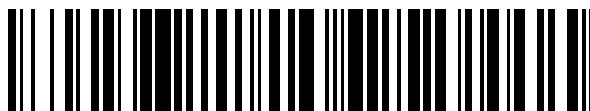


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 917 624**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/44

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.10.2019** **E 19201844 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.03.2022** **EP 3636768**

54 Título: **Método y medios para la determinación de la biodegradabilidad de materiales poliméricos**

30 Prioridad:

08.10.2018 EP 18199071

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

11.07.2022

73 Titular/es:

B4PLASTICS BV (100.0%)

IQ-Parklaan 2A

3650 Dilsen-Stokkem, BE

72 Inventor/es:

DE WILDEMAN, STEFAAN y

ELFORD, MATTHEW

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 917 624 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método y medios para la determinación de la biodegradabilidad de materiales poliméricos

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a un método y medios para la determinación y/o el trazado de la biodegradabilidad de materiales poliméricos. En particular, la presente invención proporciona una composición de hidrogel para la determinación y/o el trazado de la biodegradabilidad de materiales poliméricos. La presente invención también proporciona un kit que comprende dicha composición de hidrogel. La presente invención también proporciona un método para la determinación de la degradabilidad de materiales poliméricos por medio de dicha composición de hidrogel. La presente invención también proporciona un método implementado por ordenador para la determinación de la degradabilidad de materiales poliméricos por medio de dicha composición de hidrogel.

15 Antecedentes

El uso intensivo de materiales poliméricos modernos, es decir, de plásticos, ha creado graves problemas en la gestión de desechos, siendo los principales problemas causados por el envasado de plástico de productos de consumo. De hecho, su alta durabilidad es desproporcionada con respecto a sus aplicaciones a corto plazo y de un solo uso y está en grave contradicción con el mantenimiento de un mundo limpio y sostenible para las generaciones futuras.

A fin de proporcionar estrategias alternativas de gestión de desechos, se desarrollaron materiales poliméricos novedosos, que idealmente tienen rendimientos que siguen satisfaciendo las necesidades de uso y, a veces, son comparables con los de los polímeros convencionales, pero también son susceptibles a la degradación (microbiana o de otro tipo) cuando se exponen a entornos naturales.

La degradabilidad proporciona a estos materiales propiedades novedosas y adicionales que también pueden resultar beneficiosas después de su uso. Por ejemplo, después de su uso, el envasado de plástico de los productos de consumo se puede degradar desde las estructuras de polímero hasta las fracciones oligoméricas/monoméricas en la obtención de plásticos novedosos de una manera eficaz y respetuosa con el medio ambiente, en concreto, en el reciclaje químico o el 'reciclaje de revalorización' de plástico.

La biodegradabilidad de los materiales poliméricos se conoce como la disolución química completa de estos polímeros en sus compuestos monoméricos a través de la acción de de enzimas derivadas de microorganismos, tales como bacterias, hongos o cualquier otro medio biológico. De manera ideal, estos compuestos monoméricos se mineralizan mediante organismos vivos y cierran el ciclo del carbono, produciendo biogás y biomasa de nueva generación. Se sabe que los agentes extracelulares, tales como los biotensioactivos y las enzimas, potencian el proceso global de biodegradación.

Sin embargo, existen muchos materiales poliméricos presentes en el mercado de consumo y la distinción de los degradables de los no degradables puede resultar difícil. De hecho, el consumidor únicamente puede consultar el etiquetado del artículo de plástico, en caso de que haya, aunque se ha mostrado que este etiquetado en sí mismo es excesivamente complicado y, por lo tanto, el consumidor lo ignora o no se fía de él. Además, incluso entre las variantes de plásticos degradables existen diferentes variaciones, que pueden requerir diferentes etapas de procesamiento o productos de reacción, tales como enzimas. Cuando se manipulan de manera inadecuada, resulta posible que los materiales poliméricos no se degraden por completo o se degraden más lentamente de lo esperado, lo que conduce a la acumulación de desechos u otros efectos secundarios no deseados que dañan el planeta a largo plazo.

La velocidad de degradación depende típicamente de parámetros como la temperatura, la humedad y las comunidades microbianas. Actualmente, los consumidores de plástico no tienen ningún control para estimar la velocidad de degradación de sus desechos de plástico en diferentes condiciones. Además, se ha demostrado que la clasificación deficiente por parte de los consumidores contribuye a un nivel de contaminación promedio del 3,1 % de plásticos no degradables en las fracciones de plásticos biodegradables previstas (en 2019), lo que provoca graves problemas operativos en los sitios de compostaje de desechos industriales convencionales. Los estudios recientes y declaraciones resultantes de Plastics Associations indican que existe la necesidad social de aprovechar la concienciación y el interés del consumidor por organizar el comportamiento de consumo y la recogida de plástico de una manera más avanzada que las prácticas actuales. Se pueden realizar ensayos de laboratorio para ayudar a distinguir qué tipo de polímero se está manipulando, pero estos a menudo no son fáciles de usar porque el equipo que interviene es voluminoso y costoso, al tiempo que su manejo es complicado y poco práctico en las circunstancias personales cotidianas. Además, los resultados analíticos del equipo disponible, tal como la FTIR para las mediciones no destructivas o la RMN para las mediciones destructivas, requieren conocimientos altamente cualificados en el campo, que relacionen los resultados analíticos con su interpretación, con la composición química que interviene de los materiales y, en consecuencia, con su perfil de degradación resultante deducido de la experiencia teórica o empírica. Estas herramientas son inaccesibles para el consumidor promedio.

El documento US 6548278 se refiere a un proceso para la hidrólisis enzimática de oligómeros cíclicos de poli(tereftalato

de etileno), proceso que comprende someter el oligómero cíclico a la acción de una o más enzimas hidrolíticas lipolíticas y/o de biopolíéster.

El documento WO 2017/2041615 se refiere a polinucleótidos recombinantes novedosos aislados de los genes *ancut1* y *ancut2*, que codifican polipéptidos recombinantes funcionales que pueden degradar plásticos de poliéster, tales como PET, de enzimas cutinasa de *Aspergillus nidulans*.

Existe la necesidad de herramientas que permitan una mejor distinción entre materiales poliméricos degradables y no degradables de una manera rápida y rentable, preferentemente indicando la velocidad y duración de la degradación, de una manera que se pueda realizar en el campo que requiera poca o ninguna experiencia o conocimiento previo.

Sumario de la invención

Los dispositivos y métodos de acuerdo con la presente divulgación resuelven los problemas mencionados anteriormente. Por consiguiente, se proporcionan en el presente documento sistemas y métodos para la determinación y/o el trazado de la biodegradabilidad de materiales poliméricos.

En un primer, la presente invención se refiere a un método para la determinación y/o el trazado de la biodegradabilidad de materiales poliméricos, comprendiendo el método las etapas de:

(i) proporcionar una composición de hidrogel que comprende:

- del 0,05 al 10,0 % en peso de una cutinasa;
- un indicador de pH adecuado para la indicación visual de la actividad enzimática de la cutinasa, en donde el indicador de pH se selecciona de azul de bromotimol, púrpura de bromocresol, tornasol, antocianina y/o rojo de metilo;
- un agente espesante que comprende carboximetil celulosa sódica (CMC en inglés) presente en una cantidad de al menos el 0,05 a como máximo el 5,0 % en peso; y,
- un tampón y/o agente de ajuste del pH que comprende bicarbonato de sodio (NaHCO_3) y/o hidróxido de sodio (NaOH) presentes en una concentración de al menos 1,0 mM a como máximo 5,0 mM;

(ii) aplicar la composición de hidrogel sobre un material polimérico; y,

(iii) determinar y/o trazar la biodegradabilidad de dicho material polimérico en respuesta a la indicación visual de la composición de biodegradabilidad.

En particular, el método, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que la composición de biodegradabilidad es una composición de hidrogel que comprende cutinasa; un indicador de pH adecuado para la indicación visual de la actividad enzimática de la cutinasa, preferentemente azul de bromotimol y/o púrpura de bromocresol; un agente espesante, preferentemente carboximetil celulosa sódica (CMC); un humectante; y, un tampón.

En particular, el método, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que la cutinasa se elige de cutinasa de *Thermobifida cellulositica* (Thc-cut1), cutinasa de *Thermobifida alba* (F71X06) y/o cutinasa de *Fusarium solani*, en particular, cutinasa de *Fusarium solani pisi* (Cut1-Fusso).

En particular, el método, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que la cutinasa está presente en una concentración en una cantidad de al menos el 0,01 a como máximo el 10,0 % en peso de cutinasa; preferentemente del 0,05 al 5,0 % en peso; preferentemente del 0,05 al 4,0 % en peso, preferentemente del 0,05 al 3,0 % en peso, más preferentemente del 0,1 al 2,0 % en peso; más preferentemente del 0,1 al 1,0 % en peso, incluso más preferentemente del 0,2 al 0,9 % en peso, incluso más preferentemente del 0,3 al 0,8 % en peso, incluso más preferentemente del 0,3 al 0,7 % en peso; por ejemplo, del 0,4 % en peso, por ejemplo, del 0,5 % en peso, por ejemplo, del 0,6 % en peso.

En particular, el método, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que la cutinasa está presente en una concentración de al menos el 0,1 a como máximo el 1,0 % en peso del peso total de la composición, preferentemente del 0,1 al 0,9 % en peso, preferentemente del 0,2 al 0,8 % en peso, más preferentemente del 0,2 al 0,7 % en peso, más preferentemente del 0,2 al 0,6 % en peso, incluso más preferentemente del 0,3 al 0,6 % en peso, incluso más preferentemente del 0,3 al 0,5 % en peso, por ejemplo, del 0,4 % en peso.

En particular, el método, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que el indicador de pH es azul de bromotimol, en particular, en donde la composición tiene un pH previo a la aplicación (de partida) de 7,5 a 8,5, preferentemente de 7,8 a 8,5, preferentemente de 7,9 a 8,4, preferentemente de 8,0 a 8,4, más preferentemente de 8,0 a 8,3, más preferentemente de 8,0 a 8,2; por ejemplo, de 8,0; por ejemplo, de 8,1; por ejemplo, de 8,2.

En particular, el método, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que el indicador de pH es púrpura de bromocresol, en particular, en donde la composición tiene un pH previo a la aplicación (de partida) de 6,5

a 7,5; preferentemente de 6,8 a 7,5; preferentemente de 6,9 a 7,4; preferentemente de 7,0 a 7,4; más preferentemente de 7,0 a 7,2; por ejemplo, de 7,0; por ejemplo, de 7,1; por ejemplo, de 8,2.

En particular, el método, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que el agente espesante, preferentemente carboximetil celulosa sódica (CMC), está presente en una cantidad de al menos el 0,01 a como máximo el 10 % en peso del peso total de la composición de hidrogel; preferentemente del 0,05 al 4,0 % en peso; preferentemente del 0,05 al 3,0 % en peso; preferentemente del 0,1 al 2,0 % en peso; preferentemente del 0,1 al 1,0 % en peso; preferentemente del 0,2 al 0,7 % en peso, más preferentemente del 0,3 al 0,5 % en peso; por ejemplo, del 0,5 % en peso; por ejemplo, del 0,4 % en peso; por ejemplo, del 0,3 % en peso. En particular, el método, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que el tampón es bicarbonato de sodio (NaHCO_3), en particular, presente en una concentración de al menos 1,0 mM a como máximo 5,0 mM; preferentemente de 2,0 mM a 4,5 mM; más preferentemente de 3,0 mM a 4,0 mM; lo más preferentemente de aproximadamente 3,0 mM; y/o hidróxido de sodio (NaOH), en particular, presente en una concentración de al menos 1,0 mM a como máximo 5,0 mM; preferentemente de 2,0 mM a 4,5 mM; más preferentemente de 3,0 mM a 4,0 mM; lo más preferentemente de aproximadamente 4,0 mM.

En particular, el método, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que la composición de biodegradabilidad comprende un humectante, preferentemente propilenglicol, en particular, en donde el humectante está presente entre al menos el 0,1 y como máximo el 20,0 % en peso del peso total de la composición de hidrogel; más preferentemente del 1,0 al 10,0 % en peso; más preferentemente del 1,0 al 5,0 % en peso; por ejemplo, al 3 % en peso.

En particular, el método, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que la composición de biodegradabilidad comprende un estabilizante, preferentemente glicerol o sorbitol, en particular, en donde el estabilizante está presente entre al menos el 5 y como máximo el 50 % en peso del peso total de la composición; más preferentemente del 10 al 40 % en peso; más preferentemente del 20 al 30 % en peso; por ejemplo, al 25 % en peso.

