



**TECNOLÓGICO  
NACIONAL DE MÉXICO®**



**TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO CAMPUS  
TUXTLA GUTIÉRREZ**

**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA Y BIOQUÍMICA**

**“BIODEGRADACIÓN DE POLIETILENO DE BAJA DENSIDAD”**

**REPORTE FINAL DE RESIDENCIA PROFESIONAL QUE PRESENTA:**

**LILIANA GUADALUPE RODRÍGUEZ PÉREZ**

Como requisito para acreditar la Residencia Profesional de la  
Licenciatura en:

**INGENIERÍA QUÍMICA**

ASESOR

**IBQ. JORGE ARMANDO GÓMEZ SALINAS**

TUXTLA GUTIÉRREZ, CHIAPAS; A 15 DE JUNIO DE 2022

## AGRADECIMIENTOS

Dedico este proyecto de residencia en primer lugar a Dios, por siempre guiar mi camino, por escucharme en mis momentos difíciles, darme la fuerza para salir adelante y por nunca dejarme sola.

Deseo expresar mi agradecimiento a mi asesor de este proyecto, IBQ. Jorge Armando Gómez Salinas, por el apoyo que ha brindado a este trabajo, por el respeto a mis sugerencias e ideas y por la dirección y las recomendaciones que ha facilitado a las mismas. Gracias por la confianza ofrecida desde la primera vez que le comenté sobre el proyecto.

Pero un trabajo de investigación es también fruto del reconocimiento y del apoyo vital que nos ofrecen las personas que nos estiman, sin el cual no tendríamos la fuerza y energía que nos anima a crecer como personas y como profesionales.

Por eso agradezco a mi familia, a mis padres que siempre me han dado la libertad para elegir mis propias decisiones; a mi padre por brindarme el apoyo y privilegio de sólo dedicar mi tiempo a estudiar; por ser un ejemplo de superación para mí y por enseñarme a aprovechar todas las oportunidades.

A mi madre, por ser una mujer excepcional, que siempre me ha procurado, cuidado, apoyado y por darme tanto amor todos los días; la vida no me alcanzaría para agradecerte todo lo que has hecho por mí.

A mis hermanos, gracias por darme tan buenos momentos y por entenderme siempre.

A mis pajaritos, que son mi motor para esforzarme todos los días, que siempre están conmigo cuando me siento mal; me hacen sentir que tengo por qué y por quién vivir.

Y en especial al amor de mi vida, por acompañarme en tantas noches de estudio; gracias por todo el apoyo que me has dado en mi carrera, por tu paciencia, tu amor incondicional y por darme ánimos cuando me sentía derrotada; cambiaste mi vida por completo.

## RESUMEN

En el presente proyecto de investigación se realiza una breve identificación de información de los últimos cinco años; enfocada principalmente a los procesos aplicados a la degradación de polietileno de baja densidad para la reducción de residuos plásticos que actúan como contaminantes del medio ambiente; aplicando y describiendo a los principales microorganismos que se utilizan en la biotransformación de estos materiales, así como explorar el estado del arte del uso de los tratamientos biocorrectivos para la Biodegradación del LDPE.

También se pretende dar a conocer e identificar la importancia y nuevas tecnologías referentes a la Biodegradación del LDPE y su impacto ambiental.

.....

*Palabras clave: Polietileno, Biodegradación, Microorganismos*

## ABSTRACT

This research project provides a brief identification of information from the last five years; focused mainly on processes applied to the degradation of low-density polyethylene for the reduction of plastic waste that act as environmental pollutants; applying and describing the main microorganisms used in the biotransformation of these materials, as well as exploring the state-of-the-art use of biocorrective treatments for LDPE biodegradation. It is also intended to publicize and identify the importance and new technologies related to the biodegradation of LDPE and its environmental impact.

.....

Keywords: polyethylene, Biodegradation, Microorganisms

## ÍNDICE

<b>AGRADECIMIENTOS .....</b>	<b>2</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>3</b>
<b>Introducción .....</b>	<b>9</b>
<b>Descripción de la empresa .....</b>	<b>13</b>
<b>Problemas a resolver .....</b>	<b>14</b>
<b>Objetivos.....</b>	<b>15</b>
<b>Objetivo del proyecto: .....</b>	<b>15</b>
<b>Objetivos específicos .....</b>	<b>15</b>
<b>Justificación .....</b>	<b>16</b>
<b>Marco teórico .....</b>	<b>17</b>
<b>1.- Polietileno .....</b>	<b>17</b>
<b>1.1.- ¿Dónde Contamina el Polietileno de Baja Densidad?.....</b>	<b>19</b>
<b>1.2.- ¿Qué lo hace característico?.....</b>	<b>19</b>
<b>1.3.- ¿Cómo se Recicla el Polietileno de Baja Densidad?.....</b>	<b>20</b>
<b>2.- Métodos de Degradación para LDPE .....</b>	<b>21</b>
<b>2.1.- Pirólisis.....</b>	<b>21</b>
<b>2.2.- Degradación Catalítica .....</b>	<b>21</b>
<b>2.3.- Degradación Oxidativa .....</b>	<b>22</b>
<b>2.4.-Degradación Microbiana .....</b>	<b>22</b>
<b>3.- Hongos y Bacterias .....</b>	<b>22</b>
<b>3.1.- Hongos .....</b>	<b>22</b>
<b>3.2.- Bacterias .....</b>	<b>23</b>
<b>4.- Microorganismos Degradadores de Plástico .....</b>	<b>24</b>
<b>4.1.- Géneros de Hongos con Capacidad Biodegradadora de Polietileno .....</b>	<b>24</b>
<b>4.1.1.- Aspergillus sp.....</b>	<b>24</b>

4.1.1.1.- <i>Clasificación y Morfología</i> .....	24
4.1.1.2.- <i>Características Macroscópicas de los Aislados Fúngicos.</i> .....	25
4.1.1.3.- <i>Características Microscópicas</i> .....	25
4.1.2.- <i>Trichoderma sp.</i> .....	25
4.1.2.1.- <i>Clasificación y Morfología</i> .....	26
4.1.2.3.- <i>Características Microscópicas</i> .....	26
4.1.3.- <i>Fusarium sp.</i> .....	27
4.1.3.1.- <i>Clasificación y Morfología</i> .....	27
4.1.3.2.- <i>Características Macroscópicas</i> .....	27
4.1.3.3.- <i>Características Microscópicas</i> .....	27
4.1.4.- <i>Penicillium sp.</i> .....	28
4.1.4.1.- <i>Clasificación y Morfología</i> .....	28
4.1.4.2.- <i>Características Macroscópicas</i> .....	28
4.1.4.3.- <i>Características Microscópicas</i> .....	28
4.1.5.- <i>Mucor sp.</i> .....	29
4.1.5.1.- <i>Características Macroscópicas</i> .....	29
4.1.5.2.- <i>Clasificación y Morfología</i> .....	29
4.1.5.3.- <i>Características Microscópicas</i> .....	29
<b>5.- Factores Ambientales que Intervienen en la Biodegradación .....</b>	<b>31</b>
5.1.- <i>Humedad</i> .....	31
5.2.- <i>pH</i> .....	32
5.3.- <i>Temperatura</i> .....	32
<b>6.- Iniciadores y Aceleradores del Proceso de Biodegradación .....</b>	<b>33</b>
6.1.- <i>Degradación Abiótica</i> .....	33
6.2.- <i>Fotólisis</i> .....	33
6.3.- <i>Oxidación Térmica</i> .....	34
6.4.- <i>Oxidación Mecanoquímica</i> .....	34
<b>7.- Normatividad .....</b>	<b>35</b>
7.1.- <i>Normas Mexicanas Oficiales</i> .....	35

7.1.1.- Listado de residuos de manejo especial sujetos a presentar plan de manejo.....	36
<b>8.- Desarrollo .....</b>	<b>38</b>
8.1.- Investigación bibliográfica .....	38
8.2.- Microorganismos Reportados que Degradan el Polietileno .....	38
8.3.- Hongos Reportados Como Degradadores De Polietileno De Baja Densidad ....	40
8.3.1.- <i>Aspergillus</i> .....	41
8.3.2.- <i>Fusarium</i> .....	43
8.3.3.- <i>Penicillum</i> .....	45
8.3.4.- <i>Mucor sp.</i> .....	45
8.3.5.- <i>Pycnopus sanguineus</i> .....	46
8.3.6.- <i>Trichoderma</i> .....	47
8.4.- Bacterias Reportadas como Degradadores de Polietileno de Baja Densidad...	48
8.4.1.- <i>Pseudomonas</i> .....	48
8.4.2.- <i>Staphylococcus sp.</i> .....	49
8.5.- Métodos Principales de Cultivo de Microorganismos Degradadores de LDPE	51
8.5.1.- Medios para la realización de las pruebas.....	51
8.5.1.1.- Pruebas de campo (In situ o in vivo) con medios naturales .....	51
8.5.1.2.- Pruebas de simulación con medios seminaturales .....	51
8.5.1.3.- Pruebas de laboratorio (In vitro) .....	52
8.5.2.- Los inóculos .....	52
8.5.2.1.- Cultivos con inóculos amplios o de consorcios .....	52
8.5.2.2.- Cultivos microbianos axénicos .....	53
8.5.2.2.1.- <i>Medios líquidos</i> .....	53
8.5.2.2.2.- <i>Medios sólidos</i> .....	53
8.6.- Pretratamientos del LDPE .....	54
8.6.1.- Aclimatación Natural .....	54
8.6.2.- Aclimatación Artificial / Pruebas de Laboratorio .....	54

8.6.3.- Oxidación Térmica .....	55
8.6.4.- Procedimiento de fotodegradación .....	55
8.6.5.- Procedimiento de Termodegradación .....	56
8.7.- Métodos de Caracterización y Análisis de las Muestras Experimentales .....	56
8.7.1.- Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) .....	57
8.7.2.- Espectroscopía infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) .....	58
8.7.3.- Pérdida en Peso .....	59
9.- Metodología.....	60
9.1.- Selección de Muestra .....	60
9.2.- Preparación de Medios de Cultivo para la Réplica de los Microorganismos ....	60
9.3.- Réplica y Aislamiento de Hongos.....	61
9.4.- Identificación Taxonómica .....	61
9.5.- Medio Mínimo Mineral .....	62
9.6.- Preparación Inicial de las Muestras de LDPE. ....	63
9.7.- Tratamiento Físico de Envejecimiento.....	63
9.8.- Preparación, Análisis y Caracterización de las Muestras de Cultivo.....	64
9.8.1.- Preparación del LDPE Previo al Tratamiento de Envejecimiento Térmico..	64
9.8.2.- LDPE Posterior al Tratamiento de Envejecimiento Térmico .....	64
9.8.3.- Control Negativo de Crecimiento Microbiano .....	64
9.8.4.- Control Positivo de Crecimiento Microbiano .....	64
9.9.- Tratamiento de Desinfección del LDPE, Previo a la Inoculación de Hongos Filamentosos en Cajas Petri. ....	65
9.10.- Métodos de análisis de las muestras resultantes del experimento .....	65
9.10.1.- Determinación del peso seco de polietileno residual (polietileno biodegradado).....	65
10.- Resultados y Discusión.....	67
10.1.- Selección y Cultivo de las Cepas de Microorganismos .....	67
10.1.1.- Selección de Microorganismos.....	67

10.1.2.- <i>Réplica de las Cepas Seleccionadas</i> .....	67
10.2.- Preparación y Tratamiento de las Muestras de LDPE.....	68
10.2.1.- <i>Inoculación de los Medios de Cultivo</i> .....	68
10.2.2.- <i>Tratamiento de Envejecimiento Térmico</i> .....	68
10.3.- Análisis y caracterización de las muestras después del tratamiento de degradación biológica.....	69
10.3.1.- <i>Cambios durante el período de cultivo</i> .....	69
10.3.2.- <i>Control positivo de crecimiento microbiano</i> .....	69
10.3.3.- <i>Pérdida en Peso</i> .....	70
10.3.4.- <i>LDPE posterior al tratamiento de envejecimiento térmico</i> .....	70
10.4.- <i>Discusión</i> .....	70
11.- <i>Conclusiones</i> .....	72
12.- <i>Competencias desarrolladas</i> .....	74
13.- <i>Referencias</i> .....	75
14.- <i>Anexos</i> .....	82
14.1.- <i>Anexo A</i> .....	82
14.2.- <i>Anexo B</i> .....	84
14.3. <i>Anexo C</i> .....	86
14.4.- <i>Anexo D</i> .....	87
14.5.- <i>Anexo E</i> .....	89
14.6.- <i>Anexo F</i> .....	90
14.7.- <i>Anexo G.-</i> .....	91
14.8.- <i>Anexo H</i> .....	93
14.9.- <i>Anexo I</i> .....	94
14.10.- <i>Anexo J</i> .....	97
14.11. <i>Anexo K</i> .....	100



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tecnológico Nacional de México Campus Tuxtla Gutiérrez, vista satelital. ....	13
Figura 2. Estructura del polietileno, donde las esferas de color negro representan	17
Figura 3. Diferencias de las estructuras del polietileno de alta densidad y polietileno de baja densidad .....	18
Figura 4. Estructura reproductiva y sus partes .....	25
Figura 5. Estructuras características de <i>Trichoderma</i> .....	26
Figura 6. Macroconidias y microconidias de <i>Fusarium</i> .....	28
Figura 7. Estructura esquemática de <i>Penicillium</i> sp. ....	29
Figura 8. Estructuras representativas de <i>Mucor</i> sp. ....	30
Figura 9. Mecanismo de la biodegradación de los plásticos.....	31
Figura 10. Iniciadores de la oxidación del PE.....	33
Figura 11. Mecanismo de ruptura hemolítica o fotólisis.....	34
Figura 12. Inóculo de las cepas utilizadas; de izquierda a derecha: <i>Fusarium</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Pleurotus</i> , <i>Trichoderma</i> y <i>Aspergillus</i> .....	68
Figura 13. Controles positivos.....	70
Figura 14. Eficiencia de degradación de polietileno de los 3 Consorcios de cepas evaluadas .....	83
Figura 15. ETAPAS DE LA INVESTIGACIÓN .....	86
Figura 16. Crecimiento en peso seco de <i>Fusarium solani</i> en presencia de polietileno de baja densidad. ....	87
Figura 17. Producción de proteína extracelular por <i>Fusarium solani</i> en presencia de polietileno de baja densidad.....	87
Figura 18. Porcentaje de biodegradación de polietileno de baja densidad por <i>Fusarium solani</i> .....	88
Figura 19. Polietileno de baja densidad .....	90
Figura 20. Lavado final del polietileno .....	90
Figura 21. Desinfección de polietileno.....	90
Figura 22. Crecimiento del Hongo en diferentes contenidos de humedad.....	91
Figura 23. Comportamiento del hongo a diferentes porcentajes de polímero y temperaturas de 10°C y 22°C .....	92
Figura 24. Imágenes de SEM de lámina de LDPE .....	93
Figura 25. Placas Petri con crecimiento de colonias en Agar Manitol Salado.....	94
Figura 26. Valores de Biodegradación de polietileno de baja densidad con la bacteria <i>Staphylococcus</i> sp. ....	97
Figura 27. Pretratamiento del polietileno de baja densidad .....	98

Figura 28. Consolidado proceso compostaje maduro con humus .....	99
Figura 29. Muestras envejecidas después de salir de la autoclave .....	100
Figura 30. Muestra de LDPE después del tratamiento de envejecimiento térmico .....	100
Figura 31. Curva de distribución de la variación de peso porcentual de las 92 muestras de LDPE después del tratamiento de envejecimiento. ....	101

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Lista de microorganismos reportados como degradadores de LPDE .....	38
Tabla 2. Revisión de los métodos para el estudio de la degradación del LDPE .....	53
Tabla 3. Composición del medio mínimo mineral .....	62
Composición de la solución de trazas Tabla 4. Composición de la solución de trazas .....	63
Tabla 5. Grupos de muestras experimentales .....	63
Tabla 6. Especies de hongos degradadores de LDPE aislados a diferentes profundidades de los botaderos de Calca y Sicuani.....	82
Tabla 7. Porcentaje de degradación de polietileno de Consorcios de cepas. ....	82
Tabla 8. Resumen de las cepas que presentaron mayores porcentajes de biodegradación. ....	84
Tabla 9. Porcentaje de biodegradación en los 90 días de tratamiento. ....	85
Tabla 10. Resultados de la búsqueda .....	86
Tabla 11. Peso inicial del polietileno de baja densidad y peso con biomasa desde el primer mes hasta el tercer mes de tratamiento. ....	89
Tabla 12. Espectro de FTIR de LDPE en presencia de la cepa del hongo y ausencia de ella (LDPE blanco).....	92
Tabla 13. Condiciones ambientales en las que se desarrolla los microorganismos, hongos y enzimas que biodegradan los polímeros.....	93
Tabla 14. Condiciones ambientales para el desarrollo de las pseudomonas.....	94
Tabla 15. Identificación de crecimiento de colonias .....	95
Tabla 16. Biodegradación de polietileno de baja densidad con la bacteria Staphylococcus sp. ....	95
Tabla 17. Biodegradación de polietileno de baja densidad con la bacteria Staphylococcus sp. a una temperatura de 15° C.....	96
Tabla 18. Prueba de Tuckey de los valores de Biodegradación de polietileno de baja densidad con la bacteria Staphylococcus sp. ....	96

## Introducción

Echeverría et al., (2020), menciona que cerca del 75% del plástico generado por la pandemia de COVID-19 como plásticos, mascarillas, guantes y botellas de desinfectante para manos se han convertido en desechos que llegan al ambiente. Aunque las medidas de confinamiento alrededor del mundo han generado una dramática caída del 5% de las emisiones de gases de efecto invernadero, el aumento de los desechos plásticos han aumentado alrededor del mundo teniendo un impacto negativo en la naturaleza.

Sudhakar (2008) señaló que el polietileno es un material plástico usualmente presente en envases descartables. Está compuesto por monómeros de olefinas, que conjuntamente con el cloruro de polivinilo son los plásticos de mayor uso en México y en el mundo; se utilizan principalmente en la fabricación de rollos de plástico para envolturas, películas, tuberías y botellas de bebidas gaseosas.

El polietileno de baja densidad es el plástico más usado en la actualidad, tarda aproximadamente de 100 a 150 años en degradarse y es un material de un solo uso, estas cualidades atribuidas a este material provocan contaminación que afecta de manera directa.

La acumulación de estos residuos plásticos en el ambiente ha contaminado diversos ecosistemas de la biosfera; siendo uno de los materiales con propiedades flexibles, se ha convertido en el material moderno preferido de fabricación por las industrias de nuestra actualidad, son más fáciles de producir y más difíciles de desaparecer, volviéndose indispensable para nuestra vida. Litterthub (2019)

La degradación de los polímeros se refiere al cambio de las propiedades físicas causadas por las reacciones que inciden los enlaces. De acuerdo con el modo de iniciación puede ser degradación térmica, mecánica, química fotoquímica, química radiante y biológica como con el caso de los microorganismos.

Ciertos microorganismos cuentan o son capaces de descomponer no solo el PET, sino también el LDPE que es el polímero utilizado para fabricar millones de toneladas de productos plásticos cada año. Cuando se degrada suelen liberarse sustancias químicas tóxicas y cancerígenas que también matarían a la mayoría de los microorganismos encargados de degradar este plástico. No obstante, existen hongos, bacterias y levaduras que son capaces de sobrevivir incluso en condiciones duras como altas temperaturas y ambientes ácidos.

Se espera que el experimentar con la biodegradación con la ayuda de microorganismos como los hongos filamentosos y diversas bacterias pueda resolver el problema de los residuos plásticos en el futuro.

Aprovechando la característica que tienen los microorganismos para lograr biodegradar el polietileno de baja densidad, se pretende dar una posible solución a la contaminación provocada por este polímero.

## Descripción de la empresa

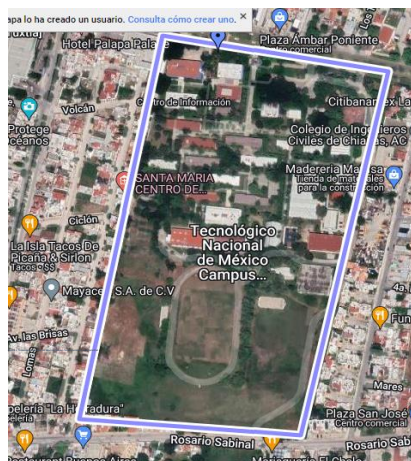
La ubicación en donde se realizará la residencia profesional será en el Tecnológico Nacional de México campus Tuxtla Gutiérrez. Específicamente, se trabajará dentro de laboratorio de Microbiología del Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez (ITTG). Cuya dirección es: Carretera Panamericana Km. 1080 Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México con coordenadas: (16.756637, -93.172825).

La presente residencia profesional será en el Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez en la ciudad de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México. El municipio Tuxtla Gutiérrez colinda al norte con Usumacinta y Chiapa de Corzo, al este con Chiapa de Corzo, al sur con Suchiapa y Ocozocoautla de Espinosa y al oeste con Berriozábal y Ocozocoautla de Espinosa.

El Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez es una institución pública con el objetivo de brindar una educación basada en la “ciencia y tecnología con sentido humano.” Esta universidad se fundó en 1971, por iniciativa estatal para contrarrestar la falta de instituciones de educación superior en Chiapas y forma parte de la red nacional de 115 Tecnológicos de México. Cuenta con un campus y 3 extensiones académicas en el que se ofrecen 9 ingenierías y 3 posgrados del que anualmente egresan 640 alumnos de nivel licenciatura y aproximadamente 10 alumnos de posgrado, que contribuyen al campo industrial y empresarial con sus conocimientos adquiridos en el campos científico y tecnológico.

### Figura 1

*Tecnológico Nacional de México Campus Tuxtla Gutiérrez, vista satelital.*



Nota. Adaptado de Google Maps [Fotografía]

<https://www.google.com/maps/d/viewer?f=q&hl=es&geocode&ie=UTF8&t=h&q=tuxtla%20gutierrez%20ochiapas%20mexico>

### **Problemas a resolver**

En la actualidad los plásticos se consideran que son más utilizados y elaborados a nivel mundial, sin embargo, son los contaminantes dañinos que afectan a nivel de suelos y océanos. El polietileno de baja densidad es generalmente utilizado para la elaboración de bolsas y algunas botellas con una producción de 500 mil millones de unidades al año que contienen este material. (Uribe, Giraldo, Gutiérrez, & Merino, 2015)

Uno de los mayores problemas es el aumento de los residuos plásticos en los basureros, las vías públicas y el océano, por lo que los residuos plásticos son desechados y manejados por nosotros mismos, el comercio en general y la industria. El tiempo que estos materiales pueden permanecer igual y ocupar el mismo volumen en el ambiente, dependiendo de la presencia de residuos orgánicos y la exposición a la luz solar, puede ser desde 20 hasta 500 años. Una de las desventajas que tienen los productos a base de polietileno de baja densidad, es que, al momento del deterioro, son desechados convirtiéndose en basura y contaminantes ambientales. (Fundación Ecología y Desarrollo (ECODES), 2019).

Herrera y Ospina, (2019) señala que el principal problema de este material es que su composición hace que el ciclo de vida se limita a un uso. Esto explica la creciente demanda y acumulación de estos materiales en vertederos y océanos. En estos vertederos y océanos, además de absorber contaminantes hidrofóbicos, también pueden liberar algunos aditivos, como el ácido ftálico, la sal, el bisfenol A y los retardantes de flama. Estos compuestos ingresan a la cadena alimentaria a través de especies marinas y aves.

Se dice que el proceso natural de degradación del polietileno de baja densidad es demasiado lento, dando un plazo de 50 a 300 años, dando a conocer que existe una producción de una gran cantidad de lixiviados y residuos contaminantes para el medio ambiente, generando un impacto significativo a nivel ambiental, especialmente en suelos; además que puede influir en la acumulación de esta clase de materiales en los rellenos sanitarios, botaderos a cielo abierto, mares y océanos. (Herrera y Ospina, 2019)

Uno de los tratamientos propuestos en la actualidad, que no generan impactos ambientales significativos, son los implementados con microorganismos, debido a que microorganismos como bacterias y hongos pueden degradar una gran cantidad de sustancias, reduciendo su carácter nocivo o incluso volviéndolas inocuas para el medio ambiente y la salud humana. (Espinoza Arias, 2018)

## Objetivos

Objetivo del proyecto:

Estado del arte de la identificación y caracterización de microorganismos degradadores de LDPE

### Objetivos específicos

- Conocer e identificar la importancia de la Biodegradación del LDPE y su impacto ambiental.
- Explorar el estado del arte del uso de los tratamientos biocorrectivos para la Biodegradación del LDPE.
- Describir los principales microorganismos que se utilizan en la biotransformación para la Biodegradación del LDPE.
- Indagar acerca de las nuevas tecnologías que aportarán soluciones en la Biodegradación del LDPE, para proponer un proyecto de investigación.

## Justificación

Una de las razones por la cual se pretende llevar a cabo este proyecto, es porque se sabe que el polietileno de baja densidad es el plástico más usado en la actualidad por su bajo costo y fácil accesibilidad. A diferencia de otros plásticos, el LDPE es un material muy difícil de reciclar, ya que es más barato fabricar una nueva bolsa que poder reciclarla, por lo cual, es un problema muy grande de contaminación; afecta suelos y mares y presenta una gran amenaza hacia la flora y la fauna.

Sabemos que se han buscado alternativas biológicas o biodegradables para sustituir los plásticos sintéticos a base de petróleo y otros materiales, sin embargo, conllevan un costo elevado de producción y comercialización, por lo cual, este producto seguirá fabricándose y desechándose como de costumbre.

Por esta razón, se plantea dar una propuesta a una posible solución para acelerar el proceso de degradación del LDPE y contribuir a la disminución de contaminación en el planeta. Existen diversos métodos para la degradación de este polímero, como la degradación por pirólisis, degradación catalítica, degradación oxidativa, entre otras. Sin embargo, son costosas o poco amigables con el medio ambiente, ya sea por liberación de gases contaminantes o porque liberan calor hacia el ambiente, lo cual solucionaría parte del problema causando otro.

Las principales razones de elegir el estudio del LDPE es que es uno de los más simples y comerciales polímeros en la industria, tiendas comerciales y negocios, por lo tanto, existe una fácil accesibilidad para encontrar este producto; otra razón es que cuenta con características que hacen posible la degradación, ya que es un material que contiene numerosas ramas en su composición, las cuales crean espacios vacíos entre las cadenas del polímero.

