

**REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA SOBRE LA DEGRADACIÓN DE POLIETILENO DE
BAJA DENSIDAD (PEBD) Y TEREFTALATO DE POLIETILENO (PET) MEDIADA
POR MICROORGANISMOS.**

LAURA JULIANA GALLO ARIAS

UNIVERSIDAD DE CUNDINAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

INGENIERÍA AMBIENTAL

GIRARDOT

2019

**REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA SOBRE LA DEGRADACIÓN DE POLIETILENO DE
BAJA DENSIDAD (PEBD) Y TEREFTALATO DE POLIETILENO (PET) MEDIADA
POR MICROORGANISMOS.**

LAURA JULIANA GALLO ARIAS

TRABAJO DE GRADO MODALIDAD MONOGRAFÍA

**PRESENTADO COMO REQUISITO PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERÍA
AMBIENTAL**

DIRECTOR

SANDRA BIBIANA VARGAS

MSc. ENVIRONMENTAL SCIENCES MINOR BIOBASED MICROBIOLOGY

UNIVERSIDAD DE CUNDINAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

INGENIERÍA AMBIENTAL

GIRARDOT

2019

Abreviaturas

PHA: polihidroxicanoatos

PHB: Ácido polihidroxibutirato.

PET: Polietileno de Tereftalato o Tereftalato de polietileno

PEBD: Polietileno de Baja Densidad

PEAD: Polietileno de Alta Densidad

PP: Polipropileno

PVC: Policloruro de Vinilo

PS: Poliestireno

UV: Ultra Violeta

FTIR: Espectroscopia de transmisión de infrarrojo con transformada de Fourier

CO₂: Dióxido de Carbono

H₂O: Agua

CH₄: Metano

DSC: Calorimetría Diferencial de Barrido

DRX: Difracción de Rayos X

SDA: Placas de agar dextrosa

SDS: Solución de dodecil sulfato de sodio en destilado

ATR: Reflexión Total Atenuada

SEM: Microscopía Electrónica de Barrido

ESI-MS: Análisis de Espectrometría de Masas por Ionización por Electropulverización.

RNM: Resonancia Magnética Nuclear.

S: Suelo

SM: Suelo + Microorganismos seleccionados

SMP: Suelo + Microorganismos Seleccionados + PE sin radiación UV

SMUP: Suelo + Microorganismos Seleccionados+ PE con radiación UV

SP: Suelo + PE sin radiación UV; SUP: Suelo + PE irradiado con UV.

Agradecimientos

A mis padres Alfonso Iván Gallo Hurtado y Nelly Arias Cortes quienes me apoyaron en todo momento.

A mi hermana Angélica Gallo Arias por el apoyo y paciencia.

A Sandra Bibiana Vargas por creer en mi trabajo.

Y aquellas personas que colaboraron en mi formación.

Tabla de Contenido

Introducción	1
1. Justificación	6
2. Objetivos.....	8
2.1 Objetivo General	8
2.2 Objetivos Específicos	8
2. Metodología.....	9
4. Estado del Arte	16
4.1 Características químicas del PET y PEBD.....	16
4.2 La biodegradación como alternativa para la mitigación de residuos de Plástico	20
4.3 ¿Cómo funciona la degradación de PET y PEBD mediante agentes microbianos?	35
4.4 Pretratamientos para el PET y PEBD.....	42
4.4.1 Proceso de radiación solar.....	43
4.4.2 Procedimiento de fotodegradación.....	43
4.4.3 Tratamiento térmico	43
4.4.4 Proceso de degradación fototérmico	43
4.4.5 Degradación Hidrolítica	43
4.5 Técnicas desarrolladas para estudiar la biodegradación de Plásticos	44

4.5.1	Técnicas espectrofotométricas y Espectroscopia para cuantificar degradación de PET y PEBD.....	45
4.5.2	Técnicas térmicas para analizar la biodegradación del PET y PEBD.....	52
4.5.3	Otras metodologías para estudiar la biodegradación de las propiedades físicas y/o químicas de PET y PEBD	55
4.5.4	Pruebas cuantitativas en la biodegradación de PET y PEBD	58
4.5.5	Técnicas cromatografías para analizar la biodegradación de PET Y PEBD.	60
4.5.6	Técnicas Microscópicas en la degradación de PET y PEBD mediante microorganismos.....	64
4.5.7	Tiempo utilizado en la biodegradación de PET y PEBD en los artículos relacionados con el numeral 4.5.....	67
5.	Ventajas y Desventajas que presenta la biodegradación de PET Y PEBD.	71
5.1	Ventajas de la biodegradación de PET y PEBD	71
5.2	Desventajas de la biodegradación de PET y PEBD	72
6.	Microorganismos estimulados con ondas sonoras ¿una posible alternativa para la biodegradación de PET y PEBD?	73
6.1	Propuesta Metodológica para la estimulación de bacterias degradadoras de plástico mediante ondas sonoras.....	77
	Conclusiones	82
	Recomendaciones.....	84
	Bibliografía	85

Lista de ilustraciones

Ilustración 1 Estructura química del PEBD	17
Ilustración 2 Estructura química de Tereftalato de polietileno (PET)	17
Ilustración 3 Mecanismos de biodegradación	36
<i>Ilustración 4 Degradación de plástico por ataque microbiano</i>	38
Ilustración 5 Descomposición del anillo aromático mediante microorganismos.	40
Ilustración 6 Resonancia magnética nuclear.	46
Ilustración 7 Patrones XRD de las películas de plástico.....	47
Ilustración 8 Porcentaje de cristalinidad antes del compostaje y después,	48
Ilustración 9 Espectro MALDI-TOF MS.....	49
Ilustración 10 Los espectros FTIR	51
Ilustración 11 Escaneos DSC	53
Ilustración 12 Curvas TGA	54
Ilustración 13 Láminas de polietileno tereftalato por degradación de agentes microbianos	55
Ilustración 14 evolución acumulativa de CO ₂	56
Ilustración 15 Variación de pH	58
Ilustración 16 Crecimiento de material biológico.....	59
Ilustración 17 solución de cultivo de PET en catálisis celular completa	62
Ilustración 18 Resultados GPC de películas PEBD	63
Ilustración 19 SEM de control positivo de crecimiento microbiano.....	65
Ilustración 20 Vista microscópica de fuerza atómica 3D.....	66
Ilustración 21 Metodología para la aplicación de ondas sonoras en microorganismos	78

Ilustración 22 Esquema de ondas sonoras para experimentación.	79
Ilustración 23 Numero de colonias en diferentes tratamientos de sonido)	80

Lista de Tablas

Tabla 1.. Resumen de Estudios en la biodegradación de PET y PEBD, microorganismos y metodologías utilizados.....	25
Tabla 2 Pérdida de peso de láminas de PEBD, tras 45 días de incubación con poblaciones microbianas terrestres.....	60
Tabla 3 Tiempo en que se realizaron los estudios de la biodegradación acorde al numeral 4.5.....	67
Tabla 4 Caracterización de estudios realizados en microorganismos estimulados con ondas sonoras.	75

Lista de Graficas

Gráfica 1 Biodegradación de plásticos, Documentos por año, fuente: Scopus.....	11
Gráfica 2 Rango de países a escala mundial en la publicación de Artículos científicos de la degradación de plásticos mediante organismos, fuente: scopus.	12
Grafica 3 Artículos científicos de biodegradación de polímeros, en Latinoamérica. Fuente: scopus.	13
Gráfica 4 Idioma utilizado para la publicación de Artículos Científicos. Fuente: scopus	13
Grafica 5 Documentos realizados sobre la degradación de PET mediante agentes microbianos por año.	14
Grafica 8 Documentos publicados acerca de la biodegradación de PEBD a partir de 1973 hasta 2019	15

Introducción

El plástico es un material que se ha convertido en una herramienta indispensable para el ser humano debido a que presenta diversos usos como lo son: aislantes, empaques, ropa, tecnología, juguetes, entre otros. “Para el año 2015 la producción del material alcanzó 380 millones de toneladas, siendo China el mayor productor de plástico con un 28% y el 68% en la producción global de fibra poliftalamida.”(Geyer, Jambeck, & Law, 2017). Se espera que, “para el año 2020 la producción de plástico sea de 500 millones de toneladas”(Greenpeace, 2018), la falta de manejo de residuos (plástico) genera contaminación lo cual afecta zonas acuáticas, terrestres, flora y fauna. “Para el año 2006 México fabricó 219.724 toneladas de bolsas y sacos de polietileno; en este mismo año se generaron 36.135.000 toneladas de residuos sólidos urbanos.” (Fernanda et al., 2013).

Por su parte, Colombia presenta un aumento en sus desechos en donde “el 14% de los residuos que se arrojan son plástico”(Martín Clavijo, 2012), lo cual significa que, el país consume un aproximado de “24 kg per cápita lo que implica un volumen anual de consumo de plásticos de 1.250.000 toneladas.” (Greenpeace, 2018) predominando bolsas y botellas de polietileno. Los residuos de dicho material son generados por la producción masiva de plástico que tiene como objetivo suplir las necesidades del ser humano, al cumplir con ese fin el polietileno es desechado; una fracción de los residuos de plástico termina en rellenos sanitarios sin embargo y como se mencionó anteriormente otra gran parte de los plásticos terminan en los ecosistemas y, en consecuencia, generan pérdida de flora y fauna, y afectaciones en el ser humano como lo son: alteraciones cardiovasculares, gastrointestinales,

renales, sistema reproductor y neurológico, entre otros.(Azoulay et al., 2019).Para el año 2010 en los ecosistemas marinos se “vertió al mar alrededor de ocho millones de toneladas de plástico, la fuente de dichos residuos fueron 192 países costeros” (Jambeck et al., 2015)

En mención a lo anterior, “Los polímeros representan aproximadamente el 10% de la masa de desechos municipales y se estima a nivel mundial una acumulación en el ambiente a una tasa de 25 millones de toneladas por año”(Orhan & Büyükgüngör, 2000). Sin embargo, “para el año 2014 esta cifra aumentó generando una acumulación de 311 millones de toneladas” (Molina, 2017). Dicho crecimiento “ha permeabilizado gran parte de los escenarios ambientales (como playas, océanos y zonas terrestres)” (Jambeck et al., 2015). De acuerdo con las características del plástico se encontrarán productos con una mayor durabilidad, elasticidad, inflamables y demás.

Existen tres categorías para la producción de este material: “*Naturales: Productos de la naturaleza que pueden ser moldeados bajo calor, semisintéticos: Derivan de productos naturales, que han sido modificados mediante la mezcla de otros materiales y por ultimo sintéticos: Derivados de alterar la estructura molecular de materiales a base de carbono (petróleo crudo, carbono o gas).*”(Góngora, 2014). Dicho lo anterior se establece que, los plásticos con mayor producción y que han sido utilizados por el hombre se encuentran en la categoría de plásticos sintéticos los cuales presentan un estimación “entre un 5% y un 7% de la obtención mundial de petróleo para su elaboración”(ACRR, 2004). Una de las características más relevantes de los plásticos sintéticos o convencionales es que “*son persistentes en el medio ambiente, por lo que un tratamiento inadecuado de la disposición de los residuos de materiales plásticos es una fuente significativa de contaminación ambiental e incluso de perturbación importante de la naturaleza.*”(Demicheli, 2019).

El plástico presenta una clasificación entre Termoestables (corresponden a plásticos que son blandos al calentarse tan solo una vez), Elastómeros (plásticos que presentan como principal característica flexibilidad o elasticidad), y termoplásticos (aquellos que al ser calentados presentan una deformación). En este último se encuentra el policloruro de vinilo, polipropileno (PP), policarbonato (PC), polietileno (PE) y polietileno tereftalato (PET). Algunas investigaciones han logrado clasificar las resinas termoplásticas más utilizadas (Ingeniería, 2008) las cuales a su vez se encuentran clasificadas por la Codificación internacional de la siguiente manera: Polietileno Tereftalato (PET), Polietileno de Alta Densidad (PE-HD), Cloruro de polivinilo (PVC), Polietileno de Baja Densidad (PEBD), Polipropileno (PP), poliestireno (PS) y Otras resinas.

El PEBD y el PET son los plásticos más utilizados y producidos mundialmente “para el año 2016 en Europa el polietileno de baja densidad ocupó una demanda del 17,5%, mientras que el tereftalato de polietileno ocupó una demanda del 7,4%” (PlasticsEurope, 2017). A nivel mundial el PET es producido en “aproximadamente 26 millones de toneladas al año, de estas, 20 millones son procesadas por la industria textil (fibras), 4 millones son utilizadas en cinta de audio y video y 2 millones en empaques (botellas y jarras)” (Aurelio Ramírez, Navarro, & Acevedo, 2010). Sin embargo, la producción masiva de estos plásticos ha ocasionado en gran medida la acumulación del material en el planeta, debido al mal manejo y aprovechamiento que presentan dichos residuos.

En consecuencia, a la acumulación de PEBD y PET, se han buscado alternativas para su manejo y disposición final estos son:

- La utilización de rellenos sanitarios: Corresponden a la acumulación del material en un determinado lugar en el que se presenta la agrupación de diversos residuos sólidos.

- **Quema o incineración:** La cual corresponde a la combustión de las resinas o polímeros, sin embargo, dicha actividad presenta desventajas por la emisión de contaminantes a la atmosfera.

- **Reutilización:** Empleada para recircular el material y generar un nuevo uso o aprovechamiento.

- **Despolimerización:** Técnica utilizada para disminuir el peso molecular del plástico mediante alta temperatura o agentes hidrolíticos con el fin de generar una mayor degradación del material en un corto tiempo.

- **La biodegradación:** Es la degradación de plástico mediante agentes biológicos.

Ahora bien, se podría decir que, la biodegradación es una técnica que utiliza el potencial enzimático de los microorganismos para la degradación de compuestos orgánicos, “en el caso de los plásticos se han encontrado un total 17 géneros de bacterias y 9 géneros de hongos capaces de realizar esta actividad.” (Restrepo-Flórez, Bassi, & Thompson, 2014). La degradación depende de factores químicos, físicos y biológicos. Estas variables se encuentran íntimamente relacionadas con el tiempo, debido a que es una medida que permite conocer la durabilidad y cuánto puede tomar la degradación del material, algunos estudios han evidenciado el incremento poblacional de bacterias mediante la influencia de ondas sonoras, radiación UV, temperatura, entre otras que serán posteriormente nombradas.

En cuanto a la producción de plásticos en Colombia, el país presenta un “crecimiento promedio anual del 7% (...) En el año 2000, la actividad transformadora de materias plásticas registró un valor de producción de 2.215 millones de pesos (1.061 millones de dólares) y un valor agregado de 1.073 millones de pesos (514 millones de dólares), con una contribución al total industrial nacional del 4% en las dos variables” (Ministerio de Ambiente Vivienda y

Desarrollo Territorial, 2004). Actualmente el territorio “produce un 56% de residuos de plástico de uso único correspondientes al consumo total de plástico, además, existen 124 municipios altamente rurales con sitios de disposición final inadecuados” (Greenpeace, 2018) que, como consecuencia logran alterar los ecosistemas existentes en el país.

En Colombia sólo se utiliza el reciclaje primario y el secundario. *“El reciclaje terciario y el cuaternario no se han desarrollado por sus altos costos económicos. En una proporción no muy significativa se están dando experiencias del reciclaje químico y se está evaluando la incineración con recuperación de energía para el caso de los plásticos contaminados con agroquímicos, sin embargo, hay que tener cautela con esto, porque, aunque el reciclaje cuaternario no necesita la separación, puede llegar a generar impactos ambientales peores si se liberan a la atmósfera los químicos que los plásticos contienen, además de generar gases efecto invernadero.”* (Maldonado, 2012).

Por ende, el presente documento realiza una revisión sobre los avances o alternativas existentes en la biodegradación de Polietileno Tereftalato (PET) y Polietileno de Baja Densidad (PEBD).

1. Justificación

El Polietileno tereftalato (PET) y el Polietileno de baja densidad (PEBD) son los materiales más utilizados en el desarrollo de empaques en la industria de alimentos, su tiempo de vida es prolongado puesto que son materiales que presentan una composición química lineal, generando problemas en el ambiente debido al inadecuado uso y disposición final de dichos materiales. A causa de ello, se ha buscado alternativas para la disposición de estos desechos entre los que se encuentra: la quema y el uso de rellenos sanitarios. Dichos manejos logran ocasionar alteraciones en el medio ambiente, por ejemplo, la falta de clasificación de los residuos puede generar “durante el proceso de incineración la producción de ácido cianhídrico y ácido clorhídrico” (González García, Meza Contreras, González Reynoso, & Córdova López, 2013). Por otro lado, la utilización de rellenos sanitarios presenta algunas sustancias tóxicas debido a que, los residuos que se acumulan en dichas zonas generan sustancias líquidas más conocidas como lixiviados, los cuales generan afectaciones a fuentes hídricas, cambios en el suelo, entre otros. “Gran parte de los lixiviados logran afectar los componentes físicos y químicos del suelo (acidez, textura del suelo, porosidad, salinidad, entre otros)” (Bernache-Pérez, 2012).

Dichas actividades terminan perjudicando las especies de flora y fauna y, la salud del ser humano puesto que, puede influenciar en: el sistema nervioso, neurológico, digestivo, entre otros, por ejemplo, “la incineración de los residuos libera algunos gases especialmente dioxinas y furanos, estos compuestos pueden ocasionar cáncer de pulmón, desórdenes respiratorios y ataques cardíacos” (Mohamed, 2015) Por otro lado, se han realizado investigaciones respecto a la gestión de residuos de plástico mediante la reutilización, la

degradación química y la biodegradación, estas alternativas buscan la reducción de durabilidad de los polímeros. En la degradación química se utilizan sustancias o procesos que permitan la descomposición de los polímeros mientras que, en la biodegradación se utilizan agentes biológicos para generar alternativas en el control de residuos de plástico.