En un aspecto adicional, el método, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que el método es un método implementado por ordenador para la determinación de la biodegradabilidad de un material polimérico, en donde la etapa (iii) para la determinación y/o el trazado de la biodegradabilidad comprende, además, las etapas de:

- (a) (después de aplicar la composición de biodegradabilidad sobre un material polimérico) recibir datos del sensor desde una unidad de sensor óptico configurada para el registro de una degradación mediante la composición de biodegradabilidad del material polimérico;
- (b) calcular, a partir de los datos de la unidad de sensor óptico, la velocidad de degradación del material polimérico;
- (c) calcular, a partir de la velocidad de degradación, el tipo de biodegradabilidad del material polimérico
- (d) opcionalmente, mostrar el tipo de degradabilidad calculado del material polimérico en una unidad de visualización.

En particular, el método, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que el método comprende la etapa anterior de recepción de la entrada del usuario sobre información de composición y/o información de material; en donde la información de composición incluye información sobre el tipo de enzima y/o la concentración; y en donde la información de material incluye información sobre el tipo de polímero y/o el color de polímero.

En particular, el método, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que la unidad de sensor registra la degradación del material polimérico a intervalos de tiempo predefinidos; preferentemente cada 10-30 s, más preferentemente cada 15-25 s, lo más preferentemente aproximadamente cada 20 s.

En particular, el método, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que el método comprende la etapa de alerta a un usuario del intervalo de tiempo para el registro de la degradación del material polimérico con la unidad de sensor; preferentemente cada 1-10 s antes del registro, más preferentemente cada 3-8 s, lo más preferentemente aproximadamente cada 5 s.

En un aspecto adicional, se divulga en el presente documento un kit para la ejecución y/o facilitación del método de determinación de la biodegradabilidad, tal como se divulga en el presente documento, comprendiendo el kit

- una composición de hidrogel que comprende
- del 0,1 al 10,0 % en peso de una cutinasa;
- un indicador de pH adecuado para la indicación visual de la actividad enzimática de la cutinasa, en donde el indicador de pH se selecciona de azul de bromotimol, púrpura de bromocresol, tornasol, antocianina y/o rojo de metilo;
- un agente espesante que comprende carboximetil celulosa sódica (CMC) presente en una cantidad de al menos el 0,05 a como máximo el 5,0 % en peso; y,
- un tampón y/o agente de ajuste del pH que comprende bicarbonato de sodio (NaHCO_3) y/o hidróxido de sodio (NaOH) presentes en una concentración de al menos 1,0 mM a como máximo 5,0 mM;

- un medio de aplicación configurado para la aplicación de la composición de biodegradabilidad sobre un material polimérico; y, opcionalmente,
- un sistema, preferentemente un soporte físico de informática personal, tal como un teléfono inteligente, una tableta o un tabletófono, que comprende una unidad de sensor óptico configurada para el registro de información

5 fotográfica del indicador de color, que confina una degradación del material polimérico mediante la composición, estando configurado el sistema para la determinación, a partir de los datos emitidos mediante la unidad de sensor, del tipo de biodegradabilidad del material polimérico.

10 En particular, el kit, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que los medios de aplicación se eligen de un emplasto adhesivo y/o un sistema de bombeo de mano o una jeringa.

En particular, el método, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que el medio de aplicación es un sistema de 2 componentes (2K) que comprende

- 15 - un primer componente para la contención de la cutinasa en forma de polvo seco y configurado para su colocación sobre el material polimérico; y,
- un segundo componente para la contención del tampón y el indicador de pH en forma líquida y configurado para su deposición sobre el primer componente.

20 En un aspecto adicional, se divulga en el presente documento una composición de biodegradabilidad para la determinación de la biodegradabilidad de materiales poliméricos que comprende:

- del 0,1 al 10,0 % en peso de una cutinasa;
- 25 - un indicador de pH adecuado para la indicación visual de la actividad enzimática de la cutinasa, en donde el indicador de pH se selecciona de azul de bromotimol, púrpura de bromocresol, tornasol, antocianina y/o rojo de metilo;
- un agente espesante que comprende carboximetil celulosa sódica (CMC) presente en una cantidad de al menos el 0,05 a como máximo el 5,0 % en peso; y,
- 30 - un tampón y/o agente de ajuste del pH que comprende bicarbonato de sodio (NaHCO_3) y/o hidróxido de sodio (NaOH) presentes en una concentración de al menos 1,0 mM a como máximo 5,0 mM.

En particular, la composición de biodegradabilidad, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que la composición de biodegradabilidad es una composición de hidrogel que comprende: una cutinasa; un indicador de pH adecuado para la indicación visual de la actividad enzimática de la cutinasa, un agente espesante y, un tampón.

35 En particular, la composición de biodegradabilidad, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que la composición de biodegradabilidad es una composición de hidrogel que comprende: del 0,01 al 10,0 % en peso de una cutinasa; un indicador de pH adecuado para la indicación visual de la actividad enzimática de la cutinasa, preferentemente azul de bromotimol y/o púrpura de bromocresol; un agente espesante, preferentemente carboximetil celulosa sódica (CMC); y, un tampón y/o un agente de ajuste del pH.

45 En particular, la composición de biodegradabilidad, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que la composición de biodegradabilidad es una composición de hidrogel que comprende: del 0,05 al 5,0 % en peso de una cutinasa; un indicador de pH adecuado para la indicación visual de la actividad enzimática de la cutinasa, preferentemente azul de bromotimol y/o púrpura de bromocresol; un agente espesante, preferentemente carboximetil celulosa sódica (CMC); y, un tampón y/o un agente de ajuste del pH.

50 En particular, la composición de biodegradabilidad, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que la composición de biodegradabilidad es una composición de hidrogel que comprende: del 0,1 al 1,0 % en peso de una cutinasa; un indicador de pH adecuado para la indicación visual de la actividad enzimática de la cutinasa, preferentemente azul de bromotimol y/o púrpura de bromocresol; un agente espesante, preferentemente carboximetil celulosa sódica (CMC); y, un tampón y/o un agente de ajuste del pH.

55 En particular, la composición, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que la composición comprende un humectante, preferentemente propilenglicol, en particular, en donde el humectante está presente entre al menos el 0,1 y como máximo el 20,0 % en peso del peso total de la composición de hidrogel; más preferentemente del 1,0 al 10,0 % en peso; más preferentemente del 1,0 al 5,0 % en peso.

60 En particular, la composición, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que la composición comprende un estabilizante, preferentemente glicerol o sorbitol, en particular, en donde el estabilizante está presente entre al menos el 5 y como máximo el 50 % en peso del peso total de la composición; más preferentemente del 10 al 40 % en peso; más preferentemente del 20 al 30 % en peso.

65 En particular, la composición, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que la composición comprende un conservante, preferentemente fenoxietanol, en particular, en donde el conservante está presente entre al menos el 0,05 y como máximo el 2,0 % en peso del peso total de la composición de hidrogel; preferentemente del

0,1 al 1,5 % en peso; preferentemente del 0,1 al 1,0 % en peso; más preferentemente del 0,1 al 0,5 % en peso.

Breve descripción de los dibujos

5 La siguiente descripción de las figuras de realizaciones específicas de la invención es meramente de naturaleza ilustrativa y no pretende limitar las presentes enseñanzas, su aplicación o sus usos. A lo largo de los dibujos, los números de referencia correspondientes indican partes y rasgos similares o correspondientes.

10 La **FIG. 1** ilustra los ensayos realizados en diferentes tipos de materiales poliméricos para la determinación de su biodegradabilidad.

La **FIG. 2** ilustra medios de aplicación ilustrativos que se consideran adecuados para la aplicación de la composición de biodegradabilidad.

Descripción detallada

15 La presente invención se describirá con respecto a realizaciones particulares, pero la invención no se limita a las mismas, sino únicamente a las reivindicaciones. No se debe interpretar ningún signo de referencia en las reivindicaciones como limitante del alcance de las mismas.

20 Tal como se usa en el presente documento, las formas en singular "un", "una" y "el/la" incluyen referencias tanto en singular como en plural, a menos que el contexto dicte claramente otra cosa.

25 La expresión "que comprende", el término "comprende" y la expresión "compuesto/a por", tal como se usan en el presente documento, son sinónimos de la expresión "que incluye", el término "incluye" o la expresión "que contiene", el término "contiene" y son inclusivos o de final abierto y no excluyen miembros, elementos o etapas de método no enumerados adicionales. La expresión "que comprende", el término "comprende" y la expresión "compuesto/a por", cuando se refieren a los miembros, elementos o etapas de método enumerados, también incluyen realizaciones que "consiste en" dichos miembros, elementos o etapas de método enumerados.

30 Además, los términos primer/a, segundo/a, tercer/a y similares, en la descripción y en las reivindicaciones, se usan para la distinción entre elementos similares y no necesariamente para la descripción de un orden secuencial o cronológico, a menos que se especifique. Se ha de entender que las expresiones y los términos así usados son intercambiables en las circunstancias adecuadas y que las realizaciones de la invención descritas en el presente documento pueden operar en secuencias distintas a las descritas o ilustradas en el presente documento.

35 El término "aproximadamente", tal como se usa en el presente documento, cuando se refiere a un valor medible, tal como un parámetro, una cantidad, una duración temporal y similares, se entiende que abarca variaciones del +/-10 % o menos, preferentemente del +/-5 % o menos, más preferentemente del +/-1 % o menos y todavía más preferentemente del +/-0,1 % o menos de y desde el valor especificado, en la medida en que tales variaciones sean adecuadas para la realización de la invención divulgada. Se ha de entender que el valor al que se refiere el modificador "aproximadamente" también se divulga en sí mismo de manera específica y preferible.

40 La enumeración de intervalos numéricos mediante valores extremos incluye todos los números y las fracciones que se abarcan dentro de los respectivos intervalos, así como los valores extremos enumerados.

45 A menos que se defina de otro modo, todas las expresiones y los términos usados en la divulgación de la invención, incluyendo las expresiones y los términos técnicos y científicos, tienen el significado que entiende comúnmente un experto habitual en la materia a la que pertenece la presente invención. Por medio de una guía adicional, se incluyen definiciones de las expresiones y los términos usados en la descripción para apreciar mejor la enseñanza de la presente invención. Los términos y las expresiones o las definiciones que se usan en el presente documento se proporcionan únicamente para ayudar en la comprensión de la invención.

50 La referencia a lo largo de la presente memoria descriptiva a "una realización" o "una realización particular" significa que un rasgo, una estructura o una característica particular descrita en relación con la realización se incluye en al menos una realización de la presente invención. Por tanto, las apariciones de las expresiones "en una realización" o "en una realización particular" en diversos lugares a lo largo de la presente memoria descriptiva no se refieren necesariamente, todas ellas, a la misma realización, pero pueden referirse. Además, los rasgos, las estructuras o las características particulares se pueden combinar de cualquier manera adecuada, tal como resultaría evidente para una persona experta en la materia a partir de la presente divulgación, en una o más realizaciones. Además, aunque algunas realizaciones descritas en el presente documento incluyen algunos, pero no otros, rasgos incluidos en otras realizaciones, las combinaciones de rasgos de diferentes realizaciones se entiende que se encuentran dentro del alcance de la invención y forman diferentes realizaciones, tal como entenderían aquellos expertos en la materia. Por ejemplo, en las siguientes reivindicaciones, cualquiera de las realizaciones reivindicadas se puede usar en cualquier combinación.

65 En uno o más aspectos, la presente invención se refiere a un medio y método para la determinación de la

biodegradabilidad de materiales poliméricos; en particular, plásticos en forma de materiales termoplásticos o termoestables. Esta también se refiere a un método implementado por ordenador para la determinación de la degradabilidad de materiales poliméricos, una composición para su uso en dicho método, un kit para la ejecución y/o facilitación de dicho método y/o el uso de la composición y/o el kit en el método de acuerdo con la presente invención.

5 La presente invención puede proporcionar una determinación altamente eficaz, rápida y rentable de la biodegradabilidad y también puede proporcionar una facilidad de uso y accesibilidad mejoradas.

Además, los medios y el método del dispositivo o la herramienta pueden permitir la determinación de manera segura y precisa de la velocidad de biodegradabilidad de materiales poliméricos sin depender de información de terceros (por ejemplo, catálogos, etiquetas, certificados), que puede ser inexacta, abrumadora o errónea. Como resultado, esta puede proporcionar una mayor responsabilidad a los consumidores, lo que puede dar como resultado un consumo industrial y/o de consumo más respetuoso con el medio ambiente. Por lo tanto, el dispositivo o la herramienta podría ayudar a equilibrar un aparato de producción socialmente responsable de empuje, con una contrafuerza de consumo socialmente responsable de arrastre.