Se espera que el uso de microorganismos en lugar de químicos nocivos pueda romper las cadenas que forman este plástico y lograr acelerar su degradación. El siguiente proyecto busca comprobar la capacidad de descomposición y degradación de LDPE por parte de diferentes microorganismos en medios definidos, así como otras técnicas biocorrectivas.

De esta manera se realizará una comparación objetiva entre las cualidades de los microorganismos estudiados en diferentes artículos y proyectos de investigación, a fin de determinar cuáles son los más aptos para ser introducidos en un medio controlado de pruebas de laboratorio, dentro del Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez.



## Marco teórico

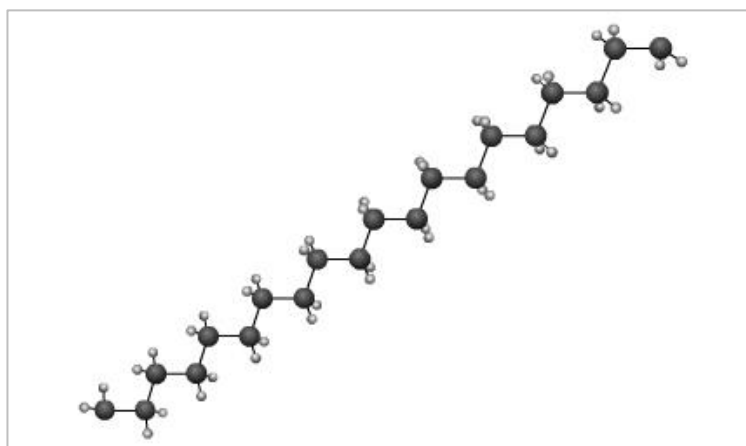
### 1.- Polietileno

El polietileno es un polímero sintético termoplástico que consiste en largas cadenas de hidrocarburos. El polímero se clasifica de acuerdo con la diferencia de densidades, los más conocidos son el polietileno de alta densidad (HDPE por sus siglas en inglés, High Density PolyEthylene) y el polietileno de baja densidad (LDPE por sus siglas en inglés, Low Density PolyEthylene).

El polietileno de baja densidad es un polímero de la familia de olefínicos, como el polipropileno, siendo un termoplástico conformado por unidades repetitivas de etileno. Como el resto de los termoplásticos, el LDPE puede reciclarse. (Sánchez, L. 2018).

#### Figura 1

*Estructura del polietileno, donde las esferas de color negro representan los carbonos y las esferas de color blanco representan los hidrógenos.*



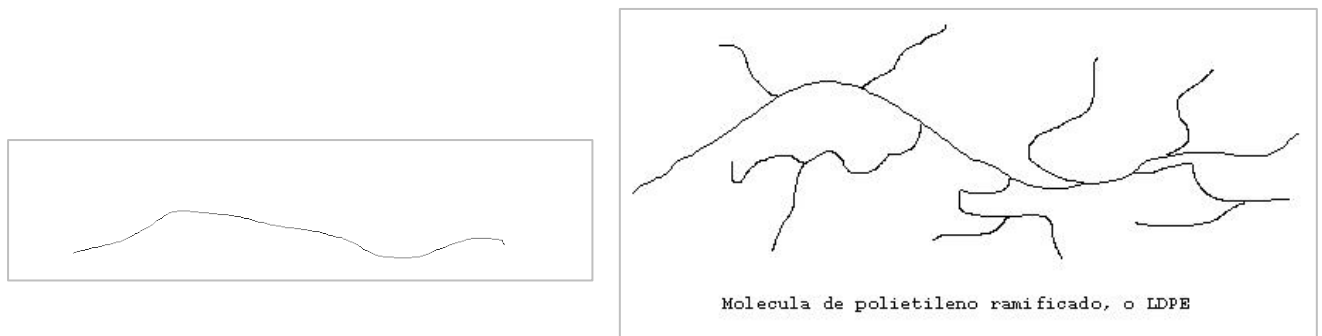
*Nota.* Adaptado de *Polietileno de baja densidad* [Fotografía], por Universidad de Barcelona, ub.edu. <http://www.ub.edu/cmematerials/es/content/polietileno-de-baja-densidad>.

Las propiedades físicas de este polímero son índice refractivo (1.57) y baja densidad (0.917 - 0.932 g/cm<sup>3</sup>), en comparación de con otros polímeros, como por ejemplo el poliestireno (densidad 1.04 - 1.05 g/cm<sup>3</sup> e índice refractivo 1.58 - 1.59). Además, el LDPE es un polímero inflamable en presencia de una fuente externa de calor. Estas características son aprovechadas en la elaboración de productos plásticos como bolsas delgadas y resistentes. Por otro lado, la propiedad química principal del LDPE es la resistencia química ante ácidos diluidos, álcalis, alcoholes y cetonas, y son vulnerables ante halógenos e hidrocarburos aromáticos. (Blogspot, 2011).

A diferencia de los demás polímeros, el polietileno varía su densidad al cambia la longitud de la cadena que lo forma (ver Fig.3), así un polietileno de baja densidad contiene numerosas ramas de diferentes longitudes que crean espacios vacíos entre las cadenas del polímero. Como se explicó en el apartado anterior, el espacio entre las cadenas del polímero es una característica beneficiosa para la degradación y reciclaje.

### Figura 3

*Diferencias de las estructuras del polietileno de alta densidad y polietileno de baja densidad, del lado izquierdo se observa la molécula lineal del polietileno (HDPE) y del lado derecho la molécula ramificada del polietileno (LDPE).*



*Nota.* Adaptado de *Polietileno de baja densidad*

[Fotografía], por Tecnología de los plásticos, 2011, Tecnología de los plásticos blogspot.

<https://tecnologiadelosplasticos.blogspot.com/2011/06/polietileno-de-baja-densidad.html>

El polietileno de baja densidad se utiliza en productos de uso común, por ejemplo: bolsas de plástico de supermercado, plásticos para cocina, bolsas de basura, entre otros productos de uso común. A diferencia de otros desechos, como por ejemplo el PET, que se encuentra en las botellas de refresco, de agua, en envases de aceite y de jabón. Sin embargo, las organizaciones y compañías encargadas del reciclaje no recolectan LDPE, debido a que este material es mayormente usado para desechar la basura, lo cual hace más largo el proceso ya que se tiene que limpiar, también tienen en cuenta la resistencia y el LDPE es menos resistente ante agentes externos a comparación del PET. Por lo tanto, se deben buscar alternativas para el control de contaminación proveniente de los desechos del LDPE.

Por ejemplo, una botella de jugo o una lata de refresco son fácilmente compradas por personas que se encargan de reciclar el material PET o aluminio de la lata de refresco, pero una bolsa de la tienda o la bolsa de verdura del supermercado se tira a la basura sin pensar en su reciclaje.

Una de las alternativas que se han presentado, son los bioplásticos fabricados de materiales biodegradables y biocompostables, como son el almidón proveniente de a cascara

de plátano, de la papa y semilla del aguacate, entre otros. Sin embargo, la fabricación de estos productos biocompostables son de un alto costo de producción y no soluciona el uso excesivo del LDPE. Por lo tanto, la biodegradación del LDPE es fundamental para disminuir la contaminación provocada por los desechos. (Salgado Garciglia, 2014).

De acuerdo con la publicación de Ortiz Hernández y colaboradores (2013), el principal problema de contaminación es debido a los plásticos. A nivel mundial se calcula 25 millones de toneladas de plásticos se acumulan en el ambiente cada año y pueden permanecer inalterables por un periodo de entre 100 y 500 años, por qué su degradación es muy lenta y consiste principalmente en su fragmentación en partículas más pequeñas.

Debido al alto consumo y a la gran contaminación que provoca el LDPE, ya que no es un material que se degrade rápido (150 años, tiempo de degradación promedio), por lo tanto, se han buscado varios métodos para acelerar el proceso de degradación del LDPE. (Reciclajes Avi, 2020).

### **1.1.- ¿Dónde Contamina el Polietileno de Baja Densidad?**

Rivas, M y Garelli, O. (2021) explicaron que, los plásticos de un solo uso están por todas partes, los vemos en las calles de nuestras ciudades, bloqueando las alcantarillas, pero también en los rincones más lejanos y prístinos de nuestro planeta. Desde el hielo del Ártico en el polo norte, hasta la Fosa de las Marianas, una de las zonas más profundas del océano; desde el agua de lluvia hasta los cuerpos de las especies marinas que se alimentan de ellos, los plásticos inundan nuestros ecosistemas.

¿Cómo se explica la invasión plástica? Los plásticos pueden recorrer largas distancias y transportarse de las zonas urbanas, donde generamos mayores cantidades de residuos, hasta nuestros océanos, a través del viento, el agua de lluvia, los ríos, por los drenajes, por acción directa de las personas (como cuando arrojamamos basura en las playas),etc.

Una vez en la naturaleza, los plásticos representan una grave amenaza para los ecosistemas y para todas las especies que habitamos el Planeta no importa donde se produzcan o donde se consuman. Por lo tanto, México no es ajeno a esta realidad.

### **1.2.- ¿Qué lo hace característico?**

Si bien el polietileno de alta densidad tiene una gran rigidez y resistencia, el punto fuerte del polietileno de baja densidad es, sin duda, su flexibilidad, pero también tiene otras cualidades como una excelente resistencia al impacto o a sustancias químicas. Hablamos de un material de color lechoso que, dependiendo de su espesor, puede llegar a ser prácticamente transparente. Esto hace que sea difícil imprimir, pintar o pegar sobre él. En cambio, este material es muy fácil de procesar.

Como es un material muy flexible, también es ideal para fabricar bolsas y sacos de plástico (tanto de supermercado como de basura) así como para la elaboración de film transparente, tanto doméstico como industrial. Otros objetos en los que podemos encontrar el polietileno de baja densidad pueden ser tuberías, juguetes, cables, envases y tapones de plástico, cartones de leche (como una de las capas aislantes), envases para detergentes, piezas de automóvil, otros productos químicos, etc. (ECOEMBES, 2021)

**1.3.- ¿Cómo se Recicla el Polietileno de Baja Densidad?** Según la organización medioambiental ECOEMBES (2021), si depositamos en un contenedor especial, (que no existe en la mayor parte del país) una bolsa de alimentos hecha de LDPE, esta llegará en primer lugar a una planta de selección de envases donde separarán el film de otros materiales.

Mediante un proceso de aspiración separan el film de otros materiales, con el fin de obtener un flujo de film. A partir de este momento, la bolsa de polietileno de baja densidad se incorpora al flujo de film para enviar después este material ya seleccionado a una planta de reciclado. Este paquete de plásticos es enviado en una cinta, donde se realiza una selección y clasificación, para obtener un flujo específico de PEBD que será triturado a continuación.

Este triturado pasa por un lavado donde el material (menos denso que el agua) se separa por flotación de las impurezas, eliminando el papel, etiquetas, pegamento o restos de otros plásticos que pudiera contener. A continuación, se eliminará la humedad y el agua a través de un secado por presión. Posteriormente, pasará al proceso de extrusión y granceado, donde el triturado se filtra y se obtiene la granza.

Este es el producto final del proceso de reciclado y futura materia prima reciclada y sostenible para sustituir al plástico virgen. Una vez obtenida la granza, se homogeniza por islotes para dar una mayor estabilidad al producto. Finalmente se procede a su envasado y almacenamiento. En los laboratorios de las empresas de reciclado se realizan exhaustivos controles, que garantizan que el producto puede usarse en la fabricación de nuevos artículos, enviándose siempre con su ficha técnica y de seguridad.

El LDPE se procesa también se procesa por los métodos de conformado, como son el moldeo por inyección y extrusión. Al fundir rápidamente con el calor, se puede moldear repetidas veces sin que sus propiedades originales se alteren demasiado, pero lo hacen. Por ello no se puede reciclar más de 6 ó 7 veces, ya que durante los distintos ciclos de reprocesado va sufriendo modificaciones.

## **2.- Métodos de Degradación para LDPE**

En este apartado se explican diversos métodos de degradación para el LDPE.

### **2.1.- Pirólisis**

Una manera química de degradar el LDPE es a través de la pirolisis. En el procedimiento de degradación por pirolisis se emplea una antorcha de plasma con altas temperaturas (325°C – 850°C) en un ambiente que carezca de oxígeno. En pocas palabras el método consiste en la descomposición química del LDPE en ausencia de oxígeno, (Acuña Molina, N.R. 2017).

El producto resultante de la reacción pirolítica del LDPE da lugar a la formación de sólidos carbonosos. Por ejemplo: el pirocarbono, carbono pirolítico y carbonilla (en fase gaseosa). Las reacciones se explican con más detalles en el trabajo de Alonso Morales y colaboradores (2008).

Las desventajas que este método presentan es un alto costo debido al consumo de energía que se utiliza al calentar a diferentes temperaturas y a la liberación de gases contaminantes al medio ambiente, como dióxido de carbono, monóxido de carbono, etileno, benceno, metano, entre otros, (Acuña Molina, 2017).

### **2.2.- Degradación Catalítica**

Este método es la degradación del LDPE haciendo uso de catalizadores, los cuales incrementan la velocidad de degradación. Investigadores como Ling Zan y colaboradores (2006) han llevado a cabo estudios de degradación del LDPE usando TiO<sub>2</sub> para formar nanocompuestos haciendo que sea más susceptible la degradación fotocatalítica del polímero. Por medio de esta técnica de degradación catalítica se obtiene un porcentaje alto de polímero degradado, sin embargo, esto depende de la temperatura y del catalizador empleado.

Posada Bustamante, B. (2012) señala que en algunos casos la degradación por este método puede ser completa, pero los solventes empleados en la degradación a menudo tienen una solubilidad limitada en el polímero (por ejemplo: la acetona). Además, cuando el polímero se tiene en grandes concentraciones la degradación no puede terminarse siendo un método no escalable linealmente.

**2.3.- Degradación Oxidativa.** La degradación oxidativa consiste en utilizar la luz y la temperatura provocando el deterioro de las propiedades mecánicas generando fragmentación del polímero. Para lograr una mejor degradación oxidativa en los plásticos se agregan aditivos oxo (por ejemplo: esteres de metales como el Hierro, Cromo, Manganeso, entre otros) en las cadenas del polímero para facilitar la degradación térmica industrial y la reutilización de los plásticos. Sin embargo, el reciclaje industrial, así como los planes de reciclado posconsumo, pueden no estar preparados para aceptar productos que contengan estos aditivos. (Ramírez Hernández, A. 2010).

**2.4.-Degradación Microbiana.** Investigadores como Aurelio Ramírez (2010) han observado que existe una gran variedad de microorganismos capaces de degradar los plásticos. El crecimiento de microorganismos depende de condiciones como pH, temperatura, humedad, y capacidad de adaptarse a diferentes fuentes de carbono al utilizarlos como sustrato.

Según el trabajo de investigación de Espinoza Arias y colaboradores (2018), el método consiste en la obtención de las muestras LDPE, las cuales pasan por un proceso de esterilización para eliminar cualquier agente externo, se pesa y se registra la masa de cada muestra; seguido de eso, las muestras se inoculan en cajas Petri con los hongos inoculados previamente; finalmente se tapan y se llevan a almacenamiento para su incubación. Una vez cumplido el intervalo de tiempo propuesto se realiza un lavado minucioso de cada muestra con agua destilada y se consideran aptas para ser sometidas a ensayos de análisis y caracterización, dichos métodos son pérdida en peso y Espectroscopía Infrarroja por Transformadas de Fourier.

### **3.- Hongos y Bacterias**

#### **3.1.- Hongos**

Los hongos constituyen un grupo de organismos eucariotas entre los que se encuentran los mohos, las levaduras y las setas. Estos microorganismos se clasifican en un reino distinto al de las plantas y bacterias, y esto se debe en gran parte, a que tienen características diferentes las cuales son que cuentan con paredes celulares compuestas por quitina, diferenciándose de las plantas, contienen celulosa. (Musto, A. 2013).

La forma de alimentación de los hongos es mediante la secreción de enzimas extracelulares que digieren compuestos orgánicos complejos, como polisacáridos y proteínas, en sus monómeros constituyentes, como azúcares, péptidos, aminoácidos y

demás. Estos compuestos son adsorbidos por la célula fúngica como fuentes de carbono, energía y otros nutrientes

La morfología de los hongos es principalmente bajo dos formas, las cuales son: hongos filamentosos y hongos levaduriformes (levaduras). Estos se diferencian en que los hongos filamentosos cuentan con un cuerpo que tiene dos porciones una reproductiva y otra vegetativa. La parte vegetativa está compuesta por filamentos llamados hifa, usualmente divididas por tabiques llamados septos, y el conjunto de éstas conforma el micelio del hongo.

Las nuevas hifas se forman normalmente por la aparición de nuevos ápices a lo largo de hifas preexistentes por la bifurcación del extremo apical de las hifas, dando lugar a dos hifas con crecimiento paralelo. Y las levaduras son siempre unicelulares, de forma circular. No existen en ellas una distinción entre cuerpo vegetativo y reproductivo.

Muñoz Malajovich (2015) describe que los hongos y sus esporas se encuentran en diversas condiciones ambientales. La recolección, asilamiento y cultivo no representan por tanto dificultades. Los hongos se pueden mantener y crecer en el laboratorio de las siguientes maneras:

- En el sustrato original como, por ejemplo: pan, hojas, frutas en descomposición, etc.
- En medios de cultivo, los cuales pueden conseguirse ya preparados en compañías especializadas

### **3.2.- Bacterias**

Las bacterias son organismos microscópicos unicelulares. Se encuentran entre las formas de vida más antiguas conocidas en el planeta. Hay miles de tipos de bacterias diferentes y pueden vivir en todos los medios y ambientes imaginables, en cualquier parte del mundo. Viven en el suelo, en el agua del mar y en las profundidades de la corteza terrestre.

Se ha podido comprobar que ciertas bacterias pueden vivir, incluso, en los desechos radiactivos. Las bacterias son microorganismos unicelulares que se reproducen por fisión binaria. La mayoría son de vida libre, a excepción de algunas que son de vida intracelular obligada, como Chlamydias y Rickettsias. Tienen los mecanismos productores de energía y el material genético necesarios para su desarrollo y crecimiento. (Pírez y Mota, M. 2020).

Como se menciona en el trabajo de (Pírez y Mota, M. 2020), las bacterias se clasifican de varias maneras:

Nombres científicos: las bacterias, al igual que otros seres vivos, se clasifican por género (basado en la existencia de una o varias características comunes) y, dentro del género, por especie. Su nombre científico se compone del nombre del género seguido por el de la especie a la que pertenecen (por ejemplo, *Clostridium botulinum*). Dentro de una especie, puede haber diferentes tipos, denominados cepas. Las cepas difieren en su

composición genética y en sus componentes químicos. En ocasiones, ciertos medicamentos y vacunas solo son efectivos frente a determinadas cepas.

**Tinción:** las bacterias pueden ser clasificadas por el color que adquieren después de que se les apliquen ciertos productos químicos (tinciones). La tinción de Gram es un proceso de tinción comúnmente utilizado. Algunas bacterias se tiñen de azul, por lo que se denominan grampositivas. Otras se tiñen de color rojo son las gramnegativas. Las bacterias grampositivas y las gramnegativas se tiñen de forma distinta porque sus paredes celulares son diferentes. También causan diferentes tipos de infecciones, y hay distintos tipos de antibióticos eficaces contra ellas.

**Formas:** todas las bacterias se pueden clasificar en una de las tres formas básicas: esferas (cocos), bastones (bacilos) y espirales o hélices (espiroquetas).

**Necesidad de oxígeno:** las bacterias también se clasifican en dos grupos, según si necesitan oxígeno para vivir y crecer o no les es necesario. Las que necesitan oxígeno se denominan aerobias, y las que tienen problemas para vivir o crecer en presencia de oxígeno se denominan anaerobias. Algunas bacterias, llamadas bacterias facultativas, pueden vivir y crecer con o sin oxígeno.

**Composición genética:** pruebas especializadas que permiten determinar diferencias en la composición genética (genotipo) de las bacterias.

## **4.- Microorganismos Degradadores de Plástico**

### **4.1.- Géneros de Hongos con Capacidad Biodegradadora de Polietileno**

#### **4.1.1.- *Aspergillus sp.***

Hongos filamentosos que se reproducen mediante esporas asexuales llamadas conidios, en los inicios del crecimiento fúngico, ciertas células del micelio vegetativo se agrandan y forman una pared gruesa. El lugar donde las esporas o conidios se producen, denominado esporangio o conidióforo, tiene una morfología similar al abanico que forman los dispositivos de riego por aspersión (Carrascosa, 2011).

**4.1.1.1.- Clasificación y Morfología.** La clasificación de las especies del género *Aspergillus* ha sido dividido en 18 grupos, con 132 especies. (Moreno Martínez y Benavides Ocampo, 1988). División: *Ascomycota*, subdivisión: *Deuteromycota*, clase: *Eurotiomycetes*, orden: *Eurotiales*, familia: *Trichocomaceae*, género: *Aspergillus* (Forbes, 2009).

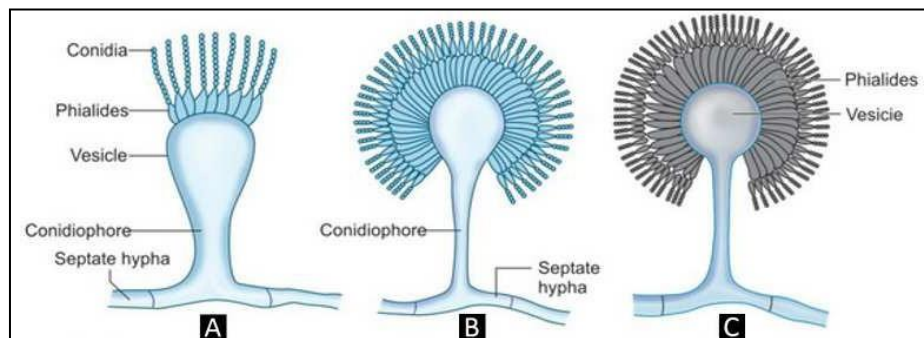


**4.1.1.2.- Características Macroscópicas de los Aislados Fúngicos.** Las colonias se desarrollan de forma rápida entre 3-5 días con un margen exterior distintivo, con una zona blanca de crecimiento nuevo y presentan diversas tonalidades: blanquecinas, amarillentas, marrón-amarillentas, negruzcas, marrón-negruzcas o verdosas. A medida que se producen los conidios durante la maduración, la superficie de las colonias adquiere una consistencia azucarada o granular (Soriano del Castillo, 2007).

**4.1.1.3.- Características Microscópicas.** Presentan hifas septadas de las cuales surgen conidióforos que terminan en vesículas de forma tubular o globular. De la vesícula, brotan proyecciones en forma de dedos de las células productoras de conidios llamadas filídes o esterigmas (Sankar Sastry y Sandhya K, 2017).

**Figura 4**

*Estructura reproductiva y sus partes*



Nota. Adaptado de *Estructura reproductiva y sus partes* [Fotografía], por (Sankar Sastry & Sandhya K, 2017).

#### **4.1.2.- *Trichoderma sp.***

Género *Deuteromicetos* que viven en asociación con numerosas plantas, entran en contacto con las raíces y las cubren con su micelio formando una barrera que las protege de la actividad de algunos hongos patógenos (Liñán Carral, 2015).

Es cosmopolita en suelos, madera en descomposición y materia vegetal, las especies de *Trichoderma* son frecuentemente componentes dominantes de la microflora del suelo, capacidad atribuida a su diversa actividad metabólica y a su naturaleza agresivamente competitiva (Harman y Kubicek, 1998).

#### 4.1.2.1.- Clasificación y Morfología.

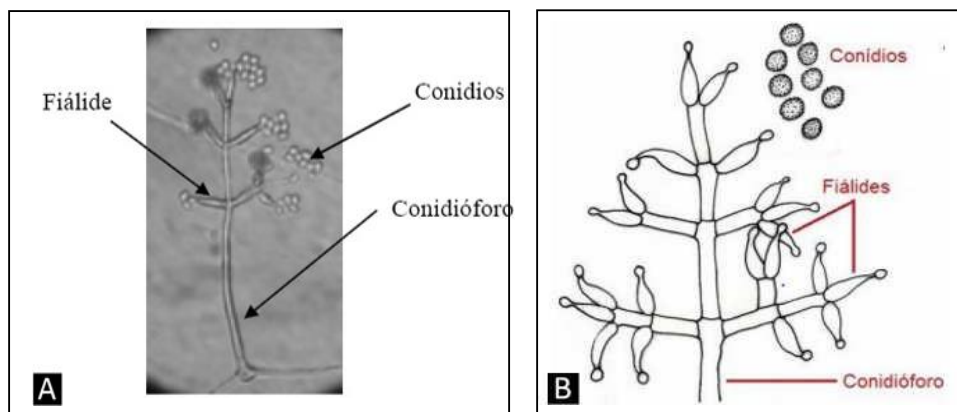
Comprende un conjunto de especies sin fase sexual evidente ubicados en la Subdivisión: *Deuteromycota*, Clase: *Hypomycetes*, Orden: *Hifales* (Moniliales) y Género: *Trichoderma* (Martínez et al, 2015).

**4.1.2.2.- Características Macroscópicas.** Este género crece formando colonias blancas que simulan una película sobre el medio según lo indicado por (Arias y Piñeros, 2008). En cepas diferentes se observa en el medio una pigmentación de colonias verdes después de la incubación durante 5 días. Las colonias presentan un crecimiento de 5 a 8 cm en el medio de cultivo Agar papa-dextrosa en 5 días de crecimiento a 26°C, se puede observar la formación de pústulas algodonosas de un color blanco, algunas cepas no presentan el olor característico a coco (Acurio R. et al., 2017).

**4.1.2.3.- Características Microscópicas.** Las hifas que llevan las esporas o conidióforos son ramificadas (González, 2019). Los conidióforos muestran ramas laterales pareadas las mismas que forman un ángulo de casi 90° con respecto al eje de donde surgen, las fiálide presentan una forma alargada, algo anchas en el centro y con un cuello alargado de color hialino en forma de botella, en algunas observaciones las conidias se presentan incrustadas en las fiálide a manera de un racimo globoso bien definido, algo que se puede comparar con mayor exactitud son las ramas o brazos, las ramas o brazos que se encuentran más cercanas al eje principal son más largas que las ramificaciones secundarias (Acurio Ramiro et al., 2017). En otros análisis las conidias se muestran muy derramadas al observarlas al microscopio.

