



Propuesta de un proceso para el tratamiento biológico del PEBD utilizando bacterias u hongos, a partir de una revisión sistemática

Robert Adolfo Herrera Hoyos
Daniela Alejandra Ospina Mateus

Universidad El Bosque
Facultad de Ingeniería
Programa Ingeniería Ambiental
Bogotá, 05 de noviembre de 2019

Propuesta de un proceso para el tratamiento biológico del PEBD utilizando bacterias u hongos, a partir de una revisión sistemática

Robert Adolfo Herrera Hoyos
Daniela Alejandra Ospina Mateus

Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:
Ingeniero Ambiental

Directora
Carel Elizabeth Carvajal Arias

Línea de Investigación:
Salud ambiental

Universidad El Bosque
Facultad de Ingeniería
Programa Ingeniería Ambiental
Bogotá, Colombia

2019

Acta de sustentación

Nota de Salvedad de Responsabilidad Institucional

La Universidad El Bosque, no se hace responsable de los conceptos emitidos por los investigadores en su trabajo, solo velara por el rigor científico, metodológico y ético del mismo en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia.

(Dedicatoria)

A Dios, quien nos acompañó y guio durante la realización de este proyecto y a nuestros padres por su apoyo incondicional en cada paso durante nuestra carrera.

Agradecimientos

A la Universidad El Bosque, la institución que nos brindó las herramientas necesarias para la elaboración del presente proyecto.

Tabla de contenidos

Resumen.....	1
Abstract	2
1. Introducción	3
2. Planteamiento del problema.....	3
3. Justificación	5
4. Objetivos	6
4.1. General.....	6
4.2. Específicos:.....	6
5. Marco de referencia	6
5.1. Estado del arte y antecedentes	6
5.2. Marco teórico conceptual	10
5.3. Marco normativo	12
5.4. Marco geográfico.....	16
5.5. Marco institucional	17
6. Metodología	17
6.1. Diseño metodología.....	17
6.2. Aspectos Éticos del proyecto.....	19
6.3. Plan de trabajo	20
6.4. Cuadro metodológico.....	21
7. Resultados y Discusión	23
7.1. Resultados y discusión del objetivo 4.2.1.....	23
7.2. Resultados y discusión del objetivo 4.2.2.....	29
7.3. Resultados y discusión del objetivo 4.2.3.....	40
8. Conclusiones	46
9. Recomendaciones.....	46
10. Bibliografía.....	46
11. Anexos.....	51
11.1. Formatos.....	51
11.2. Protocolos.....	51
11.3. Matrices.....	70
11.4. Plan de trabajo.....	77
11.5. Infografía.....	78

Índice de tablas

Tabla 1. Información principal de los documentos en los cuales fue basado el proyecto	8
Tabla 2. Marco normativo internacional	13
Tabla 3. Marco normativo nacional.	13
Tabla 4. Instituciones relacionadas con el proyecto	17
Tabla 5. Cuadro resumen de la metodología del proyecto.....	21
Tabla 6. Tiempos establecidos por los investigadores para realizar los ensayos de degradación	28
Tabla 7. Resumen de los criterios más importantes de las metodologías para el tratamiento de PEBD implementado bacterias.....	31
Tabla 8. Resumen de los criterios más importantes de las metodologías para el tratamiento de PEBD implementado hongos	36
Tabla 9. Resumen de los criterios más importantes de las metodologías para el tratamiento de PEBD implementado bacterias o hongos	39
Tabla 10. Posibles empresas con las cuales puede llegar hacerse convenios con el fin de lograr una simbiosis industrial	45

Índice de figuras

Figura 1. Ciclo de vida del PEBD.....	4
Figura 2. Molécula de polietileno de baja densidad.....	10
Figura 3. Localización Universidad El Bosque - Biblioteca Juan Roa Vásquez	16
Figura 4. Esquematización de las diferentes etapas y fases del trabajo de investigación.....	20
Figura 5. Cantidad de publicaciones por país	23
Figura 6 Comparación de metodologías para el tratamiento biológico de PEBD implementando bacterias	30
Figura 7. Comparación de metodologías para el tratamiento biológico de PEBD implementando hongos	35
Figura 8. Comparación de metodologías para el tratamiento biológico de PEBD implementando bacterias u hongos.....	38
Figura 9. Diseño de la EcoBox, vista lado izquierdo.....	41
Figura 10. Diseño de la EcoBox, vista lado derecho	41
Figura 11. Diseño de la EcoBox, vista frontal	41
Figura 12. Diseño de la EcoBox, letreros y posters	42
Figura 13. Componentes del biorreactor y funcionamiento.....	44

Resumen

En la actualidad la generación de plásticos de baja densidad es un problema ambiental puesto que son plásticos de un solo uso teniendo así una vida útil muy corta, esto genera una gran acumulación y difícil degradación, es por eso que se han desarrollado diferentes métodos para degradar dichos plásticos por medio de bacterias u hongos, este trabajo busca responder la pregunta “¿Cuál es la metodología biológica más eficiente para el tratamiento biológico del PEBD implementando bacterias u hongos de tal forma que permita desarrollar un proceso amigable con el ambiente?” para responder la pregunta, se realizó una revisión sistemática teniendo como referencia el Manual Cochrane de revisiones sistemáticas de intervenciones, que como resultado, se obtuvieron 19 documentos, con el fin de elaborar el protocolo propuesto por el Manual pero adaptado a conveniencia de la investigación, teniendo en cuenta los aspectos más relevantes para este estudio, posterior a esto se estableció la metodología más eficiente para el tratamiento biológico del PEBD, la cual resulto siendo la Metodología de Rodríguez J. et al, 2013, con un $74 \pm 2 \%$, en donde evalúan la capacidad degradativa del hongo *Pleurotus ostreatus*, el cual fue obtenido del Banco de cepas comerciales de Moji das Cruzes, Sao Paulo, Brasil, gracias a este resultado se pudo establecer un proceso el cual fue diseñado en 5 pasos, el primero de ellos es la recolección, en donde se diseñó una EcoBox con el fin separar en los puntos de recolección el material que será dispuesto por los usuarios bien sea PEBD, PEAD, PVC, PP o PS, el segundo es el pretratamiento del material en donde se realiza un lavado con etanol y el corte del mismo, el tercer paso es el tratamiento biológico, en donde se implementa a *Pleurotus ostreatus* como agente degradador producto de la revisión sistemática realizada, el cuarto paso es uso de *Pleurotus ostreatus* post-tratamiento biológico en donde gracias a su alta producción de enzimas lignolíticas, este hongo puede ser implementado para biorremediar aguas contaminadas con colorantes fenólicos los cuales son altamente utilizados en la industria textil y el quinto paso es la simbiosis industrial en donde se propuso posibles alianzas empresariales para generar un aprovechamiento del material recolectado que no puede llegar a ser degradado por el hongo como lo es el PEAD, PVC, PP y el PS.

Palabras clave: PEBD -Bacterias - Hongos - Biodegradación – Metodología.

Abstract

Nowadays, the generation of low-density plastics has become an environmental problem. This kind of single use plastics are difficult to degrade and produce a great amount of accumulation. Hence, different methods to degrade these plastics throughout bacteria or fungi have been developed. This paper seeks to answer the following question: *What is the most efficient biological methodology for the biological treatment of LDPE by implementing bacteria or fungi in a way that allows to develop an environmentally friendly process?*

In order to give a comprehensive answer to the previous inquiry, a systematic review was carried out having the Cochrane Manual of systematic reviews of interventions as reference. As a result, 19 documents were selected with the objective to elaborate the protocol proposed by the Manuel, adapted to the needs of the investigation. Consequently, it was established that the most efficient methodology for the biological treatment of PEBD was the Rodriguez' Methodology et al, 2013, with a 74 ± 2 %, where they evaluate the degradative capacity of the fungus *Pleurotus ostreatus*, which was obtained from the Commercial strain Bank of Moji das Cruzes, Sao Paulo, Brazil.

Thanks to these results, a 5-steps process was designed: **1) Recollection:** an EcoBox was designed in order to separate at the collection points the material that will be arranged by the users, either that is PEBD, HDPE, PVC, PP or PS. **2) Pretreatment of the material:** a wash with Ethanol is carried out and the material is cut in strips. **3) Biological treatment:** *Pleurotus ostreatus* is implemented as a degrading agent, product of the systematic review carried out. **4) Use of *Pleurotus ostreatus* post-biological treatment:** thanks to its high production of the enzyme lacasse, this fungus can be implemented to bioremediate waters contaminated with phenolic dyes which are highly used in the textile industry. **5) Industrial symbiosis:** possible business alliances were proposed to generate a use of the collected material that cannot be degraded by the fungus such as HDPE, PVC, PP and PS.

Keywords: LDPE - Bacteria – Fungi - Biodegradation - Methodology

1. Introducción

En la actualidad se ha incrementado el uso de polímeros sintéticos derivados del petróleo y se estima que para el año de 2020 este incremento sea de un 900% con respecto al consumo de 1980 (Greenpeace, 2016). El polietileno se encuentra disponible en varios grados de pureza según lo que se quiere moldear y al grado de pureza que este requiera, los más comunes son el polietileno de baja densidad PEBD y el polietileno de alta densidad PEAD (Groover P., 1997). Estos polímeros son sustancias químicas producidas artificialmente que consisten en un número específico de moléculas unidas entre sí con enlaces covalentes (McMurry J., 2004).

Uno de los polímeros más comunes y versátiles es el polietileno de baja densidad que actualmente representa el volumen de consumo más grande de todos los plásticos con una producción de 500 mil millones de unidades al año que contienen este material (Greenpeace, 2016), este polímero es un plástico que se obtiene a partir del gas etileno, el cual polimerizado y solidificado se corta en pequeños granos llamado granzas. Se caracterizan por ser suaves, flexibles, y tienen un grado de ramificación elevado, entre 20 y 40 ramas por cada 1000 átomos de carbono, lo que reduce su grado de cristalinidad y densidad (Kolb D., 1999).

Para tratar los residuos del PEBD actualmente se emplean métodos que pueden generar alteraciones a nivel ambiental, como la contaminación del suelo, manto freático y la de la atmósfera. Uno de los procesos más implementados es la pirólisis, esta consiste en quemar el material plástico con el propósito de realizar una recuperación energética, esta alternativa no se considera reciclaje ya que genera emisiones de sustancias químicas y elementos tóxicos cancerígenos tales como metales pesados y dioxinas, además de la emisión de gases de efecto invernadero tales como monóxido de carbono y dióxido de carbono (Riquelme C., 2015).

Con el propósito de evitar la contaminación de los diferentes ecosistemas, es importante desarrollar métodos alternativos para transformar esta clase de material (Scott G., 1999). Uno de ellos son los métodos biológicos los cuales implementan procesos tales como el pretratamientos físico-químicos que debilitan la composición del PEBD con el fin de ser suministrado a algunos microorganismos capaces de metabolizar este tipo de polímeros (Orcutt S., 1998).

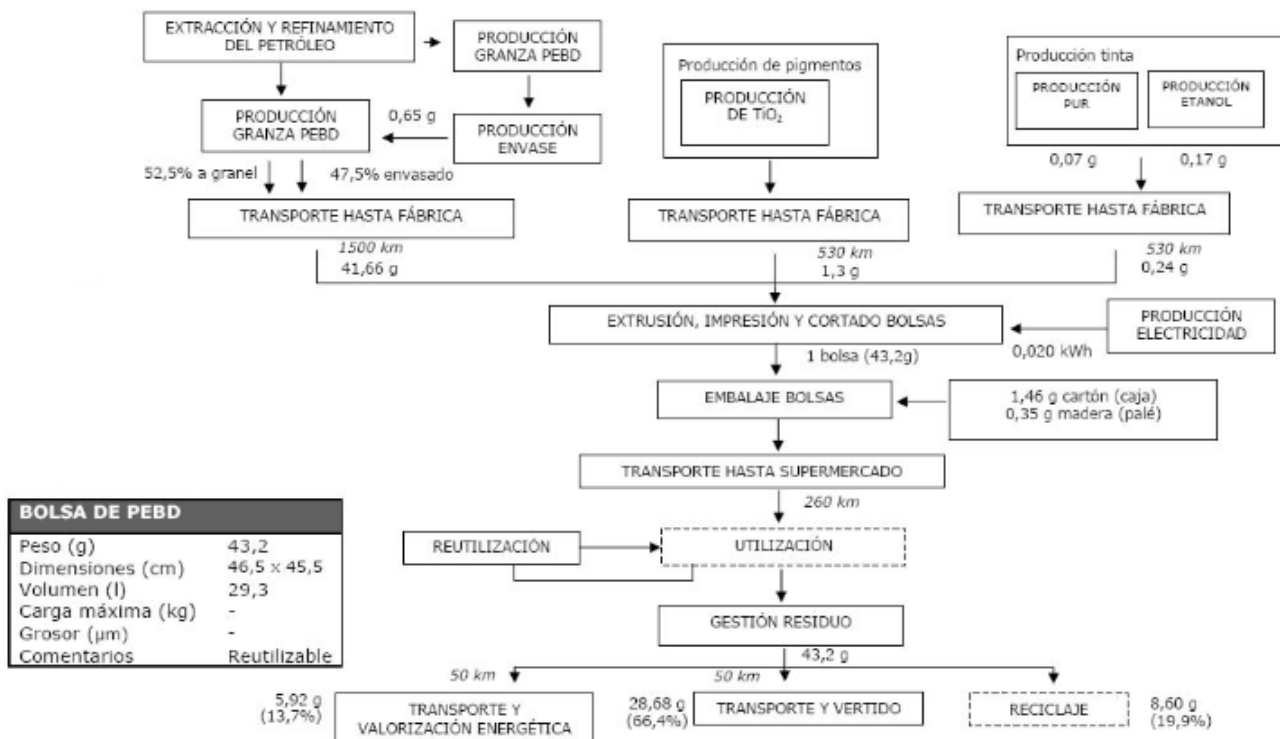
Uno de los tratamientos propuestos en la actualidad, que no generan impactos ambientales significativos, son los implementados con microorganismos, debido a que microorganismos como bacterias u hongos pueden degradar una gran cantidad de sustancias, reduciendo su carácter nocivo o incluso volviéndolas inocuas para el medio ambiente y la salud humana, además de no generar efectos adversos significativos, puesto que apenas generan cambios físicos en el medio, siempre y cuando estos sean bien implementados (Fernández A., 2006). Cabe resaltar que cada metodología requiere de un pre-tratamiento físico-químico, este puede facilitar el trabajo de los microorganismos al momento de degradar el PEBD, esto con el fin de obtener resultados en un tiempo más corto, ya que se aceleraría el proceso de biodisponibilizar moléculas mucho más sencillas (Orcutt S., 1998.) Por lo tanto, se obtiene la biodegradación del polímero donde los microorganismos realizan un proceso de respiración aerobio en el cual idealmente se obtendrían como residuos $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$. (Dahiya P. et al, 2014).

2. Planteamiento del problema

La producción global de plásticos se ha aumentado en los últimos 50 años, y en especial en las últimas décadas. El PEBD 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 (Greenpeace, 2016).

La principal problemática de este material, es que su composición hace que el ciclo de vida (Figura 1) se limite a un solo uso, donde también se puede apreciar que en el proceso de gestión de residuo, a comparación del reciclaje, la valorización energética y el vertido, es mayor el porcentaje de vertido que cualquier otra, lo cual explica el aumento de la demanda y acumulación de estos materiales en rellenos sanitarios y océanos donde además de adsorber contaminantes hidrofóbicos, pueden liberar algunos de sus aditivos, como ftalatos, bisfenol A y retardantes de flama, son compuestos consumidos por especies marina y aves haciendo así que entre a la cadena trófica. (Morillas A. et al, 2017)

Figura 1. Ciclo de vida del PEBD



Fuente: Universidad Pompeu Fabra de Barcelona, 2009.

Según una investigación experimental presentada en el Congreso de ciencia XVIII de México en 2010 sobre el PEBD, se afirma que: “su proceso natural de degradación es lento ya que le toma entre 50 y 300 años completarlo además de producir una gran cantidad de lixiviados y residuos contaminantes del medio ambiente” (Martínez P., 2017), lo cual puede generar un impacto bastante significativo a nivel ambiental, especialmente en el suelo y en el manto freático, reduciendo la capacidad productiva de los suelos y la calidad del agua, además de acumulación de esta clase de materiales en los rellenos sanitarios, botaderos a cielo abierto, mares y océanos.

En Colombia la producción y consumo de plástico ha generado una situación grave para la diversidad de los ecosistemas (Greenpeace Col., 2018), ya que el 56% de los plásticos son de un solo uso y estos terminan en lugares como manglares, mares y ríos. un colombiano promedio consume un total de 24 kilogramos de este material al año. (Greenpeace Col., 2018), en el caso de Bogotá la situación no varía, debido a que la cifra de disponer los plásticos como un residuo alcanza las 7.500 toneladas al día, de las cuales solo se recicla el 15%. (Greenpeace Col., 2018), es decir aproximadamente 178.500 toneladas de plásticos son dispuestas mensualmente en el relleno sanitario Doña Juana, sin algún tipo de aprovechamiento, generando grandes impactos ambientales, contaminando los suelos y el manto freático, además de la acumulación de esta clase de material.

3. Justificación

La generación desbordada de PEBD como un residuo sólido es una problemática que en la actualidad es global (Greenpeace, 2016), debido al gran impacto ambiental que la descomposición natural de dicho material genera sobre el suelo y manto freático de la tierra. El polietileno de baja densidad tiene la característica de ser inerte, estos materiales en condiciones normales del ambiente son poco degradados por las bacterias u hongos haciéndolos perdurables en el tiempo (Marín G. et al, 2009). Existen diferentes estudios en donde se analiza la efectividad de las bacterias y hongos para la biodegradación del PEBD, pero hasta el momento no se ha desarrollado todo un proceso visto desde la ingeniería ambiental que permita integrar el potencial enzimático de un microorganismo, con el proceso que involucra desde la separación hasta la degradación de este material. Por ende, es necesario clasificar la información más relevante sobre el tratamiento biológico y de esta forma facilitar la elección de la metodología para el desarrollo de un proceso en el cual se logre la mayor degradación de PEBD, empleando microorganismos y de esta forma siendo amigable con el ambiente.

En la actualidad existen diferentes procesos que logran degradar el PEBD, estos son principalmente térmicos, mecánicos, químicos y fotoquímicos, pero según un estudio realizado por investigadores de la universidad de Hawái informan que esta clase de procesos emiten altas tasas de concentración de metano y etileno (ONU medio ambiente, 2018) dichos gases son considerados como “gases de efecto invernadero” los cuales alteran significativamente el calentamiento global contribuyendo al fenómeno del niño. Además de esto los diferentes procesos de degradación mencionados anteriormente necesitan un alto consumo energético (Marín G. et al, 2009) ya que la degradación de este material se produce a una temperatura igual o mayor a los 200°C durante un periodo mínimo de 6 horas (Marín G. et al, 2009), cabe resaltar que las investigaciones con procesos biológicos son muy recientes, lo que genera pocas herramientas que faciliten su desarrollo, de igual forma ningún estudio compara la eficiencia de las metodologías empleadas con otras investigaciones ya existentes, de esta forma no profundizan en aquellas metodologías eficientes que puedan mitigar el posible impacto ambiental generado por este material. Dado esto, lo que busca este proyecto es responder a la pregunta de investigación “¿Cuál es la metodología biológica más eficiente para el tratamiento biológico del PEBD implementando bacterias u hongos de tal forma que permita desarrollar un proceso amigable con el ambiente?” y proponer dicho proceso.

Por otra parte los procesos biológicos para degradar el PEBD no general impactos significativos al medio ambiente ya que se emplean procesos, técnicas y metodologías que potencialicen al microorganismos a que utilice el material como sustrato para su desarrollo, como ventaja, este tipo de procedimientos si son implementados correctamente, no producen efectos negativos significativos que afecten al ecosistema y a la salud humana, ya que no generan cambios físicos en el medio y suelen ser más económicos que otras alternativas de degradación (Fernández A., 2006), debido a esto, este proyecto surge como alternativa de plantear un proceso en el cual se degrade el PEBD de manera eficiente. Este proceso podrá ser implementado por diferentes personas, instituciones o empresas ya que tienen como ventaja la practicidad y posibilidad de implementación para cualquier área, dando la posibilidad a los interesados de reducir la huella de carbono, desarrollar procesos más eficientes al aprovechar residuos y adquirir incentivos económicos por parte del estado colombiano establecido en la Resolución 551 de 2009 en donde se adopta los requisitos y las evidencias de contribución al desarrollo sostenible del país mediante el desarrollo de mecanismos limpios.

4. Objetivos

4.1. General

Proponer un proceso para el tratamiento biológico del PEBD utilizando bacterias u hongos, a partir de una revisión sistemática

4.2. Específicos:

- 4.2.1. Seleccionar a partir de la revisión sistemática de Cochrane metodologías para el tratamiento biológico de PEBD por medio de bacterias u hongos que cumpla con los criterios establecidos.
- 4.2.2. Establecer la metodología más eficiente para el tratamiento biológico del PEBD por medio de bacterias u hongos.
- 4.2.3. Diseñar un proceso de tratamiento del PEBD desde la separación hasta la degradación de este material.

5. Marco de referencia

5.1. Estado del arte y antecedentes

A continuación se darán a conocer los principales documentos en los cuales fue basada la elaboración de este proyecto, en primera instancia se tiene como referencia el documento titulado cómo “Biodegradación bacteriana de polietileno de baja densidad bajo condiciones controladas en biorreactores air-lift” elaborado por Oscar Cáceres, el objetivo principal de esta investigación fue determinar la biodegradación de polietileno de baja densidad (bolsas plásticas) mediante bacterias nativas de la Moyuna los instrumentos de recolección de la información fueron plantados en prácticas de la laboratorio y por último el resultado de la investigación fue que Las *Pseudomonas sp*, *Edwardsiella sp.* y *Alcaligenes sp.*, que se consideran como la más eficientes en la biodegradación del polietileno ya que estos se adaptaron a las condiciones del medio al cual se encontraban. Por otro lado uno de los documentos en los cuales se basó esta investigación se titula “Biodegradación de polietileno de baja densidad por consorcio microbiano”, elaborado por Jazmín Gutiérrez en donde el principal objetivo de la investigación fue determinar si en los consorcios microbianos contenidos en los residuos de polietileno de baja densidad recolectados en los sitios de selección, son capaces de degradar este tipo de material, el método para lograr dicho objetivo fue mediante el análisis de laboratorio, en donde fue puesto a prueba diferentes metodologías y procedimientos para determinar la capacidad degradativa de los microorganismos, como resultado de esta investigación se obtuvo que los microorganismos si son capaces de degradar el polímero y además de esto se recomienda que para el desarrollo de futuras investigación, se realizó un muestro en rellenos sanitarios para tomar muestras y aislarlas en el laboratorio con el fin de obtener microorganismos adaptados a este tipo de procesos, de esta forma hay la posibilidad de obtener mejores resultados.

Además de los documentos mencionados anteriormente, se tuvo en cuenta el documento titulado cómo “Degradación de Polietileno de Baja Densidad Utilizando Hongos. Revisión Sistemática de la Literatura” elaborado por Laura Yepes, en donde el principal objetivo fue realizar una revisión sistemática de la literatura acerca de la biodegradación del polietileno de baja densidad (PEBD) utilizando hongos, el principal instrumento de recolección de la información para cumplir con dicho objetivo fue realizar una revisión bibliográfica basada en estudios científicos realizados con hongos para degradar PEBD, esto con el fin de determinar qué tipo de hongos son capaces de degradar el

polietileno de baja densidad además de analizar las metodologías más comunes implementadas para desarrollar este tipo de tratamiento biológico, de igual forma otro de los documentos tenidos en cuenta fue “Microbial degradation of low density polyethylene (LDPE): A review” realizado por Sudip Kumar Sen y Sangeeta Raut en el cual se estableció como objetivo general revisar las investigaciones actuales sobre la biodegradación de los LDPE y también uso de diversas técnicas para el análisis de la degradación in vitro, los instrumentos de recolección de la información fue la búsqueda de estudio basados en estadísticas y en modelos científicos en donde seleccionan microorganismos que tuvieran la capacidad de degradar el PEBD lo cual dejó como resultado el análisis y la descripción de los diferentes microorganismos encontrados, tanto bacterias como hongos los cuales sirven como agentes para la degradación de PEBD, por otra parte se tuvo en cuenta el documento titulado como “Aislamiento, identificación y evaluación de un cultivo mixto de microorganismos con capacidad para degradar ddt.” realizado por Carrillo Pérez, Ruiz Manríquez, A y Yeomans Reyna en el cual se estableció como objetivo general evaluar la capacidad para degradar DDT de un cultivo bacteriano mixto aislado de hábitats del Valle del Yaquí, los instrumentos por los cuales fue recolectada la información fue el desarrollo de prácticas de laboratorio en donde se evaluó diferentes cultivos mixtos de microorganismos capaces degradar esta clase de residuos sólidos, en donde se obtuvo como resultado que en el transcurso de 80 horas, el cultivo más eficientes logró degradar un 43% del total del material añadido al ensayo.

De igual forma el documento titulado como “Degradación biológica de polímeros mediante la selección y producción de potenciales cultivos iniciadores”, elaborado por Villa Carvajal, Rivera M., Capilla, V. y Gardé J. en donde el objetivo principal fue desarrollar y optimizar un proceso que permita la biodegradación de residuos sólidos plásticos como una alternativa viable a la gestión en vertedero, el principal instrumento de recolección de la información fue el desarrollo de práctica de laboratorio de diferentes modelos de metodología para evaluar la eficiencia de los microorganismos aislados de los residuos sólidos, como resultado de esta investigación fue el PEBD a pesar de ser considerado como inerte puede ser degradado por *Brevibacillus borstelensis*, por último fue tomado el documento titulado como “Biodegradación de polietileno de baja densidad por acción de un consorcio microbiano aislado de un relleno sanitario, Lima, Perú”, elaborado por Diego Uribe, Daniel Giraldo, Susana Gutiérrez y Fernando Merino, en el cual, el principal objetivo fue evaluar la capacidad biodegradadora de PEBD a partir de consorcio microbiano aislado de un relleno sanitario en Lima Perú, el instrumento de recolección de la información utilizado fue el desarrollo de prácticas de laboratorio en donde fue evaluada la metodología planteada para los ensayos de biodegradabilidad, por último como resultado de este estudio se obtuvo que *Pseudomonas sp*, *Penicillium*, *Rhodotorula sp*, *Hyalodendron sp* y una levadura no identificada fueron capaces de degradar PEBD.

Todos y cada uno de los documentos anexados en este apartado fueron de gran importancia, debido a que, a partir de estos, se establecieron los criterios de selección para realizar la revisión sistemática de Cochrane, además de proporcionar el sustento metodológico, ético, verídico, teórico y conceptual del desarrollo de esta investigación, a su vez brindan un enfoque metodológico organizado los cuales sirven como ejemplo con los cuales principalmente se diseñó la metodología de este proyecto. En la Tabla 1, se adjunta la información más relevante de cada uno de los documentos mencionados anteriormente.

