂) 13.4% B ₂) 20.4% C ₁) 5.8% C ₂) 8.2% |



Figura 49. MUESTRA “A₁ y B₂.” después de la degradación a pH: 6.75, 6.05.

Como se puede ver en la Tabla 23, en las muestras A₂ y B₂, KH₂PO₄/NaOH pH=6.05, observaron un ligero ataque las espuma de Poliuretano por la enzima, había pequeñas partículas de espuma de Poliuretano en la solución buffer, estas soluciones se observaron cristalinas hasta concluir el tiempo de reacción, la muestra “B” pH= 6.05 Buffer KH₂PO₄/NaOH se sometió a análisis de IRTF y MEB ya que presento la mayor perdida en peso.

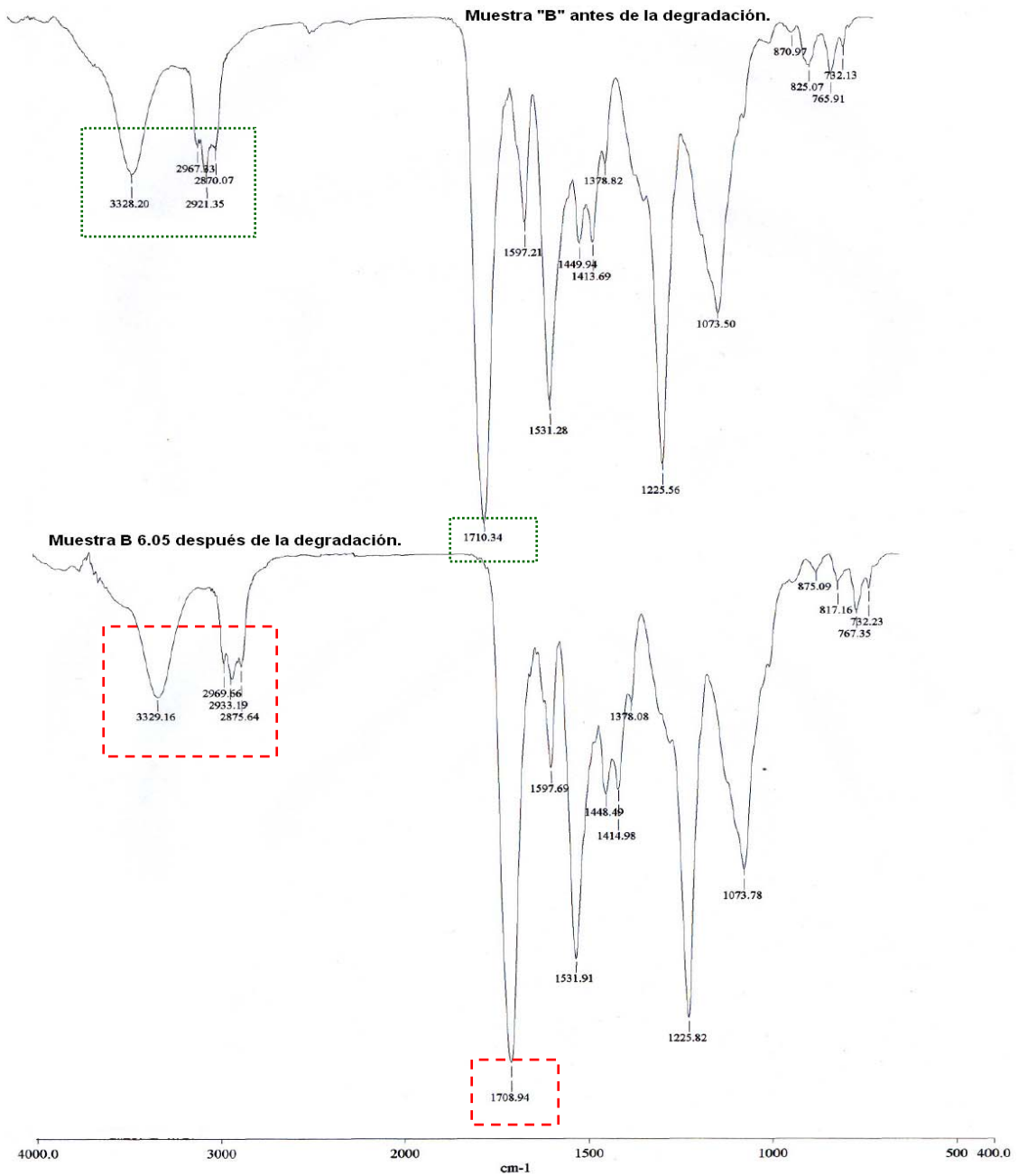


Figura 50. Espectroscopía de IRTF de la Muestra "B" pH=6.05 Buffer KH₂PO₄/NaOH usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Papaína reactivo analítico.

Tabla 24. Análisis funcional para la Muestra “B”, pH= 6.05 Buffer $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$ usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con Papaína reactivo analítico.

| GRUPO FUNCIONAL. | AMPLITUD DE BANDA CM^{-1} | MUESTRA “B 6.05” ANTES DE LA DEGRADACIÓN. | MUESTRA “B 6.05” DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|-------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------------------------------|
| v Metilenos (CH_2) | 2700-3100 | 2870.07 | 2875.64 |
| | | 2921.35 | --- 2933.19 |
| | | 2967.33 | 2969.66 |
| N-H | 3350-3310 | 3328.20 | --- 3329.16 |
| C=O | 1670-1640 | 1710.34 | --- 1708.94 |
| Compuesto aromático | Aprox. 1600 | ---- | ---- |

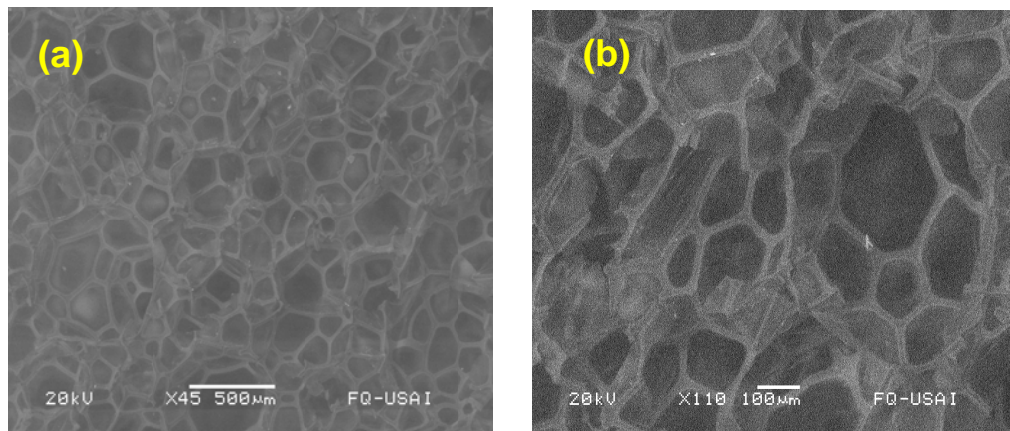


Figura 51. Microscopia Electrónica de Barrido para la Muestra “B”, antes (a) y después (b) de la degradación con Papaína R.A. pH= 6.05 Buffer $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$.

En el espectro que se muestra en la Figura 50, se observa que la parte de la espuma de poliuretano que presenta enlaces $\text{CH}_2\text{-CH}_2$, las bandas presentan ligeros cambios al igual que la banda en 3328.20 cm^{-1} de los enlaces N-H que posiblemente pertenecen a el hexametilendiisocianato lo que indica una ligera afectación de estos enlaces, el carbonilo del grupo uretano disminuye un poco su intensidad a 1708.94 cm^{-1} .

Estos cambios se deben a la actividad de la enzima Papaína (R.A) que presenta especificidad sobre este tipo de enlaces.

En la microscopia electrónica de barrido que se muestra en la Figura 51, se puede observar que la enzima papaína realmente esta rompiendo enlaces en la espuma de poliuretano y se observa que las celdas de la estructura del la espuma no están completas y tiene un grado de ruptura importante.

**“DEGRADACIÓN ENZIMÁTICA CON ENZIMA UREASA
EXTRACTO/ETANOL FRÍJOL DE SOYA (0.5 g) 0.1%, T= 40°C Y
AGITACIÓN CONSTANTE PARA LA MUESTRA “A”.**



**Reactor utilizado para las degradaciones enzimáticas.*

Tabla 25. Porcentajes de pérdida después de la degradación para la Muestra “A” con enzima Ureasa fríjol de soya extracto/etanol.

| BUFFER | PH. | % DE PÉRDIDA DE LA ESPUMA DE POLIURETANO DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|------------------------------------------------------------|------|---------------------------------------------------------------------|
| $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$ (8.0) | 8.0 | 5.4% |
| $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ (8.11) | 8.12 | 0.2% |

Nota: pH inicial antes de agregar el extracto: 8.11, pH final después de agregar el extracto: 8.12.

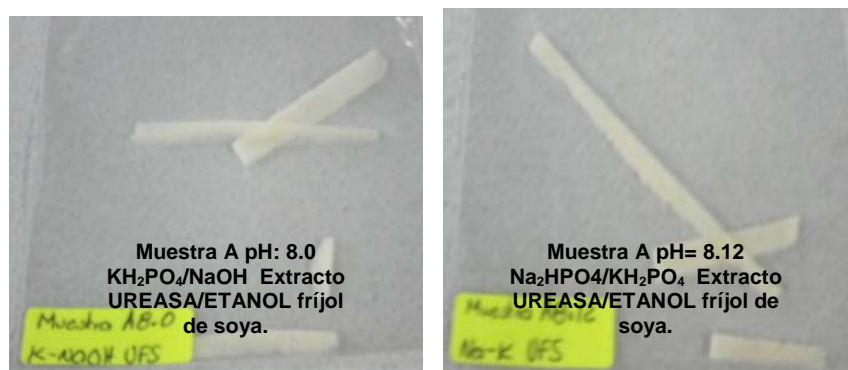


Figura 52. MUESTRA “A” después de la degradación a pH: 8.0, 8.12.

Como se puede ver en la Tabla 25, en las muestras A, $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$ pH=8.0 y $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ pH=8.12, se observó un ligero ataque en la espuma de Poliuretano por la enzima, había pequeñas partículas de espuma de Poliuretano en la solución buffer, estas soluciones se observaron cristalinas hasta concluir el tiempo de reacción, estas muestras se sometieron a análisis de IRTF.

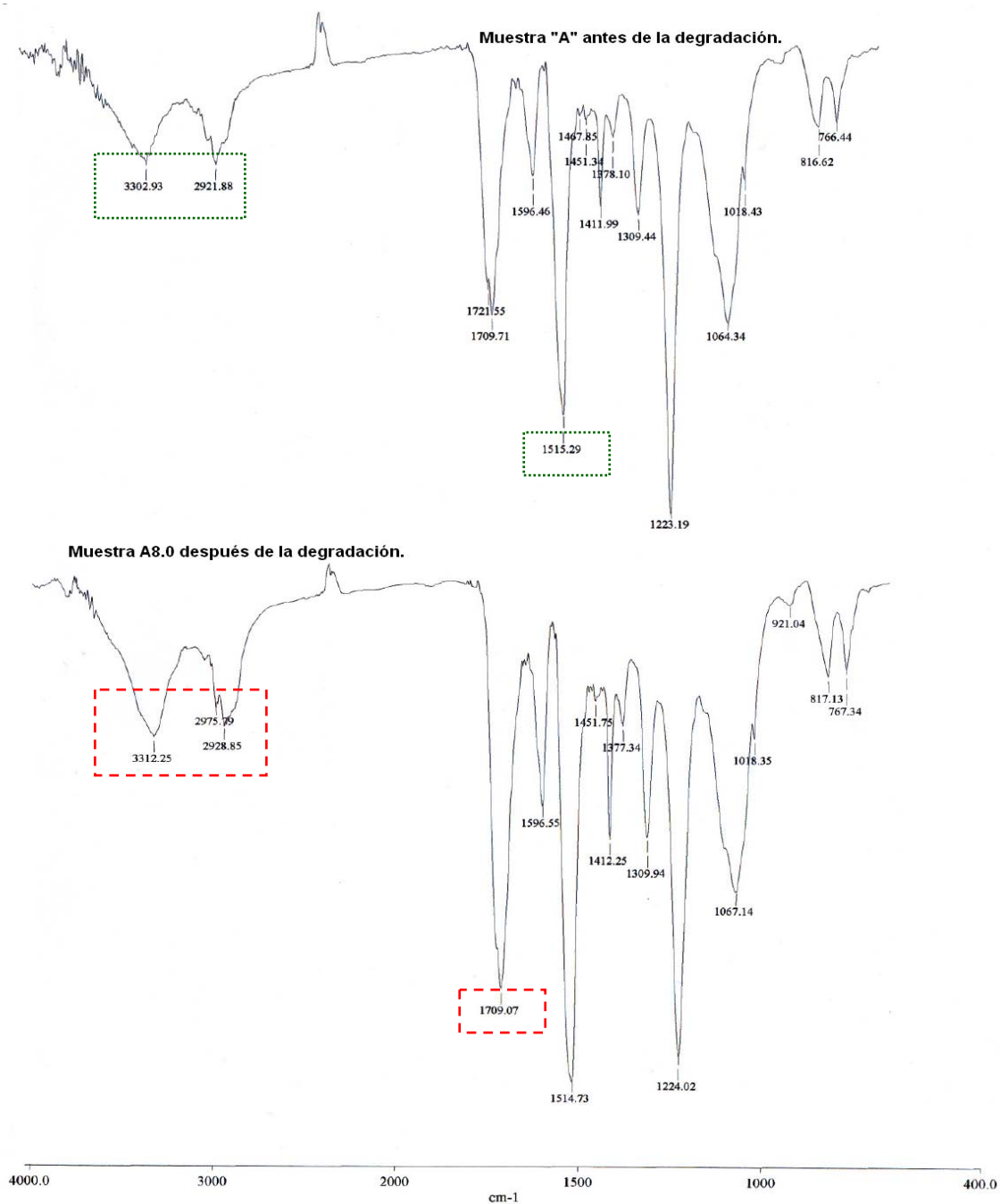


Figura 53. Espectroscopía de IRTF de la Muestra "A" pH=8.0 Buffer KH₂PO₄/NaOH usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Ureasa extracto/etanol Fríjol de soja.

Tabla 26. Análisis funcional para la Muestra “A” pH=8.0 Buffer $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$ usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Ureasa extracto/etanol frijol de soya.

| GRUPO FUNCIONAL. | AMPLITUD DE BANDA CM^{-1} | MUESTRA “A 8.0” ANTES DE LA DEGRADACIÓN. | MUESTRA “A 8.0” DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|-------------------------------|------------------------------------|------------------------------------------|--------------------------------------------|
| v Metilenos (CH_2) | 2700-3100 | 2921.88 | 2928.85 - - - - - 2975.79 |
| N-H | 3350-3310 | 3302.93 | - - - - - 3312.25 |
| C=O | 1700-1740 | 1709.71 | - - - - - 1709.07 |
| Compuesto aromático | Aprox. 1600 | ----- | ----- |

En el espectro que se muestra en la Figura 53, se observa que la parte de la espuma de poliuretano que presenta enlaces $\text{CH}_2\text{-CH}_2$, aparece una banda 2975.79 cm^{-1} , lo que indica una ruptura parcial de la cadena de metilenos.

La banda en 3302.93 cm^{-1} disminuyo su intensidad lo que puede decir que se están rompiendo parcialmente enlaces N-H que posiblemente pertenecen al hexametilendiisocianato, el carbonilo del grupo uretano disminuye un poco su intensidad a 1709.07 cm^{-1} .

Estos cambios se deben a la actividad de la enzima Ureasa (extracto etanol) que presenta especificidad sobre este tipo de enlaces.

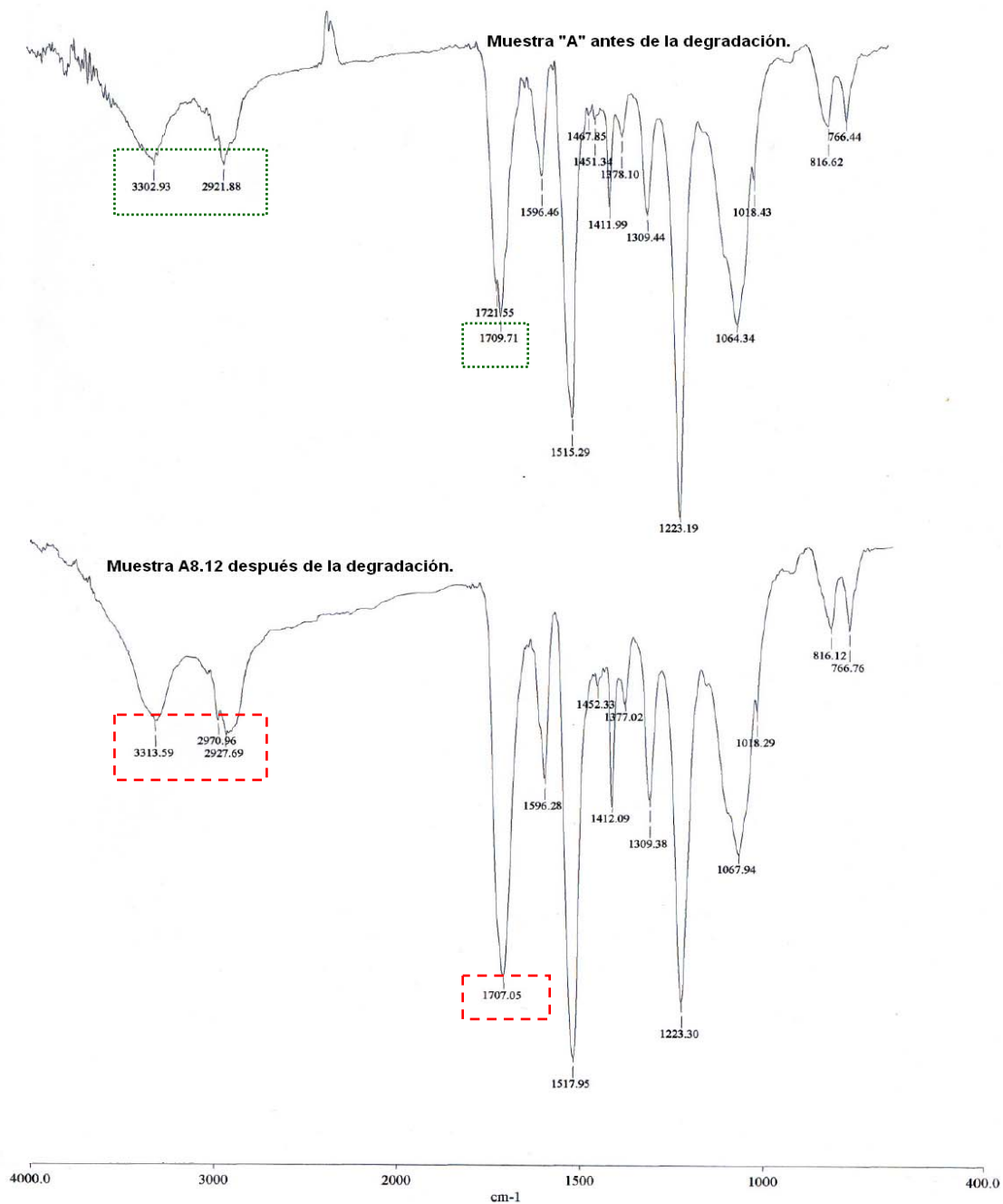


Figura 54. Espectroscopía de IRTF de la Muestra "A" pH=8.12 Buffer $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Ureasa extracto/etanol frijol de soya.

Tabla 27. Análisis funcional para la Muestra “A” pH=8.12 Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄ usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Ureasa extracto/etanol frijol de soya.

| GRUPO FUNCIONAL. | AMPLITUD DE BANDA CM. ⁻¹ | MUESTRA “A 8.12” ANTES DE LA DEGRADACIÓN. | MUESTRA “A 8.12” DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|--------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------------------------------|
| v metilenos (ch ₂) | 2700-3100 | 2921.88 | - - - - . 2927.69 2970.96 |
| n-h | 3350-3310 | 3302.93 | - - - - . 3313.59 |
| c=O | 1700-1740 | 1709.71 | - - - - . 1707.05 |
| compuesto aromático | aprox. 1600 | ----- | ----- |

En el espectro que se muestra en la Figura 54, se observa que la espuma de poliuretano que presenta enlaces CH₂-CH₂, aparece una banda 2970.96 cm⁻¹, lo que indica una ruptura de la cadena de metilenos.

