

EVALUACIÓN DE LA BIODEGRADABILIDAD AERÓBICA EN SUELO DE DOS POLÍMEROS: ÁCIDO POLILÁCTICO Y ÁCIDO POLIGLICÓLICO

Diana González
Universidad del Valle

Fabio Zuluaga
Universidad del Valle

Recibido: octubre 6, 2009 Aceptado: noviembre 13, 2009

Resumen

En este estudio se determinó la biodegradabilidad de los ácidos poli(L-láctico) (PLLA) y poliglicólico (PGA) sintetizados a partir de ácido L-láctico (LLA) y ácido glicólico (GA) por medio de reacciones de policondensación, empleando rampas de temperatura y presión. Los polímeros se caracterizaron por espectroscopia de infrarrojo (IR), espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN), viscosimetría capilar, cromatografía de permeación de geles (GPC) y análisis térmico: calorimetría diferencial de barrido (DSC), análisis termogravimétrico (TGA). Fueron sometidos a un ensayo de biodegradación tomando dos suelos diferentes; la degradación se llevó a cabo por un período de 30 días, donde se determinaron los cambios visuales, la pérdida de peso de las muestras y la variación en el pH de los suelos; para el ácido poli(L-láctico) también se determinó la variación del peso molecular por GPC. Las muestras de ácido poliglicólico (PGA) en los dos suelos presentaron mayor pérdida de peso que las del ácido poli(L-láctico) (PLLA).

Palabras clave: Ácido poli(L-láctico), ácido poli(glicólico), suelos, biodegradabilidad.

Abstract

In order to evaluate the biodegradability of some polymers, poly(L-lactic acid) (PLLA) and poly(glycolic acid) (PGA) were synthesized from L-lactic acid (LLA) and glycolic acid (GA) by polycondensation reactions using temperature and pressure ramps. The polymers were characterized by spectroscopy (IR, RMN), Thermal Analysis (DSC, TGA) Capillary Viscometry and Chromatography (GPC) and were subjected to degradation tests in two different soils. The degradation was conducted for a period of 30 days, in which visual changes, weight loss of samples and variations in pH of the soils were determined. Additionally, the change in molecular weight of the polymer was measured by GPC. The poly(glycolic) acid (PGA) samples in both soils showed a higher weight loss than those of the poly(L-lactic acid) (PLLA).

Keywords: poly(L-lactic acid), poly(glycolic acid), soils, biodegradability.

1 Introducción

Los polímeros se han convertido en una parte indispensable para la vida moderna. Con el tiempo, la estabilidad y la durabilidad de los plásticos han sido mejoradas continuamente y por lo tanto, este grupo de materiales es considerado sinónimo de productos resistentes a muchas influencias ambientales. (1). Los polímeros petroquímicos se emplean ampliamente en diversas áreas como la agricultura, biomedicina y fármacos (2).

Actualmente, más de 202 millones de toneladas de plásticos se producen en el mundo por año. Con el aumento en la producción, la cantidad de residuos plásticos se ha elevado enormemente (2); sin embargo, con la preocupación ambiental de las últimas dos décadas, ha crecido la investigación con respecto al uso de materiales biodegradables como una de las soluciones al problema de los desechos (3). Por esto, en los últimos años se han desarrollado con éxito plásticos biodegradables, sobre todo poliésteres, para resolver las demandas en varios campos e industrias.

El presente trabajo consiste en la síntesis de dos poliésteres PLLA y PGA y la evaluación de su biodegradabilidad en dos suelos diferentes, bajo condiciones controladas en el laboratorio.

2 Materiales y métodos

2.1 Síntesis y caracterización de los polímeros

Se utilizaron soluciones acuosas de los monómeros, LLA (88-92 %, Scharlau) y GA (70 %, Merck). En un balón de 100 mL acoplado a un sistema de destilación se colocaron 12 mL de solución de LLA y 30 mL de tolueno. Esta mezcla se destiló sobre un baño de arena con agitación mecánica a 150 °C durante 5 horas para eliminar toda el agua en el monómero. Para el GA se realizó el mismo procedimiento. Posteriormente, se realizaron las polimerizaciones usando el mismo montaje con rampas de temperatura y presión: para el LLA entre 30-140 °C y 260-160 torr en un período de doce horas y para el GA entre 30-140°C y 180-160 torr en un período de siete horas.

La caracterización de los productos se realizó mediante espectroscopia IR en un equipo SHIMADZU FTIR-8400 usando el método de pastilla de KBr; DSC en un aparato TA Instruments 2920, a una velocidad de calentamiento de 10 °C/min y atmósfera de nitrógeno con un flujo de 80 mL/min y TGA, en un equipo TA Instruments 2050, a una velocidad de calentamiento de 10 °C.