Tabla 1. Información principal de los documentos en los cuales fue basado el proyecto

Referencia	Objetivo General del documento	Categorías / Variables e instrumentos de recolección de la información	Resultados del documento
<p>Osmar Cáceres. Biodegradación bacteriana de polietileno de baja densidad bajo condiciones controladas en biorreactores air-lift. Tesis para optar por el título de Ingeniero ambiental. Universidad nacional Agraria de la Selva facultad de recursos naturales renovables departamento académico de ciencias ambientales 2011</p>	<p>Determinar la biodegradación de polietileno de baja densidad (bolsas de plástico) mediada por bacterias nativas de La Moyuna.</p>	<p>Biodegradación Microorganismos Bacterias PEBD. Se realizaron prácticas de laboratorio en donde se probó la capacidad de bacterias nativas ambientales aisladas del botadero la Moyuna, de Tingo María, de degradar bolsas plásticas (polietileno de baja densidad), utilizándose para ello biorreactores de tipo air-lift en un sistema sumergido teniendo como única fuente de carbono y energía las bolsas de polietileno de baja densidad</p>	<p>Las <i>Pseudomonas sp</i>, <i>Edwardsiella sp.</i> y <i>Alcaligenes sp.</i>, que se consideran como la más eficientes en la biodegradación del polietileno ya que se adaptó a las condiciones de la actividad microbiana dentro de un rango de 6.4 - 8.3 pH a temperaturas de 24- 30 oc en medio acuoso, observando además la pérdida de peso del PEBD provenientes de Metro al final de la operación del biorreactor y cambios en la estructura del polietileno como son coloración</p>
<p>Jazmín Gutiérrez. Biodegradación de polietileno de baja densidad por consorcios microbianos. tesis para obtener el título de: Bióloga. Universidad nacional Autónoma de México. Facultad de estudios superiores Zaragoza</p>	<p>Determinar si en los consorcios microbianos contenidos en los residuos de polietileno de baja densidad, recolectados en los sitios seleccionados, son capaces de degradar este tipo de polímeros.</p>	<p>Biodegradación PEDB Microorganismos Residuos sólidos Practica de laboratorio y ensayos desarrollando diferentes modelos de metodología para evaluar la eficiencia de los microorganismos aislados de los residuos sólidos.</p>	<p>Muestran los resultados del estudio realizado para encontrar y aislar consorcios de microorganismos capaces de degradar plásticos, como el polietileno de baja densidad</p>
<p>Laura Yepes. Degradación de Polietileno de Baja Densidad Utilizando Hongos. Revisión Sistemática de la Literatura Trabajo de Grado presentado como requisito parcial para optar por el título Microbióloga Industrial. Pontificia universidad Javeriana facultad de ciencias</p>	<p>Realizar una revisión sistemática de la literatura acerca de la biodegradación del polietileno de baja densidad (PEBD) utilizando hongos.</p>	<p>Biodegradación Polietileno de baja densidad Microorganismos Hongos Revisión bibliográfica basada en estudios científicos realizados con hongos para degradar PEBD</p>	<p>Adjunta los diferentes métodos de degradación del PEDB a partir de la implementación de hongos para dicho fin.</p>

<p>Sudip Kumar Sen, Sangeeta Raut. Microbial degradation of low density polyethylene (LDPE): A review Department of Biotechnology, Gandhi Institute of Engineering and Technology, Gunupur, Rayagada, Odisha 765 022, India. 2015</p>	<p>Revisar la investigación actual sobre la biodegradación de los LDPE y también uso de diversas técnicas para el análisis de la degradación in vitro</p>	<p>Microorganismos Plástico, Residuos, Biodegradable, Biodegradable. Estudio bibliográfico basados en estadísticas y en modelos científicos en donde seleccionan microorganismos que tuvieran la capacidad de degradar el PEBD</p>	<p>Se analizaron y describieron los diferentes microorganismos, tanto bacterias como hongos que sirve como agentes para la degradación del PEBD</p>
<p>Carrillo-Perez, E., Ruiz-Manriquez, A., & Yeomans-Reina, H Aislamiento, identificación y evaluación de un cultivo mixto de microorganismos con capacidad para degradar ddt.</p>	<p>Evaluar la capacidad para degradar DDT de un cultivo bacteriano mixto aislado de hábitats del Valle del Yaqui</p>	<p>Aislamiento, Biodegradación, Cinética de Crecimiento, DDT Ensayos prácticos desarrollando diferentes modelos de metodología para evaluar la cultivos mixtos de microorganismos capaces degradar residuos sólidos.</p>	<p>La biodegradación de 43 % del DDT dosificado, la cual se dio en 80 horas de cultivo.</p>
<p>Villa-Carvajal, M., Rivera, J. D., Capilla, V., & Gardé, J Degradación biológica de polímeros mediante la selección y producción de potenciales cultivos iniciadores</p>	<p>El desarrollo y optimización de procesos que permitan la biodegradación de residuos sólidos plásticos como una alternativa viable a la gestión en vertedero</p>	<p>Biodegradación, Polímeros, <i>Brevibacillus Borstelensis</i>, Degradación biológica, PEBD Practica de laboratorio y ensayos desarrollando diferentes modelos de metodología para evaluar la eficiencia de los microorganismos aislados de los residuos sólidos.</p>	<p>Este estudio, muestra que el PEBD (considerado como inerte) puede ser degradado por el microorganismo <i>Brevibacillus borstelensis</i>.</p>
<p>Diego Uribe, Daniel Giraldo, Susana Gutiérrez y Fernando Merino Biodegradación de polietileno de baja densidad por acción de un consorcio microbiano aislado de un relleno sanitario, Lima, Perú</p>	<p>Evaluar la capacidad biodegradadora de PEBD a partir de consorcio microbiano aislado de un relleno sanitario en Lima Perú</p>	<p>Espectroscopia, Polietileno, Plásticos, Biodegradación, Polímeros. Prácticas de laboratorio, ensayos y metodologías planteadas para los ensayos de biodegradabilidad</p>	<p>Las muestras fueron filtradas y preseleccionadas en medio de sales minerales a pH 5,5 y 7, para hongos y bacterias respectivamente. Se aislaron 6 cepas, identificadas como <i>Pseudomonas sp.</i> MP3a y MP3b, <i>Penicillium sp.</i> MP3a, <i>Rhodotorula sp.</i> MP3b, <i>Hyalodendron sp.</i> MP3c y una levadura no identificada.</p>

Fuente: Autores, 2019

5.2. Marco teórico conceptual

5.2.1. Polietileno

El polietileno (Pe) es un plástico compuesto por monómeros de olefinas que conjuntamente con el cloruro de polivinilo son los plásticos de mayor uso en el mundo, se utilizan principalmente en la fabricación de rollos de plástico transparente para envoltorios, películas, botellas de bebidas y bolsas plásticas. (Méndez et al, 2007)

Este polímero cuya unidad monomérica es la más sencilla desde el punto de vista químico y estructural se produce por la polimerización del etileno, las posibilidades de ramificación de dicha macromolécula son grandes, dependen del sistema y condiciones de polimerización empleados, también se debe destacar que las ramificaciones pueden ser de cadena corta o larga (Sáenz, 2006)

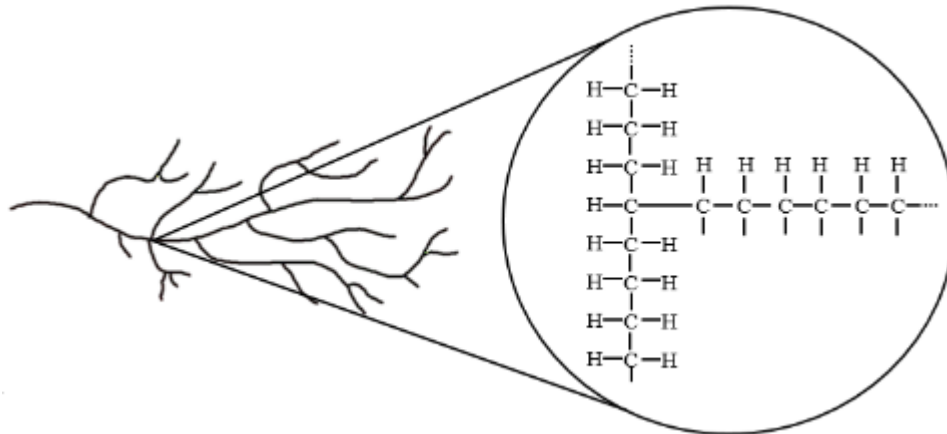
Los productos elaborados con polietileno presentan una problemática que consiste en la contaminación ambiental posterior a su disposición final debido a que sus características de resistencia no son degradados por los microorganismos del suelo y permanecen visibles en el medioambiente por tiempo indefinido (Mangiarotti et al, 1994), los polietilenos se dividen en dos tipos, polietileno de alta densidad y polietileno de baja densidad.

5.2.2. Polietileno de baja densidad (PEBD o LDPE)

Se trata de un polietileno con una cadena muy ramificada lo que implica mayor volumen y por ello su densidad es menor de 0,915 - 0,930 gr/ cm³ (Sáenz, 2006)

Se obtiene por polimerización vinílica con radicales libres a presiones muy altas, requiriendo oxígeno y peróxidos para iniciar la reacción. El producto resultante, es un polímero formado por macromoléculas con cadenas laterales. (Sáenz, 2006)

Figura 2. Molécula de polietileno de baja densidad



Fuente: Autores, 2019.

5.2.3. Biodegradación

Es la transformación bioquímica de los compuestos por la acción de microorganismos. La biodegradación de un compuesto ocurre debido a la actividad de varias enzimas, que son producidas por los microorganismos (Limón, 2001). El material polimérico sirve como fuente para la obtención de carbono. Sin embargo, el ataque microbiano sólo se produce en determinados intervalos de temperaturas, por lo que este tipo de proceso de degradación, es muy poco frecuente (Sáenz, 2006). Las enzimas pueden atacar los segmentos más pequeños, generando productos intermedios de bajo peso molecular que serían incorporados a la biomasa celular o ser mineralizados, es decir, completamente degradados hasta dióxido de carbono y agua en condiciones aeróbicas, o metano y dióxido de carbono en condiciones anaeróbicas (Limón, 2001)

- **El beneficio de la biodegradación**
La biodegradación de plásticos constituyen una posible vía de minimización de estos desechos (Mortonl et al, 1996), lo que disminuiría la superficie necesaria para disponer los mismos (en rellenos sanitarios, por ejemplo).

5.2.4. **Mecanismos de la biodegradación del polietileno**

Se conoce que la biodegradación del polietileno (PE) ocurre mediante dos mecanismos: hidro-biodegradación y oxo-biodegradación. Estos dos mecanismos consisten en modificaciones del producto por un aditivo, que puede ser un almidón o un pro-oxidante, usados en la síntesis de polietileno biodegradable. La mezcla de PE con almidón hace al material hidrofílico y luego es catalizado por enzimas de amilasa. Los microorganismos pueden acceder fácilmente a este producto, atacar y remover esta parte. Así, el polietileno hidrofílico, con una matriz continua, es hidro biodegradado. En caso de utilizar un aditivo pro-oxidante, la biodegradación ocurre siguiendo una fotodegradación y una degradación química. Sí el pro-oxidante es una combinación de metales, después de la transición, el metal es catalizado térmicamente por peroxidación y la degradación de los productos de bajo peso molecular obtenidos por oxidación ocurre secuencialmente, (Shaha et al, 2009).

Las enzimas microbianas catalizan la ruptura de materiales complejos usados como sustratos (polímeros) en unidades más simples susceptibles de ser asimiladas por los microorganismos, para la formación de biomasa (bioasimilación) (Kyrikou et al, 2007). Mientras muchos polímeros naturales tales como las proteínas, los polisacáridos y el material genético (DNA, RNA), son fácilmente biodegradables por los microorganismos, éstos carecen de enzimas capaces de romper las uniones de las cadenas macromoleculares de los polímeros sintéticos convencionales, es decir los plásticos más usados (polietileno, polipropileno, PVC, poliestireno, PET, etc.) (Ariosti, 1999). Además de la biodegradación, es importante mencionar la biodesintegración. Esta ocurre en materiales compuestos que están constituidos por un componente biodegradable y un componente no biodegradable (por ejemplo: blends o mezclas de almidón y polietileno, respectivamente) (Ariosti, 1999).

Los microorganismos metabolizan la fracción amilácea, mientras que la fracción polimérica prácticamente queda sin atacar (Kyrikou et al, 2007). No hay consenso en que estos materiales sean plásticos biodegradables, y sus fragmentos podrían contaminar más el medio ambiente, que una bolsa plástica convencional íntegra (Kyrikou et al, 2007). Dentro de los mecanismos de biodegradación es preciso mencionar además el criterio de las condiciones de desarrollo sobre el llamado sustrato primario que viene a ser la más alta concentración del xenobiótico (en este caso el polietileno) que es degradada por las bacterias relegando como sustratos secundarios a concentraciones intermedias entre la baja concentración o mínima del sustrato y la -concentración donde ocurre mayor actividad (Semple, 2001).

5.2.5. **Bacteria**

Las bacterias son el grupo de organismos más abundantes en los suelos. Las bacterias son un grupo extremadamente diverso de organismos con variaciones extensivas de las propiedades morfológicas, ecológicas, fisiológicas y son los degradadores primarios de compuestos orgánicos naturales y xenobióticos encontrados en el suelo. Las bacterias se clasifican usando sus características físicas, químicas, genéticas y metabólicas (Velasco P., 2003) y pueden ser tanto benéficos como perjudiciales para otros seres vivos. (Prescott L., 2008) Entre otras propiedades, las bacterias tienen una pared celular de peptidoglicano que contiene ácido murámico o están relacionadas con bacterias que tienen este tipo de pared celular, y tienen lípidos de membrana con ácidos grasos de cadena recta con enlaces éster que se asemeja a los lípidos de la membrana de las células eucariotas. (Velasco P., 2003).

5.2.6. *Hongo*

Son organismos quimiótrofos y heterótrofos, presentan estructuras complejas y son de mayor tamaño que las bacterias. Poseen cromosomas que se encuentran alojados en el núcleo, se caracterizan por reproducirse de manera sexual y asexual mediante estructuras específicas como las esporas y conidios. (García M. et al, 2011)

Los hongos pertenecen al Reino Eukarya, en la antigüedad se creía que estos organismos pertenecían al reino Plantae, pues las células vegetales y la de los hongos comparten algunas semejanzas, pero la composición en la pared celular y la ausencia de cloroplastos y clorofila, son marcadas diferencias que permiten que los hongos se encuentren en un reino diferente al vegetal. (Aristegui, 2002)

5.2.7. *Conorcios microbianos*

La degradación biológica de la materia es un proceso complejo, ya que involucra la participación de diversos grupos microbianos, los cuales pueden convertirse en un consorcio microbiano. Por consorcio se debe entender, una asociación natural de dos o más poblaciones microbianas, de diferentes especies, que actúan conjuntamente como una comunidad en un sistema complejo, en la que unos se benefician de las actividades de los demás. En un consorcio se pueden encontrar microorganismos con diferentes habilidades metabólicas (Valdez V., 2006).

5.2.8. *Revisión sistemática*

Las revisiones sistemáticas tienen como objetivo reunir toda evidencia que se corresponda con unos criterios de elegibilidad establecidos previamente, con el fin de orientar un tema específico de investigación. (Manual Cochrane de revisiones sistemáticas de intervenciones, 2011) El propósito de las revisiones sistemáticas es minimizar sesgos mediante la aplicación de métodos sistemáticos y explícitos. Para realizar una revisión sistemática exitosa es necesario tener en cuenta los siguientes elementos:

- Un conjunto de objetivos claramente establecidos, con criterios de elegibilidad de estudios previamente definidos.
- Una metodología explícita y reproducible.
- Una búsqueda sistemática que identifique todos los estudios que puedan cumplir los criterios de elegibilidad.
- Una evaluación de la validez de los resultados de los estudios incluidos, por ejemplo, mediante la evaluación del riesgo de sesgos.
- Una presentación sistemática y una síntesis de las características y resultados de los estudios incluidos.

5.2.9. *Simbiosis industrial*

La Simbiosis Industrial es el intercambio de materiales entre varios sistemas productivos de manera que el residuo de uno es materia prima para otros y su implantación promueve una red de empresas. (Marín, G. et al, 2009).

5.3. *Marco normativo*

Las siguientes tablas muestran detalladamente la normatividad nacional e internacional pertinente para este trabajo, en estas se puede visualizar una normativa internacional y nueve nacionales en donde se resaltan los principios del desarrollo sostenible declarados por la ONU, la participación del ministerio de ambiente en temas donde se habla de la importancia de la salud pública, la búsqueda de procesos para la adecuada disposición de los desechos sólidos con el uso de nuevas tecnologías que mejoren y garanticen la disposición de los mismos, la producción y el consumo moderado de las bolsas plásticas por medio de convenios con el gremio productor y diferentes planes de desarrollo

donde se busque reducir el daño al medio ambiente por parte de la acumulación y mal manejos de residuos, por otra parte se encontraron documentos de la corte constitucional que establecen el derecho de las personas a un ambiente sano, a su vez se encontró Norma Técnica Colombiana GTC 24 que establece los lineamientos para la correcta separación en la fuente de los residuos aprovechables y no aprovechables.

5.3.1. Normatividad internacional

Tabla 2. Marco normativo internacional

Normativa	Año de publicación	Autoridad que la expide	Tema	Contenido
Declaración de Río sobre el medio ambiente y el desarrollo	1992	ONU	27 objetivos con el fin de mejorar la calidad de vida de las personas y al medio ambiente además de incentivar el desarrollo	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Principio 8.</i> Alcanzar el desarrollo sostenible. - <i>Principio 17.</i> Se deberá implementar la evaluación de impacto ambiental para identificar causas y efectos de los problemas de la nación - <i>Principio 23.</i> El deber es proteger al medio ambiente.

Fuente: Autores, 2019.

5.3.2. Normatividad nacional

Tabla 3. Marco normativo nacional.

Normativa	Año de publicación	Autoridad que la expide	Tema	Contribución
Decreto 2011	1974	Ministerio del Medio Ambiente	Código Nacional de Recursos Naturales Renovables y de Protección al Medio Ambiente.	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Artículo 1.</i> El ambiente es patrimonio común. El Estado y los particulares deben participar en su preservación y manejo, que son de utilidad pública e interés social. La preservación y manejo de los recursos naturales renovables también son de utilidad pública e interés social. - <i>Título IV.</i> Declaración de los efectos ambientales. - <i>Título III.</i> Residuos, basuras, desechos y desperdicios. - <i>Artículo 34.</i> Se utilizarán los mejores métodos, de acuerdo con los avances de la ciencia y la tecnología, para la recolección, tratamiento, procesamiento o disposición final de residuos, basuras, desperdicios y, en general, de desechos de cualquier clase; b) La investigación científica y técnica.

Ley 9	1979	Secretaria Distrital de Salud	Se establecen las Medidas Sanitarias	<p>- <i>Artículo 8.</i> La descarga de residuos en las aguas deberá ajustarse a la reglamentación que establezca el Ministerio de Salud para fuentes receptoras.</p> <p>- <i>Artículo 22.</i> Las actividades económicas que ocasionen arrastre de residuos sólidos a las aguas o sistemas de alcantarillado existente o previsto.</p>
Constitución Política de Colombia	1991	Corte Constitucional	Norma de normas	<p>- <i>Capítulo 3.</i> Los derechos colectivos y del ambiente.</p> <p>- <i>Artículo 79.</i> Todas las personas tienen derecho a gozar de un ambiente sano. La ley garantizará la participación de la Comunidad en las decisiones que puedan afectar.</p> <p>- <i>Artículo 88.</i> La ley regulará las acciones populares para la protección de los derechos e intereses colectivos, relacionados con el patrimonio, el espacio, la seguridad y la salubridad públicos, la moral administrativa, el ambiente, la libre competencia económica y otros de similar naturaleza que se definen en ella.</p>
Ley 99	1993		Se crea el Ministerio del Medio Ambiente, se reordena el Sector Público encargado de la gestión y conservación del medio ambiente y los recursos naturales renovables, se organiza el Sistema Nacional Ambiental, SINA	<p>- <i>Artículo 3.</i> Del Concepto de Desarrollo Sostenible. Se entiende por desarrollo sostenible el que conduzca al crecimiento económico, a la elevación de la calidad de la vida y al bienestar social, sin agotar la base de recursos naturales renovables en que se sustenta, ni deteriorar el medio ambiente o el derecho de las generaciones futuras a utilizarlo para la satisfacción de sus propias necesidades.</p> <p>- <i>Artículo 5.</i> Regular las condiciones generales para el saneamiento del medio ambiente, y el uso, manejo, aprovechamiento, conservación, restauración y recuperación de los recursos naturales, a fin de impedir, reprimir, eliminar o mitigar el impacto de actividades contaminantes, deteriorantes o destructivas del entorno o del</p>

				patrimonio natural. - <i>Artículo 65.</i> Ejecutar obras o proyectos de descontaminación de corrientes o depósitos de agua afectados por vertimientos del municipio, así como programas de disposición, eliminación y reciclaje de residuos líquidos y sólidos y de control a las emisiones contaminantes del aire
Política de nacional sobre producción más limpia	1997	Ministerio del Medio Ambiente	Lineamientos para incorporar y fomentar la producción más limpia a nivel nacional.	- <i>Sección 2.</i> Disminución de las causas que deterioran el ambiente en Colombia. - <i>Sección 3.</i> Convenios de concertación en donde está incluida el gremio de la industria del plástico.
Resolución 1045	2003	Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial	Se adopta la metodología para la elaboración de los Planes de Gestión Integral de Residuos Sólidos, PGIRS	- <i>Artículo 1.</i> Adopción de la metodología para la elaboración de Planes de Gestión Integrales de Residuos Sólidos. - <i>Artículo 5.</i> Articulación del sector de recicladores con los Planes de Gestión Integrales de Residuos Sólidos. - <i>Artículo 15.</i> Compromiso de disminución de materia reciclable o reutilizable.
Guía ambiental: Sector plástico	2004	Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial	Principales procesos básicos de transformación de la industria plástica y Manejo, aprovechamiento y disposición de residuos plásticos post-consumo	- <i>Sección 3.2.</i> Articulación de la Política de producción más limpia. - <i>Sección 3.3</i> Articulación con la Política de gestión integral de residuos sólidos. - <i>Sección 5.</i> Directrices para los procesos de transformación de plásticos. - <i>Sección 6.</i> Directrices para el aprovechamiento y valorización de los residuos sólidos.
Norma Técnica Colombiana GTC 24	2009	ICONTEC	Gestión ambiental. Residuos sólidos. Guía para separación en la fuente.	- <i>Sección 4.</i> Establece los criterios para separación en la fuente realizando una clasificación de los residuos aprovechables y no aprovechables.
Resolución 1397	2018	Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible	Uso racional de las bolsas plásticas	- <i>Artículo 3.</i> Articulación con la Política de Planes de Gestión Integrales de Residuos Sólidos. - <i>Artículo 2.</i> Se establecen las metas, las cuales son: Para el año de 2020 en los establecimientos se distribuyen bolsas de tres colores

diferentes, verdes para los residuos orgánicos aprovechables, azul para residuos aprovechables y gris para residuos aprovechables de papel y cartón con el fin de incentivar la separación en la fuente.

Fuente: Autores, 2019.

5.4.Marco geográfico

El presente proyecto se llevó a cabo en las instalaciones de la Biblioteca Juan Roa Vásquez de la Universidad El Bosque, ubicada en la localidad de Usaquén, barrio Bella Suiza, entre la carrera 9na y la 7ma Bis, esta proporcionó los insumos físicos como libros, monografías y proyectos de grado y virtuales como bases de datos tales como ProQuest central, ScienceDirect, Google Académico, e Idea. En la Figura 3 se puede apreciar la ubicación de la Biblioteca dentro de la Universidad a una escala 1:2500.

Figura 3. Localización Universidad El Bosque - Biblioteca Juan Roa Vásquez

Universidad El Bosque - Biblioteca Juan Roa Vásquez



Leyenda	
	Carrera 7B bis
	Calle 134
	Carrera 9
	Biblioteca Juan Roa Vásquez
	Universidad El Bosque

1:2.500



Sistema de coordenadas: MAGNA Bogotá DC 2005
Proyección: IGAC Plano Cartesiano
Datum: MAGNA
False Easting: 92.334.8790
False Northing: 109.320.9650
Longitude Of Center: -74.3466
Latitude Of Center: 4.6805
Height: 2.550.0000
Unidades: Meter

Fuente: Autores, 2019.

5.5. Marco institucional

En el marco institucional se establecieron las personas e instituciones que representan de forma directa algún tipo de intervención a lo largo del desarrollo del proyecto, comenzado por los directores y estudiantes que participaron directamente en la composición del proyecto, dando la temática y el enfoque que tuvo el mismo, por otra parte se encuentran la biblioteca Juan Roa Vásquez en donde se desarrolló la mayor parte del proyecto, brindando las herramientas de búsqueda, por último y no menos importante se encuentra la Universidad El Bosque que bajo el planteamiento de la Política de Formación para la Investigación, Creación, Desarrollo e Innovación, establece como escenario académico *la formación para la investigación*, la cual se estructura bajo los contenidos y procesos de formación en temas de investigación adquiridos a lo largo de la formación profesional y considerados por los autores de este proyecto, esto como resultado deja el desarrollo del contenido referido al trabajo de grado.

Tabla 4. Instituciones relacionadas con el proyecto

Personas / Institución	Competencia
Director del proyecto	Encargado de dirigir y guiar a los estudiantes en la consecución de los objetivos del proyecto de grado.
Codirector del proyecto	Encargado de dirigir y guiar a los estudiantes en la consecución de los objetivos del proyecto de grado.
Estudiantes del proyecto	Investigador encargado de los procesos de iniciación, planeación, ejecución, seguimiento, control y cierre el proyecto de grado.
Biblioteca Juan Roa Vásquez y bases de datos	Unidad de la Universidad El Bosque encargada de proveer la información y los insumos físicos o virtuales como las bases de datos, para el desarrollo de la investigación, además de ser el lugar principal de reunión en donde se desarrolló la mayoría del proyecto.
Universidad El Bosque	Bajo el planteamiento de la Política de Formación para la Investigación, Creación, Desarrollo e Innovación, establece como escenario académico la formación para la investigación, la cual se estructura bajo los contenidos y procesos de formación en temas de investigación adquiridos a lo largo de la formación profesional y considerados por los autores de este proyecto, esto como resultado deja el desarrollo del contenido referido al trabajo de grado.

Fuente: Autores 2019.

6. Metodología

6.1. Diseño metodología

La metodología del proyecto fue planteada a partir de los tres objetivos específicos, con el fin de hacer énfasis y relevancia en cada paso que se tendrá en cuenta para el desarrollo del proyecto.

6.1.1. Metodología para el objetivo específico 4.2.1.

“Seleccionar a partir de la revisión sistemática de Cochrane metodologías para el tratamiento biológico de PEBD por medio de bacterias u hongos que cumpla con los criterios establecidos”.

El primer objetivo específico tiene un enfoque **cualitativo** ya que se tomó como referencia el Manual Cochrane de revisiones sistemáticas de intervenciones de 2011, en donde se establecieron los siguientes criterios para realizar la revisión sistemática: Los documentos seleccionados no deben tener una antigüedad igual o mayor a quince años, deben implementar bacterias u hongos para el tratamiento biológico del PEBD, las metodologías implementadas deben ser eficientes al momento de ser evaluadas y debe haber una precisión en los resultados. Teniendo estos criterios

claros, la revisión sistemática inicio con la identificación y búsqueda de artículos científicos, monografías y trabajos de grado en los cuales se evaluó la capacidad de las bacterias u hongos para degradar el PEBD, dicha búsqueda se realizó en diferentes bases de datos tales como ProQuest central, ScienceDirect, Google Académico, y la biblioteca Juan Roa Vásquez, teniendo en cuenta términos claves como PEBD, bacterias, hongos, biodegradación, tratamiento biológico y métodos, en español e ingles, esto con el fin de elaborar un formato de clasificación y obtención de datos en donde se identifique el objetivo principal de la investigación, métodos y metodologías implementadas además de los resultados obtenidos en porcentaje.

En este objetivo el alcance es *descriptivo* debido ya que se buscó analizar la información que contenga cada uno de los documentos enfocado principalmente a la metodología, resultados obtenidos y microorganismo/s evaluados, lo cual fueron las variables de este objetivo. En cuanto a la unidad de análisis, en el primer objetivo son los requerimientos del protocolo modificado a conveniencia del proyecto por los autores del Manual Cochrane de revisiones sistemáticas de intervenciones (Anexo 1.1), es decir para el desarrollo de todo el proyecto se tomó una *muestra*, de todos los documentos que evalúan el porcentaje de degradación de PEBD implementando bien sea bacterias u hongos.

Principalmente la técnica implementada para este objetivo es el *análisis documental* fundamentado en el Manual Cochrane de revisiones sistemáticas de intervenciones, 2011. Además del *análisis de registro* de la información adjunta al protocolo por lo cual el instrumento primordial utilizado fueron las *bases de datos* mencionadas anteriormente. Como resultado de este objetivo fue la elaboración del protocolo del manual modificado, adjuntando la información más relevante de cada una de las investigaciones seleccionadas, esto con el fin de organizar y priorizar la información que realmente fue necesaria para el desarrollo del proyecto.

6.1.2. Metodología para el objetivo específico 4.2.2.

“Establecer la metodología más eficiente para el tratamiento biológico del PEBD por medio de bacterias u hongos”.

El segundo objetivo específico tiene un enfoque *cuantitativo* debido a que se tuvo en cuenta los resultados del primer objetivo específico, con el fin de elaborar dos matrices en Excel teniendo en cuenta el tipo de microorganismo implementado, es decir, si era una bacteria o un hongo la que fue evaluada, en la matriz número uno (Matriz Bacterias - Hongos), (Anexo 12.1.2) se adjuntó los siguientes parámetros: nombre del documento, país en donde se desarrolló la investigación, año, microorganismo/s implementados, cantidad de ensayos realizados, promedio del porcentaje de degradación, error y observación, con la elaboración de esta matriz se logró organizar y visualizar de forma aún más clara la información que proporcionaba cada documento y al mismo tiempo contribuir para la elaboración de la segunda matriz (Análisis Bacterias - Hongos), (Anexo 12.1.3) la cual contenía: Nombre/Especie, porcentaje de degradación y error, con esta matriz se buscó graficar los resultados obtenidos en los ensayos realizados con bacterias u hongos cada grupo por separado, para así determinar, cuál de ellos fue el más eficiente degradando PEBD. Debido a la alta variabilidad entre las metodologías empleadas en los estudios, no se pueden desarrollar un meta-análisis con los datos encontrados. (Hernández G. et al, 2017) Adicional a este análisis, realizando un conteo de la procedencia de los estudios, con el fin de determinar gráficamente qué países se encuentran investigando sobre este tema.

Por otra parte, el alcance de este objetivo es *descriptivo* ya que se tomaron los resultados de cada uno de los estudios y fueron analizados desarrollando gráficas, de esta manera se determinó, cual de todas las metodologías seleccionadas era la más eficiente. Siendo coherentes con el enfoque del proyecto

la unidad de análisis se focalizó en los resultados de porcentaje de degradación de cada uno de los estudios con sus respectivos márgenes de errores, en donde la *muestra* sigue siendo los documentos seleccionados.

Las variables de análisis para este objetivo fueron principalmente la información necesaria para completar las dos matrices mencionadas anteriormente y no menos importante la técnica con la cual se determinará la metodología más eficiente es un análisis estadístico teniendo en cuenta el porcentaje de degradación y el error del ensayo con el fin de ser graficado e interpretar la información suministrada por dicho gráfico.

Como resultado de este objetivo fue la elaboración de las dos matrices además de las gráficas que comparan la eficiencia de cada una de las metodologías evaluadas con su respectivo microorganismo, teniendo como punto de referencia el porcentaje de degradación obtenido y el margen de error del resultado.

6.1.3. Metodología para el objetivo específico 4.2.3.

“Diseñar un proceso de tratamiento del PEBD desde la separación hasta la degradación de este material”.

El tercer objetivo específico tiene un enfoque *cualitativo*, se obtuvo la información de los dos objetivos específicos anteriores para proponer un proceso desde la recolección hasta la degradación del PEBD. Dicha propuesta tiene como objetivo principal separa el material plástico en los puntos de recolección, realizar una simbiosis industrial y biodegradar la mayor parte del PEBD recolectado lo cuales fueron las principales variables para el diseño de la propuesta. El alcance de este objetivo es *descriptivo y correlacional*. Descriptivo porque detalla las propiedades, características y rasgos importantes de la propuesta y correlacional ya que se tomaron las mejores partes de las metodologías analizadas en la revisión sistemática para proponer un proceso en el cual se degrade el PEBD de manera amigable con el ambiente.