La banda en 3302.93 cm⁻¹ aumento su intensidad lo que puede decir que se están afectando ligeramente los enlaces N-H que posiblemente pertenecen al hexametildiisocianato, el carbonilo del grupo uretano también es ligeramente afectado en 1707.05 cm⁻¹.

Esto se debe a la actividad de la enzima Ureasa (extracto etanol) que presenta especificidad sobre este tipo de enlaces a un pH= 8.12 y 40°C.

**“DEGRADACIÓN ENZIMÁTICA CON ENZIMA UREASA
EXTRACTO/ ETANOL FRÍJOL DE SOYA (0.5 g) 0.1%, T= 40°C Y
AGITACIÓN CONSTANTE PARA LA MUESTRA B”.**



**Reactor utilizado para las degradaciones enzimáticas.*

Tabla 28. Porcentajes de pérdida después de la degradación para la Muestra “B” con enzima Ureasa fríjol de soya extracto/etanol.

| BUFFER | PH. | % DE PÉRDIDA DE LA ESPUMA DE POLIURETANO DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|------------------------------------------------------------------------------|-------------|---------------------------------------------------------------------|
| KH₂PO₄/NaOH (8.0) | 8.14 | 4.6% |
| Na₂HPO₄/KH₂PO₄ (8.14) | 8.25 | 5.8% |

Nota: pH inicial antes de agregar el extracto: 8.0, pH final después de agregar el extracto: 8.14, y así para el Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄.

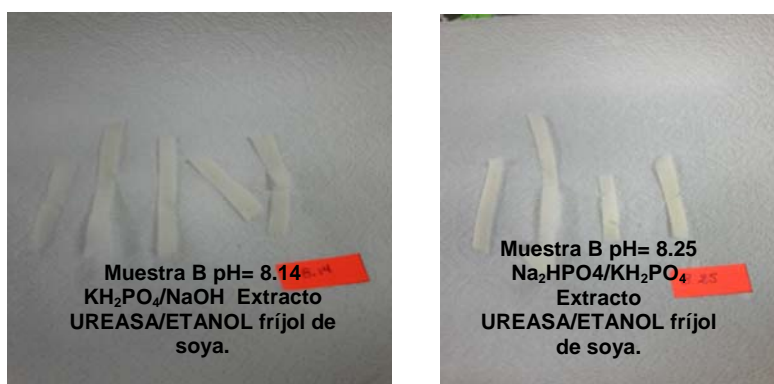


Figura 55. MUESTRA “B” después de la degradación a pH: 8.14, 8.25.

Como se puede ver en la Tabla 28, en las muestras B, KH₂PO₄/NaOH pH=8.14 y Na₂HPO₄/KH₂PO₄ pH=8.25, se observó un ligero ataque en la espuma de Poliuretano por la enzima, había pequeñas partículas de espuma de Poliuretano en la solución Buffer, estas soluciones Buffer se observaron cristalinas hasta concluir el tiempo de reacción, estas muestras se sometieron a análisis de IRTF.

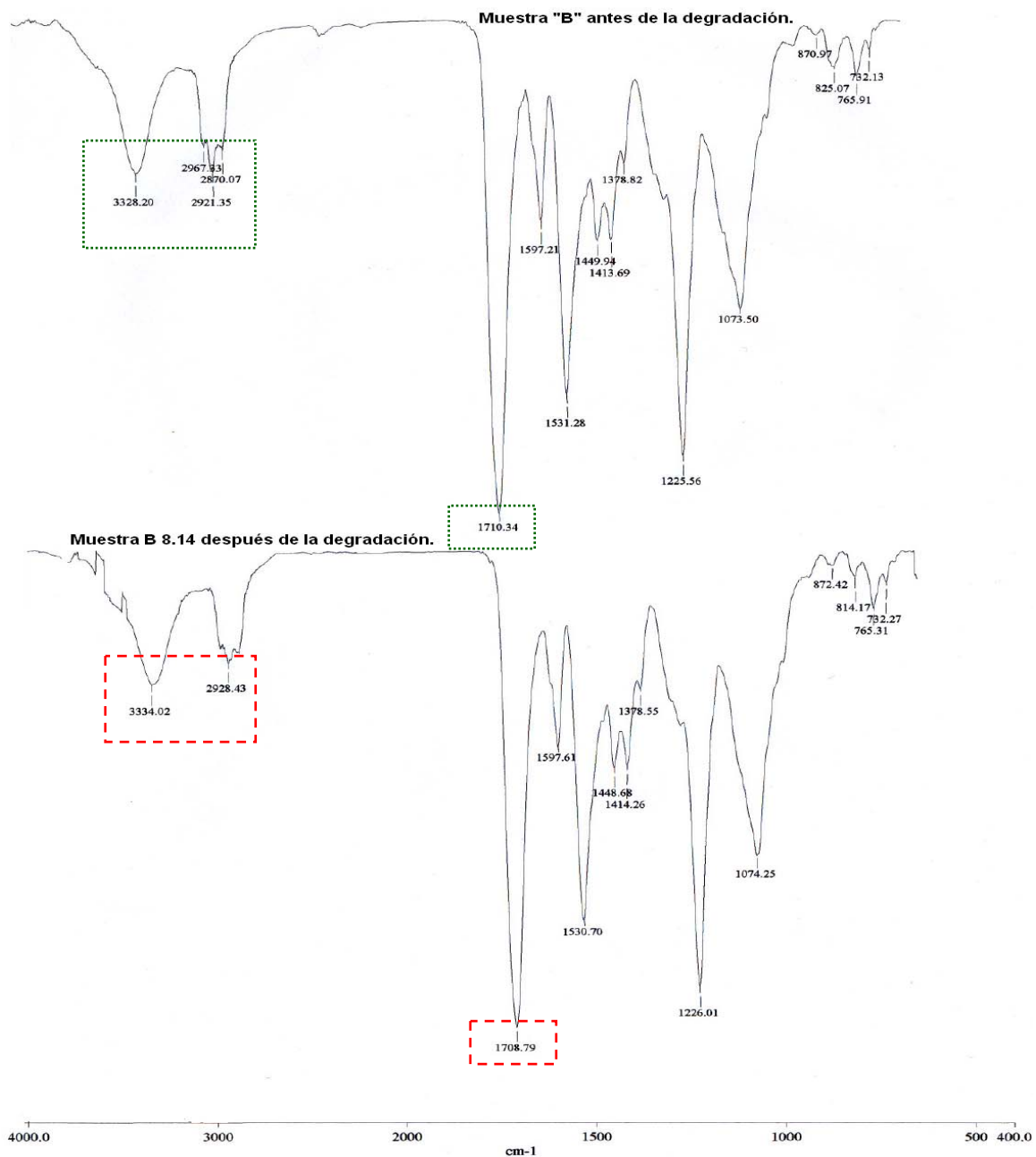


Figura 56. Espectroscopía de IRTF de la Muestra "B" pH= 8.14 Buffer KH₂PO₄/NaOH usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima extracto/etanol frijol de soya.

Tabla 29. Análisis funcional para la Muestra “B” pH= 8.14 Buffer KH₂PO₄/NaOH usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con extracto/etanol frijol de soya.

| GRUPO FUNCIONAL. | AMPLITUD DE BANDA CM. ⁻¹ | MUESTRA “B 8.14” ANTES DE LA DEGRADACIÓN. | MUESTRA “B 8.14” DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|--------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------------------------------|
| v Metilenos (CH ₂) | 2700-3100 | 2870.07 2921.35 2967.33 | - - - - 2928.43 |
| N-H | 3350-3310 | 3328.20.02 | - - - - 3334.04 |
| C=O | 1670-1640 | 1710.34 | - - - - 1708.79 |
| Compuesto aromático | Aprox. 1600 | ----- | ----- |

En el espectro que se muestra en la Figura 56, se observa que la parte de la espuma de poliuretano que presenta enlaces CH₂-CH₂, desaparecen las bandas 2870.07 cm⁻¹ y 2967.33 cm⁻¹, lo que indica una ruptura de la cadena de metilenos.

La banda en 3328.20 cm.⁻¹ presenta un cambio lo que puede decir que se están afectando ligeramente los enlaces N-H que posiblemente pertenecen al hexametildiisocianato, el carbonilo del grupo uretano también se observa afectado en 1708.79 cm⁻¹.

Esto se debe a la actividad de la enzima Ureasa (extracto etanol) que presenta especificidad sobre este tipo de enlaces a pH= 8.14 y 40°C.

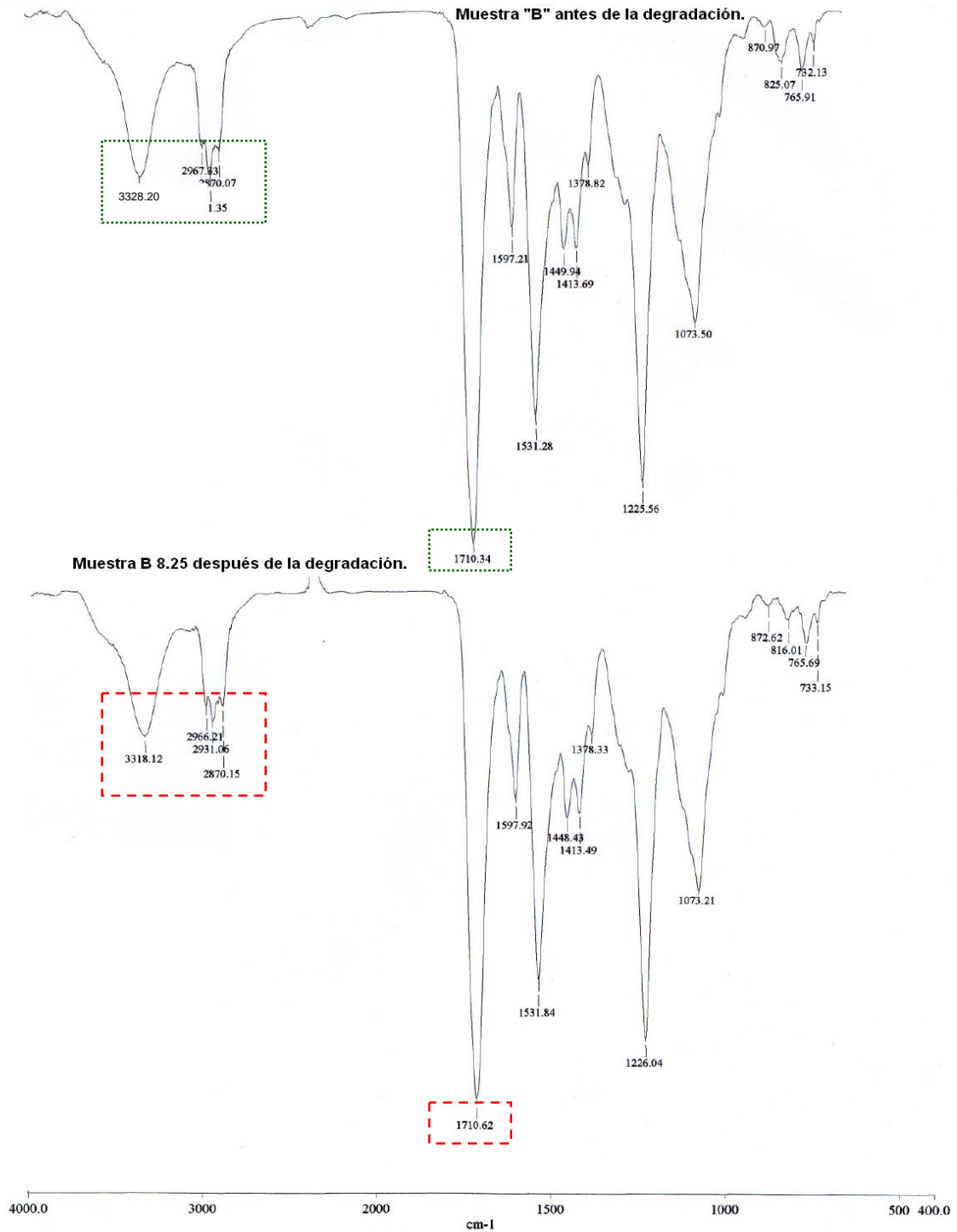


Figura 57. Espectroscopía de IRTF de la Muestra "B" pH= 8.25 Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄ usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Ureasa extracto/etanol fríjol de soya.

Tabla 30. Análisis funcional para la Muestra “B” ” pH= 8.25 Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄ usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Ureasa extracto/etanol fríjol de soya.

| GRUPO FUNCIONAL. | AMPLITUD DE BANDA CM. ⁻¹ | MUESTRA “B 8.25” ANTES DE LA DEGRADACIÓN. | MUESTRA “B 8.25” DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|--------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------------------------------|
| v Metilenos (CH ₂) | 2700-3100 | 2870.07 2921.35 2967.33 | 2870.15 - - - - 2931.06 2966.21 |
| N-H | 3350-3310 | 3328.20 | - - - - 3318.12 |
| C=O | 1670-1640 | 1710.34 | - - - - 1710.62 |
| Compuesto aromático | Aprox. 1600 | ----- | ----- |

En el espectro que se muestra en la Figura 57, se observa que la espuma de poliuretano que presenta enlaces CH₂-CH₂, las bandas se ven ligeramente afectadas, lo que indica una degradación de la cadena de metilenos.

La banda en 3328.20 cm⁻¹ es afectada lo que puede decir que se están atacando los enlaces N-H que posiblemente pertenecen al hexametilendiisocianato, el carbonilo del grupo uretano también es ligeramente atacado en 1710.62 cm⁻¹.

Esto se debe a la actividad de la enzima Ureasa (extracto etanol) que presenta especificidad sobre este tipo de enlaces a este pH= 8.25 y 40°C.

**“DEGRADACIÓN ENZIMÁTICA CON ENZIMA UREASA
EXTRACTO/ETANOL FRÍJOL DE SOYA (1 g) 0.1%, T= 50°C Y
AGITACIÓN CONSTANTE PARA LAS MUESTRAS A, B Y C”.**



**Reactor utilizado para las degradaciones enzimáticas.*

Tabla 31. Porcentajes de pérdida después de la degradación para las Muestra “A, B y C” con Ureasa extracto/etanol frijol de soya.

| BUFFER | PH. | % DE PÉRDIDA DE LA ESPUMA DE POLIURETANO DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|------------------------------------------------------------------------------------|-------------|---------------------------------------------------------------------|
| KH₂PO₄/NaOH (8.10) | 8.15 | A ₁) 5.4% |
| | | B ₂) 7.8% |
| | | C ₃) 3.2% |
| Na₂HPO₄/KH₂PO₄ (8.02) | 8.13 | A ₄) 4.6% |
| | | B ₅) 9.2% |
| | | C ₆) 45.9% |

Nota: pH inicial antes de agregar el extracto: 8.10, pH final después de agregar el extracto: 8.15, y así para el Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄



Figura 58. MUESTRA “B₂ y C₆” después de la degradación a pH: 8.15

Como se puede ver en la Tabla 31, en las muestras B₂, KH₂PO₄/NaOH pH=8.15, se observó un ligero ataque en la espuma de Poliuretano por la enzima, había pequeñas partículas de espuma de Poliuretano en la solución buffer y en la muestra C₆ Na₂HPO₄/KH₂PO₄ pH=8.13, se observó un ataque en la espuma por la enzima, había muchas partículas de espuma de Poliuretano en la solución Buffer, estas soluciones Buffer se observaron cristalinas hasta concluir el tiempo de reacción, las muestras se sometieron a análisis de IRTF.

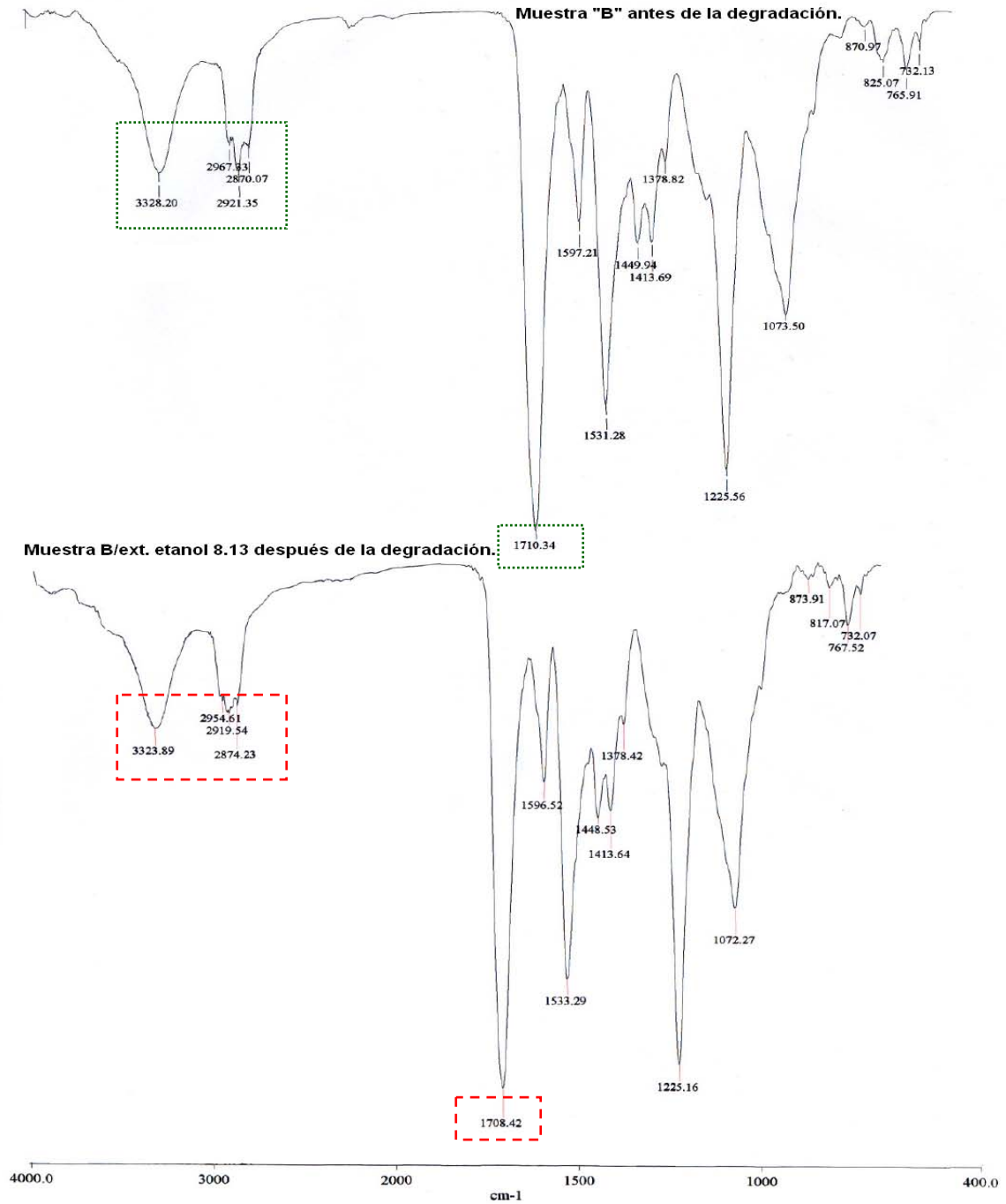


Figura 59. Espectroscopía de IRTF de la Muestra "B₂" pH=8.15 Buffer KH₂PO₄/NaOH usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Ureasa extracto/etanol frijol de soya.