El PLLA se analizó también ¹H-RMN en un espectrómetro BRUKER 400 AVANCE II y se empleó como solvente cloroformo deuterado (CDCl₃). El peso molecular de este polímero se determinó mediante cuatro técnicas diferentes: ¹H-RMN, viscosimetría, GPC y análisis de grupos terminales. Para la viscosimetría se empleó un viscosímetro Ubbelohde NO.OB 206 en un baño termostático a 25 °C. Se hicieron soluciones del polímero en cloroformo en concentraciones entre 9 – 4 mg/mL y se utilizó la ecuación 1

$$[\eta] = kM_v^{\alpha} \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde $[\eta]$ es la viscosidad intrínseca, M_v es el peso molecular viscosimétrico y k y α son constantes determinadas para un sistema PLLA/Cloroformo/25°C, cuyos valores son 5.45×10^{-2} y 0.73, respectivamente (5). Para el análisis por GPC se construyó una curva de calibración con patrones de poliestireno (PL Polymer Standards) de M_w (580-172.100 g/mol), usando una columna PL-Gel 20, y tetrahidrofurano (THF) como disolvente con un flujo de 1 mL/min, y un detector de ultravioleta (UV) a 240 nm. Para el análisis de grupos terminales, se disolvieron 0,15 g de muestra en 40 mL de solución tolueno-isopropanol al 50% en volumen, titulando con una solución de KOH-metanol 0,10 M (4).

2.2 Recolección y caracterización de los suelos

Los dos suelos empleados se recolectaron en la ciudad de Cali (Valle del Cauca) y en el corregimiento del Rosal, municipio de Caldono (Cauca), se transportaron en bolsas oscuras y se pasaron a través de un tamiz de 2 mm.

Los suelos fueron sometidos a una caracterización, en la cual se determinó: textura, por medio de un análisis semicualitativo utilizando el método al tacto (6); color, por método cualitativo; para el contenido de humedad y pH se empleó un pHmetro especial para suelos Kelway Soil Acidity & Moisture Tester de Kel Instruments Co., Inc.; la determinación de materia orgánica total se realizó por el método de oxidación con dicromato de potasio (7); el contenido de nitrógeno, se determinó por el método de micro Kjeldahl (8); la cantidad de los metales Na, Zn, Cu y Fe se determinó por medio de absorción atómica (AA) (9) en un espectrofotómetro Perkin-Elmer 5000.

Por otro lado, los suelos tamizados se refrigeraron a 12 °C y fueron llevados al laboratorio de microbiología industrial y ambiental de la Universidad del Valle, donde fueron analizados para mesófilos, mohos, levaduras, coliformes totales, actinomicetos y bacterias nitrificantes.

2.3 Ensayo de biodegradación

Los ensayos de biodegradación se realizaron en los dos suelos antes mencionados. Se vertieron 11 L de estos suelos en dos recipientes de 33.5x27x13.3 Cm y se resguardaron de la luz.

Siete muestras cilíndricas de PLLA, PGA de 12 mm de diámetro y 4 mm de espesor y de polietileno (PE) y tela de algodón, como controles negativo y positivo respectivamente, se enterraron en los suelos. Las muestras de cada uno de los materiales se recolectaron los días 4, 9, 14, 18, 21, 25 y 30. En cada caso, se lavaron con agua destilada varias veces y se secaron al vacío hasta peso constante. Luego de cada recolección se adicionó agua al suelo y se mezcló con el fin de mantener la cantidad de agua constante entre 20-30 % (10), al igual que el suministro de oxígeno. La temperatura se conservó entre 26 y 28 °C.

La degradación de los polímeros se evaluó primero por el cambio de pH en los suelos. Posteriormente, se evaluaron los cambios visuales y se determinó la pérdida de peso de los polímeros ($\%_w$) con respecto al peso de la muestra inicial, utilizando la ecuación 2.

$$\%_w = \frac{W_i - W_f}{W_i} \times 100 \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde W_i es el peso inicial de la muestra y W_f es el peso final de la muestra de polímero después de ser sometida al proceso de biodegradación.

Además las muestras de PLLA se sometieron a un análisis por GPC con el fin de conocer los cambios en el peso molecular e índice de polidispersidad con respecto al tiempo.

3 Resultados y discusión

3.1 Caracterización de los polímeros

Los dos ácidos, tanto el LLA como el GA, formaron poliésteres (Figura 1) y la formación de los polímeros se comprobó con un análisis FTIR (Figuras 2 y 3). En los resultados se puede apreciar que las bandas 3444,62 y 3461,99 (-OH) en los monómeros se redujeron en los polímeros debido a la formación del enlace éster. También se pueden observar cambios en las bandas 1729,06 y 1730,03 ($>C=O$), para los polímeros éstas bandas se encuentran a números de onda más altos con respecto a los monómeros, 1761,43 y 1747,89 cm^{-1} respectivamente. Lo anterior se debe a un efecto inductivo por parte del átomo de oxígeno adyacente, este efecto incrementa la atracción electrónica del enlace y la constante de fuerza aumenta. Además, la banda de vibración de tensión del enlace C-O, que consta de dos bandas asimétricas acopladas: C-C(=O)-O y O-C-C (11) que aparecen en la región entre 1210-1163 (2b) y 1164-1031 (3b) cm^{-1} respectivamente.