La biodegradación es una actividad que tiende a ser eficiente por el uso de microorganismos que contienen enzimas capaces de catalizar las diferentes reacciones involucradas en el proceso de descomposición del plástico. La primera reacción es la hidrólisis del polímero que consta de dos pasos “primero, la enzima se une al polímero, y subsecuentemente se cataliza la escisión hidrolítica. El resultado son moléculas de bajo peso molecular: oligómeros, dímeros y monómeros. Después, estas moléculas de bajo peso molecular son metabolizadas y finalmente mineralizadas a CO_2 y H_2O .” (Tokiwa, Calabia, Ugwu, & Aiba, 2009). Sin embargo, la cantidad que el microorganismo logre consumir se encuentra relacionada con el tiempo y el crecimiento poblacional de las cepas, puesto que, a mayor población de microorganismos menor será el tiempo en que tarde en degradar o consumir el material.

El presente proyecto, pretende informar sobre la utilización de la biodegradación de PEBD y PET mediante microorganismos, los pretratamientos y, las ventajas y desventajas que presenta esta actividad, con el fin de recopilar, generar y aprovechar las alternativas para la evaluación de la degradación de residuos de plástico mediante agentes microbianos en el país.

2. Objetivos

2.1 Objetivo General

Estudiar las metodologías para la degradación del PET y PEBD mediante el uso de microorganismos.

2.2 Objetivos Específicos

Comparar las diferentes metodologías para la biodegradación de PET y PEBD en condiciones controladas.

Identificar las ventajas y desventajas de la biodegradación de materiales poliméricos, como una alternativa de solución a la acumulación de plásticos en el medio ambiente.

2. Metodología

Para la revisión de literatura y fuentes de búsqueda se optó por continuar con las metodologías: “*identificación de literatura, fuentes de datos y búsquedas; selección de literatura; extracción de información y criterios de búsqueda*” de los autores (Andrade, O’Dwyer, O’Neill, & Hynds, 2018; Hynds, Thomas, & Pintar, 2014)

Fase I: Planteamiento de problema

En esta primera fase se establecieron las preguntas de investigación las cuales orientan la revisión bibliográfica las cuales son:

¿Cuáles son los microorganismos capaces de degradar el polietileno tereftalato (PET) y Polietileno de Baja Densidad (PEBD), los pretratamientos y técnicas de estudio para cuantificar la degradación?

¿Qué tipo de estímulos físicos pueden acelerar la actividad enzimática de los microorganismos para la degradación de PET y PEBD, y cómo actúan dichos estímulos?

Fase II: Identificación de plataformas de búsqueda con base a la fase I (planteamiento de problema) y selección de palabras claves.

Las búsquedas fueron realizadas en las plataformas ScienceDirect, Scopus, Researchgate y Springer Link y Scholar, las investigaciones o búsquedas desarrolladas fueron tomadas a partir del año 2010 hasta la fecha, la búsqueda fue realizada en dos idiomas: español e inglés. Por lo que se utilizaron a las palabras claves presentadas en la **tabla 1**. Las

plataformas utilizadas son otorgadas por la universidad el cual cuenta con las licencias legales para su utilización.

Tabla 1.

Clasificación y palabras claves utilizadas en las plataformas.

Clasificación de temas	Palabras claves
Plástico	Polietileno tereftalato y polietileno de baja densidad.
Biodegradación	Microorganismos, plásticos, hongos, bacterias y enzimas.
Cuantificación	Gravimetría, peso, cromatografía, espectrofotometría.

Fase III: Selección de literatura y evaluación de criterios definidos

Con base a la primera fase (identificación de literatura y fuentes búsqueda) los artículos encontrados son examinados y filtrados con el fin de reconocer qué investigaciones son las más relevantes. En el filtro se evaluaron los siguientes parámetros: Título, año, resumen y la metodología utilizada. Para incluir los textos se tendrán en cuenta otros criterios como:

- a) El idioma (español o inglés)
- b) Artículos publicados después de 2010
- c) Artículos relacionados con microorganismos capaces de degradar plásticos
- d) Artículos relacionados con microorganismos capaces de degradar PET y PEBD.

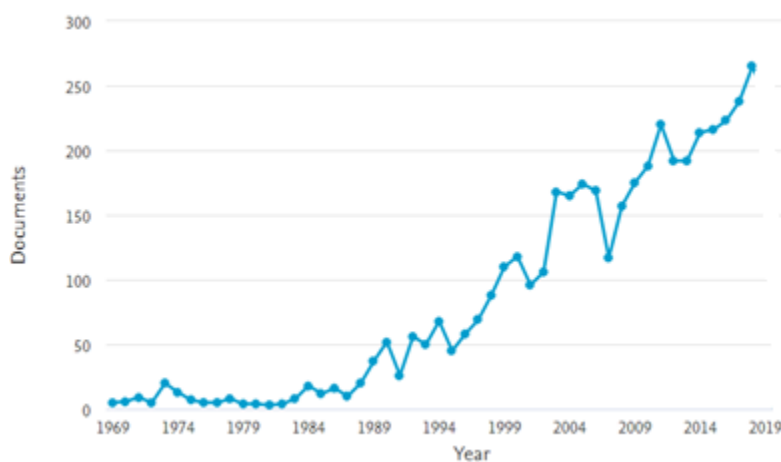
Fase IV: Evaluación de los documentos para selección final de artículos relevantes para la revisión.

Para la selección final de los documentos utilizados en esta revisión, se realizó una tabla la cual fue evaluada mediante los criterios de selección establecidos en la Fase III. Esta metodología fue realizada acorde a la metodología (Mårtensson, Fors, Wallin, Zander, & Nilsson, 2016).

De acuerdo a la búsqueda bibliográfica, se realizó un análisis comparativo de los países, año y el idioma en donde más se realizan investigaciones de esta índole.

Desde el año 1969 hasta 1987 la cantidad de artículos generados sobre la biodegradación de plástico mediante microorganismos es relativamente bajo y constante, puesto que la producción anual en dicho periodo se encuentra en un promedio de 68 artículos. Sin embargo, a partir de 1988 se logra observar un aumento casi exponencial de artículos relacionados con dicho tema, por lo cual, se puede evidenciar un incremento en el interés de la comunidad científica por el tema.

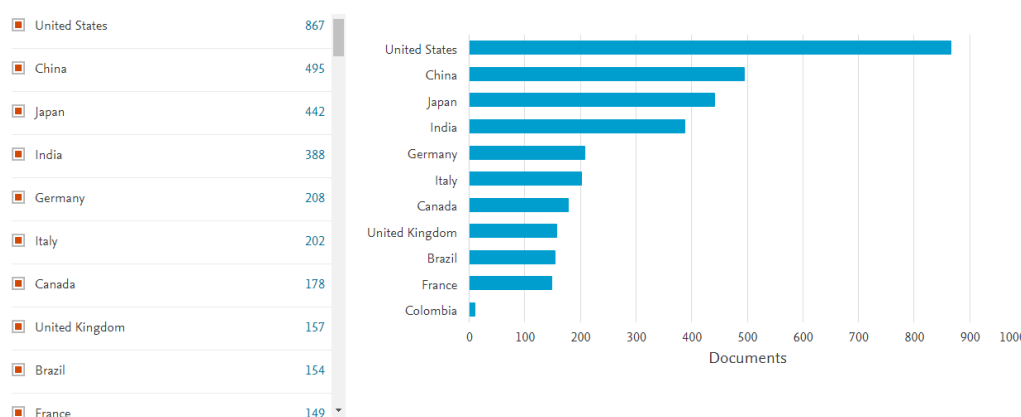
En base a lo anterior, la gráfica 1 presenta la cantidad de artículos científicos elaborados por año acerca de la biodegradación de plásticos.



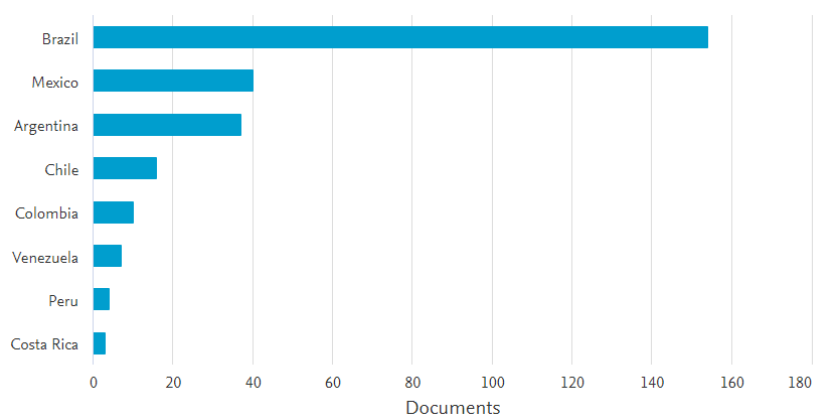
Gráfica 1 Biodegradación de plásticos, Documentos por año, fuente: Scopus

Prosiguiendo con el análisis, los países que más han investigado sobre la degradación de polímeros mediante agentes microbianos son: Estados Unidos con una producción de artículos de 867 documentos, China con 465, Japón con 442 investigaciones, India con 368 documentos publicados. Por lo anterior podemos concluir que, el continente asiático y Estados Unidos encuentran muy importante la realización de investigaciones que permitan la reducción de plástico mediante el uso de microorganismos. En cuanto a la región sur americana los principales países que desarrollan investigaciones acerca de dicho tema son: Brasil con 154 publicaciones, México con 40 artículos científicos y Argentina con 37 documentos, por otro lado, Colombia tan solo ha publicado 10 documentos registrados en la base de datos de Scopus. Es necesario recalcar que, la cantidad de artículos publicados por los países se encuentra entre los años 1971 hasta 2019.

Las siguientes graficas (2 y 3) presentan el rango de países a escala mundial que generan artículos científicos en la degradación de polímeros mediante agentes microbianos y la producción de documentos de dicho tema en Latinoamérica.

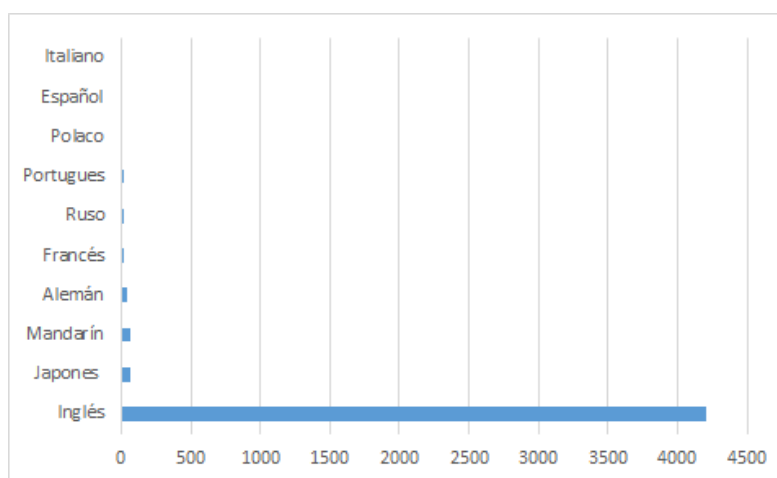


Gráfica 2 Rango de países a escala mundial en la publicación de Artículos científicos de la degradación de plásticos mediante organismos, fuente: scopus.



Gráfica 3 Artículos científicos de biodegradación de polímeros, en Latinoamérica. Fuente: scopus.

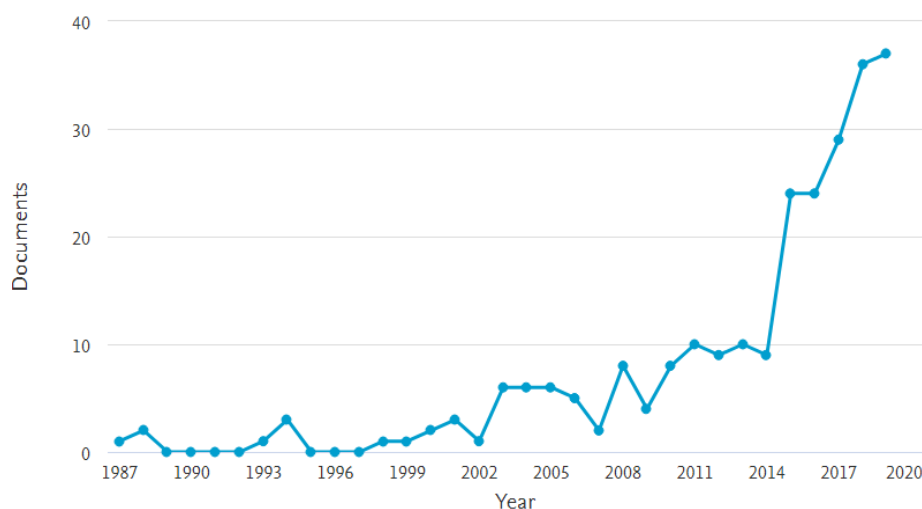
Consideremos ahora el idioma en el cual se realizan las publicaciones o estudios, la presente grafica demuestra que, como primer idioma se encuentra el inglés con un total de 4210 estudios publicados por la base de Scopus prosigue el japonés con un total de 70 artículos, el mandarín con 63 documentos y el alemán con 42 estudios publicados. Dado que la mayoría de la literatura o artículos científicos de elevado índice de impacto se encuentra en inglés, se decidió como criterio de selección incluir artículos en inglés como artículos en español.



Gráfica 4 Idioma utilizado para la publicación de Artículos Científicos. Fuente: scopus

Ahora bien, luego de analizar los estudios de la biodegradación de plásticos entraremos a examinar las investigaciones realizadas de la biodegradación de PET y PEBD las gráficas que serán presentadas a continuación fueron tomadas de la base de datos de Scopus.

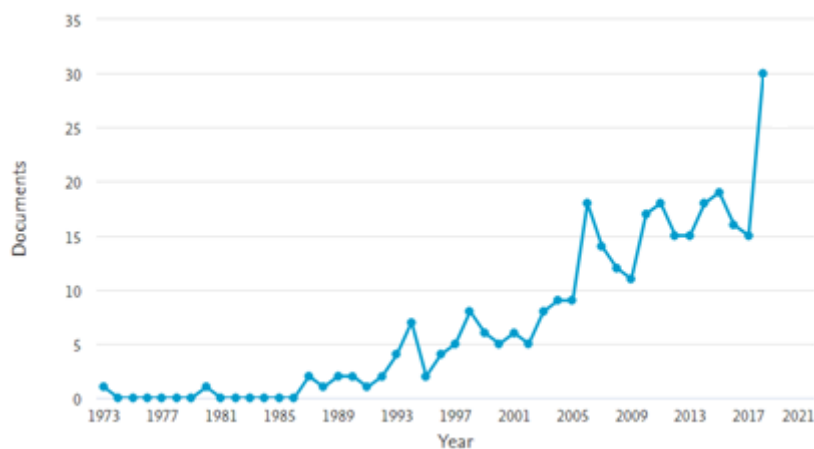
Para la degradación de PET mediante agentes microbianos los estudios publicados se encuentran a partir del año 1987 en donde se observa un incremento de dicho estudio a lo largo de los años, para el año 2019 se han publicado alrededor de 37 documentos, hay que mencionar que existen 248 artículos referentes al tema. La información se encuentra representada bajo la siguiente gráfica.



Grafica 5 Documentos realizados sobre la degradación de PET mediante agentes microbianos por año.

Por último, se presenta la siguiente grafica acerca de, la cantidad de artículos realizados en la biodegradación de PEBD, dicha grafica demuestra que existen 334 publicaciones a partir del año 1973 en donde se observa un incremento de dicho estudio a lo

largo de los años, para el año 2018 se publicaron alrededor de 30 documentos, dicha información está representada en la siguiente gráfica.



Grafica 6 Documentos publicados acerca de la biodegradación de PEBD a partir de 1973 hasta 2019

Resumiendo lo anterior, podemos decir que, el continente asiático y Estados Unidos son los más sobresalientes en el desarrollo de investigaciones en la biodegradación de plástico, como idioma predominante para la divulgación de estos artículos se encuentra el inglés y; puede que, el aumento de publicaciones de artículos esté relacionado con los avances tecnológicos y el interés mundial por reducir los residuos plásticos en el medio ambiente.

En Latinoamérica, las investigaciones realizadas sobre la degradación de plástico por microorganismos, son desarrolladas en su gran mayoría por países como: Brasil, México, Argentina y Colombia. Sin embargo, comparando los datos mundiales con los del continente latinoamericano se logra resaltar que, los números en los países de Latinoamérica están muy por debajo en comparación con otros continentes.

4. Estado del Arte

4.1 Características químicas del PET y PEBD

El plástico se encuentra categorizado entre: termoestable, elastómero y termoplástico. En este último se encuentra el polietileno de baja densidad (PEBD) y el polietileno tereftalato (PET). El PET es producido a partir de la reacción del ácido tereftálico (AT) y el etilenglicol (EG), *“se derrite a una temperatura de 265 °C y posee un buen equilibrio hidrolítico, permitiendo una estabilidad adecuada contra calor y solventes”* (Wilfong, 1961), usándose como envase no retornable. Por otro lado, el polietileno de baja densidad (PEBD) posee entre sus propiedades tenacidad, ductilidad, resistencia y baja permeabilidad al vapor de agua, lo cual lo hace excelente para realizar bolsas, papel film, entre otros.