15 Adicionalmente, los medios y el método del dispositivo o la herramienta se pueden aplicar en diversas condiciones, sin depender de técnicas analíticas costosas y/o que consuman mucho tiempo (por ejemplo, ensayos de laboratorio), y en cualquier momento, tal como en la localización.

20 La expresión "materiales poliméricos", tal como se usa en el presente documento, se refiere a materiales orgánicos que consisten en múltiples subunidades o monómeros de repetición, típicamente creados a través de un proceso de polimerización. Los materiales poliméricos se optimizan adicionalmente para convertirse en materiales de plásticos funcionales mediante las denominadas etapas de formación de compuestos: a menudo, un conjunto personalizado de aditivos y cargas se combina con condiciones de procesamiento específicas para dar como resultado un artículo de plástico funcional. Los aditivos pueden ser colorantes, estabilizantes químicos, tales como antioxidantes, agentes estabilizantes del proceso, agentes nucleantes o lubricantes. Las cargas pueden ser típicamente sales inorgánicas o materiales (micro)cristalinos. Las etapas de procesamiento generalmente se basan en equipos de extrusión, moldeo por inyección o métodos de fabricación de aditivos. Las funcionalidades resultantes se optimizan hacia la aplicación específica; es decir, hacia los deseos, las normas y los valores en el entorno del mercado.

30 El término "(bio)degradación", tal como se usa en el presente documento, se refiere al proceso de desintegración (biológica) de materiales mediante microorganismos, tales como bacterias, hongos u otros medios biológicos. Por consiguiente, un "material (bio)degradable" es un material que se puede desintegrar (biológicamente) mediante microorganismos en un período de tiempo, tal como horas, días o semanas. La (bio)degradabilidad de un material puede estar determinada principalmente por la presencia de enzimas específicas producidas por la presente comunidad microbiana que pueden endoscindir o exoscindir las cadenas principales poliméricas en el respectivo material polimérico. La biodegradabilidad de un material se puede ver afectada por una serie de factores secundarios que optimizan las capacidades de degradación de la comunidad microbiana presente, tales como la temperatura, el pH, el agua y el oxígeno. Adicionalmente, también pueden influir en la biodegradación factores complementarios, que pueden ser intrínsecos al material en sí, tales como la cristalinidad, la rugosidad de la superficie y la biodisponibilidad de las cadenas poliméricas o sus fragmentos liberados, o depender de las condiciones medioambientales que afectan a la naturaleza del material, tales como la intensidad de la luz y el desgaste mecánico, tal como el oleaje o la agitación (oceánica). En algunas realizaciones, la degradabilidad está relacionada con la degradabilidad de un material polimérico en un entorno acuoso (marino).

45 La combinación de los factores mencionados anteriormente determina la velocidad global de biodegradación. Los métodos para la determinación de la biodegradabilidad y la velocidad de biodegradabilidad en condiciones anaerobias y aerobias se proporcionan en los siguientes métodos de la ASTM:

- 50 - ASTM D5210-07 "Standard Test Method for Determining the Anaerobic Biodegradation of Plastic Materials in the Presence of Municipal Sewage Sludge"
- ASTM D5338-15 "Standard Test Method for Determining Aerobic Biodegradation of Plastic Materials Under Controlled Composting Conditions, Incorporating Thermophilic Temperatures"
- 55 - ASTM D5511-12 "Anaerobic Biodegradation of Plastic Materials in a High Solids Environment Under High-Solids Anaerobic-Digestion Conditions"
- ASTM D5526-12 "Standard Test Method for Determining Anaerobic Biodegradation of Plastic Materials Under Accelerated Landfill Conditions"

60 Para los fines de la presente invención y de acuerdo con estos métodos de ensayo, un material polimérico se considera biodegradable cuando una fracción definida se retira mediante la mineralización a CO₂ y el crecimiento de la masa celular dentro de un plazo de tiempo definido en un conjunto definido de condiciones (medioambientales). Si este no logra alcanzar los valores umbrales definidos contenidos en el respectivo método de ensayo, no se califica hasta cumplir la norma establecida por el método. Los ejemplos de materiales poliméricos biodegradables son succinato de polibuteno (PBS en inglés), polibuteno-co-adipato-tereftalato (PBAT), polihidroxicanoatos (PHA), tales como poli-3-hidroxi-butarato (PHB), polihidroxi-valerato (PHV) y polihidroxi-hexanoato (PHH), ácido poliláctico (PLA en inglés), policaprolactona (PCL), sebacato de polibuteno, polianhídridos, alcohol polivinílico, ésteres de celulosa, tales como

acetato de celulosa y nitrocelulosa y sus derivados, y/o tereftalato de polietileno. Los ejemplos de materiales poliméricos biodegradables también se pueden cargar con almidón para potenciar la velocidad de degradabilidad.

Las agencias de certificación independientes (por ejemplo, Vincotte) han otorgado etiquetas de biodegradación a varias de las familias de materiales termoplásticos anteriores basándose en los métodos de la ASTM mencionados anteriormente.

La expresión "hidrolasa de éster carboxílico", tal como se usa en el presente documento (número de la Enzyme Commission = 3.1.1) se refiere a una enzima que cataliza la hidrólisis de un enlace químico. Por consiguiente, la actividad de la hidrolasa de éster carboxílico se refiere a la catálisis de la hidrólisis de un enlace químico mediante dicha hidrolasa de éster carboxílico. Tal como se usa en el presente documento, el término "cutinasas" se refiere a un conjunto específico de enzimas que pertenecen a la superfamilia de α/β -hidrolasa (número de la Enzyme Commission = 3.1.1.74). Las cutinasas pueden catalizar la escisión de la cutina, que es un componente estructural polimérico de las cutículas de las plantas. Existen dos familias principales de monómeros de cutina, las familias C16 y C18, que contienen de uno a tres grupos hidroxilo. De ese modo, la cutina queda incrustada y recubierta por ceras intracuticulares y epicuticulares, mezclas complejas de material hidrófobo que contienen ácidos grasos de cadena muy larga y sus derivados. La combinación de cutina, ceras y, parcialmente, polisacáridos forma la cutícula. Las cutículas pueden ser de aspecto laminar, reticulado o amorfo. Un logro extraordinario de las cutinasas como enzimas hidrolíticas consiste en acercarse lo suficiente a estas complejas estructuras de material hidrófobo con su centro catalítico y movilizar el agua para escindir los enlaces de éster iniciando la degradación de la capa de la cutícula. Por lo tanto, la cutinasa es el puente catalítico esencial entre el sustrato hidrófobo y el agente hidrófilo para crear, como resultado, material liberado y degradado. Además, la cutinasa también puede adaptar su conversión catalítica en capas más o menos estructuradas, lo que se traduce en su capacidad para hacer frente a materiales poliméricos sintéticos semicristalinos. La expresión "indicador de pH", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un compuesto químico añadido a una composición para permitir la determinación visual del pH (acidez o basicidad). Por consiguiente, si la actividad de la hidrolasa de éster carboxílico da como resultado un cambio en el valor de pH de la composición, el indicador de pH permitirá la determinación visual de la actividad de dicha hidrolasa de éster carboxílico.

En un primer aspecto, la presente invención se refiere a un método para la determinación de la biodegradabilidad de materiales poliméricos, comprendiendo el método las etapas de:

(i) proporcionar una composición de hidrogel que comprende:

- del 0,05 al 10,0 % en peso de una cutinasa;
- un indicador de pH adecuado para la indicación visual de la actividad enzimática de la cutinasa, en donde el indicador de pH se selecciona de azul de bromotimol, púrpura de bromocresol, tornasol, antocianina y/o rojo de metilo;
- un agente espesante que comprende carboximetil celulosa sódica (CMC) presente en una cantidad de al menos el 0,05 a como máximo el 5,0 % en peso; y,
- un tampón y/o agente de ajuste del pH que comprende bicarbonato de sodio (NaHCO_3) y/o hidróxido de sodio (NaOH) presentes en una concentración de al menos 1,0 mM a como máximo 5,0 mM;

(ii) aplicar la composición de hidrogel sobre un material polimérico; y,

(iii) determinar y/o trazar la biodegradabilidad de dicho material polimérico en respuesta a la indicación visual de la composición de biodegradabilidad.

La determinación, tal como se usa en el presente documento, se refiere preferentemente a una respuesta típicamente inmediata o a corto plazo, preferentemente determinando la biodegradabilidad en cuestión de minutos a incluso segundos. Esto contrasta fuertemente con otras técnicas en la técnica en donde la biodegradabilidad se determina durante horas o incluso días. La determinación se puede referir al establecimiento de la biodegradabilidad de un material polimérico desconocido, a la verificación de la biodegradabilidad de un material polimérico conocido (por ejemplo, mediante la verificación de la composición del material polimérico) y/o al trazado de la biodegradabilidad de un material polimérico (por ejemplo, el trazado de cómo cambia la biodegradabilidad durante el procesamiento del polímero).

Aunque el uso de la cutinasa en un método y una composición para la determinación de la biodegradabilidad de materiales poliméricos se divulga particularmente en el presente documento, se debe señalar que también se podrían usar otros tipos de enzimas para el mismo fin, en particular, dependiendo de los tipos de plásticos. Las hidrolasas de éster carboxílico, tales como las cutinasas, se pueden usar, por ejemplo, para la detección de poliésteres biodegradables. Las despolimerasas de PHB se pueden usar, por ejemplo, para la detección de polihidroxialcanoatos biodegradables, usando, por ejemplo, rojo de metilo o púrpura de bromocresol como indicador de pH. En el caso de los plásticos basados en almidón, una composición comprende amilasa y/o celulasa en combinación con medios de detección de glucosa para la determinación de la biodegradabilidad. Los medios de detección de glucosa podrían incluir, por ejemplo, glucosa oxidasa y peroxidasa en combinación con un cromógeno que cambia de color, una glucosa deshidrogenasa y un cofactor NAD^+ oxidado y/o la detección de glucosa a través de tiras de glucosa conocidas en la técnica. La enzima se puede proporcionar en forma líquida o acuosa o, como alternativa, en forma seca o en polvo,

que se puede disolver antes o durante la etapa de determinación. Un ejemplo de una forma líquida es un concentrado de enzima líquido. Un ejemplo de una forma seca es un polvo de enzima secado por congelación o secado por pulverización. Estos sistemas típicamente funcionan en las condiciones generales que se divulgan en el presente documento. En particular, el método, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que la cutinasa se elige de cutinasa de *Thermobifida cellulosilytica* (Thc-cutl), cutinasa de *Thermobifida alba* (F71X06) y/o cutinasa de *Fusarium solani*, en particular, cutinasa de *Fusarium solani pisi* (Cut1-Fusso). Preferentemente, la cutinasa es cutinasa de *Fusarium solani pisi* (Cut1-Fusso).

El método, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que la cutinasa está presente en una concentración de al menos el 0,01 a como máximo el 10,0 % en peso del peso total de la composición, preferentemente del 0,05 a como máximo el 10,0 % en peso, más preferentemente del 0,1 a como máximo el 10,0 % en peso. En particular, el método, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que la cutinasa está presente en una concentración en una cantidad de al menos el 0,05 a como máximo el 5,0 % en peso; preferentemente del 0,05 al 4,0 % en peso, preferentemente del 0,05 al 3,0 % en peso, más preferentemente del 0,1 al 2,0 % en peso; más preferentemente del 0,1 al 1,0 % en peso, incluso más preferentemente del 0,2 al 0,9 % en peso, incluso más preferentemente del 0,3 al 0,8 % en peso, incluso más preferentemente del 0,3 al 0,7 % en peso; por ejemplo, del 0,4 % en peso, por ejemplo, del 0,5 % en peso, por ejemplo, del 0,6 % en peso. Más en particular, el método, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que la cutinasa está presente en una concentración de al menos el 0,1 a como máximo el 1,0 % en peso del peso total de la composición, preferentemente del 0,1 al 0,9 % en peso, preferentemente del 0,2 al 0,8 % en peso, más preferentemente del 0,2 al 0,7 % en peso, más preferentemente del 0,2 al 0,6 % en peso, incluso más preferentemente del 0,3 al 0,6 % en peso, incluso más preferentemente del 0,3 al 0,5 % en peso, por ejemplo, del 0,4 % en peso.