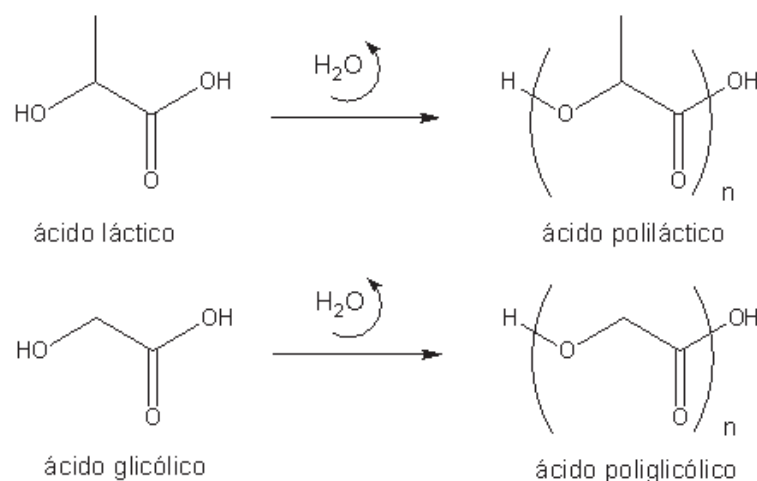


Figura 1. Estructuras del ácido láctico, ácido poliláctico, ácido glicólico y ácido poliglicólico

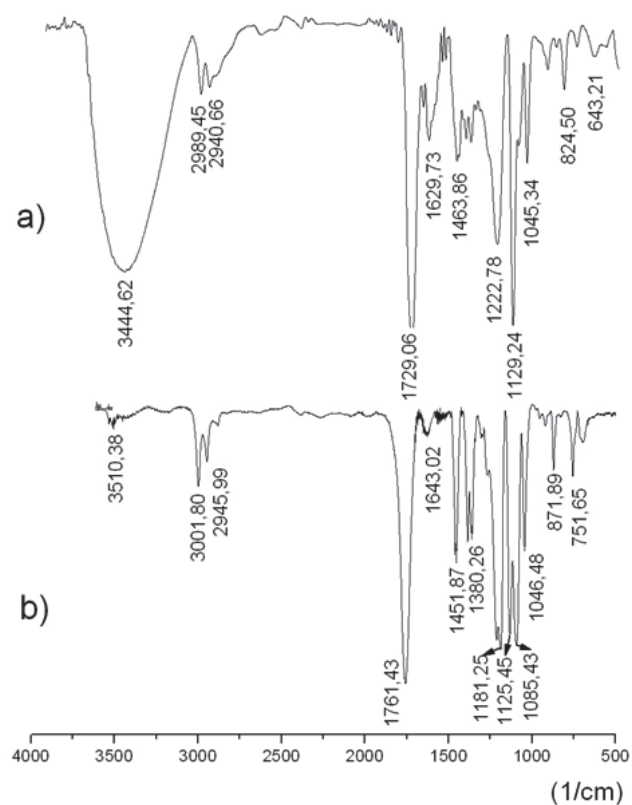


Figura 2. Espectros FTIR de a) LA y b) PLLA

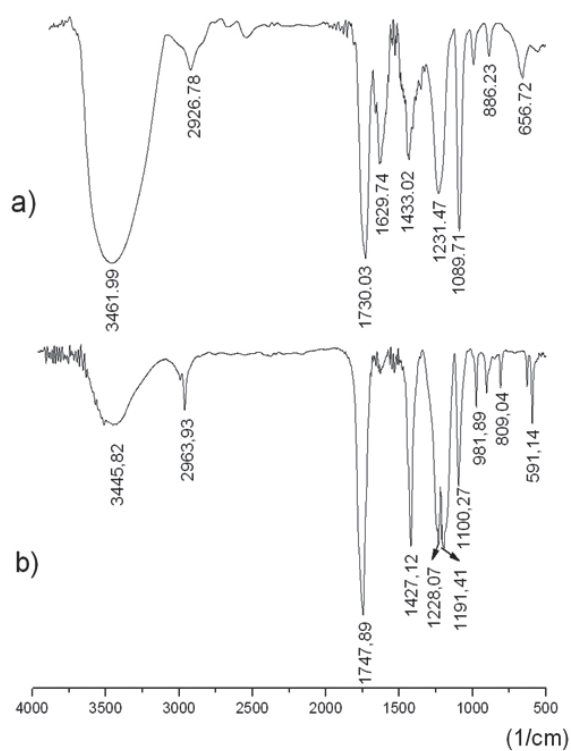


Figura 3. Espectros FTIR de a) GA y b) PGA

En el espectro de ^1H -RMN del PLLA (Figura 4), se pueden observar las señales: δ 1.48 (3H,d,H-1), 1.59 (3H,d,H-1), 4.37 (1H,m,H-2) y 5.18 (1H,m,H-2), las dos primeras señales, a campo alto, corresponden a los protones del grupo metino ($-\text{CH}_3$), estas se presentan debido a los protones de este grupo que están internos y externos en la cadena polimérica, la señal externa es la de (1.48) y la interna es la de (1.59); las últimas dos señales mencionadas corresponden a los protones del grupo metino ($-\text{CH}$) del polímero, de igual manera, estas señales representan los protones internos y externos de la cadena polimérica (12).