Con base a lo anterior, el PEBD es un material *“con una molécula sencilla lineal y no polar y sus cadenas se atraen entre sí por la fuerza intermolecular, lo que permite que el material sea blando,”*(Suasnavas, 2017) se sintetiza por medio de una polimerización por radicales libres o catalizadores metálicos, lo cual permite que se encuentre dividido en dos tipos: Polietileno lineal de baja densidad (LLDPE) el cual es utilizado para la producción de bolsas de plástico y; el Polietileno de baja densidad ramificado (LDPE) utilizado para aislantes en cables eléctricos, juguetes, entre otros. El PEBD *“tiene una excelente resistencia química, lo que significa que no es atacado por ácidos fuertes o bases fuertes, es resistente a los oxidantes suaves y agentes reductores.”* (Pérez Moreno & Barroso Caro, 2015).

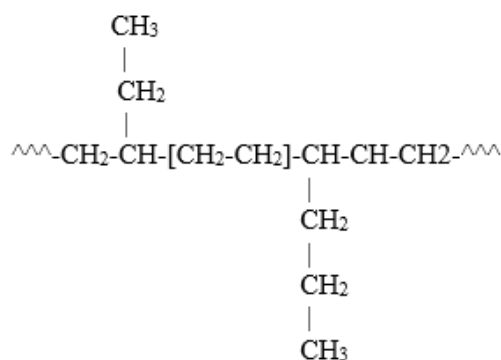


Ilustración 1 Estructura química del PEBD

Por otra parte, el PET “está compuesto con el 64% de petróleo, 23% de soluciones provenientes del gas natural y 13% de aire; asimismo refiere que para obtener el ácido tereftálico, primero se extrae el paraxileno a partir del petróleo crudo, para finalmente oxidarse con el aire. Sin embargo, para obtenerse el etilenglicol, se oxida el etileno con el aire.”(Barbarán Silva, Cabanillas Paredes, & Rubio Rodriguez, 2018). El PET en su composición presenta una molécula lineal que en su cadena principal contiene grupos aromáticos generando una resistencia en su deterioro.

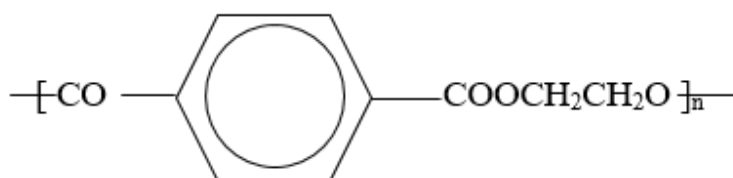


Ilustración 2 Estructura química de Tereftalato de polietileno (PET)

Conforme a lo anterior, la estructura química del PET hace que este material sea durable lo que ocasiona que el tiempo de su degradación sea mayor, lo mismo sucede con el PEBD ya que presenta una cadena de átomos de carbono larga, con dos átomos de hidrogeno

entre cada átomo de carbono. *“A veces algunos de los carbonos, en lugar de tener hidrógenos unidos a ellos, tienen asociadas largas cadenas de polietileno. Esto se llama polietileno ramificado, o de baja densidad. El polietileno se obtiene a partir de un monómero de etileno, el cual consiste en un par de grupos metilenos conectados con un enlace doble.”*(Pérez Moreno & Barroso Caro, 2015).

En consecuencia, a la complejidad que presentan los plásticos se han generado nuevas alternativas como lo son: plásticos biodegradables, producción de plástico a partir de microorganismos, la adición de sustancias como el almidón, entre otros, esto es realizado con el fin de reemplazar el plástico que ha sido consumido durante más de 50 años y el cual tiene un rango de durabilidad muy alto. Sin embargo, la producción de plásticos a partir de la adición de sustancias como el almidón, el cual es proveniente de alimentos tradicionales, podría generar una amenaza a la disponibilidad de cultivos para alimento y, además, la destrucción de ecosistemas para la realización de cultivos con fines industriales lo que ocasionaría la pérdida de flora y fauna de diferentes territorios.

Podemos definir a los plásticos biodegradables como materiales que se descomponen en el ambiente de forma más eficiente que el polietileno convencional. Sin embargo, estudios recientes han demostrado que después de tomar cinco muestras, el único polímero capaz de degradarse es la bolsa compostable, pero esto depende de las características físicas en las que se encuentre el material, es decir si se encuentra en suelo, agua, incidencia de luz, y demás. *“En un periodo de tres meses la bolsa compostable desapareció completamente del banco de pruebas experimentales en el entorno marino, por el contrario, el producto se mantuvo intacto en el suelo. Como resultado, el estudio determinó que, durante un periodo de tres años, no se podía confiar en que ninguno de los materiales examinados se deteriorará lo*

suficiente como para reducir los efectos negativos en el ambiente.” (Napper & Thompson, 2019). A pesar de que, existan alternativas para la creación de nuevos productos se denota que el tiempo juega en contra de la degradación de polietileno. De igual forma el tiempo es determinante para el control de la generación de estos residuos los cuales siguen siendo excesivos en los diversos escenarios ambientales

Otro tipo de alternativa es la producción de plásticos mediante microorganismos, “Actualmente ya existe la opción de utilizar un tipo de bioplásticos producidos por fermentación, llamados de manera genérica polihidroxialcanoatos (PHA), y particularmente el polihidroxibutirato (P3HB) y el polihidroxibutirato-co-hidroxivalerato P(3HBco3HV), que se producen a escala comercial. Sin embargo el precio de los PHA (2 a 5 euros/ kg) es todavía alto en comparación con el de los plásticos derivados del petróleo” (González García et al., 2013). Los PHA son plásticos de ácidos hidroxialcanoicos que son producidos mediante la acumulación de nutrientes por parte de algunos organismos (bacterias, micro algas, entre otros), estos ácidos son almacenados para su posterior transformación en energía. Sin embargo, y como lo menciona la investigación la producción de estos bioplásticos continúa siendo muy costoso por lo que no genera un beneficio económico para las empresas.

Debido a la composición química que contienen el PET y el PEBD, algunos investigadores realizan estudios mediante la utilización o adición de sustancias que permita reemplazar los plásticos comunes a bioplásticos sin embargo, aunque se innove en la producción de nuevos plásticos amigables con el ambiente prosigue la duda en cuanto al manejo de los residuos de polímeros existentes, ya que, la gran mayoría de los residuos son gestionados mediante: el reciclaje, la acumulación en rellenos sanitarios y la incineración, siendo perjudicial para los diversos ecosistemas. Por tal motivo el siguiente capítulo presenta

una alternativa para la eliminación de polímeros utilizando dichos materiales como nutrientes para los microorganismos, los cuales se encargan de descomponer el material, esta actividad se conoce como la biodegradación.

4.2 La biodegradación como alternativa para la mitigación de residuos de Plástico

Aunque existan nuevas investigaciones y alternativas para mejorar y/o sustituir el plástico actual, los nuevos materiales o las tecnologías avanzadas presentan desventajas o variables que no permiten la inclusión en el mercado, es decir, estos nuevos materiales presentan márgenes de errores y un precio alto para su producción por lo que las industrias no lo ven aun favorable para sustituir los polímeros existentes.

Por lo anterior podemos decir que, la biodegradación es una de las alternativas que permite que los plásticos producidos hasta el día de hoy logren una degradación en un tiempo más corto. Para ello existen factores que pueden incentivar la actividad de organismos en la degradación de plástico por lo que, “la degradación de plástico puede ser clasificada como abiótica o biótica; la primera se define como un deterioro causado por factores naturales como temperatura y radiación UV, mientras que la segunda es definida como la biodegradación causada por la participación de microorganismos que modifican y consumen el polímero generando cambios en sus propiedades” (Gómez-méndez, 2018). Según la sociedad americana de pruebas y materiales (ASTM) y la Organización Internacional de Normalización (ISO) lo definen como un proceso “irreversible que conduce a un cambio significativo de la estructura de un material.” La biodegradación es una de las alternativas más eficientes para la degradación del polietileno.

La biodegradación puede ser realizada por “bacterias, hongos, levaduras, gusanos y/o insectos (...) para que este proceso se desarrolle dependerá de condiciones ambientales como

temperatura, humedad, oxígeno y una población adecuada de microorganismos.” (CIT - COTEC, 1998). Hecha esta salvedad se menciona que, “la biodegradación es la capacidad del microorganismo para influir en la degradación a través de factores químicos, físicos o acción enzimática.” (Kumar Sen & Raut, 2015). Los microorganismos tienen un papel importante en la descomposición biológica de los polímeros, sin embargo, “su alto peso molecular, su estructura tridimensional, su naturaleza hidrofóbica y la carencia de grupos funcionales polares, interfieren con el ataque microbiano, limitando el número de microorganismos que pueden biodegradarlos” (Kumar Sen & Raut, 2015). Debemos mencionar que, existen diversos y diferentes aditivos en el plástico que se desconocen por ser secretos industriales, lo cual dificulta el estudio o la investigación el campo de la biodegradación de plástico.

La biodegradación de plásticos, puede variar dependiendo de algunos aspectos físicos y químicos como: “Procesos previos de fotooxidación, tamaño, peso molecular y densidad del polímero, cantidad de regiones cristalinas y amorfas, complejidad estructural, disponibilidad de grupos funcionales polares, naturaleza y forma física del plástico, presencia de impurezas, tipo de microorganismos, condiciones aeróbicas o anaeróbicas y presencia de mediadores redox” (Montazer, Habibi-Najafi, Mohebbi, & Oromiehei, 2018). Diversos estudios han informado sobre la degradación de plástico mediante bacterias, hongos, y consorcios microbianos en el: suelo, compost, lodo y agua marina.

Existen microorganismos que ayudan en la degradación del plástico, entre las bacterias se encuentra: “*Brevibacillus borstelensis*, *Pseudomonas chlororaphis*, *Comamonas acidovorans TB-35*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas spp*, entre otras.”(Restrepo-Flórez et al., 2014). Por otro lado, los hongos son capaces de ser biodegradadores de PEBD debido a que estos microorganismos “producen enzimas degradativas y polímeros extracelulares como

polisacáridos que pueden ayudar a la colonización de la superficie de los polímeros, así como la habilidad de distribución y penetración de sus hifas.” (Esmaeili, Pourbabae, Alikhani, Shabani, & Esmaeili, 2013)

Se han encontrado hongos capaces de degradar o deteriorar el polietileno como lo son: “*Aspergillus spp*, *Penicillium spp*, *Mortierella alpina*”(Koutny, Amato, Muchova, Ruzicka, & Delort, 2009; Manzur, Limón-González, & Favela-Torres, 2004). Para la degradación del material Algunos autores mencionan 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.” (Uribe, Giraldo, Gutiérrez, & Merino, 2010).

Por lo que se refiere al PEBD investigaciones han demostrado que existen microorganismos capaces de deteriorar el material “*durante la primera y segunda prueba de aislamiento se logró registrar un total de 81 especies de hongos y 114 especies de bacterias obtenidos, los cuales fueron analizados para determinar su capacidad de utilizar el PEBD como fuente de carbono. De los microorganismos aislados se deduce que, tan solo dos aislamientos de hongos y ocho de bacterias utilizan este polietileno como fuente de carbono.*”(Kunlere, Fagade, & Nwadike, 2019). De los artículos investigados, una cantidad de 10 estudios comprueban que una cepa bacteriana es capaz de degradar el plástico, uno de ellos demostró que, la bacteria *P. aeruginosa* logra degradar el material hasta en un 50.5% según (Rajandas, Parimannan, Sathasivam, Ravichandran, & Su Yin, 2012), esto fue evaluado mediante espectroscopia FTIR-ATR, esta técnica permitió observar los cambios obtenidos en el “grupo carbonilo el cual se encuentra basado en el número de onda 1714 cm⁻¹”(Kochetov, Christen, & Gullo, 2017) dicha información fue comparada con la muestra control. Al utilizar la técnica ATR se logra cuantificar los enlaces nativos presentes en forma

natural en el plástico (estiramiento asimétrico CH₂, estiramiento simétrico CH₂, deformación de flexión, CH₃ simétrico deformación y deformación de balanceo) (Rajandas et al., 2012)

Otras muestras de PEBD tomadas por las industrias fueron evaluadas para observar si los hongos son capaces de degradar el material “las muestras fueron inoculadas en un periodo de 30 días a una temperatura de 28°C en donde se encontraron *Aspergillus spp*, *Mucor spp*, *Penicillium spp* y *Fusarium sp (F6)*.”(J. Singh & Gupta, 2014), cabe resaltar que el sitio donde se encuentra el material logra influenciar en su biodegradación.

De los artículos investigados o seleccionados acerca de la degradación de PET mediante cepas bacterianas, se halló un estudio que destaca en esta actividad. El científico Yoshida encontró un microorganismo capaz de tomar los nutrientes necesarios de dicho material, la bacteria es conocida como *Idonella sakaiensis* y, “se encuentra involucrada en la degradación del polietileno de tereftalato puesto que es capaz de descomponer hasta sus componentes originales” (Yoshida et al., 2016). En contraste con lo anterior, se ha evidenciado que los microorganismos necesitan de algunas condiciones para lograr descomponer el material ocasionando que los lapsos de tiempo sean prolongados.

Otras investigaciones han abarcado el tema de los plásticos en ambiente marino, en donde se han utilizado microorganismos como: *Shewanella putrefaciens* y *Aureobasidium pullulans* en donde se determinó que, “algunos microorganismos marinos tienen la capacidad de biodegradar microplásticos en el medio marino. Sin embargo, el proceso de degradación y las enzimas involucradas actualmente no se conocen. Este estudio investigó los posibles subproductos liberados en el entorno o en el citoplasma de las células degradantes después de la biodegradación de microplásticos. Se planteó la hipótesis de que no se encontrarían

subproductos en ninguna de las dos áreas investigadas, el entorno marino circundante y el citoplasma de las células degradantes”(Kumar, Xie, & Curley, 2019)

Al mismo tiempo se han desarrollado investigaciones acerca de la biodegradación de plásticos mediante microorganismos provenientes del humus debido a que presentan una buena cantidad de microorganismos provenientes de estiércoles de diferentes animales que poseen una población microbiana capaz de biodegradar cualquier tipo de plástico que sea objeto de análisis. Uno de los estudios determinó que “el humus de caballo logró degradar en mayor cantidad el PET en comparación al humus de gallina y lombriz” (Meza Vargas, 2013)

La tabla que se presenta a continuación es realizada con el fin de, presentar un resumen sobre algunas investigaciones acerca de la biodegradación en PET y PEBD, la metodología utilizada, el método de cuantificación y los microorganismos utilizados.

Tabla 1.. Resumen de Estudios en la biodegradación de PET y PEBD, microorganismos y metodologías utilizados.

Titulo	Autores	Metodología	Organismos		Método de Cuantificación para la degradación	Año
			Bacterias	Hongos		
Use of rhizosphere microorganisms in the biodegradation of PLA and PET compost soil polymers in	Janczak, Katarzyna Hryniewicz, Katarzyna Znajewska, Zuzanna Dąbrowska, Grażyna	La actividad enzimática microbiana fue determinada mediante la habilidad para sintetizar la amilasa, celulosa, lipasa y pectinasa.	<i>Arthrobacter sulfonivorans</i> y <i>Serratia plymuthica</i>	<i>Clitocybe spy</i> <i>Laccaria laccat</i>	Las cepas bacterianas tienen la capacidad de formar biopelículas. Evaluaciones visuales y microscópicas (opacidad y aperturas), Prueba de fuerza, FTIR, pérdida de peso, permeabilidad de plástico, entre otros.	2018
Soil bacterial strains able to grow on the surface of oxidized polyethylene film containing prooxidant additives	Koutny, Marek Amato, Pierre Muchova, Marketa Ruzicka, Jan Delort, Anne Marie	El PEBD fue expuesto a una cámara de foto envejecimiento esto fue realizado en el periodo entre marzo y octubre y el periodo de incubación fue de 2 a 3 años los microorganismos fueron incubados en un periodo de 10 días a 25°C, el crecimiento microbiano fue confirmado mediante el uso de microscopio óptico	<i>Ralstonia sp;</i> <i>Rhodococcus erythropolis</i> <i>Stenotrophomonas sp;</i> <i>Pseudomonas sp.;</i> <i>Delftia acidovorans;</i> <i>Acinetobacter sp.</i> <i>Delftia sp.</i>		Manchas aisladas e identificadas y su hidrofobia utilizando el ensayo BATH y Caracterizaciones de la superficie de la película de plástico original y oxidada.	2009

Titulo	Autores	Metodología	Organismos		Método de Cuantificación para la degradación	Año
			Bacterias	Hongos		
			<i>Pseudomonas sp.</i> <i>Rhodococcus sp.</i> <i>Rhodococcus sp.</i> <i>Flavobacterium sp.</i> <i>Pseudomonas sp.</i>			
Biodegradation of low density polyethylene (LDPE) by certain indigenous bacteria and fungi.	Kunlere, Idowu Olagoke Fagade, Obasola Ezekiel Nwadike, Blessing Ifeoma	Toma de muestras y preparación de medios de enriquecimiento, se utilizó una solución de NaOH con un pH de 7.2 el material PEBD fue inoculado a 37°C durante 14 días.	<i>Acinetobacter sp.</i> <i>MGP1</i> , <i>Bacillus sp. MGP1</i> , <i>Pseudomonas sp. MMP1</i> , <i>Bacillus sp. MMP5</i> , <i>Staphylococcus sp. MMP10</i> , <i>Bacillus sp. MGP1</i> , <i>Micrococcus sp. MMP5</i> y <i>Bacillus</i>	<i>Aspergillus flavus MCP5</i> y <i>Aspergillus flavus MMP10</i>	Pérdida de peso y análisis FTIR,.	2019