La unidad de análisis del tercer objetivo son los procesos de las metodologías seleccionadas para degradar PEBD implementando bacterias u hongos, en cuanto a la *muestra* se reitera los documentos seleccionados según los criterios establecidos en el primer objetivo.

El resultado de este objetivo fue el diseño de una EcoBox, con el fin de separar los materiales en el punto de recolección, por otro lado, se buscó establecer posibles alianzas con empresas que traten materiales plásticos a excepción del PEBD para establecer una simbiosis industrial y por último la integración de una metodología eficiente para el tratamiento biológico del PEBD para degradar la mayor cantidad de material recolectado. Por otra parte, se elaboró una infografía en donde se explica el proceso de la propuesta desde la recolección hasta el tratamiento biológico (Anexo 5).

6.2.Aspectos Éticos del proyecto

Teniendo en cuenta que el trabajo de grado se basó en una revisión sistemática y que el proceso propuesto se fundamenta con la misma, es claro decir que la investigación se caracteriza como una investigación sin riesgo, ya que no se emplean ninguna intervención o modificación intencionada sobre variables biológicas, fisiológicas, psicológicas o sociales de los individuos que participan en el estudio.

6.4. Cuadro metodológico.

Tabla 5. Cuadro resumen de la metodología del proyecto

Objetivos		Actividades	Técnicas	Instrumentos	Resultados esperados
General	Específico				
Proponer un proceso para el tratamiento biológico del PEBD en donde se integre el método más eficiente implementando bacterias u hongos, a partir de una revisión sistemática.	Seleccionar a partir de la revisión sistemática de Cochrane, metodologías para el tratamiento biológico de PEBD por medio de bacterias u hongos que cumplan con los criterios establecidos.	Revisión del Manual Cochrane de revisiones sistemáticas de intervenciones de 2011	Análisis documental	ProQuest central, ScienceDirect, Google Académico, y la biblioteca Juan Roa Vásquez	Elaboración del protocolo del manual modificado, adjuntado la información más relevante de cada una de las investigaciones seleccionadas
		Revisión sistemática	Revisión sistemática de Cochrane	ProQuest central, ScienceDirect, Google Académico, y la biblioteca Juan Roa Vásquez	
		Análisis de registro	Revisión sistemática de Cochrane	Protocolo modificado del Manual	

Establecer la metodología más eficiente para el tratamiento biológico del PEBD por medio de bacterias u hongos.	Elaboración de las matrices Bacterias - Hongos	Análisis documental	Protocolo del Manual modificado- Base de datos	Gráficas que comparan la eficiencia de cada una de las metodologías evaluadas con su respectivo microorganismo, teniendo como punto de referencia el porcentaje de degradación obtenido y el margen de error del resultado. Además de determinar cuál es la metodología más eficiente para el tratamiento biológico de PEBD
	Elaboración de las matrices de análisis Bacterias - Hongos	Análisis documental	Matriz N°1 - Base de datos	
	Gráfico de porcentaje de degradación de bacterias y hongos por aparte además de la clasificación del lugar de origen de los documentos	Análisis documental	Matriz N°1 - Matriz N°2 - Base de datos	
Diseñar un proceso de tratamiento del PEBD desde la separación hasta la degradación de este material.	Diseño de la EcoBox	Técnicas de diseño	SketchUp 2019	Propuesta de un proceso para el tratamiento biológico del PEBD implementando bacterias u hongos que sea amigable con el medio ambiente, representada en una infografía.
	Diseña el proceso de pretratamiento y tratamiento biológico del PEBD	Análisis documental	Protocolos y Matriz N°1 – Matriz N°2	
	Identificar empresas que traten materiales plásticos a excepción del PEBD	Análisis documental	Páginas web oficiales	

Fuente: Autores, 2019.

7. Resultados y Discusión

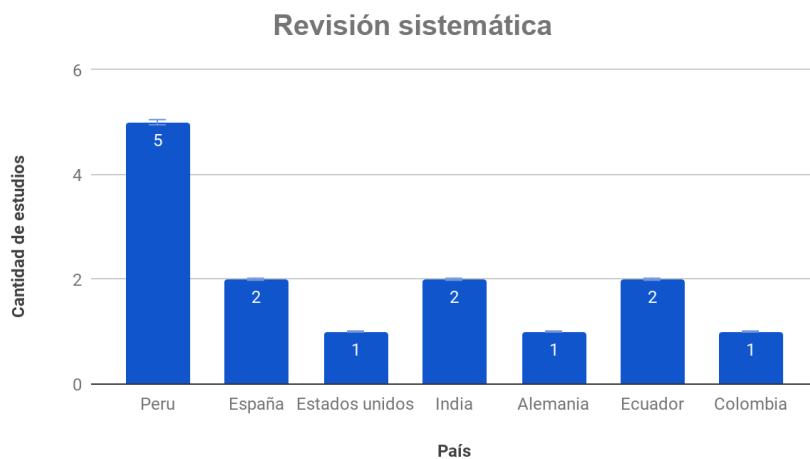
Los resultados, análisis y discusión del proyecto fueron establecidos a partir de los tres objetivos específicos, con el fin de establecer un orden, pero sobretodo una coherencia con el desarrollo de la investigación.

7.1. Resultados y discusión del objetivo 4.2.1.

“Seleccionar a partir de la revisión sistemática de Cochrane metodologías para el tratamiento biológico de PEBD por medio de bacterias u hongos que cumpla con los criterios establecidos”.

Como resultado del primer objetivo se adaptó el protocolo de revisión sistemática del manual de Cochrane en donde se dio mayor relevancia al resultado, la metodología y el objetivo de cada documento encontrado, la consulta de artículos científicos, monografías y trabajos de grado en las bases de datos propuestas, en los meses de abril a mayo de 2019. Se obtuvieron 26 resultados en ProQuest central, 34 resultados en ScienceDirect, 148 Google académico y 0 resultados en la biblioteca Juan Roa Vásquez, para un total de 208 resultados. A continuación se eliminaron aquellos resultados que no cumplían con los criterios establecidos en la metodología propuesta, tales como degradación, implementación de microorganismos y temporalidad, de esta forma, se obtuvieron un total de 19 documentos encontrados entre bacterias y hongos siendo 13 y 6 respectivamente, entre los documentos se encontraron 8 trabajos de grado, 11 artículos científicos y no se encontraron monografías, dichos documentos cuentan con los parámetros expuestos en la metodología, teniendo en cuenta lo anterior, es importante mencionar que la mayoría de las investigaciones relacionadas con el tema, son realizadas en Perú, como se puede apreciar en la Figura 5, lo que demuestra mayor interés por encontrar una solución de bajo impacto ambiental, acerca la acumulación del PEBD y los impactos ambientales que este material genera, esto probablemente se debe a la problemática ambiental presente en dicho país ya que Perú genera 30 kg por persona al año de residuos plásticos de los cuales únicamente es reciclado el 1.9% (Ministerios del Ambiente Perú, 2018), a comparación con Colombia que genera 24 kg por personas al año de estos residuos y recicla alrededor del 15% (Greenpeace, Col, 2018), por otra parte se puede destacar que países como España, India y Ecuador, se encuentran desarrollando investigación sobre el tema con el fin de corregir y mitigar el impacto ambiental que genera la degradación del plástico de forma natural.

Figura 5. Cantidad de publicaciones por país



Fuente: Autores, 2019.

Cada uno de los 19 documentos se determinó de manera experimental, el grado de eficiencia del tratamiento biológico del PEBD implementando bacterias u hongos como agente degradador. Por otra parte, es importante mencionar que a continuación se plasmó los datos más importantes de los protocolos de cada uno de los documentos seleccionados, debido a la extensión de los mismos, los cuales se puede apreciar de forma completa en el Anexo 12.2. Los documentos seleccionados fueron las siguientes:

BACTERIAS:

1. Metodología de Yoshida S. et al, 2016: Metodología para identificar y comparar bacterias capaces de degradar el PET.

Título: A bacterium that degrades and assimilates poly (ethyleneterephthalate)

Protocolo

- **Objetivo:** Identificar un microorganismo capaz de degradar el poli(etilentereftalato), provenientes de desechos de PET.

Resultados: Los resultados más relevantes para este proyecto se encontraron en el ensayo # 46, este degradó el 75% del carbono de la película PET.

Microorganismos encontrados: Mediante microscopía se encontró un consorcio en la película, denominado N°46, este contenía una mezcla de bacterias, células similares a **levaduras** y **protozoos**, mientras que el fluido de cultivo era casi transparente, luego de aislarse se identificó y nombró la bacteria *I. sakaiensis* que contiene la enzima ISF6_4831. Este consorcio degradó la superficie de la película de PET a una velocidad de 0,13 mg cm⁻² días⁻¹ a 30 ° C y el 75% del carbono de la película de PET degradado se cataboliza en CO₂ a 28 °C, más específicamente la película de PET se dañó ampliamente y se degradó casi por completo después de 6 semanas a 30 °C. Se encontraron células conectadas mediante apéndices a la película de PET y a su vez se encontró un sub-consorcio sin capacidad para degradar PET, este carecía de *I. sakaiensis*.

2. Metodología de Carrillo P. et al, 2004: Aislamiento de un cultivo mixto de bacterias de diferentes medios que tengan capacidad degradativa de DDT.

Título: Aislamiento, identificación y evaluación de un cultivo mixto de microorganismos con capacidad para degradar ddt

Protocolo

- **Objetivo:** Evaluar la capacidad para degradar DDT de un cultivo bacteriano mixto aislado de hábitats del Valle del Yaqui.

Resultados: Entre el cultivo mixto, los microorganismos aislados encontraron *Pseudomonas*, *Neisseria*, *Moraxella* y *Acinetobacte* de estos la biodegradación fue del 43 % del DDT dosificado, la cual se dio en 80 horas de cultivo.

3. Metodología de Campos C. et al, 2017: Biodegradación de poliestireno a partir de Humus de lombriz.

Título: Biodegradación de poliestireno utilizando microorganismos presentes en el Humus de lombriz durante los meses, octubre - diciembre 2016.

Protocolo

- **Objetivo:** Determinar la biodegradación del poliestireno por microorganismos presentes en el humus de lombriz durante los meses Octubre - Diciembre del 2016

Resultados: Al cabo de los tres meses se realizó el promedio del peso de degradación convirtiendo este valor en dato porcentual, los resultados obtenidos con el consorcio entre *Bacillus spp* y *Clostridium spp* fue del 9.4%, hay que tener en cuenta que las muestras fueron colectadas del Humus generado por una lombriz con el fin de determinar si dicho producto posee microorganismos capaces de degradar el poliestireno y sus derivados.

4. Metodología de Uribe D. et al, 2010: Metodología para evaluar la biodegradación de PEBD.

Título: Biodegradación de polietileno de baja densidad por acción de un consorcio microbiano aislado de un relleno sanitario, Lima, Perú.

Protocolo

- **Objetivos:** Describir el aislamiento y la actividad de biodegradación de microorganismos sobre polietileno de baja densidad

Resultados: Se obtuvo una reducción de 5,4% del peso total de polietileno bajo la acción del consorcio conformado solo por bacterias (pH 7,0). El porcentaje de peso perdido obtenido mediante el empleo de las levaduras y los hongos aislados fue de 4,8% (pH 5,5), que, si bien es menor, es un resultado significativo para las condiciones en las que se desarrolló la prueba.

5. Metodología de Barbarán H. et al, 2018: Metodología para determinar la degradación del PET por medio de *Pseudomona aeruginosa*

Título: Biodegradación de polietileno tereftalato (PET) por acción de *Pseudomona aeruginosa*, en condiciones de laboratorio.

Protocolo

- **Objetivo:** Determinar la concentración de *Pseudomona aeruginosa* aplicada en diferentes periodos de tiempo que logra mayor porcentaje de biodegradación del Polietileno tereftalato, en condiciones de laboratorio

Resultados: El mayor porcentaje de remoción obtenido fue resultado de la aplicación del tratamiento N° 9, el cual consistió en la aplicación de 9×10^8 UFC de *Pseudomona aeruginosa* en un periodo de tiempo de 35 días logrando biodegradar 19.93%

6. Metodología de Mukherjee S. et al, 2017: Metodología para degradar polietileno por medio de bacterias.

Título: Bio-degradation of polyethylene via complete solubilisation by the action of *Pseudomonas fluorescens*, bio-surfactant produced by *Bacillus licheniformis* and anionic surfactant

Protocolo

- **Objetivo:** Tratar polietileno comercial con bio-tensioactivo producido por *Bacillus licheniformis*, tensioactivo aniónico y bacteriano tratado con *Pseudomonas fluorescens* para su degradación.

Resultados: El orden de los tratamientos afecto cada respuesta del polietileno, de esta forma solo se encontraron dos pérdidas de peso del polietileno, es estos casos fueron los ensayos PE 2.3 con 5.06 ± 0.05 y PE 6.3 con 7.13 ± 0.05 , a su vez se encontró que el ensayo PE 3.3 se observó una solubilización completa en solución acuosa por lo cual no se pudo calcular el peso perdido.

7. Metodología de Singh G. et al, 2016: Metodología para evaluar la biodegradación de PEBD a partir de microorganismos aislados del suelo.

Título: Biodegradation of polythene by bacteria isolated from soil

Protocolo

- **Objetivo:** Formular nuevos consorcios microbianos aislados de las áreas de procesamiento de basura plástica y, por lo tanto, idear un enfoque ecológico para una mayor degradación del polietileno de baja densidad (PEBD)

Resultados: Teniendo en cuenta la actividad microbiana de los dos tipos de especies evaluadas en este estudio, se determinó que *Pseudomonas spp* tuvo un 11% y *Staphylococcus sp* tuvo 52% de degradación de PEBD, es importante tener en cuenta que el pretratamiento ejecutado fue el mismo para las pruebas del polietileno de baja densidad con el fin de no alterar los resultados obtenidos en este proyecto.

8. Metodología de Cáceres O., 2011: Metodología para determinar la biodegradación del PEBD en biorreactores air-lif.

Título: Biodegradación bacteriana de polietileno de baja densidad bajo condiciones controladas en biorreactores air-lif.

Protocolo

Objetivo: Determinar la biodegradación de polietileno de baja densidad (bolsas de plástico) mediada por bacterias nativas de La Moyuna.

Resultados:

- **Microorganismos encontrados:** Las bacterias que degradan el polietileno se encuentran bacterias del género *Pseudomonas sp*, *Edwardsiella sp.* y *Alcaligenes sp.* En mayor proporción correspondieron a *Pseudomonas sp.*
- **Biodegradación del PEBD:** se observó disminución en peso para PESO provenientes de Metro en 4.2 mg para la concentración de 50 mg/L, 4.6 para la concentración de 100 mg/L, 3.2 mg para la concentración de 150 mg/L y 1.6 mg para la concentración de 200 mg/L.

9. Metodología de Villa M. et al, 2008: Metodología para evaluar la biodegradación de PEBD.

Título: Degradación biológica de polímeros mediante la selección y producción de potenciales cultivos iniciadores

Protocolo

- **Objetivo:** Desarrollar y optimizar procesos que permitan la biodegradación de residuos sólidos plásticos como una alternativa viable a la gestión en vertedero

Resultados: Se obtuvo una reducción promedio del 15% del peso total de polietileno bajo la acción de *Brevibacillus borstelensis* en un medio de cultivo mínimo elaborado para que el único sustrato de carbono que tuviera el microorganismo fuera el PEBD.

10. Metodología de Martínez P., 2016: Evaluar el efecto de los microorganismos nativos de un relleno, en la degradación de PEBD.

Título: Efectos de las Asociaciones Microbianas sobre la Degradabilidad del Polietileno de Baja Densidad

Protocolo

- **Objetivo:** evaluar la acción biodegradadora de las bacterias presentes en el relleno sanitario sobre el polietileno utilizando el mismo como única fuente de carbono.

Resultados:

- **Identificación morfológica de las bacterias:** Los microorganismos se identificaron por medio de tinción de Gram, dando como resultado bacterias Gram negativas, por lo que se identifica el género *Pseudomona spp.*
- **Pérdida de peso en %:** Las muestras 2.1.2 y 2.1.3 son las más significativas dando como resultado 6,5 % y 8,3% respectivamente en pérdida de peso pasados 35 días.
- **Biomasa:** Se identificó Biomasa en las muestras 1 y 2, en la fase de crecimiento microbiano.

11. Metodología de Martín A., 2017: Metodología para evaluar la biodegradación de PEBD a partir de bacterias marinas.

Título: Estudio preliminar de la biodegradación de plásticos por bacterias marinas.

Protocolo

- **Objetivo:** Estudiar microorganismos marinos potencialmente degradadores de plásticos, en muestras de agua recogidas en el Puerto de Santa Cruz de Tenerife.

Resultados: Se obtuvo una reducción promedio del 0,2% del peso total de polietileno bajo la acción de *Nocardia* en un medio de cultivo mínimo salino y un medio de cultivo nutritivo con el fin de proporcionar una fácil adaptación de la bacteria a un medio diferente al cual está adaptada a desarrollarse.

12. Metodología de Skariyachan S. et al, 2016: Metodología para evaluar la biodegradación de PEBD a partir de diferentes consorcios microbianos.

Título: Novel bacterial consortia isolated from plastic garbage processing areas demonstrated enhanced degradation for low density polyethylene.

Protocolo

- **Objetivo:** Determinar cuál de los consorcios microbianos puestos a prueba logra ser más eficiente para degradar el polietileno de baja densidad.

Resultados: El producto final mostró cambios estructurales y formación de película bacteriana en tiras degradadas de PEBD, obteniendo como resultado un $81\% \pm 2.2$ de degradación de este material producto de la actividad enzimática del consorcio conformado por *Enterobacter sp*, *Enterobacter sp*, y *Pantoea sp*.

13. Metodología de Barbosa J., 2013: Metodología para evaluar la biodegradación de PEBD.

Título: Prospecção de microorganismos com potencial para biodegradação de polietileno

Protocolo

- **Objetivo:** El presente estudio tiene como objetivo aislar microorganismos presentes en desechos plásticos desechados en suelos cerrados y evaluar la capacidad microbiana potencial para degradar, modificar o metabolizar el polietileno, con el objetivo de aplicaciones en el campo de la biotecnología y la biorremediación.

Resultados: Se obtuvo una reducción promedio del 15% del peso total de polietileno bajo la acción del consorcio conformado solo por bacterias, probado en los diferentes medios de cultivo mínimos establecidos en la investigación. Aunque no existen antecedentes en la literatura sobre la capacidad de las bacterias de género *Comamonas sp.*, *Delftia sp.* e *Stenotrophomonas sp.*, en este estudio se logra determinar su capacidad de asimilar el PEBD.

HONGOS:

1. Metodología de Gabriela G., 2013: Biodegradación de polietileno de baja densidad por consorcios microbianos.

Título: Biodegradación de polietileno de baja densidad por consorcios microbianos.

Protocolo

- **Objetivo:** Determinar si en los consorcios microbianos contenidos en los residuos de polietileno de baja densidad, recolectados en los sitios seleccionados, son capaces de biodegradar este tipo de polímeros.

Resultados: Al transcurrir los dos meses de ensayos, teniendo en cuenta los dos escenarios planteados en el estudio (Incubación de los microorganismos en MSM a pH 5 y 7), se obtuvieron resultados que en el medio ácido hubo una mayor biodegradación del polietileno de baja densidad por parte de la generación de hongos de levadura con un porcentaje promedio de 11,2% mientras que en los ensayos realizados con un pH neutro arrojaron un porcentaje de degradación de 8,3%. Los mismos ensayos fueron realizados por segunda vez, pero esta vez en la ejecución durante los dos meses de estudios, se llevaron a cabo en agitadores mecánicos y la diferencia de porcentajes de degradación fue significativa ya que el montaje realizado con un pH ácido alcanzó el 19,2% de degradación del total de la muestra de material, mientras que el ensayo realizado con un pH neutro se obtuvo un 11,4%.

2. Metodología de Moreno D., 2018: Metodología para la biotransformación de LDPE y LDPE oxo-biodegradable en sistema de cámara húmeda, implementando corteza de pino.

Título: Biotransformación de polietileno de baja densidad (LDPE) y LDPE oxo-biodegradable empleando *Pleurotus ostreatus* y residuos lignocelulósicos de pino (*Pinus caribaea*).

Protocolo:

- **Objetivos:** Biotransformar láminas de polietileno de baja densidad (LDPE) y LDPE oxo-biodegradables pre-tratadas con plasma de O₂ empleando al hongo *Pleurotus ostreatus*.

Resultados: Los hongos con actividad ligninolítica como *P. ostreatus* pueden transformar plástico oxo-biodegradable con y sin un pretratamiento físico, este hongo podría emplear el LDPE como fuente de carbono para la producción de biomasa, por otra parte, en este ensayo se evidenció la disminución del 9,13% del peso de las muestras de PEBD.

3. Metodología Rodriguez J. et al, 2013: Biodegradación de polietileno de baja densidad biodegradable implementando *Pleurotus ostreatus*.

Título: Degradation of Oxo-Biodegradable Plastic by *Pleurotus ostreatus*

Protocolo

- **Objetivo:** Evaluar la capacidad de *Pleurotus ostreatus* para degradar el plástico oxo-biodegradable (D2W).

Resultados: Al cabo de los tres meses se realizó el promedio del peso de degradación convirtiendo este valor en dato porcentual, los resultados obtenidos por *Bacillus spp* fue del 4%, mientras que, evaluando la misma característica, pero con *Clostridium spp* fue del 9.4%, hay que tener en cuenta que las muestras fueron colectadas del Humus generado por una lombriz con el fin de determinar si dicho producto posee microorganismos capaces de degradar el poliestireno y sus derivados.

4. Metodología de Espinoza L., 2018: Busca comparar diferentes clases de hongos para determinar cuál tiene mayor potencial de degradación.

Título: Evaluación de la degradación de polietileno de baja densidad mediada por diferentes especies de hongos

Protocolo

- **Objetivo:** Determinar y cuantificar el nivel de degradación en muestras de polietileno de baja densidad por parte de diferentes especies de hongos

Resultados: En cuanto a las colonias, el plástico mostró una tonalidad amarillenta dando positivo a la colonización en cuanto al tratamiento de envejecimiento se registró una pérdida leve de 0.088 +/- 0.576% del peso de las muestras tratadas, a su vez las únicas muestras que ciertamente registraron pérdida en peso fueron aquellas tratadas con *Fusarium*, obteniéndose en el período de cultivo más largo una pérdida de 0.99% +/- 0.11% y por último las otras muestras registraron un aumento de peso por las colonias adheridas al material.

5. Metodología de Erazo M., 2018: Biodegradación de polietileno de baja densidad biodegradable implementando *Aspergillus niger* y *Penicillium spp*.

Título: Evaluación del comportamiento de *Aspergillus niger* y *Penicillium spp* en la degradación de bioplástico elaborado a partir de almidón de cáscara de plátano

Protocolo

- **Objetivo:** Evaluar el comportamiento de *Aspergillus niger* y *Penicillium spp* en la degradación de bioplástico elaborado a partir de almidón de cáscara de plátano a nivel de laboratorio.

Resultados: Al cabo de los 60 días *Penicillium spp* degradó un total del 6.2% del material suministrado al principio del ensayo de biodegradación, mientras que *Aspergillus niger* logró degradar un 12,8% de polietileno de baja densidad biodegradable. Es importante mencionar que los dos microorganismos implementados en este estudio fueron evaluados bajo condiciones distintas teniendo como referencias la forma más adecuada para el desarrollo óptimo del mismo.

6. Metodología de Bach I. et al, 2015: Aislamiento y biodegradación de PET y PEBD a partir de hongos filamentosos.

Título: Aislamiento y caracterización de hongos filamentosos biodegradadores de polietileno de tereftalato y polietileno de baja densidad ·ICA.

Protocolo

- **Objetivo:** Aislar y caracterizar hongos filamentosos degradadores de polietileno de tereftalato (PET) y polietileno de baja densidad (LDPE). Las muestras plásticas con evidencias de deterioro fueron obtenidas de un antiguo botadero de residuos sólidos en Santiago - lea.

Resultados: Se aislaron 8 cepas de hongos filamentosos de polietileno de tereftalato las cuales son las siguientes: *Aspergillus*, *Alternaria*, *Bipolaris*, *Beltrania*, *Cladosporium*, *Mucor* y *Stemphylium* y 11 cepas de polietileno de baja densidad de las cuales se identificaron *Aspergillus*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus* y *Papulaspora*, identificándose según sus características macroscópicas y microscópicas. La cepa de mayor actividad biodegradadora en PET y PEBD pertenece al género *Mucor* perdiendo 1.3% de peso en PET a 25°C - pH 5 y 20% LDPE a temperatura 25°C y pH 5-7.

Por otra parte, 12 de 19 documentos seleccionados cuentan con alguna clase de pre tratamiento bien sea físico o químico, esto favorece la acción de los microorganismos sobre el plástico, debido a que se genera una ruptura de las cadenas de carbono, haciéndolas mucho más sencillas de metabolizar.

La colonización por parte de las bacterias u hongos se debe a que el material es colonizado por polímeros exocelulares los cuales son activos capaces de adherirse al sustrato, estos están compuestos principalmente de polisacáridos no iónicos y aniónicos este proceso es decisivo en la corrosión microbiana tal como lo sustentan Whitekettle, (1991) y Mielstein, et al. (1993).

Durante la revisión sistemática, se evidenció que los mejores tratamientos de biorremediación se dieron cuando se empleaba microbiota propia de las basuras, es decir, a partir de microorganismos aislados directamente de los rellenos sanitarios o botaderos a cielo abierto como la Metodología de Yoshida S. et al, 2016, Metodología de Carrillo P. et al, 2011 y Metodología de Skariyachan S. et al, 2016 con una degradación de 75%, 45% y 81% respectivamente, esto se debe a que el proceso de bioaumentación con microbiota propia de los residuos es más eficiente debido a que los microorganismos ya se encuentran adaptados al medio y degradando el PEBD, tomándolo como fuente principal de carbón (Skariyachan S. et al, 2016), otro de los aportes importantes es el descubrimiento de nuevas especies de microorganismos con potencial para la degradación de este tipo de material como se pudo evidenciar en la Metodología de Yoshida S. et al, 2016.

Como se puede evidenciar en la Tabla 6, los tiempos que se implementaron para realizar los ensayos de degradación utilizando bacterias oscilan entre 4 a 12 semanas, de igual forma los tiempos empleados para realizar los ensayos de degradación utilizando hongos oscila entre 8 y 12 semanas, la diferencia de tiempos en los cuales los ensayos con bacterias u hongos fueron implementados, probablemente se debe a que las bacterias, gracias a su batería enzimática, su versatilidad y crecimiento exponencial, se pueden adaptar más fácil y rápido al medio en el cual se encuentren (Erickson et al., 2015). Por otra parte, durante la revisión sistemática se identificó que en la mayoría de los ensayos de biodegradación, los investigadores emplearon sustancias bioestimulantes como aceites minerales, con el fin de producir una correlación directa entre el incremento en la formación y viabilidad de estas biopelículas (entre las 48 y las 72 horas) y la capacidad de la cepa para degradar el polietileno hasta un 50% mayor tal y como lo reporta Gilan et al, (2004) en su estudio.

Tabla 6. Tiempos establecidos por los investigadores para realizar los ensayos de degradación

BACTERIAS	
Nombre de la metodología	Tiempo del ensayo de degradación
Metodología de Yoshida S. et al, 2016	6 semanas
Metodología de Carrillo P. et al, 2004	6 semanas
Metodología de Campos C. et al, 2017	12 semanas
Metodología de Gabriela G, 2013	8 semanas
Metodología de Uribe D. et al, 2010	5 semanas
Metodología de Barbarán H. et al, 2018	4 semanas
Metodología de Mukherjee S. et al, 2017	6 semanas
Metodología de Singh G. et al, 2016	7 semanas
Metodología de Cáceres O., 2011	8 semanas
Metodología de Villa M. et al, 2008	8 semanas
Metodología de Martínez P., 2016	5 semanas
Metodología de Martín A., 2017	4 semanas
Metodología de Skariyachan S. et al, 2016	6 semanas
Metodología de Barbosa J., 2013	7 semanas
HONGOS	
Nombre de la metodología	Tiempo del ensayo de degradación

Metodología de Gabriela G., 2013	8 semanas
Metodología de Moreno D., 2018	8 semanas
Metodología de Rodríguez J. et al, 2013	12 semanas
Metodología de Espinoza L., 2018	8 semanas
Metodología de Erazo M., 2018	8 semanas
Metodología de Bach I. et al, 2015	8 semanas

Fuente: Autores, 2019.

En los estudios, también se reporta la pérdida de peso del PEBD, esto probablemente se debe a que este plástico es de material suave, transparente, flexible y tiene un elevado peso molecular (Domínguez, 2009); además tienen una estructura desordenada con grandes ramificaciones que pueden tener hasta cien átomos de carbono y los enlaces C-C pueden romperse en la cadena principal lo que produce la ruptura de la cadena polimérica (Volke, 1997) mientras que el PET presenta alta dureza, gran resistencia contra agentes químicos (Reyes, 2009) y no es susceptible al ataque microbiano debido a sus características hidrófobas, tamaño, peso molecular, densidad y la falta de una cadena terminal susceptible al ataque enzimático (David et al, 1994).

7.2.Resultados y discusión del objetivo 4.2.2.