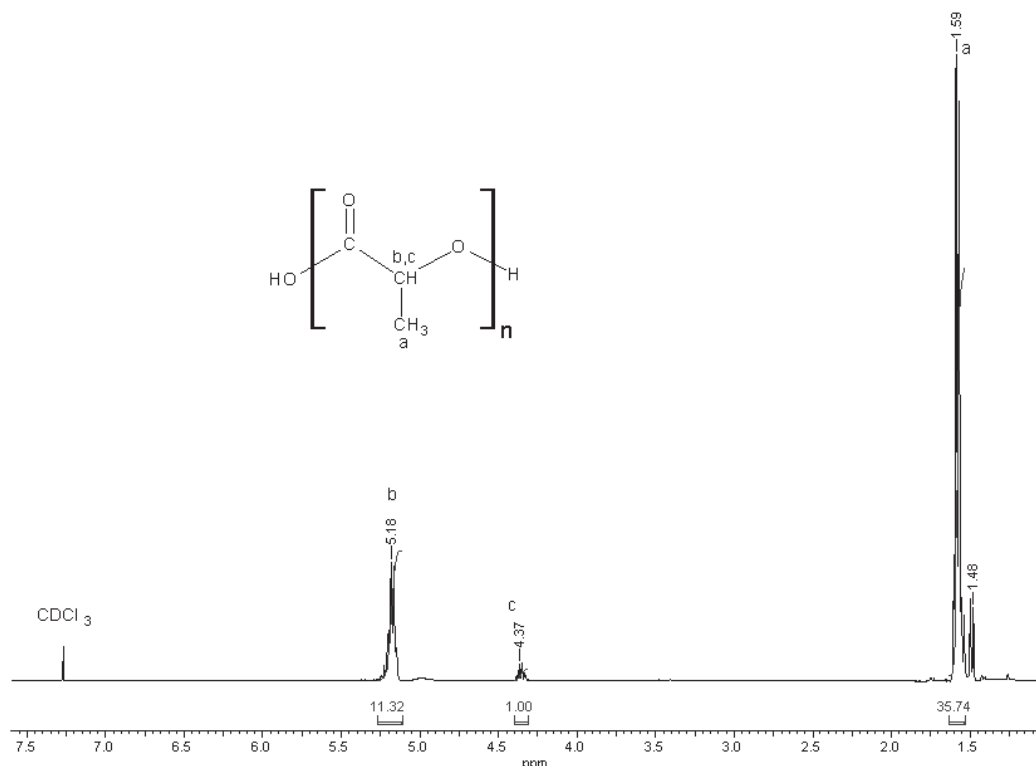


Figura 4. Espectro ^1H -RMN del PLLA (600MHz, CDCl_3)

Los pesos moleculares para el PLLA obtenidos (Tabla 1) permitieron observar que el resultado determinado por medio del análisis de grupos terminales (titulación) fue muy bajo con respecto a los otros. La razón es que éste método es menos sensible ya que la fracción de grupos terminales puede ser muy pequeña con respecto a la cantidad de muestra para ser medida con precisión.

Por GPC se determinaron los pesos moleculares promedio (M_n y M_w) y el índice de polidispersidad ($\text{IPD} = M_w/M_n$), cuyo valor fue muy cercano a la unidad, indicando que la distribución de pesos moleculares de la muestra es muy estrecha. No obstante, se debe tener en cuenta que en este método los estándares empleados son de poliestireno, el cual tiene una estructura muy diferente al PLLA. El análisis por viscosimetría realizado no proporciona valores del peso molecular absolutos, sino que es una medida relativa del peso molecular, debido a que la ecuación 1 utiliza las constantes α y k , determinadas experimentalmente (13).

Por último se realizó una determinación del peso molecular por RMN, el cual es un método muy rápido y fácil, sólo se tienen tres requisitos: 1) protones identificables en los grupos finales del polímero, 2) integración exacta de las señales de los protones y 3) pesos moleculares de los monómeros; éste método es el más sensible y preciso que los antes mencionados para valores bajos de pesos moleculares.