Tabla 32. Análisis funcional para la Muestra “B₂” pH=8.15 Buffer KH₂PO₄/NaOH usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Ureasa extracto/etanol frijol de soya.

| GRUPO FUNCIONAL. | AMPLITUD DE BANDA CM. ⁻¹ | MUESTRA “B 8.13” ANTES DE LA DEGRADACIÓN. | MUESTRA “B 8.13” DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|--------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------------------------------|
| ν Metilenos (CH ₂) | 2700-3100 | 2870.07 | 2874.23 |
| | | 2921.35 | ----- 2919.54 |
| | | 2967.33 | 2954.61 |
| | | | |
| N-H | 3350-3310 | 3328.20 | ----- 3323.89 |
| C=O | 1670-1640 | 1710.34 | ----- 1708.42 |
| Compuesto aromático | Aprox. 1600 | ----- | ----- |

En el espectro que se muestra en la Figura 59, se observa que la espuma de poliuretano que presenta enlaces CH₂-CH₂, las bandas se afectaron ligeramente, lo que indica una pequeña degradación de la cadena de metilenos.

La banda en 3328.20 cm⁻¹ disminuyó su intensidad lo que puede decir que se están afectando los enlaces N-H que posiblemente pertenecen al hexametilendiisocianato, el carbonilo del grupo uretano disminuye un poco su intensidad a 1708.42 cm⁻¹.

Esto se debe a la actividad de la enzima Ureasa (extracto etanol) que presenta especificidad sobre este tipo de enlaces a pH= 8.15 y 50°C.

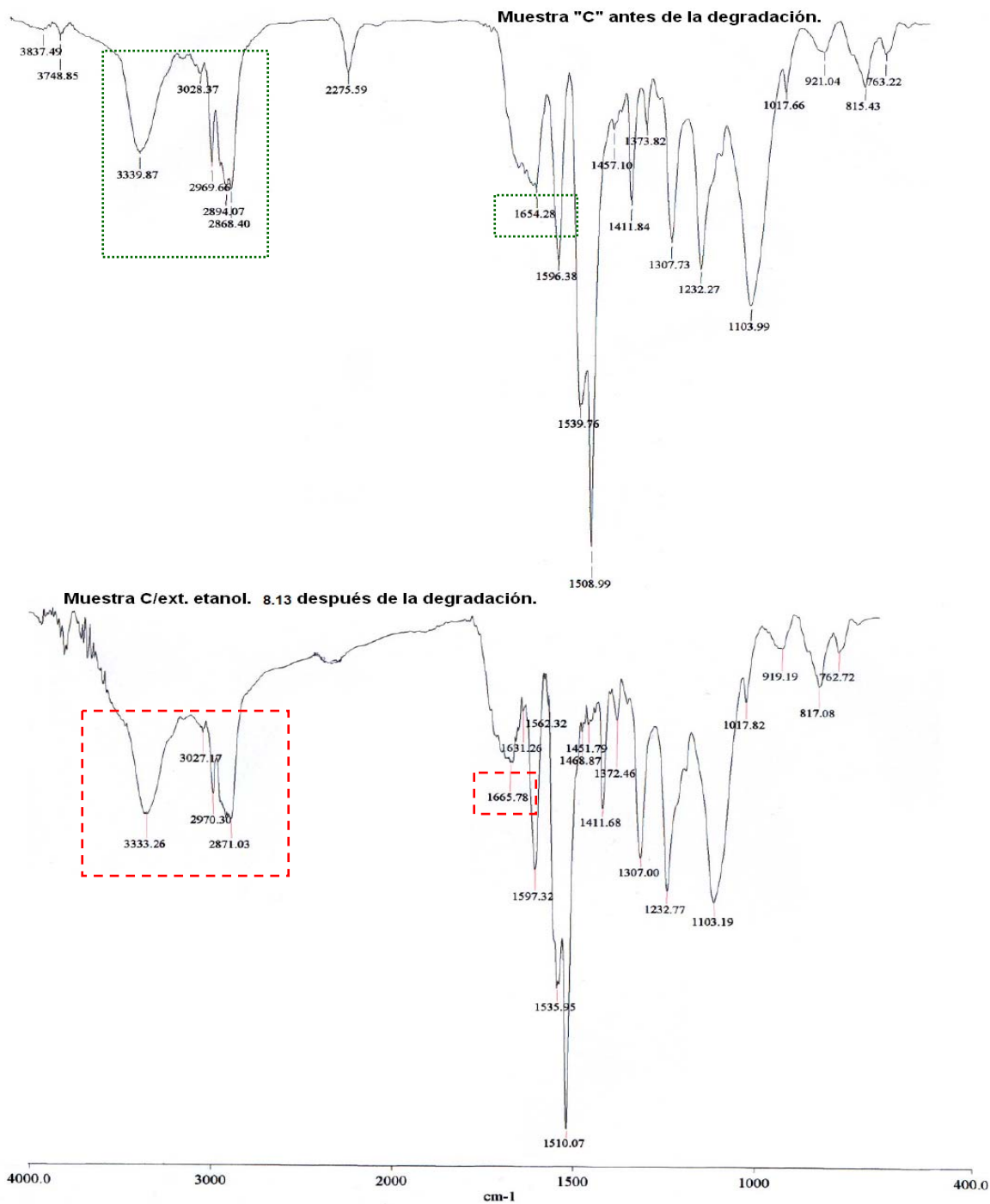


Figura 60. Espectroscopía de IRTF de la Muestra "C₆" pH= 8.13 Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄ usada como almohadilla de embalaje, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Ureasa extracto/etanol frijol de soya.

Tabla 33. Análisis funcional para la Muestra “C” pH= 8.13 Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄ usada como almohadilla de embalaje, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Ureasa extracto/etanol frijol de soya.

| GRUPO FUNCIONAL. | AMPLITUD DE BANDA CM. ⁻¹ | MUESTRA “C 8.13” ANTES DE LA DEGRADACIÓN. | MUESTRA “C 8.13” DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|--------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------------------------------|
| ν Metilenos (CH ₂) | 2700-3100 | 2868.40 | 2871.03 |
| | | 2894.07 | - - - - 2970.30 |
| | | 2969.66 | 3027.17 |
| | | 3028.37 | |
| N-H | 3350-3310 | 3339.87 | - - - - 3333.26 |
| C=O (amida) | 1670-1640 | 1654.28 | - - - - 1665.78 |
| Compuesto aromático | Aprox. 1600 | ----- | ----- |

En el espectro que se muestra en la Figura 60, se observa que la parte de la espuma de poliuretano que presenta enlaces CH₂-CH₂, desaparece la banda 2894.04 cm⁻¹, lo que indica una ruptura de la cadena de metilenos, también desaparece la banda que esta situada en la región 2275.59 cm⁻¹.

La banda en 3339.87 cm⁻¹ disminuyo su intensidad lo que puede decir que se están afectando los enlaces N-H que posiblemente pertenecen al hexametildiisocianato, además desaparecen las 2 bandas que están en las regiones 3748.85 cm⁻¹ y 3837.49 cm⁻¹, el carbonilo disminuye un poco su intensidad a 1665.78 cm⁻¹.

Esto se debe a la actividad de la enzima Ureasa (extracto etanol) que presenta especificidad sobre este tipo de enlaces a un pH= 8.13 y 50°C.

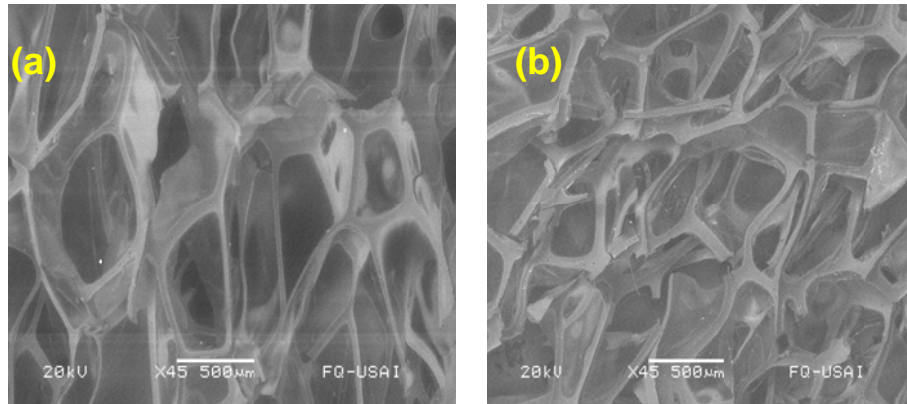


Figura 61. Microscopia Electrónica de Barrido para la Muestra “C₆”, antes (a) y después (b) de la degradación con ureasa extracto/etanol fríjol de soya pH= 8.13 Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄.

En la Figura 61. Podemos observar que la enzima Ureasa extracto/etanol fríjol de soya, degrada considerablemente la estructura de la espuma de poliuretano, en la figura (a) se observan las celas enteras y bien formadas sin ningún daño, y en la figura (b) se observa el daño que ha ocasionado la enzima rompiendo las celdas, dejando deformaciones en las mismas, por lo que podemos decir que esta concentración y condiciones de reacción fueron las mejores para este extracto.

**“DEGRADACIÓN ENZIMÁTICA CON ENZIMA UREASA
EXTRACTO/ACETONA FRÍJOL DE SOYA (0.5 g) 0.1%, T= 21.9°C
(25°C TEMPERATURA REAL DE TRABAJO) Y AGITACIÓN
CONSTANTE PARA LAS MUESTRAS A, B Y C”.**

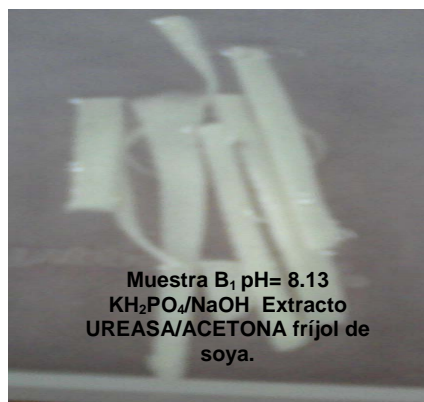


**Reactor utilizado para las degradaciones enzimáticas.*

Tabla 34. Porcentajes de pérdida después de la degradación para las Muestras “A, B y C” con Ureasa extracto/acetona frijol de soya.

| BUFFER | PH. | % DE PÉRDIDA DE LA ESPUMA DE POLIURETANO DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|------------------------------------------------------------------------------------|-------------|---------------------------------------------------------------------|
| KH₂PO₄/NaOH (8.23) | 8.13 | A ₁) 2.1% |
| | | A ₂) 2% |
| | | B ₁) 9.4% |
| | | C ₁) 9.5% |
| | | C ₂) 4.5% |
| Na₂HPO₄/KH₂PO₄ (8.09) | 7.92 | A ₃) 2.5% |
| | | A ₄) 2.8% |
| | | B ₂) 1% |
| | | C ₃) 6.8% |
| | | C ₄) 2.5% |

Nota: pH inicial antes de agregar el extracto: 8.23, pH final después de agregar el extracto: 8.13, y así para el Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄



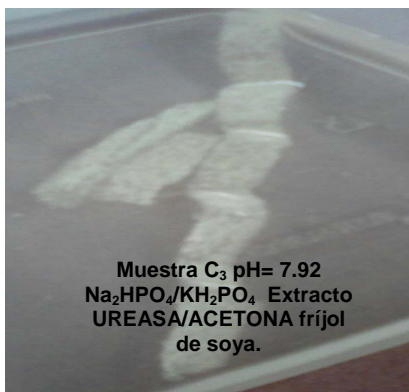


Figura 62. MUESTRAS "B₁, C₁ y C₃" después de la degradación a pH: 7.92 y 8.13.

Como se puede ver en la Tabla 34, en las muestras B₁ y C₁, KH₂PO₄/NaOH pH=8.13 y las muestras A₄, C₂ y C₃ Na₂HPO₄/KH₂PO₄ pH=7.92, se observó un ligero ataque en la espuma de Poliuretano por la enzima, había pequeñas partículas de espuma de Poliuretano en las soluciones Buffer, estas soluciones Buffer se observaron cristalinas hasta concluir el tiempo de reacción, las muestras que presentaron mayor pérdida de peso se sometieron a análisis de IRTF.

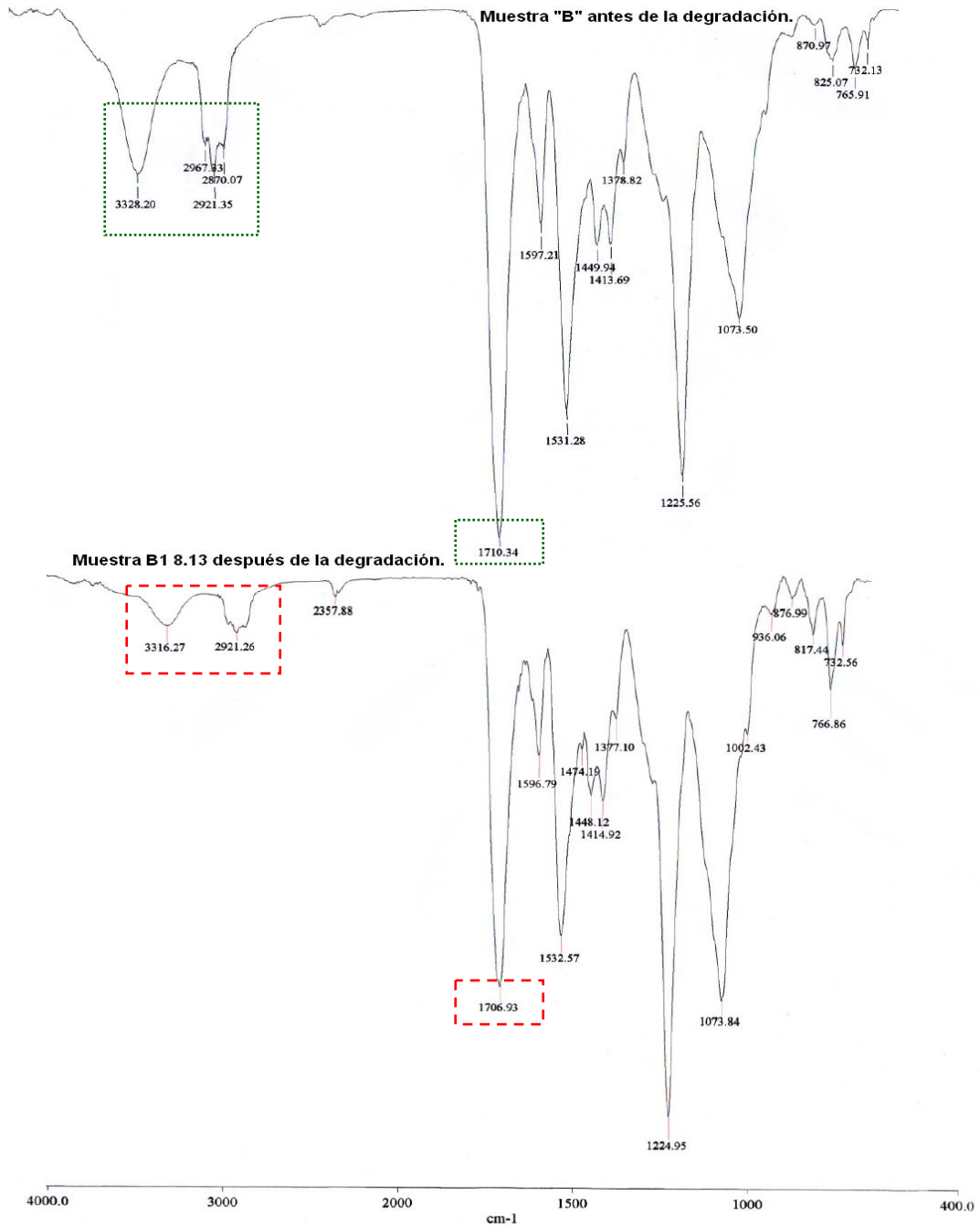


Figura 63. Espectroscopía de IRTF de la Muestra "B₁" pH=8.13 Buffer KH₂PO₄/NaOH usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Ureasa extracto/acetona fríjol de soya.

Tabla 35. Análisis funcional para la Muestra “B₁” pH=8.13 Buffer KH₂PO₄/NaOH usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Ureasa extracto/acetona fríjol de soya.

| GRUPO FUNCIONAL. | AMPLITUD DE BANDA CM. ⁻¹ | MUESTRA “B ₁ 8.13” ANTES DE LA DEGRADACIÓN. | MUESTRA “B ₁ 8.13” DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|--------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| v Metilenos (CH ₂) | 2700-3100 | 2870.07 2921.35 2967.33 | ----- 2921.26 |
| N-H | 3350-3310 | 3328.20 | ----- 3316.27 |
| C=O | 1670-1640 | 1710.34 | ----- 1706.93 |
| Compuesto aromático | Aprox. 1600 | ----- | ----- |

En el espectro que se muestra en la Figura 63, se observa que la espuma de poliuretano que presenta enlaces CH₂-CH₂, desaparecen las bandas 2870.07 cm⁻¹ y 2967.33 cm⁻¹, lo que indica una ruptura de la cadena de metilenos.

La banda en 3328.20 cm⁻¹ disminuyó su intensidad lo que puede decir que se están afectando ligeramente los enlaces N-H que posiblemente pertenecen al hexametildiisocianato, el carbonilo del grupo uretano disminuye un poco su intensidad a 1706.93 cm⁻¹.

Esto se debe a la actividad de la enzima Ureasa (extracto acetona) que presenta especificidad sobre este tipo de enlaces a este pH= 8.13 y 25°C la cual fue la temperatura real de trabajo, ya que la temperatura a la que se debió trabajar era 21.9°C pero fue muy difícil mantener esta temperatura, dadas las condiciones (de ventilación) que se encuentra el área de trabajo.

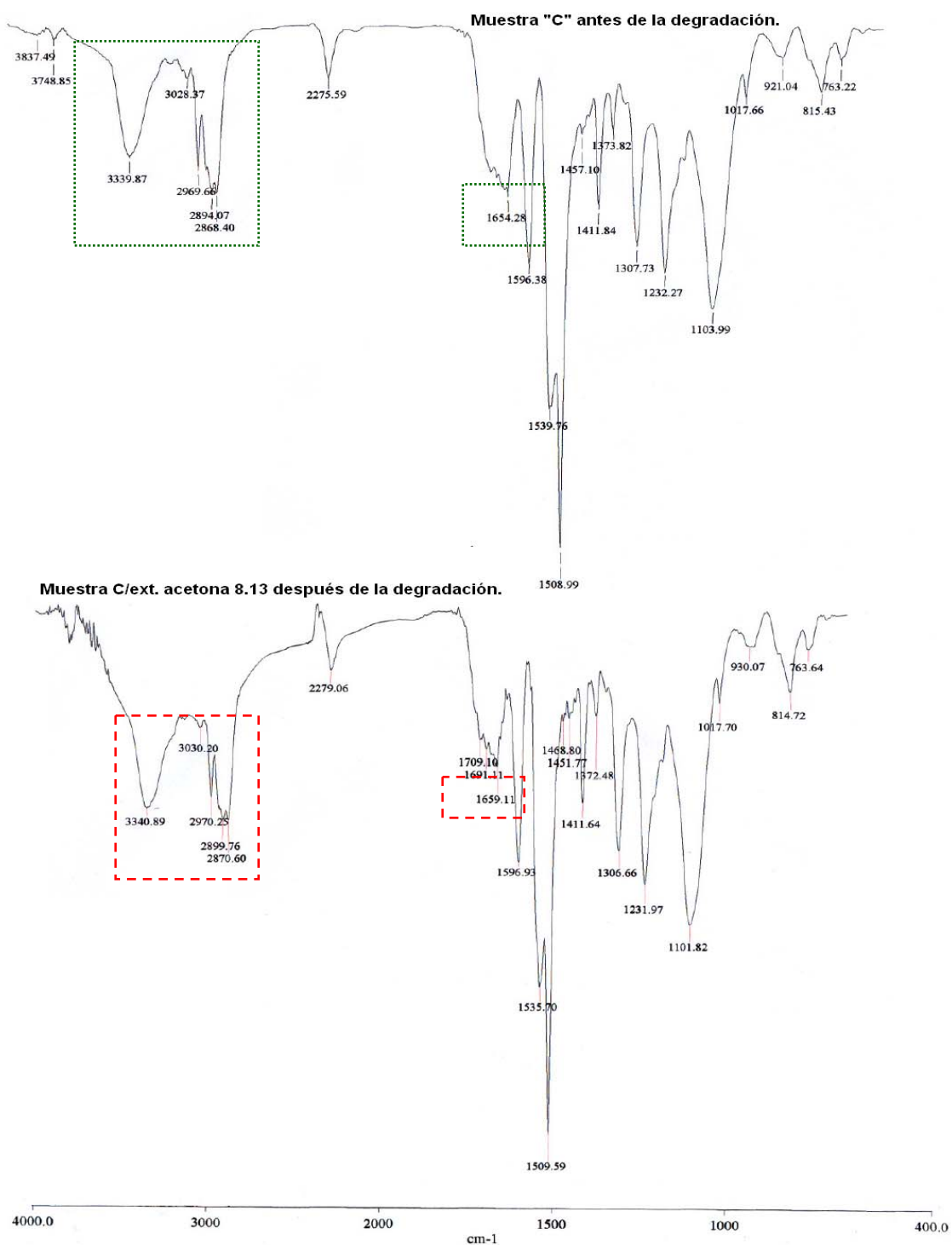


Figura 64. Espectroscopía de IRTF de la Muestra "C₁" pH=8.13 Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄ usada como almohadilla de embalaje, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Ureasa extracto/acetona fríjol de soya.