**Figura 5**

Estructuras características de *Trichoderma harzianum* (A) y *Trichoderma* sp. (B).



Nota. Adaptado de *Estructuras características del género Trichoderma* [Fotografía], por (Martínez, González, y Reyes, 2009).

#### **4.1.3.- *Fusarium sp.***

Es un género fúngico incluido dentro de la Clase: *Hyphomycetes* (subdivisión: *Deuteromycota*) que produce macroconidios, microconidios y clamidosporas, considerándose estas últimas como las esporas más resistentes. Las especies de *Fusarium sp* comprenden especies patógenas, parásitas y saprófitas y pueden estar presentes en todas las partes vegetativas y reproductivas de las plantas (Suárez Estrella, 2002).

##### **4.1.3.1.- Clasificación y Morfología**

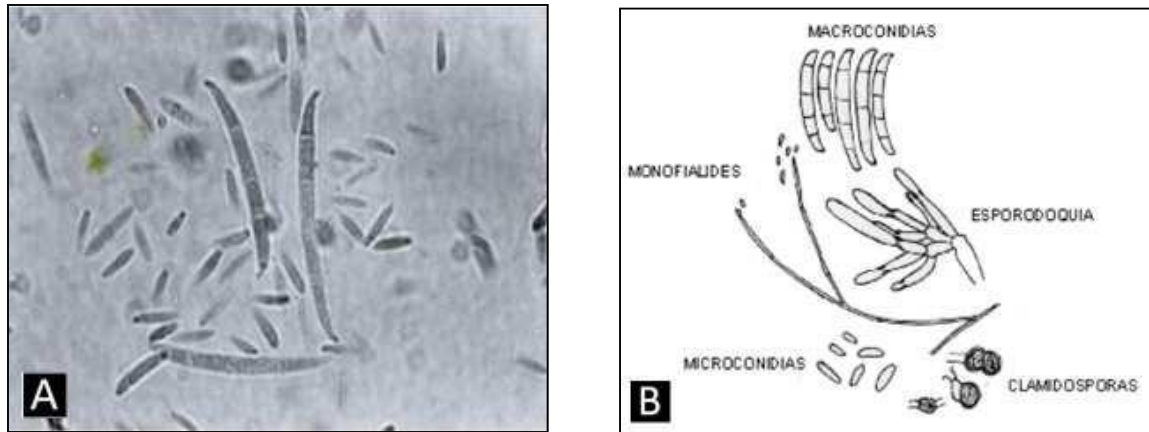
El género pertenece al filo: *Ascomycota*, clase: *Ascomycetes*, orden: *Hypocreales*, mientras que los teleomorfos de las especies *Fusarium sp*, se clasifican principalmente en el género *Gibberella*, y para un número menor de especies, los géneros *Hemanectria* y *Albonectria* (Moretti, 2009).

**4.1.3.2.- Características Macroscópicas.** Las colonias se muestran con una variedad de colores basados en la pigmentación de conidios, siendo los tonos de rojo los más frecuentemente observados en el cultivo para identificar *F. solani* (Powers-fletcher et al., 2015). El crecimiento de colonias es de apariencia algodonosa y de color blanquecino-rosado en los primeros estados de desarrollo para *Oxysporum*, en forma que avanza el crecimiento el micelio desarrolla un color púrpura en el centro de la caja Petri y por el reverso de la caja se observa un color morado oscuro y menos claro a los costados. El crecimiento algodonoso y el tamaño de la colonia está dentro de los 3 a 5 cm de diámetro (Pauca Ortiz, 2016).

**4.1.3.3.- Características Microscópicas.** En este género presentan la forma típica de los macroconidios, aunque con algunas diferencias entre ellos, puesto que unos son un poco más cortos y otros menos curvos. El rasgo principal es la aparición de esporas asexuales, los distintivos macroconidios en forma de plátano, las especies de *Fusarium sp* producen tres tipos de esporas: macroconidios, microconidios y clamidosporas (Moretti, 2009).

#### **Figura 6**

*Macroconidias y microconidias de Fusarium oxysporum (A) y estructuras características de Fusarium sp (B).*



Nota. Adaptado de *Fusarium: Estructura y características* [Fotografía], por Icochea, (1997).

#### 4.1.4.- *Penicillium* sp.

Son considerados como contaminantes habituales de diferentes sustratos y pueden presentar la capacidad de producir diversas micotoxinas. La mayoría de las especies se las considera saprofitas, existiendo pocas que se aíslan rutinariamente como patógenas oportunistas (Soriano del Castillo, 2007).

##### 4.1.4.1.- Clasificación y Morfología.

División: *Eumycota*, Subdivisión: *Ascomycota*, Clase: *Plectomicetos*, Orden: *Eurotiales*, Familia: *Aspergillaceae*, Género: *Penicillium* (Margaret & Angela, 2008).

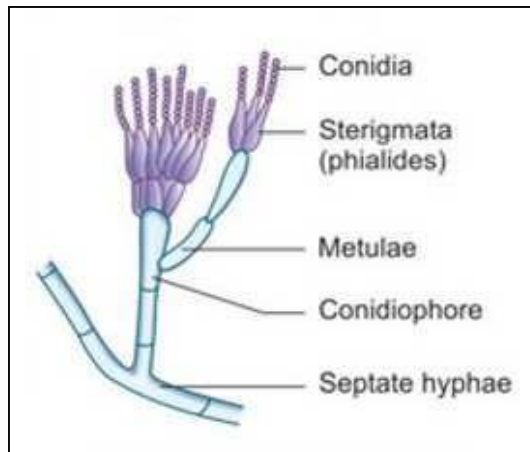
**4.1.4.2.- Características Macroscópicas.** Las colonias se desarrollan rápidamente y en su mayoría son de color verde, azul verdoso, gris verde, blanco, amarillo o rosa. El reverso es amarillo, marrón claro o rojo y la superficie es pulverulenta (Sciortino Jr., 2017).

**4.1.4.3.- Características Microscópicas.** El tipo de micelio es macrosifonado, es decir el micelio presenta un diámetro mayor a 1  $\mu\text{m}$  y varía entre los 2-4  $\mu\text{m}$ , además, es septado y hialino. La mayoría de las especies son mitospóricas; sin embargo, hay reportes de algunas formas ascosporadas (Bonifaz, 2012).

Las colonias revelan hifas septadas delgadas hialinas, las vesículas están ausentes y el conidióforo se divide directamente en mótulas alargadas, de las cuales se originan los fiálides que llevan una cadena de conidios (Sankar Sastry & Sandhya K, 2017).

#### Figura 7

*Estructura esquemática de Penicillium* sp.



Nota. Adaptado de *Morfología de Penicillium sp.* [Fotografía], por (Sankar Sastry & Sandhya K, 2017)

#### **4.1.5.- *Mucor sp.***

##### **4.1.5.1.- Características Macroscópicas**

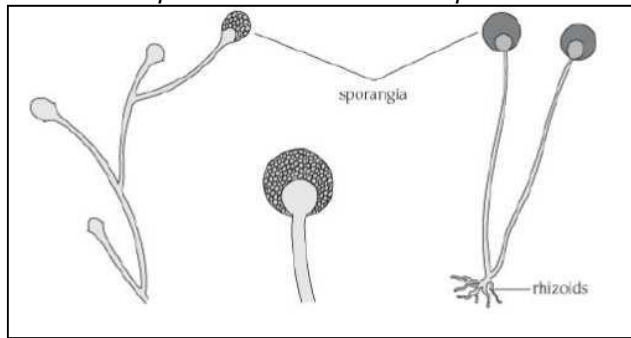
Posee un tamaño ilimitado que tiende a llenar las cajas Petri; el color en un inicio presenta una tonalidad blanca para posteriormente tomar una tonalidad blanco-grisácea; la forma y el aspecto varía entre una textura vellosa, algodonosa, y seca; y así mismo no presenta pigmentos (Bonifaz, 2012).

**4.1.5.2.- Clasificación y Morfología.** División: *Eumycota*, Subdivisión: *Zygomycotina*, Clase: *Zygomycetes*, Orden: *Mucorales*, Familia: *Mucoraceae*, Género: *Mucor* (Margaret & Angela, 2008)

**4.1.5.3.- Características Microscópicas.** Las diferentes especies de hongos en este grupo se distinguen entre sí por los esporangióforos, esporangios y esporangiosporas, así como por la presencia o ausencia de rizoides que anclan los esporangióforos al sustrato (figura 8). Además, estos organismos tienen hifas grandes, aseptadas o casi septadas (Warnock et al., 2013)

**Figura 8**

*Estructuras representativas de Mucor sp.*



Nota. Adaptado de *Morfología de Mucor sp.* [Fotografía], por (Warnock et al., 2013).

## 5.- Factores Ambientales que Intervienen en la Biodegradación

Es importante tener en cuenta que la biodegradación depende de varios factores como las características del plástico, tipo de microorganismo y la fase de pretratamiento. Espinoza (2008), Figura 9, mencionan que la biodegradabilidad de los polímeros está determinada esencialmente por diferentes e importantes características físicas y químicas como: la disponibilidad de grupos funcionales que aumentan las propiedades hidrofílicas, forma, peso, peso molecular, densidad del plástico, cantidad de regiones amorfas y cristalinas del polímero, de igual forma Shabbir et al., (2020) menciona la complejidad estructural del plástico, composición molecular, presencia de grupos fácilmente fragmentables como los grupos éster o amidas como lo menciona Zheng et al. (2005).

**Figura 9**

*Mecanismo de la biodegradación de los plásticos*



Nota. Adaptado de *Mecanismo de la biodegradación de los plásticos* [Fotografía] por (Espinoza Arias et al., 2008)

### 5.1.- Humedad

El contenido de humedad en el sustrato tiene un efecto directo en el crecimiento de los microorganismos. La presencia de la humedad se clasifica en dos categorías: ambientes acuáticos y ambientes sólidos o secos. La degradación del polietileno de baja densidad por *Pycnoporus sanguineus* mostró un crecimiento más rápido y de forma intensa en el sustrato compuesto por 67% de polímero y 33% a 22% en presencia de mayor humedad (Acuña, 2017).

## 5.2.- pH

En la degradación, el pH varía entre 6 a 8; sin embargo, en algunas bacterias presentan amplios rangos de tolerancia de cambio de pH de 5 a 10 con tolerancias a cambios de pH bajo y alto (Acuña, 2017). El efecto del pH en el medio, este factor es uno de los indicadores del proceso de biorremediación y aunque las *pseudomonas* pueden adaptarse fácilmente a condiciones extremas, estas cepas microbianas tienen un determinado rango de tolerancia.

**5.3.- Temperatura.** La temperatura más apropiada es variable según al tipo de especie bacteriana que puede fluctuar entre 28 a 55 °C (Acuña, 2017) en el grupo del tipo termófilico. El efecto de la temperatura de desarrollo de las *pseudomonas* corresponde a los valores de los 2 °C hasta 55 °C en general, las bacterias termofílicas como las *Streptomyces coelicoflavus* soportan variaciones de temperaturas de 12 a 42 °C; no obstante, la temperatura óptima que observaron fue de  $28 \pm 2$  °C. Por otro lado, para *Pseudomonas putida* determinaron que la temperatura óptima de desarrollo es de 37 °C; además, Yang et al., (2020) afirman que *Pseudomonas sp.* es euritéricos, es decir, que estos son capaces de adaptarse a los cambios, lo cual hace que estas bacterias, sean las mejores alternativas para la aplicación de biodegradación en diferentes condiciones ambientales de temperatura.



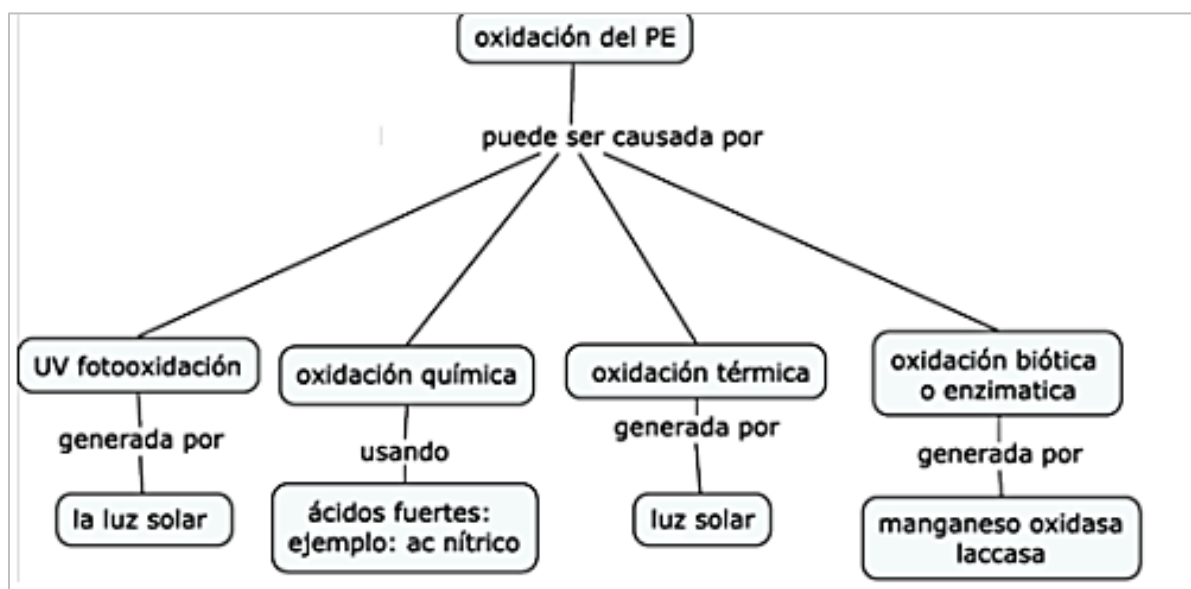
## 6.- Iniciadores y Aceleradores del Proceso de Biodegradación

### 6.1.- Degradación Abiótica

La mineralización del polietileno inicia con una degradación abiótica u oxidación (ver Figura 10), que es causada por el medio ambiente, principalmente por la luz y las condiciones del entorno, tales como el pH, la salinidad, la disponibilidad de oxígeno, el estrés físico, la humedad, la temperatura, etc. (A. G. D. M. S. D. V. B. P. Swapnil K. Kale, 2015). Facilitando el posterior ataque microbiano, a continuación, se mencionará brevemente los más importantes.

**Figura 10**

*Iniciadores de la oxidación del PE*



*Nota.* Adaptado de *Iniciadores de la oxidación del PE* [Fotografía], Acuña Molina, N.R., 2017.

### 6.2.- Fotólisis

El LDPE es un polímero de baja degradabilidad porque está principalmente compuesto de enlaces C–C and C–H ( $\sigma$  enlaces) cuya energía de enlace es del orden de 300–600 kJ/mol. El principio de degradación establece que la cantidad de energía absorbida por una molécula debe exceder la energía de enlace. La energía de la radiación UV-A no es suficiente para romper los enlaces químicos del LDPE y causar la degradación del polímero.

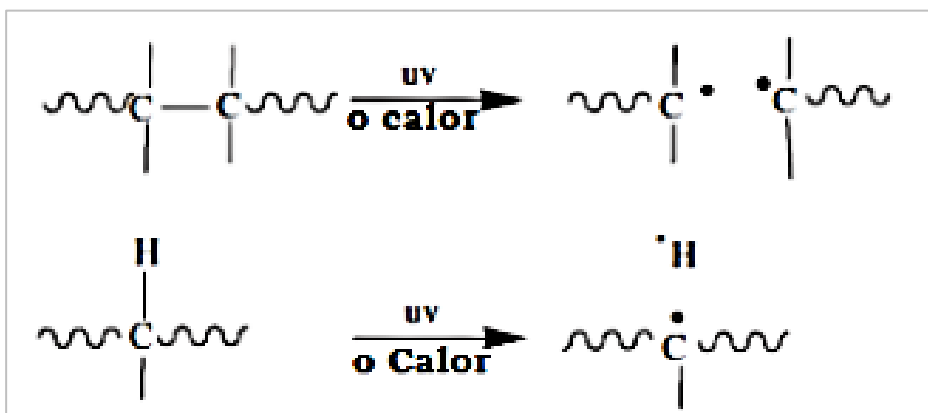
La radiación UVB (320-280) es particularmente eficiente en causar foto daño al LDPE y polímeros sintéticos. La radiación UV-C tiene energía suficiente para romper los enlaces  $\sigma$ , pero

la que es emitida por el sol es absorbida por la atmosfera y no alcanza la Superficie de la tierra. (Martínez Romo, C.A., 2015).

De acuerdo a Baljit Singh y Nisha Sharma (2008), la radiación UV-B cercana de la luz solar (290nm) posee la energía suficiente para romper los enlaces C-C 375 kJ/mol y C-H 420 kJ/mol del LDPE los cuales son equivalentes a una radiación UV-B de 320nm y 290nm respectivamente, el proceso conduce a la formación de radicales libres. (Ver Figura 11).

**Figura 11**

*Mecanismo de ruptura hemolítica o fotólisis*



*Nota.* Adaptado de *Mecanismo de ruptura hemolítica o fotólisis* [Fotografía], Acuña Molina, N.R., 2017.

**6.3.- Oxidación Térmica.** Baljit Singh y Nisha Sharma (2008) explican que al igual que en la fotólisis, la termo degradación produce radicales libres que atacan el polímero, pero en la oxidación térmica el ataque ocurre al azar y no en los extremos terminales tal como ocurre durante la fotólisis, por ello la termo degradación puede empezar tanto en el interior como en la superficie, haciendo que el proceso sea más rápido, debido a que el LDPE es un polímero de adición (por radicales libres), el mecanismo de despolimerización corresponde al inverso de la polimerización y ocurre rápidamente a temperaturas de 200°C o mayores.

**6.4.- Oxidación Mecanoquímica.** Los agentes oxidantes como el ozono, el oxígeno o con ácido nítrico atacan las cadenas generando radicales libres, comprobado por Yamada-Onodera (2014), hay estudios que indican que cuando el material es sujeto a estrés mecánico como: rotura, molido, rasgado y estirado se generan radicales libres y para demostrarlo se utilizó la espectroscopia de espín electrónico.

## **7.- Normatividad**

### **7.1.- Normas Mexicanas Oficiales**

Actualmente no existen normas acerca de los límites permisibles de los contaminantes de LDPE, pero sí algunos proyectos de normas e iniciativas de proyectos para reformar leyes relacionadas a este plástico. Uno de los proyectos que pretende convertirse en una norma oficial según la SEMARNAT se trata del PROYECTO de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-161-SEMARNAT-2011, que establece los criterios para clasificar a los residuos de manejo especial y determinar cuáles están sujetos a plan de manejo; el listado de los mismos, el procedimiento para la inclusión o exclusión a dicho listado; así como los elementos y procedimientos para la formulación de los planes de manejo.

Este proyecto de norma menciona que gran parte de los residuos que se generan en los procesos industriales, ya sea como subproductos no deseados o como productos fuera de especificación, son Residuos de Manejo Especial; incorporados a tales residuos de procesos, se generan residuos derivados del consumo de las demás áreas que forman parte de las instalaciones industriales, como oficinas, comedores, centros comerciales, etc. los cuales por sus características se consideran como Residuos Sólidos Urbanos, pero que por sus volúmenes de generación (superiores a 27.3 kilogramos por día o 10 toneladas por año), pueden requerir ser manejados como Residuos de Manejo Especial.

Refiriéndonos a la última etapa del manejo de residuos, se determina que al recibir en los sitios de disposición final una gran cantidad de Residuos de Manejo Especial, se provoca que éstos se acumulen rápidamente junto con los Sólidos Urbanos y en un tiempo menor al proyectado termine la vida útil de dichos sitios de disposición, además de traer como consecuencias el deterioro al medio ambiente afectando negativamente a: la calidad del aire (por la quema de residuos plásticos, papel, cartón, maderas, textiles, etc.); contaminación de los suelos y acuíferos (por la excesiva producción de lixiviados con sus respectivos componentes tóxicos); y afectaciones a la salud (por la proliferación de vectores y fauna nociva).

Por lo que el objetivo primordial que se persigue con la presente Norma es el de controlar y reducir significativamente cada una de las problemáticas vistas en los puntos anteriores, mediante la elaboración, desarrollo y aplicación de los Planes de Manejo para los Residuos de Manejo Especial.

### **7.1.1.- Listado de residuos de manejo especial sujetos a presentar plan de manejo**

El Listado de los Residuos de Manejo Especial sujetos a Plan de Manejo se indica a continuación:

I. Los siguientes residuos de servicios de salud, generados por un gran generador en centros médico-asistenciales:

- Papel y cartón
- Ropa clínica, ropa de cama y colchones
- **Plásticos**
- Madera
- Vidrio

II. Los residuos agrolásticos generados por las actividades intensivas agrícolas, silvícolas y forestales.

III. Los residuos orgánicos de las actividades intensivas avícolas, ganaderas y pesqueras.

IV. Los residuos de las actividades de transporte federal, que incluye servicios en los puertos, aeropuertos, centrales camioneras y estaciones de autotransporte y los del transporte público, que incluye a los prestadores de servicio que cuenten con terminales, talleres o estaciones, que se incluyen en la lista siguiente y que se generen por un gran generador en una cantidad mayor a 10 toneladas al año por residuo o su equivalente:

- Envases metálicos.
- Envases y embalajes de papel y cartón.
- Envases de vidrio.
- Envases de tereftalato de polietileno (PET).
- Envases de poliestireno expandido (unicel).
- **Bolsas de polietileno.**
- Tarimas de madera.

V. Lodos provenientes del tratamiento de aguas residuales: Aquellos que se generen por un gran generador en una cantidad mayor a 100 toneladas anuales o su equivalente.

VI. Los residuos de las tiendas departamentales o centros comerciales, que se incluyen en la lista siguiente y que se generen en una cantidad mayor a 10 toneladas al año por residuo:

- Envases metálicos.
- Envases y embalajes de papel y cartón.
- Envases de vidrio.

- Envases de tereftalato de polietileno (PET).
- Envases de poliestireno expandido (unicel).
- Tarimas de madera.
- Residuos orgánicos.
- **Película de polietileno para embalaje (playo).**

**VII.** Residuos de la construcción, mantenimiento y demolición en general, que se generen en una obra en una cantidad mayor a 80 m<sup>3</sup>.

**VIII.** Los productos que al transcurrir su vida útil se desechan y que se listan a continuación:

**a)** Residuos tecnológicos de las industrias de la informática y productos electrónicos

**b)** Residuos de fabricantes de vehículos automotores:

- Vehículos al final de su vida útil.

**c)** Otros que al transcurrir su vida útil requieren de un manejo específico y que sean generados por un generador en una cantidad mayor a 10 toneladas al año y por residuo:

- Neumáticos de desecho.
- Artículos de plástico como: politereftalato de etileno (PET), **polietileno de alta y baja densidad (PEAD y PEBD)**, policloruro de vinilo (PVC), polipropileno (PP), poliestireno (PS) y policarbonato (PC).
- Bolsas de polietileno.
- Envases, embalajes y artículos de madera.
- Envases, embalajes y perfiles de aluminio.
- Envases, embalajes y perfiles de metal ferroso.
- Envases, embalajes y perfiles de metal no ferroso.
- Papel y cartón.
- Vidrio.
- Ropa, recorte y trapo de algodón.
- Ropa, recorte y trapo de fibras sintéticas.
- Hule natural y sintético.
- Envase de multilaminados de varios materiales.
- Refrigeradores.
- Aire acondicionado.
- Lavadoras.
- Secadoras.
- Hornos de microondas.

## 8.- Desarrollo

El tipo de metodología que se empleara en el proyecto será un estudio bibliográfico, que consta de una recopilación de información de diversas fuentes, a través de revistas científicas que nos proporcionen la información necesaria y relevante de los últimos 10 años entre las cuales tenemos: Scielo, Science Direct, Scopus, ProQuest Biology Journal, tesis de grado, artículos científicos, páginas y blogs web, y revistas científicas, así como otras fuentes de información *online*.

### 8.1.- Investigación bibliográfica

Se analizó una recopilación de información relacionada a la biodegradación del polietileno de baja densidad por microorganismos, por ejemplo los diferentes hongos como *Aspergillus sp.* y *Penicillium sp.*, y bacterias como *Pseudomonas sp.* y *Staphylococcus sp.*; por las problemáticas de los plásticos a nivel ambiental, técnicas de siembra de microorganismos, y alternativas de degradación del LPDE, con la ayuda de información secundaria que consta en libros, revistas científicas, tesis de grado y documentos en general, que permitirá establecer diferencias del estado actual, respecto al problema de estudio.