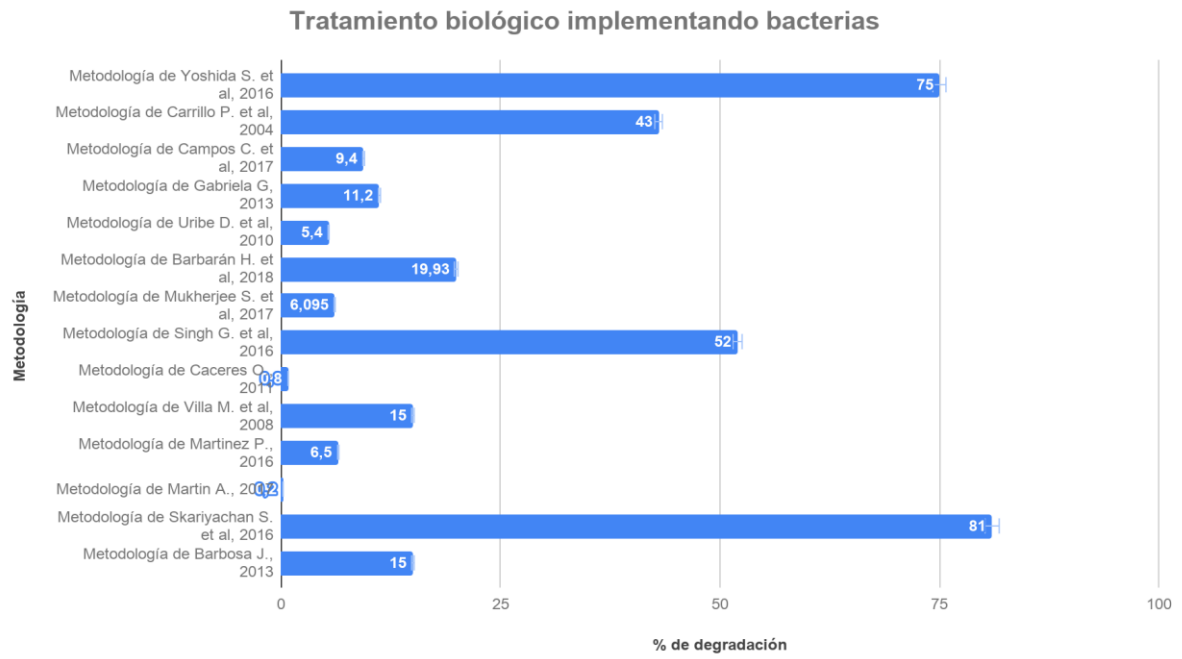
“Establecer la metodología más eficiente para el tratamiento biológico del PEBD por medio de bacterias u hongos”.

Para el desarrollo del segundo objetivo, se realizaron dos tablas comparativas de los documentos, una en la que se comparó la biodegradación mediada por hongos y otra mediada por bacterias (Anexo N°3), posteriormente se establecieron parámetros de análisis como el porcentaje de degradación y margen de error de los resultados, obteniendo una gráfica donde se evidencio la metodología más eficiente tanto del proceso mediado por bacterias como por hongos. Se realizó un análisis comparativo entre las dos metodologías teniendo en cuenta el porcentaje, para así establecer cual es más eficiente.

7.2.1. Bacterias

Durante el desarrollo de la revisión sistemática, se identificó que ninguna de las metodologías implementadas para la degradación del PEBD evidencia un resultado de degradación del 100%. Por otra parte, la metodología más eficiente para el tratamiento biológico del PEBD implementando bacterias fue la planteada por Skariyachan S. et al en el año de 2016, dicha metodología fue elaborada con los siguientes criterios: Las muestras de PEBD se obtuvieron a partir de una empresa que elabora este tipo de material, principalmente en dos presentaciones, pulverizado y laminado, cada uno de ellos esterilizado, los microorganismos fueron obtenidos a partir de un muestreo realizado en un relleno sanitarios, a estos se les realizó un proceso de enriquecimiento, en donde se realizó una replicación en caldo cultivo nutritivo a 36°C durante dos semanas, a la hora del montaje se realizaron medios mínimos que contenían sulfato de amonio, fosfato de di-potasio, fosfato de potasio, sulfato de magnesio, agar bacteriológico, polvo ó tiras de PEBD, en el estudio se realizaron diferentes consorcios de forma aleatoria con el fin de evaluar cuál de estos degrada el material de forma más eficiente, como resultado de esto, se obtuvo que el consorcio conformado por *Enterobacter cloacae* y *Pantoea agglomerans* fue el más eficiente degradando este material, arrojando un $81\% \pm 2,2$, este porcentaje se obtuvo mediante un pesaje al inicio y al final del ensayo. Dicho análisis pudo ser evidenciado por la Figura 6 en la cual se graficó el porcentaje de degradación con su respectivo error para cada una de las metodologías.

Figura 6 Comparación de metodologías para el tratamiento biológico de PEBD implementando bacterias



Fuente: Autores, 2019.

En la siguiente tabla se representan los criterios más importantes de cada una de las metodologías.

Tabla 7. Resumen de los criterios más importantes de las metodologías para el tratamiento de PEBD implementado bacterias

Metodología	Pretratamiento		Tipo de pretratamiento		Microorganismo empleado	Forma del PEBD	Obtención de microorganismo	Porcentaje de degradación	Error
	SI	NO	Físico	Químico					
Metodología de Yoshida S. et al, 2016		X	NA	NA	Nueva bacteria <i>Ideonellasakaiensis</i> 201-F6	Laminas	Toma de muestras ambientales de PET contaminado incluido sedimentos, suelo, aguas contaminadas y lodos	75	± 0,85
Metodología de Carrillo P. et al, 2004		X	NA	NA	Consortio microbiano entre <i>Pseudomonas</i> , <i>Neisseria</i> , <i>Moraxella</i> , <i>Acinetobacter</i>	Laminas	Toma de muestras del suelo, sedimento y aguas residuales de sitios con un historial de contaminación o manejo de plaguicidas entre 15 a 25 años	43	± 1
Metodología de Campos C. et al, 2017	X		Macerado y pulverizado	Triple lavado con Etanol	Consortio entre <i>Clostridium spp</i> y <i>Bacillus spp</i>	Pulverizado	Toma de muestras del humus generado por las lombrices con el fin de ser clasificado y aislado	9,4	± 2,4
Metodología de Gabriela G, 2013		X	NA	NA	<i>Pseudomonas sp</i>	Tiras	Muestras del polietileno obtenidas del suelo del relleno sanitario Bordo Poniente y suelo húmedo del mismo	11,2	± 0,2
Metodología de Uribe D. et al, 2010	X		NA	Un lavado con Etanol	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Perlas	Toma de muestras en relleno sanitario	5,4	± 2,64
Metodología de Barbarán H. et al, 2018		X	NA	NA	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Tiras	Banco de cepas de microorganismos de la universidad	19,93	± 1,6

Metodología de Mukherjee S. et al, 2017	X	NA	Lavado con agua caliente, posterior a esto el material fue puesto en una solución de Etanol al 70% durante 30 minutos	Consortio microbiano entre: <i>Bacillus licheniformis</i> , <i>bio-tensioactivo</i> , <i>bio-surfactante</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Tratamiento del plástico</i>	Laminas cuadradas de PEBD de 3cm x 3cm	Banco de cepas de microorganismos del Instituto de Biomedicina y Especies Naturales	6,095	± 0,05
Metodología de Singh G. et al, 2016	X	Trituración	Procesos térmico a 80°C por un tiempo de 2 horas además de realizar un lavado doble con Etanol al 85%	<i>Staphylococcus sp</i>	Triturado	Toma de nuestras de un suelo agrícola	52	± 0,06
Metodología de Cáceres O., 2011	X	NA	NA	Consortio microbiano entre <i>Pseudomonas sp.</i> , <i>Edwardsiella sp</i> y <i>Alcaligenes sp</i>	Tiras	Se recolectaron 250 g de suelo con plásticos en aparente estado de descomposición	0,8	± 1,05
Metodología de Villa M. et al, 2008	X	Cortado en circunferencias con un diámetro aproximado de 5 milímetros	1. Exposición a radiación UV con una longitud de onda de 254nm a una distancia de 20cm por un tiempo de 68 horas. 2. Proceso térmico a 55°C durante 1 mes. 3. exposición a radiación UV con una longitud de onda de 254nm a 20cm por un tiempo de 52 horas además de un proceso	<i>Brevibacillus borstelensis</i>	Circunferencias de 5 milímetros	Laboratorio del Parque Tecnológico de Paterna	15	± 2,19

			térmico a 55°C durante 12 días.					
Metodología de Martínez P., 2016	X	Lavado y pulverizado	Proceso térmico a 130°C durante 30 minutos	<i>Pseudomona spp</i>	Pulverizado	Toma de muestras en relleno sanitario	6,5	± 0,0001
Metodología de Martin A., 2017	X	El material fue cortado en cuadrados de 0,5 cm X 0,5 cm además de realizar dos lavados, el primero se utilizó alcohol etílico al 96% en donde los trozos fueron sumergidos por 30 minutos, el segundo lavado consto de la utilización de alcohol etílico pero esta vez al 70% durante 20 minutos		<i>Nocardia</i>	Laminas cuadradas de 0,5cm x 0,5cm	Las muestras fueron obtenidas en el Muelle de Santa Cruz de Tenerife	0,2	± 0,15
Metodología de Skariyachan S. et al, 2016	X	NA	NA	Consortio microbiano entre <i>Enterobacter cloacae</i> y <i>Pantoea agglomerans</i>	Pulverizado y laminado	Toma de muestras en relleno sanitario	81	± 2,2
Metodología de Barbosa J., 2013	X	El material fue cortado en pequeños trozos, posteríos a esto fue lavado con NaCl al 0,9%	NA	<i>Stenotrophomonas sp</i>	Laminas	Toma de muestras en el Parque nacional de Chapada dos Veadeiros en donde se recolectó una muestra de polietileno de baja densidad con rasgos de degradación por parte de alguna actividad microbiana.	15	± 1,36

Fuente: Autores, 2019.

Teniendo en cuenta los resultados expuestos en la Tabla 7, es evidente la capacidad del consorcio microbiano entre *Enterobacter cloacae* y *Pantoea agglomerans* en la degradación del PEBD, a continuación, se describieron las características principales de las bacterias que conforman este consorcio para explicar dicha capacidad degradadora. *Enterobacter cloacae* es un bacilo Gram negativo, pertenece al género enterobacter de la familia de las enterobacteriaceae, es oxidasa negativo y catalasa positiva que está presente en el suelo, agua y tracto gastrointestinal humano, poseen la capacidad de fermentar la glucosa y reducir los nitritos además de ser citrato y ureasa positivos (Silva et al. 2018). *Pantoea agglomerans* es una bacteria Gram negativa que pertenece a la familia Enterobacteriaceae. Es una bacteria ubicua comúnmente aislada de las superficies de las plantas, semillas, frutas y heces animales o humanas que produce la enzima alcano monoxigenasa (Daza C. et al, 2016) Durante el estudio de Skariyachan los microorganismos fueron colectados de un relleno sanitario lo cual concuerda con la descripción de cada uno de microorganismos y sus principales reservorios, además algunos estudios muestran que los microorganismos seleccionados del suelo contaminado con hidrocarburos poseen capacidades de degradación (Yoon et al. 2012; Duddu et al. 2015). Los estudios también revelaron que las bacterias Gram negativas podrían adaptarse fácilmente al ambiente rico en polietileno y polímeros similares (Dey et al. 2012). Por otra las cepas bacterianas en forma de consorcios mejoran el porcentaje de degradación en comparación con la aplicación de aislamientos en su forma pura (Skariyachan S. et al, 2016).

La mayor degradación de PEBD se logró cuando el material fue presentado en forma de tiras, esto pudo haber sido gracias a que se proporciona una mayor área de superficie, donde la colonización por parte de las bacterias pudo generar mayor adherencia, lo cual según Skariyachan, evidencio en la formación de biopelículas las cuales garantizan que existe un proceso de degradación del PEBD (Skariyachan S. et al, 2016). Sin embargo, es difícil identificar cual es la capacidad enzimática de cada una que reacciona con el PEBD ya que en el estudio realizado no se identificó el mecanismo exacto de biodegradación por parte de este consorcio, además se afirma que este es el primer estudio en el cual dicho consorcio es evaluado con fines degradativos del PEBD lo cual reduce la información sobre el mismo.

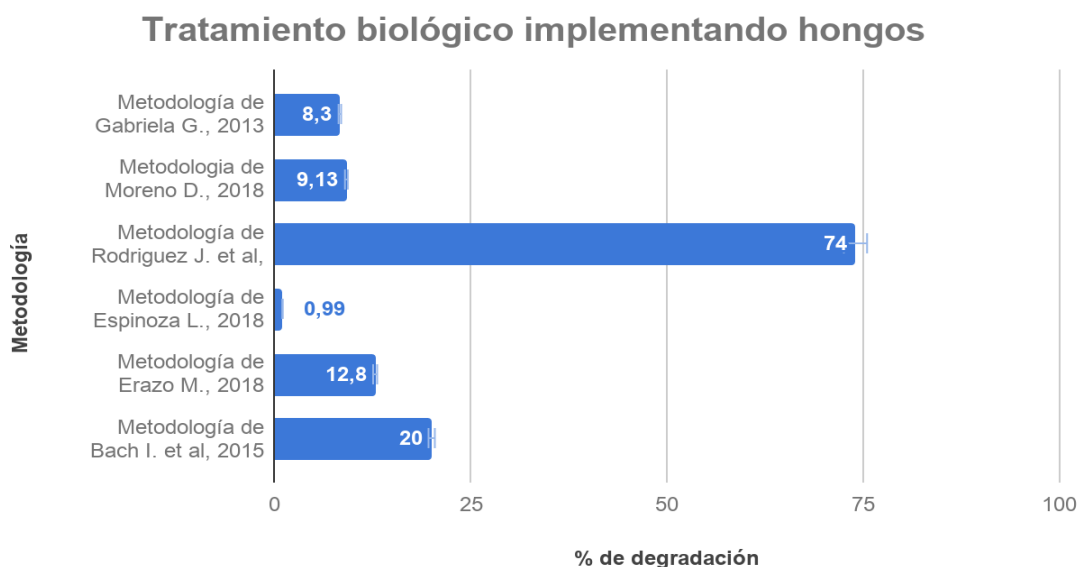
Comparando las prácticas desarrolladas en la Metodología de Skariyachan S. et al, 2016, en la Metodología de Yoshida S. et al, 2016 y en la Metodología de Martin A., 2017, se logró establecer que el grado de eficiencia de los microorganismos depende principalmente de tres componentes; medio de cultivo, mecanismos de bioestimulación y el origen del microorganismo evaluado. En la Metodología de Yoshida S. et al, 2016 al igual que en la Metodología de Skariyachan S. et al, 2016 establecida como la más eficiente para degradar PEBD implementando bacterias, no se realizó ningún tipo de pretratamiento y la forma en la cual fue presentado el PEBD es la misma, es decir, láminas, sin embargo *Ideonellasakaiensis 201-F6*, considerada como un nuevo género bacteriano el cual fue extraído de una muestra de PET contaminado, mal dispuesto, además de no bioestimar al microorganismos para incrementar su capacidad degradativa, a pesar de esto el resultado no es muy distante ya que, presentó un $75\% \pm 0,85$ del total del material suministrado, por otra parte en la Metodología de Martin A., 2017, los resultados fueron muy contrarios a los dos estudios mencionados anteriormente ya que solo dio como resultado un $0,2\% \pm 0,15$ de degradación del material suministrado, esto posiblemente pudo haberse presentado ya que *Nocardia* se obtuvo gracias a un muestreo realizado, en el Muelle de Santa Cruz de Tenerife, lugar que a pesar de ser uno de los puertos comerciales más importantes de España, no presenta grandes problemas ambientales que afecten el estado de salud del ecosistema (Observatorio Ambiental Granadilla, 2019), es decir la presencia de este microorganismo en ese medio específico no es producto de la contaminación sino de su hábitat común, puesto que se ha establecido que habita en suelos con alto contenido de materia orgánica además de aguas costeras (Martin A., 2017), lo que quiere decir que el microorganismo no se encuentra adaptado a consumir PEBD como fuente principal de carbono además de poseer una

batería enzimática poco efectiva para dicho proceso ya que posee oxigenasas, las cuales tienen funciones de biosíntesis y catabolismo mas no degradan derivados del petróleo (Volke, 1997) tal y como lo es el PEBD. De igual forma es importante mencionar que *Nocardia*, es considerada como patógeno (Martin A., 2017), lo cual puede llegar a generar grandes afectaciones a la salud humana y por otro lado *Ideonellasakaiensis 201-F6* es un microorganismo del cual se conoce poco y como es mencionado en la metodología en la cual fue evaluado, se recomienda realizar estudios en donde se analice el proceso enzimático que genera para poder degradar el PEBD (Yoshida S. et al, 2016).

7.2.2. Hongos

Durante la revisión sistemática al igual que con las bacterias, se pudo observar que ninguna de las metodologías que implementan hongos para la biodegradación de PEBD, logran resultados del 100%. La metodología más eficiente para el tratamiento biológico de PEBD implementando hongos fue la planteada por Rodríguez J. et al en el 2013, en esta metodología no se implementó ningún tipo de pretratamiento físico o químico antes de realizar proceso de degradación, se ha evidenciado que a diferencia de otros hongos *P. ostreatus* puede degradar plástico biodegradable sin que este sea sometido a ningún pretratamiento (da Luz et al., 2015), se realizaron 4 ensayos cada uno en las mismas condiciones, es decir, se incubaron en agar nutritivo y tiamina-HCL estéril con micelio de *P. ostreatus* y PEBD durante 45 días a 25°C, la producción de enzimas ligninolíticas por hongos de la podredumbre blanca entre los que se encuentra *P. ostreatus*, se ve influenciada por parámetros nutricionales y condiciones de operación del cultivo (Moreno D. 2018). Para evaluar el porcentaje de degradación de PEBD se realizó un pesaje al inicio y al final de cada ensayo, como resultado de dicho procedimiento se obtuvo que el ensayo tuvo 74% ± 2 de eficiencia. Teniendo en cuenta la Figura 7 se estableció de forma gráfica el porcentaje de degradación con su respectivo error para cada una de las metodologías que implementan Hongos.

Figura 7. Comparación de metodologías para el tratamiento biológico de PEBD implementando hongos



Fuente: Autores, 2019.

En la siguiente tabla se representan los criterios más importantes de cada una de las metodologías.

Tabla 8. Resumen de los criterios más importantes de las metodologías para el tratamiento de PEBD implementado hongos

Metodología	Pretratamiento		Tipo de pretratamiento		Microorganismo empleado	Forma del PEBD	Obtención de microorganismo	Porcentaje de degradación	Error
	SI	NO	Físico	Químico					
Metodología de Gabriela G., 2013		X	NA	NA	<i>Consortio microbiano entre Aspergillus fumigatus Aspergillus fumigatus Aspergillus niger Cladosporium sp. Gliocladium virens Penicillium sp."</i>	Tiras	Muestras del polietileno obtenidas del suelo del relleno sanitario Bordo Poniente y suelo húmedo del mismo	8,3	± 2,3
Metodología de Moreno D., 2018	X		Descargas de plasma luminiscente de O2 al 100 % (v/v), durante 6 minutos	Metanol (Merck™ 99.8 %) durante 2 minutos	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Láminas de 3 x 1 cm	Banco de cepas del laboratorio de Microbiología Ambiental y Suelos de la Pontificia Universidad Javeriana	9,13	± 0,46
Metodología de Rodríguez J. et al, 2013		X	NA	NA	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Fragmentos de 5x61 cm	Banco de cepas comerciales que se produjo en Moji das Cruzes, Sao Paulo, Brasil.	74	± 2
Metodología de Espinoza L., 2018	X		Muestras sumergidas en 150 ml de agua destilada Autoclave a 121°C por 20 minutos Cámara de secado a 30°C por 48h	NA	<i>Fusarium</i>	Cuadrados de 15x20 cm	El banco de cepas del Laboratorio de Biotecnología Agrícola y de Alimentos de la USFQ	0,99	± 0,11
Metodología de Erazo M., 2018	X		72 horas en la estufa	NA	<i>Aspergillus niger</i>	Pulverizado	Laboratorio de la ESPOCH	12,8	± 3,8
Metodología de Bach I. et al, 2015	X		Las muestras fueron lavadas con cepillo y agua destilada y esterilizada durante un periodo de 10 minutos	NA	<i>Mucor sp</i>	Láminas de 2cm x 2cm	Toma de muestras en relleno sanitario	20	± 1,2

Fuente: Autores, 2019.

Teniendo en cuenta los resultados expuestos en la Tabla 8, es evidente la capacidad del hongo *Pleurotus ostreatus* en la degradación del PEBD, a continuación, se describieron las características principales del hongo para explicar dicha capacidad degradaría. *Pleurotus ostreatus*, un hongo que a principios de los 90 fue el segundo más cultivado a nivel mundial (López C. et al, 2008), a nivel macrosopico tiene unas medidas que van de 5 a 15 centímetros, posee una forma de ostra tradicional la cual su píleo es la parte comestible, generalmente se encuentra en tonalidades gris, crema, azul y pardo, el tallo es corto y totalmente lateral, entre sus propiedades se encuentra la producción de lacasa, manganeso peroxidasa y lignino peroxidasa. Se puede afirmar que la oxidación del plástico, se produjo principalmente a la actividad de la lacasa en un proceso conocido como cometabolismo, esta enzima es la responsable en la oxidación de la cadena principal de hidrocarburos del polietileno, incluye la oxidación de los componente fenólicos y no fenólicos de la lignina y la formación de grupos hidroxilos y radicales libres, durante la degradación de los compuestos lignocelulósicos como hidrocarburos aromáticos, policíclicos y la ftalocianina (Rodríguez J. et al, 2013). Los hongos ligninolíticos como *Pleurotus ostreatus* son de interés para la biotransformación de corteza de pino y PEBD por la capacidad de sus sistemas enzimáticos ligninolítico para degradar un amplio rango de sustratos (Moreno D. 2018).

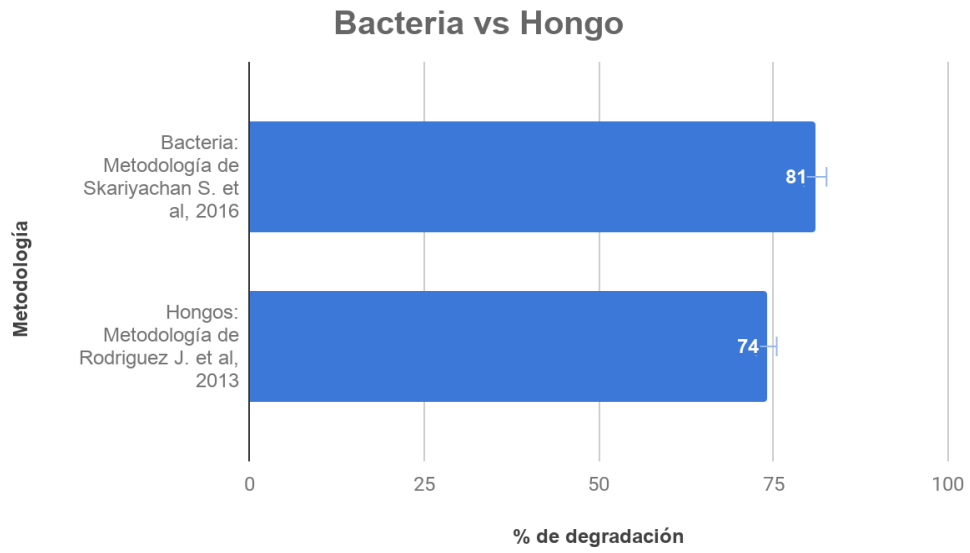
De igual forma los sustratos con un alto contenido de carbono y bajo de nitrógeno como aserrín, residuos de papel, paja de trigo y arroz son de interés para su producción de biomasa y enzimas ligninolíticas (laccasa, lignino y manganeso peroxidasa) por estar compuestos mayormente por lignina, celulosa y hemicelulosa (De Celulosa O. et al, 2015), debido a esto se incorporan dichos compuestos con el fin de potencializar la producción de enzimas y aumentar el porcentaje de degradación del plástico (Rodríguez J. et al, 2013).

Comparando las diferentes técnicas realizadas en la metodología de Rodriguez J. et al, 2013, en la Metodología de Bach I. et al, 2015 y en la metodología de Espinoza L., 2018, se pudo establecer que las dos últimas metodologías mencionadas a pesar de poseer un pretratamiento físico o químico no presentaron mejores resultados que la Metodología de Rodriguez J. et al, 2013, lo cual pudo haberse presentado gracias al potencial enzimático que posee *P. ostreatus* con altas concentraciones de laccasa, manganeso peroxidasa y lignino peroxidasa, por otra parte en la Metodología de Bach I. et al, 2015, *Mucor sp* fue obtenido a partir de un muestreo realizado en un relleno sanitario, lo cual, facilita el proceso de degradación del PEBD, puesto que el microorganismo se encuentra adaptada a consumirlo como fuente principal de carbono, pero en la ejecución del ensayo no fue superior a la Metodología de Rodríguez J, puesto que la batería enzimática de *Mucor sp* está principalmente conformada por proteasas, enzimas principalmente funcionales para la degradación de proteínas (Jiménez, F. S., 2010), por lo que esta clase de hongos no son propicios para degradar PEBD.

7.2.3. Comparación de las mejores metodologías seleccionadas para la degradación de PEBD implementando Bacterias u Hongos

A continuación, se realizó una comparación entre las metodologías con mayores porcentajes de degradación, para determinar cuál es la más eficiente para el tratamiento biológico del PEBD. La metodología más eficiente para el tratamiento biológico del PEBD implementado bacterias fue la de Skariyachan S. et al realizada en el año de 2016, con un porcentaje de degradación de $81\% \pm 2$, mientras que, implementando hongos, fue la metodología de Rodríguez J. et al en el 2013, con un porcentaje de degradación de $74\% \pm 2$, tal y como puede evidenciarse en la Figura 8.

Figura 8. Comparación de metodologías para el tratamiento biológico de PEBD implementando bacterias u hongos



Fuente: Autores 2019.

En la siguiente tabla se representan los criterios más importantes de cada una de las metodologías.

Tabla 9. Resumen de los criterios más importantes de las metodologías para el tratamiento de PEBD implementado bacterias o hongos

Metodología	Pretratamiento		Tipo de pretratamiento		Microorganismo empleado	Forma del PEBD	Obtención de microorganismo	Porcentaje de degradación	Error
	SI	NO	Físico	Químico					
Metodología de Skariyachan S. et al, 2016		X	NA	NA	Consortio microbiano entre <i>Enterobacter cloacae</i> y <i>Pantoea agglomerans</i>	Pulverizado y laminado	Toma de muestras en relleno sanitario	81	± 2,2
Metodología de Rodríguez J. et al, 2013		X	NA	NA	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Fragmentos de 5x61 cm	Banco de cepas comerciales que se produjo en Moji das Cruzes, Sao Paulo, Brasil.	74	± 2

Fuente: Autores 2019.

Es importante mencionar que 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 (Seneviratne, et al 2006), de igual forma estudios afirman que algunos hongos y bacterias poseen un sistema enzimático necesario para degradar hidrocarburos y posiblemente oligómeros de PEBD como las oxigenasas (Volke, 1997), lo cual ratificaría los resultados obtenidos por cada una de las metodologías, puesto que *Pleurotus ostreatus* y el consorcio microbiano conformado por *Enterobacter cloacae* y *Pantoea agglomerans* evaluados en la Metodología de Rodríguez J. et al, 2013 y en la Metodología de Skariyachan S. et al, 2016 pueden generar este tipo de enzimas. Por otro lado ninguna de las dos metodologías realizan algún tipo de pretratamiento físico o químico, pero sí se puede resaltar que *Enterobacter cloacae* y *Pantoea agglomerans* fueron aisladas de un muestreo realizado en un relleno sanitario, lo cual facilitó el proceso de degradación, gracias a que las bacterias se encontraban consumiendo el PEBD como fuente principal de carbono para su desarrollo, por otro lado *Pleurotus ostreatus* Se obtuvo gracias al Banco de cepas comerciales de Moji das Cruzes, São Paulo, Brasil, según Moreno D., 2018. Los microorganismos procedentes de bancos comerciales, no logran ser eficientes para degradar el PEBD a menos que se desarrolle un proceso de adaptación adecuada, pero en este caso *Pleurotus ostreatus*, se caracterizó por la alta producción de laccasa, manganoso peroxidasa y lignino peroxidasa, enzimas principales para lograr degradar plástico.

Teniendo en cuenta que, la determinación de la metodología más eficiente para el tratamiento biológico del PEBD, se realizó dependiendo el porcentaje de degradación obtenido, la metodología de Skariyachan S. et al desarrollada en el 2016 resultó siendo la más eficiente con un resultado de $81\% \pm 2,2$, pero debido a la alta patogenicidad que puede llegar a generar grandes impactos ambientales y una afectación a la salud humana, además de la carencia de información a cerca el mecanismo de acción del consorcio microbiano conformado por *Enterobacter cloacae* y *Pantoea agglomerans*, se optó por elegir la metodología Rodríguez J. et al desarrollada en el 2013 donde se implementa a *Pleurotus ostreatus* como microorganismo degradador de PEBD.

7.3.Resultados y discusión del objetivo 4.2.3.

“Diseñar un proceso de tratamiento del PEBD desde la separación hasta la degradación de este material”.

Para el diseño de la propuesta del tratamiento biológico de PEBD, se tuvo en cuenta la visión ingenieril y la formación ambiental, además de los resultados del objetivo 2, con el fin de establecer cinco pasos para garantizar una buena recolección, tratamiento y aprovechamiento de los insumos que son necesarios para el desarrollo de la propuesta, de igual forma y como se puede apreciar en el Anexo 5, dicha propuesta fue plasmada en una infografía para su fácil comprensión.