Titulo	Autores	Metodología	Organismos		Método de Cuantificación para la degradación	Año
			Bacterias	Hongos		
			<i>sp. MMP10</i>			
Biodegradation of Physicochemically Treated LDPE by a Consortium of Filamentous Fungi.	Manzur, A. Limón-González, M. Favela-Torres, E.	Tratamiento físico - químicos el material fue tratado por UV para estimular la degradación, a su vez fue calentado durante 120 horas. El tratamiento biológico fue inoculado a 29°C por 9 meses. Se utilizó un microscopio para observar el cambio estructural químico del material, esto fue realizado cada 3 meses y por último se realizó el estudio referente a la cromatografía de gases para conocer la concentración de CO ₂ .		<i>Phanerochaete chrysosporium; Penicillium simplicissimum; Aspergillus niger; Penicillium pinophilum</i>	Cambios en la cristalinidad y térmicos del material, cambios en la estructura, producción de CO ₂ y cambios en la superficie.	2005

Titulo	Autores	Metodología	Organismos		Método de Cuantificación para la degradación	Año
			Bacterias	Hongos		
Biodegradation of low density polyethylene (LDPE) modified with dye sensitized titania and starch blend using <i>Stenotrophomonas pavanii</i> .	Mehmood, Ch Tahir Qazi, Ishtiaq A. Hashmi, Imran Bhargava, Samarth Deepa, Sriramulu	Se realizó la preparación de nanopartículas de titania, la preparación del polímero fue pulverizado se tomó 1 gr. Del material. Las nano partículas de titania sensibilizadas con colorante se examinaron por su eficacia para degradar películas de PEBD bajo luz visible. El PEBD en polvo se preparó disolviendo los gránulos de PEBD en ciclohexano y evaporando el disolvente. La capacidad, de cepas seleccionadas, para la formación de biofilm se observó utilizando el ensayo en placa de micro titulación. La biodegradación del plástico fue realizado a partir de cortar tiras de 3x3 cm el cual fue lavado y secado durante toda la noche y desinfectado con un 95% etanol fue inoculado con 5 ml MSM	<i>Stenotrophomonas pavanii</i>		Características del material, Degradación foto catalítica de películas de PEBD, Aislamiento y detección de microorganismos degradantes de PEBD, pérdida de peso, microscopia electrónica de barrido, FTIR, análisis termo gravimétricos, entre otros.	2016

Titulo	Autores	Metodología	Organismos		Método de Cuantificación para la degradación	Año
			Bacterias	Hongos		
DEGRADABILIDAD DE POLIETILENO DE BAJA DENSIDAD – LDPE- UTILIZANDO <i>Pycnopus sanguineus</i> UTCH 03	Quinchía, Adriana Maya, Simón	Se extrajeron láminas de PEBD de 5cm x 5cm, para la medición de las muestras degradadas se utilizó el espectrofotómetro Infrarrojo. En cuanto a la evaluación de la degradación el PEBD será pesado antes y después de los procesos de degradación por parte de hongos el tiempo fue de 6 meses.		<i>Pycnopus sanguineus</i> UTCH03		2015
A novel FTIR-ATR spectroscopy based technique for the estimation of low-density polyethylene biodegradation	Rajandas, Heera Parimannan, Sivachandran Sathasivam, Kathiresan Ravichandran, Manickam Su Yin, Lee	Las cepas bacterianas se aclimataron a PEBD pre tratado con ácido nítrico durante 2 meses. Las cepas aclimatadas se sometieron luego a un ensayo de biodegradación in vitro con el PEBD pre tratado como su única fuente de carbono durante otros 2 meses. Posteriormente, la cuantificación de la biodegradación se realizó con espectroscopia FTIR-ATR utilizando diversas concentraciones de estándares de PEBD para la comparación	<i>Microbacterium paraoxydans</i> ; <i>Pseudomonas aeruginosa</i>		Contenido de humedad, porcentaje de invasión del sustrato, espectro FTIR, microscopia electrónica de barrido, cambios en la cristalinidad y análisis de calorimetría diferencial de barrido.	2012

Titulo	Autores	Metodología	Organismos		Método de Cuantificación para la degradación	Año
			Bacterias	Hongos		
Original Research Article Screening and Identification of Low density Polyethylene (LDPE) Degrading Soil Fungi Isolated from Polythene Polluted Sites around Gwalior city (M. P.)	Singh, Jyoti Gupta, K C	Colección de PEBD, preparación de PEBD el cual fue cortado en pequeñas piezas, insumos químicos utilizados, la recolección de hongos fue realizado en disposición de residuos. El PEBD fue añadido en una concentración de un medio sintético mediante un agar a una temperatura de 28°C durante 7 días. La identificación del polietileno degradado por hongos fue realizado en la examinación macroscópico y microscópico.		<i>Aspergillus flavus</i> (F1), <i>Aspergillus niger</i> (F2), <i>Aspergillus japonicus</i> (F3), <i>Mucor sp</i> (F4), <i>Penicillium sp</i> (F5); <i>Fusarium sp</i> (F6)	Pérdida de peso.	2014
Biodegradación de polietileno de baja densidad por acción de un consorcio microbiano aislado de un relleno sanitario , Lima , Perú	Uribe, Diego Giraldo, Daniel Gutiérrez, Susana Merino, Fernando	Recolección de material el cual fue tomado de tres diferentes lugares, las muestras fueron sumergidas en solución salina y los microorganismos seleccionados fueron seleccionados en un medio de sales minerales. Para la identificación de los géneros realizaron pruebas bioquímicas para microorganismos. Análisis por espectroscopia infra-roja de las perlas del PEBD utilizadas y	<i>Pseudomonas sp.</i> <i>MP3a</i> y <i>MP3b</i> , <i>Penicillium sp.</i> <i>MP3a</i> , <i>Rhodotorula sp.</i> <i>MP3b</i> , <i>Hyalodendron sp.</i> <i>MP3c</i>		Análisis FTIR del polietileno de baja densidad y Prueba cuantitativa de degradación de PEBD.	2010

Titulo	Autores	Metodología	Organismos		Método de Cuantificación para la degradación	Año
			Bacterias	Hongos		
		prueba cuantitativa de la degradación de PEBD				
Biodegradation of Low-Density Polyethylene (LDPE) by Mixed Culture of <i>Lysinibacillus xylanilyticus</i> and <i>Aspergillus niger</i> in Soil.	Esmaeili, Atefeh Pourbabaee, Ahmad Ali Alikhani, Hossein Ali Shabani, Farzin Esmaeili, Ensieh	Irradiación ultravioleta de polietileno, preparación e inoculación del suelo, análisis de suelo conteo microbiano el cual esta abarcado por la producción microbiana de biomasa y fuente de carbono, evolución de dióxido de carbono, mediciones de pH en suelo, propiedades mecánicas y análisis de PEBD, FTIR, XRD y por ultimo escáner microscópico electrónico.	<i>Lysinibacillus xylanilyticus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	Irradiación ultravioleta de polietileno, carbono de biomasa microbiana, evolución de dióxido de carbono, FTIR, XRD, Microscopía electrónica de barrido y Propiedades mecánicas de las películas de polietileno.	2013
Biodegradation of PET: Current Status and Application Aspects	Taniguchi, Ikuo Yoshida, Shosuke Hiraga, Kazumi Miyamoto, Kenji Kimura, Yoshiharu Oda, Kohei		<i>Ideonella sakaiensis</i>		Microscopía electrónica de barrido	2019
Deterioration of irradiation/high-temperature pretreated, linear	Novotný, Čeněk Malachová, Kateřina	Las muestras fueron añadidas a los frascos de Erlenmeyer los cuales contenían caldo Bushnell-Hass e incubados	<i>Bacillus amyloliquifaciens</i>		Espectroscopia FTIR, análisis calorimétricos, análisis	2018

Titulo	Autores	Metodología	Organismos		Método de Cuantificación para la degradación	Año
			Bacterias	Hongos		
low-density polyethylene (LLDPE) by <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Adamus, Grażyna Kwiecień, Michał Lotti, Nadia Soccio, Michelina Verney, Vincent Fava, Fabio	durante 2 meses a una temperatura de 28°C, las muestras fueron removidas en un intervalo de 20, 40 y 60 días. Luego de cumplir con el intervalo de tiempo las muestras fueron inmersas en 2% de solución SDS a una temperatura de 50°C durante 2 horas, tres veces lavadas con agua destilada e inmersas en un 70% de etanol, vortex y nuevamente tres veces lavadas con agua destilada y secadas. La evaluación de biodegradación fue realizada gravimétricamente es decir tomando el peso de la muestra inicial y muestra final.			termogravimetricos, Análisis de espectrometría de masas por ionización por electropulverización (ESI-MS), gravimetría.	
Microbial Degradation of Low Density Polyethylene	Abraham, Jayanthi Ghosh, Enoch Mukherjee, Prantik Gajendiran, Anudurga	Para aislamiento de hongos se utilizó el factor $10^{-2} - 10^{-4}$ mientras que, para las Actinobacterias $10^{-3} - 10^{-5}$ y para el aislamiento de microorganismos se usaron placas de agar ISP-2 para aislar Actinobacteria y Sabouraud's placas de agar dextrosa (SDA) para hongos. La técnica de enriquecimiento se llevó a cabo	<i>Streptomyces sp</i>	<i>Aspergillus nomius</i>	Cristalinidad, topografía de la capa superficial, distribución de peso molecular e hidrofobia.	2016

Titulo	Autores	Metodología	Organismos		Método de Cuantificación para la degradación	Año
			Bacterias	Hongos		
		para seleccionar los microbios degradantes de polietileno eficientes de los aislados; Se usaron 100 ml de caldo M1 (Tabla 1) y 100 ml de caldo de sal de glicerol arginina (AGS) (Tabla 2) para enriquecer hongos y Actinobacterias, respectivamente. Ambos medios fueron suplementados con 0,5 g de tiras de plástico (2 3 2 cm), respectivamente, como única fuente de carbono y energía.				
Biodegradation of Polyethylene using Bacillus subtilis	Vimala, P Mathew, Lea	Se prepararon 3,5 l de medio de sal mineral (NaNO ₃ (2 g), MgSO ₄ (0,5 g), KCl (0,5 g), Fe ₂ (SO ₄) ₃ (0,01 g), KH ₂ PO ₄ (0,14 g), K ₂ HPO ₄ (1,2 g), extracto de levadura (0,02 g), agua destilada 1 l) y 150 ml cada uno se vertió en 20 matraces cónicos. Las películas de polímero se midieron por su peso inicial. Los matraces cónicos se inocularon con especies bacterianas con la combinación necesaria (películas de polímeros + microbios + biosurfactantes).	<i>Bacillus subtilis</i>		Analisis gravimétricos, porcentaje de pérdida de peso, espectroscopia FTIR.	2016

Titulo	Autores	Metodología	Organismos		Método de Cuantificación para la degradación	Año
			Bacterias	Hongos		
		Las configuraciones experimentales se incubaron a temperatura ambiente durante 30 días con agitación intermitente a 180 rpm a 32 ° C				
Biodegradation of Microplastic Derived from Poly (ethylene terephthalate) with Bacterial Whole-Cell Biocatalysts.	Gong, Jixian Kong, Tongtong Li, Yuqiang Li, Qiujin Li, Zheng Zhang, Jianfei	El medio se preparó de acuerdo con las Tablas 1 y 2. Se colocaron 100 ml del medio en un matraz Erlenmeyer (500 ml). Después de la esterilización, se transfirieron 20 ml de la solución de cultivo de cepa de partida, y luego se cultivaron a 37 ° C y 140 rpm / min en un agitador (oscilador de temperatura completa HZQ-Q, Harbin Donglian Electronic Technology Development Co., Ltd., Harbin, China), y periódicamente muestreado y probado.	<i>Comamonas testosterone</i>		HPLC, crecimiento de microorganismos, cambios de las partículas de PET, Crecimiento de bacterias y su utilización del producto de descomposición, Estructura morfológica de PET, Cambios en la estructura supramolecular de PET.	2018

Fuente: Propia

Como resultado, la biodegradación es realizada por algunos seres vivos como bacterias, hongos, insectos, entre otros, la gran mayoría de los estudios presentados en la tabla comprueban la posibilidad de utilizar los microorganismos para la degradación de PET y PEBD lo cual demuestra la gran capacidad que presentan dichos microbios para adaptarse a los cambios que ocurren puesto que, utilizan como fuente principal de nutrientes los plásticos. Sin embargo, para que el resultado sea aún más óptimo se debe tener en cuenta cómo funciona la degradación mediante agentes microbianos y que características pueden influenciar en la degradación de plásticos.

4.3 ¿Cómo funciona la degradación de PET y PEBD mediante agentes microbianos?

En los capítulos anteriores se mencionó que la actividad biodegradativa de polietileno puede ser bajo condiciones anaeróbicas o aeróbicas. Para que la actividad evolucione debe existir un pretratamiento en donde el polietileno sea depolimerizado, después los microorganismos pueden desarrollar la degradación del plástico siendo este transformado en CO_2 , H_2O , entre otros productos metabólicos como: CH_4 , CO_2 , H_2O y demás. La ilustración 3 presenta la transformación general del plástico:

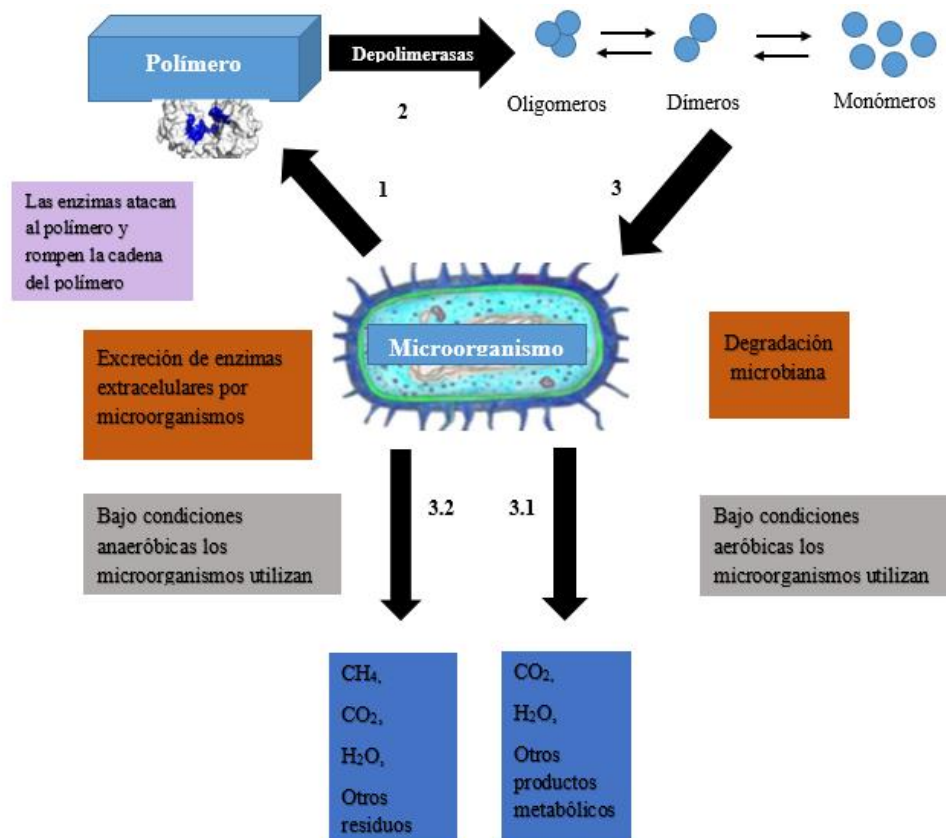
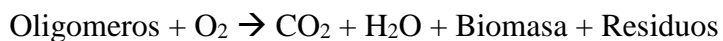
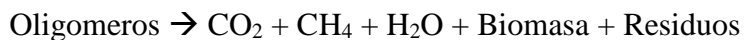


Ilustración 3 Mecanismos de biodegradación plástica en condiciones aerobias y anaerobias. Fuente: (Ahmed et al., 2018)

La reacción de biodegradación en el tipo aeróbico requiere de moléculas de oxígeno para realizar la oxidación del material la ecuación es representada de la siguiente manera:



Por otra parte, la degradación mediante microorganismos de origen anaerobio es la que ocurre sin necesidad de oxígeno y como producto final suele generar metano.



Con base a lo anterior, podemos mencionar que la biodegradación por condición anaerobia o aeróbica es la base primordial para el deterioro del plástico en donde “*si los productos finales son de naturaleza inorgánica, por ejemplo, CO_2 , H_2O o CH_4 , la degradación se denomina **mineralización**. Si hay O_2 disponible, los microorganismos aerobios degradan los hidrocarburos complejos con biomasa microbiana, CO_2 y H_2O como productos finales. Por el contrario, en ausencia de O_2 , es decir, en condiciones anaeróbicas, los consorcios anaerobios de microorganismos son responsables del deterioro del polímero. En este caso los productos primarios serán **biomasa microbiana**” (Sharma, Sharma, Sharma, & Chandra, 2015)*

Algunos pasos para la biodegradación del material son: “Degradación primaria del plástico (pre-tratamiento), fijación de microorganismos a la superficie del plástico, crecimiento de los microorganismos utilizando el plástico como fuente de carbono, tasa de absorción de oxígeno, tasa de evolución de dióxido de carbono y cambios de la estructura de la superficie del plástico.” (Meza Vargas, 2013).

La presente imagen, explica la degradación de plásticos hidrofóbicos por medio del uso de los microbios.

Los microorganismos generan enzimas extracelulares que atacan el plástico y transforman el material a un menor peso molecular, el producto resultante es mineralizado e incorporado en la biomasa microbiana.