### 8.2.- Microorganismos Reportados que Degradan el Polietileno

Muchos microorganismos degradan el LDPE cuando las condiciones ambientales favorecen esta acción. Se han publicado muchos estudios sobre biodegradación del polietileno, a continuación, se presenta una recopilación de todos los microorganismos reportados o/y utilizados en los estudios de biodegradación del LDPE:

**Tabla 1**

*Lista de microorganismos reportados como degradadores de LPDE*

	Dominio	Género	Referencia	Tipo de tratamiento biológico
1	Hongo	<i>Fusarium Solani</i>	Ortega, R.I. y Acosta, I. (2021).	. Medio de cultivo Agar Sabouraud Dextrosa a 40C. pH de 6.5 con HCl 0.1 M y/o NaOH 0.1 M durante 6 meses.
2	Hongo	<i>Aspergillus niger</i>	Calcetero Moreno, L.A. y Mancera Hernández, J.C. (2021)	<i>Aspergillus niger</i> en cajones compostadores con humus (compostaje maduro) y compostaje fresco en ausencia y presencia de radiación UV, durante 1 mes

3	Hongo	<i>Aspergillus flavus</i>	Cedeño, Domínguez, J. C. y Merino Cordero, J.G. (2020).	Medio de cultivo Agar Sabouraud de 3 a 5 días de incubación a 26°C
4	Hongo	<i>Fusarium sp.</i>	Cedeño, Domínguez, J. C. y Merino Cordero, J.G. (2020).	Medio de cultivo agar PDA se le coloraron los aislados fúngicos durante 90 días
5	Hongo	<i>Mucor sp.</i>	Cedeño, Domínguez, J. C. y Merino Cordero, J.G. (2020).	Medio de cultivo agar extracto de malta se le coloraron los aislados fúngicos durante 90 días
6	Hongo	<i>Penicillium roqueforti</i>	Cedeño, Domínguez, J. C. y Merino Cordero, J.G. (2020).	Medio de cultivo agar PDA se le coloraron los aislados fúngicos durante 90 días
7	Hongo	<i>Trichoderma sp.</i>	Cedeño, Domínguez, J. C. y Merino Cordero, J.G. (2020).	Medio de cultivo agar extracto de malta se le coloraron los aislados fúngicos durante 90 días
8	Bacteria	<i>Pseudomonas</i>	Callo Arela, M, Franklin Sacaca, M., Callata Churac, R.A, Vigo Rivera y J.E, Calla Calla, J. (2020).	Revisión bibliográfica sobre los mecanismos, métodos y técnicas en la biodegradación de plásticos por <i>Pseudomonas</i> .
9	Hongo	<i>Aspergillus niger</i>	Gutiérrez Alvarez, A.I. (2019)	Medio de sales minerales (MSM) durante un período de 70 días.
10	Hongo		Espinoza Arias, L.M. (2018)	Medio de cultivo agar de papa y dextrosa (PDA) y 150 ml de medio mineral. Éstos pasaron por el autoclave, para luego ser encubadas por un período de 90 días.
11	Hongo	<i>Pleurotus sp.</i>	Espinoza Arias, L.M. (2018)	Medio de cultivo (PDA) introducidas en una incubadora a 30°C durante 5 semanas.
12	Hongo	<i>Cladosporium sp.</i>	Espinoza Arias, L.M. (2018)	Medio de cultivo agar de papa y dextrosa (PDA) y 150 ml de medio mineral. Éstos pasaron por el autoclave, para luego ser encubadas por un período de 90 días.
13	Hongo	<i>Trichoderma harzianum</i>	Espinoza Arias, L.M. (2018)	El cultivo fúngico con las muestras de plástico se realizó en períodos de 30, 60 y 90 días, en medio mínimo mineral.
14	Hongo	<i>Aspergillus sp.</i>	Mostajo Zavaleta, M. N., Ochoa Cámara, M.L, Ambur Soncco, R.L. (2017).	250 ml de medio liquido carente de fuente de carbono más 1% de tween, al cual se inoculo 10 ml de una concentración de 10 <sup>5</sup> esporas y se incubo a temperatura de 25°C durante 45 días.

15	Hongo	<i>Penicillium sp</i>	Mostajo Zavaleta, M. N., Ochoa Cámara, M.L., Ambur Soncco, R.L. (2017).	250 ml de medio liquido carente de fuente de carbono más 1% de tween, al cual se inoculo 10 ml de una concentración de 10 <sup>5</sup> esporas y se incubo a temperatura de 25°C durante 45 días.
16	Bacteria	<i>Staphylococcus sp.</i>	Arotoma, F., Apacclla, A., Sánchez, V.G., Saldaña, J.E y Enríquez, J.D. (2015).	Cultivos con medio de cultivo Agar Manitol Salado utilizado para el aislamiento selectivo de <i>Staphylococcus sp.</i> incubadas durante a 37°C durante 48 h
17	Hongo	<i>Pycnoporus sanguineus</i>	Quinchía Figueroa, A.M., Maya Correa, S. (2015)	Medio de cultivo agar Sabouradud 4% y el bacto agar 22°C en incubadora durante 6 meses.

Se han reportado muchos microorganismos, los cuales pertenecen a bacterias, actinomicetos y hongos filamentosos, de los cuales muchos aún son especies desconocidas, pero, aun así, son estudios relativamente nuevos e insuficientes para dar conclusiones finales, por lo que no hay razón para creer que sean todos los microorganismos degradadores existentes de LDPE, seguramente aún existen muchos por descubrir.

### 8.3.- Hongos Reportados Como Degradadores De Polietileno De Baja Densidad

Existe un creciente interés en la biodegradación de polímeros sintéticos utilizando microorganismos efectivos; los desarrollos de comunidades microbianas unidas a los desechos sintéticos son poderosos agentes degradantes en la naturaleza.

Tal es el caso de la incuestionable información que existe al respecto (tabla 1), que evidencia la actividad efectiva de los hongos y bacterias para degradar polímeros.

Para el caso del LDPE, los microbios que crecen utilizando el polímero, llevan a cabo un aumento de peso debido a la adherencia de sus hifas a la superficie del mismo, mientras que una pérdida de integridad del polímero conduce a la pérdida de peso. En consecuencia, el aumento de peso se relaciona a que los hongos utilizan el LDPE como fuente de carbono durante su período de crecimiento. (Gajendiran, Krishnamoorthy, y Abraham, 2016)

Estas afirmaciones son corroboradas mediante análisis por la observación microscópica que revelan penetraciones y degradaciones de las hifas de los hongos en la superficie del polietileno, lo que provocaba un aumento de la rugosidad y una atribución a su alta hidrofobicidad de la superficie celular (Awasthi, Srivastava, Singh, Tiwary, y Mishra, 2017).



Así mismo, mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) se revela que la adherencia de los hongos a la superficie del polímero y su abundante acumulación de biomasa contribuye a la producción de más enzimas ligninolíticas capaces de descomponer y consumir el LDPE; resultados que proporcionan una solución viable a la amenaza ambiental que plantean los polímeros para el medio ambiente.

### **8.3.1.- *Aspergillus***

El género *Aspergillus* según Kozakiewicz (como se cita en el libro de Carrillo, 2003), nos dice que los hongos de este género causan deterioros en muchos productos alimenticios. Estos organismos metabólicos son demasiado tóxicos, para las personas como para los animales.

Especies como el *Aspergillus niger* o *Aspergillus oryzae*, son hongos de mucho interés en la industria, ya que se utilizan en algunos alimentos para su fermentación. Estos mohos tienen distintas tonalidades: como de color verde, amarillo, blanco, pardo, negro y gris. Bajo el microscopio se observan las cabezas conidiales, donde presentan cuatro formas fundamentales: radiada, globosa, claviforme o columnar.

Los hongos del género *Aspergillus* han demostrado ser los más eficientes en la biodegradación del LPDE; así se respalda con trabajos como el de Mostajo Zavaleta, M. N., Ochoa Cámara, M.L, Ambur Soncco, R.L. (2017), donde las muestras de bolsas de plástico se lavaron y se colocaron en una solución de cloranfenicol al 0.5mg/ml por 60 minutos, luego fueron enjuagadas con agua destilada estéril durante 30 minutos. Posteriormente se fraccionaron en trozos pequeños, y se procedió a la siembra en placas petri con agar PDA, incubándose a 25°C por 5 días. Una vez desarrolladas las colonias de hongos, se realizó la purificación de cepas, obteniéndose los ceparios que fueron conservados a 4°C en refrigeración.

En la metodología para la evaluación de la eficiencia de degradación de los consorcios se utilizó un Matraz Erlen Meyer conteniendo 1 litro de medio carente de fuente de carbono más 1% de tween, al cual se adiciono 20 ml de inóculo de  $10^5$  esporas de cada una de las cepas seleccionadas para cada consorcio. Se incubo a 25°C por un tiempo de 45 días. A cada medio líquido de cultivo se adiciono una fuente de oxígeno, para lo que se utilizó un motor de aireación para acuario modelo AP-208.

De las 7 cepas degradadoras de polietileno aisladas, 4 corresponden al hongo *Aspergillus flavus* provenientes del botadero de Sicuani, tres cepas aisladas de superficie, una a 50 cm de profundidad; dos cepas de *Aspergillus terreus* aisladas de la superficie del botadero de Calca.

Las cepas más eficientes en la degradación de polietileno de baja densidad, corresponden a *Aspergillus flavus* con un promedio de 36 %, aisladas de superficie y 50 cm de profundidad, del botadero de Sicuani (Anexo A). El Consorcio I constituido por 3 cepas de *Aspergillus flavus* fue el más eficiente con 44.3% de degradación de polietileno de baja densidad.

También podemos encontrar evidencia de el alto potencial biodegradativo de este hongo en el estudio de Cedeño, Domínguez, J. C. y Merino Cordero, J.G. (2020), en este trabajo mencionan que se aislaron 13 cepas fúngicas como microorganismos potenciales degradadores de polietileno de baja densidad (LDPE). Se replicaron las cepas de *Aspergillus sp.*, *Fusarium sp.*, *Penicillium sp.* y *Trichoderma sp.* mediante el método de crecimientos sucesivos para la obtención de cepas puras (Domínguez Romero et al., 2013) como se menciona en Cedeño, Domínguez y Merino Cordero, J.G. (2020).

Con el fin de eliminar rastros de contaminación que puedan afectar a los cultivos puros, se realizó un tratamiento previo al LDPE, que consistió en sumergir las perlas de LDPE en una solución que contenía 70 ml de Tween 80, 10 ml de NaOH puro y 983 ml de agua destilada agitando durante 30 min. Posteriormente, se lavaron con agua destilada durante 1 hora y se las trasladó una solución de etanol al 70% durante 30 minutos; finalmente se las incubó a 50°C durante la noche (Bardají et al., 2019) como se menciona en Cedeño, Domínguez y Merino Cordero, J.G. (2020).

El resultado de biodegradación se confirmó por la colonización fúngica en la superficie de perlas de LDPE y la reducción en porcentaje de la masa, lo que manifiesta la gran posibilidad de encontrar microorganismos con la capacidad de degradar polietileno en condiciones in vitro.

Para obtener la diferencia de peso se procedió a retirar las perlas cuidadosamente con una pinza de disección sin dientes y se pesó en una balanza analítica Mettler Toledo, modelo ML204 serie 8u, con 4 cifras de precisión.

Los resultados utilizando los hongos aislados del relleno sanitario de Pichacay-Cuenca durante 90 días de tratamiento revelaron que la cepa RSZ4M6 *Aspergillus sp.* es una de las más aptas para degradar polietileno de baja densidad (LDPE), con un porcentaje de pérdida de peso de 5,16 %, superando la capacidad de biodegradación de 11 cepas de diferentes hongos (Anexo B).

En el proyecto de Avila Jaramillo, S.P. y Morán Peñafiel, H.E. (2020) se realizó una recopilación de diversos artículos acerca de la biodegradación del LPDE usando cepas de diferentes hongos como es el *Aspergillus sp.*

La cepa de *Aspergillus sp.* utilizada reveló ser la más apta para degradar LDPE, por encima que otros hongos, utilizando como método una microscopia electrónica de barrido y una

espectroscopia infrarroja por transformadas de Fourier (FTIR) entre las especies estudiadas, mostrando una pérdida en peso media de 0.99% +/- 0.11% en las muestras de LDPE cultivadas durante 90 días con el mismo (Anexo C). El desempeño de la cepa de *Aspergillus sp.* fue satisfactorio, los cuales producen enzimas extracelulares para degradar el PEBD y utilizarlo como fuente de carbono y energía.

### **8.3.2.- *Fusarium***

Las especies de *Fusarium* se encuentran entre los patógenos de plantas más comunes y extendidos en el mundo y son de gran importancia económica (Leslie y Summerell, 2006). Muchas especies de plantas se ven afectadas con al menos una enfermedad ocasionada por *Fusarium* (Nelson et al., 1981; Leslie y Summerell, 2006).

Existe evidencia comprobada de que este hongo es capaz de degradar eficientemente el polietileno de baja densidad, tal como se menciona en el trabajo de Ortega, R.I. y Acosta, I. (2021).

El objetivo de este trabajo fue determinar la capacidad de biodegradación de polietileno de baja densidad por el hongo *Fusarium solani*, durante 6 meses en condiciones estáticas, a 28°C, pH 6.5, determinando el crecimiento del hongo por la producción de proteína extracelular (164, 193.4 y 262.8 mg/mL) y peso seco (328, 348 y 451 mg), y el peso biodegradado del sustrato (4.5%, 7.8% y 9%). Inicialmente, se analizó el crecimiento del hongo en presencia de polietileno de baja densidad como sustrato, determinando el peso seco y la producción de proteína extracelular.

El medio de cultivo para la degradación de polietileno de baja densidad contiene (g/L): Glucosa (10), extracto de levadura (5), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (0.6), MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (0.5), K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (0.4), CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O (0.25), FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (0.05), MnSO<sub>4</sub> (0.05) y ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (0.001) y 400 µL de Tween 80. El medio se ajustó a un pH final de 6.5 con HCl 0.1 M y/o NaOH 0.1 M (Ahuactzin-Pérez et al., 2016) como se menciona en Ortega, R.I. y Acosta, I. (2021).

Posteriormente, se adicionaron 50 mL a matraces Erlenmeyer de 125 mL, así como un fragmento de plástico desinfectado y de peso seco conocido (cuadritos de bolsa polietileno de 1 cm<sup>2</sup>), y se esterizaron por calor húmedo a 15 libras (121°C) durante 20 minutos. Posteriormente, se enfriaron a temperatura ambiente, sembrando por triplicado 1 x10<sup>6</sup> células/mL, e incubando por 6 meses a temperatura ambiente en condiciones estáticas, monitoreando su crecimiento visualmente cada semana, y adicionando cada 3 semanas medio de cultivo nuevo en condiciones estériles.

Después de 6 meses de incubación en condiciones estáticas, el sobrenadante del cultivo del hongo se cosechó en un tubo graduado, previamente pesado y se centrifugó a 3000 rpm/10 min, desechando el sobrenadante. El paquete celular se secó a 80°C, durante 24 h, y se pesó el tubo, determinando por diferencia el peso seco de la muestra, comparando el crecimiento con un control crecido en las mismas condiciones sin la adición del fragmento de polietileno de baja densidad.

El hongo tuvo un mayor crecimiento en peso seco de 2.78, 2.14 y 2.02 veces más en presencia del sustrato con respecto al control (que no tiene sustrato), a los 6 meses de incubación, pH 6.5 a 28°C, en condiciones estáticas, lo cual indica que el polietileno estimula el crecimiento del hongo (Anexo D). Los datos encontrados en este trabajo coinciden con algunos reportes de la literatura, en los cuales se reporta el crecimiento de diferentes microorganismos en presencia de diferentes sustratos plásticos como en el hongo *A. niger* ITCC No. 6052, el cual crece en la superficie de polietileno en medio mínimo en un mes de incubación en agitación constante (Mathur et. al., 2011) como se menciona en Ortega, R.I. y Acosta, I. (2021).

Por otra parte, en otro trabajo de investigación la cepa con el hongo *Fusarium sp.* Fue el que presentó una mayor actividad de biodegradación del polietileno de baja densidad, como se menciona en el estudio de Cedeño, Domínguez, J. C. y Merino Cordero, J.G. (2020)., se aislaron 13 cepas fúngicas como microorganismos potenciales degradadores de polietileno de baja densidad (LDPE). El resultado de biodegradación se confirmó por la colonización fúngica en la superficie de perlas de LDPE y la reducción en porcentaje de la masa, lo que manifiesta la gran posibilidad de encontrar microorganismos con la capacidad de degradar polietileno en condiciones in vitro (Anexo B).

Los cambios en la estructura del polietileno, y la formación o desaparición de grupos funcionales durante el proceso de degradación, se comprobaron mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier, basada en la absorción molecular de energía en la región infrarroja del espectro electromagnético (Valcárcel Cases & Gómez Hens, 1988).

Los análisis se realizaron en un equipo marca THERMO SCIENTIFIC, modelo NICOLET i510 serie 912A0607, en el rango de números de onda 500-4000  $cm^{-1}$ , con una resolución de 2  $cm^{-1}$ , en el laboratorio de cromatografía de la UPS. Los resultados utilizando los hongos aislados del relleno sanitario de Pichacay-Cuenca durante 90 días de tratamiento revelaron que RSZ1M13-Fusarium sp es la cepa más apta para degradar polietileno de baja densidad (LDPE), con un porcentaje de pérdida de peso de 5,94 % por encima de las otras 12 cepas de hongos (Anexo E).

### **8.3.3.- *Penicillium***

Los integrantes del género *Penicillium* son hongos filamentosos estas especies de *Penicillium* están ampliamente distribuidas en la naturaleza y se hallan en el suelo, la vegetación caída, el aire y el suelo, además de su potencial patogenicidad, *Penicillium sp.* produce micotoxinas. (Databio, 2016)

Este tipo de hongos filamentosos han sido estudiados en la biodegradación del polietileno de baja densidad, algunos estudios en los que se demuestra su acción efectiva contra este polímero son, por ejemplo, el trabajo de Mostajo Zavaleta, M. N., Ochoa Cámara, M.L, Ambur Soncco, R.L. (2017), donde al igual que con las cepas de *Aspergillus* antes mencionadas se aislaron 7 cepas degradadoras de polietileno, de las cuales la cepa de *Penicillium sp.* fue aislada a 50 cm de profundidad del botadero de Calca.

Realizaron la obtención de esporada y obtenida la esporada en placas Petri, se transfirió 10 ml de agua destilada con 1% de Tween estéril a cada placa. Luego este inóculo fue transferido a un Erlenmeyer conteniendo 50 ml de agua destilada con 1% de Tween, se homogenizó y se procedió al recuento de esporas en una cámara Neubauer, se realizó diluciones si fue necesario hasta obtener una concentración de  $10^5$  esporas por ml.

Para la identificación taxonómica se realizó un estudio macroscópico describiendo las características de las colonias y el estudio microscópico observando los conidios y estructuras reproductivas de los hongos.

Las cepas más eficientes en la degradación de polietileno de baja densidad, corresponden a *Aspergillus flavus* con un promedio de 36 %, aisladas de superficie y 50 cm de profundidad, del botadero de Sicuani, aunque la cepa de *Penicillium sp.* no fue la que presentó el mayor porcentaje de degradación del LDPE, sí fue efectiva y se reportó un 19 % de degradación del polímero (Anexo A).

### **8.3.4.- *Mucor sp.***

Tangarife, 2011 (como se menciona en Rodríguez, B., 2016) menciona que el hongo *Mucor sp.* es un Zygomyceto, caracterizado por un crecimiento rápido, que se encuentra ubicuo en la naturaleza, por lo que es muy común que contamine medios de cultivo en el laboratorio, y que puede llegar a producir infecciones en seres humanos inmunocomprometidos o inmunosuprimidos. Las cepas de *Mucor sp.* no crecen por lo regular a 37°C, lo que nos habla de que las cepas que atacan al ser humano son termotolerantes.

Este tipo de hongo se ha usado en algunas investigaciones de la biodegradación del LDPE, uno de los trabajos donde podemos revisar la actividad biodegradativa que realiza este

hongo es en el estudio de Cedeño, Domínguez, J. C. y Merino Cordero, J.G. (2020), que al igual que con las cepas de *Aspergillus sp.* y *Fusarium sp.* se aislaron en muestras de suelo obtenidas del relleno sanitario de Pichacay; mientras que el polímero sintético elegido para la realización del experimento fue el polietileno de baja densidad (LDPE) en forma de perlas. (Anexo F).

En este trabajo aislaron 13 cepas fúngicas como microorganismos potenciales degradadores de polietileno de baja densidad (LDPE). Para facilitar la medición del peso del polietileno residual, la biopelícula formada se lavó de la superficie de polietileno con dodecilsulfato sódico (SDS) al 2% durante 4 h, seguido de lavado con agua destilada (Orr, Hadar, y Sivan, 2004).

Para obtener la diferencia de peso se procedió a retirar las perlas cuidadosamente con una pinza de disección sin dientes y se pesó en una balanza analítica Mettler Toledo, modelo ML204 serie 8u, con 4 cifras de precisión.

El resultado de biodegradación se confirmó por la colonización fúngica en la superficie de perlas de LDPE y la reducción en porcentaje de la masa, lo que manifiesta la gran posibilidad de encontrar microorganismos con la capacidad de degradar polietileno en condiciones in vitro.

Los resultados utilizando los hongos aislados del relleno sanitario de Pichacay-Cuenca durante 90 días de tratamiento revelaron que la cepa RSZ2M5-*Mucor sp.*, presentan un porcentaje de biodegradación de 2,41% (Anexo B), si bien este porcentaje es menor al de otros hongos reportados en este trabajo, representa un indicativo de que los microorganismos pueden atacar los polímeros, alterando sus propiedades y transformando su integridad.

### **8.3.5.- *Pycnoporus sanguineus***

Según Cruz Muñoz y Rocío et al. (2015) el hongo *Pycnoporus sanguineus* es un género representativo de los homobasidiomicetos saprofitos y tiene un potencial lignocelulítico. Los metabolitos secundarios de este hongo son importantes en la búsqueda de sustancias antivirales, antioxidantes, antifúngicas, y antibacterianas.

En el trabajo de Quinchía Figueroa, A.M., Maya Correa, S. (2015) se experimentó con este hongo bajo condiciones de laboratorio. El polietileno de baja densidad (LDPE) empleado se obtuvo en forma de pellets y bolsas plásticas comerciales, de las cuales se extrajeron las láminas de 5cm x 5cm. Las semillas de sorgo como parte orgánica del sustrato, contaron con hidratación previa durante 24 horas en agua destilada. La cepa *Pycnoporus sanguineus* UTCH03 fue donada por la Universidad Tecnológica del Chocó y los sustratos empleados para su crecimiento fueron agar Sabouradud 4% y el bacto agar, marca Merck.

La cepa fue cultivada durante 21 días bajo condiciones de sustrato con polímero y sorgo hidratado y sin hidratar, temperaturas de 10 y 22°C y diferentes concentraciones del polímero dentro del sustrato, el cual varió entre 0% y 89%. El hongo *Pycnoporus sanguineus* UTCH03 se adapta a un sustrato con sorgo y LDPE logrando llevar a cabo el desarrollo de hifas y esporas como proceso biológico natural de poblamiento de la superficie del material, asimismo se observa una coloración naranja típica de la producción de la enzima cinabarina, la cual se encuentra asociada a la producción de lacasa, enzimas participantes en procesos de degradación de polímeros naturales de alto peso molecular (Acosta Urdipelletta, 2010), esta evidencia sugiere actividad microbiana y el consumo de carbono a partir del sustrato, para incluirlo en su metabolismo, generando una depolimerización del mismo.

El sustrato estuvo compuesto por 67% de LDPE en forma de pellets y láminas y 33% de sorgo en una fase sólida aireada, con siembra de la cepa por inóculo; el almacenamiento se llevó a cabo en temperatura de 22°C en incubadora y después de 6 meses se realizaron los análisis de cambios en el material. Antes y después de 6 meses de crecimiento del hongo sobre el sustrato, se analizaron los cambios en las muestras por medio de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR), los cuales permiten identificar cambios en sus grupos funcionales superficiales del material (Anexo G).

Se determinó que el contenido de humedad en el sustrato tuvo un efecto directo sobre el crecimiento del hongo; así mismo se pudo establecer que el sustrato compuesto por 67% de polímero y 33% de sorgo a 22°C, ofrece las mejores condiciones de crecimiento y adaptabilidad del hongo, resultados similares a los reportados por Roussos et al. (1996).

### **8.3.6.- *Trichoderma***

Es un hongo anaeróbico habitante natural del suelo, caracterizado por un comportamiento saprófito o parásito. Entre las especies más destacadas están *T. harzianum*, *T. viride*, *T. koningii*, y *T. hamatum*.

El éxito de las cepas de *Trichoderma* como agentes de control biológico se debe a su alta capacidad reproductiva, habilidad para sobrevivir bajo condiciones ambientales desfavorables, eficiencia en la utilización de nutrientes, capacidad para modificar la rizósfera, fuerte agresividad contra hongos fitopatógenos y eficiencia en promoción del crecimiento en plantas e inducción de mecanismos de defensa. Las diferentes especies se caracterizan por tener un crecimiento micelial rápido y una abundante producción de esporas, que ayuda a la colonización de diversos sustratos y del suelo. (Martínez B., Infante D., Reyes, Y. 2013)

Este tipo de hongo ha sido poco utilizado en el estudio de la biodegradación del LDPE, uno de los trabajos donde podemos encontrar la acción que realiza este hongo es en el estudio de Cedeño, Domínguez, J. C. y Merino Cordero, J.G. (2020), en este se aislaron 13 cepas fúngicas como microorganismos potenciales degradadores de polietileno de baja densidad (LDPE).

El resultado de biodegradación se confirmó por la colonización fúngica en la superficie de perlas de LDPE y la reducción en porcentaje de la masa, lo que manifiesta la gran posibilidad de encontrar microorganismos con la capacidad de degradar polietileno en condiciones *in vitro*.

Los resultados utilizando los hongos aislados del relleno sanitario de Pichacay-Cuenca durante 90 días de tratamiento revelaron que con un porcentaje de pérdida de peso de las cepas RSZ3M10-*Trichoderma sp* y RSZ4M8-*Trichoderma sp* presentan porcentajes de biodegradación de 2,69% y 0,40% respectivamente, si bien estos porcentajes son menores al de otros hongos estudiados en el mismo trabajo, representan un indicativo de que los microorganismos pueden atacar los polímeros, alterando sus propiedades y transformando su integridad (Anexo B).

Los hongos utilizados del cepario de la Universidad Politécnica Salesiana presentan porcentajes de biodegradación de 4,98% y 1,51 % para J1-*Trichoderma sp* y Y1- *Trichoderma sp* respectivamente, es evidente que algunas cepas presentan mayor afinidad a biodegradar polietileno, sin embargo, no se descarta que las otras cepas aisladas sean eficientes, se debería someter a más tiempo de tratamiento, además, analizar otro tipo de medio de cultivo, y sobre todo evaluar los parámetros físico químicos para su desarrollo.

#### **8.4.- Bacterias Reportadas como Degradadores de Polietileno de Baja Densidad**

##### **8.4.1.- *Pseudomonas***

Las *Pseudomonas* son bacilos Gram negativos, aerobios, oxidasa positivos, con una cierta facilidad de adaptación que les permite adecuar el hábitat donde se encuentren para utilizar diferentes fuentes como el carbono o el nitrógeno para su nutrición. Debido a esta adaptación al medio ambiente las *Pseudomonas* se han convertido en un problema para la salud pública ya que estos microorganismos son capaces de colonizar un amplio rango de nichos. (Estupiñán, Avila de Nava, yLopez, 2016)

Estas bacterias han sido estudiadas en el tratamiento para biodegradación del LDPE, en el trabajo de Callo Arela, M, Franklin Sacaca, M., Callata Churac, R.A, Vigo Rivera y J.E, Calla Calla, J. (2020), podemos encontrar revisiones de literatura demuestran que las *Pseudomonas* son un medio ecológico de retirar del medio ambiente polímeros como: polietileno de alta



densidad (HDPE) y de baja densidad (LDPE), polietileno tereftalato (PET), polietileno (PE), polipropileno (PP), poliuretano (PU), polisulfuro de fenileno (PPS), entre otros polímeros.

