Regresa al Indice

BIODEGRADACIÓN DE POLIETILENO POR HONGOS FILAMENTOSOS

A. Manzur*, M. Limón[1], y E. Favela[1].
Departamento de Física. [1] Departamento de Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa.
Apartado Postal 55-534, 09340, México, D. F., México.
E-mail: amg@xanum.uam.mx

INTRODUCCIÓN

Algunos polímeros sintéticos de alto peso molecular, en la forma producida inicialmente, son resistentes al ataque microbiano. La biodegradación de polímeros sintéticos y naturales ha atraído mucho interés pues los problemas ambientales se han incrementado, en consecuencia de la acumulación de desechos sólidos generados por los polímeros de ingeniería. Polímeros como el polietileno sufren biodegradación muy lenta. Una de las soluciones posibles a estos problemas puede ser la modificación del polímero para facilitar la biodegradación. Para ayudar al mecanismo a través del cual los microorganismos asimilan el carbono contenido en el polímero, primero debe ser transformado a compuestos de bajo peso molecular más oxidados. La oxidación de las moléculas mediante tratamientos fisicoquímicos facilita la acción de microorganismos [1-3], e incrementa las tasas de biodegradación. Se han reportado efectos de varios hongos filamentosos en polietileno de baja densidad (LDPE). *Aspergillus niger* y *Penicillium pinophilum* [4] y el *Phanerochaete chrysosporium* [5,6] modifican la estructura y morfología cristalinas.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la biodegradación del LDPE por un consorcio de 4 hongos filamentosos. El polímero fue previamente sometido a 2 tratamientos fisicoquímicos: un tratamiento térmico (105 o 150 ^{o}C, 120 h) o un tratamiento de envejecimiento acelerado (70 ^{o}C, UV (310 nm), 29 días). Se evaluaron los cambios morfológicos, estructurales y superficiales, así como la producción de CO_2.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tratamientos fisicoquímicos. El LDPE comercial (17070, Pemex, México) tiene valores de densidad e índice de fluidez de 0.917 g/cc y 7 dg/min, respectivamente. Para inducir cambios en su estructura, primero fue sometido a 2 tratamientos fisicoquímicos (PCT). El PE fue sometido a un tratamiento de envejecimiento acelerado (AAT) para simular su degradación de 10 años. El tratamiento térmico (TT) se hizo con un horno en atmósfera de aire; después el plástico fue enfriado rápidamente en nitrógeno líquido. Fue molido y esterilizado con radiación UV antes de la incubación con los hongos. Polímero molido sin tratar (U-LDPE) fue usado como referencia.

Tratamiento biológico y condiciones de cultivo. El tratamiento biológico (BT) se realizó en un medio de cultivo líquido usando botellas serológicas selladas. El medio tenía la composición siguiente (en g/L), por litro de agua destilada: NH_4NO_3, 1.51; KH_2PO_4, 1.35; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 1.48; $MnSO_4 \cdot 4H_2O$, 0.021; $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.007; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, 0.006; $CoCl_2 \cdot 6H_2O$, 0.006. El pH se ajustó a 5, y el medio fue esterilizado a 120 °C por 15 min. Una masa de 0.5 g de polietileno esterilizado fue agregado a 25 mL de medio de cultivo y luego inoculado ($1x10^6$ esporas/mL de cada cepa) con un consorcio de 4 hongos filamentosos (*Aspergillus niger*, *Gliocladium virens*, *Penicillium pinophilum*, and *Phanerochaete chrysosporium*). Los cultivos fueron incubados a 29°C por 9 meses. Botellas inoculadas a las mismas condiciones sin LDPE fueron corridas como controles.

Regresa al Indice

Para mantener concentraciones de O_2 arriba del 18 %, la fase gaseosa dentro de las botellas fue reemplazada completamente después del análisis del CO_2 bajo condiciones asépticas. Análisis del LDPE fue realizado cada 3 meses. El polímero fue separado de la biomasa primero con agitación vigorosa y luego por centrifugación a 8200 g por 10 min. El material plástico flotante fue lavado con agua destilada y secado en condiciones ambientales.