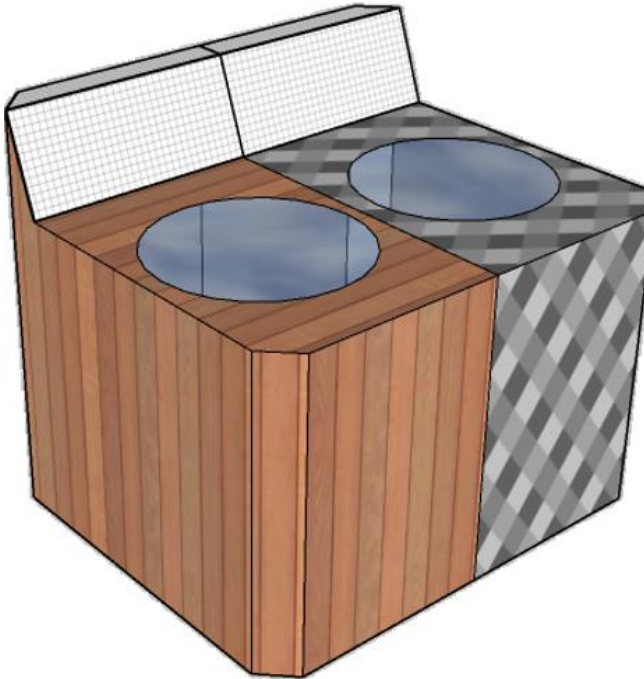
Los cinco pasos de la propuesta son los siguientes:

7.3.1. Recolección

Para la recolección del material se diseñó una EcoBox, con el fin de separar el material desde este punto del proceso, de esta forma se ahorra tiempo y esfuerzo que posteriormente facilitará la interrelación con la simbiosis industrial y la agilización de la siguiente etapa del proceso. El diseño de la EcoBox, fue planteado con el fin de ser un diseño moderno, agradable a la vista y muy práctico en donde los usuarios puedan evidenciar claramente en donde iría el material que quieran disponer, se desarrollará en acero inoxidable, recubierto con grabados efecto madera con unas medidas de 2m de largo, 1,70m de alto y 1,20m de ancho, dichas medidas son empleadas tomando como referencia los puntos verdes. Es importante mencionar que se buscar no solo recolectar PEBD sino también

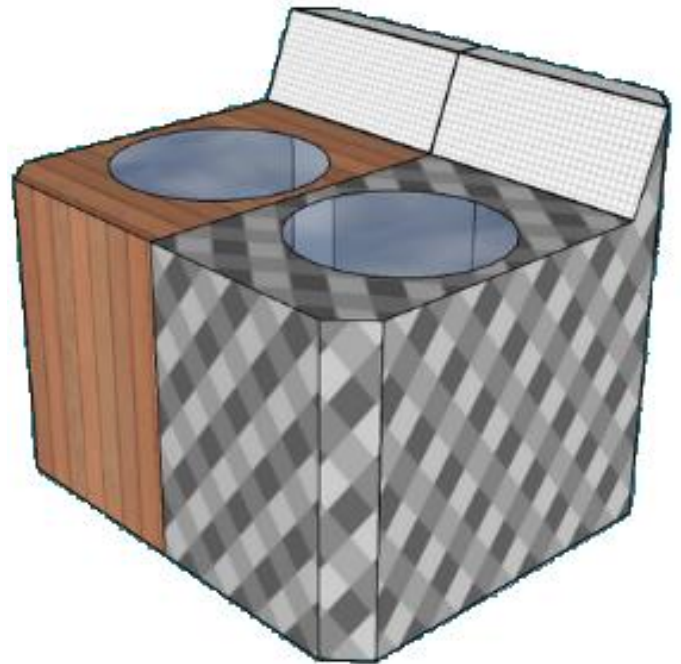
PEAD, PVC, PP y PS. En las Figuras 9, 10 y 11 se puede evidenciar el diseño de la EcoBox por los ángulos izquierdo, derecho y frontal respectivamente.

Figura 9. Diseño de la EcoBox, vista lado izquierdo



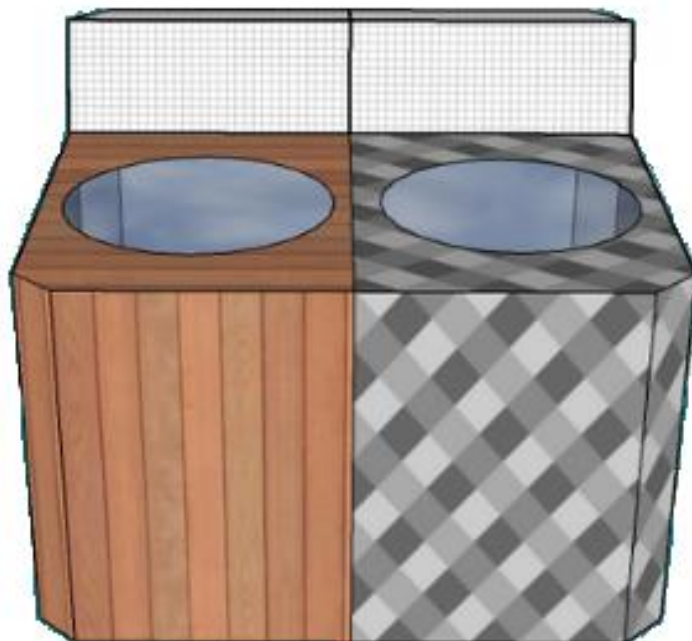
Fuente: Autores, 2019.

Figura 10. Diseño de la EcoBox, vista lado derecho



Fuente: Autores, 2019.

Figura 11. Diseño de la EcoBox, vista frontal



Fuente: Autores, 2019.

De igual forma, en la Figura 12 se presentan los letreros y posters con los cuales contará la EcoBox para que los usuarios tengan claridad de donde se realizará la disposición de los elementos que quieran

arrojar en ella, es importante mencionar que el lado derecho pertenece al PEBD mientras que el lado izquierdo pertenece a el PEAD, PVC, PP y PS.

Figura 12. Diseño de la EcoBox, letreros y posters



Fuente: Autores, 2019.

7.3.2. *Pretratamiento*

Para el pretratamiento del material colectado, es importante mencionar que la metodología de Metodología de Skariyachan S. et al, 2016 y la Metodología de Rodriguez J. et al, 2013, determinadas como las más eficientes para el tratamiento biológico del PEBD implementando bacterias o hongos no ejecutan ninguna clase de pretratamiento antes de desarrollar los montajes de biodegradación, sin embargo durante el desarrollo del proyecto y además del sustento teórico de Villa et al 2016, gracias a la revisión sistemática, se estableció que el desarrollo de un pretratamiento hace más accesible el material frente al ataque microbiano y de esta manera acelerar el proceso de degradación del PEBD.

El pretratamiento que se propuso para la ejecución de este proceso fue el siguiente:

1. **Limpieza y desinfección:** Tal y como lo menciona Martínez P, 2016 para garantizar la desinfección del material, se propone realizar un lavado con Etanol al 80% durante 10 minutos y posterior a esto llevar a cabo un proceso de secado en mufla a una temperatura de 30°C durante 10 minutos.
2. **Cortado:** El material se cortará en láminas de 4cm x 4cm esto es con el fin de facilitar la colonización del plástico (Mukherjee S. et al, 2017) ya que la aparición de estas, garantizan un ataque microbiano hacia el material, generando una degradación el mismo.

7.3.3. *Tratamiento biológico*

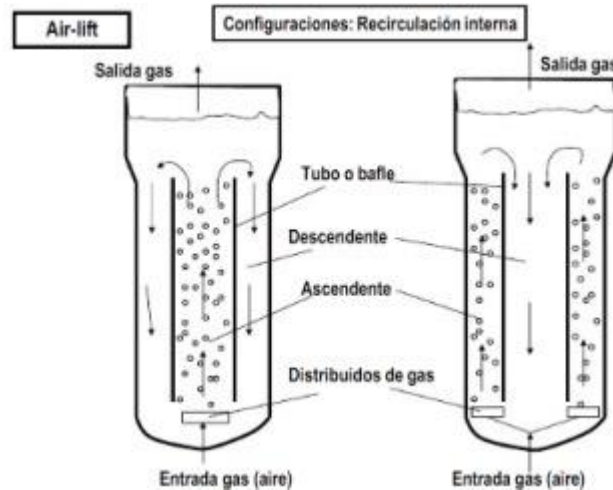
La metodología más eficiente reportada en el objetivo N°2, se basó en el tratamiento biológico del PEBD realizado con bacterias, pero debido a que esta fue implementada utilizando el consorcio microbiano conformado por *Enterobacter cloacae* y *Pantoea agglomerans* dichas bacterias son consideradas altamente patógenas hacia los humanos (Marcos S. et al, 2006) además estas bacterias fueron encontradas en un relleno sanitario lo que evita un proceso de adaptación previo al tratamiento del plástico, puesto que ya asimilan el PEBD como fuente principal de carbono, es por esta razón que se propone que para el tratamiento biológico del PEBD, a pesar de no ser la metodología más eficiente para este proceso, se seleccionó la Metodología de Rodríguez J. et al, 2013 el cual implementa a *Pleurotus ostreatus* como agente degradador. Esto es debido a que cuenta con características enzimáticas que no afectan o no inciden negativamente sobre la salud humana (Moreno D., 2018) a su vez se evidencia que los hongos del género *Pleurotus* son los más fáciles y menos costosos de producir, debido a la alta adaptabilidad, agresividad y productividad (Torres C. et al, 2017).

Los montajes de biodegradación se llevaran a cabo en biorreactores de tipo air-lift debido a que es necesario que se encuentren en un ambiente controlado y este tipo de biorreactores ofrecen ciertas ventajas con respecto a las demás técnicas de tratamiento biológico, como la incorporación de insumos y biodegradación total del material en un solo recipiente del birreactor, además de no presentar problemas de humedad siendo el control de biomasa su única limitación (Edwards et al, 2002).

- **Biorreactor air-lift:** El biorreactor estará constituido por una cámara de cultivo cilíndrica de vidrio, un tubo deflector o de distribución central y una serie de frascos con solución salina saturada como filtros para el aire, la fuente de aireación podría ser una bomba de aire para pecera (Miranda et al, 2006), ya que si se utilizan aspas, existe una alta posibilidad de que los inóculos se fragmenten y no se desarrolle. Según Guillen G et al, 1998 las condiciones óptimas del biorreactor para el desarrollo del hongo *Pleurotus ostreatus* es una temperatura de 29°C y un pH de 5,5, por otro lado es necesario evaluar la producción de biomasa y la concentración de Oxígeno disuelto, el primer parámetro se evaluara al comparar el contenido micelial retenido en membranas pre-pesadas presentes al interior del biorreactor y para el segundo

parámetro se utilizara un Oxímetro previamente calibrado. En la siguiente figura se puede evidenciar los componentes más importantes del biorreactor y su funcionamiento.

Figura 13. Componentes del biorreactor y funcionamiento



Fuente: Pomatanta E., 2013.

- **Inmovilización de *P. ostreatus*:** Teniendo en cuenta la tesis de Chaparro D. et al, 2019, para realizar una inmovilización eficiente de *P. ostreatus* y ahorrar costos en el proceso, este se puede llevar a cabo en estropajo común (*Luffa cylindrica*) debido a que se obtiene un óptimo crecimiento de biomasa y mayor retención interna de la misma, gracias a su estructura tubular y fibrosa permitiendo la inserción de las hifas en el estropajo. Este proceso se realizará sumergiendo el estropajo en el medio líquido compuesto por caldo nutritivo y tiamina-HCL, ya que este medio favorece el crecimiento de *P. ostreatus* como lo plantea Rodríguez J. et al, 2013.
- **Montaje de biodegradación:** Una vez inmovilizado el inoculo de *P. ostreatus* será introducido en el biorreactor, este tendrá un medio líquido el cual de acuerdo a Rodríguez J. et al, 2013 se compone de caldo nutritivo y tiamina-HCL estéril, para lograr una mejor eficiencia en la adaptación y en el proceso de degradación, de igual manera se le agregaran las láminas de polietileno de baja densidad previamente pretratadas. Desde la perspectiva económica y teniendo en cuenta conocimientos previos al desarrollo del hongo, como ingenieros ambientales se realizará la adición de sustratos naturales como el salvado de trigo o el salvado de arroz, con el fin de aumentar la producción de biomasa y enzimas ligninolíticas (laccasa, lignino y manganeso peroxidasa) por estar compuestos mayormente por lignina, celulosa y hemicelulosa (De Celulosa O. et al, 2015). Esto ayudaría a optimizar costos en el montaje de biodegradación y aprovechar residuos orgánicos que posiblemente sería dispuestos como residuos.

Gracias a la revisión sistemática, se pudo afirmar que bajo los parámetros de temperatura y pH se puede garantizar un 74% de eficiencia en la degradación del PEBD, con un margen de error de ± 2 (Rodríguez J. et al, 2013), por esta razón se plantea tomar el material restante y recircularlo al proceso desde el pre-tratamiento con el fin de lograr la degradación total del material que es recolectado a lo largo del tiempo. La forma en la cual se evalúa dicho porcentaje es realizando un pesaje al inicio y al final del ensayo con el fin de determinar la cantidad de PEBD asimilado por *Pleurotus ostreatus*.

7.3.4. *Uso de Pleurotus ostreatus pos-tratamiento biológico*

Un estudio realizado por Chávez G. et al, 2013 en colaboración con la Universidad de Lund (Suecia), logró determinar que a partir de la utilización de la enzima laccasa aislada de *P. ostreatus*, se logró reducir el porcentaje de coloración de unas muestras realizadas con Red FN-2BL, Red BWS, Remazol

Blue RR y Blue 4BL, con porcentajes de decoloración de 98, 88, 80 y 78%, respectivamente (Chávez G. et al, 2013), dichos colorantes en la actualidad son los más utilizados en el proceso de teñido en la industria textil, la eficiencia de esta enzima se debe a que realiza una reacción de oxidación denominada como “reacción verde”, debido a la gran capacidad que posee para remover contaminantes de aguas residuales tales como los colorantes y al mismo tiempo no generar sustancias tóxicas para el entorno ambiental (Chávez G. et al, 2013). Por otro lado la investigación realizada por Nájera, M. en 2017, en donde se evaluó la eficiencia del hongo *Pleurotus ostreatus*, en la biodegradación de fenoles en efluentes de procesos de teñido y lavado de jean, se reafirma la capacidad que posee *P. ostreatus* para degradar colorantes fenólicos presentes en el agua, producto de la actividad textil, además se logró determinar que los mejores rendimientos de *P. ostreatus* fueron cuando dicho microorganismo fue bioestimulado con extracto acuoso de paja de trigo debido a que se ha demostrado científicamente que este tipo de sustancias estimula la producción de enzimas ligninolíticas, como lo es el caso de la laccasa, además de establecer que entre más se agregue este bioestimulante, el hongo podría degradar más los colorantes fenólicos.

Por las razones anteriormente expuestas, se planteó tomar a los hongos al final del proceso para así realizar la biorremediación de aguas contaminadas producto del impacto que se genera en el proceso de teñido en la industria textil, posterior a esto, los hongos maduros serán recolectados y de acuerdo con las características del hongo, podrían ser considerados como alimento para los animales, así como lo nombra Jaramillo et al, 2014 en trabajo de Obtención de un inóculo fúngico para la degradación de un colorante azo por fermentación en estado sólido.

7.3.5. Simbiosis industrial

Debido a que en el planteamiento del primer paso de la propuesta (Recolección), se pretende recolectar diferentes clases de material plástico, bien sea PEAD, PVC, PEAD, PP y PS se diseñó una propuesta con un enfoque de producción más limpia, en donde el objeto principal sea la simbiosis industrial, debido a que en la ejecución de la propuesta solo se puede tratar biológicamente el PEBD, puesto que este es el que puede degradar *P. ostreatus*. (Rodríguez J. et al, 2013).

A continuación, se enlistan las posibles empresas con las cuales se puede llegar hacer convenios con el fin de reciclar o reutilizar el PEAD, PVC, PP y PS.

Tabla 10. Posibles empresas con las cuales puede llegar hacerse convenios con el fin de lograr una simbiosis industrial

Nombre de la empresa	Descripción
Precious Plastic	Empresa independiente, creada en el año de 2013 en Estados Unidos que hacen toda clase de material inmobiliario como: mesas, pisa papeles, murales, lámparas, organizadores, etc. a partir de polietileno de alta densidad recolectado, por otro lado, son una empresa que inspiran a las personas a construir y hacer parte de la comunidad, publicando planos de las maquinas necesarias para hacer el material inmobiliario además del modelo de negocio que se puede llegar a generar con la iniciativa.
C&G SAS	Empresa de construcción colombiana con una trayectoria de 27 años la cual recupera material plástico posindustrial y pos consumo, principalmente polietileno de alta densidad y polipropileno de inyección. Gracias a la aplicación de los diferentes componentes del talento humano y un riguroso control de calidad, ofrecen un plástico con un nivel de pureza superior, fluidez, brillo y anti adherencia para llevar a buen término la producción de piezas conformes a la norma y a la demanda del mercado con significancia en la reducción de costos.
Ecomodulares SAS	Sociedad por acciones simplificadas creada en 2007 en Bogotá, esta empresa se dedica principalmente a recuperación de materiales como el plástico de alta densidad, fabricando madera plástica para estructuras y materiales de construcción

Fuente: Autores, 2019.

Por otro lado, la creación de estas posibles alianzas busca reducir la necesidad de materias primas vírgenes y el depósito de residuos, cerrando así el ciclo de vida del material, una característica fundamental de la economía circular además de ser un motor para el crecimiento verde, pero sobretodo brindar una solución eco-innovadora, por otro lado, reducir emisiones de gases de efecto invernadero, reducir el uso de energía y crear nuevos flujos de ingresos. (Fostering Industrial Symbiosis for a Sustainable Resource Intensive, 2018).

8. Conclusiones

- Durante la revisión sistemática se pudo concluir que existe una mayor cantidad de documentos que evalúan la capacidad degradativa frente al PEBD que poseen las bacterias en comparación con los hongos, además que el 100% de los documentos seleccionados no presentó una degradación completa del PEBD en sus resultados.
- La mayoría de los documentos seleccionados, evidencian que los microorganismos evaluados, fueron tomados de rellenos sanitarios, lo cual facilita el proceso de degradación ya que estos están adaptados a tomar como fuente principal del carbono los desechos plásticos.
- En comparación con el hongo *Pleurotus ostreatus* evaluado en la Metodología de Rodriguez J. et al, 2013, y las bacterias *Enterobacter cloacae* y *Pantoea agglomerans* evaluadas en la Metodología de Skariyachan S. et al, 2016, se estableció que a pesar que las bacterias tuvieran mejores resultados en las pruebas de biodegradación, el hongo es una mejor alternativa ya que gracias a sus características enzimáticas no afectan negativamente la salud humana, condición que si generan las bacterias.
- El aprovechamiento y buena disposición de residuos sólidos por medio de una simbiosis industrial dentro de las empresas, favorece a la reducción de su huella de carbono, aportando un valor agregado y generando una economía circular.

9. Recomendaciones

Durante el desarrollo de este proyecto se apreció la carencia de información acerca de la forma en la cual los microorganismos atacan al PEBD y que tipo de repercusiones genera este tipo de procesos en su desarrollo, es por esto que se recomienda realizar investigaciones que evalúen las posibles modificaciones genéticas o estructurales que se generen por el tratamiento biológico del PEBD en los microorganismos evaluados, para que de esta forma se puedan generar alternativas sostenibles en donde estos no sean vistos como residuos sino como una oportunidad que pueda ser integrada a un proceso productivo. Por otra parte, se recomienda elaborar escenarios de prueba en donde se evalúe la propuesta para degradar PEBD de forma eficiente y reduciendo los impactos ambientales que este material genera en su degradación natural, con el fin de proponer desde el punto de vista microbiológico e ingenieril, posibles mejoras que hagan que el proceso genere un mayor resultado, lo cual se traduce en un aumento del porcentaje de degradación. Por último, se recomienda trabajar con microorganismos que ya estén adaptados a consumir material plástico como fuente principal de carbono, ya que, a estos, según la revisión sistemática presentan mejores resultados, esta clase de microorganismos se pueden encontrar y aislar de rellenos sanitarios en donde existe la posibilidad de incluso descubrir nuevos microorganismos.

10. Bibliografía

Ariosti, A. 1999. "Los envases plásticos y el medio ambiente". INTI Investigación y Desarrollo, año 2, N° 6. 89-95 p.

- Aristegui, B. (2002). "El reino de los hongos". Revista Iberoamericana de Micología, (2008), pp. 1–4. ISSN 00275514. DOI 10.2307/3759948.
- Cáceres Azurin, O. (2012). Biodegradación bacteriana de polietileno de baja densidad bajo condiciones controladas en biorreactores AIR-LIF
- Carrillo-Pérez, e., Ruiz-Manríquez, a., & Yeomans-reina, h. (2011). aislamiento, identificación y evaluación de un cultivo mixto de microorganismos con capacidad para degradar ddt. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 20(2), 69-75.
- Cieza Martínez, C. A., Campos, C., & Del Rosario, L. (2017). Biodegradación de poliestireno utilizando microorganismos presentes en el humus de lombriz durante los meses, Octubre–Diciembre 2016.
- Chaparro D. & Gómez D. (2019) Evaluación de la Inmovilización de *Trametes versicolor* DSM 3086 en Estropajo Común (*Luffa cylindrica*). Universidad El Bosque. Colombia. Bogotá.
- Chávez, G., Estrada, N., Gómez, J., Choque, R., Crespo, C., & Álvarez, M. T. (2013). Potencial de cepas fúngicas aisladas en el área de Biotecnología Fúngica. Primera parte: Uso de hongos en biorremediación. *Revista CON-CIENCIA*, 1, 85.
- Conferencia de las Naciones Unidas sobre el Medio Ambiente y el Desarrollo. (3-14 de junio de 1992). Declaración de Río sobre el medio ambiente y el desarrollo. Recuperado de: <https://www.un.org/spanish/esa/sustdev/agenda21/riodeclaration.htm>
- Congreso de la República de Colombia. (22 de diciembre de 1993). Ley. [99]. Recuperado el 30 de abril en: <https://www.alcaldiabogota.gov.co/sisjur/normas/Norma1.jsp?i=297>
- Congreso de la Republica, Asamblea Nacional Constituyente. (4 de julio de 1991). Constitución Política de Colombia. [1991]. Recuperado el 30 de abril en: <https://www.ramajudicial.gov.co/documents/10228/1547471/CONSTITUCION-Interiores.pdf>
- da Luz, J. M. R., Paes, S. A., Nunes, M. D., da Silva, M. D. C. S., & Kasuya, M. C. M. (2013). Degradation of oxo-biodegradable plastic by *Pleurotus ostreatus*. *Plos one*, 8(8), e69386.
- David, C., De Kesel, C., Lefebvre, F. y Weiland, M. 1994. The biodegradation of polymers: recent results. *Die Angewandte Makromolekulare Chernie*. 216: 21-35.
- Daza, Carla, Campos, Victor L., Rojas, Claudio, Rodríguez-LLamazares, Saddys, Smith, Carlos T., & Mondaca, María A.. (2016). Reducción de selenito a Selenio elemental por *Pantoea agglomerans*. *Gayana (Concepción)*, 80(1), 67-74. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-65382016000100008>
- De Celulosa, O. Y. C., & De la especie, P. D. F. XXVII Reunión Científica Tecnológica, Forestal y Agropecuaria Tabasco 2015 IV Congreso Internacional en Producción Agroalimentaria Tropical. secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación, 126.
- D. Kolb, D, y J. Hill, Química para el nuevo milenio, México D.F.: Editorial progreso S.A., 1999.
- Domínguez, C. 2009. Estudio del proceso de crecimiento lento de grieta en el polietileno de alta densidad para su aplicación en tubería. Tesis para obtener el Grado de Doctor. Madrid, España
- Edwards, S., Schroeder, Chang, D., Morton, R. 2002, Control of volatile organic compound emissions using a compost biofilter. *Biotechnology and Water Environmental Research*. 316-321 p.
- Erickson, K. E.; Otoupal, P. B. & Chatterjee, A. Gene expression variability underlies adaptive resistance in phenotypically heterogeneous bacterial populations. *ACS Infect. Dis.*, 1(11):555-67, 2015.
- Erazo Pérez, M. A. (2018). *Evaluación del comportamiento de Aspergillus niger y Penicillium spp en la degradación de bioplástico elaborado a partir de almidón de cáscara de plátano* (Bachelor's thesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo).
- Espinoza Arias, L. M. (2018). *Evaluación de la degradación de polietileno de baja densidad mediada por diferentes especies de hongos* (Bachelor's thesis, Quito).
- Fernández A. (2006). Biorremediación: Descontaminación natural. *Revista virtual Consumer*, Edición 34, Madrid, España.
- G. Scott, *Polymers and environment*, Birmingham: Royal society of chemistry, 1999.

- García M. y Sánchez G. (2011). "Laboratorio de biología y geología." 2011, Disponible en: <https://books.google.com.ec/books?id=LpLvDQAAQBAJ>.
- Greenpeace (2016). Datos sobre la producción del plástico. Barcelona. España.
- Greenpeace Colombia (2018) Colombia #MejorSinPlásticos. *Contaminación*. Recuperado de: <https://www.greenpeace.org/colombia/involucrate/colombia-mejor-sin-plasticos/>
- Gutiérrez J. (2013) *Biodegradación de polietileno de baja densidad por consorcios microbianos* (Tesis, Facultad de estudios superiores Zaragoza).
- Guinchat, C., & Menou, M. (1992). Introducción a las Ciencias y Técnicas de la Información y Documentación. 2da. edic.
- Hernández-Ruiz, G. M., Álvarez-Orozco, N. A., & Ríos-Osorio, L. A. (2017). Biorremediación de organofosforados por hongos y bacterias en suelos agrícolas: revisión sistemática. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 18(1), 138-159.
- Iberoamericano, C. C. traductores. Manual Cochrane de Revisiones Sistemáticas de Intervenciones, versión 5.1. 0 [actualizada en marzo de 2011][Internet]. Barcelona: Centro Cochrane Iberoamericano; 2012
- ICONTEC (20 de mayo de 2009) Gestión Ambiental Residuos Sólidos Guía para la separación en la fuente. [GTC 24]. Recuperado de. <http://www.bogotaturismo.gov.co/sites/intranet.bogotaturismo.gov.co/files/GTC%2024%20DE%202009.pdf>
- Iparraguirre Quispe, K. D. R., & Vivanco López, M. (2015). Aislamiento y caracterización de hongos filamentosos biodegradadores de polietileno de tereftalato y polietileno de baja densidad-Ica.
- Jaramillo, A., Jiménez, S., Merino, A., & Hormaza, A. (2014). Obtención de un inóculo fúngico para la degradación de un colorante azo por fermentación en estado sólido. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 17(2).
- Jiménez, F. S. (2010). Evaluación de la producción de proteasas en dos cepas de *Mucor* sp. Por fermentación sumergida empleando dos tipos de medio de cultivo. *Uniciencia*, 24(1), 63-68.
- Kyrikou, L., Briassoulis, D. 2007. "Biodegradation of agricultura! plastic films: a critica! review". Department of Agricultura! Engineering, Agricultura! University of Athens, Grecia. *Journal of Polymer Environment* 15:125-150 p.
- Limón Margarita, 2001. Biodegradación de polietileno de baja densidad por hongos filamentosos.
- López-Rodríguez, C., Hernández-Corredor, R., Suárez-Franco, C., & Borrero, M. (2008). Evaluación del crecimiento y producción de *Pleurotus ostreatus* sobre diferentes residuos agroindustriales del departamento de Cundinamarca. *Universitas Scientiarum*, 13(2), 128-137.
- Macchi, M. (2018). *Desarrollo de consorcios bacterianos con alta eficiencia de degradación de PAH para su aplicación a la recuperación de suelos crónicamente contaminados* (Doctoral dissertation, Facultad de Ciencias Exactas).
- Mangiarotti A., Caretta G., Nelli, E. y Piotelli, E. 1994. Biodeterioro de materiales plásticos por Microhongos, *Boletín Micológico*. Vol. 9 (1-2): 39-47
- Marcos Sánchez, F., Muñoz Ruiz, A. I., Martín Barranco, M. J., & Viana Alonso, A. (2006, May). Bacteriemia por *Pantoea agglomerans*. In *Anales de Medicina Interna* (Vol. 23, No. 5, pp. 250-251). Arán Ediciones, SL.
- Marín, G. C., Granados, R. S., Herrera, G. R., & Martínez, F. R. (2009). Ecología industrial y desarrollo sustentable. *Ingeniería*, 13(1), 63-70
- Martínez, P. N. (2017). Efectos de las Asociaciones Microbianas sobre la Degradabilidad del Polietileno de Baja Densidad. *Revista sobre Estudios e Investigaciones del Saber Académico*, (10), 13-18
- Martín Peraza, A. (2017). Estudio preliminar de la biodegradación de plásticos por bacterias marinas.
- Méndez C., Vergaray G., Béjar V. y Cárdenas K., 2007. Aislamiento caracterización de micromicetos biodegradadores de polietileno, *Rev. Perú. Biol. Número Especial* 13(3): 203 – 205

- M.G. Yoon, H.J. Jeon, M.N. Kim, Biodegradation of polyethylene by a soil bacterium and AlkB cloned recombinant cell, *J. Bioremed Biodegrad.* 3 (04) (2012) 145–154, doi:<http://dx.doi.org/10.4172/2155-6199.1000145>.
- Ministerio del ambiente. (17 de mayo de 2018). En el Perú solo se recicla el 1.9% del total de residuos sólidos reaprovecharlos. Recuperado el 27 de septiembre de 2018 de:<http://www.minam.gob.pe/notas-de-prensa/en-el-peru-solo-se-recicla-el-1-9-del-total-de-residuos-solidos-reaprovechables/>.
- Miranda, H., Robles, H., Villanueva, L., Rodriguez, C. 2006. *Biorreactores, Diseño y Aplicaciones*, Sociedad Peruana de Biotecnología, Trujillo, Perú. 86 p.
- Ministerio de ambiente. (15 de agosto de 1997). Política de nacional sobre producción más limpia. Recuperado de:
http://www.minambiente.gov.co/images/BosquesBiodiversidadyServiciosEcofos/pdf/Normativa/Politicapolit_produccion_mas_limpia.pdf
- Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. (25 de julio de 2018). Resolución. [1397]. recuperado el 30 de abril en :
<http://www.minambiente.gov.co/images/normativa/app/resoluciones/ff-RES%201397%20DE%202018.pdf>
- Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. (16 de julio de 2004). Guía ambiental: Sector plástico. Recuperado el 30 de abril en:
<https://redjusticiaambientalcolombia.files.wordpress.com/2012/09/guias-ambientales-sector-plc3a1sticos.pdf>
- Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. (26 de septiembre de 2003). Resolución [1045]. Recuperado el 30 de abril en: <http://parquearvi.org/wp-content/uploads/2016/11/Resolucion-1045-de-2003-.pdf>
- Moreno Bayona, D. A. Biotransformación de polietileno de baja densidad (LDPE) y LDPE oxo-biodegradable empleando *Pleurotus ostreatus* y residuos lignocelulósicos de pino (*Pinus caribaea*).
- Mukherjee, S., Roy Chaudhuri, U., & Kundu, P. P. (2018). Biodegradation of polyethylene via complete solubilization by the action of *Pseudomonas fluorescens*, biosurfactant produced by *Bacillus licheniformis* and anionic surfactant. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 93(5), 1300-1311.
- Morillas, A. V., Pérez, M. V., Valdemar, R. M. E., Contreras, M. M., Islas, S. H., Guillén, M. Y. L. O., & Filgueira, H. J. A. (2017). Generación, legislación y valorización de residuos plásticos en Iberoamérica. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 32, 63-76.
- Morton, H., Surmans, B. 1996. The involvement of biofilms in biodeterioration processes. En *Labs 2. Biodegradation and biodeterioration in latin America*, edit. C.C. Gaylarde. E: L: Saccol de Sá y P:M: Gaylarde, Porto Alegre, Brasil, 85-90 p.
- M. P. Groover, *Fundamentos de manufactura moderna: Materiales, procesos y sistemas*. Naucalpan de Juárez, Estado de México: Prentice-Hall hispanoamericana. S.A., 1997.
- Najera Armijo, M. K. (2017). *Evaluación de la eficiencia del hongo Pleurotus ostreatus, en la biodegradación de fenoles en efluentes de procesos de teñido y lavado de jean* (Bachelor's thesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo).
- Observatorio Ambiental Granadilla, (2019). Estado actual del Puerto de Santa Cruz de Tenerife, España, Versión digital.
- Organización de las Naciones Unidas Medio ambiente, 2018, *El estado de los plásticos*, Recuperado el, 27 de septiembre en:
https://wedocs.unep.org/bitstream/handle/20.500.11822/25513/state_plastics_WED_SP.pdf?sequence=5&isAllowed=y
- P. Dahiya, S. Chand y N. Dilbaghi, “Immobilization of organic solvent-tolerant lipase from *Pseudomonas mendocina* M-37 with potential synthetic activities”, *Food Technology and Biotechnology*, vol. 52, n.º 3, pp. 368-375, 2014.