El método, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que la cutinasa está presente en una concentración de al menos el 0,01 a como máximo el 10,0 % en peso del peso total de la composición, preferentemente del 0,05 a como máximo el 10,0 % en peso, más preferentemente del 0,1 a como máximo el 10,0 % en peso. En particular, el método, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que la cutinasa está presente en una concentración en una cantidad de al menos el 0,05 a como máximo el 5,0 % en peso; preferentemente del 0,05 al 4,0 % en peso, preferentemente del 0,05 al 3,0 % en peso, más preferentemente del 0,1 al 2,0 % en peso; más preferentemente del 0,1 al 1,5 % en peso, más preferentemente del 0,1 al 1,0 % en peso, incluso más preferentemente del 0,2 al 0,9 % en peso, incluso más preferentemente del 0,3 al 0,8 % en peso, incluso más preferentemente del 0,3 al 0,7 % en peso; por ejemplo, del 0,4 % en peso, por ejemplo, del 0,5 % en peso, por ejemplo, del 0,6 % en peso. Más en particular, el método, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que la cutinasa está presente en una concentración de al menos el 0,1 a como máximo el 1,0 % en peso del peso total de la composición, preferentemente del 0,1 al 0,9 % en peso, preferentemente del 0,2 al 0,8 % en peso, más preferentemente del 0,2 al 0,7 % en peso, más preferentemente del 0,2 al 0,6 % en peso, incluso más preferentemente del 0,3 al 0,6 % en peso, incluso más preferentemente del 0,3 al 0,5 % en peso, por ejemplo, del 0,4 % en peso.

El método, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que la cutinasa está presente en una cantidad de al menos 0,01 g/l a como máximo 100 g/l del peso total de la composición, preferentemente de 0,05 g/l a como máximo 100 g/l, más preferentemente de 0,1 g/l a como máximo 100 g/l. En particular, el método, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que la cutinasa está presente en una concentración en una cantidad de al menos 0,5 g/l a como máximo 50 g/l; preferentemente de 0,5 g/l a 40 g/l, preferentemente de 0,5 g/l a 30 g/l; más preferentemente de 1 g/l a 20 g/l; más preferentemente de 1 g/l a 15 g/l; más preferentemente de 1 g/l a 10 g/l; incluso más preferentemente de 2 g/l a 9 g/l, incluso más preferentemente de 2 g/l a 8 g/l, incluso más preferentemente de 3 g/l a 7 g/l; por ejemplo, de 4 g/l, por ejemplo, de 5 g/l, por ejemplo, de 6 g/l.

En algunas realizaciones, el indicador de pH es azul de bromotimol, tornasol, púrpura de bromocresol; la antocianina es preferentemente azul de bromotimol y/o púrpura de bromocresol. En particular, el método, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que el indicador de pH es azul de bromotimol, en particular, en donde la composición tiene un pH de partida de 7,5 a 8,5, preferentemente de 7,8 a 8,5, preferentemente de 7,9 a 8,4, preferentemente preferentemente de 8,0 a 8,4, preferentemente de 8,1 a 8,4, más preferentemente de 8,0 a 8,2; por ejemplo, de 8,0; por ejemplo, de 8,1; por ejemplo, de 8,2. Por debajo del pH 8,0, el color puede ser azul menos intenso, mientras que por encima de 8,2, la capacidad de tamponamiento puede ser demasiado alta, lo que conduce a propiedades de cambio de color reducidas. En particular, el método, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que el indicador de pH es púrpura de bromocresol, en particular, en donde la composición tiene un pH previo a la aplicación (de partida) de 6,5 a 7,5; preferentemente de 6,8 a 7,5; preferentemente de 6,9 a 7,4; preferentemente de 7,0 a 7,4; más preferentemente de 7,0 a 7,2; por ejemplo, de 7,0; por ejemplo, de 7,1; por ejemplo, de 7,2. Por debajo del pH 7,0, el color puede ser púrpura menos intenso, mientras que por encima de 8,2, la capacidad de tamponamiento puede ser demasiado alta, lo que conduce a propiedades de cambio de color reducidas. En particular, el método, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que el indicador de pH es antocianina, en particular, en donde la composición tiene un pH de partida de 6,5 a 7,5, preferentemente de 6,6 a 7,4, preferentemente de 6,7 a 7,3, preferentemente de 6,8 a 7,2, preferentemente de 6,9 a 7,1; por ejemplo, de 7,0. La antocianina puede producir una variedad de colores en un amplio intervalo de respuesta de pH; el intervalo de pH preferido puede permitir un control del color y una estabilidad más fiables para la lectura. En particular, el método, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que el indicador de pH es tornasol, en particular, en

donde la composición tiene un pH de partida de 8,0 a 8,5, preferentemente de 8,1 a 8,4, más preferentemente de aproximadamente 8,2.

En algunas realizaciones, la composición de biodegradabilidad comprende, además, un medio acuoso (agua). En algunas realizaciones, la composición de biodegradabilidad comprende, además, un hidrogel. Un hidrogel se refiere a una red de polímeros típicamente hidrófilos que contienen una gran cantidad de medio acuoso (agua), al tiempo que mantienen la estructura debido a la reticulación química o física de las cadenas de polímeros individuales. Los hidrogeles típicamente se forman a partir de biopolímeros y/o polielectrolitos. Algunos métodos de producción de hidrogel ilustrativos se analizan adicionalmente en la descripción. Sin embargo, la persona experta entiende que se pueden usar diversos métodos de producción para producir un hidrogel adecuado y que la presente invención no se limita a un método en particular.

En algunas realizaciones, la composición de biodegradabilidad, preferentemente el hidrogel, comprende, además, un espesante o agente espesante. Se puede añadir un agente espesante para crear las características de gelificación de un hidrogel. En algunas realizaciones, el agente espesante es poli(ácido acrílico), hidroxietil celulosa (HEC) y/o carboximetil celulosa sódica (CMC). Otros agentes espesantes, tales como agarosa, pueden ser menos adecuados como agente espesante en el hidrogel actual debido a su elevada tendencia a la biodegradación en contacto con enzimas. Preferentemente, el agente espesante está presente en una cantidad de al menos el 0,01 a como máximo el 5,0 % en peso del peso total de la composición de hidrogel; preferentemente del 0,05 al 4,0 % en peso; preferentemente del 0,05 al 3,0 % en peso; preferentemente del 0,05 al 2,5 % en peso; más preferentemente del 0,1 al 2,0 % en peso; más preferentemente del 0,1 al 1,5 % en peso; más preferentemente del 0,1 al 1,0 % en peso; más preferentemente del 0,1 al 0,9 % en peso, más preferentemente del 0,2 al 0,8 % en peso, más preferentemente del 0,2 al 0,7 % en peso, incluso más preferentemente del 0,3 al 0,6 % en peso, incluso más preferentemente del 0,3 al 0,5 % en peso; por ejemplo, del 0,5 % en peso; por ejemplo, del 0,4 % en peso; por ejemplo, del 0,3 % en peso. La concentración preferida de agente espesante puede depender de la composición y el método de producción usado. Por ejemplo, la concentración inicial del agente espesante puede ser mayor, por ejemplo, del 0,5 % en peso y, a continuación, se puede diluir cuando se mezcla con otros componentes para alcanzar una concentración más baja, por ejemplo, del 0,3 % en peso.

En alguna realización preferida, el agente espesante es carboximetil celulosa sódica (CMC). La inclusión de CMC puede producir un hidrogel particularmente estable que puede permitir que se incorporen otros componentes sin ninguno de los menores efectos adversos. Se halló que los agentes espesantes convencionales tenían diversas limitaciones con respecto a la estabilidad, la longevidad, la viscosidad y/o la dificultad de procesamiento de la composición de biodegradabilidad. Por ejemplo, la incorporación de cutinasa (predominantemente ácida) puede causar una disminución del pH, dependiendo del agente espesante usado, causando potencialmente una interrupción en la reticulación de la red de cadenas del agente y disminuyendo la viscosidad del hidrogel. Esto puede requerir la adición de un agente de neutralización para lograr un espesamiento adecuado. Además, los hidrogeles producidos basándose en un agente espesante convencional pueden presentar inestabilidad térmica, requiriendo un enfriamiento cuando se almacenen durante un período prolongado de tiempo (por ejemplo, almacenamiento refrigerado durante una semana). Se halló inesperadamente que la CMC resolvía los problemas mencionados anteriormente. En particular, la CMC puede requerir menos o ninguna adición de agentes de neutralización cuando se añade cutinasa para lograr un valor de pH adecuado. Además, la CMC puede mostrar una estabilidad térmica prolongada, lo que la hace adecuada para su uso en un kit de diagnóstico, tal como se describe en el presente documento.

En algunas realizaciones, la composición de biodegradabilidad, preferentemente el hidrogel, comprende, además, un humectante o agente humectante. En algunas realizaciones, el humectante es propilenglicol, hexilenglicol, butilenglicol y/o un alcohol de azúcar, tal como glicerol, sorbitol, xilitol, maltitol; preferentemente es propilenglicol. Adicionalmente, el humectante puede servir como disolvente o codisolvente en la composición. Preferentemente, el humectante está presente entre al menos el 0,1 y como máximo el 20,0 % en peso del peso total de la composición, preferentemente el hidrogel; más preferentemente del 0,1 al 1,5 % en peso; más preferentemente del 0,1 al 1,0 % en peso; más preferentemente del 0,1 al 0,7 % en peso; más preferentemente del 0,1 al 0,6 % en peso; incluso más preferentemente del 0,1 al 0,5 % en peso; por ejemplo, al 0,2 % en peso; por ejemplo, al 0,3 % en peso; por ejemplo, al 2,0 % en peso; por ejemplo, al 3,0 % en peso; por ejemplo, al 4,0 % en peso.

En algunas realizaciones, la composición de biodegradabilidad, preferentemente el hidrogel, comprende, además, un conservante, tal como un germicida o desinfectante. En algunas realizaciones, el conservante es fenoxietanol. Preferentemente, el conservante está presente entre al menos el 0,05 y como máximo el 2,0 % en peso del peso total de la composición, preferentemente el hidrogel; más preferentemente del 0,1 al 1,5 % en peso; más preferentemente del 0,1 al 1,0 % en peso; más preferentemente del 0,1 al 0,7 % en peso; más preferentemente del 0,1 al 0,6 % en peso; incluso más preferentemente del 0,1 al 0,5 % en peso; por ejemplo, al 0,2 % en peso; por ejemplo, al 0,3 % en peso; por ejemplo, al 0,4 % en peso.

En algunas realizaciones, la composición de biodegradabilidad comprende, además, un tampón. El tampón se usa preferentemente para mantener el pH de la composición de biodegradabilidad a un valor de pH adecuado para el indicador de pH; se trata de un tampón de pH. Preferentemente, el tampón tiene un pH de al menos 6,5 a como máximo 11,0; preferentemente de 7,0 a 10,0; más preferentemente de 7,5 a 9,5; lo más preferentemente de 8,0 g/l a 9,0 g/l; por ejemplo, de 8,2; por ejemplo, de 8,5. En algunas realizaciones, la composición de biodegradabilidad comprende, además, un tampón y agente de ajuste del pH. El agente de ajuste del pH se usa preferentemente para

ajustar (aumentar o disminuir) el pH de la composición de biodegradabilidad a un valor de pH adecuado para el indicador de pH. El agente de ajuste del pH puede ser parte del sistema de tampón de pH o puede ser un componente separado opcional.

5 En algunas realizaciones, el tampón y/o el agente de ajuste del pH pueden estar contenidos en el hidrogel; el hidrogel puede contener un tampón de pH inmovilizado. En algunas realizaciones, el tampón es bicarbonato de sodio (NaHCO_3); preferentemente presente en una concentración de al menos 1,0 mM a como máximo 5,0 mM; preferentemente de 2,0 mM a 4,5 mM; más preferentemente de 3,0 mM a 4,0 mM; lo más preferentemente de aproximadamente 3,0 mM; y/o hidróxido de sodio (NaOH), en particular, presente en una concentración de al menos
10 1,0 mM a como máximo 5,0 mM; preferentemente de 2,0 mM a 4,5 mM; más preferentemente de 3,0 mM a 4,0 mM; lo más preferentemente de aproximadamente 4,0 mM. En algunas realizaciones, el tampón es tampón de TRIS, tampón de Kpi (fosfato) y/o tampón de acetato.

En algunas realizaciones, la composición de biodegradabilidad, preferentemente el hidrogel, comprende, además, un
15 estabilizante o agente estabilizante. Adicionalmente, el estabilizante puede servir como disolvente o codisolvente en la composición; en particular, en realizaciones en donde la enzima se añade en forma de polvo seco. En algunas realizaciones, el estabilizante es glicerol, sorbitol, xilitol, maltitol; preferentemente es glicerol. Se mostró que el glicerol en particular resulta beneficioso para el logro de la estabilización de las enzimas y la prevención de la agregación. En algunas realizaciones preferidas, la composición de biodegradabilidad comprende glicerol o sorbitol entre al menos el
20 5 y como máximo el 50 % en peso del peso total de la composición; más preferentemente del 10 al 40 % en peso; más preferentemente del 20 al 30 % en peso; por ejemplo, al 25 % en peso.