Polímero	M_n (g/mol) (^1H -RMN)	M_n (g/mol) (titulación)	M_v (g/mol) (viscosimetría)	M_n (g/mol) (GPC)	M_w (g/mol) (GPC)	M_w/M_n (GPC)
PLLA	905	532	857	882	927	1.05

Tabla 1. Pesos moleculares y polidispersidad para el PLLA determinados por GPC, RMN- ^1H , titulación y viscosimetría

En los termogramas obtenidos por DSC para los polímeros, se observaron dos transiciones correspondientes a las temperaturas de transición vítrea (T_g) y de fusión (T_f). Comparando los valores obtenidos (Tabla 2) se observa que el PGA presentó las transiciones a temperaturas mayores que el PLLA. El PE presentó una sola transición ya que su T_g se encuentra por debajo de 0 °C.

Polímero	T_g (°C)	T_f (°C)
PLLA	45.22	131.66
PGA	60.55	156.37
PE	-----	137.27

Tabla 2. Valores de T_g y T_f obtenidos por DSC

Los análisis de TGA (Figura 5) muestran que los polímeros, excepto el PE, empiezan a perder peso desde el comienzo. Estas primeras pérdidas se deben a la eliminación del agua residual debido a que estos materiales tienen un alto carácter hidrofílico. Posteriormente se puede observar que por encima de los 200 °C la pérdida de peso es alta ya que se dan procesos de degradación térmica.

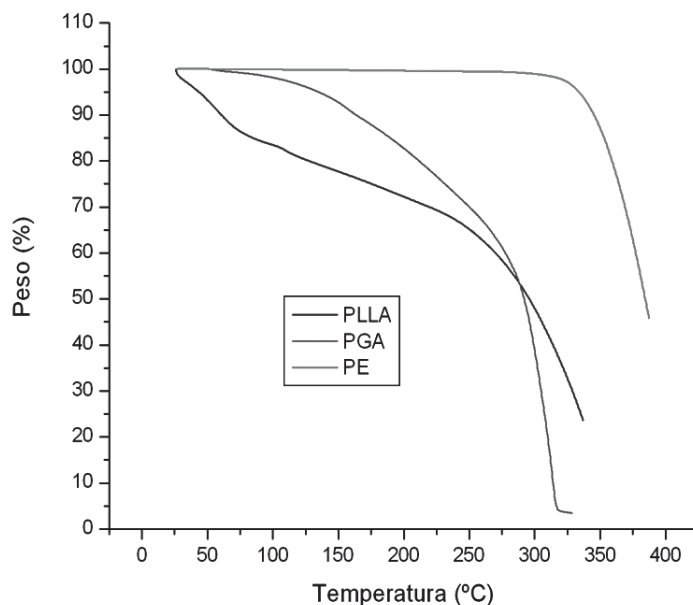


Figura 5. Termogramas de TGA para PLLA, PGA y PE *Caracterización de los suelos*

La caracterización de los suelos se encuentra en la Tabla 3.

4 Ensayo de biodegradación

4.1 Cambios visuales

Los efectos utilizados para describir la degradación incluyen rugosidad en la superficie, formación de grietas o agujeros, fragmentación y cambios en el color. Estos cambios no prueban la presencia de un proceso de biodegradación en términos metabólicos, pero el parámetro de cambios visuales puede utilizarse como primera indicación de cualquier ataque microbiano (1). Las muestras de los controles negativos en los dos suelos no presentaron cambios visuales, por otro lado, en los controles positivos se observaron algunos cambios en su color, pero no se observó desintegración de la tela.

A medida que aumentaban los días de exposición las muestras de PGA en los dos suelos (Figuras 6 y 7[a]) se volvieron muy frágiles y algunas se fragmentaron, se observaron grietas y agujeros en la superficie reduciendo de esta forma el espesor de las pastillas. En las muestras del suelo “Cali” se pudo además observar que tomaron un color amarillo en algunas partes de su superficie. La fragmentación y la fragilidad también se notaron en las muestras de PLLA (Figuras 6 y 7[b]), además en las muestras enterradas en el suelo “Cali” se observaron cambios de color; a partir del día 14 apareció un color naranja en la superficie.

Análisis físico-químico					
Suelo	Textura	Color	Humedad (%)	pH	%MOT
Cali	Franco-arenoso	Marrón oscuro	21.3	6.6	5.29
Cauca	Areno-francoso	Rojo	20.0	7.2	2.40

Suelo	Nitrógeno (%)	Na (ppm)	Zn (ppm)	Cu (ppm)	Fe (ppm)
Cali	3.61	55.73	104.23	78.08	69,481.94
Cauca	5.33	61.79	61.21	16.66	103,960.51

Análisis microbiológico*						
Suelo	Mesófilos UFC/g	Mohos y levaduras UFC/g	coliformes totales NMP/g	Actinomicetos UFC/g	Bacterias nitrificantes NMP/g	
					Nitrosos	Nítricos
Cali	2.5×10^4	1.6×10^3	< 3	< 10	0.3	0.0
Cauca	4.5×10^5	8.2×10^4	< 3	< 10	0.0	0.0