- Pomatanta E. (2013). Tecnología farmacéutica II. Escuela de Farmacia y Bioquímica. Universidad Católica de los Angeles de Chimbote. Peru
- Reyes, J. 2009. Estudio de factibilidad para la instalación de una planta recicladora de envases de Pet. D.F, México.
- Riquelme C., (2015). Consecuencias de la quema de plásticos. Revista vvirtua ABC Color. Medellin, Colombia
- Sáenz De Juano V., 2006. Contribución al estudio de la degradación ambiental de poliolefinas fotoestabilizadas, Universidad Politécnica De Valencia, España.
- S. Orcutt, “The environmental impact of polyethylene bags”, [Internet]. Disponible en <http://www.advocacynet.org/the-environmental-impact-of-polyethylene-bags/> 1998
- Shah, A., Hasan, F., Hameed, A., Ahmed, S. 2009. Biotechnology Advances.Suplemento: Rev. Latino América. Metal. Mater. 2008; 147-148 p.
- Semple, C. 2001. Transformación de tetracloroetano (TeCA) por biopelículas metilotróficas. Tesis Maestría en Biotecnología y Bioingeniería, Trujillo, Escuela de Postgrado, Sección de Postgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo.
- Seneviratne G., N. S. Tennakoon, M. L. M. A. W. Weerasekara et al 2006. Polyethylene biodegradation by a developed Peni-cillium–Bacillus biofilm. Current Science 90 (1): 20-21.
- Silva, B., Maripaz, H., Cabanillas Paredes, L. J., Rodríguez, R., & Escarlet, Y. (2018). Biodegradación de polietileno tereftalato (PET) por acción de Pseudomona aeruginosa, en condiciones de laboratorio
- Singh, G., Singh, A. K., & Bhatt, K. (2016). Biodegradation of polythenes by bacteria isolated from soil. *Int J Res Dev Pharm L Sci*, 5(2), 2056-2062
- Skariyachan, S., Manjunatha, V., Sultana, S., Jois, C., Bai, V., & Vasist, K. S. (2016). Novel bacterial consortia isolated from plastic garbage processing areas demonstrated enhanced degradation for low density polyethylene. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(18), 18307-18319.
- Tecnología de los plásticos. (2011, 1 de junio). Obtenido de: <https://tecnologiadelosplasticos.blogspot.com/2011/06/polietileno-de-baja-densidad.html>
- Torres, C. A. V., Ocampo, R. D., Rodríguez, W. M., Chang, J. V., & Salazar, T. M. C. (2017). Calidad Alimenticia del Hongo *Pleurotus ostreatus*, Fresco y Deshidratado, Cultivado en Tres Residuos agrícolas. *Revista ESPAMCIENCIA ISSN 1390-8103*, 8(2), 75-83.
- Universidad Pompeu Favra de Barcelona, 23 de marzo de 2009, Boletín Técnico Informativo [28], Recuperado el 27 de septiembre de <http://ecoplas.org.ar/pdf/28.pdf>
- Uribe, D., Giraldo, D., Gutiérrez, S., & Merino, F. (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
- Valdez Vázquez, I., & Poggi Varaldo, H. M. (2006). *Producción de Hidrógeno. Una Opción Biotecnológica*. TESE.
- Velasco Casal, P. (2003). Biorremediación: Biodisponibilidad de xenobióticos en suelos. Papel de la quimiotaxis bacteriana.
- Villa-Carvajal, M., Rivera, J. D., Capilla, V., & Gardé, J. A. (2008). Degradación biológica de polímeros mediante la selección y producción de potenciales cultivos iniciadores. In *II Congreso Iberoamericano sobre Seguridad Alimentaria* (pp. 1-6).
- Volke, T. ·1997. ·Efecto -de tratamientos ·físicoquímicos y ·cometabolismo en la degradación de polietileno de baja densidad por hongos filamentosos. Tesis para obtener el Grado de Doctora en Ciencias Biológicas. México.
- Yoshida, S., Hiraga, K., Takehana, T., Taniguchi, I., Yamaji, H., Maeda, Y., ... & Oda, K. (2016). A bacterium that degrades and assimilates poly (ethylene terephthalate). *Science*, 351(6278), 1196-1199

11. Anexos

11.1. Formatos

11.1.1. Formato de protocolo modificado del Manual Cochrane de revisiones sistemáticas de intervenciones

Metodología de Autor/s (Año): Breve descripción de lo que realizan en el estudio

Título: Título del estudio

Protocolo

- **Objetivo:** Objetivo general del estudio

Métodos: Herramienta que fue utilizada para calcular el porcentaje de degradación.

Resultados: Resultados obtenidos en el estudio

Conclusiones de los autores: Conclusiones que los autores hacen sobre el estudio.

Metodología: Metodología implementada, teniendo en cuenta el pretratamiento y el ensayo de biodegradación

11.1.2. Formato de Matriz Bacterias - Hongos

BACTERIAS

Nombre del documento	País en donde se desarrolló la investigación	Año	Microorganismo/s implementados	Cantidad de ensayos realizados	Promedio por ensayo	Error	Observaciones
----------------------	--	-----	--------------------------------	--------------------------------	---------------------	-------	---------------

HONGOS

Nombre del documento	País en donde se desarrolló la investigación	Año	Microorganismo/s implementados	Cantidad de ensayos realizados	Promedio por ensayo	Error	Observaciones
----------------------	--	-----	--------------------------------	--------------------------------	---------------------	-------	---------------

11.1.3. Formato de Matriz Análisis Bacterias - Hongos

BACTERIA

Nombre / Especie	Porcentaje de degradación	Error
------------------	---------------------------	-------

HONGO

Nombre / Especie	Porcentaje de degradación	Error
------------------	---------------------------	-------

11.2. Protocolos

11.2.1. Bacterias:

11.2.1.1. Metodología de Yoshida. S., et al 2016: Metodología para identificar y comparar bacterias capaces de degradar el PET.

Título: A bacterium that degrades and assimilates poly (ethyleneterephthalate)

Protocolo

- **Objetivo:** Identificar un microorganismo capaz de degradar el poli(etilentereftalato), provenientes de desechos de PET.

Métodos

- **Comparación e identificación de microorganismos:**

Resultados: Los resultados más relevantes para este proyecto se encontraron en el ensayo # 46 , este degradó el 75% del carbono de la película PET.

Microorganismos encontrados: Mediante microscopía se encontró un consorcio en la película, denominado N°46, este contenía una mezcla de bacterias, células similares a **levaduras** y **protozoos**, mientras que el fluido de cultivo era casi transparente, luego de aislarse se identificó y nombró la bacteria *I. sakaiensis* que contiene la enzima ISF6_4831.

Este consorcio degradó la superficie de la película de PET a una velocidad de 0,13 mg cm⁻² días⁻¹ a 30 ° C y el 75% del carbono de la película de PET degradado se cataboliza en CO₂ a 28 °C, más específicamente la película de PET se dañó ampliamente y se degradó casi por completo después de 6 semanas a 30 °C.

Se encontraron células conectadas mediante apéndices a la película de PET y a su vez se encontró un sub-consorcio sin capacidad para degradar PET, este carecía de *I. sakaiensis*.

Conclusiones de los autores: Dada la identificación de la bacteria *I. sakaiensis*, se puede decir que el apéndice de las células encontradas se usa para ayudar en el suministro de las enzimas en la película. También establece que es necesaria un objeto en 3D para su adherencia.

La carencia de *I. sakaiensis* en el sub consorcio y la poca capacidad de degradar el material, indica que *I. sakaiensis* está funcionalmente involucrado en la degradación de PET.

Se identificó que la proteína encontrada (ISF6_4831), prefiere PET a ésteres alifáticos, lo que lleva a su designación como hidrolasa de PET (PETasa).

Metodología

- **Muestras:** Para la toma de datos se tomaron 250 muestras ambientales contaminadas con desechos de PET, incluidos sedimentos, suelo, aguas residuales y lodos activados de un sitio de reciclaje de botellas de PET.
- **Selección de microorganismos:** Utilizando las 250 muestras, se seleccionaron microorganismos que podrían usar película de PET de baja cristalinidad (1.9%) como la principal fuente de carbono para el crecimiento.

Ensayo.

- **Montaje del ensayo:** Se usaron diluciones limitantes del consorcio N° 46 que se cultivaron con película de PET para enriquecer los microorganismos que dependen nutricionalmente del PET y de esta forma aislar la bacteria.
- **Evaluación de biodegradación:** Mediante microscopía se estableció la acción degradativa de la cepa N°46, se comparó la actividad de la proteína ISF6_4831, proveniente de la bacteria aislada.

11.2.1.2. Metodología de Carrillo. P., et al 2004: Aislamiento de un cultivo mixto de bacterias de diferentes medios que tengan capacidad degradativa de DDT.

Título: Aislamiento, identificación y evaluación de un cultivo mixto de microorganismos con capacidad para degradar ddt

Protocolo

- **Objetivo:** Evaluar la capacidad para degradar DDT de un cultivo bacteriano mixto aislado de hábitats del Valle del Yaqui.

Métodos:

- **Identificación de microorganismos:** se identificaron a partir del cultivo mixto por medio de diversos aislamientos de cepas puras por dilución seriada.

Resultados: Entre el cultivo mixto, los microorganismos aislados encontraron *Pseudomonas*, *Neisseria*, *Moraxella* y *Acinetobacter* de estos la biodegradación fue del 43 % del DDT dosificado, la cual se dio en 80 horas de cultivo.

Conclusiones de los autores: Se aisló con relativa facilidad un cultivo bacteriano mixto conformado por cepas autóctonas de los géneros *Pseudomonas*, *Neisseria*, *Moraxella* y *Acinetobacter*, con capacidad para degradar hasta 43% del DDT dosificado cuando creció bajo condiciones aeróbicas, a 28 °C en un medio de sales minerales y 133 ppm de DDT como única fuente de carbono.

La degradación ocurrió en un tiempo relativamente corto de 80 horas, tiempo en el cual los metabolitos DDE y DDD presentes en el medio o generados durante el proceso también fueron degradados. Sin embargo, el 57 % del sustrato no fue metabolizado quedando asociado al paquete celular. En este sentido, el empleo de sistemas biológicos autóctonos se presenta como una alternativa para la biorremediación de sitios contaminados con este tipo de compuestos.

Metodología

Materiales de prueba:

- **Muestras:** Se realizaron muestras del suelo, sedimento y aguas residuales de sitios con un historial de contaminación o manejo de plaguicidas entre 15 a 25 años, en total se tomaron 500 g de muestras de sedimento y suelo a una profundidad de 4 a 10 cm de la superficie y se almacenaron en bolsas de plástico, a su vez se recolectaron muestras de agua residual en frascos.
- **Cultivo microbiano:** Se distribuyeron 25 mL de esta solución en matraces Erlenmeyer de 250 mL, previamente dosificados con 133 ppm de DDT comercial disuelto en acetona y centrifugado. En este medio de cultivo, con DDT como única fuente de carbono, se inocularon los matraces con 5% (v/v) del sobrenadante y se incubaron a 28 °C y 150 rpm en una incubadora con agitación hasta observar crecimiento. Los microorganismos fueron aislados por la técnica de cultivo de enriquecimiento. (Carrillo P, 2013)

Evaluación de biodegradación:

- **Determinación de peso seco:** Para la determinación de peso seco del paquete celular se utilizó una serie de matraces Erlenmeyer de 500 ml por duplicado. Los matraces con 50 ml de medio de cultivo se inocularon con un cultivo en crecimiento exponencial y se incubaron a 28 °C y 150 rpm. Se realizaron muestreos periódicos durante el crecimiento, sacrificando matraces. Se cosechó el paquete celular por centrifugación, usando tubos de nalgene de 50 ml, previamente tarados y mantenidos en un desecador. Se descartó el sobrenadante de cada tubo y se secaron las células a 50 °C hasta obtener peso constante

11.2.1.3. Metodología Campos. C., et al 2017: Biodegradación de poliestireno a partir de Humus de lombriz.

Título: Biodegradación de poliestireno utilizando microorganismos presentes en el Humus de lombriz durante los meses, octubre - diciembre 2016.

Protocolo

- **Objetivo:** Determinar la biodegradación del poliestireno por microorganismos presentes en el humus de lombriz durante los meses Octubre - Diciembre del 2016

Métodos

- **Evaluación de biodegradación:** Para determinar el porcentaje de poliestireno perdido se realizó un pesaje al inicio al final de cada procedimiento, es importante resaltar que el ensayo se realizó durante tres meses, pero cada 30 días se realizaba un pesaje para determinar dicho porcentaje.

Resultados: Al cabo de los tres meses se realizó el promedio del peso de degradación convirtiendo este valor en dato porcentual, los resultados obtenidos con el consorcio entre *Bacillus spp* y *Clostridium spp* fue del 9.4%, hay que tener en cuenta que las muestras fueron colectadas del Humus generado por una lombriz con el fin de determinar si dicho producto posee microorganismos capaces de degradar el poliestireno y sus derivados.

Conclusiones de los autores: El presente estudio evaluó la pérdida de peso del poliestireno a los cada 30 días durante 3 meses, lo cual dio como resultado en porcentaje que el consorcio entre *Bacillus spp* y *Clostridium spp* degradó un total de 9.4%, dichos microorganismos provinieron del Humus generado por lombrices lo cual establece la capacidad degradativa que posee este material gracias a la presencia de estos microorganismos en su estructura.

Metodología

Pretratamiento.

- **Recolección del PEBD:** Para la recolección del PEBD, se compraron tres bolsas en un establecimiento público de alta confianza con el fin de garantizar la procedencia del material.
- **Esterilización del PEBD:** Para la esterilización del PEBD se llevó a cabo un triple lavado con etanol, posterior a este se realizó un proceso de triturado y pulverización para con el fin de suministrar lo mejor posible el material a los microorganismos evaluadas en esta prueba.

Ensayo.

- **Aislamiento e identificación de los microorganismos:** Para determinar qué tipo de microorganismos se encontraban en el Humus recolectado proveniente de la actividad metabólica de las lombrices, para las bacterias se realizó una tinción de Gram, posterior a esto se realizó una siembra en Agar nutritivo para que con ayuda la visualización microrobotica se determinara que se encontraban bacterias del género *Bacillus spp* y *Clostridium spp*, por otro lado se identificó seis tipos hongo los cuales son: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium sp.*, *Gliocladium virens* y *Penicillium sp.*, con cada uno de estos hongos fue enriquecido en caldo tioglicolato con el fin de generar un crecimiento exponencial de la especie.
- **Montaje del ensayo:** Se realizó un total de 4 ensayos por microorganismo teniendo en cuenta el tipo de Agar a implementar para cada ensayo lo cual lo determina el tipo de microorganismo a evaluar ya que no todos pueden generarse en todo tipo de Agar, al principio de cada ensayo se realizó un pesaje para que durante 3 meses estos estuvieran en constante monitoreo cada 30 días con el fin de tener datos reales y comparables.
- **Evaluación de biodegradación:** Para determinar la cantidad de PEBD biodegradado se realizó pesaje al inicio y al final del ensayo con el fin de determinar la cantidad de PEBD asimilado por los microorganismos, este valor será expresado en porcentaje.

11.2.1.4. Metodología de Uribe. D. et al 2010: Metodología para evaluar la biodegradación de PEBD.

Título: Biodegradación de polietileno de baja densidad por acción de un consorcio microbiano aislado de un relleno sanitario, Lima, Perú.

Protocolo

- **Objetivos:** Describir el aislamiento y la actividad de biodegradación de microorganismos sobre polietileno de baja densidad

Métodos

- **Evaluación de biodegradación:** Para determinar la cantidad de PEBD biodegradado se realizó pesaje al inicio y al final del ensayo con el fin de determinar la cantidad de PEBD asimilado por los microorganismos, este valor será expresado en porcentaje.

Resultados: Se obtuvo una reducción de 5,4% del peso total de polietileno bajo la acción del consorcio conformado solo por bacterias (pH 7,0). El porcentaje de peso perdido obtenido mediante

el empleo de las levaduras y los hongos aislados fue de 4,8% (pH 5,5), que, si bien es menor, es un resultado significativo para las condiciones en las que se desarrolló la prueba.

Conclusiones de los autores: 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 (Seneviratne 2006). Cabe recalcar que la recuperación de una cepa en un consorcio de degradación, no necesariamente indica que esta es capaz de mineralizar por sí sola el polímero en su plenitud. Se han realizado estudios que indican que la presencia de hongos en este tipo de consorcios, genera la posibilidad de una duda en cuanto a su capacidad degradativa; y es que son tan versátiles bioquímicamente, que podrían estar tomando como fuente de carbono, los productos de degradación de las demás cepas integrantes del consorcio, por lo cual, sería importante la elaboración de pruebas de biodegradación individualizadas para cada microorganismo encontrado.

Metodología

Pretratamiento.

- **Recolección del PEBD:** Para la recolección del PEBD, se debe adquirir dicho material en forma de perlas.
- **Esterilización:** Para la esterilización se realiza un único lavado con Etanol a las perlas de PEBD.

Ensayo.

- **Cultivo de *Pseudomonas fluorescens*:** Para la inoculación microorganismo, estas deben estar en solución salina.
- **Montaje del ensayo:** Se realizaron dos ensayos por duplicado con su respectivo blanco en tubos de McFarland, a los cuales se les agregó 10 ml de medio de sales minerales (MSM) con composición: (Bonhomme et al. 2003), compuesto de (g.L-1) MgSO₄ (7H₂ O), 0,5 g; KH₂ PO₄ , 0,5 g; Na₂ HPO₄ (12H₂ O), 2,52 g; NH₄ Cl, 1 g; CaCl₂ , 0,002 g; MnSO₄ (7H₂O), 0,007 g; FeSO₄ (7H₂O), 0,001 g y ZnSO₄ (7H₂O), 0,007 g, 1 ml de solución salina en donde se encuentran las *Pseudomonas Fluorescens* y por último el PEBD pretratado en perlas, el tiempo de duración del ensayo será de 1 mes.
- **Evaluación de biodegradación:** Para determinar la cantidad de PEBD biodegradado se realizó pesaje al inicio y al final del ensayo con el fin de determinar la cantidad de PEBD asimilado por los microorganismos, este valor será expresado en porcentaje.

11.2.1.5. Metodología de Barbarán. H. et al 2018: Metodología para determinar la biodegradación del PET por medio de *Pseudomona aeruginosa*

Título: Biodegradación de polietileno tereftalato (PET) por acción de *Pseudomona aeruginosa*, en condiciones de laboratorio.

Protocolo

Objetivo: Determinar la concentración de *Pseudomona aeruginosa* aplicada en diferentes periodos de tiempo que logra mayor porcentaje de biodegradación del Polietileno tereftalato, en condiciones de laboratorio

Métodos:

Evaluación de biodegradación: La técnica utilizada para la presente investigación fue la observación ya que se hizo uso de los sentidos para la obtención de datos mediante una ficha de observación intencionada e ilustrada con un objetivo determinado y guiada por un cuerpo de conocimiento.

Resultados: El mayor porcentaje de remoción obtenido fue resultado de la aplicación del tratamiento N° 9, el cual consistió en la aplicación de 9 x 10⁸ UFC de *Pseudomona aeruginosa* en un periodo de tiempo de 35 días logrando biodegradar 19.93%

Conclusiones de los autores: Dados los resultados en los tratamientos se puede concluir que el tiempo y la concentración de *Pseudomona aeruginosa* tienen una relación directa en cuanto al

porcentaje de biodegradación del polietileno tereftalato ya que los mejores resultados obtenidos estuvieron en relación al periodo de biodegradación al que fue expuesto el PET.

Metodología: La investigación es de tipo aplicada con una parte investigativa y luego se da paso a la parte experimental.

Diseño de investigación:

- **Materiales muestra:** El polietileno tereftalato (PET) de los envases de bebidas en el mercado, en este caso botellas marca “Cielo”.
- **Microorganismo empleado:** *Pseudomonas aeruginosa*

Ensayo:

- **Concentración de *Pseudomonas aeruginosa*:** Cada concentración se midió en unidades formadoras de colonias y fue definido por recuento en placa.
- **Toma de muestra:** Como muestra de plástico se tomaron 35 gr para cada ensayo.
- **Montaje:** Se realizaron 27 ensayos en total, 3 ensayos por triplicado, cada uno con diferentes concentraciones del microorganismo (18×10^7 , 36×10^7 y 9×10^8), tres tiempos diferentes (15, 25 y 35 días) respectivamente de cada uno se realizaron 3 repeticiones.

Evaluación de biodegradación: Los datos registrados en la ficha de observación, se ordenan en hojas de Excel para posteriormente, hacer uso de la estadística inferencial, determinar el contraste de normalidad para tener la certeza de que los datos obtenidos sean fiables para realizar en análisis de varianza (ANOVA), que permite determinar si los tratamientos difieren significativamente entre sí. Posteriormente se aplicará el Test de comparaciones múltiples según Duncan con el objeto de especificar la alternativa de tratamiento diferente. Los resultados de cada uno de los tratamientos serán mostrados por estadística descriptiva, mediante gráficos y tablas para poder evidenciar los datos más relevantes.

11.2.1.6. Metodología de Mukherjee. S. et al 2017: Metodología para degradar polietileno por medio de bacterias.

Título: Bio-degradation of polyethylene via complete solubilisation by the action of *Pseudomonas fluorescens*, bio-surfactant produced by *Bacillus licheniformis* and anionic surfactant

Protocolo

- **Objetivo:** Tratar polietileno comercial con bio-tensioactivo producido por *Bacillus licheniformis*, tensioactivo aniónico y bacteriano tratado con *Pseudomonas fluorescens* para su degradación.

Métodos: Las muestras de polietileno se tratan con bio-tensioactivo producido por *Bacillus licheniformis*, con tensioactivo aniónico dodecil sulfato de sodio y con la bacteria *Pseudomonas fluorescens* en diferentes combinaciones durante 3 meses.

Resultados: El orden de los tratamientos afectó cada respuesta del polietileno, de esta forma solo se encontraron dos pérdidas de peso del polietileno, en estos casos fueron los ensayos PE 2.3 con 5.06 ± 0.05 y PE 6.3 con 7.13 ± 0.05 , a su vez se encontró que el ensayo PE 3.3 se observó una solubilización completa en solución acuosa por lo cual no se pudo calcular el peso perdido.

Conclusiones de los autores: En este estudio, el polietileno de control no oxidado se ha solubilizado completamente en moléculas de polietileno biodegradables mediante el tratamiento del polietileno con *P. fluorescens* en el primer mes, luego el tratamiento de este polietileno tratado con bacterias con bio-surfactante en el segundo mes y finalmente este polietileno tratado se trata con SDS al 10% en el tercer mes. Después para completar la solubilización de polietileno en la solución de SDS, se forman dos capas separadas, es decir, una capa similar a un aceite amarillento y una capa acuosa. Varios ácidos alifáticos biodegradables, alcoholes, se identifican cadenas cortas de hidrocarburos en la capa acuosa. De esta observación, es evidente que la alta oxidación y solubilización de hidrocarburos por SDS es la razón principal de solubilización completa de polietileno. La pérdida de peso de $7.13 \pm 0.05\%$ también se logra en PE 6.3 y $5.06 \pm 0.05\%$ de la pérdida de peso se logra en PE 2.3; esto se debe principalmente al hidrocarburo solubilización por bio-surfactante producido por B.

licheniformis.

Metodología

- **Materiales de prueba:** Se usaron bolsas de polietileno de baja densidad (bolsas de mercado) y se cortaron de forma rectangular luego fueron lavadas con agua caliente y así se mantuvieron en una solución de etanol al 70% (v/v) durante 30 minutos enjuague con agua y secado a 50° C.
- **Cultivo microbiano:** Se cultivó *Bacillus licheniformis* y *Pseudomonas fluorescens*, los cultivos se realizaron en caldo nutritivo, también se usó dodecil sulfato de sodio al 10% (SDS)

Pre-tratamiento

- **Esterilización de películas de polietileno:** Las películas de polietileno de control y tratadas fueron esterilizadas con una solución de tween 80 / lejía / agua destilada (7: 10: 983) respectivamente durante 60 minutos a temperatura ambiente para luego ser transferidas a vasos precipitados con agua destilada doblemente y ser agitadas por 1 hora, una vez más se pasan a un vaso de precipitados estéril que contiene una solución de etanol al 70% durante media hora sin agitar, para finalizar se pasan a una placa de Petri para dejar secar 50°C en un horno para luego ser pesados a temperatura ambiente.

Ensayo

- **Tratamiento de polietileno:** Para *B. licheniformis* se usa un medio YPD que consiste en 1 litro de Doble agua destilada con 10g de extracto de levadura, 20g de glucosa, 20g de peptona y 10g de cloruro de sodio (NaCl), a 37°C durante un mes. Para el tratamiento con *Pseudomonas* se colocó 1g de glucosa, 3g de NH₄NO₃, 0,4g de KH₂PO₄, 0,5g de K₂HPO₄ y 0,2g de MgSO₄ por litro de agua doblemente destilada, a 30°C por un mes. Se colocó también un tratamiento con *Pseudomonas* con 3g de NH₄NO₃, 0,4g de KH₂PO₄, 0,5g de K₂HPO₄ y 0,2g de MgSO₄ en 1 litro de agua doblemente destilada durante 1 mes (no se agrega glucosa), a 30°C por un mes. El tratamiento con dodecil sulfato de sodio al 10% (SDS) se realizó a 60°C por un mes. *Cada tratamiento se realizó por triplicado*
- **Evaluación de biodegradación:** Para evaluar la degradación se determinó la elongación a la ruptura por el método de prueba ASTM D-882 (ASTM 2010) y el índice de carbonilo con un espectrofotómetro FTIR. Para ello se realizaron muestreos de 10 tiras de plástico a los 11, 30 y 45 días del proceso.

11.2.1.7. Metodología Singh. G. et al 2016: Metodología para evaluar la biodegradación de PEBD a partir de microorganismos aislados del suelo.

Título: Biodegradation of polythenes by bacteria isolated from soil

Protocolo

- **Objetivo:** Formular nuevos consorcios microbianos aislados de las áreas de procesamiento de basura plástica y, por lo tanto, idear un enfoque ecológico para una mayor degradación del polietileno de baja densidad (PEBD)

Métodos

- **Evaluación de biodegradación:** Para determinar la cantidad de PEBD biodegradado se realizó pesaje al inicio y al final del ensayo con el fin de determinar la cantidad de PEBD asimilado por los microorganismos, este valor será expresado en porcentaje. Para determinar dicho porcentaje se implementó la siguiente ecuación
$$\text{Peso perdido total} = \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso final}}{\text{Peso final}} \times 100$$

Resultados: Teniendo en cuenta la actividad microbiana de las dos tipos de especies evaluadas en este estudio, se determinó que *Pseudomonas spp* tuvo un 11% y *Staphylococcus sp* tuvo 52% de degradación de PEBD, es importante tener en cuenta que el pretratamiento ejecutado fue el mismo

para las pruebas del polietileno de baja densidad con el fin de no alterar los resultados obtenidos en este proyecto.