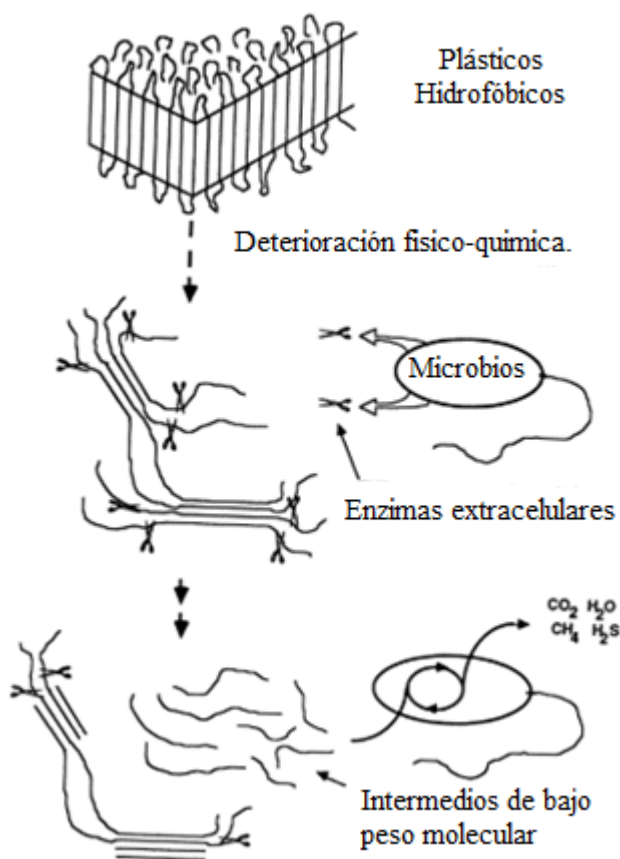


Ilustración 4 Degradación de plástico por ataque microbiano, fuente Biodegradability of Plastics Consistent methods for testing claims of biodegradability need to be developed.

Con base a lo anterior, los microorganismos efectúan un primer paso el cual se compone de “convertir el

material en monómeros, luego esos monómeros son mineralizados. Gran parte de los polímeros poseen una cadena demasiado larga para pasar a través de las membranas celulares, por lo que el material debe ser depolimerizado en pequeños monómeros, después de ello pueden ser absorbidos y biodegradados por las células microbianas.”(Shah, Hasan, Hameed, & Ahmed, 2008). Entre los procesos que más utilizan los microorganismos para degradar el plástico se encuentra la hidrólisis que puede ser: “Intracelular: que es la

degradación de un reservorio de carbono endógeno y la extracelular que es la utilización de una fuente de carbono exógeno.” (Tokiwa & Calabia, 2004).

La gran mayoría de las investigaciones analizan la biodegradación de dichos materiales mediante la espectroscopia infrarroja transformada de Fourier la cual abarca “una visión cercana del estiramiento N – H del grupo aldehído a 3334.92 y 3228.84 cm^{-1} , C – C = C simétrico del anillo aromático a 1639.49 cm^{-1} , C = O estiramiento del grupo aldehído en 1735.93 cm^{-1} , pico en la curvatura N = O que corresponde a 1365.60 cm^{-1} , estiramiento C-O del grupo éter en 1217.08 y 1078.21 cm^{-1} ” (Gajendiran, Krishnamoorthy, & Abraham, 2016) y la cromatografía de gases/ Espectrometría de masas la cual revela sustancias que se pueden encontrar después del proceso de biodegradación en los plásticos, el análisis mediante este tipo de instrumento revela la presencia de compuestos no tóxicos “ se detectaron ocho compuestos biodegradables diferentes de polietileno después de la incubación con *Aspergillus nonius* (...) Kyaw y col. informaron 22 productos biodegradables diferentes del polietileno, sin embargo, identificaron solo 18 compuestos. Pramila y Ramesh, informaron resultados de GC-MS de la formación de un grupo carbonilo. Del mismo modo, Devi et al, identificaron la gran cantidad de aldehídos, cetonas y ácido carboxílico como productos degradados de PEBD por la cepa S1 de *Achromobacter denitrificans* a través del análisis GC-MS.” (Abraham, Ghosh, Mukherjee, & Gajendiran, 2016)

Para el caso de PET, la degradación del material puede sufrir una transformación similar a la degradación del benceno “*inicia con la oxidación del anillo aromático mediante la incorporación de dos átomos de oxígeno catalizado por una dioxigenasa, una deshidrogenasa NAD + dependiente, reconstituye el anillo formando un catecol (diol). Los dioles son moléculas de las que se produce la ruptura del anillo mediante la dioxigenasa estereoselectivas.*” (Daane, Harjono, Zylstra, & Häggblom, 2001; Randy H. Adams Schroeder1, 1999).

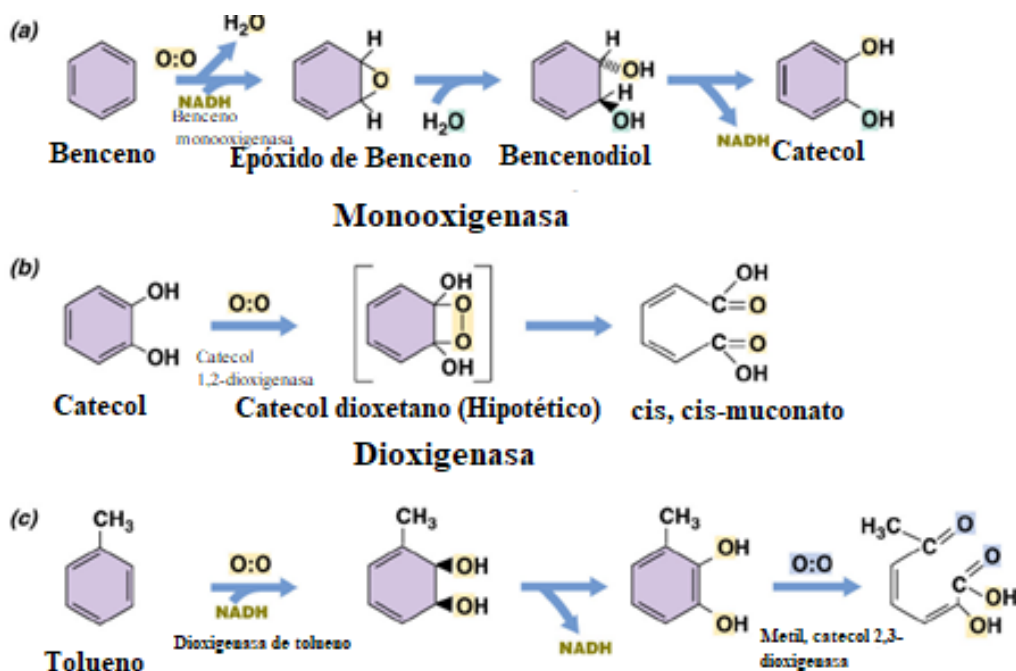


Ilustración 5 Descomposición del anillo aromático mediante microorganismos. (Madigan & Martinko, 2006)

Hasta el día de hoy se han realizado una gran cantidad de estudios referentes a la biodegradación del PET los cuales se encuentran relacionados con la degradación enzimática del material por lo que incluyen “la depolimerización del PET mediante métodos químicos como alcoholisis, glucolisis, amonolisis y aminolisis.” (Teotia, Tarannum, & Soni, 2017)

Por su parte, se han realizado estudios a escala de laboratorio para observar como el reino fungí es capaz de degradar el material; como primer paso se genera “el desarrollo de hifas y esporas el cual es, un proceso biológico natural de poblamiento de la superficie del material, así mismo presenta una coloración naranja típica de la producción de la enzima cinabarina, la cual se encuentra asociada a la producción de lacasa, enzimas participantes en procesos de degradación de polímeros naturales de alto peso molecular” (Quinchía & Maya, 2015).

Diversos investigadores han demostrado que los hongos ligninolíticos y otros microorganismos “constituyen una alternativa para la degradación de plásticos, gracias a sus enzimas ligninolíticas Lacasa (Lac), Manganeso peroxidasa (MnP), y Lignina peroxidasa (LiP). Las lacasas catalizan la oxidación de grupos hidroxilo en los fenoles presentes en la lignina para formar radicales fenoxi al reducir oxígeno a agua. Esta reacción puede promover la ruptura de enlaces β -O-4' y 4-O-5' en este polímero” (Wertz, Deleu, Coppée, & Richel, 2018). El proceso de reconocer si los plásticos pueden ser degradados por microorganismos ha sido extenso, diversos estudios han solventado la hipótesis de la degradación del material mediante agentes biológicos, “en general las bacterias más hidrófobas tienen una mayor afinidad hacia los hidrocarburos” (Mehmood, Qazi, Hashmi, Bhargava, & Deepa, 2016),

También se han encontrado microorganismos capaces de degradar el material en zonas marítimas. Para que el plástico sea degradado por microorganismos debe existir el proceso de

bioincrustación la cual implica cinco fases “*adsorción, inmovilización, consolidación, microincrustación y macrofouling*. Las bacterias son cruciales para la bioincrustación, ya que participan en la colonización de las superficies durante la microincrustación primaria. La microincrustación se somete a dos pasos la primaria (colonizadores primarios, bacterias y animales) y la colonización secundaria.” (Urbanek, Rymowicz, & Mirończuk, 2018). Con respecto al suelo, se han encontrado en rellenos sanitarios microorganismos capaces de degradar el polietileno “los cuales fueron identificados como: *Pseudomonas sp, MP3a, MP3b, Penicillium sp, Rhodotorula sp y Hyalodendron sp*.”(Uribe et al., 2010).

De manera que, los microorganismos difieren en dos grandes grupos aerobios y anaerobios. En el grupo aerobio los microbios utilizan el oxígeno como fuente para transformar el plástico en Dióxido de Carbono, agua y productos metabólicos mientras que, el grupo anaerobio no requiere de oxígeno para la asimilación del material y al descomponer el plástico se presentan productos como: metano, dióxido de carbono, agua y otros residuos. No obstante, para que los microbios logren depolimerizar el material a una mayor rapidez se requiere de un pretratamiento, esto significa que, el plástico debe pasar a través de un proceso para debilitar los enlaces que lo componen con el fin de permitir la adherencia de los microorganismos. El siguiente capítulo recopila pretratamientos utilizados para el PET y PEBD.

4.4 Pretratamientos para el PET y PEBD

Las sustancias existentes en el material permiten la durabilidad, por lo tanto, el pretratamiento ayuda a la descomposición en el PET y PEBD. El desarrollo de los microorganismos en el polietileno depende de la cantidad de nutrientes, carbono y energía que

puedan ser tomados del plástico. El presente capítulo recopila algunos estudios donde se evaluaron diferentes pretratamientos.

4.4.1 Proceso de radiación solar

“Las láminas de plástico son colocadas en una caja de Petri y son expuestas a la luz solar. La intensidad solar promedio se midió utilizando un radiómetro de mano con tecnología UV.” (Kundungal, Gangarapu, Sarangapani, Patchaiyappan, & Devipriya, 2019) Esto es realizado principalmente en época de verano.

4.4.2 Procedimiento de fotodegradación

“Las películas se colocaron a 15 cm de la lámpara y luego se irradiaron con radiación UV usando una lámpara de vapor de mercurio a baja presión que genera energía entre 280 nm y 370 nm” (Nowak, Pajk, & Karcz, 2012; Vimala & Mathew, 2016)

4.4.3 Tratamiento térmico

Este pretratamiento consiste en aplicar calor al material, según investigaciones “el material es calentado a 90° C durante 7 días” (Novotný et al., 2018). Cabe resaltar que la temperatura en la que se debe calentar el material varía de acuerdo al grosor.

4.4.4 Proceso de degradación fototérmico

“Es el proceso por el cual trabajan simultáneamente la radiación UV y la temperatura durante las mismas condiciones, pero se describen procesos diferentes” (Nowak et al., 2012)

4.4.5 Degradación Hidrolítica

Es un proceso que deteriora el plástico puesto que “son envejecidas en agua a temperaturas de 110 ° C a 80 ° C por hasta 150 días. La fragilidad ocurre con la escisión de la cadena durante la hidrólisis (...) Cuando el polímero es frágil, es decir, para altos niveles de

degradación, el estrés en la ruptura disminuye linealmente con la masa molar” (Arhant, Le Gall, Le Gac, & Davies, 2019)

El uso de hidrólisis es uno de los mecanismos más utilizados puesto que el PET contiene en su composición “co-monomeros, como éter y amida, y monómeros alifáticos que contienen enlaces que son propicios para el crecimiento de microorganismos”(Janczak, Hrynkiewicz, Znajewska, & Dąbrowska, 2018)

Los anteriores conceptos demuestran que la gran mayoría de los pretratamientos son mediante procesos térmicos y radiación, no obstante, la energía utilizada dependerá de las características físicas que presenta el polímero, es decir, la cantidad de masa y el tamaño, puesto que, a mayor masa mayor será la energía a utilizar. Por tal motivo, se debe realizar un análisis previo sobre dichas características en el plástico para su posterior pretratamiento. Ahora bien, ¿cómo podemos comprobar si la aplicación de pretratamientos y la actividad degradativa mediante microorganismos es eficiente? El siguiente capítulo hace un resumen sobre algunas técnicas utilizadas para cuantificar o reconocer la biodegradación en Polietileno Tereftalato y Polietileno de Baja Densidad.

4.5 Técnicas desarrolladas para estudiar la biodegradación de Plásticos

El siguiente punto a tratar es la observación de los cambios efectuados después de la utilización de microorganismos en el plástico. Algunos autores proponen estudiar los cambios físicos que le ocurren al material, es decir, realizar pruebas cuantitativas y cualitativas, entre estas pruebas se encuentran:

4.5.1 Técnicas espectrofotométricas y Espectroscopia para cuantificar degradación de PET y PEBD.

4.5.1.1 Espectrometría de masas, ionización por electroespray (ESI-MS)

Este método es utilizado para analizar los metabolitos producidos por el biodeterioro de polietileno lineal de baja densidad, el procedimiento para la utilización de dicha espectrometría es mediante un estado líquido a un volumen de 15 ml del medio y se extrae una muestra con 50 ml de cloroformo como lo presenta el siguiente estudio, “*después de un tratamiento de 60 días de una muestra de LLDPE virgen, no se detectaron señales características que sugirieran la presencia de oligómeros de 3HB. El aspecto de las unidades 3HB en el medio parece estar relacionado con la eliminación de los oligómeros de LLDPE de bajo peso molecular presentes en el LLDPE pretratado por la bacteria, como lo indican los análisis espectroscopia de absorción infrarroja FT-IR, Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC), Cromatografía por Permeación de Gel (GPC) y Analisis Termogravimetrico (TGA). En muchas bacterias, incluidas las especies de Bacillus.*” (Novotný et al., 2018). El 3HB es utilizado como “un monómero para polimerizar el PHB (Ácido polihidroxitirico), como una reserva intracelular de carbono y energía acumulada en condiciones limitadas de nutrientes esenciales” (Kourmentza et al., 2017).

4.5.1.2 Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RNM)

Este tipo de análisis es utilizado para reconocer los componentes estructurales de diferentes materiales, un estudio utilizó la resonancia magnética para observar la biodegradación de plásticos especialmente el polietileno (PE), la ilustración 6 presenta los datos obtenidos con dicha tecnología, “*se cree que los picos de absorción centrados a 20 ppm en las tiras de PE de control y tratadas se originaron a partir de aditivos plásticos comunes*

como los ésteres de ácido fosfórico, mientras que, las señales de carbono observadas a 35 (múltiple) y 36,20 ppm en el control PE se alteraron ligeramente tanto en términos de posición como de multiplicidad en los tratados (Ilustración b,c), el carácter múltiple de la señal a 34,5 ppm en el polietileno tratado puede asignarse al grupo carbonilo. Esta observación puede estar correlacionada con la formación de éster como producto final y el inicio de ramificaciones cortas debido a la degradación. Es bastante plausible que el polietileno degradado proporcionó una fracción soluble orgánica que implica un proceso de absorción de carbono vinculado a la vía metabólica de las cianobacterias.” (Sarmah & Rout, 2018).