Tabla 3. Características físico-químicas y microbiológicas de los suelos de Cali y Cauca

* Análisis realizado en el laboratorio de microbiología industrial y ambiental de la Universidad del Valle

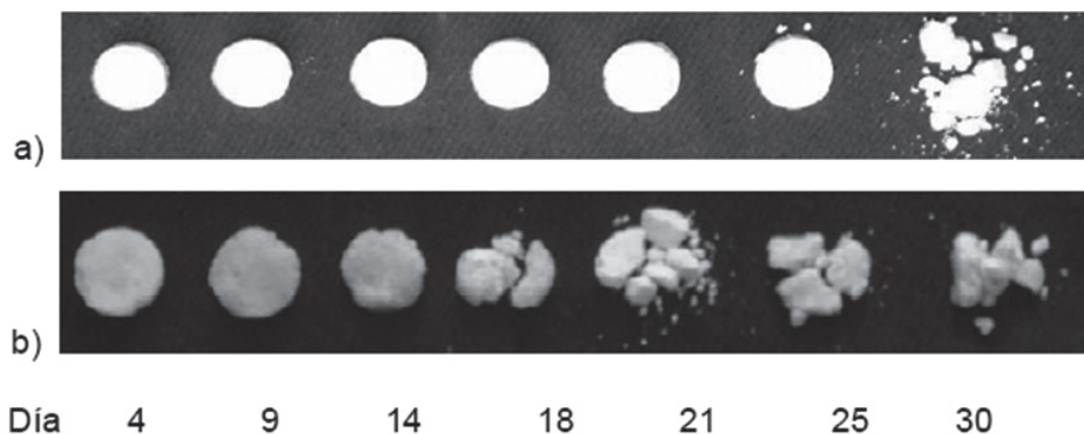


Figura 6. Imagen de los polímeros después de la biodegradación en el suelo de Cali. a) PGA y b) PLLA

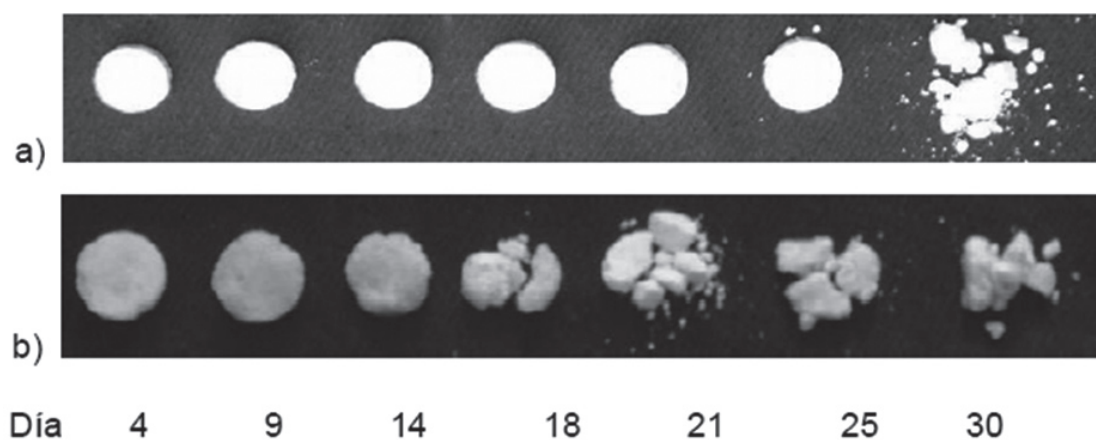


Figura 7. Imagen de los polímeros después de la biodegradación en el suelo de Cauca. a) PGA y b) PLLA

- Variación del pH en los suelos

Los monómeros empleados contienen grupos ácidos en sus estructuras (Figura 1), los cuales se reducen por la formación de enlaces éster. Sin embargo, en el proceso de biodegradación la primera etapa es la depolimerización, por lo cual se incrementa la concentración de los grupos ácidos debido a la fragmentación de las cadenas de polímero. En los resultados mostrados en la Tabla 4, se puede observar que el pH de los dos suelos disminuyó, lo que se podría considerar como un primer indicio de la biodegradación de los polímeros; también se observó que el pH del suelo de Cali disminuyó mucho más rápido que el suelo de Cauca, pudiendo indicar que los polímeros se degradaron en mayor proporción en el suelo Cali. No obstante, esto no se puede afirmar con certeza, debido a que los cambios de pH pueden deberse a otros factores, como la cantidad de agua en el suelo, y reacciones de los nutrientes que involucran oxígeno y agua.