Conclusiones de los autores: Las bacterias fueron capaces de utilizar el PEBD como fuente nutricional y crecieron a una temperatura de 45°C y pH 8.5, al pasar 120 se obtuvieron resultados de *Pseudomonas spp* tuvo un 11% y *Staphylococcus sp* tuvo 52% de degradación en los seis ensayos realizados con cada uno de los microorganismos. Dicho estudio sugiere que la utilidad de los consorcios microbianos con un potencial de biodegradación mejorado es un enfoque ecológico para la gestión de residuos plásticos, de esta manera lograr mejores rendimientos y potencializar la actividad microbiana de las distintas especies que pueden llevar una relación de comensalismo.

Metodología

Pretratamiento.

- **Recolección del PEBD:** Para la recolección del PEBD, se compraron 3 bolsas elaboradas con polietileno de baja densidad con el fin de garantizar su procedencia, dichas bolsas poseen un color blanco.
- **Esterilización:** Las bolsas de polietileno de baja densidad fueron sometidas a un proceso térmico en donde se llevaron a una temperatura de 80°C durante 2 horas, posterior a esto fueron lavadas dos veces con etanol al 85% por un tiempo de 30 minutos, además de esto el material resultante fue triturado y almacenado en cajas de Petri para garantizar su esterilización.

Ensayo.

- **Cultivo de *Proteus spp* y *Pseudomonas spp*:** Se tomaron 5 muestras del suelo, las cuales fueron tamizadas y filtradas con el fin de aislar los microorganismos que se encontraban en ellas, posterior a esto se realizó una siembra por desgaste sobre medios de cultivo enriquecidos con el fin de garantizar la proliferación de microorganismos en la muestra. Mediante punción fueron aislando las diferentes colonias generadas en el medio y de esta forma haciendo una segregación de los microorganismos, por último, se realizó la identificación de los microorganismos el cual dio como resultado colonias de *Staphylococcus sp* y *Pseudomonas spp*.
- **Montaje del ensayo:** Se realizaron 6 ensayos por duplicado con su respectivo blanco en matraces de 250 ml, durante ciento veinte días a los cuales semanalmente se les hacía observaciones, para el montaje se tomó una alícuota de 1 ml de la solución en donde estaban suspendidos por separado las familias del microorganismo, añadiéndoles 50 ml de medio agar de MacConke además de una porción previamente pesada de polietileno de baja densidad triturado y esterilizado.
- **Evaluación de biodegradación:** Para determinar la cantidad de PEBD biodegradado se realizó pesaje al inicio y al final del ensayo con el fin de determinar la cantidad de PEBD asimilado por los microorganismos, este valor será expresado en porcentaje.

11.2.1.8. Metodología de Cáceres O. 2011: Metodología para determinar la biodegradación del PEBD en biorreactores air lif.

Título: Biodegradación bacteriana de polietileno de baja densidad bajo condiciones controladas en biorreactores air lif.

Protocolo

Objetivo: Determinar la biodegradación de polietileno de baja densidad (bolsas de plástico) mediada por bacterias nativas de La Moyuna.

Métodos: Se realizó una caracterización de microorganismos con capacidad para degradar en PEBD y se construyó un biorreactor donde se evaluó la biodegradación.

Resultados:

- **Microorganismos encontrados:** Las bacterias que degradan el polietileno se encuentran bacterias del género *Pseudomonas* sp, *Edwardsiella* sp. y *Alcaligenes* sp. En mayor proporción correspondieron a *Pseudomonas* sp.
- **Biodegradación del PEBD:** se observó disminución en peso para PESO provenientes de Metro en 4.2 mg para la concentración de 50 mg/L, 4.6 para la concentración de 100 mg/L, 3.2 mg para la concentración de 150 mg/L y 1.6 mg para la concentración de 200 mg/L.

Conclusiones de los autores: Las condiciones óptimas para la degradación, encontradas en este ensayo, fueron pH de 6.4- 8.3, temperatura 24 °C 30 °C, oxígeno disuelto inicial de 5.64 a 6.6 mg/L, a su vez es posible afirmar que el incremento en peso se da debido a la fijación de microorganismos en el PEBD para su descomposición ya que estas son más difíciles de ser metabolizadas, a su vez no se descarta que los microorganismos estén degradando algún aditivo de los trocitos de PE como pintura y otros compuestos que son utilizados para la fabricación de los PE sin marca.

Metodología:

Muestras: Se realizaron muestras del suelo, sedimento y aguas residuales de sitios con un

Ensayo:

- **Toma de muestra:** Se recolectaron 250 g de suelo con plásticos en aparente estado de descomposición, dichas muestras fueron colocadas en bolsas plásticas, nuevas y estériles para su posterior traslado al laboratorio.

Aislamiento:

- **Adaptación-selección de bacterias degradadoras de plástico:** Se repicaron las colonias mantenidas en BHI sobre placas con Agar Mínimo salino adicionado con concentraciones bajas de bolsas de PEBD de las distintas procedencias en estudio.
- **Preparación del biorreactor:** Los biorreactores fueron preparados en el laboratorio, constituidos por una cámara de cultivo, tubo de distribución central y frascos de filtro para aire con una solución saturada de NaCl y una bomba de aire como fuente de aeración.

Cultivo microbiano:

- **Evaluación de biodegradación:** La degradación del polietileno se determinó por la disminución de concentración del mismo presente en los 4 biorreactores, al momento de iniciar la operación pesando las muestras a tratar en una balanza analítica, para los datos que se deberían registrar a los tres días se hizo un cálculo utilizando la ecuación siguiente:

$$dc/dt = -kc \quad C = C_0 e^{-kt}$$

11.2.1.9. Metodología Vila. M. et al 2008: Metodología para evaluar la biodegradación de PEBD.

Título: Degradación biológica de polímeros mediante la selección y producción de potenciales cultivos iniciadores

Protocolo

- **Objetivo:** Desarrollar y optimizar procesos que permitan la biodegradación de residuos sólidos plásticos como una alternativa viable a la gestión en vertedero

Métodos

- **Evaluación de biodegradación:** Para determinar la cantidad de PEBD biodegradado se realizó pesaje al inicio y al final del ensayo con el fin de determinar la cantidad de PEBD asimilado por los microorganismos, este valor será expresado en porcentaje.

Resultados: Se obtuvo una reducción promedio del 15% del peso total de polietileno bajo la acción de *Brevibacillus borstelensis* en un medio de cultivo mínimo elaborado para que el único sustrato de carbono que tuviera el microorganismo fuera el PEBD.

Conclusiones de los autores: Este estudio, muestra que el PEBD (considerado como inerte) puede ser degradado por el microorganismo *Brevibacillus borstelensis* tal y como se describe a continuación: *B. borstelensis* utiliza el PEBD como fuente de carbono a las temperaturas 37 °C, 46 °C y 55 °C durante 1 mes de incubación. También es capaz de utilizar PS como fuente de carbono a

las temperaturas de 46 y 55 °C en el mismo tiempo de incubación. La presencia de surfactante (Tween 80) facilita la biodegradación del PEBD, en las tres temperaturas ensayadas (37 °C, 46 °C y 55 °C). La irradiación del PEBD como pretratamiento fotooxidativo previo a la incubación con *B. borstelensis* a 55 °C muestra el mayor grado de biodegradación (% pérdida de peso) observado en el ensayo.

Metodología

Pretratamiento.

- **Recolección del PEBD:** Para la recolección del PEBD, fue necesario obtener el PEBD en forma de bolsa convencional.
- **Esterilización:** Para la esterilización se realizó tres tipos de tratamiento diferentes con el fin de garantizar una mayor eficiencia al momento de realizar la prueba de biodegradación, el primer tratamiento consto de la exposición a la radiación ultravioleta, a longitud de onda de 254nm, a una distancia de 20 cm durante 68 horas, el segundo tratamiento consto de realizar un proceso térmico a una temperatura de 55°C durante 1 mes y el tercer y último tratamiento realizado constó de la combinación de la radiación ultravioleta de $\lambda=254$ nm a 20 cm de distancia, durante 52 h y tratamiento térmico a una temperatura de 55°C durante 12 días. Después de realizar el tratamiento físico el material fue cortado en circunferencias con un diámetro aproximado de 5 milímetros

Ensayo.

- **Cultivo de *B. borstelensis*:** la cepa pura del microorganismo fue incubada y adaptada en un medio de cultivo mínimo con las siguientes características NH₄NO₃, MgSO₄, K₂HPO₄, CaCl₂, KCl, yeast extract, FeSO₄, ZnSO₄, MnSO₄ con relación 1:2, esta preparación fue desarrollada en matraces de 250 ml
- **Montaje del ensayo:** Se realizaron tres ensayos por duplicado con su respectivo blanco en matraces de 250 ml, los cuales tuvieron un proceso de incubación a 37°C, 46°C y 55°C durante un mes cada ensayo fue rapado con papel aluminio y sellado en una bolsa ziploc.
- **Evaluación de biodegradación:** Para determinar la cantidad de PEBD biodegradado se realizó pesaje al inicio y al final del ensayo con el fin de determinar la cantidad de PEBD asimilado por los microorganismos, este valor será expresado en porcentaje, además de esto se realizó un análisis del ciclo de vida de las bacterias.

11.2.1.10. Metodología de Martínez P. 2016: Evaluar el efecto de los microorganismos nativos de un relleno, en la degradación de PEBD.

Título: Efectos de las Asociaciones Microbianas sobre la Degradabilidad del Polietileno de Baja Densidad

Protocolo

Objetivo: evaluar la acción biodegradadora de las bacterias presentes en el relleno sanitario sobre el polietileno utilizando el mismo como única fuente de carbono.

Métodos: Tomando muestras del suelo del relleno sanitario, se estudió la posibilidad de degradación en un medio nativo con microorganismos nativos del mismo.

Resultados:

- **Identificación morfológica de las bacterias:** Los microorganismos se identificaron por medio de tinción de Gram, dando como resultado bacterias Gram negativas, por lo que se identifica el género *Pseudomonas* spp.
- **Pérdida de peso en %:** Las muestras 2.1.2 y 2.1.3 son las más significativas dando como resultado 6,5 % y 8,3% respectivamente en pérdida de peso pasados 35 días.
- **Biomasa:** Se identificó Biomasa en las muestras 1 y 2, en la fase de crecimiento microbiano.

Conclusiones de los autores: Aun teniendo en cuenta parámetros como el PH, el medio del relleno es débil a la hora de fomentar la degradación del plástico y aun así se identificó la formación de biomasa.

Metodología

Preparación del medio y muestras

- **Selección de las muestras de suelo:** Se seleccionaron cuatro zonas del relleno sanitario de la ciudad de Encarnación, de la cual se obtuvieron 300 gr de suelo para ser analizadas y de esa forma escoger las muestras con mejores características de pH, conductividad y salinidad.
- **Preparación de polvo de polietileno:** La muestra de PEBD fue adquirida de un supermercado local, partir de se recortaron y se pesaron 6 gr del polietileno cada uno con 6 gr. de Cloruro de Sodio, se secaron en papel filtro dentro de una estufa a 130°C por 30 min.
- **Preparación del PEBD de prueba:** Se tomó el plástico de baja densidad y se cortó en un tamaño de 2X4 cm.
- **Medio de crecimiento:** Se empleó un cultivo de macro y micro-elementos siendo el polietileno la única fuente de carbono del medio.
- **Medio de enriquecimiento:** Se tomó del medio de crecimiento y se les añadió polvo de PEBD con suelo del relleno.
- **Crecimiento de bacterias nativas:** Se incubaron los frascos enriquecidos a temperatura ambiente de 25°C por 30 días.

Ensayo.

- **Montaje del ensayo:** Se tomó medio de crecimiento y medio de enriquecimiento en un frasco de 500 ml, en donde se colocaron los trozos cortados de PEBD previamente pesados para su comparación.
- **Control:** Se realizó un control por el peso residual cada 3 días por 35 días.

Evaluación de biodegradación: Para determinar el porcentaje de pérdida de peso residual del polietileno se aplicó la siguiente fórmula matemática, utilizado comúnmente en la medición de humedad de producto sólido.

$$\% \text{ pérdida} = (W_i - W_f) / W_i \quad W_i: \text{ peso inicial del polietileno} \quad W_f: \text{ peso final del polietileno en función al tiempo.}$$

11.2.1.11. Metodología Martín Alejandra 2017: Metodología para evaluar la biodegradación de PEBD a partir de bacterias marinas.

Título: Estudio preliminar de la biodegradación de plásticos por bacterias marinas.

Protocolo

- **Objetivo:** Estudiar microorganismos marinos potencialmente degradadores de plásticos, en muestras de agua recogidas en el Puerto de Santa Cruz de Tenerife.

Métodos

- **Evaluación de biodegradación:** Para determinar la cantidad de PEBD biodegradado se realizó pesaje al inicio y al final del ensayo con el fin de determinar la cantidad de PEBD asimilado por los microorganismos, este valor será expresado en porcentaje. Se implementó la siguiente fórmula para determinar dicho porcentaje $\frac{P_f - P_i}{P_i} \times 100$. Para evaluar los cambios ocurridos en la estructura de los diferentes sustratos plásticos tras ser sometidos al ataque microbiano, se procedió a su análisis espectral mediante Espectroscopía Infrarroja de Transformada de Fourier (FTIR) empleando la técnica de reflectancia difusa.

Resultados: Se obtuvo una reducción promedio del 0,2% del peso total de polietileno bajo la acción de *Nocardia* en un medio de cultivo mínimo salino y un medio de cultivo nutritivo con el fin de proporcionar una fácil adaptación de la bacteria a un medio diferente al cual está adaptada a desarrollarse.

Conclusiones de los autores: El estudio posterior de la biodegradación de PETE en cultivos incubados durante 45 días, no reveló pérdidas de peso significativas entre los cultivos (3%) y sus respectivos controles no inoculados (0,1%). Los análisis cualitativos mediante técnicas espectroscópicas (FTIR) y microscópicas (AFM), mostraron una poca evidencia de un ataque microbiano relevante.

Metodología

Pretratamiento.

- **Recolección del PEBD:** Para la recolección del PEBD, las muestras fueron obtenidas en el Muelle de Santa Cruz de Tenerife punto estratégico debido a las numerosas embarcaciones que día tras días traen con sígo microorganismos y mucho material plástico que es arrojado al mar.
- **Esterilización:** Para la esterilización se cortaron los materiales recolectados en pequeños trozos de 0.5 x 0.5 cm, posterior a esto se realizaron dos lavados, el primero constó de en sumergir los trozos de PEBD en 10 ml de alcohol etílico al 96% durante treinta minutos, después los trozos fueron retirados y sumergidos en 20 ml de alcohol etílico al 70% durante veinte minutos más. Se utilizó un molino para granular las muestras con el fin de proporcionar el material lo más sencillo posible para que el ataque bacteria sea más eficiente y efectivo. El granulado obtenido se conservó en placas de Petri estériles hasta su posterior utilización.

Ensayo.

- **Cultivo de *Nocardia*:** las muestras tomadas en el Puerto de Santa Cruz de Tenerife fueron filtradas se realizaron dos cultivos de enriquecimiento sucesivos, utilizando como inóculo los microorganismos recogidos mediante filtración (filtros Millipore de nitrocelulosa de 0,45 μm). Este proceso se repitió 5 veces, filtrando alícuotas de 1 L para cada uno de los ensayos realizados.
- **Montaje del ensayo:** Se realizaron tres ensayos por duplicado con su respectivo blanco en matraces de 500 ml, los cuales tuvieron un proceso de incubación a 27°C a 125 rpm durante trece días a los cuales diariamente se les hacía observaciones.
- **Evaluación de biodegradación:** Para determinar la cantidad de PEBD biodegradado se realizó pesaje al inicio y al final del ensayo con el fin de determinar la cantidad de PEBD asimilado por los microorganismos, este valor será expresado en porcentaje. Por otro lado, se realizó una espectroscopia FTIR con el fin de analizar cambios en la estructura de la superficie del PEBD con el fin de corroborar algún rastro de degradación realizado por *Nocardia*.

11.2.1.12. Metodología Skariyachan. S. et al 2016: Metodología para evaluar la biodegradación de PEBD a partir de diferentes consorcios microbianos.

Título: Novel bacterial consortia isolated from plastic garbage processing areas demonstrated enhanced degradation for low-density polyethylene.

Protocolo

- **Objetivo:** Determinar cuál de los consorcios microbianos puestos a prueba logra ser más eficiente para degradar el polietileno de baja densidad.

Métodos

- **Evaluación de biodegradación:** Para determinar la cantidad de PEBD biodegradado se realizó pesaje al inicio y al final del ensayo con el fin de determinar la cantidad de PEBD asimilado por los microorganismos.

Resultados: El producto final mostró cambios estructurales y formación de película bacteriana en tiras degradadas de PEBD, obteniendo como resultado un 81% \pm 2.2 de degradación de este material producto de la actividad enzimática del consorcio conformado por *Enterobacter sp*, *Enterobacter sp*, y *Pantoea sp*.

Conclusiones de los autores: Las bacterias fueron capaces de tomar el PEBD como material de sustrato de nutrientes por lo cual fue posible su degradación, dicho procedimiento fue realizado a una temperatura constante de 45°C con un pH de 8,5. Por otra lado la combinación ideal que dejó el estudio fue la de *Enterobacter sp*, *Enterobacter sp*, y *Pantoea sp*, por lo cual se recomienda ser integrado este consorcio en un proceso industrial en el que el objetivo principal sea degradar el PEBD de manera biológica.

Metodología

Pretratamiento.

- **Recolección del PEBD:** Con el fin de garantizar la calidad del material, este fue comprado con las características de PEBD a una empresa que elabora este tipo de materiales. El material se obtuvo en dos presentaciones, pulverizado y laminado ya esterilizado.

Ensayo.

- **Crecimiento de los microorganismos:** Las cepas puras de los microorganismos fueron replicadas en medios de cultivo nutritivo con el fin de garantizar un crecimiento exponencial y efectivo, a una temperatura de 35°C, este procedimiento se realizó durante 2 semanas con anterioridad para realizar los ensayos de biodegradación.
- **Montaje del ensayo:** Para realizar los montajes de biodegradación se hicieron medios mínimos los cuales contenían sulfato de amonio (1.0 gl – 1), fosfato de di-potasio (7.0 gl – 1), fosfato de potasio (2.0 gl – 1), sulfato de magnesio (0.1 gl – 1), agar bacteriológico (2.0 gl – 1) y polvo de PEBD (1.0 gl – 1), todos los ensayos realizados con las diferentes posibles combinaciones de bacterias para generar un consorcio fue realizado con este medio mínimo, a cada uno se le añadió 1g de PEBD y fue llevado a una incubadora a 37°C durante 120 días.
- **Evaluación de biodegradación:** Para determinar la cantidad de PEBD biodegradado se realizó pesaje al inicio y al final del ensayo con el fin de determinar la cantidad de PEBD asimilado por cada consorcio microbiano puesto a prueba en total fueron 5.

11.2.1.13. Metodología Barbosa. J. 2013: Metodología para evaluar la biodegradación de PEBD.

Título: Prospecção de microorganismos com potencial para biodegradação de polietileno

Protocolo

- **Objetivo:** El presente estudio tiene como objetivo aislar microorganismos presentes en desechos plásticos desechados en suelos cerrados y evaluar la capacidad microbiana potencial para degradar, modificar o metabolizar el polietileno, con el objetivo de aplicaciones en el campo de la biotecnología y la biorremediación.

Métodos

- **Evaluación de biodegradación:** Para determinar la cantidad de PEBD biodegradado se realizó pesaje al inicio y al final del ensayo con el fin de determinar la cantidad de PEBD asimilado por los microorganismos, este valor será expresado en porcentaje, además de realizar un conteo de bacterias al final de cada uno de los ensayos, lo cual permite relacionar la cantidad de materia degradado con el tamaño de la población de estudio.

Resultados: Se obtuvo una reducción promedio del 15% del peso total de polietileno bajo la acción del consorcio conformado solo por bacterias, probado en los diferentes medios de cultivo mínimos establecidos en la investigación. Aunque no existen antecedentes en la literatura sobre la capacidad de las bacterias de género *Comamonas sp.*, *Delftia sp.* e *Stenotrophomonas sp.*, en este estudio se logra determinar su capacidad de asimilar el PEBD.

Conclusiones de los autores: La actividad microbiana de *Comamonas sp.*, *Delftia sp.* e *Stenotrophomonas sp.* sobre el polietileno de baja densidad está dada por una acción enzimática, a pesar de que en la actualidad muchos autores no establecen la capacidad degradativa de estos microorganismos sobre dicho material, esta investigación logró concluir que, si pueden asimilar el PEBD, en un total de 12 días de prueba se logró reducir un 15% del PEBD suministrado para las pruebas en el laboratorio. Por otro lado, es importante resaltar la funcionalidad que cumplen los medios de cultivo mínimos desarrollados en la investigación ya que a partir de estos se le suministra como única fuente de carbono a las bacterias el PEBD siendo forzados a extraer dicho compuesto de este tipo de material.

Metodología

Pretratamiento.

- **Recolección del PEBD:** Para la recolección del PEBD, fue necesario ir al Parque nacional de Chapada dos Veadeiros en donde se recolectó una muestra de polietileno de baja densidad con rasgos de degradación por parte de alguna actividad microbiana.
- **Esterilización:** Para la esterilización se realiza un único lavado con NaCl al 0,9% posterior a esto se cortó en pequeños trozos la muestra con el fin de ser cultivados en cinco medios de cultivos diferentes.

Ensayo.

- **Inoculación en cinco medios de cultivos mínimos diferentes:** Para la inoculación de las muestras obtenidas, se dispuso a realizar cinco medios de cultivos diferentes los cuales se hicieron con la siguiente composición, todas las unidades están dadas en g/L: medio de cultivo N°1 Sulfato de Amônia 2,6400 Fosfato de Potasio monobásico 2,3800 Fosfato de Potássio dibásico 5,6500 Sulfato de Magnésio heptahidratado 1,0000 Sulfato de Cobre pentahidratado 0,0064 Sulfato de Ferro heptahidratado 0,0011 Cloreto de Manganês tetrahidratado 0,0079 Sulfato de Zinco heptahidratado 0,0015, medio de cultivo N°2 Peptona 5,0 Extrato de carne 3,0, medio de cultivo N°3 Peptona proteosa 0,50 Casamino ácidos 0,50 Extrato de levedura 0,50 Dextrose 0,50 Amido solúvel 0,50 Fosfato de potássio dibásico 0,30 Sulfato de magnésio heptahidratado 0,05 Piruvato de sódio 0,30, médio de cultivo N°4 Sacarose 30,00 Nitrato de amônia 3,00 Sulfato de magnésio heptahidratado 0,50 Fosfato de potássio dibásico 1,00 Cloreto de potássio 0,50 Sulfato de ferro heptahidratado 0,01 y por último medio de cultivo N°5 Sulfato de amônia 0,500 Fosfato de potássio monobásico 1,500 Fosfato de sódio dibásico 1,500 Citrato de sódio 0,400 Sulfato de magnésio 0,025 Cloreto de cálcio 0,500 Sulfato de zinco 1,000 Sulfato de cobre 1,000 Ácido L-glutâmico 0,500 Citrato de amônia férrico 0,040 Piridoxina 1,000 Biotina 0,500 Malachite green 0,250.
- **Montaje del ensayo:** Se realizaron ocho ensayos por duplicado con su respectivo blanco en cajas de petri, los cuales tuvieron un proceso de incubación de 20 días en donde a partir del día 12 se les empezó a realizar un seguimiento diario observando rasgos de degradación por parte de la actividad microbiana.
- **Evaluación de biodegradación:** Para determinar la cantidad de PEBD biodegradado se realizó pesaje al inicio y al final del ensayo con el fin de determinar la cantidad de PEBD asimilado por los microorganismos, este valor será expresado en porcentaje, además de esto se realizó una cuantificación de la población de bacterias en cada una de las muestras con su respectiva identificación.

11.2.2. Hongos:

11.2.2.1. Metodología Gabriela. G. 2013: Biodegradación de polietileno de baja densidad por consorcios microbianos.

Título: Biodegradación de polietileno de baja densidad por consorcios microbianos.

Protocolo

- **Objetivo:** Determinar si en los consorcios microbianos contenidos en los residuos de polietileno de baja densidad, recolectados en los sitios seleccionados, son capaces de biodegradar este tipo de polímeros.

Métodos

- **Evaluación de biodegradación:** Para calcular el el porcentaje de degradación se utilizó el programa StatGraphics Centurion versión 16-1-11. En la determinar de la degradación de las muestras, con diferente pH, con y sin agitación, se empleó la prueba de t de Student. Finalmente, para evaluar los experimentos con diferentes sustratos o materiales, se aplicó el método ANOVA.

Resultados: Al transcurrir los dos meses de ensayos, teniendo en cuenta los dos escenarios planteados en el estudio (Incubación de los microorganismos en MSM a pH 5 y 7), se obtuvieron resultados que

en el medio ácido hubo una mayor biodegradación del polietileno de baja densidad por parte de la generación de hongos de levadura con un porcentaje promedio de 11,2% mientras que en los ensayos realizados con un pH neutro arrojaron un porcentaje de degradación de 8,3%. Los mismos ensayos fueron realizados por segunda vez, pero esta vez en la ejecución durante los dos meses de estudios, se llevaron a cabo en agitadores mecánicos y la diferencia de porcentajes de degradación fue significativa ya que el montaje realizado con un pH ácido alcanzó el 19.2% de degradación del total de la muestra de material, mientras que el ensayo realizado con un pH neutro se obtuvo un 11.4%.

Conclusiones de los autores: Se determinó que los cultivos bajo la condición de agitación constante, logra ser más eficiente lo cual indica que los microorganismos presentes en la muestra son aerobios, por otro lado, los consorcios microbianos son una buena iniciativa para el tratamiento biológico del PEBD teniendo en cuenta que en este estudio se corrobora su capacidad de asimilar dicho material.

Metodología

Pretratamiento.

- **Recolección del PEBD:** Para la recolección del PEBD, se realizó una visita técnica al “Bordo poniente” lugar en donde se lleva a cabo la disposición final de los residuos sólidos en la Ciudad de México, allí se colectaron muestras de polietileno de baja densidad con evidencias visibles de degradación microbiana a una profundidad de 50 a 80 centímetros, posterior a esto las muestras fueron transportadas en un entorno aislado a unos 4°C.

Nota: En este estudio de no desarrollo proceso de esterilización ya que las muestras colectadas fueron las mismas que se desarrollaron para el ensayo, es decir fueron incubadas directamente en los medios de cultivo.

Ensayo.

- **Incubación de las muestras:** Al hacer los dos tipos de medios de cultivo implementados para el ensayo de biodegradación (MSM con pH 5 y 7), se llevó a cabo la incubación del material tal cual como se colectó.
- **Montaje del ensayo:** Es importante resaltar que el ensayo se realizó dos veces teniendo en cuenta que en el primero las muestras fueron llevadas a una incubados a 27°C durante dos meses, mientras que, en el segundo ensayo, las muestras fueron puestas en un agitador magnético por el mismo tiempo. Cada ensayo realizado se replicó 4 veces con un único blanco.
- **Evaluación de biodegradación:** Para determinar la cantidad de PEBD biodegradado se realizó pesaje al inicio y al final del ensayo con el fin de determinar la cantidad de PEBD asimilado por los microorganismos, este valor será expresado en porcentaje.
- **Caracterización de microorganismos:** Para identificar los microorganismos presentes en cada uno de los ensayos, se realizó una tinción de Gram, con esta prueba se identificó la morfología de los microorganismos, tamaño y diversidad, además se logró determinar la evidencia de un número mayor de bacterias Gram negativas que Gram positivas por otro lado se realizó una tinción con rosa bengala, lo cual facilitó evidenciar la presencia de microorganismos en el ensayo.

11.2.2.2. Metodología de Moreno. D. 2018: Metodología para la biotransformación de LDPE y LDPE oxo-biodegradable en sistema de cámara húmeda, implementando corteza de pino.

Título: Biotransformación de polietileno de baja densidad (LDPE) y LDPE oxo-biodegradable empleando *Pleurotus ostreatus* y residuos lignocelulósicos de pino (*Pinus caribaea*).

Protocolo:

- **Objetivos:** Biotransformar láminas de polietileno de baja densidad (LDPE) y LDPE oxo-biodegradables pre-tratadas con plasma de O₂ empleando al hongo *Pleurotus ostreatus*.

Resultados:

Conclusiones de los autores: La selección de un sustrato sólido o una mezcla de sustratos con los nutrientes apropiados es importante para garantizar la colonización, producción de biomasa y enzimas que permitan el tratamiento de LDPE y residuos lignocelulósicos por los hongos de podredumbre blanca

Metodología

Recolección del microorganismo: Para obtener el cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus*, fue necesario tomar el cultivo del banco de cepas del laboratorio de la Universidad Javeriana.

Laboratorio:

Recolección del LDPE y plásticos oxo-biodegradables: Los plásticos (d2w de color amarillo y translúcido) se obtuvieron de 3 lugares diferentes, para el trabajo se cortaron en láminas de 3 x 1 cm.

Pretratamiento

- **Primera esterilización:** Los plásticos se expusieron durante dos minutos a metanol el 99%, luego se secaron al ambiente por 15 minutos.
- **Tratamiento con plasma luminiscente de oxígeno (O₂):** A los plásticos se les realizaron descargas de plasma luminiscente de O₂ al 100% con un voltaje de 600V por 6 minutos.

Ensayo preliminar:

- **Cultivo de *Pleurotus ostreatus*:** Se realizó una reactivación en cajas de Petri de 90 mm con agar salvado empleando discos de agar salvado de trigo conservados las cajas se incubaron durante 8 días a 28°C.
- **Montaje del ensayo:** Se realizaron 3 tratamientos y tres controles por triplicado el primero la producción de biomasa en agar salvado de trigo un caldo de salvado y montaje en cámara húmeda y seca en un medio Radha semisólido.
- **Evaluación de la colonización y biodeterioro:** Se realizó una microscopia de barrido (SEM) para determinar la topografía de las muestras y ver cómo se modifica la rugosidad
- **Evaluación de biodegradación:** Los resultados se evaluaron por las siguientes pruebas: test de Shapiro-wilk (normalidad), test de Levenne (homogeneidad de varianzas) y se realizó una ANOVA (análisis de varianza) para determinar diferencias entre los tratamientos.