En algunas realizaciones, la composición comprende, además, estabilizantes o aditivos de procesamiento, tales como sales y/o productos orgánicos, presentes en una concentración adecuada para la estabilización de la cutinasa. La
25 adición de aditivos puede ser el resultado de las etapas de procesamiento de enzimas, por ejemplo, cuando la enzima se proporciona en forma de polvo.

En algunas realizaciones, el material polimérico (es decir, para la determinación de la biodegradabilidad) comprende polímeros de cutina. La cutina consiste en omega hidroxi ácidos y sus derivados, que se interconectan a través de
30 enlaces de éster, formando un polímero de poliéster de tamaño indeterminado. En algunas realizaciones, el material polimérico se selecciona de la siguiente lista: succinato de polibutileno (PBS), polibutilen adipato tereftalato (PBAT), polihidroxialcanoatos (PHA), tales como poli-3-hidroxibutirato (PHB), polihidroxicvalerato (PHV) y polihidroxihexanoato (PHH), ácido poliláctico (PLA), policaprolactona (PCL), sebacato de polibutileno, polianhídridos, alcohol polivinílico, ésteres de celulosa, tales como acetato de celulosa y nitrocelulosa y sus derivados, y/o tereftalato de polietileno.

En una realización particularmente preferida, el método comprende proporcionar una composición de biodegradabilidad contenida en un hidrogel. En algunas realizaciones, la composición de hidrogel comprende: una cutinasa, un indicador de pH, un agente espesante y un tampón y/o agente de ajuste del pH. Opcionalmente, la
40 composición de hidrogel puede comprender un humectante, un conservante y/o un estabilizante.

En algunas realizaciones, la composición de hidrogel comprende:

- de al menos el 0,01 a como máximo el 10,0 % en peso de una cutinasa;
- de al menos el 0,01 a como máximo el 1,0 % en peso de un indicador de pH;
- 45 - de al menos el 0,05 a como máximo el 5,0 % en peso de un agente espesante;
- de al menos el 0,1 a como máximo el 15,0 % en peso de un tampón de pH y/o agente de ajuste del pH;
- opcionalmente, de al menos el 0,1 a como máximo el 15,0 % en peso de un humectante;
- opcionalmente, de al menos el 0,05 a como máximo el 2,0 % en peso de un conservante; y,
- 50 - opcionalmente, de al menos el 10 a como máximo el 40 % en peso de un estabilizante.

En una realización particularmente preferida, la composición de hidrogel comprende:

- de al menos el 0,2 a como máximo el 2,0 % en peso de una cutinasa;
- de al menos el 0,01 a como máximo el 0,1 % en peso de un indicador de pH;
- 55 - de al menos el 0,01 a como máximo el 2,0 % en peso de un agente espesante;
- de al menos el 0,5 a como máximo el 10,0 % en peso de un tampón de pH y/o agente de ajuste del pH
- opcionalmente, de al menos el 1,0 a como máximo el 10,0 % en peso de un humectante;
- opcionalmente, de al menos el 0,1 a como máximo el 1,0 % en peso de un conservante; y,
- opcionalmente, de al menos el 15 a como máximo el 35 % en peso de un estabilizante. En una realización particularmente preferida, la composición de hidrogel comprende
- 60 - de al menos el 0,3 a como máximo el 1,0 % en peso de una cutinasa;
- de al menos el 0,01 a como máximo el 0,05 % en peso de un indicador de pH;
- de al menos el 0,1 a como máximo el 1,0 % en peso de un agente espesante;
- de al menos el 1,0 a como máximo el 10,0 % en peso de un tampón de pH y/o agente de ajuste del pH;
- 65 - opcionalmente, de al menos el 1,0 a como máximo el 5,0 % en peso de un humectante;
- opcionalmente, de al menos el 0,1 a como máximo el 0,5 % en peso de un conservante; y,

- opcionalmente, de al menos el 20 a como máximo el 30 % en peso de un estabilizante.

En algunas realizaciones, la composición de hidrogel comprende:

- 5 - de al menos el 0,01 a como máximo el 10,0 % en peso de cutinasa de *Fusarium solani pisi* (Cut1-Fusso);
- de al menos el 0,01 a como máximo el 1,0 % en peso de azul de bromotimol y/o púrpura de bromocresol;
- de al menos el 0,05 a como máximo el 5,0 % en peso de carboximetil celulosa;
- de al menos el 0,1 a como máximo el 15,0 % en peso de NaOH y/o NaHCO_3 ;
- opcionalmente, de al menos el 0,1 a como máximo el 15,0 % en peso de propilenglicol;
- 10 - opcionalmente, de al menos el 0,1 a como máximo el 2,0 % en peso de un fenoxietanol; y,
- opcionalmente, de al menos el 10 a como máximo el 40 % en peso de glicerol y/o sorbitol.

En una realización particularmente preferida, la composición de hidrogel comprende:

- 15 - de al menos el 0,2 a como máximo el 2,0 % en peso de cutinasa de *Fusarium solani pisi* (Cut1-Fusso);
- de al menos el 0,01 a como máximo el 0,1 % en peso de azul de bromotimol y/o púrpura de bromocresol;
- de al menos el 0,01 a como máximo el 2,0 % en peso de carboximetil celulosa;
- de al menos el 0,5 a como máximo el 10,0 % en peso de NaOH y/o NaHCO_3 ;
- opcionalmente, de al menos el 1,0 a como máximo el 10,0 % en peso de propilenglicol;
- 20 - opcionalmente, de al menos el 0,1 a como máximo el 1,0 % en peso de un fenoxietanol; y,
- opcionalmente, de al menos el 15 a como máximo el 35 % en peso de glicerol y/o sorbitol.

En una realización particularmente preferida, la composición de hidrogel comprende

- 25 - de al menos el 0,3 a como máximo el 1,0 % en peso de cutinasa de *Fusarium solani pisi* (Cut1-Fusso);
- de al menos el 0,01 a como máximo el 0,05 % en peso de azul de bromotimol y/o púrpura de bromocresol;
- de al menos el 0,1 a como máximo el 1,0 % en peso de carboximetil celulosa;
- de al menos el 1,0 a como máximo el 10,0 % en peso de NaOH y/o NaHCO_3 ;
- opcionalmente, de al menos el 1,0 a como máximo el 5,0 % en peso de propilenglicol;
- 30 - opcionalmente, de al menos el 0,1 a como máximo el 0,5 % en peso de un fenoxietanol; y,
- opcionalmente, de al menos el 20 a como máximo el 30 % en peso de glicerol y/o sorbitol.

En un aspecto adicional, el método, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que el método es un método implementado por ordenador para la determinación de la biodegradabilidad de un material polimérico que comprende, además, las etapas:

- (a) después de aplicar la composición de biodegradabilidad sobre un material polimérico, recibir datos del sensor desde una unidad de sensor óptico configurada para el registro de una degradación mediante la composición de biodegradabilidad del material polimérico,
- 40 (b) calcular, a partir de los datos de la unidad de sensor óptico, la velocidad de degradación del material polimérico;
- (c) calcular, a partir de la velocidad de degradación, el tipo de biodegradabilidad del material polimérico;
- (d) opcionalmente, mostrar el tipo de degradabilidad calculado del material polimérico en una unidad de visualización.
- 45 Preferentemente, el método implementado por ordenador anterior reemplaza la etapa (iii) del método para la determinación y/o el trazado de la biodegradabilidad de un material polimérico, tal como se describe en el presente documento; y/o se realiza después de la etapa (ii) del método para la determinación y/o el trazado de la biodegradabilidad de un material polimérico, tal como se describe en el presente documento.
- 50 Tal como se usa en el presente documento, la "velocidad de degradación" se refiere a la velocidad a la que la cutinasa cataliza el material polimérico (mediante la escisión de los enlaces de éster) tras el contacto. Como alternativa, se puede entender que la velocidad de degradación se refiere a la velocidad catalítica o la actividad enzimática.

Tal como se usa en el presente documento, el "tipo de degradabilidad" se refiere al tipo de material polimérico con respecto a su degradabilidad en un entorno natural o acuoso.

En algunas realizaciones, el tipo de degradabilidad incluye al menos las siguientes clases:

- material polimérico (bio)degradable;
- 60 - material polimérico de (bio)degradabilidad lenta o dudosa;
- material polimérico no (bio)degradable.

Los datos del sensor emitidos mediante la unidad de sensor se pueden extraer, convertir y analizar mediante una unidad informática. Los datos del sensor pueden incluir coloraciones relativas o absolutas de la composición, en particular, cambios de color del indicador de pH. La unidad de sensor puede requerir o no la entrada previa de información por parte de un usuario del sistema. Por ejemplo, para la determinación de la biodegradabilidad se le

puede solicitar al usuario que introduzca información sobre la información de composición, tal como información sobre el tipo de enzima y/o la concentración de la enzima, y/o información de material, tal como información sobre el tipo de polímero y/o el color de polímero. Adicionalmente, o como alternativa, la información de composición y/o la información de material se pueden determinar automáticamente mediante la unidad de sensor antes de la realización del método.

Los datos de la unidad de sensor se pueden configurar para el escaneo de una representación óptica, legible por máquina, de los datos correspondientes a la información de composición; por ejemplo, se le puede pedir al usuario que escanee un código de barras que incluya información sobre el tipo de enzima y/o la concentración de enzima. Los datos de la unidad de sensor también se pueden configurar para determinar el color de polímero del área circundante, es decir, el área que no está en contacto con la composición de degradabilidad.

La unidad de sensor óptico se configura para la determinación de los cambios de coloración del indicador de pH. La unidad de sensor óptico puede ser una cámara, tal como una cámara CCD y CMOS.

La unidad de sensor de visualización se configura para la visualización del tipo de degradabilidad calculado o determinado del material polimérico. La unidad de visualización puede ser una pantalla visual, tal como una pantalla LED o LCD. Como alternativa, se pueden proporcionar otros medios de notificación a un usuario, como la reproducción de una señal de audio o una vibración del dispositivo, etc. La persona experta entiende que para la presente invención resulta relevante la notificación del tipo de degradabilidad calculado o determinado y no el medio de notificación de dicha información.

En particular, el método, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que el método comprende la etapa anterior de recepción de la entrada del usuario sobre información de composición y/o información de material; en donde la información de composición incluye información sobre el tipo de enzima y/o la concentración; y en donde la información de material incluye información sobre el tipo de polímero y/o el color de polímero.

En particular, el método, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que la unidad de sensor registra la degradación del material polimérico a intervalos de tiempo predefinidos; preferentemente cada 10-30 s, más preferentemente cada 15-25 s, lo más preferentemente aproximadamente cada 20 s.

En particular, el método, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que el método comprende la etapa de alerta a un usuario del intervalo de tiempo para el registro de la degradación del material polimérico con la unidad de sensor; preferentemente cada 1-10 s antes del registro, más preferentemente cada 3-8 s, lo más preferentemente aproximadamente cada 5 s.

En algunas realizaciones, la alerta es una indicación de audio proporcionada mediante una unidad de audio y/o una indicación visual proporcionada mediante una unidad de visualización.

En algunas realizaciones, en donde el tipo de degradabilidad incluye al menos las siguientes clases:

- material polimérico (bio)degradable;
- material polimérico bastante (bio)degradable
- material polimérico de (bio)degradabilidad lenta o dudosa;
- material polimérico bastante no (bio)degradable
- material polimérico no (bio)degradable.

En algunas realizaciones, el tipo de degradabilidad está relacionado con la degradabilidad de un material polimérico en un entorno acuoso (marino).