Tabla 36. Análisis funcional para la Muestra “C₁” pH=8.13 Buffer KH₂PO₄/NaOH usada como almohadilla de embalaje, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Ureasa extracto/acetona fríjol de soya.

| GRUPO FUNCIONAL. | AMPLITUD DE BANDA CM. ⁻¹ | MUESTRA “C 8.13” ANTES DE LA DEGRADACIÓN. | MUESTRA “C 8.13” DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|--------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| v Metilenos (CH ₂) | 2700-3100 | 2868.40 2894.07 2969.66 3028.37 | 2870.60 2899.76 - - - - - 2970.25 3030.20 |
| N-H | 3350-3310 | 3339.87 | - - - - - 3340.89 |
| C=O (amida) | 1670-1640 | 1654.28 | - - - - - 1659.11 |
| Compuesto aromático | Aprox. 1600 | ----- | ----- |

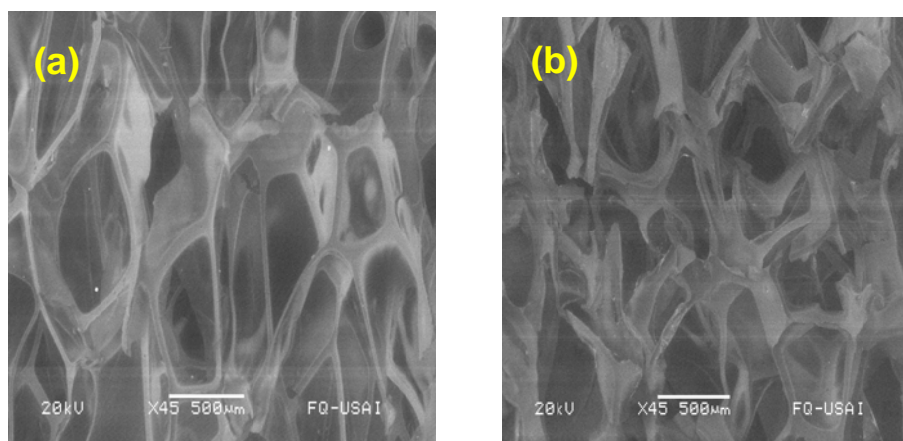


Figura 65. Microscopia Electrónica de Barrido para la Muestra “C₁”, antes (a) y después (b) de la degradación con Ureasa extracto/acetona fríjol de soya pH= 8.13 Buffer KH₂PO₄/NaOH.

En el espectro que se muestra en la Figura 64, se observa que la parte de la espuma de poliuretano que presenta enlaces $\text{CH}_2\text{-CH}_2$, hay ligeros cambios en las bandas de esta región, lo que indica una ruptura total de la cadena de metilenos.

La banda en 3328.20 cm^{-1} disminuyo muy poco su intensidad lo que puede decir que se están afectando ligeramente los enlaces N-H que posiblemente pertenecen al hexametildiisocianato, el carbonilo disminuye un poco su intensidad a 1659.11 cm^{-1} .

Esto se debe a la actividad de la enzima Ureasa (extracto acetona) que presenta especificidad sobre este tipo de enlaces a este $\text{pH}=8.13$ y 25°C .

En la microscopia electrónica de barrido que se muestra en la Figura 65, se puede observar que la enzima Ureasa (extracto acetona) esta rompiendo enlaces en la espuma de poliuretano lo que indica que esta degradando y se observa que algunas celdas de la espuma prácticamente desaparecieron.

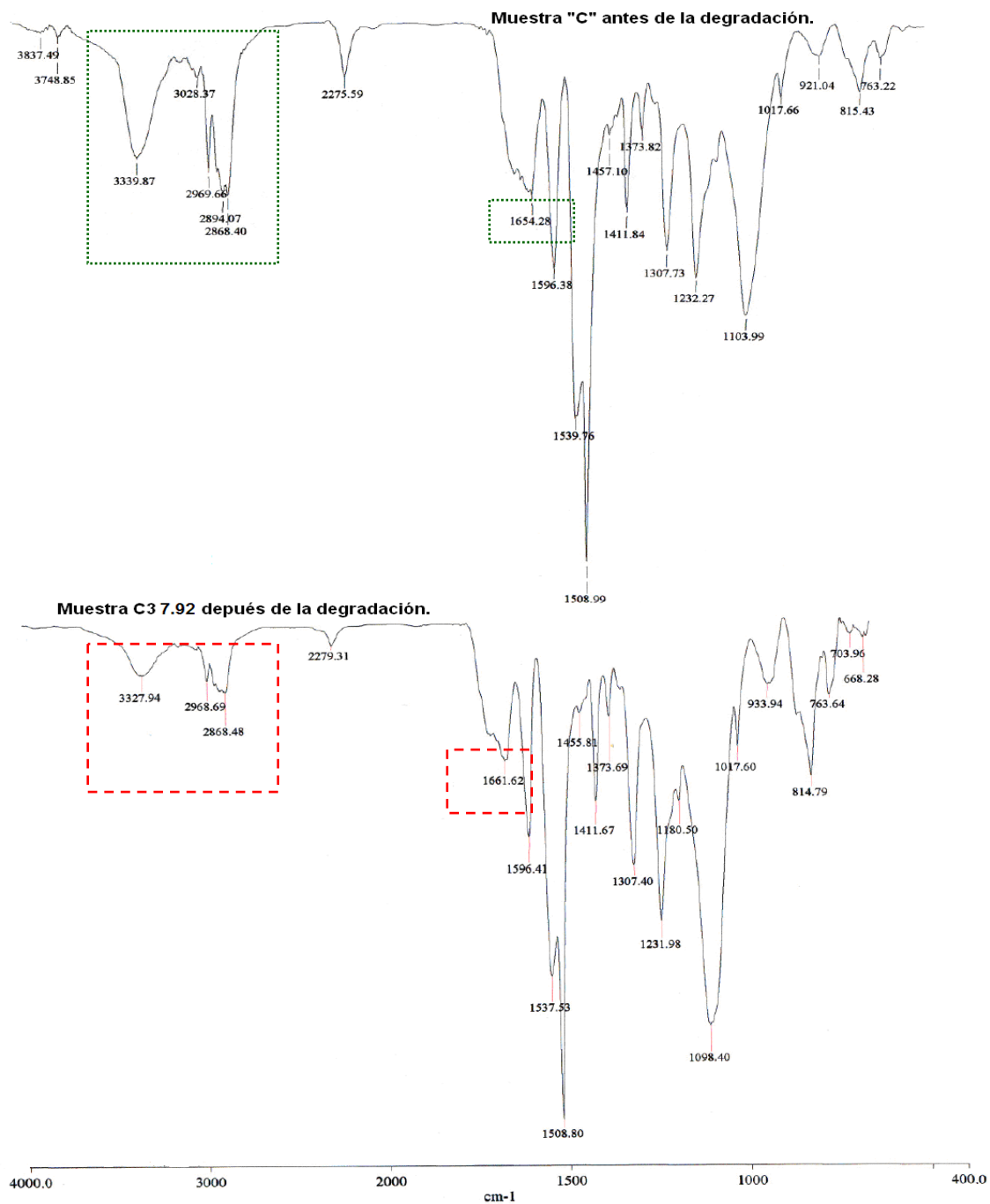


Figura 66. Espectroscopía de IRTF de la Muestra "C₃" pH=7.92 Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄ usada como almohadilla de embalaje, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Ureasa extracto/acetona frijol de soya.

Tabla 37. Análisis funcional para la Muestra “C₃” pH=7.92 Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄ usada como almohadilla de embalaje, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Ureasa extracto/acetona fríjol de soya.

| GRUPO FUNCIONAL. | AMPLITUD DE BANDA CM. ⁻¹ | MUESTRA “C ₃ 7.29” ANTES DE LA DEGRADACIÓN. | MUESTRA “C ₃ 7.29” DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|--------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| v Metilenos (CH ₂) | 2700-3100 | 2868.40 2894.07 2969.66 3028.37 | 2868.48 - - - - - 2968.69 |
| N-H | 3350-3310 | 3339.87 | - - - - - 3327.94 |
| C=O (amida) | 1670-1640 | 1654.28 | - - - - - 1661.62 |
| Compuesto aromático | Aprox. 1600 | ----- | ----- |

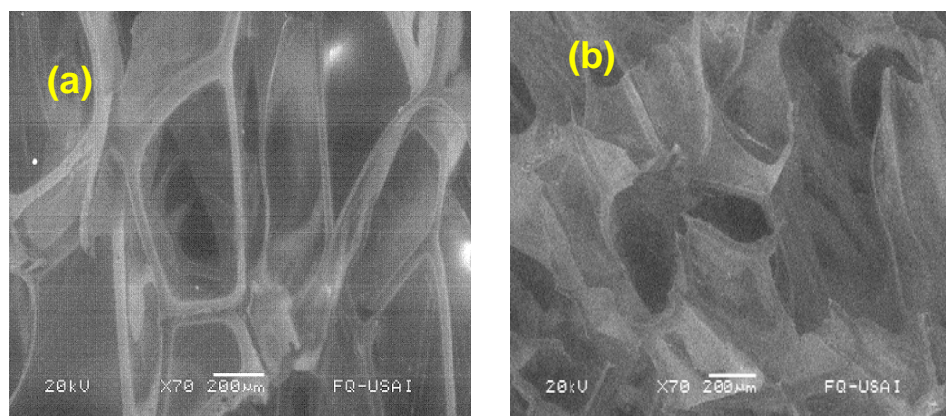


Figura 67. Microscopia Electrónica de Barrido para la Muestra “C₃”, antes (a) y después (b) de la degradación con Ureasa extracto/acetona fríjol de soya pH= 7.29 Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄.

En el espectro que se muestra en la Figura 66, se observa que la espuma de poliuretano que presenta enlaces $\text{CH}_2\text{-CH}_2$, desaparecen las bandas 2969.66 cm^{-1} y 3028.37 cm^{-1} , lo que indica una ruptura total de la cadena de metilenos.

La banda en 3339.87 cm^{-1} disminuyo su intensidad lo que puede decir que se están afectando ligeramente los enlaces N-H que posiblemente pertenecen al hexametildiisocianato, el carbonilo disminuye un poco su intensidad a 1661.62 cm^{-1} .

Esto se debe a la actividad de la enzima Ureasa (extracto acetona) que presenta especificidad sobre este tipo de enlaces a este $\text{pH}=7.92$ y 25°C .

En la microscopia electrónica de barrido que se muestra en la Figura 67, se puede observar que la enzima Ureasa (extracto acetona) esta rompiendo enlaces en la espuma de poliuretano y se observan deformaciones en la celdas del la espuma debidas a la degradación que esta enzima ocasiono.

**“DEGRADACIÓN ENZIMÁTICA CON ENZIMA UREASA
EXTRACTO/ACETONA FRÍJOL DE SOYA (0.5 g) 0.1%, T= 30°C Y
AGITACIÓN CONSTANTE PARA LAS MUESTRAS A, B Y C”.**



**Reactor utilizado para las degradaciones enzimáticas.*

Tabla 38. Porcentajes de pérdida después de la degradación para las Muestras “A, B y C” con enzima Ureasa extracto/acetona frijol de soya.

| BUFFER | PH. | % DE PÉRDIDA DE LA ESPUMA DE POLIURETANO DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|------------------------------------------------------------------------------------|-------------|---------------------------------------------------------------------|
| KH₂PO₄/NaOH (8.15) | 8.23 | A ₁) 2.3% |
| | | A ₂) 3.3% |
| | | B₁) 5.2% |
| | | C ₁) 0% |
| | | C ₂) 0% |
| Na₂HPO₄/KH₂PO₄ (8.05) | 8.10 | A ₃) 0% |
| | | A₄) 16.2% |
| | | B ₂) 0.4% |
| | | C₃) 11.9% |
| | | C ₄) 2.7% |



Figura 68. MUESTRA “A₄, B₁ y C₃” después de la degradación a pH: 8.10 y 8.23.

Como se puede ver en la Tabla 35, en las muestras "A₂ y B₁", KH₂PO₄/NaOH pH=8.23 y las muestras A₄ y C₃ Na₂HPO₄/KH₂PO₄ pH=8.10, se observó un ligero ataque en la espuma de Poliuretano por la enzima, había pequeñas partículas de espuma de Poliuretano en las soluciones buffer, estas soluciones se observaron cristalinas hasta concluir el tiempo de reacción, estas muestras se sometieron a análisis de IRTF.

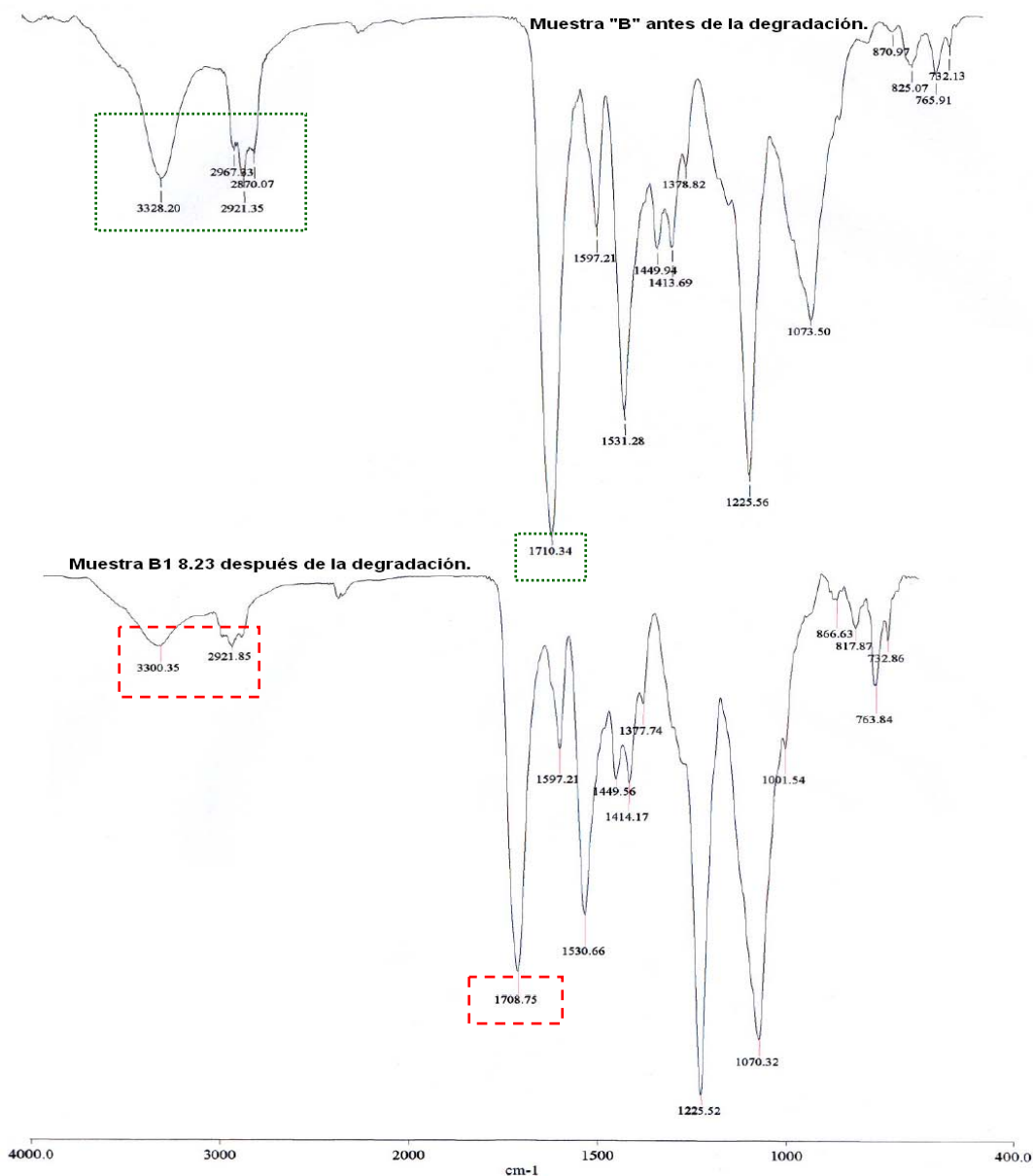


Figura 69. Espectroscopía de IRTF de la Muestra "B₁" pH=8.23 Buffer KH₂PO₄/NaOH usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Ureasa extracto/acetona fríjol de soya.

Tabla 39. Análisis funcional para la Muestra “B₁” pH=8.23 Buffer KH₂PO₄/NaOH usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Ureasa extracto/acetona fríjol de soya.

| GRUPO FUNCIONAL. | AMPLITUD DE BANDA CM. ⁻¹ | MUESTRA “B ₁ 8.23” ANTES DE LA DEGRADACIÓN. | MUESTRA “B ₁ 8.23” DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|--------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| v Metilenos (CH ₂) | 2700-3100 | 2870.07 2921.35 2967.33 | - - - - 2921.85 |
| N-H | 3350-3310 | 3328.20 | - - - - 3300.35 |
| C=O | 1670-1640 | 1710.34 | - - - - 1708.75 |
| Compuesto aromático | Aprox. 1600 | ----- | ----- |

En el espectro que se muestra en la Figura 69, se observa que la espuma de poliuretano que presenta enlaces CH₂-CH₂, desaparecen las bandas 2870.07 cm⁻¹ y 2967.33 cm⁻¹, lo que indica una ruptura de la cadena de metilenos.

La banda en 3328.20 cm⁻¹ disminuyo su intensidad lo que puede decir que se están afectando los enlaces N-H que posiblemente pertenecen al hexametilendiisocianato, el carbonilo del grupo uretano disminuye su intensidad a 1708.75 cm⁻¹.

Esto se debe a la actividad de la enzima Ureasa (extracto acetona) que presenta especificidad sobre este tipo de enlaces a este pH= 8.23 y 30°C.