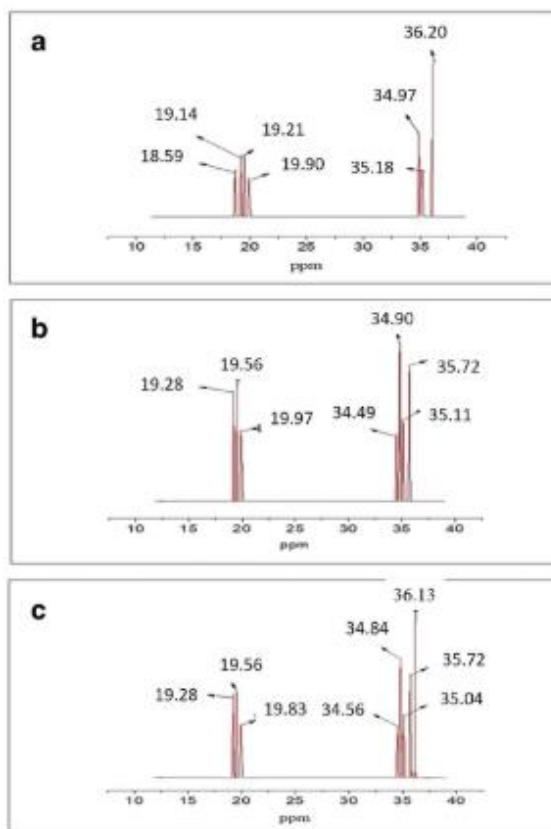


Ilustración 6 Resonancia magnética nuclear degradación de plástico mediante cianobacterias. a. Control abiótico b Phormidium lucidum tratado. c Subbrevis Oscillatoria tratada

4.5.1.3 Espectroscopia de difracción de rayos X (DRX) o Cristalografía de rayos X

Este tipo de instrumento es utilizado para determinar la formación de los átomos en los compuestos, además de permitir la medición de longitud de enlace. Uno de los estudios utilizó la metodología de rayos X para medir la velocidad de escaneo y el ángulo de difracción en la biodegradación de PEBD los resultados obtenidos antes y después del compostaje presentaron que, “hubo un aumento en la cristalinidad de LLDPE 80 en 4.13% y de LCR en 10.16%, (ilustración 6 y 7), probablemente por la asimilación de la parte amorfa del polímero por la bacteria. Sin embargo, para el caso de M-g-L 80/4, no hubo aumento en la cristalinidad debido al hecho de que la degradación de las fibras se produjo desde la superficie exterior de las fibras (...) No se observó ningún cambio en la cristalinidad de LDPE 100, incluso después de 28 días de compostaje.” (G. Singh, Kaur, Haripada, Bajpai, & Mandal, 2010)

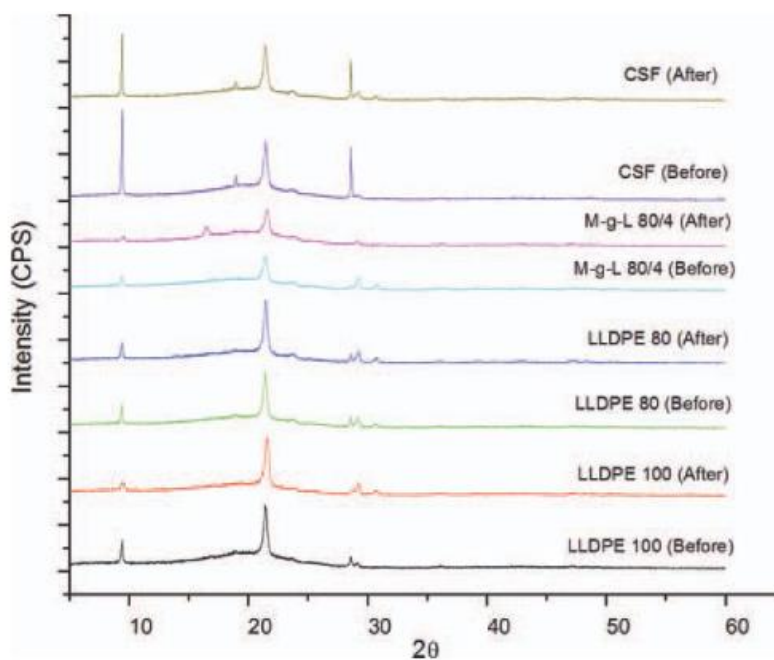


Ilustración 7 Patrones XRD de las películas de plástico. Polietileno de baja densidad lineal puro (LLDPE 100), LLDPE 80 (80% en peso de LLDPE y 20% en peso de PLLA), MgL 80/4 [80% en peso de LLDPE, 20% en peso de PLLA y compatibilizado de 4 phr (MgL), PLLA (Ácido poliláctico).

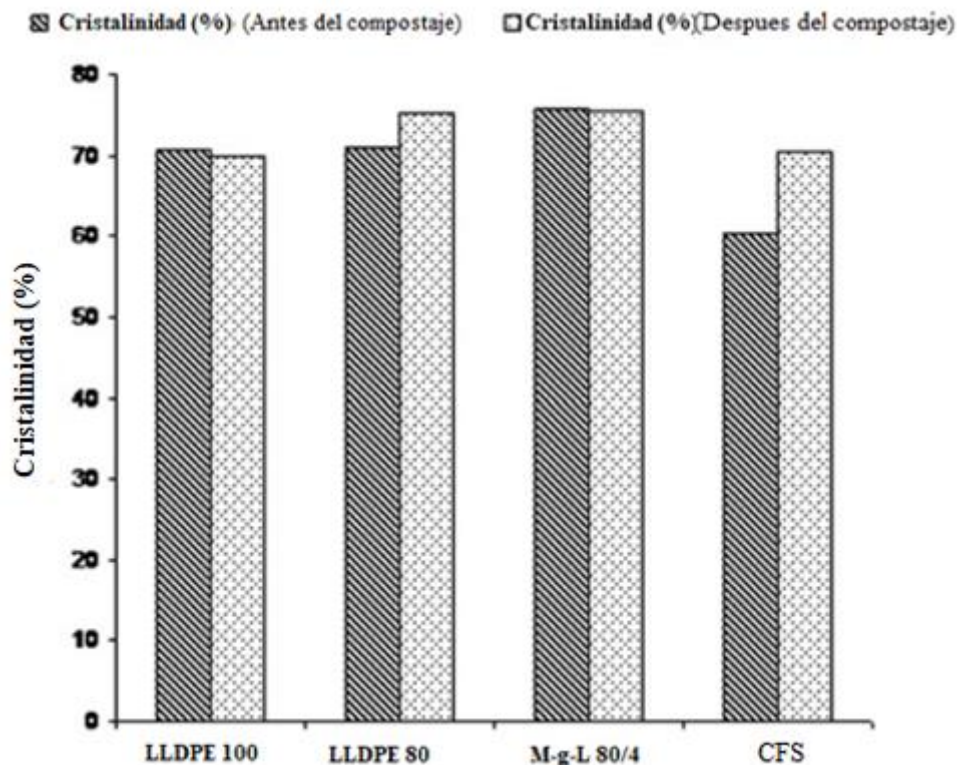


Ilustración 8 Porcentaje de cristalinidad antes del compostaje y después, en Polietileno lineal de baja densidad puro (LLDPE 100), LLDPE 80 (80% en peso de LLDPE y 20% en peso de PLLA), MgL 80/4 (80% en peso de LLDPE, 20% en peso de PLLA y compatibilidad de 4 phr (MgL), PLLA (Ácido poliláctico), Películas de Plástico CFS

4.5.1.4 Espectroscopia de Masas (MALDI-TOF)

Es una técnica de ionización para analizar las biomoléculas sus siglas significan MALDI (desorción/ionización mediante láser asistida por Matriz) y TOF (Tiempo de Vuelo), este espectrómetro tiene la capacidad de “medir macromoléculas de hasta 100.000 Dalton, dentro de las cuales están los péptidos y proteínas que forman parte de hongos y bacterias.(...) De manera general, la identificación microbiana por MALDI-TOF MS consta de cuatro pasos: la recuperación de una colonia aislada, la realización de un espectro de masas, la comparación con la base de datos y la entrega de resultados”(García, Huilcaman, Allende, Gajardo, & Legarraga, 2012).

Estudios recientes utilizan esta técnica para identificar la biodegradación de PET el cual “mostró la presencia del intermedio MHET (tereftalato monomérico de mono-2-hidroxi-etilo), resaltado tanto por el pico 210.905 m/s como por el producto de sodio $[M + Na]^+$ en 233.030 m/s, evidente en los espectros de masas. El TPA (Ácido Tereftalico) también fue detectado en pico 166.920 m/s en los espectros de masas, mientras que el pico 402.332 m/s puede denominarse producto de hidrólisis 1,2-etileno-mono-tereftalato-mono (2-hidroxi-etil) tereftalato (EMT). (...) Es importante enfatizar que la presencia de TPA indica que la hidrólisis enzimática fue responsable de escindir la cadena de polímero.” (ver ilustración 8) (Chaves et al., 2018)

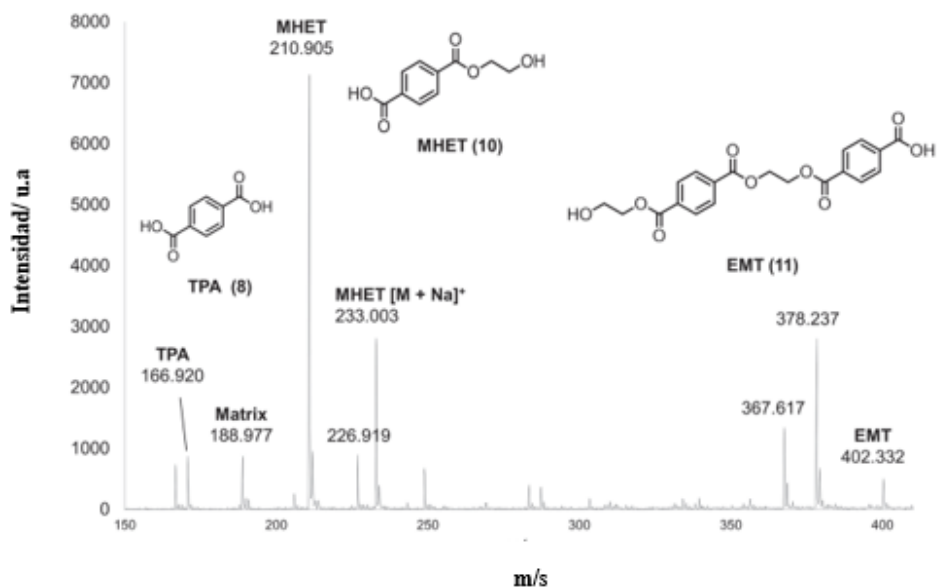


Ilustración 9 Espectro MALDI-TOF MS del medio de reacción para la segunda generación del hongo *Trichoderma* sp. C70 después de 15 días, que detalla los picos para los productos de hidrólisis TPA, MHET y EMT; u.a (Unidad Arbitraria) y m/s (metro/segundo).

4.5.1.5 Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR)

La espectroscopia FTIR es una técnica muy útil para evaluar los cambios químicos producidos sobre polímeros plásticos como consecuencia de “la actividad microbiana, poniendo de relieve alteraciones sobre enlaces de hidrógeno y grupos funcionales terminales, así como otras reacciones de degradación.” (Martín Peraza, 2017). “El análisis FTIR ayuda a investigar los cambios en los grupos funcionales, por rotura de enlaces químicos, transformación y formación de compuestos y reducción completa de películas” (Kundungal et al., 2019).

Un estudio aplicó dicha técnica para observar la degradación de bolsas de plástico mediante el microorganismo *Bacillus sp.* La FTIR permitió evaluar los cambios en la estructura química del material “*En comparación con la bolsa de plástico HL original, el espectro FTIR de la bolsa tratada con HL expresó muchos puntos diferentes. La intensidad y el número de ondas de la mayoría de los picos correspondientes se modificaron notablemente. Por ejemplo, el pico del grupo OH se cambió de 3427.42 cm^{-1} a 3367.50 cm^{-1} . Los picos de los grupos CH, NH y C = O también se desplazaron de 2 a 19 cm^{-1} . la clara disminución en la intensidad del grupo C-O y CH₂ podría confirmar que *Bacillus sp. BCBT21* tenía un favor para descomponer los grupos C-O y aromáticos, así como los alcoholes y fenoles. El resultado fue la prueba de que la bolsa de plástico HL fue degradada*

por *Bacillus sp. BCBT21* después de 30 días de cultivo.” (Ver ilustración 10) (Dang et al., 2018).

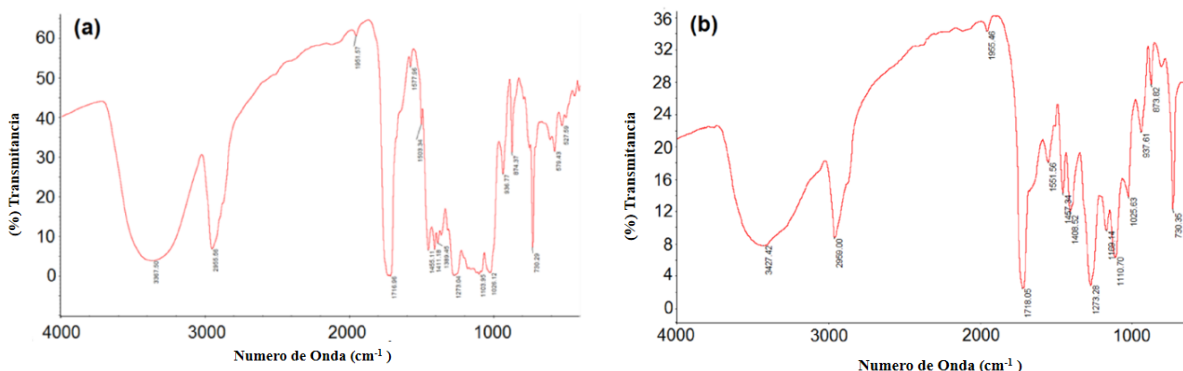


Ilustración 10 Los espectros FTIR de (a) bolsas de plástico HL (bolsas de plástico que contienen nanoaditivos de Países Bajos) no tratadas y (b) tratadas con *Bacillus sp.*

4.5.1.6 Espectroscopia de Masas acoplada a Cromatografía de Gases (CG-MS)

Este instrumento mide la relación masa-carga de los iones formados de las moléculas. “Los espectrómetros de masas tienen siete componentes mayores: un sistema de entrada, una fuente de iones, un analizador de masas, un detector, un sistema de vacío, un sistema de control y un sistema de datos.” (Plascencia Villa, 2003)

Un estudio realizó dicha técnica con el fin de complementar el análisis mediante la cromatografía de gases puesto que la espectroscopia de masas permite identificar los componentes ya que, muestra un ejemplo de análisis de SM en un tiempo de retención “de 2.328 min detectado como o-Xileno. El resultado de dicha técnica más la cromatografía de gases concluyó que, todos los componentes de la muestra de metabolitos detectados por GC-MS. Como es evidente, el número máximo de carbono es 15 y, por lo tanto, las bacterias *Streptomyces* pudieron degradar el polvo de PET a moléculas muy pequeñas. Además, la toxicidad de los componentes revela que ninguno de los productos de degradación es tan

perjudicial para la vida humana, aunque algunos de ellos, como el etilbenceno o el o-xileno, deben separarse antes de liberar el metabolito al medio ambiente.” (Farzi, Dehnad, & Fotouhi, 2019).

4.5.2 Técnicas térmicas para analizar la biodegradación del PET y PEBD

4.5.2.1 Análisis de calorimetría diferencial de barrido (DSC)

El cual abarca la diferencia de temperaturas antes y después del ataque microbiano “esta variación puede ser entendida como un debilitamiento en los enlaces del polímero” (Benítez et al., 2013) además, los datos deben ser agrupados mediante un software y las herramientas de análisis gráfico proporcionadas se utilizan para determinar las temperaturas de transición y las áreas de pico. “*Los estudios de DSC revelaron las propiedades térmicas significativas de las muestras, como la temperatura de transición vítrea y temperatura de fusión (...) Los picos de fusión ocurrieron a 125 ° C debido a la fusión de los cristalitas de LLDPE100 y sus mezclas. Se observaron aumentos en los valores de T20 (temperatura con una reducción de masa del 20% de la muestra) de 266.47 a 328.66 ° C para LLDPE 80 y de 326.07 a 394.920 ° C para MgL 80/4. Este aumento podría deberse a la biodegradación preferencial de los fragmentos de bajo peso molecular generados durante la exposición biótica de las películas*” en la siguiente imagen se presenta dicha información (G. Singh et al., 2010)

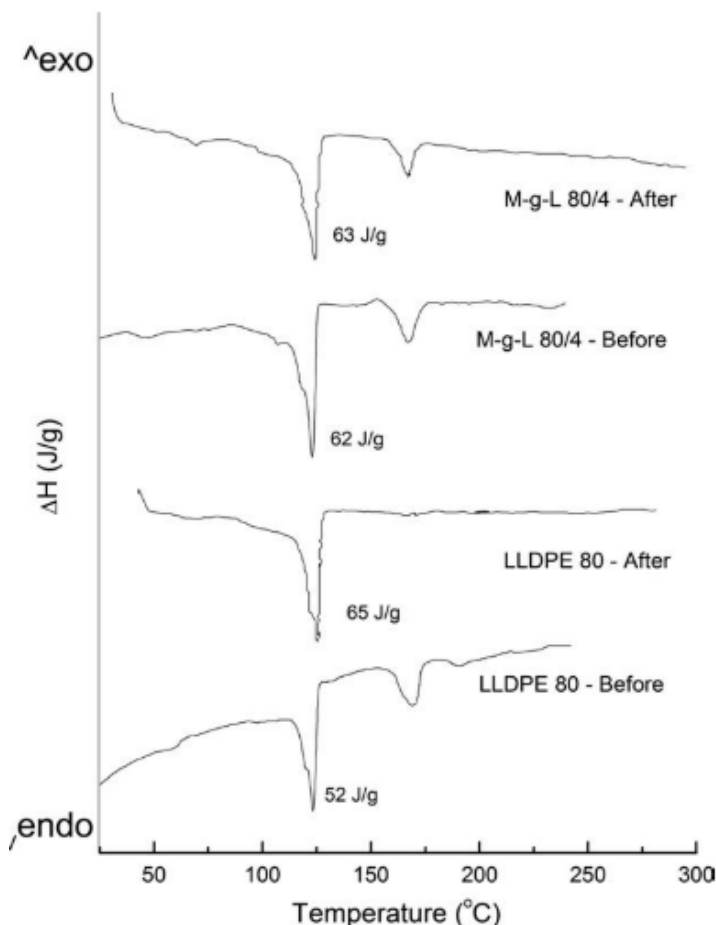


Ilustración 11 Escaneos DSC de LLDPE 80 (80% en peso de LLDPE y 20% en peso de PLLA), y M-g-L 80/4 [80% en peso de LLDPE, 20% en peso de PLLA y compatibilizado de 4 phr (MgL)] antes y después del compostaje.