En este trabajo se afirma que las pseudomonas son usadas para procesos de biorremediación, ya que tienen la capacidad de utilizar como parte de su metabolismo al carbono; estos microorganismos se han caracterizado por ser críofilas y mesófilas, muchas de estas suelen desarrollarse en un rango de 2 °C a 42 °C de temperatura y debido a su capacidad de adaptación en el medio ambiente (Anexo H), se han realizado diversas investigaciones con el objetivo de introducir nuevas metodologías que puedan ser aplicados en la reducción de plásticos. (González et al., 2013).

Según el trabajo de Callo Arela, M. et al., (2020) afirma que la degradación de polímeros por bacterias permite la mineralización de este por ser cadena polimérica de carbono, y el método de microscopía óptica permite evidenciar las fragmentación y cambios en la estructura de los polímeros sintéticos de manera más sencilla.

Así mismo es de importancia el tipo de polímero en la mineralización en CO<sub>2</sub> y agua en procesos aeróbicos; por otra parte, las bacterias liberan enzimas que fraccionan a la cadena polimérica en monómeros que son mineralizados.

#### **8.4.2.- *Staphylococcus sp.***

Los *Staphylococcus sp.* son microorganismos que están presentes en la mucosa y en la piel de los humanos y de otros mamíferos y aves. El género comprende en la actualidad a 35 especies y 17 subespecies, muchas de las cuales se encuentran en los humanos.

Los estafilococos crecen fácilmente sobre casi todos los medios bacteriológicos, en condiciones aeróbicas se da el mejor crecimiento. Su mayor velocidad de crecimiento es a 5-25 °C; pero también se puede ver en activa fisión binaria entre 30 y 27 °C. (MedlinePlus, 2019)

Esta bacteria también ha sido estudiada por diversos autores, uno de los trabajos donde podemos encontrar los resultados del *Staphylococcus sp.* en la biodegradación del LDPE es en la investigación de Arotoma, F., Apaclla, A., Sánchez, V.G., Saldaña, J.E y Enríquez, J.D. (2015), donde se describe el aislamiento y la actividad biodegradativa del microorganismo sobre el polietileno de baja densidad (LPDE), teniendo como objetivo determinar la degradación del polietileno de baja densidad por *Staphylococcus sp.*

Las bacterias usadas fueron aisladas de LPDE con evidencias de deterioro procedentes del botadero de Ascensión-Huancavelica a 15 y 20 cm de profundidad entre la primera y segunda trinchera donde se dispone los residuos del distrito de Ascensión, para ello se utilizó frasco de 250ml estéril, fueron trasladadas en material de tecnopor de 34 x 34 x 23 cm homogenizándolo.

En este trabajo se realizó el análisis de biodegradación del LPDE producido por la bacteria *Staphylococcus sp.* y se observó la degradación del polietileno de baja densidad en un 2,16 % a una temperatura de 37 °C, aislado del botadero del distrito de ascensión Huancavelica.

Las muestras fueron sumergidas en agua destilada estéril por medio de suspensión aséptica de 500 gr de muestras recolectadas en 500mL agitando vigorosamente el contenido para suspender los microorganismos adheridos al plástico en un matraz de Erlenmeyer por 20s (solución madre).

Los cultivos se desarrollaron en recipientes con medio de cultivo Agar Manitol Salado utilizado para el aislamiento selectivo de *Staphylococcus sp.* incubadas durante 48 hrs (Anexo I). Pasado las 48 h se retiró las 8 placas Petri del cual se ha extraído las cepas para realizar la siembra en los tubos con medio solido (Agar Manitol salado) en forma inclinada con la técnica de siembra por estría ondulada.

La prueba cuantitativa de la capacidad biodegradativa consistió en determinar la cantidad de peso perdido en un periodo de exposición de 90 días. Una vez retiradas de la estufa, las muestras pasaron a ser secadas en el ambiente durante 24 horas. Transcurrido este periodo se procedió a pesar cada una de las láminas (tres mediciones) en una balanza analítica AA-200DS Sartorius.

Según (Rajesh et al., 2017) y (Christi et al., 2007) como se menciona en Arotoma, F., y colaboradores (2015), su eficacia en la degradación de bolsas de polietileno comerciales fueron superiores a este trabajo ya que el resultado que obtuvieron en términos de pérdida de peso media a 37°C en un período de ocho semanas, con respecto a las bases en los criterios de (Muller et al., 1993) no se ha tenido grandes diferencias con el trabajo realizado.

Este estudio afirma que la cepa bacteriana aislada del botadero del distrito de Ascensión tiene la capacidad de degradar el LPDE, en un 0,52 % a una temperatura de 20 °C (Anexo I). Según (Alejandra y Martín, 2017) como se menciona en Arotoma, F., Apacclla, A., Sánchez, V.G., en el trabajo que realizaron obtuvieron resultados mayores en comparación del presente trabajo.

Este estudio muestra que la temperatura es un factor importante para la degradación del polietileno de acuerdo a los resultados de la investigación realizada se corroboró la eficiente degradación del *Staphylococcus sp.* a temperatura de 37°C.

## **8.5.- Métodos Principales de Cultivo de Microorganismos Degradadores de LDPE**

En el trabajo de Espinoza Arias, L.M. (2018) menciona que la biodegradación del LDPE, sin importar el tipo de medio de cultivo a utilizar, se debe tener en cuenta las siguientes variables: el tipo o tipos microorganismos, la disponibilidad de oxígeno, la cantidad disponible de agua, la temperatura, el ambiente químico, pH, electrolitos, etc. A continuación, se presentan las aproximaciones generales a los métodos de cultivo utilizados en los experimentos de biodegradación del LDPE y las demás variantes.

### **8.5.1.- Medios para la realización de las pruebas**

De acuerdo al sitio o lugar que proporciona el tipo de medio de cultivo se puede dividir en tres modalidades básicas:

#### **8.5.1.1.- Pruebas de campo (*In situ o in vivo*) con medios naturales**

De ubicación natural, tales como: compost, rellenos, botaderos, etc., son medios naturales conocidos, pero no controlados, lo que implica una irreproducibilidad en otros sitios y una aleatoriedad de las variables.

Uno de los trabajos en los que se puede encontrar este medio de pruebas de campo con medios naturales es en el trabajo de Mostajo Zavaleta, M. N., Ochoa Cámara, M.L, Ambur Soncco, R.L. (2017), en donde las muestras se colectaron en los botaderos de los distritos de Sicuani y Calca. El muestreo se realizó al azar, en cinco puntos de los botaderos de basura, en superficie y 50 cm de profundidad, las muestras de restos de bolsas de plástico fueron colocadas en frascos de vidrio estériles y llevadas en material refrigerante al laboratorio de Ecología de la Escuela Profesional de Biología-UNSAAC.

#### **8.5.1.2.- Pruebas de simulación con medios seminaturales**

Son pruebas de biodegradación que se realizan a escala de laboratorio con medios seminaturales, con condiciones parcialmente controladas, los medios son conocidos y se pueden controlar en un nivel medio.

En el trabajo de Calcetero Moreno, L.A. y Mancera Hernández, J.C. (2021), se puede encontrar el uso de medios seminaturales, ya que emplean el compostaje, pero a escala de laboratorio, debido a que la variable independiente es el compostaje, se manejaron dos tipos: un compostaje fresco y uno maduro con humus. Luego, se procedió a instalar las diez unidades experimentales y dos blancos extra conformados por el compostaje (fresco y maduro con humus) y el material no irradiado, cuya finalidad es servir de punto de comparación respecto a los demás montajes. Los compostajes empleados para el desarrollo experimental poseen similitud en su preparación y características.

En la construcción del cajón compostador, se emplearon diez cajas de madera con las medidas definidas en el apartado “Características del campo experimental”, cinco de las cuales fueron suministradas con 609g de compostaje fresco, mientras que las otras cinco fueron preparadas con 609g de compostaje maduro, de tal forma que, dentro de la caja de madera se dispusiera en capas de la siguiente manera: una capa del respectivo compostaje, sobre ella, el material LDPE (irradiado con luz UV o sin irradiar), luego, en la parte de arriba se ubicó el microorganismo (*Aspergillus niger*), y por último, otra capa de compostaje, todo el proceso fue controlado dentro del laboratorio y con el uso de un pretratamiento UV previo.

#### **8.5.1.3.- Pruebas de laboratorio (In vitro)**

Son pruebas cuyas variables son casi completamente controladas, y se ubican en el laboratorio, los medios son conocidos y controlados con gran precisión, dando la posibilidad de comparar experimentos de diferentes laboratorios.

Un trabajo que empleó esta técnica es el de Ortega, R.I. y Acosta, I. (2021), donde la cepa utilizada fue obtenida del cepario del Laboratorio de Micología Experimental de la Facultad de Ciencias Químicas de la UASLP. México, la cual se resembró y conservó en Agar Sabouraud Dextrosa a 4°C.

El medio se ajustó a un pH final de 6.5. Posteriormente, se adicionaron 50 mL a matraces Erlenmeyer de 125 mL, así como un fragmento de plástico desinfectado y de peso seco conocido (cuadritos de bolsa polietileno de 1 cm<sup>2</sup>), y se esterilizaron por calor húmedo a 15 libras (121°C) durante 20 minutos. Posteriormente, se enfriaron a temperatura ambiente, sembrando por triplicado 1 x10<sup>6</sup> células/mL, e incubando por 6 meses a temperatura ambiente en condiciones estáticas, monitoreando su crecimiento visualmente cada semana, y adicionando cada 3 semanas medio de cultivo nuevo en condiciones estériles y controladas.

#### **8.5.2.- Los inóculos**

Los inóculos que presentan los cultivos se pueden clasificar en dos categorías básicas.

##### **8.5.2.1.- Cultivos con inóculos amplios o de consorcios**

Son comunidades microbianas naturales, que contienen los microorganismos que actuarían como una comunidad, como realmente lo hacen, sin embargo, hay que tener en cuenta que existe una fracción de microorganismos no cultivable y que constituye el 90% de la biodiversidad real.

### 8.5.2.2.- Cultivos microbianos axénicos

Los cultivos axénicos son cultivos con cepas microbianas puras, definidas con medios simples y permiten deducir información concerniente al efecto degradador y el mecanismo de biodegradación del LDPE que realizan los determinados microorganismos. De acuerdo a la composición de los medios se pueden clasificar como:

**8.5.2.2.1.- Medios líquidos.** Son medios libres de agar, contienen nutrientes minerales y suelen ser preparados en Erlenmeyer, son útiles como medios iniciadores o de enriquecimiento. Tienen la condición de permitir una competencia libre entre especies por los recursos, lo que genera selectividad.

**8.5.2.2.2.- Medios sólidos.** Con una concentración de 1,5 al 2 % de agar, son útiles porque permiten hacer los análisis preliminares y no generan competencia por los recursos entre los microorganismos, excepto por la fuente de carbono que es la que genera la selectividad, por lo que sirven para identificar las colonias una vez estas sean pre seleccionadas para degradar LDPE.

A continuación, se presenta una exposición de las ventajas y desventajas de las variaciones en los métodos de estudio de la biodegradación del polietileno de baja densidad y otras variantes.

**Tabla 2**

*Revisión de los métodos para el estudio de la degradación del LDPE*

	<i>Campo (In vivo)</i>	<i>Simulación</i>	<i>Laboratorio (In vitro)</i>
<i>Proceso de estudio</i>	a. enterramiento de las muestras de plásticos en el suelo. b. ubicándolos en un lago o río.	Enterramiento de las muestras de plásticos en compost, suelo o agua de mar ubicados en condiciones controladas (temperatura, pH, humedad).	Medios inoculados definidos con poblaciones microbianas definidas (ejemplo: lixiviados,) o cepas microbianas individuales o enzimas las cuales podrían haber sido especialmente seleccionadas para el LDPE
<i>Ventajas</i>	Más fáciles y ampliamente usados, son más realistas en simular el proceso de biodegradación natural.	Prácticamente es lo más sugerido; mejores herramientas analíticas disponibles que serían usadas para las pruebas de campo.	1. hay una tasa más rápida de degradación que bajo condiciones naturales. 2. Preferido para muchas investigaciones sistemáticas.

<i>Desventajas</i>	<p>a. estas condiciones no pueden ser bien controladas. b. las oportunidades para Analíticas para monitorear el proceso de degradación son limitadas.</p>	<p>Carencia de reproducibilidad debido a una variada población microbiana</p>	<p>Este método no puede ser usado para probar la biodegradación en términos de metabolismo por un microorganismo</p>
--------------------	---	---	--

## 8.6.- Pretratamientos del LDPE

Los pretratamientos son opcionales, permiten simular y/o acelerar el proceso de biodegradación natural, los siguientes fueron tomados de los trabajos recopilados en este proyecto.

### 8.6.1.- Aclimatación Natural

La exposición al aire libre se realiza con muestras montadas en plataformas de prueba, orientadas bajo condiciones estándar para exponer el material al espectro completo de radiación junto a la temperatura y humedad del lugar.

Un ejemplo del pretratamiento denominado aclimatación natural se presenta en el trabajo de Cedeño, Domínguez, J. C. y Merino Cordero, J.G. (2020), donde el suelo húmedo sin tratar se mezcló y mantuvo frío; evitando la compactación del suelo durante el transporte al laboratorio, posteriormente se tamizó hasta obtener una muestra homogénea de suelo, para ello, la muestra atravesó una serie de tamices; cada muestra pesó 500 g de suelo húmedo.

Una pequeña cantidad de muestra de suelo tamizado (0.5-1gr), se diluyó en 10 ml de agua estéril, una vez agitado y disuelto se procedió a tomar con una pipeta 1 ml de del primer tubo de ensayo y agregarlo en el segundo tubo hasta obtener diluciones seriadas de  $10^{-1}$  hasta  $10^{-5}$ . Después se vertieron las muestras de los tubos de ensayo en las cajas de Petri con medio PDA, luego se procedió a incubar de 3 a 5 días a  $26^{\circ}\text{C}$ , para posteriormente verificar las colonias desarrolladas que se desarrollaron.

### 8.6.2.- Aclimatación Artificial / Pruebas de Laboratorio

Las pruebas de laboratorio comprenden el uso de cámaras ambientales y luces artificiales para aproximadamente replicar las condiciones exteriores, pero con un tiempo reducido y mayores controles en las condiciones.

En el trabajo de Espinoza Arias, L.M. (2018), podemos ver este pretratamiento, este tratamiento de degradación biológica del proyecto se realizó en medio mínimo mineral, el cual consiste en una mezcla de varias sales presentes en diversas concentraciones.

Dichas sales proporcionan los electrolitos y minerales necesarios para el crecimiento de los microorganismos; sin embargo, los nutrientes básicos como el nitrógeno y fósforo se encuentran en cantidades limitadas. La concentración de carbono en el medio es nula, a fin de obligar al hongo a tomar aquel que está presente en las cadenas poliméricas de la muestra de plástico como alimento.

### **8.6.3.- Oxidación Térmica**

La foto- y/o termo degradación del LDPE se logra por la ubicación de las muestras en un horno adaptado para a una cantidad de días determinado. Cada 24 horas, se cambia la locación de las muestras en una dirección en sentido de las manecillas del reloj.

(Vázquez et. al) como se menciona en Calcetero Moreno, L.A. y Mancera Hernández, J.C. (2021), investigaron los efectos de la oxidación en el LDPE, en donde se involucraron 4 tipos de películas; polietileno de baja densidad (LDPE), polietileno de baja densidad impreso (LDPE-P), polietileno de baja densidad con aditivo oxodegradable (OXO-LDPE), y polietileno de baja densidad impreso con aditivo oxodegradable (LDPE-OXO-P). El aditivo involucrado, d2w no genera reacciones ajenas, sólo acelera el proceso de biodegradación. Las películas se oxidaron en un horno forzado a 70°C por 39 días, al finalizar este proceso los polímeros con aditivo reflejaron una pérdida de masa igual a 8358 Da, y el LDPE virgen no presentó diferencia significativa. Posteriormente, las películas de LDPE fueron sometidas al proceso de biorreactores.

### **8.6.4.- Procedimiento de fotodegradación**

La fotodegradación consiste en la destrucción de contaminantes mediante radiación solar ultravioleta o lámparas de luz y catalizadores, para formar radicales hidroxilo que oxidarán los contaminantes químicos.

En el trabajo de Calcetero Moreno, L.A. y Mancera Hernández, J.C. (2021) 4 láminas de polietileno de baja densidad fueron cortadas (láminas rectangulares de un empaque plástico comercial; bolsa calibre 1 con dimensiones de 7,5x13 cm.) y pesadas, de las cuales, 18 posteriormente se pretrataron en una cámara de radiación UV construida con una lámpara de luz ultravioleta de 254 nm y una caja de madera o de metal a fin de prevenir la exposición directa de

esta luz a los ojos y piel. Dentro de las cámaras, las láminas del material se agruparon de tal forma que no se tocaran entre sí y todas lograran ser irradiadas por la lámpara.

El pretratamiento tomó un tiempo de 400h sin ciclos oscuros, iniciando el día 25 de septiembre a las 4:40 pm y finalizando el día 12 de octubre a las 8:42am, momento en que se efectúa la ventilación de la habitación en la que se estaba desarrollando el pretratamiento con la apertura de puertas y ventanas por un tiempo mínimo de 15 min antes de ingresar (Anexo J).

#### **8.6.5.- Procedimiento de Termodegradación**

La muestra se sujeta a calentamiento a una alta temperatura, a oscuras, y es expuesta al aire libre. En el trabajo de Espinoza Arias, L.M. (2018), se empleó un tratamiento de termodegradación que consistió en un tratamiento físico de envejecimiento térmico a las muestras de plástico de uno de los 3 grupos empleados. Para ello se sumergió cada una de las muestras en 150 ml de agua destilada, en frascos de vidrio de 300 ml. Los frascos fueron tapados con papel aluminio, y posteriormente autoclavados a 121°C por 20 minutos. Después, las muestras fueron extraídas de los frascos para luego ser introducidas en una cámara de secado a 30°C por 48h. El paso final fue pesarlas nuevamente en la balanza analítica y registrar la variación de la medición con respecto al primer pesaje.

Con el tratamiento de envejecimiento térmico se inicia el proceso de degradación del LDPE. Su realización es clave para la obtención de resultados significativos en cortos tiempos de cultivo. Se encontró que, después de ser sometidas a condiciones de alta temperatura (121°C) y humedad en la autoclave, las láminas se adhirieron por sus extremos y se encogieron; tal y como se observa en los anexos (Anexo K). La apariencia física de la muestra también cambió, revelando una superficie opaca y arrugada; sin embargo, ésta no se volvió significativamente más quebradiza o frágil.

Después de pesar 94 muestras de LDPE antes y después del tratamiento de envejecimiento térmico, se registró una pérdida leve de 0.088 +/- 0.576%. La distribución de los valores experimentales obtenidos se observa en los anexos (Anexo K).

#### **8.7.- Métodos de Caracterización y Análisis de las Muestras Experimentales**

A través de los años se han ido desarrollando nuevas técnicas que se enfocan en el estudio de los microorganismos que utilizan el LDPE como fuente de carbono y energía, también, los cambios que ocurren en las poblaciones microbianas a través del tiempo, las enzimas liberadas, los cambios en la biomasa a través de todas las etapas de crecimiento (Gutiérrez,



2013). A continuación, se muestran las siguientes técnicas y métodos utilizados para el presente estudio.

### **8.7.1.- Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)**

(Swapp, 2017) como se menciona en Espinoza Arias (2018) la microscopía electrónica de barrido, o SEM por sus siglas en inglés, es un método de análisis que enfoca un haz de electrones de alta intensidad sobre una muestra sólida para generar una variedad de señales en su superficie.

La reacción entre estos electrones y la muestra analizada revelan información acerca de la misma, como su morfología externa, composición química, estructura cristalina y orientación de sus componentes. A lo largo del análisis se genera una imagen bidimensional, que muestra las variaciones espaciales relacionadas con estas propiedades.

Los electrones disparados por el microscopio llevan una gran cantidad de energía cinética, la cual es disipada como una variedad de señales producto de la interacción electrón muestra al momento de la desaceleración de los mismos al llegar a la superficie sólida.

Estas señales incluyen electrones secundarios, dispersados, dispersados difractados, fotones, luz visible y calor. Los electrones secundarios dan información acerca de la morfología y topología de la muestra. Los electrones dispersados, por su parte, ilustran contrastes y composición en muestras heterogéneas. Se considera que la microscopía electrónica de barrido es un método de análisis no destructivo, lo que significa que no hay alteración en la composición de la muestra o pérdida de masa en la misma a lo largo del análisis (Swapp, 2017).

Un microscopio electrónico de barrido puede analizar áreas cuadradas de 1 cm hasta 5 micrones, con un aumento de 20X a 30.000X y una resolución espacial de 50nm a 100nm (Swapp, 2017).

Las técnicas usadas en los estudios de investigación de Acuña (2017) fueron técnicas espectrofotométricas microscópicas y espectrométricas. Las cuales se basan en la interacción entre la materia LDPE y la energía, cada uno de sus átomos absorbe y refleja la energía que se emite por las distintas fuentes. (Acuña, 2017, como se citó en Callo Arela, 2020).

El Instituto de Ciencia de Materiales de Madrid, citado por Acuña (2017) afirma que la microscopía electrónica de barrido (SEM) permite determinar la forma, textura, composición química, cambios superficiales y colonización microbiana de los polietilenos biodegradados, mediante el uso de electrones en lugar de luz para formar una imagen; así mismo, cuenta con un dispositivo que genera un haz de electrones que interactúan con la superficie PE.

### 8.7.2.- Espectroscopía infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

La espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier, o FTIR por sus siglas en inglés, es un método de análisis químico cuyo fundamento es la interacción de la radiación infrarroja con la materia.

El espectrofotómetro es un equipo que direcciona un haz de radiación de dicha frecuencia hacia la muestra a analizar. Ésta absorbe cierta cantidad de radiación, mientras que la porción restante la atraviesa. La radiación que traspasa la muestra es detectada por el equipo, el cual, con esta información, forma una especie de huella dactilar molecular del ejemplar analizado (Bradley, 2017).

(Bradley, 2017) como se menciona en Espinoza Arias (2018) el arreglo y fuerza de los enlaces químicos tienen un efecto directo en los modos vibracionales característicos de la molécula, lo que resulta en la formación de un espectro característico de absorción, el cual puede utilizarse para determinar y cuantificar compuestos químicos. En otras palabras, cada grupo funcional, en dependencia del tipo de enlaces que lo forman, absorbe una frecuencia característica de radiación infrarroja. De esta manera, el espectrofotómetro genera una gráfica de absorbancia (o transmitancia) versus frecuencia, donde se mostrarán picos (o depresiones) en las bandas correspondientes a los grupos funcionales presentes en la muestra analizada.

El espectro infrarrojo de una muestra de polietileno degradada se caracteriza por la presencia de pequeños picos de absorbancia cuando la longitud de onda alcanza los  $1690\text{ cm}^{-1}$  aproximadamente, la cual corresponde al modo vibracional de estiramiento del grupo carbonilo (Forrest, 2012).

La presencia de este grupo funcional en una muestra de polietileno significa que sus cadenas poliméricas forzosamente se fraccionaron, efecto que responde al fenómeno de degradación del material. Condiciones de prolongada exposición a la intemperie y radiación ultravioleta generan una reacción de oxidación entre el oxígeno del medio con los átomos de carbono de las moléculas del polímero.

El enlace  $\sigma$  que mantiene juntos a los carbonos del polietileno se rompe, para luego enlazarse con un átomo de oxígeno por medio de un enlace  $\pi$ . De esta manera se crean disrupciones en las cadenas, y como consecuencia, el peso molecular del polímero disminuye (Nguyen, 2014). Se recalca que polímeros con pesos moleculares bajos son más propicios a ser asimilados por microorganismos.

Mahalaksmi, (2017) citado por Acuña (2017), indica que el Espectro fotometría infrarrojo (FTIR), nos permite determinar los enlaces de carbono y carbonilos presentes en la biodegradación del LDPE, mediante la emisión de frecuencias infrarrojo que absorben las

moléculas orgánicas y así mismo dichas moléculas reflejan las frecuencias y se puede determinar en enlace que pertenece a dicha frecuencia y por consiguiente la degradación del LDPE como lo determinaron Uribe, Gutiérrez, Giraldo y Merino (2010).

### **8.7.3.- Pérdida en Peso**

En el curso de esta investigación es relevante evaluar la variación de peso en las muestras de LDPE, a fin de tener una noción de la actividad metabólica de los microorganismos.

Su desarrollo y crecimiento en el medio de cultivo implica que están usando el plástico como sustrato y fuente de alimento; por tanto, la masa de la muestra debe variar.

Una de los trabajos donde usan esta técnica de análisis de biodegradación es en el de Quinchía Figueroa, A.M., Maya Correa, S. (2015), aquí la evaluación de la degradación se mide con el cambio gravimétrico; se realizó a partir de las láminas incorporadas en el sustrato las cuales se pesaron al inicio y al final de la prueba para registrar los cambios de peso a los 6 meses de incubados. Para el pesaje final las láminas fueron lavadas con agua destilada y etanol.

Igualmente, en el trabajo de Espinoza Arias, L.M. (2018), se registró la masa de las muestras de LDPE antes y después de ser sometidas al tratamiento de degradación biológica.

Todas las muestras se encontraban completamente secas al momento de ser pesadas. El pesaje se realizó en una balanza analítica modelo Ohaus Explorer con precisión de cinco cifras significativas, perteneciente al Departamento de Ingeniería Química de la USFQ. Se tuvo especial cuidado en no contaminar las muestras con impurezas; éstas se manejaron siempre con guantes de látex y pinzas.

## 9.- Metodología

Después de analizar las diferentes técnicas para la biodegradación del polietileno de baja densidad la opción más factible para realizarse en el Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez es la técnica de pruebas de laboratorio (In vitro), esto debido a que son pruebas cuyas variables son casi completamente controladas, y se ubican en el laboratorio, los medios son conocidos y controlados con gran precisión, dando la posibilidad de comparar experimentos de diferentes laboratorios, en este caso con los distintos artículos anteriormente mencionados.