Métodos de caracterización. Usando DSC se calcularon la cristalinidad relativa (Φ), las temperaturas de fusión (T_m) y de inicio de fusión (T_o). Φ y T_o se calcularon siguiendo el criterio reportado [4]. Cambios en el tamaño medio de cristal (L_{110}) fueron estimados mediante dispersión de rayos x. La evolución de los cambios en la estructura química se realizaron cada 3 meses usando espectroscopía FTIR. La intensidad de la banda en 1715 cm^{-1} atribuida al grupo carbonilo (C=O) y la intensidad en 905 cm^{-1} atribuida a los grupos vinilo ($-CH=CH_2$) fueron relacionadas a la del metileno ($-CH_2$) en la banda 1460 cm^{-1}. Estas cantidades relativas son el índice carbonilo e índice vinilo, la banda del metileno no cambia durante la degradación del polietileno [3]. Las muestras fueron analizadas en un microscopio electrónico de barrido a los 6 y 9 meses de tratamiento biológico. La concentración de CO_2 en la atmósfera contenida en las botellas se analizó cada mes con cromatografía de gases.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cambios térmicos y cristalinos. Como consecuencia del tratamiento, las muestras TT presentaron decrementos en T_m (3.1^{o}C en TT/105) y en T_o (8.7^{o}C en TT/105). La muestra TT/105 tuvo la mayor polidispersidad en el tamaño de cristales, medida a través de T_m y T_o. La muestra AAT mostró un ligero incremento en la cristalinidad comparada con la U-LDPE. Las muestras TT presentaron decrementos en la cristalinidad cuyos valores dependen de la temperatura usada en el tratamiento; la TT/150 tuvo el mayor decremento. Las muestras TT tienen diferente conducta porque sufrieron distintos cambios estructurales, detectados por FTIR. Debido a que T_o es la temperatura donde los cristales más grandes o menos imperfectos empiezan a fundir, estos decrementos en T_o y T_m tienen relación con los decrementos de Φ.

Como consecuencia del tratamiento biológico, las muestras presentaron ligeros decrementos de T_m y T_o a los 3 y 6 meses con respecto a las muestras sin BT, después de estos tiempos los valores crecieron ligeramente o permanecieron sin cambios en la escala de tiempo de este experimento. Las muestras sometidas a TT mostraron los cambios mayores. Los decrementos en T_m después del BT indican la presencia de cristales más pequeños o imperfectos en comparación a los que existían originalmente.

La cristalinidad de las muestras sometidas a BT presentó incrementos significativos a los 3 y 6 meses en las muestras TT/105 (6.5 %) y TT/150 (7.4 %) respectivamente, en comparación con las muestras sin BT. Después de estos tiempos se observó un decremento en ambas muestras TT. Estos cambios sugieren un mecanismo de 2 etapas: un incremento en la cristalinidad debido al ataque microbiano en la fracción amorfa, y una siguiente etapa representada por el ataque a cristales más pequeños. Este mecanismo explica el incremento y el subsiguiente decremento en la cristalinidad. La muestra AAT presentó un decremento de 5.2 % a los 6 meses mientras que la muestra U-LDPE presentó un retardado decremento más pequeño.

La estimación del tamaño medio L_{110} de las partículas cristalinas se hizo antes y después del BT. Los valores iniciales para las muestras U-LDPE, TT/105, TT/150 y AAT

fueron de 7.4, 7.0, 6.8 y 6.5 nm, respectivamente. La reducción de estos valores respecto a U-LDPE representa un incremento en el número de los cristales más pequeños debido al tratamiento fisicoquímico. Esto está en concordancia con los resultados obtenidos por DSC donde se observaron decrementos en los valores de T_m, T_o y Φ. Los valores de L_{110} a los 9 meses para las muestras U-LDPE, TT/105, TT/150 y AAT fueron de 9.2, 9.5, 7.2 y 6.6 nm. Estos valores más grandes para las respectivas muestras significan un decremento en el número de los cristales más pequeños debido a la acción de los microorganismos. Estos valores indican una alta actividad microbiana sobre la fase amorfa y sobre los cristales más pequeños.

Estos resultados sugieren que al exponer el polímero al BT, los hongos primero atacan principalmente la fase amorfa, causando incremento en la cristalinidad y separación de bloques cristalinos, así se obtienen cristales más pequeños. Después, con el ataque a cristales más pequeños localizados en la interfase amorfa-cristalina, o formados durante la primera etapa, se producen un incremento en la fracción amorfa y un decremento en la cristalina. Debido al ataque microbiano sobre los cristales más pequeños se obtuvo un decremento en cristalinidad y un incremento en L_{110}.

Cambios estructurales. La aparición del grupo carbonilo fue observada en todas las muestras tratadas fisicoquímicamente, esta banda está ausente en U-LDPE . Las muestras presentaron la aparición de grupos hidroxi (3400 cm^{-1}) y un pico en la banda 1173 cm^{-1} la cual también es relacionada a grupos carbonilos. La muestra AAT sufrió una reacción de foto-oxidación causando un incremento en los grupos con doble enlace (905 cm^{-1}). Los productos de la foto-oxidación en el polietileno son compuestos principalmente tanto de grupo carbonilo como de grupos vinilo [7]. El nivel mayor de oxidación debido al PCT lo presentó la muestra AAT. Además, también se observó un incremento del triple del índice vinilo (VI).