4.5.2.2 Análisis Termogravimétricos (TGA)

El análisis termogravimétrico (TGA) es una técnica para cuantificar la masa de una muestra mientras es calentada, enfriada o se mantiene isotérmicamente (calor transferido lentamente), dicha técnica en la biodegradación permite conocer la pérdida de masa o descomposición del material, por ejemplo “La siguiente ilustración muestra las curvas de TGA en términos de porcentaje en peso frente a la temperatura de las muestras de LLDPE (PEBD) en estudio. Como se puede ver, la estabilidad térmica de la película pretratada fue considerablemente menor que la del PEBD virgen. Este efecto se ha relacionado con la

producción de grupos funcionales (grupos aldehído, cetona, éter o éster) (...) los oligómeros funcionados y de bajo peso molecular que se separaron de la superficie de la película después del pretratamiento fueron más propensos al ataque microbiano.” (Novotný et al., 2018)

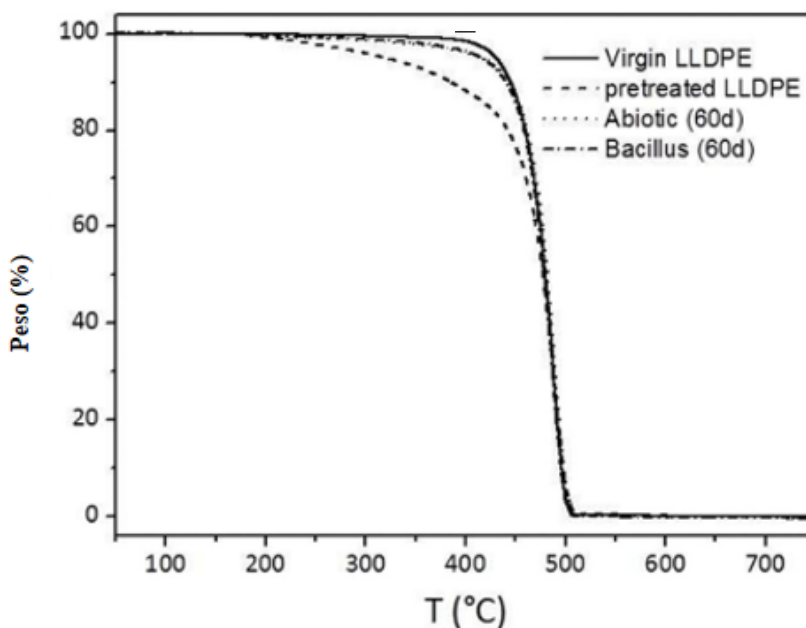


Ilustración 12 Curvas TGA de muestra virgen de LLDPE (—), muestra de LLDPE pretratada (-----), muestra de LLDPE pretratada expuesta al tratamiento por *B. amyloliquefaciens* durante 60 días (... ..) y el correspondiente control abiótico (-.-.-) medido bajo nitrógeno atmósfera.

4.5.3 Otras metodologías para estudiar la biodegradación de las propiedades físicas y/o químicas de PET y PEBD

4.5.3.1 Cambio físico o aspecto del material

Se basa en: “apreciar los cambios de la opacidad en las láminas poliméricas mediante las observaciones microscópicas en donde se evidencian quiebres y zonas donde se estaría dando el desprendimiento de partes de la estructura, tal como se presenta en la siguiente ilustración.” (Gómez & Oliveros, 2018) La investigación tuvo como base la degradación de PET mediante microorganismos extraídos de un relleno sanitario, el cambio físico o aspecto del material se puede realizar mediante microscopios electrónicos o microscopia de fuerza atómica.

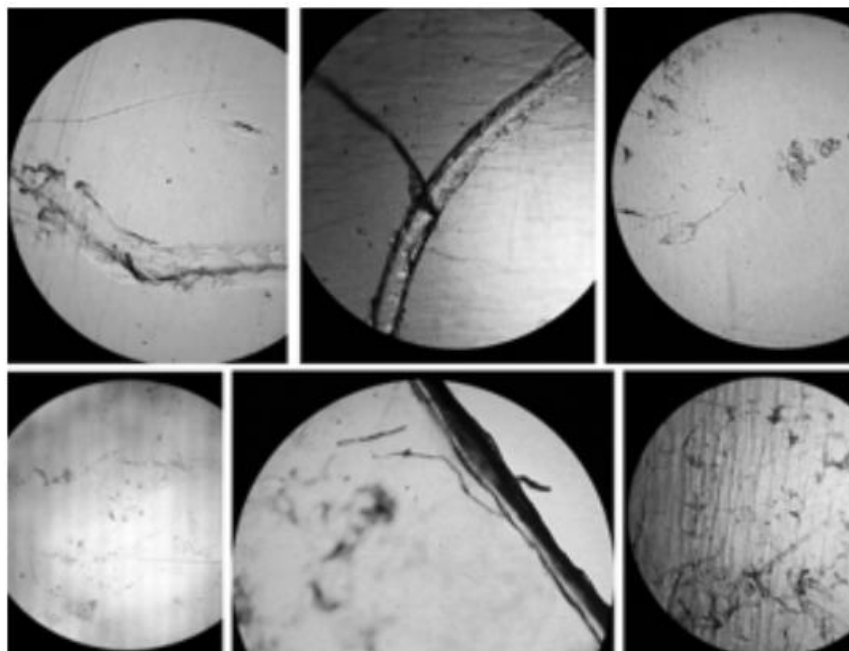


Ilustración 13 Láminas de polietileno tereftalato por degradación de agentes microbianos

4.5.3.2 Cantidad de dióxido de carbono

Este tipo de evaluación considera el enfoque óptimo para confirmar la biodegradabilidad total, esto quiere decir que, estudia el cambio total de carbono orgánico en carbono inorgánico. Por lo tanto, el método debe tener en cuenta la cantidad teórica de dióxido de carbono de las muestras y el porcentaje de biodegradación. Un estudio realizó dicha metodología, determinando “la cantidad de CO_2 desprendida mediante la valoración del NaOH los resultados se presentan en la siguiente ilustración (ver ilustración 9) en donde se comprende que, no hubo diferencias significativas en la evolución de CO_2 en los tratamientos S, SP y SUP. Estos tratamientos mostraron un ligero y gradual aumento en la generación de CO_2 durante la degradación biológica en comparación con los tratamientos inoculados (SMUP, SMP y SM). De los tratamientos que se inocularon con los microorganismos seleccionados, el tratamiento con SMUP demostró la mayor cantidad de producción de CO_2 .” (Esmaeili et al., 2013).

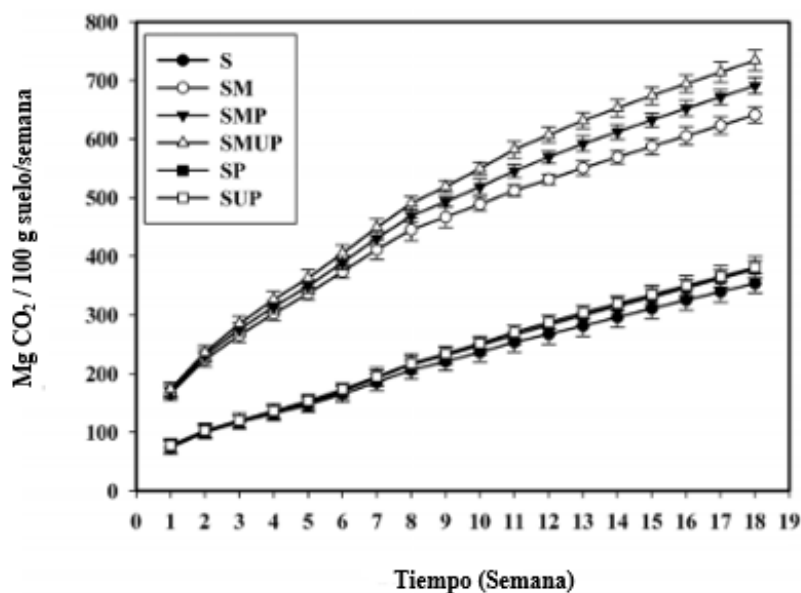


Ilustración 14 evolución acumulativa de CO_2 de las películas de LDPE puro irradiadas con UV y sin

UV incubadas en el suelo con diversos tratamientos durante 126 días. S: Suelo; SM: Suelo + Microorganismos

seleccionados; SMP: Suelo + Microorganismos Seleccionados + PE sin radiación UV; SMUP: Suelo + Microorganismos Seleccionados+ PE con radiación UV; SP: Suelo + PE sin radiación UV; SUP: Suelo + PE irradiado con UV.

4.5.3.3 Determinación de la prueba de hidrofobicidad

Dicha técnica se encuentra relacionada con la capacidad que los microorganismos tienen para formar una biopelícula efectiva sobre cualquier superficie hidrofóbica. La prueba se hace mediante la utilización del espectrofotómetro UV-VIS el cual consiste en la absorción de la suspensión y se mide a 400 nm. “Se añadieron 0,2 ml de hexadecano a la suspensión y se agitó durante 20 min. Los tubos de ensayo se mantuvieron sin perturbar durante 5 minutos, que formaron dos fases, a saber, fase orgánica y acuosa. El porcentaje de hidrofobicidad se calculó utilizando la relación hidrofobicidad (%) = OD de suspensión bacteriana inicial - OD de fase acuosa $\times 100$. La prueba de BAÑO reveló un aumento en la hidrofobicidad de las cepas. De los 8 aislamientos analizados, solo dos mostraron algún grado de hidrofobicidad.” (Rafiq, Fathima, Shahina, & Ramesh, 2018)

4.5.3.4 Cambio en el pH

Esto sucede por la actividad metabólica de los microorganismos la cual se encuentra relacionada con la degradación de plásticos, un ejemplo de este análisis fue realizado mediante un estudio en la biodegradación de PEBD utilizando hongos en donde “las reacciones bioquímicas mediadas por las enzimas fúngicas están asociadas con la despolimerización de PEBD a sus constituyentes, lo que resulta en cambios de pH del medio. Inicialmente, todos los estudios de biodegradación se llevaron a cabo a pH neutro 7.0, que

cambió a pH alcalino 9.34, 9.9, 7.9 para *A. flavus*, *A. versicolor* y *F. solani*, respectivamente.

(Ilustración 10)” (Paul, Santosh, & Jayabrata, 2018)

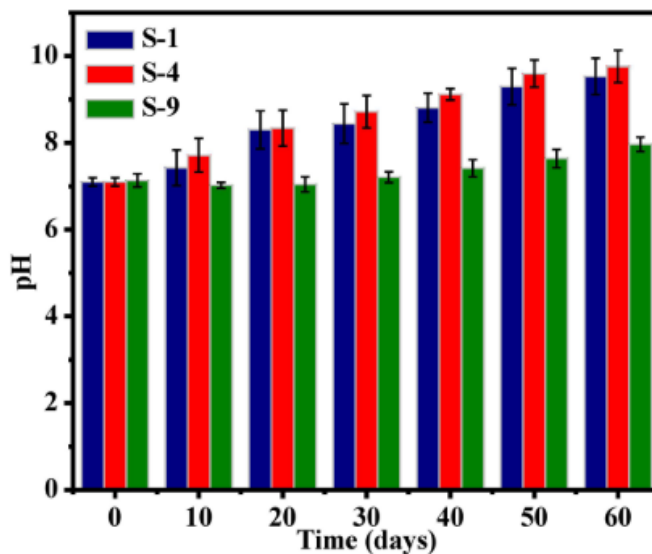


Ilustración 15 Variación de pH debido a la actividad metabólica de diferentes manchas de hongos incluye *A. flavus* (S-1), *A. versicolor* (S-4) y *F. solani* (S-9) durante los 60 días del período de incubación. Los datos se expresan como medias de triplicado \pm desviación estándar

4.5.4 Pruebas cuantitativas en la biodegradación de PET y PEBD

4.5.4.1 Cuantificación de biomasa

La cuantificación de biomasa es el crecimiento de la cepa bacteriana influenciado por los nutrientes que existan en el medio para el caso del plástico es mediante fuentes de carbono como lo explican los siguientes autores “La bacteria de descomposición de PET neutral F4 y la bacteria de descomposición de PET resistente a los álcalis F6 se cultivaron respectivamente durante 48 h en condiciones de pH = 7 y pH = 12 con micropartículas de PET como única fuente de carbono.” (Gong et al., 2018) “Al momento de extraer las muestras de plástico de sus medios de cultivo, lo que primero se notó fue la gran cantidad de material biológico que

se desarrolló, el cual se encontraba adherido a las muestras. Las acumulaciones de material biológico tomaron una forma circular, acorde a la geometría de los recipientes. Se apreció también que la tonalidad del medio de cultivo cambió significativamente en ciertas cepas."

(Espinoza Arias, 2018)



Ilustración 16 Crecimiento de material biológico.

4.5.4.2 Valoración Gravimétrica del Material

Esta técnica es una manera sencilla y eficaz para medir la biodegradación de los polímeros mediante la pérdida de peso, para realizar el análisis se necesita una balanza con la que se procede a pesar las láminas de los plásticos antes y después de realizada la biodegradación luego de realizar la toma de pesos se utiliza la siguiente ecuación:

$$\frac{P_f - P_i}{P_i} \times 100$$

En donde *P_f*: *Peso Final (después de incubación)* y *P_i*: *Peso inicial* (Mostafa, Sourell, & Bockisch, 2010).

A continuación, se presenta una investigación en la degradación de PEBD mediante poblaciones microbianas terrestres en donde se utilizó la técnica anteriormente mencionada,

dicho estudio realizó una tabla de comparación entre el peso inicial, peso final y porcentaje de pérdida de peso tras 45 días de incubación “mostró la ausencia de pérdidas de peso significativas, de acuerdo con el resultado del análisis estadístico de los datos, mediante una T de Student (programa Statistix, versión 9, Analytical Software) ver Tabla 2” (Espinilla Peña, 2017)

Tabla 2 Pérdida de peso de láminas de PEBD, tras 45 días de incubación con poblaciones microbianas terrestres.

ENSAYOS	RÉPLICAS	PESO INICIAL	PESO FINAL	PÉRDIDA DE PESO (%)
Cultivos	R1	0,1094	0,1084	-0,914
	R2	0,0825	0,0865	4,14
	R3	0,0867	0,0823	-0,230
	R7	0,1149	0,1145	-0,35
	R8	0,0933	0,0943	1,07
	R9	0,0875	0,0870	-0,57
Controles	C4	0,0897	0,0892	-0,557
	C5	0,0959	0,0957	-0,209
	C6	0,0906	0,0909	0,33
	C10	0,0933	0,0936	0,32
	C11	0,1126	0,1129	0,26
	C12	0,0966	0,0968	0,20
Media Cultivo \pm SE				0,641 \pm 0,88
Media Control \pm SE				0,057 \pm 0,15

4.5.5 Técnicas cromatografías para analizar la biodegradación de PET Y PEBD.

4.5.5.1 Cromatografía líquida (HPLC)

Este tipo de análisis permite observar los cambios producidos en los materiales mediante organismos. “La HPLC se usa para analizar los productos de degradación

metabólica de los xenobióticos”(Mahalakshmi, 2014) un estudio realizó el siguiente procedimiento para medir la biodegradación de PET mediante microorganismos. “Los productos de degradación de PET se separaron usando un RP-C18 / C8 (250 mm × 4,6 mm) a un caudal de 1 ml / min en un sistema purificador equipado con un inyector de muestra manual y un detector de longitud de onda dual visible SPD-15C UV. Se usó una mezcla de metanol al 60% y agua al 40% (50 mmolL⁻¹ KH₂PO₄, H₃PO₄, pH = 2) (v / v) como la fase móvil. El volumen de inyección fue de 5 µl y la columna se mantuvo a una temperatura de 40 ° C. Los productos separados se detectaron a una longitud de onda de 240 nm. (...) Para asegurar que existía degradación de Ácido Tereftálico, fue cuantificada la concentración del precursor por HPLC. A partir de la teoría de HPLC por los métodos de cuantificación, fue determinada la concentración de las muestras, sabiendo que el área esta proporcionalmente relacionada con la concentración.” (Arciniega Carreon, 2008).

Pero eso no es todo, un estudio reciente observó mediante HPLC la biodegradación de micro PET mediante agentes microbianos principalmente en condiciones neutras, células enteras en condiciones alcalinas y en condiciones netamente alcalinas esto dio como resultado que, “Al comparar la cantidad de productos de descomposición de PET en diferentes condiciones, se encontró que la cantidad de productos de descomposición de PET biocatalíticos fue la más alta en condiciones alcalinas. (...) La cantidad del producto de biodegradación en condiciones alcalinas fue mayor que la suma de la cantidad de biodegradación en condiciones neutras y la cantidad de hidrólisis alcalina. Esto muestra que el efecto de descomposición biocatalítica del PET en condiciones alcalinas no es solo una simple superposición de biocatálisis e hidrólisis catalizada por bases.” Esto es representado en la siguiente imagen (Gong et al., 2018)

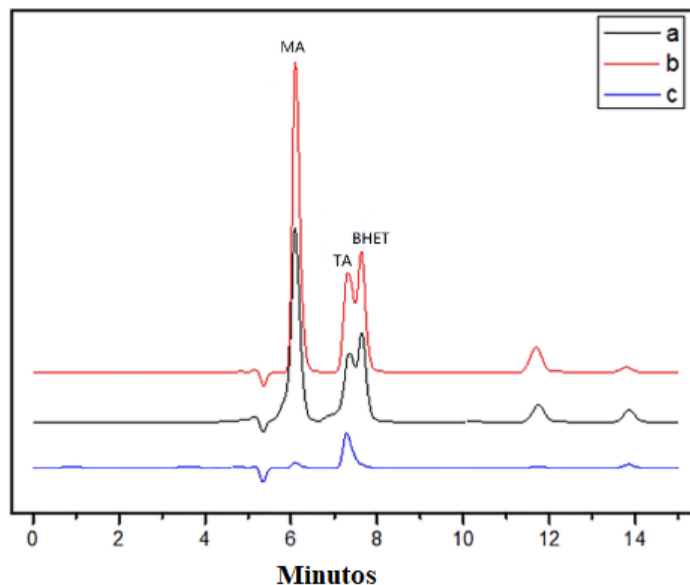


Ilustración 17 solución de cultivo de PET en catálisis celular completa (a) Productos de descomposición de PET biocatalizados de células enteras en condiciones neutras. (b) productos de descomposición de PET biocatalizados de células enteras en condiciones alcalinas. (c) Productos de descomposición de PET en condiciones alcalinas

4.5.5.2 Cromatografía de exclusión o permeación en gel de alta temperatura (GPC)

El GPC es una técnica que se ha denominado de tamices moleculares o filtración en gel, es un tipo de cromatografía sólido-líquido el cual, “separa los polímeros polidispersos en fracciones por tamizado mediante un gel de poliestireno con enlaces cruzados u otro de características semejantes” (Yepes Aguirre, 2014). Un estudio determinó los cambios del peso molecular dicha información se presenta en la ilustración “El peso molecular del LDPE irradiado se redujo de su cantidad inicial de 66739-54686 KD durante la incubación con una mezcla de hongos. Los resultados del presente estudio están de acuerdo con la mayoría de los informes sobre biodegradación de polietileno” (Zahra, Abbas, Mahsa, & Mohsen, 2010).