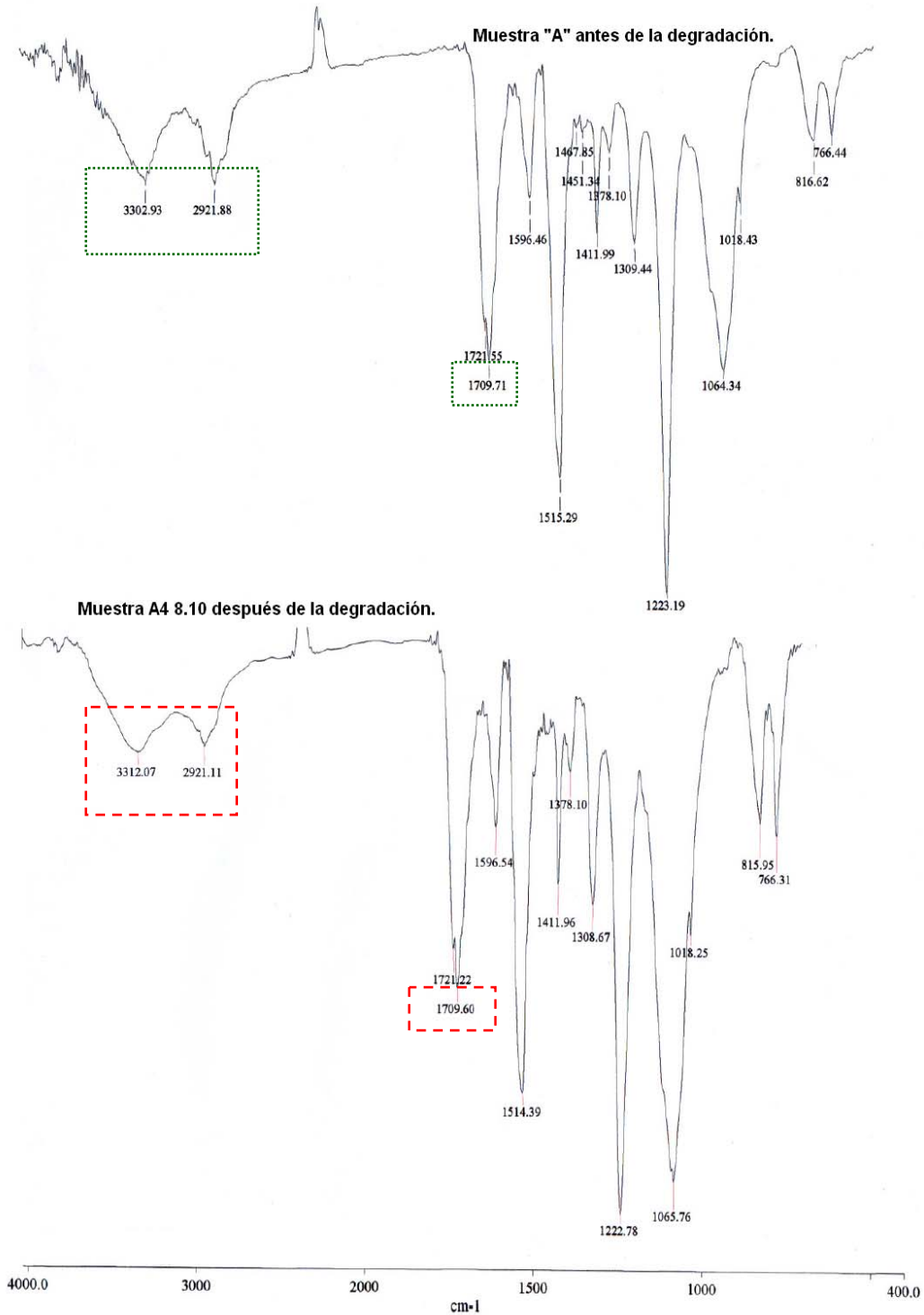


Figura 70. Espectroscopía de IRTF de la Muestra "A₄" pH=8.10 Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄ usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Ureasa extracto/acetona frijol de soya.

Tabla 40. Análisis funcional para la Muestra “A₄” pH=8.10 Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄ usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Ureasa extracto/acetona fríjol de soya.

| GRUPO FUNCIONAL. | AMPLITUD DE BANDA CM. ⁻¹ | MUESTRA “A ₄ 8.10” ANTES DE LA DEGRADACIÓN. | MUESTRA “A ₄ 8.10” DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|--------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| v Metilenos (CH ₂) | 2700-3100 | 2921.88 | - - - - 2921.11 |
| N-H | 3350-3310 | 3302.93 | - - - - 3312.07 |
| C=O | 1700-1740 | 1709.71 | - - - - 1709.60 |
| Compuesto aromático | Aprox. 1600 | ----- | ----- |

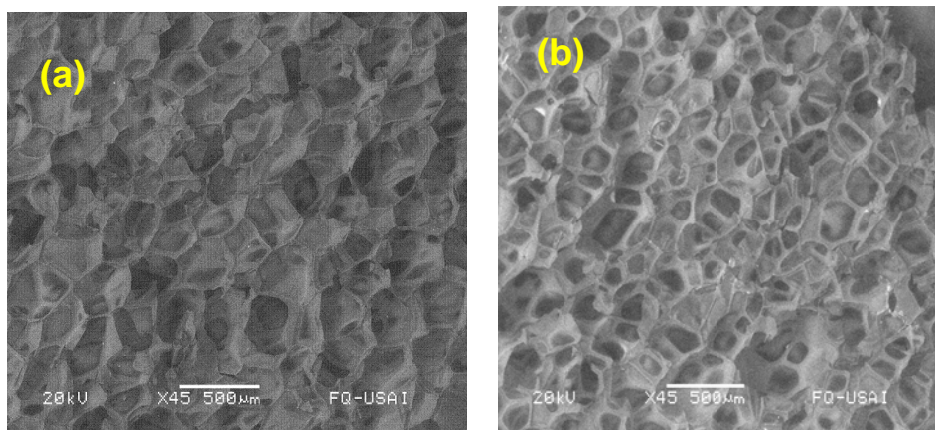


Figura 71. Microscopia Electrónica de Barrido para la Muestra “A₄”, antes (a) y después (b) de la degradación con enzima Ureasa extracto/acetona fríjol de soya pH= 8.10 Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄.

En el espectro que se muestra en la Figura 70, se observa que la parte de la espuma de poliuretano que presenta enlaces CH₂-CH₂, la banda se ve ligeramente afectada, lo que indica una pequeñísima afectación de la cadena de metilenos.

La banda en 3302.93 cm^{-1} disminuyó su intensidad lo que puede decir que se están afectando ligeramente los enlaces N-H que posiblemente pertenecen al hexametildisocianato, el carbonilo del grupo uretano disminuye un poco su intensidad a 1709.60 cm^{-1} .

Esto se debe a la actividad de la enzima Ureasa (extracto acetona) que presenta especificidad sobre este tipo de enlaces a este pH= 8.10 y 30°C .

En la microscopía electrónica de barrido que se muestra en la Figura 71, se puede observar que la enzima Ureasa (extracto acetona) está rompiendo enlaces en la espuma de poliuretano y se observa que algunas celdas que constituyen la espuma han desaparecido y eso se debe a la degradación que la enzima ha hecho a la espuma de poliuretano.

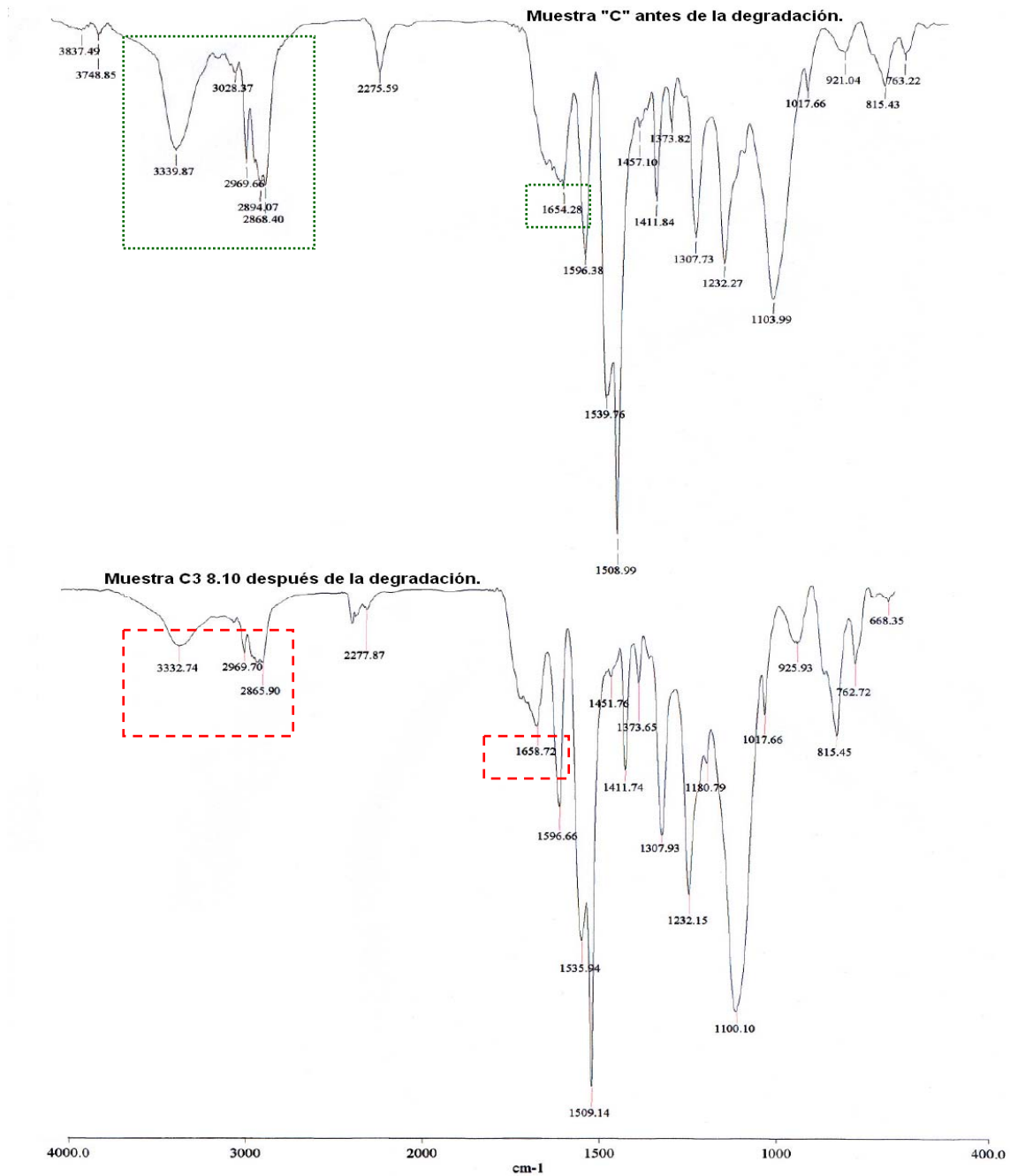


Figura 72. Espectroscopía de IRTF de la Muestra "C₃" pH=8.10 Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄ usada como almohadilla de embalaje, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Ureasa extracto/acetona fríjol de soya.

Tabla 41. Análisis funcional para la Muestra “C₃” pH=8.10 Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄ usada como almohadilla de embalaje, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Ureasa extracto/acetona fríjol de soya.

| GRUPO FUNCIONAL. | AMPLITUD DE BANDA CM. ⁻¹ | MUESTRA “C ₃ 8.10” ANTES DE LA DEGRADACIÓN. | MUESTRA “C ₃ 8.10” DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|--------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| v Metilenos (CH ₂) | 2700-3100 | 2868.40 2894.07 2969.66 3028.37 | 2865.90 - - - - - 2969.70 |
| N-H | 3350-3310 | 3339.87 | - - - - - 3332.74 |
| C=O (amida) | 1670-1640 | 1654.28 | - - - - - 1658.72 |
| Compuesto aromático | Aprox. 1600 | ----- | ----- |

En el espectro que se muestra en la Figura 72, se observa que la espuma de poliuretano que presenta enlaces CH₂-CH₂, desaparecen las bandas 2894.07 cm⁻¹ y 3028.37 cm⁻¹, lo que indica una ruptura de la cadena de metilenos.

La banda en 3339.87 cm⁻¹ disminuyó su intensidad lo que puede decir que se están afectando ligeramente los enlaces N-H que posiblemente pertenecen al hexametildiisocianato, el carbonilo disminuye un poco su intensidad a 1658.72 cm⁻¹.

Esto se debe a la actividad de la enzima Ureasa (extracto ureasa) que presenta especificidad sobre este tipo de enlaces a este pH= 8.10 y 30°C.

“DEGRADACIÓN ENZIMÁTICA CON ENZIMA UREASA Y ESTERASA REACTIVO ANALÍTICO (R.A.) AL 0.1%, T= 25°C Y AGITACIÓN CONSTANTE PARA LAS MUESTRAS A, B Y C”



**Reactor utilizado para las degradaciones enzimáticas.*

Tabla 42. Porcentajes de pérdida después de la degradación para las Muestras “A, B y C” con enzimas Ureasa Reactivo Analítico (Ureasa R.A.) y Esterasa Reactivo Analítico (Esterasa R.A.).

| BUFFER | PH. | % DE PÉRDIDA DE LA ESPUMA DE POLIURETANO DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|------------------------------------------------------------------------------------|-----|---------------------------------------------------------------------|
| KH ₂ PO ₄ /NaOH UREASA R.A. | 8.0 | A ₁) 2.6% |
| | | A ₂) 2.5% |
| | | B ₁) 8.9% |
| | | C ₁) 0% |
| | | C) 3.7% |
| Na ₂ HPO ₄ /KH ₂ PO ₄ ESTERASA R.A. | 8.0 | A ₃) 4.2% |
| | | B ₂) 5% |
| | | B ₃) 4.2% |
| | | C ₃) 5.7% |
| | | C ₄) 1.1% |

Como se puede ver en la Tabla 42, en las muestras A₁ y B₁, KH₂PO₄/NaOH pH=8.0 Ureasa R.A. y las muestras A₃, B₂ y C₃ Na₂HPO₄/KH₂PO₄ pH=8.0 Esterasa R.A, se observó un ligero ataque en la espuma de Poliuretano por la enzima, había pequeñísimas partículas de espuma de Poliuretano en las soluciones buffer, estas soluciones se observaron cristalinas hasta concluir el tiempo de reacción, las muestras que presentaron mas perdida en peso se sometieron a análisis de IRTF.



Figura 73. MUESTRAS “A₃, B₁, B₂ y C₃” después de la degradación a pH= 8.0

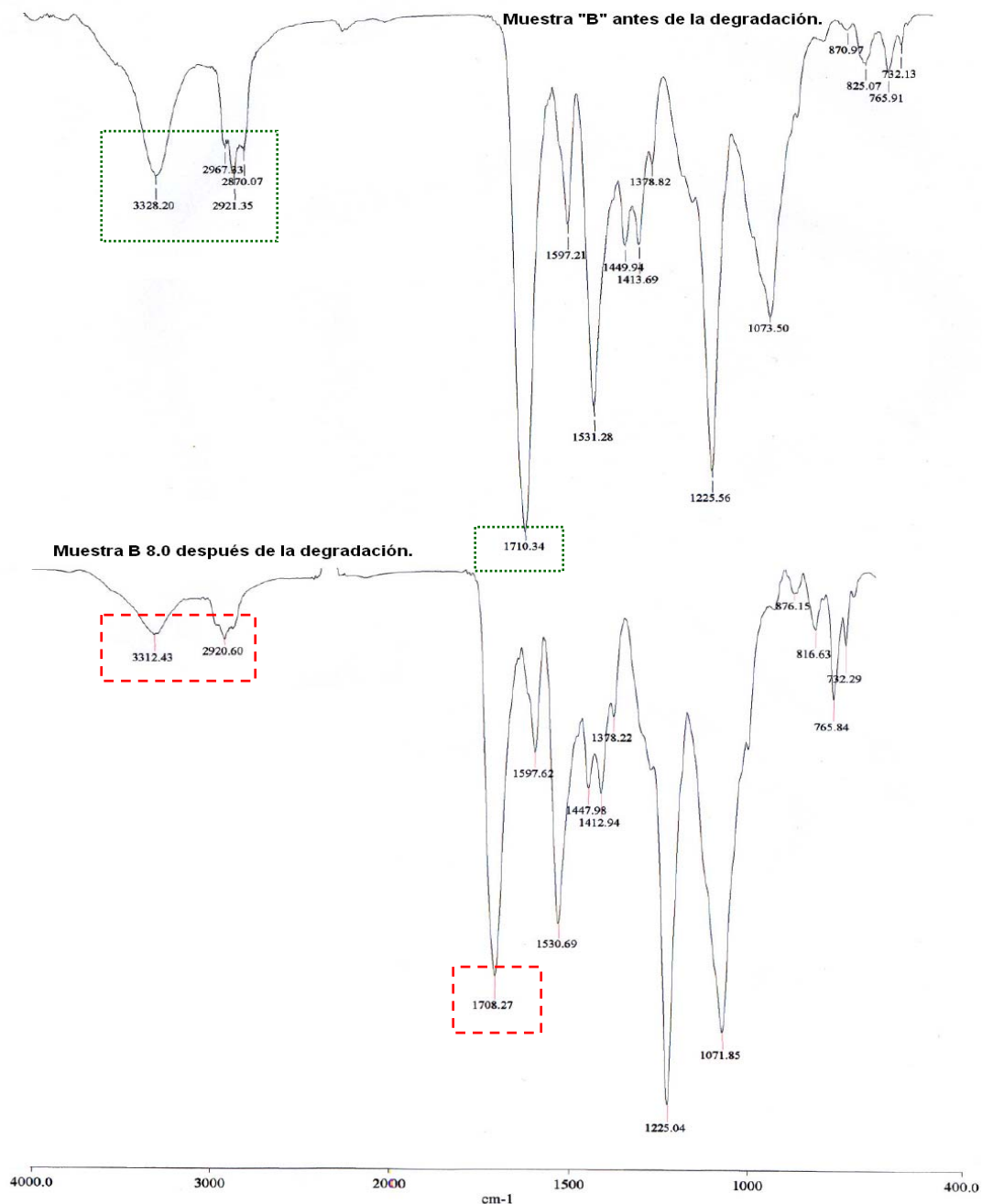


Figura 74. Espectroscopía de IRTF de la Muestra "B," pH=8.0 Buffer $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$ usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Ureasa reactivo analítico.

Tabla 43. Análisis funcional para la Muestra “B₁” pH=8.0 Buffer KH₂PO₄/NaOH usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Ureasa reactivo analítico.

| GRUPO FUNCIONAL. | AMPLITUD DE BANDA CM. ⁻¹ | MUESTRA “B 8.0” ANTES DE LA DEGRADACIÓN. | MUESTRA “B 8.0” DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|--------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------------|--------------------------------------------|
| v Metilenos (CH ₂) | 2700-3100 | 2870.07 2921.35 2967.33 | - - - - 2920.60 |
| N-H | 3350-3310 | 3328.20 | - - - - 3312.43 |
| C=O | 1670-1640 | 1710.34 | - - - - 1708.27 |
| Compuesto aromático | Aprox. 1600 | ----- | ----- |

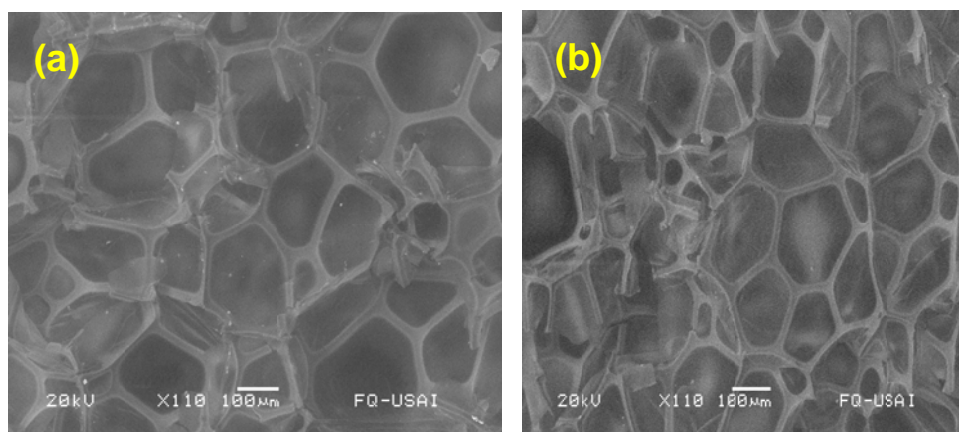


Figura 75. Microscopia Electrónica de Barrido para la Muestra “B₁”, antes (a) y después (b) de la degradación con Ureasa reactivo analítico pH= 8.0 Buffer KH₂PO₄/NaOH.

En el espectro que se muestra en la Figura 74, se observa que la espuma de poliuretano que presenta enlaces $\text{CH}_2\text{-CH}_2$, desaparecen las bandas 2870.07 cm^{-1} y 2967.33 cm^{-1} , lo que indica una ruptura de la cadena de metilenos.