### 9.1.- Selección de Muestra

En este proyecto se realizó una amplia búsqueda bibliográfica en la que se enfoca la demostración de los microorganismos con capacidad para efectuar la degradación de polímeros sintéticos en experimentos realizados alrededor del mundo.

Los microorganismos elegidos para efectuar el tratamiento de degradación biológica a las muestras de polietileno de baja densidad fueron definidos en base a una extensa búsqueda bibliográfica. Se elaboró una lista de posibles candidatos (Tabla 1), los cuales demostraron tener cierta capacidad para degradar polímeros sintéticos en experimentos previos realizados alrededor de mundo.

El siguiente criterio de selección se basará en la disposición de las cepas y su facilidad de obtención del Laboratorio de Microbiología del Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez, los hongos que se desean para el tratamiento de degradación biológica son *Aspergillus sp.*, *Cladosporium sp.*, *Penicillium sp.*, *Trichoderma sp.* y *Fusarium* por su alta capacidad de biodegradación de LPDE.

### 9.2.- Preparación de Medios de Cultivo para la Réplica de los Microorganismos

El medio de cultivo elegido para replicar o aislar los microorganismos fue agar de papa y dextrosa (PDA), a causa de la afinidad de los hongos de crecer en este medio de cultivo. (Sánchez, 2010).

En primer lugar, se calculó cuánto PDA en polvo se necesitaría para el volumen de medio requerido. La cantidad a utilizar por litro de solución es detallada por el fabricante. Usualmente, 800ml de medio en solución rinden para 25-30 cajas Petri. (Espinoza Arias, L.M. 2018).

En una botella de vidrio se disolvió el medio en polvo con agua destilada, para luego someter la mezcla a calentamiento en una hornilla. Este procedimiento se realizó con agitación

constante, hasta el punto de ebullición de la solución. Posteriormente, se la introdujo en la autoclave durante 20 minutos a 121°C.

Acabado el proceso de esterilización, se extrajo la botella del equipo y se la enfrió hasta que ésta fue tolerable al tacto. Inmediatamente, se procedió a dispensar el medio en cajas Petri, a fin de que el agar no se solidificase en la botella. Este procedimiento se realizó en la cámara de flujo laminar de Laboratorio de Biotecnología Agrícola y Ambiental I, bajo condiciones de asepsia. Finalmente, se guardó los medios en una bolsa plástica, la cual se etiquetó y almacenó a 4°C. (Espinoza Arias, L.M. 2018).

### **9.3.- Réplica y Aislamiento de Hongos**

La réplica de un microorganismo consiste en reproducir el ser vivo en un medio de cultivo diferente, a fin de que crezca exitosamente, pueda ser utilizado, y la muestra original pueda ser conservada para futuras réplicas. Los microorganismos replicados fueron las cepas de *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Penicillium* y *Cladosporium*.

Se procedió entonces a replicar las muestras de interés a partir de cultivos almacenados en el Banco del Laboratorio de Biotecnología Agrícola y de Alimentos II de la USFQ.

El medio de cultivo (PDA) fue preparado con antelación, de manera que las cajas Petri estaban listas al momento de la siembra. Los cultivos se abrieron cuidadosamente y se reprodujo cada uno de ellos por técnica de punción. Este procedimiento se realizó por duplicado, en cámara de siembra, con material autoclavado y cumpliendo con todas las condiciones de asepsia del caso.

Finalizado el proceso, se sellaron y etiquetaron todas las cajas. Para su crecimiento, éstas fueron introducidas en una incubadora a 30°C. El tiempo de crecimiento varía en los microorganismos utilizados. Generalmente les toma de 3 a 5 días en crecer. Finalmente se trasladó las muestras de la incubadora al frigorífico, donde estas se conservan y su crecimiento se detiene. (Espinoza Arias, L.M. 2018).

### **9.4.- Identificación Taxonómica**

En el análisis microscópico, se identificaron el tipo de estructuras y se descartaron los posibles elementos que den lugar a confusiones como fibras de hisopo, calcificaciones, gotas de grasa etc. En el análisis macroscópico, se analizó la textura de la superficie de la colonia, la forma y el grosor, la pigmentación, los bordes, el tamaño y la tasa de crecimiento (Porres Osante & Ruiz Ruiz, 2018 como se menciona en Cedeño, Domínguez, J. C. y Merino Cordero, J.G. (2020).

### 9.5.- Medio Mínimo Mineral

El tratamiento de degradación biológica del proyecto se realizó en medio mínimo mineral, el cual consiste en una mezcla de varias sales presentes en diversas concentraciones.

Dichas sales proporcionan los electrolitos y minerales necesarios para el crecimiento de los microorganismos; sin embargo, los nutrientes básicos como el nitrógeno y fósforo se encuentran en cantidades limitadas. La concentración de carbono en el medio es nula, a fin de obligar al hongo a tomar aquel que está presente en las cadenas poliméricas de la muestra de plástico como alimento (Tien & Kirk, 1988).

El medio mínimo utilizado está compuesto por una solución principal para 1L de agua destilada (tabla 2) y una solución de trazas para 500ml de agua destilada (tabla 3). (Espinoza Arias, L.M. 2018).

**Tabla 3**

*Composición del medio mínimo mineral*

Especie	Cantidad
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	3.8 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.8 g
MgSO <sub>4</sub>	0.02 g
FeSO <sub>4</sub>	0.03 g
CaSO <sub>4</sub>	0.01 g
NaCl	0.5 g
NH <sub>4</sub> Cl	0.3 g
Solución de trazas	1 ml

**Tabla 4**

Composición de la solución de trazas

Especie	Cantidad
MnSO <sub>4</sub>	0.2 g
ZnSO <sub>4</sub>	0.022 g
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Trazas
CuSO <sub>4</sub>	Trazas

**9.6.- Preparación Inicial de las Muestras de LDPE.**

Para la preparación de las muestras de LDPE (plástico film) se recortaron cuadrados de aproximadamente 15 cm por 20 cm de la lámina de LDPE, con un peso aproximado de 500 miligramos. Luego, se midió y registró la masa de cada muestra en una balanza analítica. Se etiquetó y dividió las láminas en 3 grupos diferentes, de acuerdo con los tratamientos a los que se las sometió. Dichos grupos se detallan en la tabla 4 a continuación.

**Tabla 5***Grupos de muestras experimentales*

Tratamiento	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
Envejecimiento térmico		X	X
Degradación biológica			X

Las muestras del grupo 1 no fueron sometidas a ningún tratamiento, las muestras del grupo 2 fueron sometidas a un tratamiento de envejecimiento térmico y las muestras del grupo 3 fueron sometidas a ambos tratamientos. (Espinoza Arias, L.M. 2018).

**9.7.- Tratamiento Físico de Envejecimiento.**

Se realizó un tratamiento físico de envejecimiento térmico a las muestras de plástico del grupo 2. Para ello se sumergió cada una de las muestras en 150 ml de agua destilada, en frascos de vidrio de 300 ml. Los frascos fueron tapados con papel aluminio, y posteriormente

autoclavados a 121°C por 20 minutos. Después, las muestras fueron extraídas de los frascos para luego ser introducidas en una cámara de secado a 30°C por 48h. El paso final fue pesarlas nuevamente en la balanza analítica y registrar la variación de la medición con respecto al primer pesaje (Nguyen, 2014).

## **9.8.- Preparación, Análisis y Caracterización de las Muestras de Cultivo**

### **9.8.1.- Preparación del LDPE Previo al Tratamiento de Envejecimiento Térmico.**

Se tomó una porción de LDPE sin haber sido sometida a ningún tratamiento, del mismo lote utilizado en todos los experimentos, para ser analizada y caracterizada con los métodos propuestos. El objetivo de este control es confirmar que la composición de la muestra de plástico corresponde a aquella establecida por el fabricante. De esta manera, se obtiene el punto de partida para comparar los resultados obtenidos en los análisis de las diversas muestras experimentales. (Espinoza Arias, L.M. 2018).

### **9.8.2.- LDPE Posterior al Tratamiento de Envejecimiento Térmico**

Se recortó cuatro láminas de LDPE de tamaño similar, se midió y registró su masa. Después se las expuso al tratamiento de envejecimiento térmico. Luego se las secó y pesó; para finalmente someterlas a los métodos de análisis y caracterización propuestos. El objetivo de este control fue analizar el efecto del tratamiento de envejecimiento térmico en las muestras de plástico. (Espinoza Arias, L.M. 2018)

### **9.8.3.- Control Negativo de Crecimiento Microbiano**

Como se menciona en Espinoza Arias, L.M. (2018) se preparó las muestras de LDPE de igual manera que para el caso anterior. Después se las sumergió en recipientes con 150 ml de medio mineral. Éstos pasaron nuevamente por la autoclave, para luego ser encubadas por un período de 90 días, en las mismas condiciones que las demás muestras experimentales. El objetivo de este control fue analizar el efecto de las sales en solución presentes en el medio mineral sobre las muestras de plástico, sin la presencia de microorganismos.

### **9.8.4.- Control Positivo de Crecimiento Microbiano**

Se preparó las muestras de LDPE de igual manera que para el control negativo de crecimiento. Adicionalmente se agregaron 30 gramos de sacarosa en cada frasco, a fin de



concentrarla al 20% en peso. Los frascos pasaron nuevamente por la autoclave, para luego ser inoculados con material biológico (usando la misma metodología que se detalló anteriormente).

Se inoculó 3 frascos por cada cepa de microorganismo, y se las encubó por un período de 90 días, en las mismas condiciones que las demás muestras experimentales. El objetivo de este control fue analizar la selectividad del microorganismo por la muestra de plástico, teniendo a disposición la sacarosa como fuente directa de carbono. Este control sirve también para confirmar la fuerza, crecimiento y desarrollo del microorganismo en los medios de cultivo. (Espinoza Arias, L.M. 2018)

### **9.9.- Tratamiento de Desinfección del LDPE, Previo a la Inoculación de Hongos Filamentosos en Cajas Petri.**

En primer lugar, se etiquetó frascos de 300ml suficientes para cada muestra a inocular. Después, se agregaron 150 ml del medio mineral preparado con anterioridad a cada frasco, como se observa en la figura 6. A continuación, se colocó la muestra de plástico seca y envejecida dentro de los recipientes y luego se los tapó con papel aluminio. Éstos fueron autoclavados a 121°C por 20 minutos, proceso después del cual se dejaron enfriar y se trasladaron a la cámara de siembra para su inoculación con material biológico.

Con las muestras de microorganismos listas, se procedió a extraer el micelio y esporas de cada hongo utilizando la técnica de raspado. Para ello se vertió en el interior de la caja de cultivo del microorganismo a tratar una pequeña porción de medio mineral. Usando un asa, se frotó suavemente el fondo de la caja, con la intención de disolver al microorganismo en el medio de cultivo. Después, se trasladó el contenido de la caja en un tubo ependorff, y con una micropipeta, se absorbieron 1000 microlitros de la solución de raspado y se inoculó cada una de las muestras. Finalmente, éstas fueron tapadas con papel aluminio y almacenadas para su incubación en un sitio fresco y privado de luz. (Espinoza Arias, L.M. 2018)

### **9.10.- Métodos de análisis de las muestras resultantes del experimento**

#### ***9.10.1.- Determinación del peso seco de polietileno residual (polietileno biodegradado).***

(Orr, Hadar, & Sivan, 2004) como se menciona en Cedeño, Domínguez, J. C. y Merino Cordero, J.G. (2020) para facilitar la medición del peso del polietileno residual, la biopelícula formada se lavó de la superficie de polietileno con dodecilsulfato sódico (SDS) al 2% durante 4 h, seguido de lavado con agua destilada.

Se registró la masa de las muestras de LDPE antes y después de ser sometidas al tratamiento de degradación biológica. Todas las muestras se encontraban completamente secas al momento de ser pesadas. El pesaje se realizó en una balanza analítica modelo Ohaus Explorer con precisión de cinco cifras significativas, perteneciente al Departamento de Ingeniería Química de la USFQ. Se tuvo especial cuidado en no contaminar las muestras con impurezas; éstas se manejaron siempre con guantes de látex y pinzas. (Espinoza Arias, L.M. 2018).

## **10.- Resultados y Discusión**

Los microorganismos eficientes han sido reportados como una alternativa para solucionar los problemas de contaminación de agua y suelo. Ellos pueden utilizar los compuestos contaminantes presentes en las aguas y en el suelo como fuente de carbono y energía para su metabolismo y crecimiento; de ahí que el presente trabajo tuviera como objetivo mediante el análisis del estado del arte analizar a los microorganismos capaces de degradar el plástico.

En la tabla 1 del apartado 8.2, se puede encontrar enlistados los microorganismos reportados como degradadores de polietileno de baja densidad. Mediante la investigación se encontraron las técnicas, medios de cultivo y análisis de las muestras adecuadas para desarrollarse experimentalmente en el Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez.

### **10.1.- Selección y Cultivo de las Cepas de Microorganismos**

#### **10.1.1.- Selección de Microorganismos**

La selección de los microorganismos y el medio de cultivo se realizó con la investigación del estado del arte, en la tabla 1 del apartado 8.2 de este documento, donde se encuentran enlistados los microorganismos con mayor capacidad biodegradativa.

Con esta información se eligió el medio de cultivo ideal para reproducirse en el Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez. La información detallada del método se rescató del trabajo de Espinoza Arias, L.M. (2018).

#### **10.1.2.- Réplica de las Cepas Seleccionadas**

Se dividió el trabajo en dos grupos, el primero compuesto por las especies de esporulación rápida (*Aspergillus*, *Trichoderma* y *Penicillium*) y el segundo compuesto por *Cladosporium*, *Pleurotus* y *Fusarium*. Las cepas del primer grupo se replicaron en la cámara de esporulación rápida, mientras que las del segundo grupo se replicaron en la cámara de flujo laminar; ambas ubicadas en el Laboratorio de Biotecnología Agrícola y de Alimentos II de la USFQ. (Espinoza Arias, L.M. 2018).

## 10.2.- Preparación y Tratamiento de las Muestras de LDPE

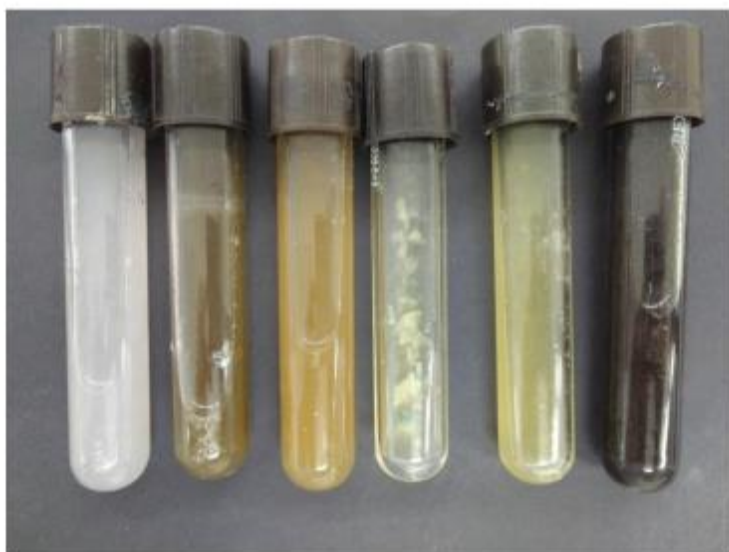
### 10.2.1.- Inoculación de los Medios de Cultivo

La inoculación de los medios de cultivo se inició con el raspado de las cepas, proceso que se realizó con cuidado, a fin de no despegar el medio de cultivo de la caja ni fragmentarlo.

En el caso de la muestra de *Aspergillus*, la solución resultó más densa y concentrada que el resto, a causa de la gran cantidad de micelio que había crecido en la caja Petri. En el caso de la cepa de *Cladosporium*, se observaron pequeños cuerpos fructificados que sobresalían del micelio. Al realizar su raspado, hubo una pequeña cantidad de fragmentos sólidos que pasaron al tubo de ensayo, los cuales significaron una dificultad adicional al momento de succionar la alícuota de solución con la micropipeta. (Espinoza Arias, L.M. 2018).

### Figura 12

*Inóculo de las cepas utilizadas; de izquierda a derecha: Fusarium, Penicillium, Cladosporium, Pleurotus, Trichoderma y Aspergillus*



### 10.2.2.- Tratamiento de Envejecimiento Térmico

Con el tratamiento de envejecimiento térmico se inicia el proceso de degradación del LDPE. Su realización es clave para la obtención de resultados significativos en cortos tiempos de cultivo (Gutiérrez, 2003). Se encontró que, después de ser sometidas a condiciones de alta temperatura (121°C) y humedad en la autoclave, las láminas se adhirieron por sus extremos y se encogieron; tal y como se observa en la figura. La apariencia física de la muestra también cambió, revelando una superficie opaca y arrugada; sin embargo, ésta no se volvió significativamente más quebradiza o frágil.

### **10.3.- Análisis y caracterización de las muestras después del tratamiento de degradación biológica**

#### **10.3.1.- Cambios durante el período de cultivo**

Muestras experimentales.

La primera observación de las muestras inoculadas se realizó a los 15 días de haberse iniciado el período de cultivo. Lo más destacable que se encontró fue una ligera sedimentación del medio mineral en el fondo de los frascos. Esto ocurrió en todas las muestras, y se explica dada la falta de agitación en el sistema. Si bien al momento de la inoculación, el medio conformaba una mezcla aparentemente homogénea, el enfriamiento y reposo produjeron una precipitación de solutos (Harris, 2011).

En lo que respecta a las muestras que permanecieron en cultivo 60 y 90 días, la única variación observada, aparte de las ya mencionadas, fue un aumento paulatino de la coloración de la superficie de las muestras de LDPE. Esto indicó la adherencia del microorganismo a las muestras de polímero sintético, lo que se comprobó en los análisis realizados al finalizar el período de cultivo. (Espinoza Arias, L.M. 2018).

#### **10.3.2.- Control positivo de crecimiento microbiano**

Las muestras inoculadas en el control positivo crecieron rápidamente. Después de 24 horas, parte del micelio ya se puede ver en la superficie del plástico. Se expresó claramente que el micelio cultivado en el medio de cultivo mostró el mismo aspecto y color que la cepa original cuando se separó en las respectivas placas Petri.

Además, cabe señalar que, aunque algunas hifas crecen en la superficie de la muestra plástica, el hongo crece principalmente en la superficie del medio de cultivo. (Gajendiran, Krishnamoorthy, & Abraham, 2016). Al extraer muestras de plástico de su medio de cultivo, lo primero que se notó fue el crecimiento de una gran cantidad de material biológico que se adhirió a la muestra. Según la geometría del contenedor, la acumulación de material biológico es circular.

También se registró que el tono de color del medio cambió significativamente en algunas cepas. En algunos casos, conserva un tono amarillo fuerte, mientras que, en otros casos, se observa un tono rojo anaranjado.

La explicación radica en los metabolitos producidos por diferentes tipos de hongos. Cabe destacar que, debido a la adición de sacarosa a la sacarosa, la actividad metabólica de los microorganismos en el control positivo es mucho mayor que en las muestras experimentales. (Gajendiran, Krishnamoorthy, y Abraham, 2016) como se menciona en Espinoza Arias (2018).

**Figura 13**

*Controles positivos*



### **10.3.3.- Pérdida en Peso**

En el curso de esta investigación es relevante evaluar la variación de peso en las muestras de LDPE, a fin de tener una noción de la actividad metabólica de los microorganismos. Su desarrollo y crecimiento en el medio de cultivo implica que están usando el plástico como sustrato y fuente de alimento; por tanto, la masa de la muestra debe variar (Shah, Hasan, Hameed, & Ahmed, 2008).

### **10.3.4.- LDPE posterior al tratamiento de envejecimiento térmico**

Después de pesar 94 muestras de LDPE antes y después del tratamiento de envejecimiento térmico, se registró una pérdida leve de  $0.088 \pm 0.576\%$ . La distribución de los valores experimentales obtenidos se observa en el Anexo K.

## **10.4.- Discusión**

En la búsqueda de literatura se encontraron una gran cantidad de artículos, tesis, páginas web y muchas otras fuentes de información relacionadas a la biodegradación del polietileno de baja densidad, de las cuales, se tomaron los resultados experimentales de las investigaciones de los últimos 5 años. Se encontraron investigaciones con hongos, bacterias, y otras con técnicas cualitativas y cuantitativas de los polímeros, así como artículos relacionados con los pretratamientos de los polímeros.

Aunque para nuestra metodología se eligió la técnica de pruebas de laboratorio in vitro, basado en el trabajo de Espinoza Arias, (2018) y del trabajo de de Cedeño, Domínguez, J. C. y Merino Cordero, J.G. (2020), muchos de los trabajos realizaron técnicas diferentes, una de las más utilizadas en los artículos y tesis encontradas es la técnica de pruebas de campo en medios naturales; en estos trabajos se demostró el potencial de la microflora que se encontraba presente en suelos como degradadores de materiales contaminantes como son los plásticos.

Algunos de los trabajos donde podemos encontrar respaldo de esta afirmación es en el de Mostajo Zavaleta, M. N., Ochoa Cámara, M.L, Ambur Soncco, R.L. (2017), donde de las 7 cepas degradadoras de polietileno aisladas con las que trabajaron, 4 corresponden al hongo *Aspergillus flavus* provenientes del botadero de Sicuani, tres cepas aisladas de superficie, una a 50 cm de profundidad; dos cepas de *Aspergillus terreus* aisladas de la superficie del botadero de Calca.

Las cepas más eficientes en la degradación de polietileno de baja densidad, corresponden a *Aspergillus flavus* con un promedio de 36 %, aisladas de superficie y 50 cm de profundidad, del botadero de Sicuani (Anexo A).

En las vías de las afueras de muchas ciudades, rellenos sanitarios, ríos y otros cuerpos de agua, se encuentran una gran cantidad de residuos sólidos sin un tratamiento adecuado, el polietileno es uno de los contaminantes que causa mayor impacto en el ambiente por su tiempo de degradación. Los materiales de polímeros son resistentes a la oxidación, a los efectos de la luz solar y las propiedades térmicas, es rígido y resistente a la atracción y su uso es principalmente para la fabricación de bolsas y botellas.

La actividad microbiana sobre los plásticos está dada por una acción enzimática, muchos autores proponen que la misma enzima iniciadora de la degradación de hidrocarburos (alcano monoxigenasa) es la responsable del ataque microbiano sobre la superficie de los polímeros sintéticos. (Jeon & Kim, 2015) como se menciona en Acuña Molina, N.R. (2017).

En otros trabajos se han aislado diferentes especies de hongos, bacterias, técnicas de bioremediación pero debido a la contingencia de salud que se vive en la actualidad, no se logró realizar la experimentación de alguna de estos medios de realización de pruebas ni de la metodología propuesta, ya que el proceso de cultivo, aislamiento e incubación requiere de mucho tiempo en laboratorio; una cuestión que no era posible ante la situación actual.

## 11.-Conclusiones

Por medio de las referencias bibliográficas, así como toda la información recopilada, se llega pudieron llegar a las siguientes conclusiones y recomendaciones.

que existen diferentes fuentes y artículos donde se emplea este análisis y la probabilidad que

Los hongos del género *Aspergillus* han demostrado ser los más eficientes en la biodegradación del LPDE, esto aunado a la técnica de pruebas de campo con medios naturales; así se respalda con trabajos como el de Mostajo Zavaleta, M. N., Ochoa Cámara, M.L, Ambur Soncco, R.L. (2017), donde de las 7 cepas degradadoras de polietileno aisladas, 4 corresponden al hongo *Aspergillus flavus* provenientes del botadero de Sicuani, tres cepas aisladas de superficie, una a 50 cm de profundidad; dos cepas de *Aspergillus terreus* aisladas de la superficie del botadero de Calca.

Las cepas más eficientes en la degradación de polietileno de baja densidad, corresponden a *Aspergillus flavus* con un promedio de 36 %, aisladas de superficie y 50 cm de profundidad, del botadero de Sicuani (Anexo A). El Consorcio I constituido por 3 cepas de *Aspergillus flavus* fue el más eficiente con 44.3% de degradación de polietileno de baja densidad.

Como se ha mencionado antes la técnica elegido para nuestra metodología fue la de pruebas de laboratorio in vitro, debido a las condiciones controladas que nos brinda el laboratorio del Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez, la metodología que se emplea documentalmente en este proyecto es exitosa porque existen hechos científicos que abalan que se puede realizar la degradación del polietileno de baja densidad por medio de cepas de diferentes hongos como es el *Aspergillus sp.* y *Penicillium sp.*

La metodología usada fue la del trabajo de Espinoza Arias (2018), en donde la cepa de *Fusarium* utilizada reveló ser la más apta para degradar LDPE entre todas las especies estudiadas, mostrando una pérdida en peso media de 0.99% +/- 0.11% en las muestras de LDPE cultivadas durante 90 días. El desempeño de la cepa de *Aspergillus* fue satisfactorio, aunque en menor grado. Se comprobó también que las cepas de los microorganismos estudiados estaban activas al momento de la inoculación, y que éstos son capaces de crecer y desarrollarse, en diferentes grados, en las condiciones experimentales propuestas.

De todas maneras, el análisis por variación de peso no es un indicador verás para cuantificar masa bioasimilada, debido a que factores como la erosión de superficie, adherencia de cristales salinos, adherencia de hongo, restos de metabolitos, entre otros entran como nuevas variables a ser tomadas en consideración.



Teniendo en cuenta que el LDPE es un polímero sintético de difícil degradación, este debe sufrir pretratamientos como lo son: la adición de sustancias oxo-degradables y la fototermodegradación siendo de gran utilidad para la biodegradación del LDPE ya que permiten que sean más susceptibles a los microorganismos porque quedan expuestos grupos carbonilo (-CO) que son más fácil de metabolizar.

Se puede realizar estudios con consorcios microbianos para la biodegradación del LDPE, que se puedan utilizar como una manera más efectiva en la biodegradación. En este estudio se concluyó que hay posibilidad de avanzar en la investigación de la biodegradación del LDPE; teniendo en cuenta que se pueden realizar estudios con consorcios microbianos (bacterias y hongos) para la biodegradación.

Algunas de las recomendaciones para futuras investigaciones o para la continuación del presente proyecto son: realizar un análisis de microscopia electrónica de barrido o espectroscopia infrarroja por transformadas de Fourier, para poder identificar con profundidad los cambios causados en el LDPE después de la acción de los microorganismos.