Los valores del índice carbonilo (CI) en las muestras TT/105 y AAT mostraron incrementos a los 3 y 6 meses, después permanecieron sin cambio hasta los 9 meses; sus valores fueron diferentes de acuerdo con el tratamiento usado. En contraste, la muestra TT/150 mostró un decremento en CI a los 3 meses de incubación, luego permaneció prácticamente constante.

El VI de la muestra U-LDPE no mostró cambios significativos, pero el de TT/150 creció desde el tercer mes de incubación. Un incremento fue observado en las muestras TT/105 y AAT a los 9 meses. Los segmentos formados durante la ruptura de cadenas, por efecto del BT, podrían causar la formación de grupo vinilo.

Los decrementos en CI indican un ataque de microorganismos en cadenas más oxidadas [3]. El grupo oxidado es transformado a un ácido carboxílico (1700-1725 cm^{-1}) y luego es metabolizado a través de la β-oxidación. El incremento del CI podría ser causado por la oxidación microbiana de cadenas cortas [3]. El efecto del BT causó incremento o decremento de CI, e incrementos o aparición de VI, lo cual podría indicar la coexistencia de 2 mecanismos de reacción química durante la biodegradación del PE.

Producción de CO_2. Un incremento en la producción de CO_2 (producido sólo a partir del carbono contenido en el PE) fue observado en el primer mes, debido al ataque microbiano. Esta producción de CO_2 también podría ser debida a la biodegradación de aditivos presentes en el PE original. Sin embargo, durante los siguientes 8 meses las muestras

Regresa al Indice

permanecieron sin cambios significativos, excepto la AAT que mostró un incremento desde el tercer mes de incubación alcanzando un nivel final de mineralización de 3.26 % (expresado como C-CO_2 dividido entre el C-LDPE total en las muestras). Esta muestra tuvo la mayor producción de CO_2 posiblemente porque mostró el mayor nivel de oxidación por efecto del tratamiento fisicoquímico.

Cambios superficiales. El crecimiento superficial de hifa aumentó con la temperatura usada en el TT y depende del nivel de oxidación de cada muestra. La biodegradación del PE fue evidenciada a través de 2 efectos: formación de cavidades en la superficie y penetración de hifas en el material. La presencia de pequeñas y grandes cavidades sugirió que estas cavidades podrían deberse a la ausencia de una distribución uniforme de ramas cortas o productos fotodegradables en la matriz polimérica [8], produciendo zonas duras y blandas cerca de la superficie. Probablemente la penetración ocurrió en las zonas blandas. La muestra AAT mostró el mayor número de penetraciones.

CONCLUSIONES

Durante el tratamiento biológico (BT) fue observado un mecanismo con dos etapas. El incremento y el posterior decremento de la cristalinidad observado durante el BT indican una etapa predominante al principio donde los microorganismos atacan principalmente la fase amorfa del LDPE, seguida por otra etapa donde también los cristales más pequeños sufren el ataque microbiano. Este efecto fue confirmado por el incremento del tamaño medio de las partículas cristalinas después del BT.

La disminución en el índice carbonilo mostró que estos microorganismos prefieren cadenas oxidadas, pero el incremento en este índice indicó una oxidación microbiana posiblemente en las cadenas más cortas. Esto sugiere la coexistencia de 2 mecanismos químicos durante la biodegradación del PE. El tratamiento térmico favoreció la biodegradación, vista a través de los cambios morfológicos. El mayor nivel de oxidación de la muestra tratada por envejecimiento acelerado favoreció la mineralización del polietileno (por la producción de CO_2).

REFERENCIAS

1. A. C. Palmisano y C. A. Pettigrew, *BioScience*, **42**, 680 (1992).
2. G. Colin, et al., *Int. Biodetn. Bull.*, **12,** 67 (1976).
3. A. C. Albertsson, et al., *Polym. Degrad. Stab.*, **18,** 73 (1987).
4. T. Volke-Sepúlveda, et al., *J. Appl. Polym. Sci*., **83,** 305 (2002).
5. A. Manzur, et al., *J. Appl. Polym. Sci*., **66**, 105 (1997).
6. T. Volke-Sepúlveda, et al., *J. Appl. Polym. Sci*., **73,** 1435 (1999).
7. S. Al–Malaika, et al., *J. Macromol. Sci., Pure & Appl. Chem.*, **A32,** 709 (1995).
8. J. K. Pandey y R. P. Singh. *Biomacromolecules*, **2**, 880 (2001).