En un aspecto adicional, se divulga en el presente documento un kit para la ejecución y/o facilitación del método, tal como se divulga en el presente documento, comprendiendo el kit

una composición de hidrogel que comprende

- del 0,1 al 10,0 % en peso de una cutinasa, preferentemente elegida de cutinasa de *Thermobifida cellulosilytica* (Thc-cut1), cutinasa de *Thermobifida alba* (F71X06) y/o cutinasa de *Fusarium solani*, en particular, cutinasa de *Fusarium solani pisi* (Cut1-Fusso);
- un indicador de pH adecuado para la indicación visual de la actividad enzimática de la cutinasa, en donde el indicador de pH se selecciona de azul de bromotimol, púrpura de bromocresol, tornasol, antocianina y/o rojo de metilo;
- un agente espesante que comprende carboximetil celulosa sódica (CMC) presente en una cantidad de al menos el 0,05 a como máximo el 5,0 % en peso; y,
- un tampón y/o agente de ajuste del pH que comprende bicarbonato de sodio (NaHCO₃) y/o hidróxido de sodio (NaOH) presentes en una concentración de al menos 1,0 mM a como máximo 5,0 mM;
- un medio de aplicación configurado para la aplicación de la composición de biodegradabilidad sobre un material polimérico; y, opcionalmente,
- un sistema, preferentemente un soporte físico de informática personal, tal como un teléfono inteligente, una

tableta o un tabletófono, que comprende una unidad de sensor óptico configurada para el registro de una degradación del material polimérico mediante la composición, estando configurado el sistema para la determinación, a partir de los datos emitidos mediante la unidad de sensor,

5 del tipo de biodegradabilidad del material polimérico.

En particular, el kit, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que los medios de aplicación se eligen de un emplasto adhesivo y/o un sistema de bombeo de mano, una pipeta o una jeringa.

10 En particular, el kit, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que el medio de aplicación es un sistema de 1 componente (1K) que comprende un medio de aplicación configurado para la aplicación de la composición de biodegradabilidad sobre un material polimérico, en donde el medio de aplicación es un sistema de bombeo de mano, una botella de pulverización, una botella de extensión, una botella de bola, un bolígrafo marcador de acción por bomba y similares.

15 En particular, el kit, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que el medio de aplicación es un sistema de 2 componentes (2K) que comprende

- 20 - un primer componente para la contención de la cutinasa en forma de polvo seco o concentrado líquido y configurado para su colocación sobre el material polimérico; y,
- un segundo componente para la contención del tampón y el indicador de pH en forma líquida y configurado para su deposición sobre el primer componente.

25 En particular, el kit, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que el medio de aplicación es un sistema de 2 componentes (2K), en donde el segundo componente es un tubo de dispensación por jeringa, un bolígrafo de dos puntas, un bolígrafo marcador de acción por bomba y similares.

30 La aplicación de la composición comprendida en el kit sobre el material polimérico se puede realizar de diversas formas, con o sin herramientas. Resulta posible que los medios de aplicación deban tener determinadas propiedades, tales como buenas propiedades de barrera contra la humedad y el oxígeno. Además, los medios de aplicación pueden tener que producirse con un material que no sea interactivo con la cutinasa durante la aplicación. Sin embargo, la persona experta es muy consciente de tales requisitos y sabe qué materiales se pueden combinar para cumplir tales requisitos.

35 Un ejemplo particularmente adecuado de un sistema de bombeo de mano incluye los marcadores de bomba producidos por Molotow; por ejemplo, el modelo de marcador vacío 211EM con un cuerpo recargable y una punta de 4 mm. Los marcadores ilustrativos pueden permitir una facilidad de uso mejorada y la modularidad puede permitir una recarga o sustitución de piezas más sencilla. Los ejemplos adecuados adicionales son los sistemas de bombeo de mano que son multicanal a través de una multitud de puntas y los depósitos correspondientes, conteniendo cada uno
40 una composición definida, que se suman a una matriz de datos que proporciona información avanzada sobre el tipo de plástico y su tendencia y velocidad de degradación.

En algunas realizaciones, el kit comprende instrucciones para la realización del método de acuerdo con una o más realizaciones, tal como se describe en el presente documento. Las instrucciones se pueden proporcionar de varias
45 formas, por ejemplo, en un medio legible o ilustrativo. Por ejemplo, se pueden proporcionar unas instrucciones o una guía ilustrativa. Si el kit comprende un envasado, el envasado puede comprender las instrucciones. Como alternativa, se puede hacer referencia a un medio externo, tal como un enlace a un sitio web. Las instrucciones no se deben considerar como limitadas por el idioma o el conocimiento técnico limitado del consumidor.

50 En algunas realizaciones, el kit comprende un medio de almacenamiento o compartimento de almacenamiento; por ejemplo, un envasado. El envasado se puede proporcionar de diversos materiales, tales como plásticos o papel. Resulta posible que el envasado deba tener determinadas propiedades, tales como buenas propiedades de barrera contra la humedad y el oxígeno. Con el fin de llegar a las propiedades requeridas, resulta posible que se requiera una combinación de diferentes materiales, por ejemplo, en forma de una película de dos capas o múltiples capas. Sin
55 embargo, la persona experta es muy consciente de tales requisitos y sabe qué materiales se pueden combinar para cumplir tales requisitos.

En un aspecto adicional, se divulga en el presente documento una composición de biodegradabilidad para la determinación de la biodegradabilidad de materiales poliméricos que comprende:

- 60 - del 0,1 al 10,0 % en peso de una cutinasa;
- un indicador de pH adecuado para la indicación visual de la actividad enzimática de la cutinasa, en donde el indicador de pH se selecciona de azul de bromotimol, púrpura de bromocresol, tornasol, antocianina y/o rojo de metilo;
- 65 - un agente espesante que comprende carboximetil celulosa sódica (CMC) presente en una cantidad de al menos el 0,05 a como máximo el 5,0 % en peso; y,

- un tampón y/o agente de ajuste del pH que comprende bicarbonato de sodio (NaHCO_3) y/o hidróxido de sodio (NaOH) presentes en una concentración de al menos 1,0 mM a como máximo 5,0 mM.

Preferentemente, la presente invención se refiere a una composición de hidrogel (biodegradabilidad) que comprende:
 5 una cutinasa; un indicador de pH adecuado para la indicación visual de la actividad enzimática de la cutinasa, preferentemente azul de bromotimol o púrpura de bromocresol; un agente espesante, preferentemente carboximetil celulosa sódica (CMC); y, un tampón;

Las realizaciones previstas o descritas anteriormente de la composición como parte de o usadas en el método o el kit
 10 también son realizaciones previstas de la composición.

En un aspecto adicional, se divulga en el presente documento un método para la producción de la composición de biodegradabilidad, comprendiendo el método las etapas de:

- (a) preparar una solución acuosa que comprende al menos un humectante; preferentemente glicerol y/o propilenglicol;
- (b) añadir un indicador de pH a la solución de la etapa (a); preferentemente azul de bromotimol, tornasol, púrpura de bromocresol, antocianina y/o rojo de metilo;
- (c) añadir un conservante a la solución de la etapa (b); preferentemente fenoxietanol;
- (d) añadir un agente espesante a la solución de la etapa (c); preferentemente poli(ácido acrílico), hidroxietil celulosa (HEC) y/o carboximetil celulosa sódica (CMC).
- (e) añadir una cutinasa a la solución de la etapa (d), opcionalmente junto con un estabilizante; preferentemente elegida de cutinasa de *Thermobifida cellulosilytica* (Thc-cutl), cutinasa de *Thermobifida alba* (F71X06) y/o cutinasa de *Fusarium solani*, en particular, cutinasa de *Fusarium solani pisi* (Cut1-Fusso);
- (f) añadir una solución de tampón de pH a la solución de la etapa (e); preferentemente NaOH y/o NaHCO_3 .

En algunas realizaciones, la etapa (e) se puede realizar antes de la etapa (d). En algunas realizaciones, las Etapas (d) y (e) se pueden realizar simultáneamente. En algunas realizaciones, el agente espesante en la etapa (d) se añade gradualmente, preferentemente rociado en la solución. En algunas realizaciones, la cutinasa en la etapa (e) se añade gradualmente, preferentemente rociado en la solución.

En algunas realizaciones, la cutinasa se añade en forma de un polvo; preferentemente un polvo de enzima secado por congelación o secado por pulverización. El polvo puede comprender aditivos de procesamiento, tales como carbohidratos y/o sales.

El método de producción anterior permite la producción de la composición de biodegradabilidad en una secuencia individual; el método también se conoce como método de producción de "todo en uno".

En un aspecto adicional, se divulga en el presente documento un método para la producción de la composición de biodegradabilidad, comprendiendo el método las etapas de:

- (I) preparar un primer componente que comprende agua y un agente espesante; preferentemente el agente espesante es poli(ácido acrílico), hidroxietil celulosa (HEC) y/o carboximetil celulosa sódica (CMC).
- (II) preparar un segundo componente que comprende un humectante, un indicador de pH y un conservante; preferentemente el humectante es propilenglicol; preferentemente el indicador de pH es azul de bromotimol y/o púrpura de bromocresol; preferentemente el conservante es fenoxietanol;
- (III) preparar un tercer componente que comprende una solución de tampón de pH; preferentemente la solución de tampón de pH comprende NaOH y/o NaHCO_3 ;
- (IV) mezclar el (I) primer, (II) segundo y (III) tercer componentes con una cutinasa, opcionalmente junto con un estabilizante; preferentemente el estabilizante es glicerol; preferentemente la cutinasa se elige de cutinasa de *Thermobifida cellulosilytica* (Thc-cutl), cutinasa de *Thermobifida alba* (F71X06) y/o cutinasa de *Fusarium solani*, en particular, cutinasa de *Fusarium solani pisi* (Cut1-Fusso).

En algunas realizaciones, las etapas de preparación del (I) primer, (II) segundo y (III) tercer componentes se pueden intercambiar o realizar simultáneamente. En algunas realizaciones, el primer (I) y el segundo (II) componentes se mezclan en primer lugar antes de la adición del (III) tercer componente; preferentemente en donde el (I) primer y el (II) segundo componentes se agitan y el (III) tercer componente se valora en la mezcla del (I) primer y el (II) segundo componentes. En una realización particular en donde el indicador de pH es azul de bromotimol, el (III) tercer componente se valora hasta que se alcanza un pH de aproximadamente 8,0 a 8,2. En una realización particular en

donde el indicador de pH es púrpura de bromocresol, el (III) tercer componente se valora hasta que se alcanza un pH de aproximadamente 7,0 a 7,5.

En algunas realizaciones, la cutinasa se añade en forma de un polvo; preferentemente un polvo de enzima secado por congelación (liofilizado) o secado por pulverización. El polvo de cutinasa puede comprender aditivos de procesamiento, tales como carbohidratos y/o sales. Preferentemente, el polvo de cutinasa se añade junto con un estabilizante, tal como glicerol, para mejorar la dispersión.

En particular, el método, el kit y/o la composición, tal como se divulga en el presente documento, se caracteriza por que la composición de biodegradabilidad comprende, además, glicerol o sorbitol típicamente en una cantidad que varía entre el 5 y el 50 % en peso, más preferentemente entre el 20 y 30 % en peso, tal como, por ejemplo, del 25 % en peso.

En un aspecto adicional, se divulga en el presente documento el uso de la composición o el kit, tal como se divulga en el presente documento, para la determinación de la biodegradabilidad de materiales poliméricos. Las realizaciones previstas de la composición o el kit también son realizaciones previstas del uso de la composición o el kit.

En algunas realizaciones, la cutinasa (*Fusarium solani*) está presente en una concentración de al menos 0,1 g/l a como máximo 50,0 g/l; preferentemente de 1,0 g/l a 25,0 g/l; más preferentemente de 2,0 g/l a 10,0 g/l; lo más preferentemente de 3,0 g/l a 5,0 g/l; por ejemplo, de 4,0 g/l; por ejemplo, de 4,5 g/l.

En algunas realizaciones, la composición se usa en un material polimérico que se selecciona de la siguiente lista de poliésteres lineales predominantemente alifáticos: succinato de polibutileno (PBS), polibutilen adipato tereftalato (PBAT), polihidroxialcanoatos (PHA), tales como poli-3-hidroxibutirato (PHB), polihidroxivalerato (PHV) y polihidroxihexanoato (PHH), ácido poliláctico (PLA), policaprolactona (PCL), sebacato de polibutileno, polianhídridos, alcohol polivinílico, ésteres de celulosa, tales como acetato de celulosa y nitrocelulosa y sus derivados, y/o tereftalato de polietileno. En algunas realizaciones, la composición se usa en materiales poliméricos que están cargados de almidón.

En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a un uso del kit de acuerdo con una o más realizaciones, tal como se describe en el presente documento, para la determinación de la biodegradabilidad de materiales poliméricos. Las realizaciones previstas del kit también son realizaciones previstas del uso del kit.

Ejemplos

A fin de ilustrar mejor las propiedades, ventajas y rasgos de la presente invención, algunas realizaciones preferidas se divulgan como ejemplos con referencia a las figuras adjuntas. Por consiguiente, la presente invención divulga muchas realizaciones y ajustes, tal como apreciarán aquellos expertos en la materia, y el alcance de la presente invención no se limita en modo alguno a uno de los ejemplos ilustrativos que se presentan a continuación.