Se puede avanzar en el estudio de las enzimas implicadas en este mecanismo de despolimerización del LDPE, ya que según este estudio hay más que explorar en este tema.

Es importante mencionar que se logró la identificación y caracterización de microorganismos degradadores de LDPE, así como conocer e identificar la importancia de la Biodegradación del LDPE y su impacto ambiental. A través de explorar el estado del arte se encontró el uso de tratamientos biocorrectivos para la Biodegradación del LDPE. También se describieron a profundidad los principales microorganismos y técnicas que se utilizan en la biotransformación para la Biodegradación del LDPE.

Finalmente se puede recomendar continuar con la investigación, ya sea con la metodología propuesta o con otras técnicas que hayan comprobado su eficiencia en la biodegradación del LDPE.

## 12.-Competencias desarrolladas

Durante la realización del proyecto de residencia para el Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez se utilizaron y desarrollaron las siguientes competencias:

Comprensión sistemática de un campo de estudio y dominio de las habilidades y métodos de investigación relacionados con dicho campo.

Capacidad de diseñar y poner en práctica un proyecto de investigación.

Capacidad para contribuir a la ampliación de las fronteras del conocimiento a través de las investigaciones originales de diversos autores.

Capacidad de fomentar, en el contexto académico, el avance científico, tecnológico, social, dentro del instituto con un proyecto de residencia profesional.

Capacidad para evaluar trabajos científicos de otros investigadores de su campo de tesis.

Desarrollar la investigación cuidando todos sus aspectos éticos, tanto los específicamente científicos como aquellos que garantizan un servicio eficaz a la sociedad.

Capacidad de organizar y planificar las actividades a realizar durante el periodo de residencia profesional.

Habilidades de gestión de información (habilidad para buscar y analizar información proveniente de fuentes diversas para desarrollar un proyecto de investigación basado en el estado del arte de la biodegradación del LDPE.)

Capacidad de aplicar los conocimientos adquiridos durante la carrera, con mayor interés los relacionados a la especialidad de contaminación ambiental, en el proyecto de residencia propuesto.

Capacidad de adaptarse a nuevas situaciones; en especial por la situación de contingencia de salud actual, la cual hizo imposible llevar a cabo el proyecto de residencia al campo experimental de laboratorio.

Habilidad para trabajar en forma autónoma debido a que la contingencia por COVID-19 no permitía realizar el proyecto en el laboratorio de Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez.

Capacidad para diseñar y gestionar proyectos; modificar el proyecto de residencia que se tenía planeado con antelación, pasar de un proyecto experimental a un de investigación basado en el estado del arte de la biodegradación de polietileno de baja densidad.

### 13.- Referencias

#### Revistas

Acurio Ramiro et al. (2017). AISLAMIENTO, CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE *Trichoderma* spp. COMO PROMOTOR DE CRECIMIENTO VEGETAL EN PASTURAS DE RAYGRASS (*Lolium perenne*) Y TRÉBOL BLANCO (*Trifolium repens*). *La granja: Revista de Ciencias de la vida*, Vol. 5, Núm.1.

<https://revistas.ups.edu.ec/index.php/granja/article/view/25.2017.05>

Arotoma, F., Apaclla, A., Sánchez, V.G., Saldaña, J.E y Enríquez, J.D. (2015). BIODEGRADACIÓN DEL POLIETILENO DE BAJA DENSIDAD CON *Staphylococcus* sp. AISLADO DEL BOTADERO DE ASCENSIÓN HUANCAVELICA. *Revista de Investigación Científica XXI*, Vol. 1 Núm 1. 31-40.

<https://revistas.unh.edu.pe/index.php/rscsxxi/article/view/21>

Callo Arela, M, Franklin Sacaca, M., Callata Churac, R.A, Vigo Rivera y J.E, Calla Calla, J. (2020). Biodegradación de polímeros de plástico por *Pseudomonas*. *Revista de Investigación: Ciencia, Tecnología y Desarrollo*, Volumen 6 Número (2): 46-59.

[https://revistas.upeu.edu.pe/index.php/ri\\_ctd/index](https://revistas.upeu.edu.pe/index.php/ri_ctd/index)

Cruz Muñoz, R. et al. (2015). Producción de pigmentos de *Pycnoporus sanguineus* en medio de cultivo sólido. *Agrociencia online*, vol.49, n.4, pp.347-359.

[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-31952015000400001](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952015000400001)

Kenneth et al. (2018). CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE *Fusarium oxysporum*. *Agronomía Costarricense*, 42(1), 115–126.

<https://www.scielo.sa.cr/pdf/ac/v42n1/0377-9424-ac-42-01-115.pdf>

Martínez B., Infante D.F., y Reyes Sánchez, Y. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Protección Vegetal*. Vol. 28, 11-21.

<http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v28n1/rpv01113.pdf>

Martínez et al. (2015). Taxonomía polifásica y variabilidad en el género *Trichoderma*.

*Revista de Protección Vegetal*, 30(5), 11–22.

<http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v30s1/rpv004s15.pdf>

Martínez Romo, A. R. González Mota, J. J., Soto Bernal, y Rosales Candelas, I. (2015). Investigating the Degradability of HDPE, LDPE, PE-BIO, and PE-OXO Films under UV-B Radiation. *J. Spectrosc.*, vol. 2015, pp. 1–6, 2015, doi: 10.1155/2015/586514.

Moretti, A. (2009). Taxonomy of *Fusarium* genus, a continuous fight between lumpers and splitters. *Institute of Sciences of Food Production, ISPA-CNR.*, 7-13.

<https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=RS2010000237>

Mostajo Zavaleta, M. N., Ochoa Cámara, M.L, Ambur Soncco, R.L. (2017). Efectividad de cepas de *Aspergillus* y *Penicillium* en la degradación de polietileno de baja densidad aislados en los botaderos de los Distritos de Sicuani y Calca- Cusco. *CANTUA*, 16: 54-6.

<https://revistas.unsaac.edu.pe/index.php/cantu/article/view/633>

Muñoz Malajovich, M.A. (2015). Comparación de métodos de siembra. *ArgenBio*, Volumen 11, 23-29, doi: 10.13140/RG.2.1.2536.7284.

[https://www.argenbio.org/images/La\\_biotechnologia/Cap\\_2/Cultivos\\_celulares\\_II.pdf](https://www.argenbio.org/images/La_biotechnologia/Cap_2/Cultivos_celulares_II.pdf)

Ortega, R.I. y Acosta, I. (2021). DEGRADACIÓN DE POLIETILENO DE BAJA DENSIDAD POR *Fusarium solani*. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 12 (2), 13-31.

<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8081179>

Posada Bustamante, B. (2012). La degradación de los plásticos. *Revista Universidad EAFIT*, vol. 30, núm. 94. pp. 67–86. <https://publicaciones.eafit.edu.co/index.php/revista-universidad-eafit/article/view/1408>

Powers-fletcher, M. V, Kendall, B. A., Griffin, A. T., & Hanson, K. E. (2016). Filamentous Fungi. *Microbiology Spectrum.*, 1–29.

<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.DMIH2-0002-2015.Correspondence>

- Quinchía Figueroa, A.M., Maya Correa, S. (2015) “Degradabilidad de Polietileno de Baja Densidad –LDPE utilizando *Pycnoporus sanguineus* UTCH 03”, *Esc. Ing. Antioquía*, Vol. 6, p. 9. <https://acofipapers.org/index.php/eiei/article/download/1153/1156>
- Reyes Reyes, B.G., Arsaluz Reyes, J.I., Vázquez Rivera, H., Domínguez Romero, D., y Martínez Campos, A. R. (2013). AISLAMIENTO Y PURIFICACIÓN DEL HONGO ECTOMICORRÍZICO *Helvella lacunosa* EN DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 16(1),51-59. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=93927469006>
- Shabbir, S., Faheem, M., Ali, N., Kerr, P. G., Wang, L. F., Kuppusamy, S., & Li, Y. (2020). Periphytic biofilm: An innovative approach for biodegradation of microplastics. *Science of the Total Environment*, 7-17. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137064>
- Sudhakar, M., Doble, M., Murthy, P. S., & Venkatesan, R. (2008). Marine microbemediated biodegradation of low- and high-density polyethylenes. *International Biodeterioration and Biodegradation*, Vol 61, No3, pp. 203–213.
- Uribe, D., Giraldo, D., & Gutiérrez, S. (2010). Biodegradación de polietileno de baja densidad por acción de un consorcio microbiano aislado de un relleno sanitario, Lima, Perú. *Revista Peruana de Biología*, 17(1), 133–136. [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1727-99332010000100017](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-99332010000100017)
- Zan L., Fa W., Wang S. (2006). Novel photodegradable low-density polyethylene-TiO<sub>2</sub> nanocomposite film. *Environ Sci Technol*, 40(5):1681-5. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16568787/>

### **Tesis, disertaciones y proyectos de investigación**

- Acuña Molina, N.R. (2017). *Revisión bibliográfica sobre los microorganismos degradadores del polietileno de baja densidad y sus efectos en el material*. [Tesis de licenciatura, Universidad Distrital Francisco José de Caldas].

<https://repository.udistrital.edu.co/bitstream/handle/11349/5608/Acu%c3%b1aMolinaNelsonRicardo2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Calcetero Moreno, L.A. y Mancera Hernández, J.C. (2021). *EVALUACIÓN DEL PROCESO DE COLONIZACIÓN Y DEGRADACIÓN DE POLIETILENO DE BAJA DENSIDAD POR INÓCULO DE ASPERGILLUS NIGER EN HUMUS Y COMPOSTAJE DOMÉSTICO*. [Tesis de licenciatura, FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA].

<https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/8303/1/6161802-2021-1-IQ.pdf>

Cedeño, Domínguez, J. C. y Merino Cordero, J.G. (2020). *VALORACIÓN INVITRO DE LA BIODEGRADACIÓN DE POLIETILENO DE BAJA DENSIDAD MEDIANTE HONGOS FILAMENTOSO AISLADOS DEL RELLENO SANITARIO DE PICHACAY*. Universidad Politécnica Salesiana. Ecuador

Chávez, M. (2006). *Producción de Trichoderma sp y evaluación de su efecto en cultivo de crisantemo*. [Tesis de licenciatura, Pontifica Universidad Javeriana].

<https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8312/tesis286.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Espinoza Arias, L.M. (2018). *Evaluación de la degradación de polietileno de baja densidad mediada por diferentes especies de hongos*. Universidad de San Francisco Quito. Ecuador.

González, A. (2019). *HONGOS ASOCIADOS A LA PUDRICIÓN DEL CACAO Theobroma cacao L. EN EL SOCONUSCO, CHIAPAS Y PATOGENICIDAD Y CONTROL IN VITRO DE Nodulosporium*. [Tesis de maestría, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO]. <https://doi.org/10.1016/j.jag.2018.07.004>

Gutiérrez Alvarez, A.I. (2019). *Biodegradación de polietileno de baja densidad utilizando hongos, bacterias y consorcios microbianos aislados del botadero municipal de Tacna*. [Tesis de licenciatura, Universidad Privada de Tacna].

<https://docplayer.es/215159472-Universidad-privada-de-tacna-facultad-de-ingenieria.html>

- Gutiérrez Pescador J.G. (2013). *Biodegradación de polietileno de baja densidad por consorcios microbianos*. [Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma de México].  
<https://repositorio.unam.mx/contenidos/biodegradacion-de-polietileno-de-baja-densidad-por-consorcios-microbianos-404040?c=%7B>
- Mayorga Leyva, C., Mendoza Téllez R. C., Soberanes Ramírez R. C., y Soberanes Ramírez, R.C. (2018). *Hongo come plástico*. Centro Educativo Cruz Azul. Hidalgo.
- Morales, M.N. (2008). *Obtención de sólidos carbonosos mediante pirólisis de polietileno de baja densidad*. [Tesis doctoral, Universidad Autónoma de Madrid].  
<https://docplayer.es/13487407-Universidad-autonoma-de-madrid-facultad-de-ciencias-seccion-de-ingenieria-quimica.html>
- Moreno Bayona, D.A. (2018). *Biotransformación de polietileno de baja densidad (LDPE) y LDPE oxo-biodegradable empleando Pleurotus ostreatus y residuos lignocelulósicos de pino (Pinus caribaea)*. [Tesis de maestría, Pontificia Universidad Javeriana]  
<https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/40333/Tesis%20maestri%C%81a-%20Diana%20Alejandra%20Moreno.pdf?sequence=2&isAllowed=y>

## Libros

- Bonifaz, A. (2012). *Micología Médica Básica*. (4ta ed.). McGraw Hill.
- Forbes, B. A. (2009). *Diagnóstico Microbiológico*. E. M. Panamericana.
- Muñoz Malajovich, M.A. (2015). *Introducción a las técnicas microbiológicas*. Biotecnología: enseñanza y divulgación. <http://bteduc.com>
- Soriano del Castillo, J. M. (2007). *Micotoxinas en alimentos*. Díaz de Santos.
- Suárez Estrella, F. (2002). *Persistencia y capacidad infectiva del hongo fitopatógeno Fusarium oxysporum en residuos vegetales de melón*. Universidad de Almería.

## Páginas web

Aprende en línea. (14 de abril 2011). *Mucor sp. Universidad de Antioquia*.  
<http://aprendeonline.udea.edu.co/lms/moodle/mod/resource/view.php?inpopup=true&id=100894>

Blogspot. (01 de junio 2011). *Tecnología de los plásticos, polietileno de baja densidad*.  
<https://tecnologiadelosplasticos.blogspot.com/2011/06/polietileno-de-baja-densidad.html>.

Echeverría, E., Hernández, L., González, M.E., Saavedra, R., Ahumada, P. y Santibaez J. (17 de agosto de 2020). *Boletín científico covid-19 n°11* 17. 1–19.  
<https://enlinea.santotomas.cl/wpcontent/uploads/sites/2/2020/08/Boleti%CC%81nCienti%CC%81fico-Covid-19.-N11-lqq.pdf>

Ecoembes. (08 de octubre de 2021). ¿Qué es y cómo se recicla el polietileno de baja densidad?  
<https://ecoembesdudasreciclaje.es/que-es-y-como-se-recicla-el-polietileno-de-baja-densidad/>

Litterthub, M. (2019). *Impacto del abandono del plástico en la naturaleza*.  
[https://proyectolibera.org/wpcontent/uploads/2019/03/Impactodelosplasticosabandonados\\_LIBERA-def-1.pdf](https://proyectolibera.org/wpcontent/uploads/2019/03/Impactodelosplasticosabandonados_LIBERA-def-1.pdf)

MedlinePlus en español. (28 de agosto de 2019). *Staphylococcus sp.*  
<https://medlineplus.gov/spanish/>

Muller, R, H., F, W., R, B., & N, K. (1993). *Producción, propiedades, aplicación de Biosurfactantes*. <https://www.redalyc.org/pdf/370/37014382006.pdf>

Salgado Garcigli, R. (2014). “*Bioplásticos: Productos y su biodegradabilidad*”.  
<https://www.sabermas.umich.mx/archivo/tecnologia/141-numero-1856/285-bioplasticos-productos-biodegradables.html>.



Sánchez, M. (18 de marzo de 2020). *Tipos de plásticos*. <https://prezi.com/p/wgiaw2htpic1/tipos-de-plasticos/>

SEGOB. (01 de febrero de 2013). *NORMA Oficial Mexicana NOM-161-SEMARNAT-2011*. [https://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5286505&fecha=01/02/2013#gsc.tab=0](https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5286505&fecha=01/02/2013#gsc.tab=0)

Shukman, D. (2018). *El “preocupante” hallazgo de partículas de plástico en botellas de agua de 11 marcas diferentes - BBC News Mundo*. <https://www.bbc.com/mundo/noticias-43411826>

Ortiz Hernández, M.L. (27 de mayo de 2013). *El impacto de los plásticos en el ambiente*. <https://www.jornada.com.mx/2013/05/27/eco-f.html>

Ramírez Hernández, A. y Navarro Moreno, L.G. (2010). *El polietileno, síntesis y degradación*. <http://www.comprendamos.org/alephzero/57/polietileno.html>.

Reciclajes Avi. (01 de septiembre 2020). *Reciclaje*. <http://reciclajesavi.es/sabes-cuantos-anos-tardan-en-degradarse-el-carton-el-plastico-o-el-vidrio/#:~:text=Las bolsas de plástico%2C fabricadas,1000 años si permanecen enterradas.>

Rodríguez, B. (06 de diciembre de 2016). *Atlas de identificación micológica*. <https://atlasdemicologia.wordpress.com/2016/03/17/mucor-spp/>

## 14.- Anexos

14.1.- Anexo A.- Resultados del trabajo “Efectividad de cepas de *Aspergillus* y *Penicillium* en la degradación de polietileno de baja densidad aislados en los botaderos de los Distritos de Sicuani y Calca- Cusco” por Mostajo Zavaleta, M. N., Ochoa Cámara, M.L, Ambur Soncco, R.L. (2017).

**Tabla 6**

*Especies de hongos degradadores de LDPE aislados a diferentes profundidades de los botaderos de Calca y Sicuani por Mostajo Zavaleta, M. N., Ochoa Cámara, M.L, Ambur Soncco, R.L. (2017).*

Profundidad	Cepas-Sicuani	% Degradación	Cepas-Calca	% de Degradación
Superficie	3AS <i>A.flavus</i>	50		
	3BS <i>A.flavus</i>	29	1AC <i>A.terreus</i>	15
	2CS <i>A.flavus</i>	14		
	---	----	1EC <i>A.terreus</i>	17
50 cm	1BS <i>A.flavus</i>	29		
	2AS <i>Penicillium</i> sp	15	-----	----

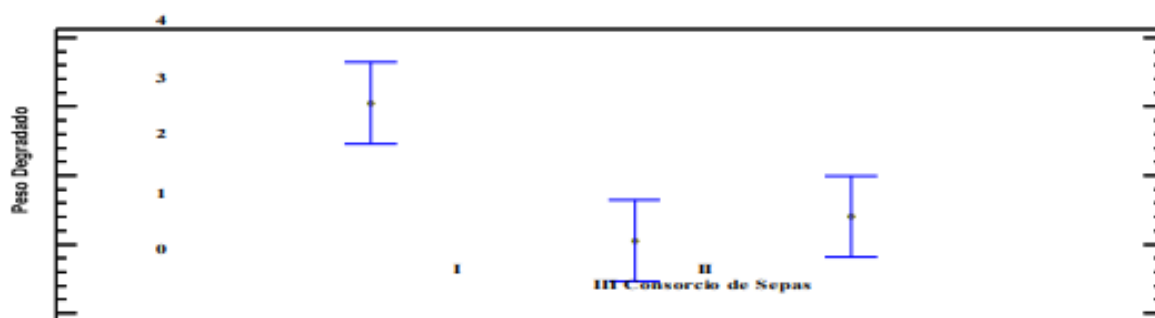
**Tabla 7**

*Porcentaje de degradación de polietileno de Consorcios de cepas.*

Consortio de cepas	% de degradación
I 3AS <i>A.flavus</i> 3BS <i>A.flavus</i> 2CS <i>A.flavus</i>	44.5
II 1AC <i>A.terreus</i> 1EC <i>A.terreus</i>	26
III 2CS <i>A.flavus</i> 2AS <i>Penicillium</i> sp.	19

**Figura 14**

*Eficiencia de degradación de polietileno de los 3 Consorcios de cepas evaluadas*



14.2.- Anexo B. Resultados de “VALORACIÓN IN VITRO DE LA BIODEGRADACIÓN DE POLIETILENO DE BAJA DENSIDAD MEDIANTE HONGOS FILAMENTOSOS AISLADOS DEL RELLENO SANITARIO DE PICHACAY” por Cedeño, Domínguez, J. C. y Merino Cordero, J.G. (2020).

**Tabla 8**

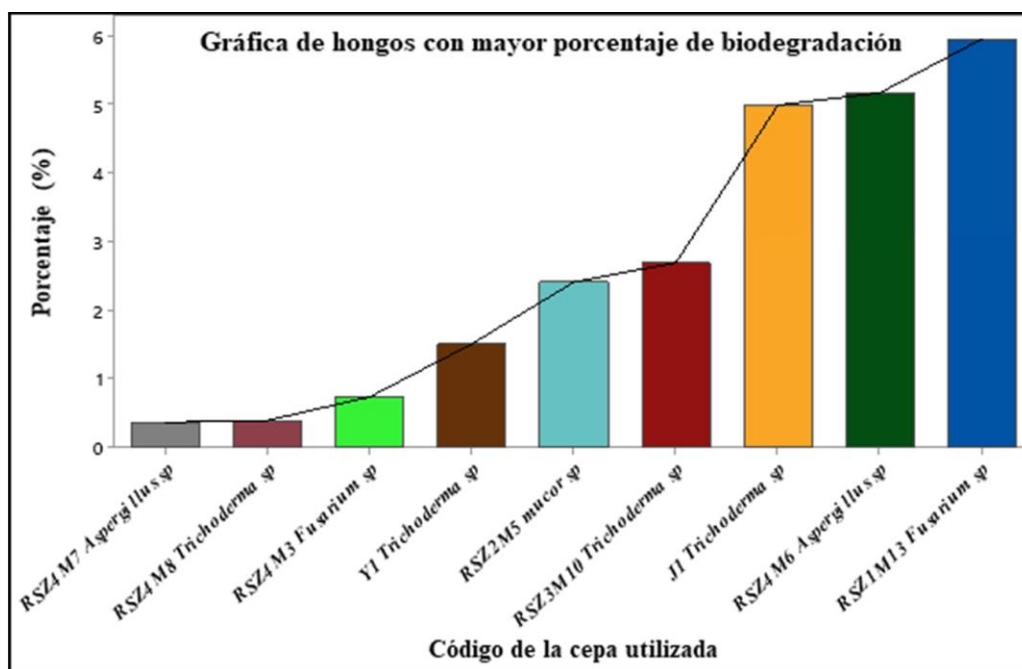
Resumen de las cepas que presentaron mayores porcentajes de biodegradación.

Código de la cepa	% de biodegradación del primer mes	% de biodegradación del segundo mes	% de biodegradación del tercer mes
<i>RSZ1M13-Fusarium sp</i>	0,08	0,05	5,94
<i>RSZ4M6-Aspergillus sp</i>	0,01	2,52	5,16
<i>J1-Trichoderma sp</i>	0	0,04	4,98
<i>RSZ3M10-Trichoderma sp</i>	0,01	2,47	2,69
<i>RSZ2M5-Mucor sp</i>	0	0,03	2,41
<i>Y1-Trichoderma sp</i>	1	1,45	1,51
<i>RSZ4M3-Fusarium sp</i>	0,04	0,06	0,74
<i>RSZ4M8-Trichoderma sp</i>	0,02	0,39	0,4
<i>RSZ4M7-Aspergillus sp</i>	0,06	0,32	0,37

Nota: La tabla muestra las principales cepas de hongos que presentan mayores porcentajes de biodegradación por Cedeño, Domínguez, J. C. y Merino Cordero, J.G. (2020).

**Tabla 9**

Porcentaje de biodegradación en los 90 días de tratamiento.



Nota: La gráfica representa los hongos que tienen mayor porcentaje de biodegradación, el diagrama de barras está en orden creciente donde RSZ1M13-Fusarium sp tiene mayor porcentaje de biodegradación (barra de color azul) seguidos por RSZ4M6-Aspergillus sp (barra de color verde) y J1 Trichoderma sp (barra de color naranja).

14.3. Anexo C.- Resultados de “ESTUDIO COMPARATIVO DE LA DEGRADACION DE POLIETILENO DE BAJA DENSIDAD MEDIADA POR DIFERENTES ESPECIES DE HONGOS COMO ES ASPERGILLUS & PENICILLIUM” por Avila Jaramillo, S.P. y Morán Peñafiel, H.E. (2020).

**Figura 15**

*Etapas de la investigación*



**Tabla 10**

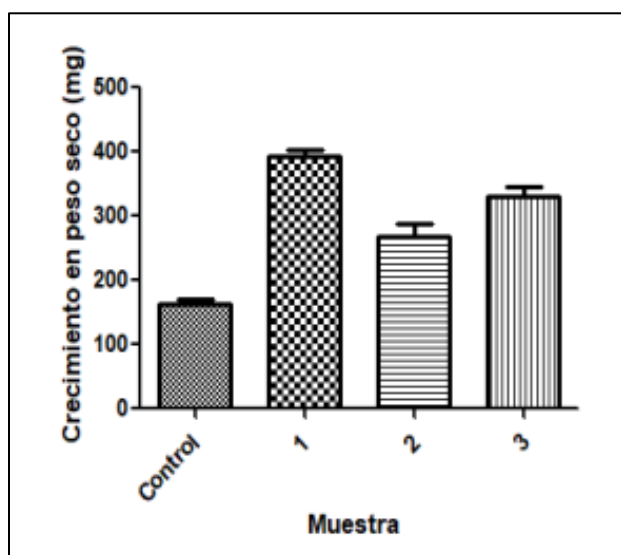
*Resultados de la búsqueda*

Artículos correspondientes a:	# Artículos:
<b>Biodegradación del PEBD utilizando hongos</b>	30
<b>Técnicas cualitativas y cuantitativas de los polímeros</b>	5
<b>Biodegradación utilizando microorganismos</b>	14
<b>Pre-tratamientos de los polímeros</b>	11
<b>Total</b>	60

14.4.- Anexo D. Resultados de “DEGRADACIÓN DE POLIETILENO DE BAJA DENSIDAD POR *Fusarium solani*” por Ortega, R.I. y Acosta, I. (2021).