La banda en 3328.20 cm^{-1} disminuyo su intensidad lo que puede decir que se están afectando ligeramente los enlaces N-H que posiblemente pertenecen al hexametildiisocianato, el carbonilo del grupo uretano disminuye un poco su intensidad a 1708.27 cm^{-1} .

Esto se debe a la actividad de la enzima Ureasa (R.A.) que presenta especificidad sobre este tipo de enlaces a $\text{pH}=8.0$ y 25°C .

En la microscopia electrónica de barrido que se muestra en la Figura 75, se puede observar que en la figura (a) la celdas esta completamente bien formadas, y en la figura (b) observamos que realmente la enzima esta rompiendo enlaces en la espuma de poliuretano y se observa que las celdas del la espuma se han deformado por la ruptura de estos enlaces y tienen un grado de degradación significativo.

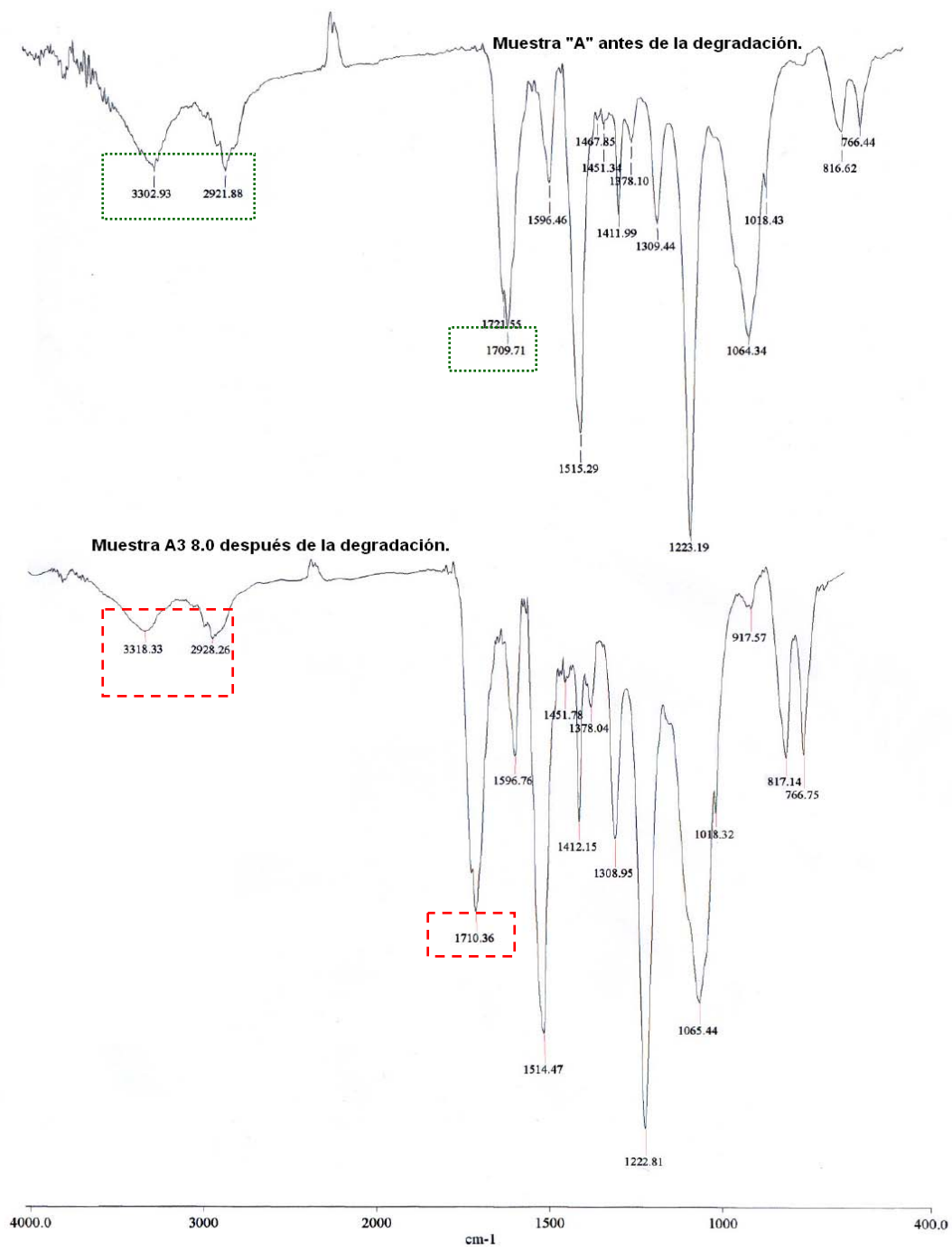


Figura 76. Espectroscopía de IRTF de la Muestra "A₃" pH= 8.0 Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄ usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Esterasa reactivo analítico.

Tabla 44. Análisis funcional para la Muestra “A₃” pH= 8.0 Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄ usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Esterasa reactivo analítico.

| GRUPO FUNCIONAL. | AMPLITUD DE BANDA CM. ⁻¹ | MUESTRA “A ₃ 8.0” ANTES DE LA DEGRADACIÓN. | MUESTRA “A ₃ 8.0” DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|--------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| v Metilenos (CH ₂) | 2700-3100 | 2921.88 | - - - - 2928.26 |
| N-H | 3350-3310 | 3302.93 | - - - - 3318.33 |
| C=O | 1700-1740 | 1709.71 | - - - - 1710.36 |
| Compuesto aromático | Aprox. 1600 | ----- | ----- |

En el espectro que se muestra en la Figura, 76 se observa que la espuma de poliuretano que presenta enlaces CH₂-CH₂, que hay un ligera afectación en la intensidad de las bandas, lo que indica una ruptura en la cadena de metilenos.

La banda en 3302.93 cm⁻¹ disminuyo su intensidad lo que puede decir que se están afectando ligeramente los enlaces N-H que posiblemente pertenecen al hexametildiisocianato, el carbonilo del grupo uretano disminuye un poco su intensidad a 1710.36 cm⁻¹.

Esto se debe a la actividad de la enzima Esterasa (R.A.) que presenta especificidad sobre este tipo de enlaces a pH=8 y 25°C.

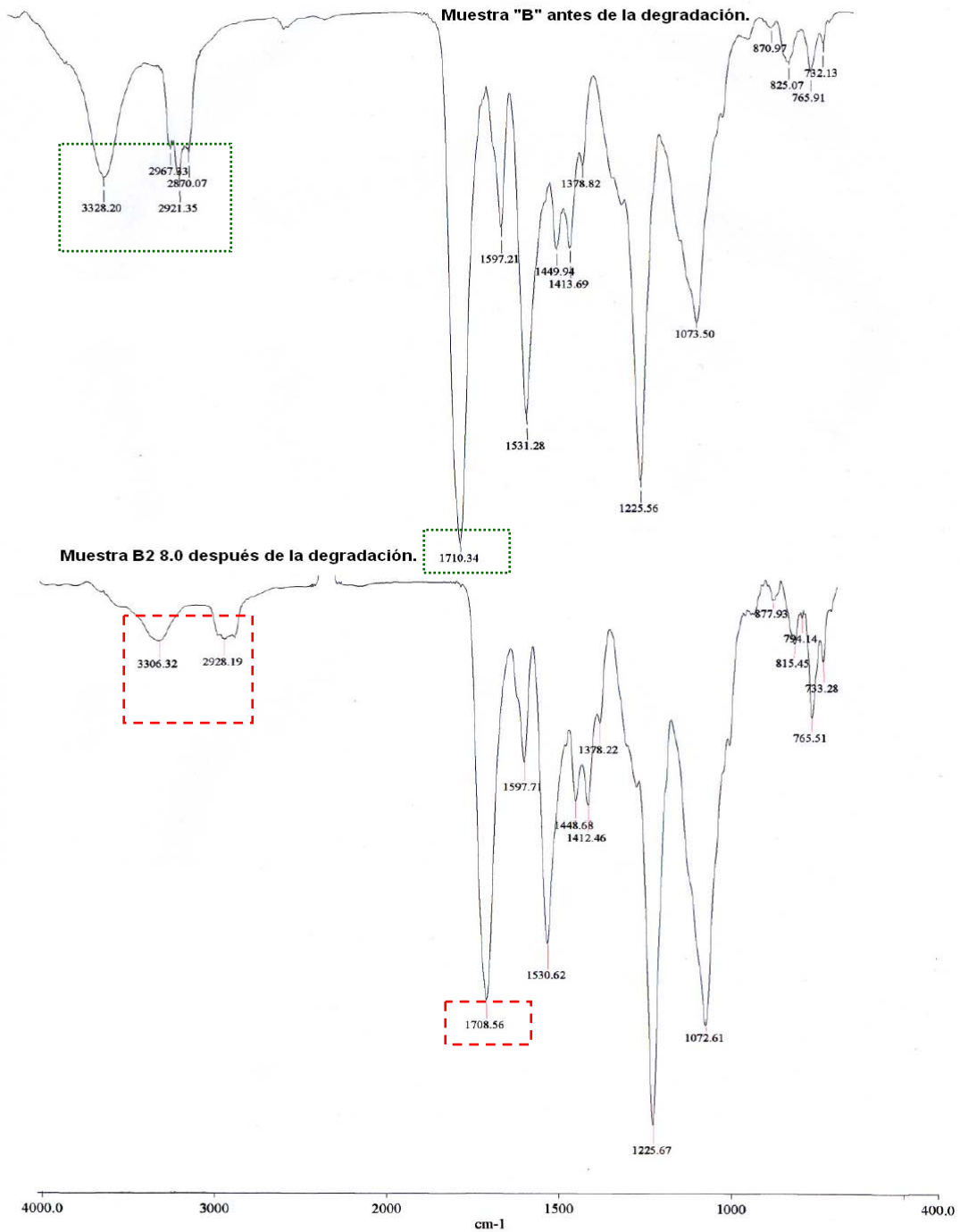


Figura 77. Espectroscopía de IRTF de la Muestra "B₂" pH= 8.0 Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄ usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Esterasa reactivo analítico.

Tabla 45. Análisis funcional para la Muestra “B₂” pH= 8.0 Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄ usada como aislante en refrigerador, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Esterasa reactivo analítico.

| GRUPO FUNCIONAL. | AMPLITUD DE BANDA CM. ⁻¹ | MUESTRA “B ₂ 8.0” ANTES DE LA DEGRADACIÓN. | MUESTRA “B ₂ 8.0” DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|--------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| v Metilenos (CH ₂) | 2700-3100 | 2870.07 2921.35 2967.33 | - - - - . 2928.19 |
| N-H | 3350-3310 | 3328.20 | - - - - . 3306.32 |
| C=O | 1670-1640 | 1710.34 | - - - - . 1708.56 |
| Compuesto aromático | Aprox. 1600 | ----- | ----- |

En el espectro que se muestra en la Figura 77, se observa que la espuma de poliuretano que presenta enlaces CH₂-CH₂, desaparecen las bandas 2870.07 cm⁻¹ y 2967.33 cm⁻¹, lo que indica una ruptura total de la cadena de metilenos.

La banda en 3328.20 cm⁻¹ disminuyó su intensidad lo que puede decir que se están afectando ligeramente los enlaces N-H que posiblemente pertenecen al hexametildiisocianato, el carbonilo del grupo uretano disminuye un poco su intensidad a 1708.56 cm⁻¹.

Esto se debe a la actividad de la enzima Esterasa (R.A.) que presenta especificidad sobre este tipo de enlaces a pH=8.0 a 25°C.

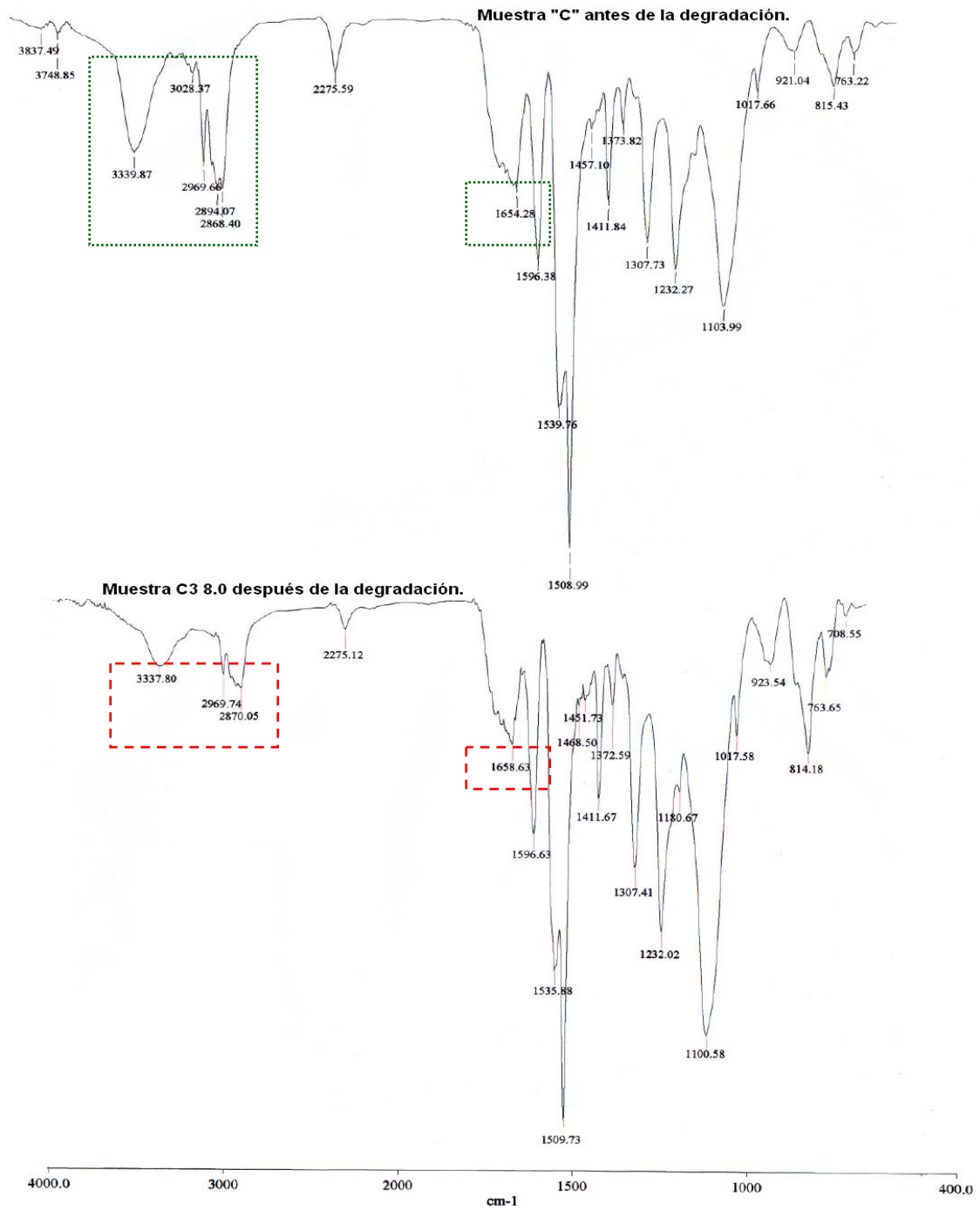


Figura 78. Espectroscopía de IRTF de la Muestra "C₃" pH= 8.0 Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄ usada como almohadilla de embalaje, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Esterasa reactivo analítico.

Tabla 46. Análisis funcional para la Muestra “C₃” pH= 8.0 Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄ usada como almohadilla de embalaje, antes y después de haber sido sometida a la degradación con enzima Esterasa reactivo analítico.

| GRUPO FUNCIONAL. | AMPLITUD DE BANDA CM. ⁻¹ | MUESTRA “C ₃ 8.0” ANTES DE LA DEGRADACIÓN. | MUESTRA “C ₃ 8.0” DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|--------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| ν Metilenos (CH ₂) | 2700-3100 | 2868.40 | |
| | | 2894.07 | 2870.05 |
| | | 2969.66 | ----- 2969.74 |
| | | 3028.37 | |
| N-H | 3350-3310 | 3339.87 | ----- 3337.80 |
| C=O (amida) | 1670-1640 | 1654.28 | ----- 1658.63 |
| Compuesto aromático | Aprox. 1600 | ----- | ----- |

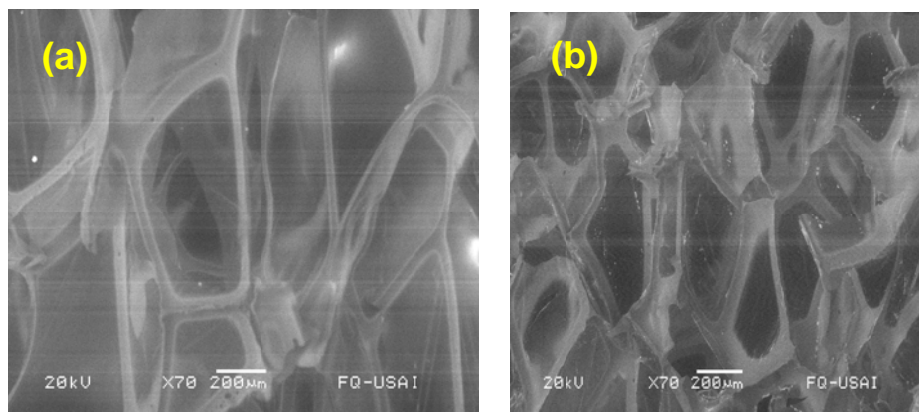


Figura 79. Microscopia Electrónica de Barrido para la Muestra “C₃”, antes (a) y después (b) de la degradación con Esterasa reactivo analítico pH=8.0 Buffer Na₂HPO₄/KH₂PO₄.

En el espectro que se muestra en la Figura 78, se observa que la espuma de poliuretano que presenta enlaces $\text{CH}_2\text{-CH}_2$, desaparecen las bandas 2868.40 cm^{-1} , 2894.07 cm^{-1} y 3028.37 cm^{-1} , lo que indica una ruptura total de la cadena de metilenos.

La banda en 3339.87 cm^{-1} disminuyó su intensidad lo que puede decir que se están afectando ligeramente los enlaces N-H que posiblemente pertenecen al hexametildiisocianato, el carbonilo disminuye un poco su intensidad a 1658.63 cm^{-1} .

Esto se debe a la actividad de la enzima Esterasa (R.A) que presenta especificidad sobre este tipo de enlaces a $\text{pH}=8.0$ a 25°C .

En la microscopia electrónica de barrido que se muestra en la Figura 79, se puede observar que en la figura (a) las celdas están completas y en la figura (b) la enzima Esterasa reactivo analítico se observa que realmente se están rompiendo enlaces en la espuma de poliuretano y las celdas se destruyeron por la acción de la misma.

12) CONCLUSIONES.

Al término del presente trabajo de investigación se puede concluir que el objetivo general se cumplió, ya que la metodología desarrollada fue exitosa, las condiciones experimentales que se encontraron fueron óptimas para la actividad de cada enzima usada, se logró la degradación enzimática de las espumas de poliuretano de desecho, esto se corrobora, primeramente con las pérdidas de porcentaje en peso de cada una de las muestras, posteriormente con el análisis de Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier, y por último con el análisis de las Microscopías Electrónicas de Barrido a las muestras con mayor degradación.

Estableciendo las condiciones de pH y temperatura las reacciones enzimáticas se pudieron llevar a cabo para la degradación de espumas de poliuretano de desecho.

La utilización de enzimas de carácter específico, como son Papaína (rompe enlaces ésteres y amida), Ureasa (rompe grupos uretanos), Esterasa (rompe enlaces ésteres) como lo pudimos observar en cada uno de los espectros, funcionan para la degradación de las espumas, ya que estas enzimas actúan sobre lugares específicos de la cadena polimérica de las espumas de poliuretano, como fueron, grupos amida, carbonilos que son provenientes de enlaces ésteres o enlaces urea/uretano, y además observamos que también tienen afinidad por las cadenas que presentan enlaces metileno ($\text{CH}_2\text{-CH}_2$).