Ejemplo 1: ensayos de la fiabilidad de la composición de biodegradabilidad

La cutinasa (*Fusarium solani pisi*) se sobreexpresó en *Pichia*. El sobrenadante se ultrafiltró y se aumentó en concentración hasta 20 g/l. La solución de cutinasa se diluyó 4 veces y se añadió a un hidrogel tamponado con NaHCO₃ 5 mM que contenía azul de bromotimol. Después del mezclado, el hidrogel se aplicó sobre una serie de sustratos de plástico: en concreto: PP, LDPE, HDPE, PS, PC, PA-6, PBS y PBAT.

No se observó ningún cambio de color cuando la composición se aplicó a PP, LDPE, HDPE, PS, PC y PA-6; es decir, la composición permaneció azul (véanse las FIG. 1A y B). En cambio, el color azul cambió a amarillo claro (por ejemplo, disminución del pH) cuando se aplicó a PBS (< 20 s) y PBAT (< 80 s) (véanse las FIG. 1C y D).

En conclusión, la composición de biodegradabilidad pudo, en primer lugar, distinguir los plásticos biodegradables de los no biodegradables; y, en segundo lugar, también pudo determinar que el PBS tiene una velocidad de biodegradabilidad más alta en comparación con el PBAT.

Ejemplo 2: método de diagnóstico implementado por ordenador

A modo de ejemplo, el método implementado por ordenador, tal como se divulga en el presente documento, puede realizar las siguientes operaciones:

1. CONFIRMAR, por parte del usuario (presionando el botón ENSAYO NUEVO)
2. COMANDO, por parte de la aplicación: (COMPROBAR) ¿Es su plástico blanco, puro y seco?
3. CONFIRMAR, por parte del usuario (pulsando el botón SÍ)
4. COMANDO, por parte de la aplicación: coger el bolígrafo, agitarlo en el aire y poner tres bombas sobre un pañuelo de papel para obtener una punta nueva
5. CONFIRMAR, por parte del usuario (pulsando el botón HECHO)

6. COMANDO, por parte de la aplicación: poner un punto sobre su plástico con la punta: usar la bomba una vez para añadir líquido adicional
7. CONFIRMAR, por parte del usuario (pulsando el botón CON PUNTOS): ¡en ese momento comienza la cuenta atrás visible de la aplicación!
8. (Respuesta directa después de pulsar el botón CON PUNTOS): COMANDO, por parte de la aplicación: "ahora fotografiar directamente el PUNTO en el centro" (activado con la función CAPTURAR)
9. RESULTADO, por parte de la aplicación: ACEPTAR/NO ACEPTAR que el plástico sea blanco, puro y seco
10. La CONFIRMACIÓN se registra automáticamente mediante la aplicación al sacar la imagen
11. A partir de ese momento, un temporizador comienza a funcionar con números negros claramente visibles (00:01...)
12. (Si hay más de 10 segundos entre la pulsación del botón CON PUNTOS y la toma de la foto, el ensayo se anuncia como "abandonado" y se invita al usuario a retomarlo en la Fase 3)
13. Después de 15 segundos de temporizador (es decir, a las 00:15), aparece un anuncio: quedan 5 segundos antes de la próxima toma de cámara (cuenta atrás en 4, 3, 2, 1, CAPTURAR)
14. (Si hay más de 10 segundos después del momento CAPTURAR para sacar la foto, aparece un ruido que admite el comando CAPTURAR; de hecho, el momento del registro siempre se puede ajustar en la curva internamente en la aplicación) El temporizador general sencillamente continúa funcionando.
15. A las 00:35, aparece un anuncio: quedan 5 segundos antes de la próxima captura de la cámara (cuenta atrás, de nuevo, en 4, 3, 2, 1, CAPTURAR)
16. (Si hay más de 10 segundos después del momento CAPTURAR para sacar la foto, aparece un ruido que admite el comando CAPTURAR; de hecho, el momento del registro siempre se puede ajustar en la curva internamente en la aplicación) El temporizador general sencillamente continúa funcionando.
17. A las 00:55, aparece un anuncio: quedan 5 segundos antes de la próxima captura de la cámara (cuenta atrás, de nuevo, en 4, 3, 2, 1, CAPTURAR)
18. (Si hay más de 10 segundos después del momento CAPTURAR para sacar la foto, aparece un ruido que admite el comando CAPTURAR; de hecho, el momento del registro siempre se puede ajustar en la curva internamente en la aplicación) El temporizador general sencillamente continúa funcionando.
19. A las 01:15, aparece un anuncio: quedan 5 segundos antes de la próxima captura de la cámara (cuenta atrás, de nuevo, en 4, 3, 2, 1, CAPTURAR)
20. (Si hay más de 10 segundos después del momento CAPTURAR para sacar la foto, aparece un ruido que admite el comando CAPTURAR; de hecho, el momento del registro siempre se puede ajustar en la curva internamente en la aplicación) El temporizador general sencillamente continúa funcionando.
21. A las 01:35, aparece un anuncio: quedan 5 segundos antes de la próxima captura de la cámara (cuenta atrás, de nuevo, en 4, 3, 2, 1, CAPTURAR)
22. (Si hay más de 10 segundos después del momento CAPTURAR para sacar la foto, aparece un ruido que admite el comando CAPTURAR; de hecho, el momento del registro siempre se puede ajustar en la curva internamente en la aplicación) El temporizador general sencillamente continúa funcionando.
23. A las 01:55, aparece un anuncio: quedan 5 segundos antes de la próxima captura de la cámara (cuenta atrás, de nuevo, en 4, 3, 2, 1, CAPTURAR)
24. (Si hay más de 10 segundos después del momento CAPTURAR para sacar la foto, aparece un ruido que admite el comando CAPTURAR; de hecho, el momento del registro siempre se puede ajustar en la curva internamente en la aplicación) El temporizador general sencillamente continúa funcionando.
25. LECTURA, por parte de la aplicación:
(después de cada captura de la cámara, la aplicación puede decidir atajar directamente a la Fase 24, en caso de que el color amarillo se haya alcanzado de manera convincente y no tenga sentido esperar a que se amarillee más)

Al abrir la aplicación:

1. COMANDO, por parte de la aplicación: "escanear código QR de bolígrafo" (con la cámara)
2. Leer la vida útil de la composición en el bolígrafo: una afirmación sobre el período de tiempo restante para usar la composición en el bolígrafo (lectura en días)

Ejemplo 3: producción y aplicación de la composición de biodegradabilidad

A modo de ejemplo, se presentan dos métodos de incorporación de componentes: (1) el método de 'mezclado de todo incluido' y (2) el método de 'mezclado en partes'. El método de mezclado de 'todo incluido' implicaba el mezclado de todos los componentes en el agua de base, de una manera secuencial, añadiéndose, en primer lugar, los componentes líquidos y añadiéndose los polvos hacia el final y añadiéndose el sistema de tampón al final para estabilizar la composición. El método de 'mezclado en partes' implicó la creación de un hidrogel de base mediante, en primer lugar, la producción y, posteriormente, el mezclado de las partes A, B y C entre sí, al que se le añadió el polvo de enzima, el glicerol. La ordenación de los componentes se presenta, a continuación, en la Tabla 1.

Tabla 1: ordenación de los componentes usados para formular la composición de biodegradabilidad.

Componente	'Mezclado de todo incluido'	'Mezclado en partes'
Agua	1°	Parte A
Indicador de pH (por ejemplo, azul de bromotimol o púrpura de bromocresol)	4°	Parte B
Carboximetil celulosa	6° (rociada gradualmente)	Parte A (rociada gradualmente)
Glicerol	3°	Añadido a la mezcla de las Partes (A+B+C)
Propilenglicol	2°	Parte B
Cutinasa	6° (rociada gradualmente)	Añadida a la mezcla de las Partes (A+B+C)
Fenoxietanol	5°	Parte B
NaOH	8°	Parte C
Opcionalmente, NaHCO ₃	7°	Parte C

A fin de lograr un mezclado adecuado usando el método de mezclado de 'todo incluido', se aplicó el siguiente protocolo de mezclado: en primer lugar, se añadió agua destilada a un vaso de precipitados grande (el vaso de precipitados solo debe llenarse hasta la mitad para dejar espacio cuando el agitador comience a funcionar a alta velocidad) y se colocó debajo de un agitador superior equipado con un agitador de hélice grande. A continuación, se inició la agitación a ~500-600 rpm y se formó rápidamente un vórtice. A continuación, se añadió lentamente, pero de forma constante, la CMC (0,5 % en peso) a la mezcla, con cuidado de verter en el vórtice, en el transcurso de un período de dos minutos; la velocidad se aumentó gradualmente de conformidad con la CMC añadida y aumentando, por tanto, la viscosidad hasta un valor de ~1.500 rpm. A continuación, la solución se dejó en agitación durante 10 minutos (o hasta que no se observaron grumos) a alta velocidad para hidratar completamente la CMC. Después de 10 minutos, se retiró el agitador y se dejó reposar la solución durante aproximadamente 30 minutos para permitir la dispersión de las diminutas burbujas de aire que se habían formado. El producto era una solución suave, clara y semitransparente, que forma la Parte A del método.

Mediante el uso de la Parte A como matriz de base, se añadió la Parte B (que consistía en un indicador de pH, fenoxietanol y propilenglicol) y se agitó usando un agitador magnético. Finalmente, una vez mezclados completamente, se valoraron el NaOH y NaHCO₃ (Parte C) hasta alcanzar el pH deseado. A este hidrogel estable, se le puede añadir glicerol, polvo de enzima y NaOH, según se requiera. Dependiendo del indicador de pH, también se puede añadir NaHCO₃. En particular, en el caso de la púrpura de bromocresol, se puede excluir el NaHCO₃ mientras se valora la mezcla para un pH de aproximadamente 7. Sin embargo, en el caso del azul de bromotimol, se puede añadir NaHCO₃ mientras se valora para alcanzar un pH de aproximadamente 8. Como regla general, se añadieron aproximadamente 2 mmol de tampón (NaOH o NaHCO₃) según el % en peso de cutinasa. La cutinasa se añadió en una cantidad de entre 1-2 % en peso (es decir, 10-20 g/l).

Ejemplo 4: kit y método de aplicación de la composición de biodegradabilidad

Mediante el uso del método de 'mezclado en partes' descrito anteriormente en el Ejemplo 3, se produjeron dos hidrogeles ilustrativos. El primer hidrogel comprende azul de bromotimol y se denomina hidrogel de color 'azul'; el segundo hidrogel comprende púrpura de bromocresol y se denomina hidrogel de color 'púrpura'. La cutinasa se puede añadir según se requiera en forma de polvo a cada hidrogel. La composición de los dos hidrogeles se presenta, a continuación, en la Tabla 2.

Tabla 2: composición de dos composiciones de biodegradabilidad ilustrativas.

Hidrogel de color 'azul' (pH 8)		% en peso	Hidrogel de color 'púrpura' (pH 7)		% en peso
Solución de CMC al 0,5 %	Parte A	94	Solución de CMC al 0,5 %.	Parte A	94
Azul de bromotimol	Parte B	0,01	Púrpura de bromocresol	Parte B	0,04
Propilenglicol		5	Propilenglicol		5
Fenoxietanol		0,5	Fenoxietanol		0,5
NaOH (solución 500 mM)	Parte C	0,1	NaOH (solución 100 mM)	Parte C	1
NaHCO ₃ (solución 100 mM)		0,5			

Mediante el uso de las formulaciones de hidrogel de color 'azul' y 'púrpura' producidas, se ensamblaron kits de aplicación ilustrativos. Se hace referencia a la FIG. 2, que ilustra un bolígrafo marcador de acción por bomba (de Molotow). En particular, la FIG. 2A ilustra la modularidad del sistema, que permite un fácil llenado de la composición

de biodegradabilidad.

Se añadió una cantidad adecuada de cutinasa (Cut1-Fusso) en forma de polvo seco (liofilizado) que se produjo usando el secado por congelación a cada una de las dos composiciones de hidrogel ilustrativas, junto con glicerol y, opcionalmente, NaOH, según se requería. En particular, se llenó un primer bolígrafo marcador con el hidrogel de color 'azul' para ensamblar un bolígrafo de color 'azul', que se ilustra en la FIG. 2B. Se llenó un segundo bolígrafo marcador con el hidrogel de color 'púrpura' para ensamblar un bolígrafo de color 'púrpura', que se ilustra en la FIG. 2C. Las composiciones finales de los dos bolígrafos marcadores se presentan, a continuación, en la Tabla 3.

Tabla 3: composición final de dos kits de biodegradabilidad ilustrativos.