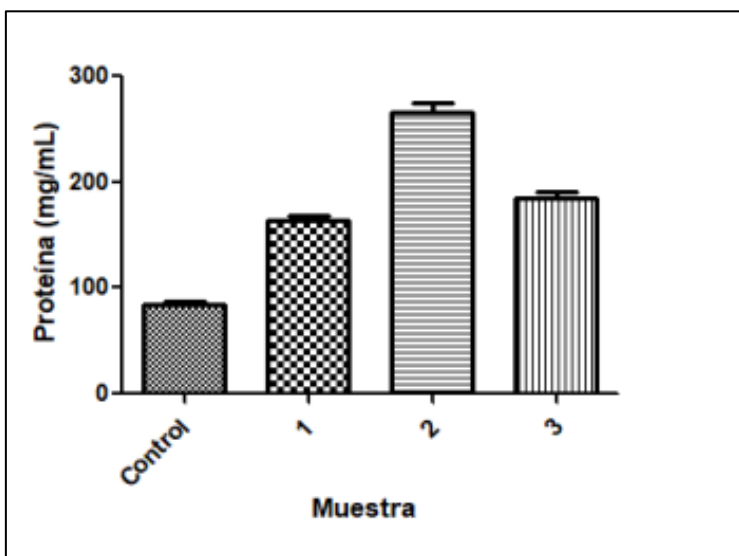
**Figura 16**

*Crecimiento en peso seco de Fusarium solani en presencia de polietileno de baja densidad. 28°C. 6 meses de incubación. Condiciones estáticas (1 x 10<sup>6</sup> células/mL) (1.- Control, 2, 3 y 4.- problemas). (P= <0.0001).*



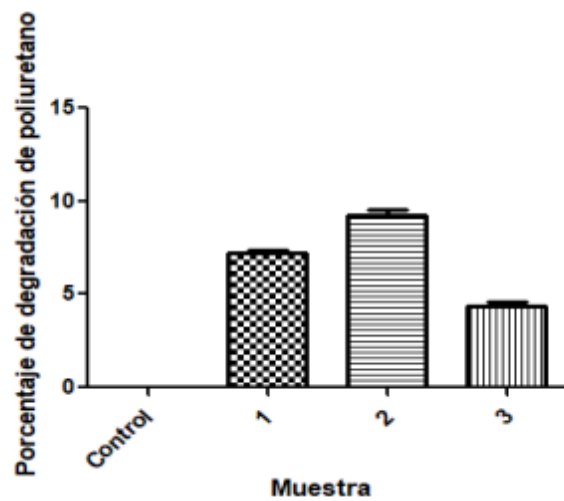
**Figura 17**

*Producción de proteína extracelular por Fusarium solani en presencia de polietileno de baja densidad. 28oC. 6 meses de incubación. Condiciones estáticas. (1 x10<sup>6</sup> células/mL. (1.- Control, 2, 3 y 4.- problemas). células/mL. (1.- Control, 2, 3 y 4.- problemas).*



**Figura 18**

Porcentaje de biodegradación de polietileno de baja densidad por *Fusarium solani* 28°C. 6 meses de incubación. Condiciones estáticas ( $1 \times 10^6$  células/mL). (1.- Control. 2, 3, 4.- Problemas) ( $P = <0.0001$ ).

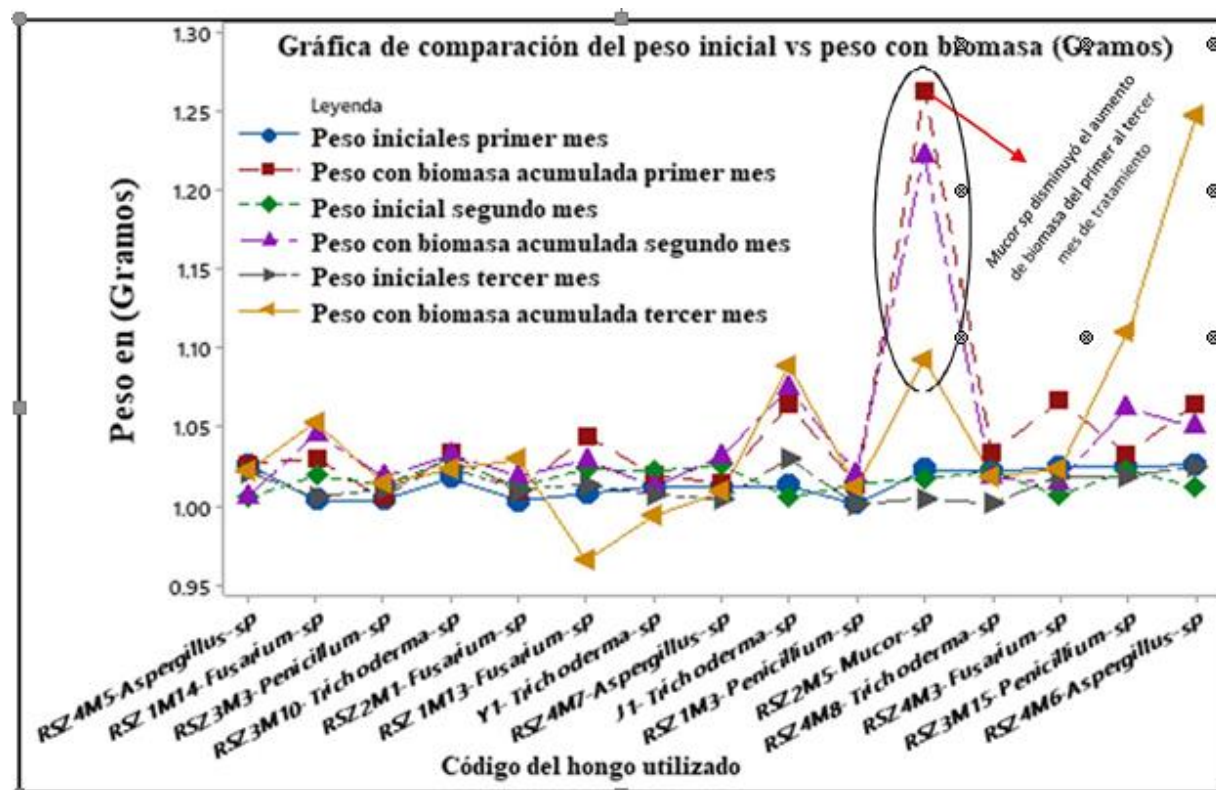




14.5.- Anexo E. Resultados de “VALORACIÓN IN VITRO DE LA BIODEGRADACIÓN DE POLIETILENO DE BAJA DENSIDAD MEDIANTE HONGOS FILAMENTOSOS AISLADOS DEL RELLENO SANITARIO DE PICHACAY” por Cedeño, Domínguez, J. C. y Merino Cordero, J.G. (2020).

**Tabla 11**

*Peso inicial del polietileno de baja densidad y peso con biomasa desde el primer mes hasta el tercer mes de tratamiento.*



14.6.- Anexo F. Resultados de “VALORACIÓN IN VITRO DE LA BIODEGRADACIÓN DE POLIETILENO DE BAJA DENSIDAD MEDIANTE HONGOS FILAMENTOSOS AISLADOS DEL RELLENO SANITARIO DE PICHACAY” por Cedeño, Domínguez, J. C. y Merino Cordero, J.G. (2020).

**Figura 19**

*Polietileno de baja densidad de la empresa OVIPLAX S.A.(A), y perlas de polietileno puro (B) por Cedeño, Domínguez, J. C. y Merino Cordero, J.G. (2020).*



**Figura 20**

*Desinfección de polietileno por Cedeño, Domínguez, J. C. y Merino Cordero, J.G. (2020).*



**Figura**

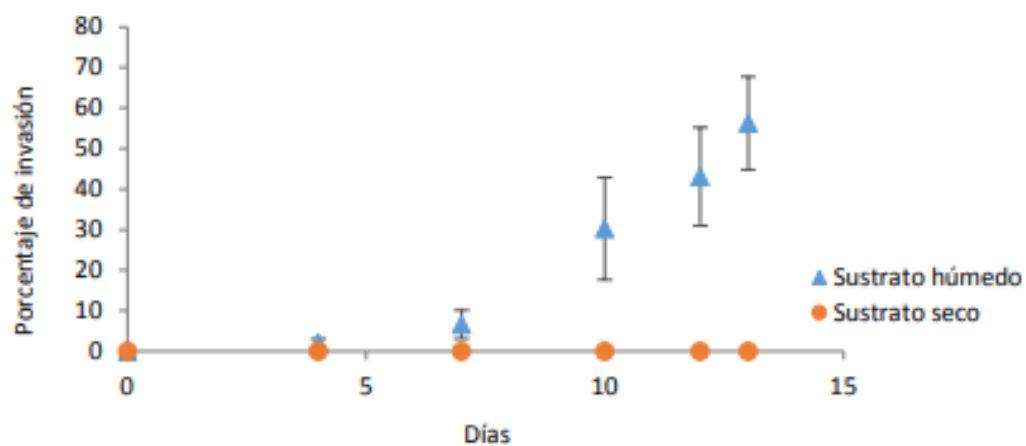
*Lavado final del polietileno por Cedeño, Domínguez, J. C. y Merino Cordero, J.G. (2020).*



14.7.- Anexo G.- DEGRADABILIDAD DE POLIETILENO DE BAJA DENSIDAD –LDPE- UTILIZANDO *Pycnoporus sanguineus* UTCH 03 por Quinchía Figueroa, A.M., Maya Correa, S. (2015)

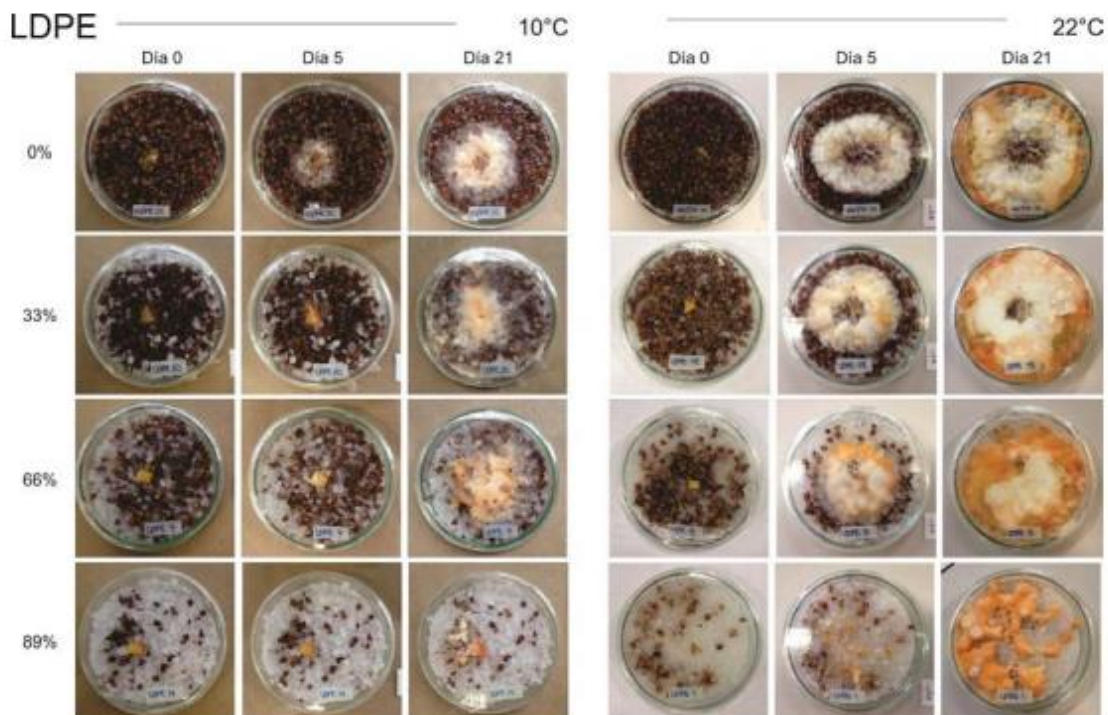
**Figura 22**

*Crecimiento del Hongo en diferentes contenidos de humedad*



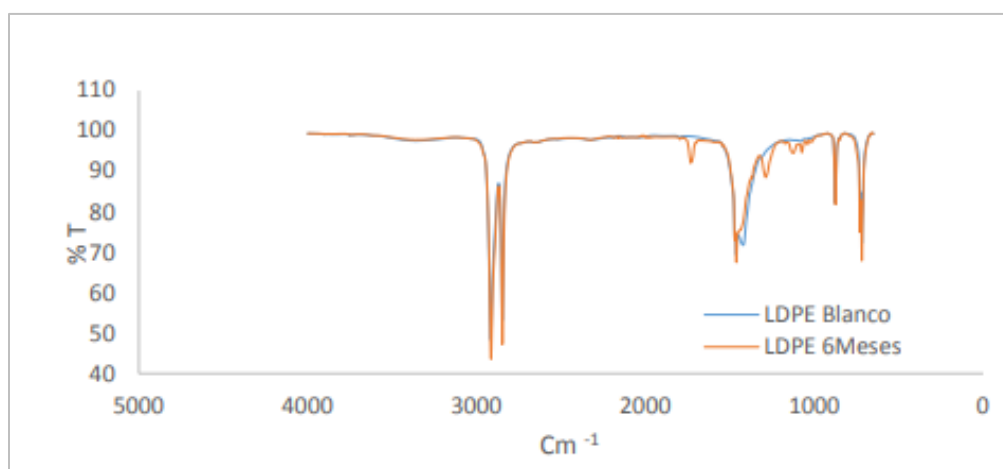
**Figura 23**

Comportamiento del hongo a diferentes porcentajes de polímero y temperaturas de 10°C y 22°C



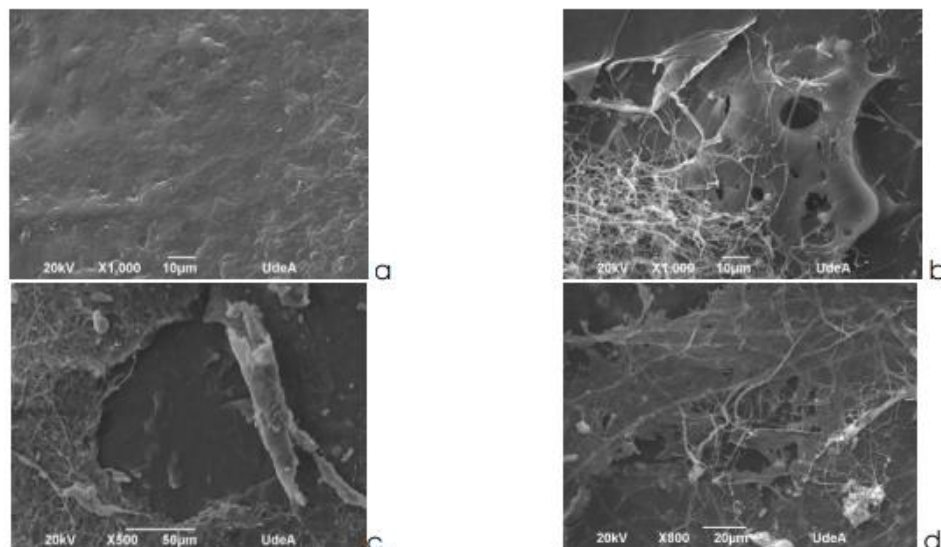
**Tabla 12**

Espectro de FTIR de LDPE en presencia de la cepa del hongo y ausencia de ella (LDPE blanco)



**Figura 24**

Imágenes de SEM de lámina de LDPE con 6 meses de incubación. a. superficie de LDPE incubado sin presencia del hongo; b, c y d. LDPE incubado con presencia del hongo.



14.8.- Anexo H.- Resultados de Biodegradación de polímeros de plástico por *Pseudomonas* por Callo Arela, M, Franklin Sacaca, M., Callata Churac, R.A, Vigo Rivera y J.E, Calla Calla, J. (2020).

**Tabla 13**

Condiciones ambientales en las que se desarrolla los microorganismos, hongos y enzimas que biodegradan los polímeros

Enzimas, hongos, bacterias, consorcios microbianos	Condiciones	Material biodegradado	Biodegradación	Referencias
Amidasa (Enzima)	37°C, pH 7 y 51 días	PU	33% de 4g	(Magnin <i>et al.</i> , 2019)
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	20°C a 40°C, pH 5.5 a 9, 7 días	LPDE	67% de 7g	(Gutierrez, 2018)
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	25°C, pH 7 y 35 días	LPDE	10.3% de 4g	(Martinez, 2016)
<i>Ideonella sakaiensis</i>	37°C, MSM, 160 días	PET	14.9% de 2g	(Gómez & Oliveros, 2016)
<i>Pseudomonas sp.</i>	26°C a 28°C, pH 7, 14 días	Fenantreno	56.9% de 0.2g	(Janbandhu & Fulekar, 2011)
<i>Bacillus sp.</i>	26°C a 28°C, pH 7, 14 días	Fenantreno	45.3% de 0.2g	(Janbandhu & Fulekar, 2011)
<i>Streptococci sp.</i>	26°C a 28°C, pH 7, 14 días	Fenantreno	23.2% de 0.2g	(Janbandhu & Fulekar, 2011)
<i>Aspergillus sp.</i> (hongo)	26°C a 28°C, pH 7, 14 días	Fenantreno	15.3% de 0.2g	(Janbandhu & Fulekar, 2011)
<i>Mucor sp.</i> (hongo)	26°C a 28°C, pH 7, 14 días	Fenantreno	18.9% de 0.2g	(Janbandhu & Fulekar, 2011)
<i>Rhodococcus rhodochrous</i>	27°C, 85% humedad, MSM, 6 meses	PET	5% de 0.5g	(Hakkarainen & Albertsson, 2004)
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	27°C, 85% humedad, MSM, 6 meses	PET	8% de 0.5g	(Hakkarainen & Albertsson, 2004)

**Tabla 14**

Condiciones ambientales para el desarrollo de las pseudomonas

Microorganismo	Condiciones	Polimero	Biodegradación	Referencia
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25°C y 35°C, pH 5 y 7 por 30 días	LDPE	27.3% de 0.024 mg	(Butron, 2020)
<i>Deinococcus thermus</i>	25°C, pH 6.8 por 60 días	PP, PE y PET	25%, 35% y 28% de 2.0 g	(Shabbir <i>et al.</i> , 2020)
<i>Pseudomonas putida</i>	25°C y 35°C, pH 6 y 8 por 7 días	PP	51.5 % de 5 g	(Yang <i>et al.</i> , 2020)
<i>Pseudomonas sp.</i>	60°C, 24 h por 10 días	PPS y PE	10% de 2 g	(Li <i>et al.</i> , 2020)
<i>Pseudomonas sp.</i>	27°C, MSM por 70 días	LDPE	2.88% de 6g	(Gutiérrez, 2019)
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Solución salina y UFC	PET	19.93% de 35g	(Barbarán <i>et al.</i> , 2018)

14.9.- Anexo I.- Resultados de “BIODEGRADACIÓN DEL POLIETILENO DE BAJA DENSIDAD CON *Staphylococcus sp.* AISLADO DEL BOTADERO DE ASCENSIÓN –HUANCAVELICA por Arotoma, F., Apaclla, A., Sánchez, V.G., Saldaña, J.E y Enríquez, J.D. (2015).

**Figura 25**

Placas Petri con crecimiento de colonias en Agar Manitol Salado



Nota: Se representa el cultivo de Agar Manitol Salado para el aislamiento selectivo de *Staphylococcus sp.* dentro de una incubadora.

**Tabla 15**

Identificación de crecimiento de colonias

<b>Cepas</b>	<b>Resultados de crecimiento</b>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Colonias amarillas de tamaño mediano, amarillo medio.
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Colonias amarillas de tamaño mediano, amarillo medio.
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Colonias blancas de tamaño pequeño a mediano, rojo mediano.
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Inhibición parcial (a completa); colonias incoloras, Agrupación activa inhibida.
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibición completa
Sin inocular	Rojo

Nota: esta tabla muestra el crecimiento de las cepas y la diferencia de las mismas

**Tabla 16**

Biodegradación de polietileno de baja densidad con la bacteria *Staphylococcus* sp. a una temperatura de 20° C.

<b>N° Tubo</b>	<b>Bacteria</b>	<b>Peso inicial</b>	<b>Peso final</b>	<b>% Biodegradación</b>
1	<i>Staphylococcus</i> sp.	0,012	0,0119	0,8
2	<i>Staphylococcus</i> sp.	0,0142	0,0141	0,7
3	<i>Staphylococcus</i> sp.	0,0112	0,0111	0,9
4	<i>Staphylococcus</i> sp.	0,0113	0,0113	0,0
5	<i>Staphylococcus</i> sp.	0,0116	0,0115	0,9
6	<i>Staphylococcus</i> sp.	0,0129	0,0129	0,0
7	<i>Staphylococcus</i> sp.	0,012	0,0119	0,8
8	<i>Staphylococcus</i> sp.	0,012	0,0119	0,8
9	Blanco	0,014	0,014	0,0

**Tabla 17**

Biodegradación de polietileno de baja densidad con la bacteria *Staphylococcus sp.* a una temperatura de 15° C

N° Tubo	Bacteria	Peso inicial	Peso final	% Biodegradación
1	<i>Staphylococcus sp.</i>	0,0129	0,0128	0,78
2	<i>Staphylococcus sp.</i>	0,0132	0,0132	0,00
3	<i>Staphylococcus sp.</i>	0,0113	0,0113	0,00
4	<i>Staphylococcus sp.</i>	0,0121	0,0121	0,00
5	<i>Staphylococcus sp.</i>	0,0128	0,0128	0,00
6	<i>Staphylococcus sp.</i>	0,0113	0,0113	0,00
7	<i>Staphylococcus sp.</i>	0,0132	0,0132	0,00
8	<i>Staphylococcus sp.</i>	0,0124	0,0123	0,81
9	Blanco	0,0126	0,0126	0,00

**Tabla 18**

Prueba de Tuckey de los valores de Biodegradación de polietileno de baja densidad con la bacteria *Staphylococcus sp.*

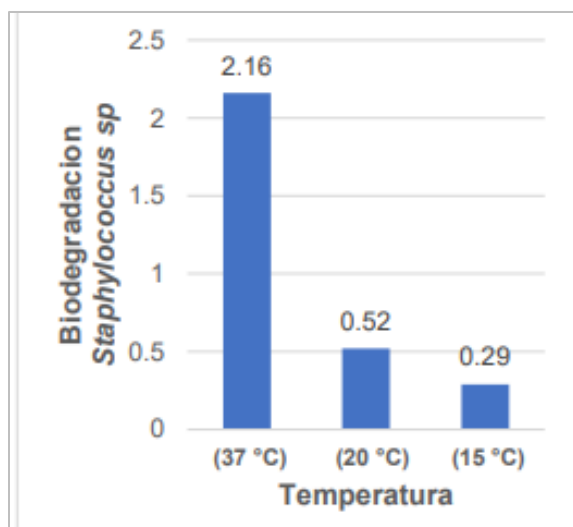
Biodegradación de Polietileno de baja densidad				
Variable	Temperatura (°C)	N	Media (Tuckey agrupamiento) *	Desviación estándar
<i>Staphylococcus sp.</i>	37	9	2,16 <sup>A</sup>	± 0,39
<i>Staphylococcus sp.</i>	20	9	0,52 <sup>B</sup>	± 0,36
<i>Staphylococcus sp.</i>	15	9	0,29 <sup>B</sup>	± 0,50

\*. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

**Figura 26**

Valores de Biodegradación de polietileno de baja densidad con la bacteria *Staphylococcus sp.*

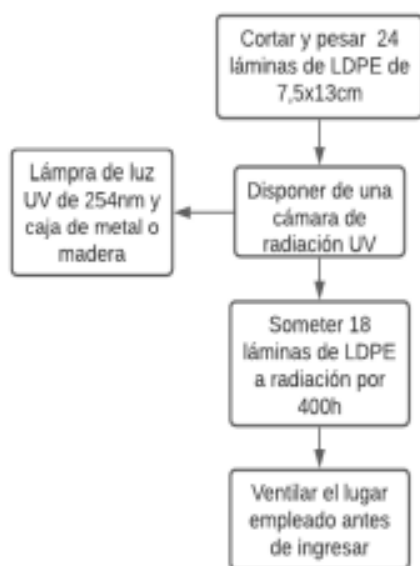




14.10.- Anexo J. Pretratamiento del polietileno de baja densidad. Calcetero Moreno, L.A. y Mancera Hernández, J.C. (2021)

**Figura 27**

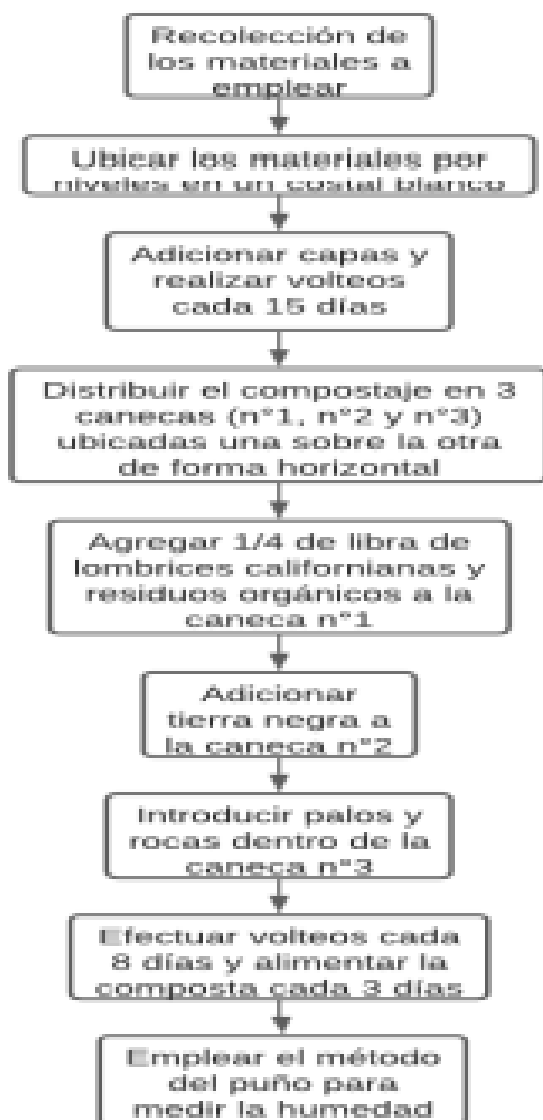
*Pretratamiento del polietileno de baja densidad*



Nota: Pretratamiento con radiación UV efectuado a las láminas de LDPE.

### Figura 28

*Consolidado proceso compostaje maduro con humus*



Nota. Procedimiento para el desarrollo del compostaje maduro con humus.

14.11. Anexo K. Muestras de pretratamiento térmico. "Evaluación de la degradación de polietileno de baja densidad mediada por diferentes especies de hongos", Espinoza Arias, L.M. (2018)

**Figura 29**

*Muestras envejecidas después de salir de la autoclave*



**Figura 30**

*Muestra de LDPE después del tratamiento de envejecimiento térmico*



**Figura 31**

*Curva de distribución de la variación de peso porcentual de las 92 muestras de LDPE después del tratamiento de envejecimiento.*