Tiempo (días)	pH	
	Suelo Cali	Suelo Cauca
0	6.60	7.20
5	6.55	7.20
11	6.50	7.15
16	6.20	7.05
21	6.10	7.05
25	5.95	7.00
30	5.80	7.00

Tabla 4. Variación del pH en los suelos

4.3 Pérdida de peso

En la Tabla 5 se observa que todas las muestras enterradas en los suelos sufrieron pérdidas de peso a excepción del PE, el control negativo, y su degradación toma más tiempo, ya que en su estructura solo contiene enlaces C-H sencillos que son muy poco reactivos y muy hidrofóbicos. Por el contrario, el algodón que es el control positivo, en general mostró una pérdida de peso menor que las muestras durante todo el ensayo, debido a que este material presenta muchas diferencias con respecto al PLLA y PGA. El algodón en su estructura contiene celulosa en un 90 a 99%, además de otros componentes como lignina y pentosano en menor proporción. Estos contienen anillos aromáticos en sus estructuras y por lo tanto su degradación puede tardar más tiempo. Además la celulosa es degradada a glucosa (unidad monomérica) por celulasas y los poliésteres alifáticos son degradados a unidades monoméricas por hidrolasas o lipasas. De esta manera, el material de referencia y las muestras son degradados por enzimas diferentes en el medio evaluado (13).

Por otro lado, comparando el PGA y el PLLA en los dos suelos, se puede observar que el primero perdió más peso debido a que su degradación es más rápida por ser de carácter más hidrofílico. También se puede observar en los datos de las Tablas 5 y 6 que la degradación de las muestras fue mayor en el suelo de Cali, confirmando de esta manera el mayor cambio del pH discutido anteriormente. Este suelo contiene mayor porcentaje de agua y menor valor de pH (Tabla 3), que significa mayor concentración de iones H^+ en el medio, y por tanto se da un aumento en el proceso de degradación hidrolítica de las muestras poliméricas.

Tiempo (días)	Pérdida de peso (%)							
	Suelo Cali.				Suelo Cauca			
	PGA	PLLA	Algodón	PE	PGA	PLLA	Algodón	PE
4	30.643	12.591	0.778	0	31.114	12.502	0.222	0
9	39.164	19.525	1.293	0	35.494	20.298	0.334	0
14	37.465	20.386	3.611	0	37.459	22.068	0.541	0
18	38.366	27.821	8.387	0	38.484	23.464	0.569	0
21	39.486	31.553	8.646	0	39.486	23.635	0.861	0
25	41.041	31.407	10.051	0	41.041	24.128	1.107	0
30	41.359	34.851	13.680	0	41.359	36.164	9.085	0

Tabla 5. Resultados de pérdida de peso de las muestras y controles en los suelos Cali y Cauca

4.4 Determinación en la variación de pesos moleculares

Por medio de la técnica GPC se determinó la variación del peso molecular y del índice de polidispersidad de las muestras de PLLA con respecto al tiempo de biodegradación (Tabla 6). Teniendo en cuenta la variación de M_w con respecto al tiempo se puede observar que las muestras de PLLA presentaron un comportamiento muy similar en los dos suelos, ya que se presentó inicialmente un incremento del peso molecular en el día 4 que puede deberse a reacciones de recombinación (15). Posteriormente el peso molecular disminuyó, lo que indica que se estaban llevando a cabo las reacciones de biodegradación. Sin embargo, luego se observó un nuevo incremento probablemente debido a la degradación de las cadenas más cortas, lo cual causa el aumento en el promedio de M_w . Como evidencia indirecta, en el día 20 se observó una disminución lo que indica que las cadenas largas que quedaron estaban siendo degradadas. Posteriormente los días 25 y 30 presentaron un nuevo incremento, que indica, según nuestra interpretación, una nueva salida de las cadenas poliméricas pequeñas que han sido degradadas. Por lo anterior, al final del ensayo, se determinó un peso molecular mayor al del día 0 para las muestras en el suelo Cauca y un peso molecular muy similar en el suelo Cali; también cabe recordar que la pérdida de peso de estos polímeros fue de 36% aproximadamente al final del ensayo. Consecuentemente, se puede asegurar que el proceso de biodegradación no se llevó a cabo por completo.

Por otro lado la variación del índice de polidispersidad no presentó el mismo comportamiento para los polímeros de PLLA; un incremento en el IPD se atribuye a un aumento del proceso de fragmentación y una disminución al estrechamiento de los pesos moleculares. En la Tabla 6 se puede observar que el IDP para el PLLA en el suelo de Cali incrementó de 1.051 a 1.206 y para el PLLA en el suelo del Cauca aumentó de 1.051 a 1.121 en 30 días, esto indica que la fragmentación de las muestras se dio mayormente en el suelo de Cali, confirmando la mayor degradación en este medio.

5 Conclusiones

En el presente reporte se mostró el procedimiento para la síntesis de PLLA y PGA por medio de reacciones de policondensación seguido de una caracterización de los productos obtenidos.