En la siguiente tabla podemos resumir los resultados más relevantes para cada una de las enzimas que se usaron en este proyecto:

| ENZIMA | MUESTRA | PH | TEMPERATURA DE REACCIÓN (°C) | % DE PÉRDIDA DE LA ESPUMA DE POLIURETANO DESPUÉS DE LA DEGRADACIÓN. |
|-----------------------------------------|----------------------|-----------|-------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|
| Ureasa (Extracto/Etanol) | C₆ | 8.13 | 50 | 45.7 |
| Papaína (Reactivo Analítico) | B₂ | 6.05 | 60 | 20.4 |
| Ureasa (Extracto/Acetona) | A₄ | 8.10 | 30 | 16.2 |
| Papaína (Extracto Fresco) | A | 6.11 | 60 | 6.2 |
| Ureasa (Reactivo Analítico) | B₁ | 8.0 | 25 | 8.9 |
| Esterasa (Reactivo Analítico) | C₃ | 8.0 | 25 | 5.7 |

Como podemos ver en la tabla anterior la enzima que efectuó una mayor degradación fue la Ureasa (extracto etanol) extraída del frijol de soya, esto se puede deber a que se trata de un extracto fresco y en el no solo llevamos Ureasa sino también más compuestos de proteína que pudieron tener afinidad por los grupos funcionales presentes en la cadena polimérica de las espumas de poliuretano y a que el frijol de soya ya estaba maduro, recordemos que muchas semillas concentran sus componentes al pasar el tiempo.

Después le sigue la enzima Papaína Reactivo Analítico, después Ureasa Extracto/Acetona, después Papaína Extracto Fresco, Ureasa Reactivo Analítico y por último Esterasa Reactivo Analítico.

Entonces podemos concluir que las mejores actividades para cada enzima son:

- ➡ ENZIMA PAPAÍNA REACTIVO ANALITICO y EXTRACTO FRESCO: pH= 6-7 a 60°C y agitación constante.
- ➡ ENZIMA UREASA EXTRACTO/ETANOL FRIJOL DE SOYA: pH= 8 a 50°C y agitación constante.
- ➡ ENZIMA UREASA EXTRACTO/ACETONA FRIJOL DE SOYA: pH= 8 con temperaturas de 25 y 30°C y agitación constante.
- ➡ ENZIMA UREASA REACTIVO ANALITICO: pH=8 a 25°C y agitación constante.
- ➡ ENZIMA ESTERASA REACTIVO ANALITICO: pH= 8 a 25°C y agitación constante.

Con un Buffer de fosfatos preparado con el par acido-base ($\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$) para todos los casos, también funciona con hidróxido de sodio, pero vemos una baja actividad de la enzima con este reactivo, quizá el hidróxido de sodio afecte en algún grado la actividad de cada enzima.

13) PERSPECTIVAS.

Como vemos se puede llevar a cabo la degradación de una espuma de poliuretano con una enzima, este método puede funcionar con otro tipo de polímero que tenga en su estructura grupos funcionales que sean reactivos con enzimas de carácter específico.

Seguir utilizando extractos de otras semillas o frutos para lograr una degradación, en espumas de poliuretano y no solo en estas espumas, si no también otras espumas como el unicel.

Tratar de incrementar el volumen de espuma de poliuretano para ser degradado con estas enzimas.

Otra perspectiva sería, obtener un polioliol con la espuma ya degradada y sintetizar una nueva con este polioliol, caracterizarla y destinarle un uso, después someter esta espuma a la degradación con las mismas enzimas que se trabajaron en este proyecto, repetir el mismo procedimiento con la espuma nueva y determinar el momento en el que esta espuma ya no puede producir un polioliol para generar otra espuma o hasta que punto ya no puede ser degradada.

Seguir la cinética de reacción de la degradación, para caracterizar los posibles productos que se formen en la degradación, y obtener parámetros cinéticos como el orden de reacción, la cual nos servirá para comprender el mecanismo de la degradación, y además poder dar un uso a los productos obtenidos.

14) ANEXOS.

Anexo 1. Espectroscopia Infrarrojo por Transformada de Fourier.

La espectroscopia de infrarrojo abarca un rango de ondas muy grande y generalmente para su estudio se divide en tres diferentes regiones: cercano (después de 4000 cm^{-1}), medio ($700\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$) y lejano ($200\text{-}700\text{ cm}^{-1}$). Durante los últimos años, la espectroscopia de absorción de infrarrojo cercano ha experimentado un auge considerable en su aplicación a nivel industrial.

Este auge se ha debido en gran parte a que la técnica es muy similar a la de UV/VIS en cuanto a sensibilidad y límites de detección, además de los nuevos instrumentos y métodos de muestreo han facilitado este tipo de análisis.

Un avance considerable se alcanzó con la introducción de la técnica de Transformada de Fourier (IR-FT). Este procedimiento esta basado en el interferómetro de Michelson (desarrollado inicialmente para determinar con exactitud la velocidad de la luz) y en el método del matemático francés Fourier que permite convertir la información obtenida (interferograma) en un espectro ^(26,27).



ESPECTROFOTOMETRO DE INFRARROJO POR TRANSFORMADA DE FOURIER.

“PERKIN ELMER FT-IR, Spectrometer, Spectrum RX I”.

Anexo 2. Microscopia Electrónica de Barrido.

La técnica consiste, principalmente en enviar un haz de electrones sobre la muestra y mediante un detector apropiado registrar el resultado de esta interacción. El haz se desplaza sobre la muestra realizando un barrido en las direcciones X e Y de tal modo que la posición en la que se encuentra el haz en cada momento coincide con la aparición de brillo, proporcionalmente a la señal emitida, en un determinado punto de la pantalla.

En el microscopio electrónico de barrido es necesario acelerar los electrones en un campo eléctrico, para aprovechar de esta manera su comportamiento ondulatorio, lo cual se lleva a cabo en el cañón del microscopio, donde se aceleran por una diferencia de potencial de 1000 a 30 000 voltios.

Los electrones acelerados por un voltaje pequeño son utilizados para muestras muy sensibles, como podrían ser las muestras biológicas sin preparación adicional o muestras muy aislantes. Los altos voltajes se utilizan para muestras metálicas, ya que estas en general no sufren daños como las biológicas, y de esta manera se aprovecha la mayor longitud de onda, para tener una mejor resolución. Los electrones acelerados salen del cañón, y son enfocados por las lentes condensadoras y objetiva, cuya función es reducir el filamento, de manera que incida en la muestra un haz de electrones lo mas pequeño posible. Con las bobinas deflectoras se barre este fino haz de electrones sobre la muestra, punto por punto y línea por línea.

Cuando el haz incide sobre la muestra, se producen muchas interacciones entre los electrones del mismo haz y los átomos de la muestra; puede haber por ejemplo, electrones rebotados como bolas de billar. Por otra parte, la energía que pierden los electrones al “chocar” contra la muestra pueden hacer que otros electrones salgan despedidos (electrones secundarios) y producir rayos X.

Es fundamental que las muestras que vayan a ser analizadas por microscopía electrónica de barrido estén exentas de líquidos y además que sean conductoras.

Las aplicaciones de la técnica son muy numerosas tanto en ciencias de materiales, como en ciencia biomédica. Dentro de las ciencias de materiales destacan las aplicaciones en metalurgia, petrología, mineralogía y polímeros, materiales de construcción, materiales cerámicos, estudio de superficies y composición elemental de sólidos en general. También se aplica en botánica, en el estudio de cultivos celulares, en dermatología, odontología, etc. ^(28,29)



MICROSCOPIO ELECTRONICO DE BARRIDO “JEOL JSM-5900LV”.

Anexo 3. PROPIEDADES DE REACTIVOS.

HIDRÓXIDO DE SODIO (NaOH) P.M. 40 g/mol.

Propiedades físicas y químicas:

Estado físico: sólido blanco en diversas formas.

Olor: inodoro.

Punto de ebullición: 1390°C.

Punto de fusión: 318°C.

Densidad relativa: 2.1 g/mL.

Solubilidad en agua: 109 g por cada 100 mL a 20°C.

Presión de vapor: 0.13 KPa a 739°C.

| PELIGROS QUÍMICOS. | RIESGOS POR INHALACIÓN. | CONTACTO CON LA PIEL. | CONTACTO CON LOS OJOS. | RIESGO POR INGESTIÓN. |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| No combustible, el contacto con la humedad o con el agua, puede generar el suficiente calor para producir la ignición de sustancias combustibles. | Corrosivo. Sensación de comezón, tos, dificultad para respiratoria. | Corrosivo. Enrojecimiento de la piel, graves quemaduras cutáneas, dolor. | Corrosivo. Enrojecimiento, dolor, visión borrosa, quemaduras profundas graves. | Corrosivo. Dolor abdominal, sensación de quemazón, diarrea, vómitos y colapso. |

ÁCIDO CÍTRICO (C₆H₈O₇) P.M. 192.12 g/mol.**Propiedades físicas y químicas:**

Estado físico: cristales incoloros.

Olor: inodoro.

Punto de fusión: 153°C.

Densidad relativa: 1.665 g/mL.

Solubilidad en agua: soluble.

| PELIGROS QUÍMICOS. | RIESGOS POR INHALACIÓN. | CONTACTO CON LA PIEL. | CONTACTO CON LOS OJOS. | RIESGO POR INGESTIÓN. |
|--------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| Es combustible, reacciona con oxidantes, reductores y bases. | Sensación de quemazón, tos, dificultad respiratoria | Enrojecimiento de la piel. | Enrojecimiento. | Tos. |

FOSFATO DIBÁSICO DE SODIO (Na₂HPO₄) P.M. 141.96 g/mol.**Propiedades físicas y químicas:**

Estado físico: sólido, polvo cristalino o gránulos incoloros a blancos, son giroscópicos.

Olor: inodoro.

Punto de ebullición: no reportado.

Punto de fusión: 240°C.

Densidad relativa: 1.679 g/mL.

Solubilidad en agua: apreciable solubilidad en agua 12.5 g por cada 100 mL a 25°C.

| PELIGROS QUÍMICOS. | RIESGOS POR INHALACIÓN. | CONTACTO CON LA PIEL. | CONTACTO CON LOS OJOS. | RIESGO POR INGESTIÓN. |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------|
| Compuesto estable, producto peligrosos en caso de descomposición óxidos de fósforo y óxido de sodio. Evitar temperaturas altas y humedad. | Irritación en la nariz y tracto respiratorio, tos y dificultad para respirar. | Irritaciones, enrojecimiento y dolor. | Irritación, enrojecimiento y dolor. | Molestias. |

| | | | | |
|--|--|--|--|--|
| | | | | |
|--|--|--|--|--|

FOSFATO MONOBÁSICO DE POTACIO (KH₂PO₄) P.M. 136.1 g/mol.

Propiedades físicas y químicas:

Estado físico: cristales incoloros.

Olor: inodoro.

Punto de ebullición: no reportado.

Punto de fusión: 253°C.

Densidad relativa: 2.34 g/mL.

Solubilidad en agua: 22 g por cada 100 mL a 20°C.

| PELIGROS QUÍMICOS. | RIESGOS POR INHALACIÓN. | CONTACTO CON LA PIEL. | CONTACTO CON LOS OJOS. | RIESGO POR INGESTIÓN. |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| La sustancia se descompone al calentarlo intensamente, produce gases tóxicos, la disolución en agua es un ácido débil. | Puede alcanzarse rápidamente una concentración nociva de partículas suspendidas en el aire, cuando se dispersa especialmente en estado pulverizado. | Irritación. | Irritación. | Irritación. |

AGUA DESIONIZADA O DESTILADA (H₂O) P.M. 18.02 g/mol.

Propiedades físicas y químicas:

Estado físico: líquido incoloro.

Olor: inodoro e insípido.

Punto de ebullición: 100°C.

Densidad relativa: 1 g/mL.

Presión de vapor: 17.535 mmHg a 20°C.

| PELIGROS QUÍMICOS. | RIESGOS POR INHALACIÓN. | CONTACTO CON LA PIEL. | CONTACTO CON LOS OJOS. | RIESGO POR INGESTIÓN. |
|---------------------------|--------------------------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| Sustancia estable, no | | | | |

| | | | | | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|--|----------|---------|----------|----------|
| presenta ningún riesgo. | | Ninguno. | Ninguno | Ninguno. | Ninguno. |
| Sustancias a evitar: ácido sulfúrico (H ₂ SO ₄), Sodio (Na) y Potasio (K). | | | | | |

ÁCIDO CLORHÍDRICO (HCl) P.M. 36.46 g/mol.

Propiedades físicas y químicas:

Estado físico: líquido incoloro o ligeramente amarillento.

Olor: sofocante.

Punto de ebullición: 110°C.

Densidad relativa: 1.097 g/mL.

Solubilidad en agua: muy soluble.

| PELIGROS QUÍMICOS. | RIESGOS POR INHALACIÓN. | CONTACTO CON LA PIEL. | CONTACTO CON LOS OJOS. | RIESGO POR INGESTIÓN. |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Reacciona con materiales oxidantes fuertes y con materiales combustibles, produciendo monóxido y bióxido de carbono. | Irritación en las vías tractorespiratorias. | Es extremadamente irritante, altas concentraciones pueden provocar severas quemaduras. | Provocar severas quemaduras y daños permanentes. | Causa quemaduras y ulceraciones del tractogastrointestinal, provoca vomito de sangre y daño al riñón. |

ÁCIDO SULFÚRICO (H₂SO₄) P.M. 98.1 g/mol.

Propiedades físicas y químicas:

Estado físico: líquido higroscópico, aceitoso incoloro.

Olor: inodoro.

Punto de ebullición: 340°C.

Punto de fusión: 10°C.

Densidad relativa: 1.8 g/mL.

Solubilidad en agua: miscible.

Presión de vapor: 0.13 KPa a 146°C.

| PELIGROS QUÍMICOS. | RIESGOS POR INHALACIÓN. | CONTACTO CON LA PIEL. | CONTACTO CON LOS OJOS. | RIESGO POR INGESTIÓN. |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| Por combustión, formación de humos tóxicos de óxidos de azufre. La sustancia es un oxidante fuerte y reacciona violentamente con materiales combustibles y reductores. Reacciona violentamente con agua y compuestos orgánicos con desprendimiento de calor. | Corrosivo. Sensación de comezón, tos, dificultad para respiratoria, dolor de garganta. | Corrosivo. Quemaduras cutáneas severas. | Corrosivo. Quemaduras profundas graves. | Dolor abdominal, sensación de quemazón, vómitos y colapso. |

ÁCIDO NITRÍCO (HNO₃) P.M. 63.0 g/mol.

Propiedades físicas y químicas:

Estado físico: líquido entre incoloro y amarillo.

Olor: acre.

Punto de ebullición: 121°C.

Punto de fusión: -41.6°C.

Densidad relativa: 1.41 g/mL.

Solubilidad en agua: miscible.

Presión de vapor: 6.4 KPa a 20°C.

| PELIGROS QUÍMICOS. | RIESGOS POR INHALACIÓN. | CONTACTO CON LA PIEL. | CONTACTO CON LOS OJOS. | RIESGO POR INGESTIÓN. |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|
| No combustible pero facilita la combustión de otras sustancias. En caso de incendio se desprenden humos o gases tóxicos e irritantes. Riesgo de incendio y explosión en contacto con muchos compuestos orgánicos. | Sensación de quemazón, tos, dificultad respiratoria y pérdida del conocimiento. | Corrosivo. Quemaduras cutáneas graves, dolor. | Corrosivo. Enrojecimiento, dolor, quemaduras profundas graves. | Corrosivo. Dolor abdominal, sensación de quemazón, diarrea, shock. |

HIDRÓXIDO DE AMONIO (NH₄OH) P.M. 35.1 g/mol.

Propiedades físicas y químicas:

Estado físico: disolución incolora, muy volátil.

Olor: acre.

Punto de ebullición: 38°C.

Punto de fusión: -58°C.

Densidad relativa: 0.9 g/ml.

Solubilidad en agua: miscible.

Presión de vapor: 40 KPa a 20°C.

| PELIGROS QUÍMICOS. | RIESGOS POR INHALACIÓN. | CONTACTO CON LA PIEL. | CONTACTO CON LOS OJOS. | RIESGO POR INGESTIÓN. |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| Reacciona con muchos metales y sus sales dan lugar a la formación de compuestos explosivos. Ataca a muchos metales formando gas inflamable de hidrogeno. La disolución en agua es una base fuerte y | Sensación de comezón, tos, dificultad para respiratoria, jadeo y dolor de garganta. | Enrojecimiento de la piel, graves quemaduras cutáneas, dolor y ampollas. | Enrojecimiento, dolor, visión borrosa, quemaduras profundas graves. | Calambres abdominales y dolor, vómitos y dolor de garganta. |

| | | | | |
|-------------------------------------------|--|--|--|--|
| reacciona violentamente con ácidos. | | | | |
|-------------------------------------------|--|--|--|--|

ACEITE MINERAL (C15 a C30).

Propiedades físicas y químicas:

Estado físico: Líquido translucido, amarillento.

Olor: inodoro.

Punto de ebullición: estable por debajo de 170°C.

Densidad: 0.85-0.86 g/mL a 20°C.

Solubilidad en agua: insoluble.

No corrosivo, no volátil, no radioactivo.

| PELIGROS QUÍMICOS. | RIESGOS POR INHALACIÓN. | CONTACTO CON LA PIEL. | CONTACTO CON LOS OJOS. | RIESGO POR INGESTIÓN. |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------------------------------|
| <p>Estable en lugar fresco y seco, con buena ventilación. Es incompatible con corrosivos, de pH extremo menor a 3 y mayor a 10.</p> <p>Productos emitidos por combustión óxidos de</p> | Ninguno. | Ninguno. | Ninguno. | Nauseas, vómitos, diarreas o dolor abdominal. |

| | | | | |
|----------------------------------------|--|--|--|--|
| azufre, dióxido y monóxido de carbono. | | | | |
|----------------------------------------|--|--|--|--|

BENCENO (C₆H₆) P.M. 78.1 g/mol.

Propiedades físicas y químicas:

Estado físico: líquido incoloro.

Olor: característico.

Punto de ebullición: 80°C.

Punto de fusión: 6°C.

Densidad relativa: 0.88 g/mL.

Solubilidad en agua: 0.18 g por cada 100 mL a 25°C.

Presión de vapor: 10 KPa a 20°C.

| PELIGROS QUÍMICOS. | RIESGOS POR INHALACIÓN. | CONTACTO CON LA PIEL. | CONTACTO CON LOS OJOS. | RIESGO POR INGESTIÓN. |
|--------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------------------|
| Altamente inflamable. Las mezclas vapor aire son explosivas. | Provoca vértigo, somnolencia, dolor de cabeza, náuseas, jadeo, convulsiones y pérdida del conocimiento. | Enrojecimiento de la piel, dolor. | Enrojecimiento y dolor. | Dolor abdominal, dolor de garganta, vómitos. |

| | | | | |
|--|--|--|--|--|
| | | | | |
|--|--|--|--|--|

TOLUENO (C₆H₅CH₃) P.M. 92.14 g/mol.

Propiedades físicas y químicas:

Estado físico: sólido blanco en diversas formas.

Olor: característico.

Punto de ebullición: 111°C.

Punto de fusión: -95°C.

Densidad relativa: 0.87 g/mL.

Solubilidad en agua: ninguna.

Presión de vapor: 2.9 KPa a 20 °C.

| PELIGROS QUÍMICOS. | RIESGOS POR INHALACIÓN. | CONTACTO CON LA PIEL. | CONTACTO CON LOS OJOS. | RIESGO POR INGESTIÓN. |
|----------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------------|
| Reacciona violentamente con óxidos fuertes, originando peligro | Vértigo, somnolencia, dolor de cabeza, nauseas, perdida | Piel seca y enrojecimiento. | Enrojecimiento y dolor. | Dolor abdominal, sensación de quemazón. |

| | | | | |
|--------------------------|-------------------|--|--|--|
| de incendio o explosión. | del conocimiento. | | | |
|--------------------------|-------------------|--|--|--|

CLOROBENCENO (C₆H₅Cl) P.M. 112.6 g/mol.

Propiedades físicas y químicas:

Estado físico: líquido incoloro.

Olor: característico.

Punto de ebullición: 132°C.