Bolígrafo marcador de color 'azul'	% en peso	Bolígrafo marcador de color 'púrpura'	% en peso
Hidrogel de color 'azul' (de la Tabla 2)	73,5 %	Hidrogel de color 'púrpura' (de la Tabla 2)	73,5 %
Glicerol	25 %	Glicerol	25 %
Cutinasa (polvo liofilizado)	1,5 %	Cutinasa (polvo liofilizado)	1,5 %
NaOH [500 mM]	1,15 %	NaOH [100 mM]	2,75 %
NaHCO ₃ [100 mM]	5 %		

Mediante el uso de los bolígrafos marcadores de color 'azul' y 'púrpura', se determina la biodegradabilidad de un material polimérico mediante el marcado de la superficie de dicho material polimérico con el marcador, liberando, de ese modo, una cantidad de composición biodegradable sobre la superficie de dicho material polimérico. La composición de biodegradabilidad interactuará con el material polimérico e indicará visualmente su biodegradabilidad a través de un cambio de color (dependiendo del color del indicador de pH). El hidrogel de color 'azul' tiene un intervalo de pH de trabajo de pH 8 a 6, en donde el hidrogel cambia de color azul a amarillo en respuesta a la actividad enzimática de la cutinasa. El hidrogel de color 'púrpura' tiene un intervalo de pH de trabajo de pH 7 a 5, en donde el hidrogel cambia de color púrpura a amarillo en respuesta a la actividad enzimática de la cutinasa.

REIVINDICACIONES

1. Un método para la determinación y/o el trazado de la biodegradabilidad de un material polimérico, comprendiendo el método las etapas de:

(i) proporcionar una composición de hidrogel que comprende:

- del 0,05 al 10,0 % en peso de una cutinasa;
- un indicador de pH adecuado para la indicación visual de la actividad enzimática de la cutinasa, en donde el indicador de pH se selecciona de azul de bromotimol, púrpura de bromocresol, tornasol, antocianina y/o rojo de metilo;
- un agente espesante que comprende carboximetil celulosa sódica (CMC) presente en una cantidad de al menos el 0,05 a como máximo el 5,0 % en peso; y,
- un tampón y/o agente de ajuste del pH que comprende bicarbonato de sodio (NaHCO_3) y/o hidróxido de sodio (NaOH) presentes en una concentración de al menos 1,0 mM a como máximo 5,0 mM;

(ii) aplicar la composición de hidrogel sobre un material polimérico; y,

(iii) determinar y/o trazar la biodegradabilidad de dicho material polimérico en respuesta a la indicación visual de la composición de biodegradabilidad.

2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el método es un método implementado por ordenador para la determinación de la degradabilidad de un material polimérico y en donde la etapa (iii) para la determinación y/o el trazado de la biodegradabilidad comprende las etapas de:

- (a) recibir datos del sensor desde una unidad de sensor óptico configurada para el registro de la degradación del material polimérico mediante la composición de hidrogel;
- (b) calcular, a partir de los datos de la unidad de sensor óptico, la velocidad de degradación del material polimérico;
- (c) calcular, a partir de la velocidad de degradación, el tipo de degradabilidad del material polimérico; y,
- (d) opcionalmente, mostrar el tipo de degradabilidad del material polimérico en una unidad de visualización.

3. Una composición de hidrogel para la determinación y/o el trazado de la degradabilidad de materiales poliméricos, comprendiendo la composición:

- del 0,1 al 10,0 % en peso de una cutinasa;
- un indicador de pH adecuado para la indicación visual de la actividad enzimática de la cutinasa, en donde el indicador de pH se selecciona de azul de bromotimol, púrpura de bromocresol, tornasol, antocianina y/o rojo de metilo;
- un agente espesante que comprende carboximetil celulosa sódica (CMC) presente en una cantidad de al menos el 0,05 a como máximo el 5,0 % en peso; y,
- un tampón y/o agente de ajuste del pH que comprende bicarbonato de sodio (NaHCO_3) y/o hidróxido de sodio (NaOH) presentes en una concentración de al menos 1,0 mM a como máximo 5,0 mM.

4. Un kit para la ejecución y/o facilitación del método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, comprendiendo el kit:

- una composición de hidrogel de acuerdo con la reivindicación 3;
- un medio de aplicación configurado para la aplicación de la composición de hidrogel sobre un material polimérico.

5. El kit de acuerdo con la reivindicación 4, que comprende, además, un sistema informático, preferentemente un soporte físico de informática personal, tal como un teléfono inteligente, una tableta o un tabletófono; comprendiendo el sistema informático una unidad de sensor óptico configurada para el registro de una degradación del material polimérico mediante la composición de hidrogel y, opcionalmente, una unidad de visualización; estando configurado el sistema informático para la determinación, a partir de los datos emitidos mediante la unidad de sensor óptico, del tipo de degradabilidad del material polimérico.

6. El kit de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 4 o 5, en donde el medio de aplicación es un tubo de dispensación por jeringa, un bolígrafo de dos puntas o preferentemente un bolígrafo marcador de acción por bomba.

7. Uso de la composición o el kit de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 6, para la determinación de la biodegradabilidad de materiales poliméricos.

8. El método, la composición, el kit o el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde la cutinasa es cutinasa de *Thermobifida cellulosilytica* (Thc-cutl), cutinasa de *Thermobifida alba* (F71X06) y/o cutinasa de *Fusarium solani* (Cut1-Fusso); preferentemente cutinasa de *Fusarium solani pisi*.

9. El método, la composición, el kit o el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde la

- cutinasa está presente en una cantidad de al menos el 0,05 a como máximo el 5,0 % en peso del peso total de la composición de hidrogel; preferentemente del 0,05 al 4,0 % en peso, preferentemente del 0,05 al 3,0 % en peso, más preferentemente del 0,1 al 2,0 % en peso; más preferentemente del 0,1 al 1,0 % en peso, incluso más preferentemente del 0,2 al 0,9 % en peso, incluso más preferentemente del 0,3 al 0,8 % en peso, incluso más preferentemente del 0,3 al 0,7 % en peso; por ejemplo, del 0,4 % en peso, por ejemplo, del 0,5 % en peso, por ejemplo, del 0,6 % en peso.
- 5
10. El método, la composición, el kit o el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde la carboximetil celulosa sódica (CMC) está presente en una cantidad de al menos el 0,05 a como máximo el 3,0 % en peso; preferentemente del 0,1 al 2,0 % en peso; más preferentemente del 0,1 al 1,0 % en peso; más preferentemente del 0,2 al 0,7 % en peso, incluso más preferentemente del 0,3 al 0,5 % en peso.
- 10
11. El método, la composición, el kit o el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde el indicador de pH es azul de bromotimol y la composición de hidrogel tiene un pH previo a la aplicación de al menos 8,0 a como máximo 8,5; preferentemente de 8,1 a 8,4; más preferentemente de 8,2 a 8,3; y/o,
- 15
- en donde el indicador de pH es púrpura de bromocresol, y la composición de hidrogel tiene un pH previo a la aplicación de 7,0 a 7,5; preferentemente de 7,1 a 7,4; más preferentemente de 7,2 a 7,3.
12. El método, la composición, el kit o el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde el tampón y/o el agente de ajuste del pH comprende bicarbonato de sodio (NaHCO_3) presente en una concentración de 2,0 mM a 4,5 mM; más preferentemente de 3,0 mM a 4,0 mM; lo más preferentemente de aproximadamente 3,0 mM; y/o, hidróxido de sodio (NaOH) presente en una concentración de 2,0 mM a 4,5 mM; más preferentemente de 3,0 mM a 4,0 mM; lo más preferentemente de aproximadamente 4,0 mM.
- 20
13. El método, la composición, el kit o el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde la composición de hidrogel comprende un humectante, preferentemente propilenglicol; preferentemente presente entre al menos el 0,1 y como máximo el 20,0 % en peso del peso total de la composición de hidrogel; más preferentemente del 1,0 al 10,0 % en peso; más preferentemente del 1,0 al 5,0 % en peso; por ejemplo, al 3 % en peso.
- 25
14. El método, la composición, el kit o el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en donde la composición de hidrogel comprende un estabilizante, preferentemente glicerol o sorbitol; preferentemente presente entre al menos el 5 y como máximo el 50 % en peso del peso total de la composición de hidrogel; más preferentemente del 10 al 40 % en peso; más preferentemente del 20 al 30 % en peso; por ejemplo, al 25 % en peso.
- 30
15. El método, la composición, el kit o el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en donde la composición de hidrogel comprende un conservante, preferentemente fenoxietanol; preferentemente presente entre al menos el 0,05 y como máximo el 2,0 % en peso del peso total de la composición de hidrogel; preferentemente del 0,1 al 1,5 % en peso; preferentemente del 0,1 al 1,0 % en peso; más preferentemente del 0,1 al 0,5 % en peso.
- 35

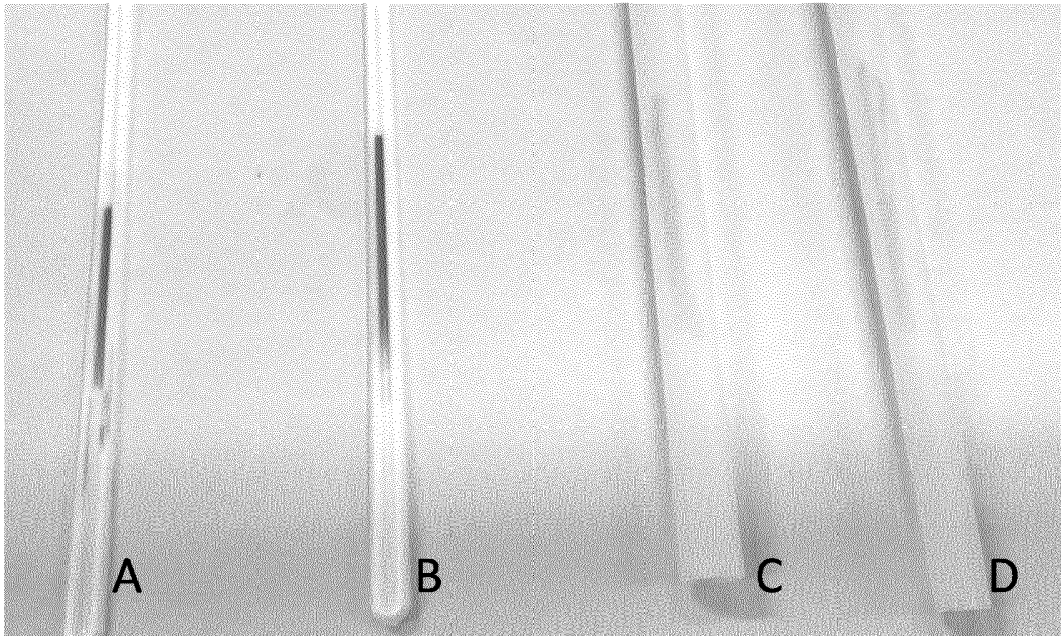


FIG. 1

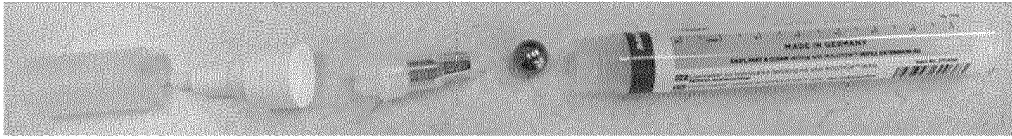


FIG. 2A

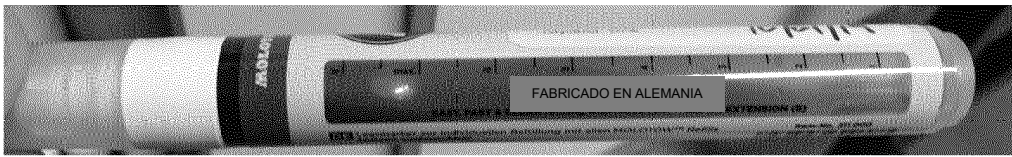


FIG. 2B

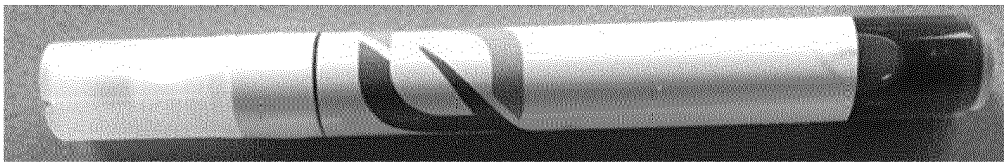


FIG. 2C