Prueba de colonización en corteza de pino: Pretratamiento.

- **Preparación del sustrato:** La corteza fue sometida a 65 °C durante 12 horas, se dispuso en bandejas de aluminio para ser esterilizada a 120°C, 15 libras de presión y una hora y contó con tres ciclos de esterilización con intervalos de 24 horas entre cada ciclo
- **Tratamiento con plasma luminiscente de oxígeno (O₂):** A los plásticos se les realizaron descargas de plasma luminiscente de O₂ al 100% con un voltaje de 600V por 6 minutos.

Ensayo preliminar:

- **Cultivo de *Pleurotus ostreatus*:** Se realizó una reactivación en cajas de Petri de 90 mm con agar salvado empleando discos de agar salvado de trigo conservados las cajas se incubaron durante 8 días a 28°C.
- **Montaje del ensayo:** Se realizaron 3 ensayos por triplicado con el sustrato de pino preparado anteriormente y se montó en una cámara húmeda .
- **Evaluación de la colonización y biodeterioro:** Se realizó una microscopia de barrido (SEM) para determinar la topografía de las muestras y ver cómo se modifica la rugosidad
- **Evaluación de biodegradación:** Los resultados se evaluaron por las siguientes pruebas: test de Shapiro-wilk (normalidad), test de Levenne (homogeneidad de varianzas) y se realizó una ANOVA (análisis de varianza) para determinar diferencias entre los tratamientos.

11.2.2.3. Metodología Rodriguez. J. et al 2013: Biodegradación de polietileno de baja densidad biodegradable implementando *Pleurotus ostreatus*.

Título: Degradation of Oxo-Biodegradable Plastic by *Pleurotus ostreatus*

Protocolo

- **Objetivo:** Evaluar la capacidad de *Pleurotus ostreatus* para degradar el plástico oxo-biodegradable (D2W).

Métodos

- **Evaluación de biodegradación:** Para determinar la cantidad de material degradado o asimilado por el microorganismo, se realizó un pesaje al inicio y al final de cada ensayo, además de esto, se analizó el tipo de encima generado por el microorganismo con el fin de comparar sus niveles a lo largo de los experimentos.

Resultados: Al cabo de los tres meses se realizó el promedio del peso de degradación convirtiendo este valor en dato porcentual, los resultados obtenidos por *Bacillus spp* fue del 4%, mientras que evaluando la misma característica, pero con *Clostridium spp* fue del 9.4%, hay que tener en cuenta que las muestras fueron colectadas del Humus generado por una lombriz con el fin de determinar si dicho producto posee microorganismos capaces de degradar el poliestireno y sus derivados.

Conclusiones de los autores: *P. ostreatus* es capaz de degradar el polietileno de baja densidad de tipo biodegradable sin tratamiento algún tipo de pretratamiento físico antes de realizar los ensayos, con una efectividad del 74% de degradación del material, en el estudio se reitera que este tipo de investigaciones contribuyen a mejorar el manejo que actualmente se le da a este tipo de materiales llenando cada vez más los lugares destinados para la disposición final de los residuos.

Metodología

Nota: Este estudio no realizó ningún tipo de pretratamiento físico antes de realizar el montaje de los ensayos, esto con el fin de evaluar la capacidad de *P. ostreatus*, para degradar el plástico de baja densidad biodegradable bajo condiciones “normales”.

Ensayo

- **Montaje del ensayo:** Se realizó un total de 4 ensayos bajo las mismas condiciones, cada uno de ella contenía lo siguiente: 10 ml de Agar nutritivo, 10 g de polietileno de baja densidad biodegradable, 5 ml de tiamina-HCl estéril y el micelio de *P. ostreatus*, esto le temo a uno incubadora durante 45 días a una temperatura de 25°C.
- **Evaluación de biodegradación:** Para determinar la cantidad de PEBD biodegradado se realizó pesaje al inicio y al final del ensayo con el fin de determinar la cantidad de PEBD asimilado por los microorganismos, este valor fue expresado en porcentaje.

11.2.2.4. Metodología de Espinoza L. 2018: Busca comparar diferentes clases de hongos para determinar cuál tiene mayor potencial de degradación.

Título: Evaluación de la degradación de polietileno de baja densidad mediada por diferentes especies de hongos

Protocolo

- **Objetivo:** Determinar y cuantificar el nivel de degradación en muestras de polietileno de baja densidad por parte de diferentes especies de hongos

Método: Se realizó un pesaje inicial y final a unas muestras de plástico sometidas a diferentes clases de hongos.

- **Evaluación de biodegradación:** Se analizó y caracterizó fisicoquímicamente las muestras de plástico por variación de peso, microscopía electrónica de barrido y espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier

Resultados: En cuanto a las colonias, el plástico mostró una tonalidad amarillenta dando positivo a la colonización en cuanto al tratamiento de envejecimiento se registró una pérdida leve de 0.088 +/- 0.576% del peso de las muestras tratadas, a su vez las únicas muestras que ciertamente registraron pérdida en peso fueron aquellas tratadas con *Fusarium*, obteniéndose en el período de cultivo más largo una pérdida de 0.99% +/- 0.11% y por último las otras muestras registraron un aumento de peso por las colonias adheridas al material.

Conclusiones de los autores: Aunque la degradación no es tan evidente, se encontró rugosidad superficial, agujeros, grietas e incluso formaciones de hifas integradas a la matriz polimérica del material lo que explica el aumento de peso que se encontró en el LDPE.

Metodología

Pretratamiento

- **Envejecimiento del plástico:** Se sumergió cada una de las muestras en 150 ml de agua destilada, en frascos de vidrio de 300 ml. Se sometieron a un autoclave a 121°C por 20 minutos, luego las muestras fueron introducidas en una cámara de secado a 30°C por 48h.
- **Muestras biológicas:** Los hongos fueron tomados del Laboratorio de Biotecnología Agrícola y de Alimentos de la USFQ.

Ensayo:

- **Obtención y preparación de las muestras** Los microorganismos a utilizarse se replicaron las cepas de *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Trichoderma* y *Fusarium*, cada cultivo se reprodujo cada uno de ellos por técnica de punción.
- **Muestra de plástico:** El plástico utilizado fue el plástico de baja densidad (LDPE) del cual se recortan 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.
- **Evaluación de biodegradación:** Se analizó y caracterizó fisicoquímicamente las muestras de plástico por variación de peso, microscopía electrónica de barrido y espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier

11.2.2.5. Metodología Erazo M. (2018): Biodegradación de polietileno de baja densidad biodegradable implementando *Aspergillus niger* y *Penicillium spp*.

Título: Evaluación del comportamiento de *Aspergillus niger* y *Penicillium spp* en la degradación de bioplástico elaborado a partir de almidón de cáscara de plátano

Protocolo

- **Objetivo:** Evaluar el comportamiento de *Aspergillus niger* y *Penicillium spp* en la degradación de bioplástico elaborado a partir de almidón de cáscara de plátano a nivel de laboratorio.

Métodos

- **Evaluación de biodegradación:** Para determinar el porcentaje de poliestireno perdido se realizaron 3 pesajes, al inicio, al cabo de 30 días y al final de la etapa de experimentación es decir a los 60 días. Posterior a esto se obtuvo el porcentaje de degradación del material realizando un promedio entre los diferentes resultados obtenidos.

Resultados: Al cabo de los 60 días *Penicillium spp* degradó un total del 6.2% del material suministrado al principio del ensayo de biodegradación, mientras que *Aspergillus niger* logró degradar un 12,8% de polietileno de baja densidad biodegradable. Es importante mencionar que los dos microorganismos implementados en este estudio fueron evaluados bajo condiciones distintas teniendo como referencias la forma más adecuada para el desarrollo óptimo del mismo.

Conclusiones de los autores: Se logró determinar que *Aspergillus niger* posee un mejor rendimiento para degradar PEBD biodegradable que *Penicillium spp*. Por otro lado, es recomendable realizar un proceso físico al material antes de ser suministrado a los microorganismos con el fin de garantizar una esterilización efectiva en la muestra.

Metodología

Pretratamiento.

- **Recolección del PEBD:** Para la recolección del PEBD, las muestras fueron colectadas de una empresa innovadora en desarrollar bolsas de polietileno de baja densidad biodegradables a base de la cáscara del banano.

Nota: No se realizó ningún proceso físico al material antes de ser suministrado a los microorganismos.

Ensayo.

- **Preparación de *Aspergillus niger* y *Penicillium spp*:** Para la preparación de los microorganismos se tuvieron en cuenta las condiciones óptimas de desarrollo de cada uno, a partir de esto se tomaron 20 cajas de Petri las cuales contenían 20 ml Agar Sabouraud además de inóculo de *Aspergillus niger* por otro se tomaron las 10 cajas de Petri restantes a las cuales se les añadió el inóculo de *Penicillium spp* las 20 cajas fueron colocadas en incubadora hasta que el hongo llega a fase estacionaria.
- **Montaje del ensayo:** Se realizó un total de 22 ensayos con el fin de obtener resultados coherentes para la investigación, cuando todos los cultivos llegaron a la fase estacionaria, se procedió agregar aproximadamente 1 g del material sin ningún tipo de pretratamiento, las cuales fueron pesadas al instante, luego de 30 días y al final de la fase de experimentación, es decir a los 60 días.
- **Evaluación de biodegradación:** Para determinar la cantidad de PEBD biodegradado se realizó un pesaje al inicio, al transcurrir 30 días y al final del ensayo con el fin de realizar un promedio y así determinar la cantidad de PEBD asimilado por los dos hongos analizados en este estudio, el valor fue expresado en porcentaje.

11.2.2.6. Metodología Bach. I. et al 2015: Aislamiento y biodegradación de PET y PEBD a partir de hongos filamentosos.

Título: Aislamiento y caracterización de hongos filamentosos biodegradadores de polietileno de tereftalato y polietileno de baja densidad ·ICA.

Protocolo

- **Objetivo:** Aislar y caracterizar hongos filamentosos degradadores de polietileno de tereftalato (PET) y polietileno de baja densidad (LDPE). Las muestras plásticas con evidencias de deterioro fueron obtenidas de un antiguo botadero de residuos sólidos en Santiago - lea.

Métodos

- **Evaluación de biodegradación:** Para determinar el porcentaje de poliestireno perdido se realizaron 2 pesajes, al inicio y al final de la etapa de experimentación es decir a los 2 meses.

Resultados: Se aislaron 8 cepas de hongos filamentosos de polietileno de tereftalato las cuales son las siguientes: *Aspergillus*, *Alternaria*, *Bipolaris*, *Beltrania*, *Cladosporium*, *Mucor* y *Stemphylium* y 11 cepas de polietileno de baja densidad de las cuales se identificaron *Aspergillus*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus* y *Papulaspora*, identificándose según sus características macroscópicas y microscópicas. La cepa de mayor actividad biodegradadora en PET y PEBD pertenece al género *Mucor* perdiendo 1.3% de peso en PET a 25°C - pH 5 y 20% LDPE a temperatura 25°C y pH 5-7.

Conclusiones de los autores: De acuerdo al porcentaje de peso perdido el género *Mucor sp* fue el más eficiente degradando 1,3% del polietileno de tereftalato a pH 5 y a 25°C, mientras que en polietileno de baja densidad degradó un 20% a pH 5-7 y a 25°C.

Metodología

Pretratamiento.

- **Recolección del PEBD:** Para la recolección del material de PEBD y PET, se realizó una visita técnica a un relleno sanitario en donde se recolectaron trozos del material con marcas evidente de actividad microbiana y deterioro a una profundidad de 1 metro, posterior a esto se rotuló y traslado al laboratorio para ser analizado.
- **Esterilización:** Cada una de las muestras obtenidas fueron lavadas con cepillo y agua destilada y esterilizada durante un periodo de 10 minutos aproximadamente.

Ensayo.

- **Preparación de las cepas:** Para la preparación de los microorganismos estos fueron aislados y cultivados en agar papa dextrosa (PDA), con el fin de garantizar una proliferación efectiva.

- **Montaje del ensayo:** Para realizar el montaje, se colocó 1 ml de agua destilada y 9 ml de agar Czapeck (ACZ) sin carbohidrato. Por otro lado, las muestras plásticas fueron cortadas en cuadrados de 2 x 2 cm previamente pesados y desinfectados. El material plástico fue introducido en el agar anteriormente mencionado y los hongos fueron incubados durante 2 meses a una temperatura de 25°C
- **Evaluación de biodegradación:** Para determinar la cantidad de PEBD biodegradado se realizó un pesaje al inicio, al final del ensayo con el fin de determinar la cantidad de PEBD asimilado por los hongos analizados en este estudio, el valor fue expresado en porcentaje.

11.3. Matrices

11.3.1. Matriz Bacterias y Hongos

11.3.1.1. Matriz Bacterias

BACTERIAS							
Nombre del documento	País en donde se desarrolló la investigación	Año	Microorganismo/s implementados	Cantidad de ensayos realizados	Promedio por ensayo	Error	Observaciones
A bacterium that degrades and assimilates poly (ethyleneterephthalate)	Estados Unidos	2016	Nueva bacteria <i>Ideonellasakaiensis</i> 201-F6	46	75	± 0,85	-
Aislamiento, identificación y evaluación de un cultivo mixto de microorganismos con capacidad para degradar ddt	México	2004	Consortio microbiano entre <i>Pseudomonas</i> , <i>Neisseria</i> , <i>Moraxella</i> , <i>Acinetobacter</i>	9	43	± 1	-
Biodegradación de poliestireno utilizando microorganismos presentes en el Humus de lombriz durante los meses, octubre - diciembre 2016.	Perú	2017	Consortio entre <i>Clostridium spp</i> y <i>Bacillus ssp</i>	4	9,4	± 2,4	Los ensayos realizados tuvieron con finalidad analizar si el Humus generado por las lombrices poseía la capacidad de biodegradar el poliestireno y sus derivados, se llevaron a cabo un total de 4 ensayos por microorganismo encontrado con el fin de analizar su capacidad degradativa de dicho material, se tuvo en cuenta variables como tipo de Agar y temperatura
Biodegradación de polietileno de baja densidad por consorcios microbianos.	México	2013	<i>Pseudomonas sp</i>	8	11,2	± 0,2	Se llevaron a cabo dos tipos de ensayos teniendo en cuenta varias variables, la primera fue el cambio del pH (5 y 7) en los medios de cultivo implementados y la segunda fue el cambio del entorno en el cual se desarrolló el ensayo, en decir el primer ensayo se realizó en una incubadora a 27°C mientras que el segundo fue ejecutado en un agitador

							mecánico, los dos ensayos tuvieron una durabilidad de 2 meses
Biodegradación de polietileno de baja densidad por acción de un consorcio microbiano aislado de un relleno sanitario, Lima, Perú	Perú	2010	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	4	5,4	± 2,64	Se realizaron ensayos variando el pH de las muestras, dos fueron realizadas a un pH de 7.0 y las otras dos fueron realizadas a un pH de 5.5, la que obtuvo mayor eficiencia fue la realizada a un pH de 7.0
Biodegradación de polietileno tereftalato (PET) por acción de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , en condiciones de laboratorio	Perú	2018	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27	19,93	± 1,6	-
Bio-degradation of polyethylene via complete solubilisation by the action of <i>Pseudomonas fluorescens</i> , bio-surfactant produced by <i>Bacillus licheniformis</i> and anionic surfactant	India	2017	Consortio microbiano entre <i>Bacillus licheniformis</i> , <i>bio-tensioactivo</i> , <i>bio-surfactante</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Tratamiento</i>	6	6,095	± 0,05	Cada ensayo se realizó por mes
Biodegradation of polythenes by bacteria isolated from soil	India	2016	<i>Staphylococcus sp</i>	6	52	± 0,06	Cada uno de los ensayos fueron realizados de forma independiente en donde se encontraba 1 ml de la preparación realizada con los microorganismos, 100 ml de medio mínimo y una cantidad previamente pesada de 3 x 3 cm de PEBD previamente pretratado
			<i>Pseudomonas sp</i>	6	11	± 0,08	

Biodegradación bacteriana de polietileno de baja densidad bajo condiciones controladas en biorreactores air lif	Perú	2011	Consortio microbiano entre <i>Pseudomonas sp</i> , <i>Edwardsiella sp</i> y <i>Alcaligenes sp</i>	12	0,8	± 1,05	-
Degradación biológica de polímeros mediante la selección y producción de potenciales cultivos iniciadores	España	2008	<i>Brevibacillus borstelensis</i>	9	15	± 2,19	Se realizaron los ensayos variando la temperatura a la cual se sometían los procesos de incubación, dichas temperaturas fueron de 37°C, 46°C y 55°C, como conclusión de la investigación arrojo que la biodegradación máxima de PEBD de obtuvo cuando la incubación tenía una temperatura de 55°C
Efectos de las Asociaciones Microbianas sobre la Degradabilidad del Polietileno de Baja Densidad	Paraguay	2016	<i>Pseudomona spp</i>	6	6,5	± 0,0001	-
Estudio preliminar de la biodegradación de plásticos por bacterias marinas.	España	2017	<i>Nocardia</i>	6	0,2	± 0,15	Los ensayos fueron realizados a partir de muestras obtenidas del mar con el fin de analizar la capacidad que tienen los microorganismos que se desarrollan en el mar para degradar PEBD en condiciones controladas de laboratorio
Novel bacterial consortia isolated from plastic garbage processing areas demonstrated enhanced degradation for low density polyethylene	Alemania	2016	Consortio microbiano entre <i>Enterobacter sp</i> , <i>Enterobacter sp</i> , y <i>Pantoea sp</i>	6	81	± 2,2	Se realizaron 3 ensayos distintos con tres consorcios microbianos diferentes, también se realizaron dos tiempos de ensayos teniendo en cuenta la forma en la cual se proporcionada el PEBD a los microorganismos, esta podía ser en tiras o granulado, esto con el fin de analizar cuál de ellos es el más eficiente, por otra parte, las bacterias fueron colectadas de un entorno en el cual ya estaban adaptadas a degradar PEBD

Prospecção de microorganismos com potencial para biodegradação de polietileno	Brasil	2013	<i>Comamonas sp</i>	3	12	± 1,82	Se realizaron ensayos en 5 medios de cultivos diferentes de forma aleatoria con el fin de analizar el potencial degradativo de cada una de las bacterias en diferentes condiciones
			<i>Stenotrophomonas sp</i>	3	15	± 1,36	
			<i>Delftia sp.</i>	3	10	± 3,4	

Fuente: Autores, 2019

11.3.1.2. Matriz Hongos

HONGOS							
Nombre del documento	País en donde se desarrolló la investigación	Año	Microorganismo/s implementados	Cantidad de ensayos realizados	Promedio por ensayo	Error	Observaciones
Biodegradación de polietileno de baja densidad por consorcios microbianos.	México	2013	Consortio microbiano entre <i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Cladosporium sp.</i> <i>Gliocladium virens</i> <i>Penicillium sp.</i> "	8	8,3	± 2,3	Se llevaron a cabo dos tipos de ensayos teniendo en cuenta varias variables, la primera fue el cambio del pH (5 y 7) en los medios de cultivo implementados y la segunda fue el cambio del entorno en el cual se desarrolló el ensayo, en decir el primer ensayo se realizó en una incubadora a 27°C mientras que el segundo fue ejecutado en un agitador mecánico, los dos ensayos tuvieron una durabilidad de 2 meses
Biotransformación de polietileno de baja densidad (LDPE) y LDPE oxo-biodegradable empleando <i>Pleurotus ostreatus</i> y residuos lignocelulósicos de pino (<i>Pinus caribaea</i>)	Colombia	2018	<i>Pleurotus ostreatus</i>	3 LDPE OxoC: amarillo Oxo: transparente	9,13	± 0,46	En este ensayo se utilizaron residuos de madera ya estos son gran fuente de nutrientes para el crecimiento del hongo Se utilizaron mediadores para favorecer la acción degradativa Este hongo puede degradar plástico tratado o sin tratar le tomo 28 días para colonizar el plástico

Degradation of Oxo-Biodegradable Plastic by <i>Pleurotus ostreatus</i>	Brasil	2013	<i>Pleurotus ostreatus</i>	4	74	± 2	Se realizaron 4 ensayos en simultaneo, cada uno de ellos con las mismas condiciones, el agar implementado fue nutritivo, es importante resaltar que la enzima identificada como la principal característica para poder degradar este materias es la enzima Laccasa con un 0.18556 de producción promedio a lo largo del experimento
Evaluación de la degradación de polietileno de baja densidad mediada por diferentes especies de hongos	Ecuador	2018	<i>Fusarium</i>	9	0,99	± 0,11	-
Evaluación del comportamiento de <i>aspergillus niger</i> y <i>penicillium spp</i> en la degradación de bioplástico elaborado a partir de almidón de cáscara de plátano	Ecuador	2018	<i>aspergillus niger</i>	11	12,8	± 3,8	Se llevaron a cabo un total de 22 ensayos, teniendo en cuenta las condiciones óptimas de desarrollo de cada uno de los microorganismos evaluados en este estudio, un punto a destacar es que es el único estudio que realiza el ensayo de biodegradación cuando el microorganismo se encuentra en la fase estacionaria y por otro lado no realizaron ningún tipo de tratamiento físico.
			<i>penicillium spp</i>	11	6,2	± 37	
Aislamiento y biodegradación de PET y PEBD a partir de hongos filamentosos.	Perú	2015	<i>Mucor sp</i>	4	20	± 1,2	A pesar de que muchas especies de hongos fueron analizadas en este estudio <i>Mucor sp</i> fue la única que logro degradar los dos tipos de plástico evaluados (PET y PEBD) por otra parte el tiempo implementado es mayor a comparación de otros estudios ya que el promedio esta entre 1 meses mientras que este lo supera por el doble.

Fuente: Autores, 2019

11.3.2. Análisis Bacterias Hongos

11.3.2.1. Análisis Bacterias

BACTERIAS		
Nombre de la metodología	Porcentaje de degradación	Error
Metodología de Yoshida S. et al, 2016	75	± 0,85
Metodología de Carrillo P. et al, 2004	43	± 1
Metodología de Campos C. et al, 2017	9,4	± 2,4
Metodología de Gabriela G, 2013	11,2	± 0,2
Metodología de Uribe D. et al, 2010	5,4	± 2,64
Metodología de Barbarán H. et al, 2018	19,93	± 1,6
Metodología de Mukherjee S. et al, 2017	6,095	± 0,05
Metodología de Singh G. et al, 2016	52	± 0,06
Metodología de Cáceres O., 2011	0,8	± 1,05
Metodología de Villa M. et al, 2008	15	± 2,19
Metodología de Martínez P., 2016	6,5	± 0,0001
Metodología de Martin A., 2017	0,2	± 0,15
Metodología de Skariyachan S. et al, 2016	81	± 2,2
Metodología de Barbosa J., 2013	15	± 1,36

Fuente: Autores, 2019

11.3.2.2. Análisis Hongos

HONGOS		
Nombre de la metodología	Porcentaje de degradación	Error
Metodología de Gabriela G., 2013	8,3	± 2,3
Metodología de Moreno D., 2018	9,13	± 0,46
Metodología de Rodríguez J. et al, 2013	74	± 2
Metodología de Espinoza L., 2018	0,99	± 0,11
Metodología de Erazo M., 2018	12,8	± 3,8
Metodología de Bach I. et al, 2015	20	± 1,2

Fuente: Autores, 2019

11.4. Plan de trabajo

Noveno semestre (Proyecto de grado 1)																						
ACTIVIDADES	MESES		FEBRERO				MARZO				ABRIL				MAYO				JUNIO			
	SEMANA		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Formulacion del proyecto	x	x	x																			
Revisión bibliográfica		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		
Formulación de la metodología				x	x	x	x															
Cumplir con el primer objetivo específico del proyecto									x	x	x	x	x									
Evaluación y autoevaluación del proyecto con ayuda del tutor								x					x					x				
Correcciones pertinentes del proyecto								x	x				x	x				x	x	x		
Cumplir con el segundo objetivo específico del proyecto																				x		
Seguimiento												x	x	x	x	x	x	x	x	x		

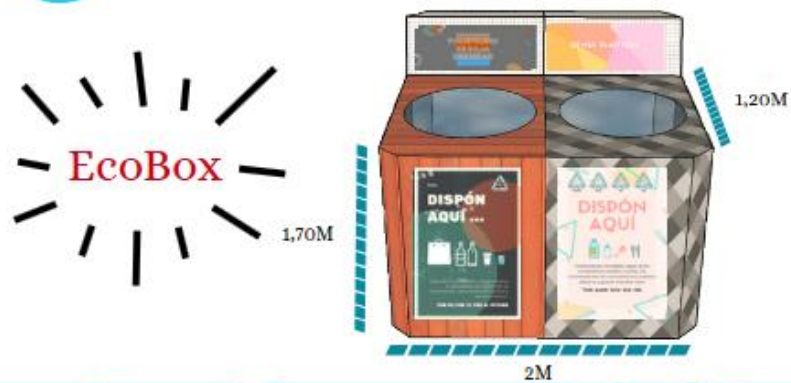
Fuente: Autores, 2019

Decimo semestre (Proyecto de grado 2)																				
ACTIVIDADES	MESES		JULIO				AGOSTO				SEPTIEMBRE				OCTUBRE				NOVIEMBRE	
	SEMANA		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2
Revisión sistemática	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x								
recopilación de resultados						x	x	x	x	x										
Comparación de resultados por metodología										x	x	x								
Análisis de resultados de la comparación											x	x	x	x						
Formulación de propuesta												x	x							
Revisión por parte del docente				x		x					x			x	x					
Correcciones pertinentes del proyecto															x					
Sustentación del proyecto de grado																	x		x	

Fuente: Autores, 2019

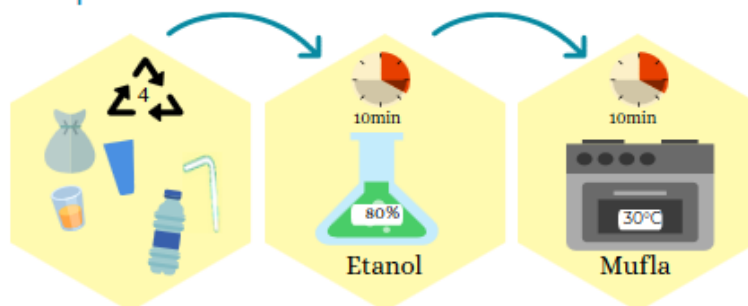
Propuesta para el tratamiento biológico del PEBD

1 Recolección

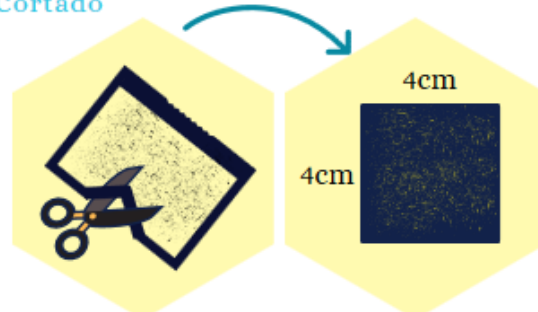


2 Pretratamiento

1| Esterilización

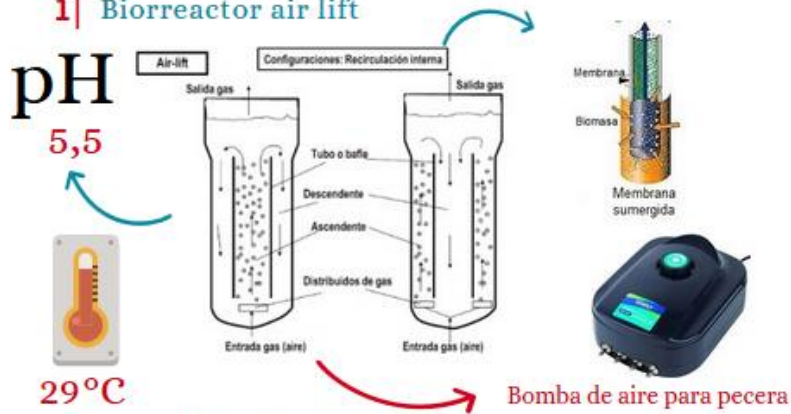


2| Cortado



3 Tratamiento biológico

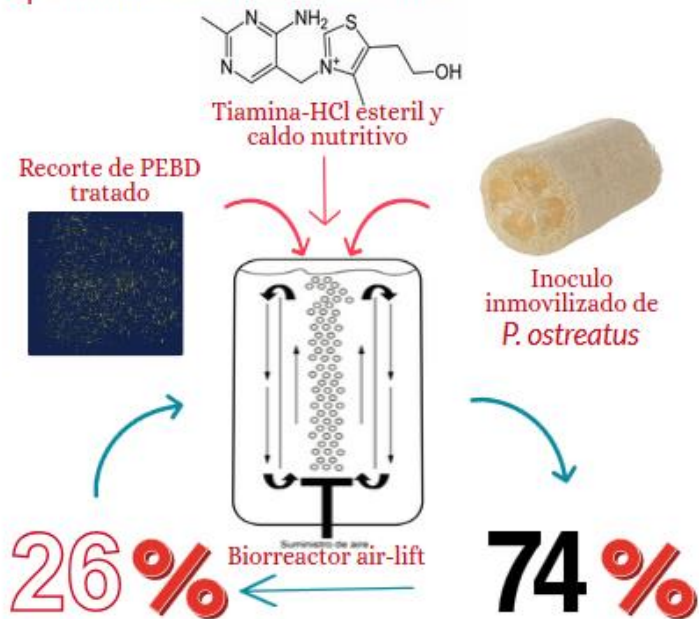
1| Biorreactor air lift



2| Inmovilización de *P. ostreatus*



3| Montaje de biodegradación



4

Uso de Pleurotus ostreatus pos-tratamiento biológico

Colorantes de la industria textil.



5

Simbiosis industrial





Decoración



Infraestructuras



Recuperación de plástico



Fuente: Autores, 2019