Punto de fusión: -45°C.

Densidad relativa: 1.11 g/mL.

Solubilidad en agua: 0.05 g por cada 100 mL a 20°C.

Presión de vapor: 1.17 KPa a 20°C.

| PELIGROS QUÍMICOS. | RIESGOS POR INHALACIÓN. | CONTACTO CON LA PIEL. | CONTACTO CON LOS OJOS. | RIESGO POR INGESTIÓN. |
|-------------------------------------------------------------------|--------------------------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| La sustancia se descompone al calentarla intensamente en contacto | Somnolencia, | Enrojecimiento | Enrojecimiento | Dolor |

| | | | | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|--------------|----------|------------|
| con llamas o superficies calientes, produciendo humos tóxicos y corrosivos. Reacciona violentamente con oxidantes fuertes, originando peligro de incendio y explosión. | dolor de cabeza, nauseas y perdida del conocimiento. | y piel seca. | y dolor. | abdominal. |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|--------------|----------|------------|

METANOL (CH₃OH) P.M. 32.04 g/mol.

Propiedades físicas y químicas:

Estado físico: líquido incoloro.

Olor: característico.

Punto de ebullición: 65°C.

Punto de fusión: -94°C.

Densidad relativa: 0.79 g/mL.

Solubilidad en agua: miscible.

Presión de vapor: 12.3 KPa a 739°C.

| PELIGROS QUÍMICOS. | RIESGOS POR INHALACIÓN. | CONTACTO CON LA PIEL. | CONTACTO CON LOS OJOS. | RIESGO POR INGESTIÓN. |
|---------------------------|--------------------------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| La sustancia se | | | | |

| | | | | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|-----------------------------|-------------------------|-----------------------------------------------------------|
| descompone al calentarla intensamente, produciendo monóxido de carbono y formaldehído. Ataca al plomo y al aluminio. | Tos, vértigo, dolor de cabeza, nauseas. | Piel seca y enrojecimiento. | Enrojecimiento y dolor. | Dolor abdominal, jadeo, pérdida del conocimiento, vomito. |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|-----------------------------|-------------------------|-----------------------------------------------------------|

ETANOL (CH₃CH₂OH) P.M. 46.1 g/mol.

Propiedades físicas y químicas:

Estado físico: líquido incoloro.

Olor: característico.

Punto de ebullición: 79°C.

Punto de fusión: -117°C.

Densidad relativa: 0.8 g/mL.

Solubilidad en agua: miscible.

Presión de vapor: 5.8 KPa a 739°C.

| | | | | |
|---------------------------|--------------------------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| PELIGROS QUÍMICOS. | RIESGOS POR INHALACIÓN. | CONTACTO CON LA PIEL. | CONTACTO CON LOS OJOS. | RIESGO POR INGESTIÓN. |
|---------------------------|--------------------------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|

| | | | | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|------------|------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| Reacciona lentamente con hipoclorito cálcico, óxido de plata y amoníaco, originando peligro de incendio y explosión. | Tos, somnolencia, dolor de cabeza, fatiga. | Piel seca. | Enrojecimiento, dolor y sensación de quemazón. | Sensación de quemazón, confusión, vértigo, dolor de cabeza, pérdida del conocimiento. |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|------------|------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|

ACETONA (C₂H₆CO) P.M. 58.1 g/mol.

Propiedades físicas y químicas:

Estado físico: líquido incoloro.

Olor: característico.

Punto de ebullición: 56°C.

Punto de fusión: -95°C.

Densidad relativa: 0.08 g/mL.

Solubilidad en agua: miscible.

Presión de vapor: 24 KPa a 739°C.

| | | | | |
|-----------------|--------------------|-----------------|---------------------|-------------------|
| PELIGROS | RIESGOS POR | CONTACTO | CONTACTO CON | RIESGO POR |
|-----------------|--------------------|-----------------|---------------------|-------------------|

| QUÍMICOS. | INHALACIÓN. | CON LA PIEL. | LOS OJOS. | INGESTIÓN. |
|--------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|-------------------------------------------------------------------|-------------------|
| Altamente inflamable, las mezclas vapor aire son explosivas. | Salivación, confusión mental, tos, vértigo, somnolencia, dolor de cabeza, dolor de garganta, pérdida del conocimiento. | Piel seca y enrojecimiento. | Enrojecimiento, dolor, visión borrosa. Posible daño en la cornea. | Nauseas y vomito. |

CLORURO DE METILENO (CH₂Cl) P.M. 84.9 g/mol.

Propiedades físicas y químicas:

Estado físico: líquido incoloro.

Olor: característico.

Punto de ebullición: 40°C.

Punto de fusión: -95.1°C.

Densidad relativa: 1.3 g/mL.

Solubilidad en agua: 1.3 g por cada 100 mL a 20°C.

Presión de vapor: 47.4 KPa a 20°C.

| PELIGROS | RIESGOS POR | CONTACTO | CONTACTO CON | RIESGO |
|-----------------|--------------------|-----------------|---------------------|---------------|
|-----------------|--------------------|-----------------|---------------------|---------------|

| QUÍMICOS. | INHALACIÓN. | CON LA PIEL. | LOS OJOS. | POR INGESTIÓN. |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|-----------------------|
| Desprende humos tóxicos e irritantes en caso de incendio, riesgo de incendio y explosión. | Vértigo, somnolencia, dolor de cabeza, náuseas, pérdida del conocimiento, debilidad. | Piel seca, enrojecimiento, sensación de comezón. | Enrojecimiento, dolor, quemaduras profundas graves. | Dolor abdominal. |

CLOROFORMO (CHCl₃) P.M. 119.4 g/mol.

Propiedades físicas y químicas:

Estado físico: líquido incoloro.

Olor: característico.

Punto de ebullición: 62°C.

Punto de fusión: -64°C.

Densidad relativa: 1.48 g/mL.

Solubilidad en agua: 0.8 g por cada 100 mL a 20°C.

Presión de vapor: 21.2 KPa a 739°C.

| PELIGROS QUÍMICOS. | RIESGOS POR INHALACIÓN. | CONTACTO CON LA PIEL. | CONTACTO CON LOS OJOS. | RIESGO POR INGESTIÓN. |
|-------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| No combustible, en caso de incendio se desprenden humos tóxicos e irritantes. | Corrosivo. Sensación de comezón, tos, dificultad para respiratoria. | Enrojecimiento y dolor. | Enrojecimiento y dolor. | Dolor abdominal y vomito. |

ENZIMA PAPAÍNA.

Propiedades físicas y químicas:

Estado físico: sólido amarillento.

Olor: característico.

Punto de ebullición: no reportado.

Punto de fusión: no reportado.

Solubilidad en agua: soluble.

| ESTABILIDAD Y REACTIVIDAD. | RIESGOS POR | CONTACTO | CONTACTO |
|-----------------------------------|--------------------|-----------------|-----------------|
|-----------------------------------|--------------------|-----------------|-----------------|

| | INHALACIÓN. | CON LA PIEL. | CON LOS OJOS. |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|---------------------|----------------------|
| <p>Posibles reacciones violentas con: halógenos, nitratos, permanganatos y oxidantes fuertes.</p> <p>Sensible al aire y sensible a la humedad. Almacenar bien cerrado, seco y en refrigeración por debajo de 15°C.</p> | Irritación en las vías respiratorias. | Irritación. | Irritación. |

ENZIMA UREASA.

Propiedades físicas y químicas:

Estado físico: sólido blanco amarillento.

Olor: casi inodoro.

Punto de ebullición: no reportado.

Punto de fusión: no reportado.

Solubilidad en agua: poco soluble.

| ESTABILIDAD Y REACTIVIDAD. | RIESGOS POR INHALACIÓN. | CONTACTO CON LA PIEL. | CONTACTO CON LOS OJOS. |
|-----------------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------|
| Estable. | No se conocen características peligrosas. | No se conocen características peligrosas. | No se conocen características peligrosas. |

<http://www.merk.com> (06/Noviembre/2009)³⁰

Anexo 4.

OBTENCIÓN DE PAPAÍNA



1 Origen.

La papaina es una enzima extraída de la Papaya. Esta enzima es similar a la pepsina humana.

2 Selección de frutos.

Se seleccionan frutos verdes y completamente desarrollados, de 3-4 meses de edad aproximadamente.

3 Extracción del látex.

Se efectúan varias sangrías verticalmente en el fruto repetidamente hasta un máximo de 4. A intervalos de cinco a ocho días, hasta que comience a disminuir el látex del fruto, al extremo que justifique la remoción de la fruta del árbol.

4 Procesamiento del látex.

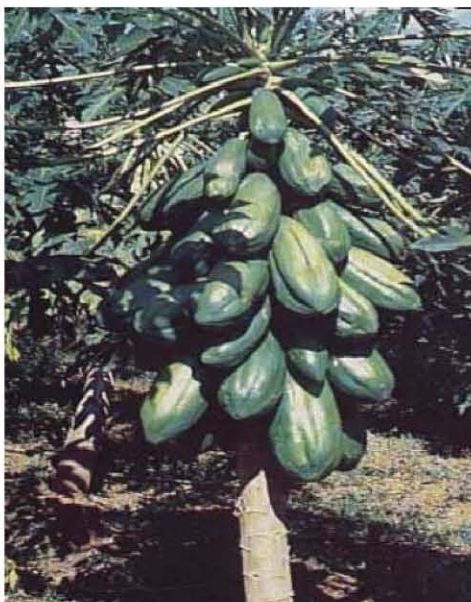
Debe ser secado inmediatamente después de ser extraído del fruto. El proceso puede hacerse a pleno sol o también utilizando un horno a 25°C durante 20 horas.

6 Disminución de la calidad del látex.

La pérdida de calidad está asociada con numerosos factores como: la edad de los árboles, madurez de los frutos, tiempo de extracción del látex, velocidad de secado, cantidad de lluvia caída, temperatura a la cual el látex es secado, sistema de almacenamiento, etc.

9 Obtención de la papaina.

En el laboratorio, se separa la enzima y se purifica hasta alcanzar un nivel óptimo de calidad para la venta. La enzima se vende en estado líquido y tiene una duración mínima de seis meses estando refrigerada.



7 Demanda del mercado.

El mercado exige un producto de color blanco cremoso, granulado sin mal olor y con alto grado de actividad proteolítica.

10 Comercialización.

La enzima se vende en estado líquido y tiene una duración mínima de seis meses estando refrigerada.

5 Presentación del látex.

El látex coagulado puede producir el 25% de su peso en polvo seco, el cual aún contiene 6-10% de humedad y presenta una coloración blanco-cremosa. Se conoce que el uso de solventes como el alcohol y la acetona, tiene acción sobre la precipitación y deshidratación del látex.

8 Mercados principales

Bélgica, Francia, Alemania, Reino Unido, Estados Unidos, Italia y Holanda.

11 Usos.

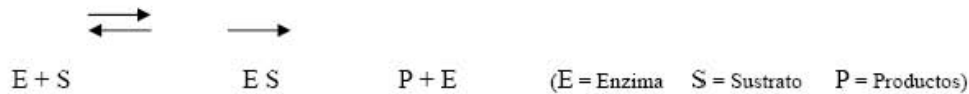
Ablandador de carnes, Clarificación de cerveza y otras bebidas, industria farmacéutica, cosméticos, curtición y textiles.

CINÉTICA ENZIMÁTICA: DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS CARACTERÍSTICOS

FUNDAMENTO

En la hidrólisis enzimática de la urea en disolución acuosa se producen dióxido de carbono y amoníaco, cuyos iones aumentan la conductividad de la disolución. La velocidad del proceso se determina por medidas conductimétricas a diferentes concentraciones de sustrato.

El mecanismo general de la catálisis enzimática suele representarse en la forma:



cuya velocidad inicial, V , viene dada por la ecuación de Michaelis-Menten:

$$V = \frac{V_m \cdot [S]}{[S] + K_M} \quad (\text{Ec.1}) \quad (V_m = \text{Velocidad máxima, y } K_M = \text{Constante de Michaelis})$$

La Ecuación 1 puede transformarse en la inversa, denominada también representación de Lineweaver-Burk:

$$\frac{1}{V} = \frac{1}{V_m} + \frac{K_M}{V_m \cdot [S]} \quad (\text{Ec. 2})$$

MATERIAL Y REACTIVOS

- 6 Erlenmeyer 250 mL
- 2 Vasos de precipitados altos de 100 mL
- Pipeta graduada de 25 mL
- Pipeta automática de 200 μ L (0.2 mL)
- Probeta de 100ml
- Urea
- Disolución de Ureasa en Glicerol 50%, 1000 U/ml
- Conductímetro

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

1. Preparar disoluciones de urea con arreglo al siguiente esquema:

| Erlenmeyer | Disolución | [S] = Concentración (%) | Preparación |
|------------|------------|-------------------------|---------------------------------------------|
| 1 | 1 | 0.4 | 0.4 g urea + 100 ml H ₂ O |
| 2 | 2 | 0.2 | 50 ml Disolución 1 + 50 ml H ₂ O |
| 3 | 3 | 0.1 | 50 ml Disolución 2 + 50 ml H ₂ O |
| 4 | 4 | 0.05 | 50 ml Disolución 3 + 50 ml H ₂ O |
| 5 | 5 | 0.025 | 50 ml Disolución 4 + 50 ml H ₂ O |
| 6 | 6 | 0.0125 | 50 ml Disolución 5 + 50 ml H ₂ O |

2. Colocar 40 ml de la disolución 1 en un vaso de precipitados, añadir una barra magnética, colocar el vaso en el agitador e introducir el electrodo del conductímetro.
3. Añadir 0.2 ml de disolución de ureasa.
4. Medir la conductividad de la disolución a los tiempos marcados en la tabla.
5. Repetir la operación con todas las disoluciones.

Ejercicio 1.- Rellenar todas las casillas de la tabla:

| tiempo (s) | C = Conductividad (u. a.) | | | | | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|-----|-----|------|-------|--------|
| 0 | | | | | | |
| 15 | | | | | | |
| 30 | | | | | | |
| 45 | | | | | | |
| 60 | | | | | | |
| 90 | | | | | | |
| 120 | | | | | | |
| 150 | | | | | | |
| 180 | | | | | | |
| 210 | | | | | | |
| 240 | | | | | | |
| Para calcular V (Velocidad inicial de la reacción), representar C frente a t, trazar una tangente en el origen y calcular su pendiente. Hacer esto para todas las concentraciones y anotar los valores en las casillas correspondientes | | | | | | |
| [S] | 0.4 | 0.2 | 0.1 | 0.05 | 0.025 | 0.0125 |
| V | | | | | | |
| 1/[S] | | | | | | |
| 1/V | | | | | | |

15) REFERENCIAS.

- (1) SCHNABEL W. "Polymer Degradation Principles and Practical Applications", HANSER, 1981. pp. 13-15

- (2) ZABALA Arce R.E., DE ALVA Salazar H.E., et al. "Análisis de la degradación enzimática de espumas de poliuretano sintetizadas con un polioliol a partir de aceite de soya mediante espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier"; Tecnología, Ciencia, Educación. , México D.F.; 2006 (21), 19-24.

- (3) GOMEZ Jiménez Mario A., RIVERA Armenta J.L. et al. "Degradación térmica y enzimática de redes poliméricas interpenetradas"; Revista Iberoamericana de Polímeros, México D.F., 2007, 8(5), 363-377.

- (4) RANGEL Vázquez Norma A., DE ALVA Salazar Hugo, et al. "Estudio cinético de la hidrólisis enzimática de materiales compuestos de poliuretano poroso/hidroxiapatita"; Revista iberoamericana de Polímeros, México D.F., 2008, 9(1), 25-35.

- (5) YAMAMOTO Noboru, NAKAYAMA Atsuyoshi, et al. "Enzymatic hydrolysis of lysine diisocyanate based polyurethanes and segmented polyurethane ureas by various proteases", Reactive & Functional Polymers, Japan, 2007, 67, 1338-1345.

- (6) HATADA Koichi, KITAYAMA Tatsuki et al; "Macromolecular design of polymeric materials", Marcel Dekker, New York, 1997 pp 523-524.

- (7) SEYMOUR R. Carraher C. "Introducción a la Química de los Polímeros", 2° reimpresión, Reverté, España, 2002, pp. 6, 31,38, 243-248, 554-555.

- (8) SANDLER R. Stanley, "POLYMER SYNTHETICS", Vol. 1, Ed. Academic Press. INC. 1974, USA, pp. 55-62, 196,200.
- (9) WOODS George, "The polyurethanes book", 2° Ed, John Wiley & Sons, EUA, 2001. pp 1-6, 27-87, 127-300, pp. 523-556.
- (10) ARÁN Arís Francisca; Tesis Doctoral, "Síntesis y caracterización de poliuretanos termoplásticos que contienen resinas de colofonia y su aplicación como adhesivos"; Universidad de ALICANTE, 12 de Octubre de 2000. pp. 11-19.
- (11) WINDING C. Charles, "Polymeric Materials" Mc Graw-Hill, USA, 1961, pp 271-275.
- (12) VILAR, W. "Química y Tecnología de Poliuretanos", 3ra ed. Río de Janeiro, 2002. www.poliuretanos.com.br.
- (13) HIEMENZ C. Paul, LODGE P. Timothy, "Polymer Chemistry", 2° ed, CRC Press, USA, 2007, p. 14.
- (14) RANDALL, D., LEE, S. "The polyurethanes book", 3° ed, John Wiley & Sons, Reino Unido, 2002. pp. 525-528.
- (15) MAHMOOD Khalid, NAWAZ Bhatti Haq, et al; "Methods for polyurethane and composites, recycling and recovery: A review", Reactive & Functional Polymers, Pakistan, 2007 (67), 675-692.
- (16) C. Magdalena, "Reciclaje: Espuma de Poliuretano", Verticalia®, 2007 pp 3-13.

- (17) HOWARD T. Gary. "Biodegradation of polyurethane: a review"; International biodeterioration & Biodegradation; USA, 49(2000), 245-252.
- (18) MURRAY K. Robert, DARYL Granner K. et al; "Harper Bioquímica Ilustrada", 17^a ed, El manual moderno, 2007, México, pp. 55-58.
- (19) CHAMPE C. Pamela, HARVEY A. Richard, et al, "Bioquímica", 3^a ed, Mc Graw-Hill, México, pp. 61-70.
- (20) JEIJON Rivera José Ma, et al, "Bioquímica Estructural: Conceptos fundamentales y 383 test con respuestas razonadas", Alfaomega, México, 1999, pp. 253-254, 266-268.
- (21) JEIJON Rivera José Ma, et al, "Fundamentos de Bioquímica Estructural", Alfaomega, México, 2005, pp192-197.
- (22) CASTELLS J. y CAMPS F. "Tablas para la Eludación Estructural de Compuestos Orgánicos por Métodos Espectroscópico", 2da ed, ed. Alambra, 1985, España, pp. 175-185.
- (23) Curso Básico sobre la Espectroscopía en la Industria Farmacéutica, IPN, 1980, México.
- (24) CHANG Raymond, "Principios Básicos de Espectroscopía", ed. Editorial AC. Libros científicos y técnicos., 1971, Madrid España, pp. 300-320.
- (25) GREGORÍ Valdés Bárbara S., GUERRA Mercedes, et al. "Caracterización Estructural de Poliuretanos mediante Espectroscopia FTIR y RMN (H^1 Y C^{13})"; Revista iberoamericana de Polímeros, Zacatepec Morelos., 2008, 9(4), 377-388.

(26) HATSOU Ishida, "Fourier Transform Infrared Characterization of Polymers", ed. Plenum press, 1987, USA, pp. 97-103.

(27) SMITH Brian C., "Fundamentals of Fourier Transform Infrared Spectroscopy", ed. CRC Press, 1996, USA, pp. 1-15.

(28) HERK VAN A, "Chemistry and Technology of Emulsion Polymerization", ed. Blackwell Publishing, 2005, USA, pp. 212-213.

(29) URBAN Dieter and TAKAMURA Koichi, "Polymer Dispersions and their Industrial Applications", ed. Wiley-VCH, 2002, Germany, pp. 69-70.

(30) www.Merk.com (03/Noviembre/2009)