Por otro lado, se realizó un ensayo de biodegradación de los polímeros sintetizados en dos suelos diferentes; en este análisis se encontró que las muestras de PGA en los dos suelos presentaron mayor pérdida de peso que las de los polímeros de PLLA, lo que indica mayor degradación debido a su carácter hidrofílico. También se observó que el pH del suelo Cali descendió más, indicando aparentemente mayor degradación en este medio. Esto fue ratificado posteriormente por la mayor pérdida de peso de los polímeros en este suelo que en el suelo Cauca.

El control positivo empleado en el ensayo de biodegradación (tela 100% algodón) no presentó el comportamiento esperado, ya que su pérdida de peso fue muy poca comparado con las muestras problema en ambos suelos. Sin embargo, esto indica que este material, al tener diferente estructura, es degradado a través de un mecanismo diferente y no es el control apropiado. Por el contrario, el control negativo (PE) no presentó ninguna pérdida de peso, por lo cual se puede asegurar que este sí es un control apropiado ya que su estructura es lineal y similar a la de los polímeros problema.

Tiempo (días)	Suelo Cali			Suelo Cauca		
	M _n (g/mol)	M _w (g/mol)	M _w /M _n	M _n (g/mol)	M _w (g/mol)	M _w /M _n
0	882	927	1.051	882	927	1.051
4	875	929	1.062	911	982	1.078
9	690	724	1.049	874	929	1.063
14	697	770	1.105	642	675	1.051
18	1033	1073	1.039	951	1015	1.067
21	673	690	1.025	707	752	1.064
25	674	708	1.051	772	801	1.037
30	634	765	1.206	903	805	1.121

Tabla 6. Variación del IPD y pesos moleculares para el PLLA en los suelos Cali y Cauca

Referencias bibliográficas

- [1] Shah, A. Hasan, F. Hameed, A. Ahmed, S. Biological degradation of plastics: A comprehensive review. *Biotechnology Advances*. 2008 (26): 246–265.
- [2] Belal, El-Sayed. Investigations on the Biodegradation of Polyesters by Isolated Mesophilic Microbes. Ph. D. Thesis, Carolo- Wilhelmina Technical University. *Braunschweig, Germany*. 2003. p 139.
- [3] Abou, D.M. Anaerobic Biodegradation of Natural and Synthetic Polyesters. Ph. D. Thesis. Carolo-Wilhelmina Technical University. *Braunschweig, Germany* 2001. p 182.

- [4] Fuentes, D. Díazgranados, M. Perilla, J. Método para la obtención de lacturo de alta pureza a partir de la depolimerización de poli(ácido láctico) *Rev. Colomb. Quím*, 2006 (35): 115-123.
- [5] Schiller, C. Rasche, C. Wehmöller, M. Beckmann, F. Eufinger, H. Epple, M. Weihe, S. Geometrically structured implants for cranial reconstruction made of biodegradable polyesters and calcium phosphate/calcium carbonate *Biomaterials*, 2004 (25): 1239–1247.
- [6] Llorca, R. *Prácticas De Atmósfera, Suelo y Agua*. Alfaomega Grupo Editor, S.A. México, D. F. 2004. Pp.100.
- [7] Leroy, J. M. *Análisis Químico de Suelos*. España: Omega, 1970. pp. 65.
- [8] A.O.A.C. 1975. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. Washington, D.C.
- [9] Pueyo, M. Sastre, J. Hernández, E. Vidal, M. López-Sánchez, J. F. Rauret, G. J. Prediction of Trace Element Mobility in Contaminated Soils by Sequential Extraction *Environ. Qual.* 2003 (32): 2054-2066.
- [10] Chandra, R. Rustgi, R. Biodegradable polymers. *Prog. Polym. Sci.*, 1998 (23), 1273–1335.
- [11] Silverstein, R; Webster, F. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. 6th Ed. Canada: John Wiley & Sons. 1997, pp. 496.
- [12] Espartero, J. L. Rashkov, I. Li, S. M. Manolova, N. And Vert, M. NMR Analysis of Low Molecular Weight Poly(lactic acid)s. *Macromolecules*. 1996 (29): 3535-3539.
- [13] Seymour, R.B. Carraher, C.E. *Introducción a la Química de Polímeros*. Barcelona: Editorial Reverté S.A. 1996
- [14] Kunioka, M. Ninomiya, N. Funabashi, M. Biodegradation of poly(lactic acid) powders proposed as the reference test materials for the international standard of biodegradation evaluation methods. *Polymer Degradation and Stability*. 2006 (91): 1919-1928.
- [15] Kale, G. Auras, R. Singh, S.P. Narayan, R. Biodegradability of polylactide bottles in real and simulated composting conditions. *Polymer Testing*. 2007 (26): 1049–1061.

Dirección de los autores

Diana González

Departamento de Química, Universidad del Valle, Cali, Colombia
dianagonzalezgomez@yahoo.es

Fabio Zuluaga

Departamento de Química, Universidad del Valle, Cali, Colombia
fazulu@univalle.edu.co