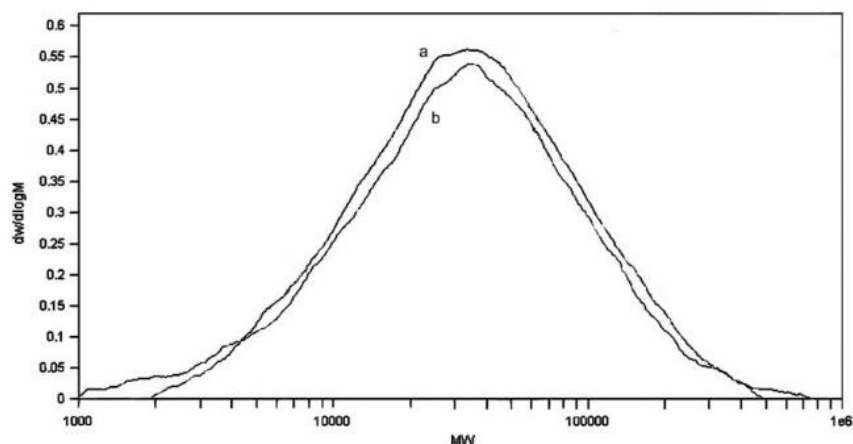


Ilustración 18 Resultados GPC de películas PEBD irradiadas con UV. (a) Antes de la incubación con una mezcla de hongos; (b) después de la incubación con una mezcla de hongos

4.5.5.3 Cromatografía de Gases (CG)

Es una técnica que puede ser utilizada para separar compuestos orgánicos basada en sus volatilidades, generando información cualitativa y cuantitativa de los componentes presentes en una mezcla. Dicho procedimiento está siendo utilizado en la biodegradación de plásticos con el fin de observar si existe degradación en los plásticos por medio de microorganismos “Los análisis de los medios de cultivo mediante cromatografía de gases inmediatamente después del tratamiento con UV y después de la biodegradación microbiana por *Acinetobacter pittii* IRN 19 mostraron la producción de la extracción de alcanos lineales (C21 – C32) que confirmaron la fragmentación del polietileno.”(Montazer et al., 2018)

4.5.6 Técnicas Microscópicas en la degradación de PET y PEBD mediante microorganismos.

4.5.6.1 Microscopia Electrónica de barrido (SEM)

La Microscopia Electronica de Barrido (SEM) es utilizada para observar las condiciones físicas en las que se puede encontrar el plástico después del ataque microbiano, es decir, SEM permite observar el debilitamiento físico del material realizada por tratamientos biológicos puesto que, proporciona información “sobre topografía, composición y estructura según los tres ejes X, Y, Z; y variar su orientación según dos ejes de rotación” (Ipohorski & Bozzano, 2013). Algunos estudios han observado “ la presencia de microbios dentro del tereftalato de polietileno, utilizando micrografías de microscopía electrónica de barrido (SEM)” (Alshehrei, 2017) . En la biodegradación de PEBD mediante hongos ha encontrado “una mayor rugosidad en la superficie del plástico, en comparación con las muestras previo y posterior al tratamiento de envejecimiento térmico y biológico. También se observaron las formaciones circulares originadas en el tratamiento de envejecimiento térmico. (...) en las muestras biodegradadas se encontraron formaciones que sugieren actividad microbiana, como erosión superficial, agujeros, fisuras, rugosidades especiales, entre otros.” (Ilustración 15) (Espinoza Arias, 2018)

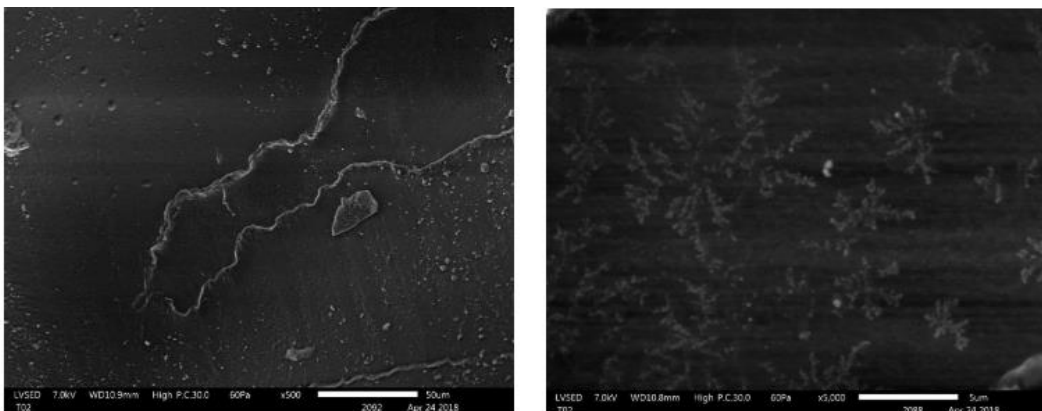


Ilustración 19 SEM de control positivo de crecimiento microbiano (*Penicillium*) 500x 500.(Espinoza Arias, 2018)

4.5.6.2 Microscopia de fuerza atómica (AFM)

La microscopia de Fuerza Atomica (MFA) se utiliza para caracterizar la superficie de muestras sólidas y semisólidas, relativamente planas. “La técnica proporciona información morfológica en 3D, a escala nanométrica, a partir de imágenes topográficas de las mismas, así como parámetros superficiales tales como rugosidad, distribución (homogeneidad) de partículas sobre diversos materiales, como, por ejemplo, láminas de plástico.”(Martín Peraza, 2017). Este tipo de instrumento permite medir la estructura superficial del material degradado por microorganismos, “en la presente ilustración se observa que, el análisis AFM de las láminas de plástico puede revelar picaduras o surcos, o cambios morfológicos en las láminas causados por la degradación por los aislamientos fúngicos. Es probable que estos aislamientos produzcan enzimas únicas que son capaces de degradar el polietileno, y tales actividades enzimáticas dan como resultado la formación de surcos” (Ojha et al., 2017)

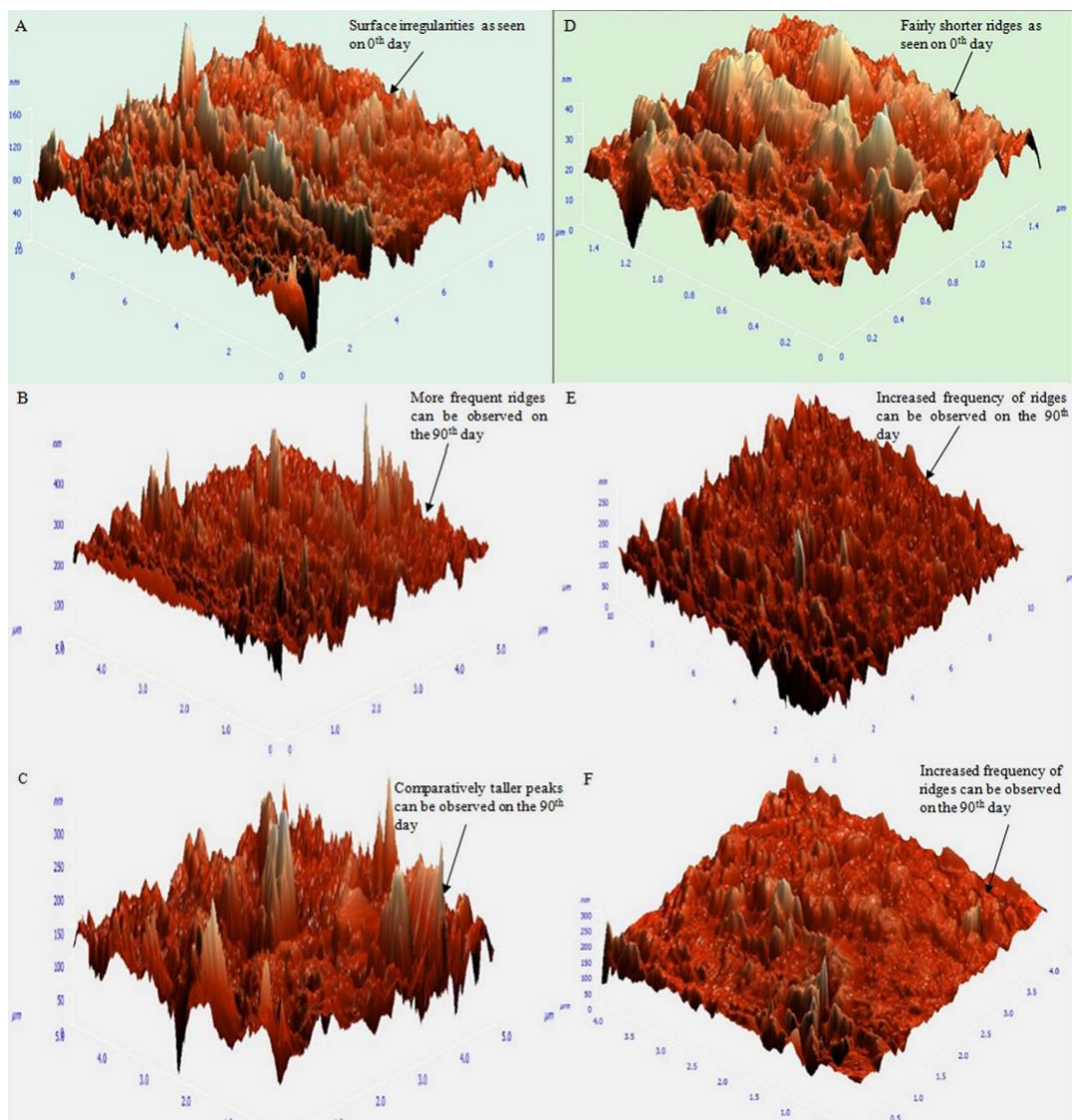


Ilustración 20 Vista microscópica de fuerza atómica 3D de las láminas degradadas de HDPE y PEBD. (A) Hoja de HDPE como se ve el día 0 (control). (B) lámina de HDPE degradada por NS4 después de 90 días de incubación. (C) lámina de HDPE degradada por NS10 después de 90 días de incubación. (D) Hoja de PEBD como se ve el día 0 (control). (E) Lámina de PEBD degradada por NS4 después de 90 días de incubación. (F) Lámina de PEBD degradada por NS10 después de 90 días de incubación.

4.5.7 Tiempo utilizado en la biodegradación de PET y PEBD en los artículos relacionados con el numeral 4.5

La presente tabla realiza una agrupación y resumen sobre las investigaciones planteadas en el sub capítulo (4.5) *Técnicas desarrolladas para estudiar la biodegradación de plástico*. Con el fin de reconocer el tiempo utilizado en dichas experimentaciones, la gran mayoría de los estudios cuantificó la degradación de PET y PEBD en un intervalo de 30 a 60 días, estas condiciones pueden estar influenciadas por la pérdida de población microbiana debido a factores químicos (pH, nutrientes presentes, oxígeno), factores físicos como temperatura, exposición de radiación y las sustancias presentes en el polímero (peso molecular del polímero, condiciones químicas, entre otros) (Islam, Saha, Bakr, & Mondal, 2016; Muthukumar & Veerappapillai, 2015; Yang et al., 2018)

Tabla 3 Tiempo en que se realizaron los estudios de la biodegradación acorde al numeral 4.5

Nombre del artículo	Autores	Biodegradación de PET	Biodegradación de PEBD	Tiempo en que se realizó el estudio de la biodegradación del material
Deterioration of irradiation/high-temperature pretreated, linear low-density polyethylene (LLDPE) by <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Čeněk Novotný ^{a,b} , Kateřina Malachová ^a , Grażyna Adamusc, Michał Kwiecieńc, Nadia Lottid, Michelina Socciod, Vincent Verneye, Fabio Fava		X	20, 40 y 60 días
Efficient biodegradation of low-density polyethylene by cyanobacteria isolated from submerged	Pampi Sarmah Jayashree Rout		X	42 días

Nombre del articulo	Autores	Biodegradación de PET	Biodegradación de PEBD	Tiempo en que se realizó el estudio de la biodegradación del material
polyethylene surface in domestic sewage water				
Degradation Behaviors of Linear Low-Density Polyethylene and Poly(L-lactic acid) Blends	Singh, Gursewak Kaur, Navleen Haripada, Bhunia Bajpai, Pramod Mandal, Uttam		X	28 días
A practical fluorescence-based screening protocol for polyethylene terephthalate degrading microorganisms	Chaves, Michel R.B. Lima, Maria L.S.O. Malafatti-Picca, Lusiane De Angelis, Derlene A. De Castro, Aline M. Valoni, Érika Marsaioli, Anita J.	X		15 días
Biodegradation of polyethylene terephthalate waste using Streptomyces species and kinetic modeling of the process	Farzi, Ali Dehnad, Alireza Fotouhi, Afsaneh F.	X		18 días
Biodegradación de polietileno de tereftalato por microorganismos aislados de sitios de disposición final de residuos sólidos, táchira, Venezuela	Gómez, Jhonathan Oliveros, Cleomary	X		15 días
Biodegradation of Low-Density Polyethylene (LDPE)	Esmaeili, Atefeh		X	126 días

Nombre del articulo	Autores	Biodegradación de PET	Biodegradación de PEBD	Tiempo en que se realizó el estudio de la biodegradación del material
by Mixed Culture of Lysinibacillus xylanilyticus and Aspergillus niger in Soil	Pourbabae, Ahmad Ali Alikhani, Hossein Ali Shabani, Farzin Esmaeili, Ensieh			
Biodegradation of Low Density Polyethylene (LDPE) by Halophilic Bacteria Isolated from Solar Saltpans, Kovalam, Chennai	Rafiq, Summera Fathima, Fahmida Shahina, S K Jasmine Ramesh, K Vijaya		X	60 días
Fungal-mediated deterioration and biodegradation study of low-density polyethylene (LDPE) isolated from municipal dump yard in Chennai , India	Paul, Merina Santosh, Das Jayabrata, Kumar		X	60 días
Biodegradation of low density polyethylene (LDPE) modified with dye sensitized titania and starch blend using Stenotrophomonas pavanii	Mehmood, Ch Tahir Qazi, Ishtiaq A. Hashmi, Imran Bhargava, Samarth Deepa, Sriramulu		X	56 días
Evaluación de la degradación de polietileno de baja densidad mediada por diferentes especies de hongos.	Espinoza Arias, Luis Moisés		X	35, 60 y 90 días
Estudio preliminar de la degradación de plásticos por poblaciones	Espinilla Peña, M.		X	45 días

Nombre del articulo	Autores	Biodegradación de PET	Biodegradación de PEBD	Tiempo en que se realizó el estudio de la biodegradación del material
bacterianas presentes en suelo del Complejo Ambiental de Arico				
Aislamiento de microorganismos degradadores de tereftalato de polietileno (PET) en medio ambiente	Arciniega Carreon, Ilse Yazmin	X		25 días
Biodegradation of Microplastic Derived from Poly (ethylene terephthalate) with Bacterial Whole-Cell Biocatalysts	Gong, Jixian Kong, Tongtong Li, Yuqiang Li, Qiujin Li, Zheng Zhang, Jianfei	X		2 días
Biodegradation of low-density polyethylene (LDPE) by isolated fungi in solid waste medium	Zahra, Sahebnazar Abbas, Shojaosadati Seyed Mahsa, Mohammad Taheri Mohsen, Nosrati		X	100 días
Microbial Degradation of UV-Pretreated Low-Density Polyethylene Films by Novel Polyethylene-Degrading Bacteria Isolated from Plastic-Dump Soil	Montazer, Zahra Habibi-Najafi, Mohammad B. Mohebbi, Mohabbat Oromiehei, Abdulrasool		X	30 días
Evaluation of HDPE and LDPE degradation by fungus, implemented by statistical optimization				30, 60 Y 90 días

La gran mayoría de los estudios investigados y recopilados hasta el momento han demostrado una mayor preferencia para cuantificar la biodegradación de PET y PEBD mediante las siguientes técnicas: FTIR, Espectroscopia de masas, cantidad de CO₂, Valoración Gravimétrica, cambio físico del material, Microscopia electrónica de barrido y la microscopia de fuerza atómica. Estos procedimientos demuestran lo planteado anteriormente y supone que la mayoría de investigaciones analizan los resultados mediante procedimientos sencillos o poco costosos. No obstante, la utilización de microorganismos para degradar plásticos logra presentar algunos pros y contras, dicha información se encuentra presentada en el capítulo posterior.

5. Ventajas y Desventajas que presenta la biodegradación de PET Y PEBD.

Partiendo de capítulos anteriores realizaremos el análisis de las ventajas y desventajas que presenta la degradación de PET Y PEBD mediante la utilización de microorganismos.

5.1 Ventajas de la biodegradación de PET y PEBD

El incremento de residuos de plástico influencia la capacidad de eliminación de dichos desechos, por lo tanto, la utilización de microorganismos en la degradación de plásticos presenta ventajas como:

La reducción del material almacenado en el medio ambiente, biodisponibilidad de microplástico como nutrientes para microorganismos.

A diferencia de la incineración y la permanencia en rellenos sanitarios, la biodegradación disminuye los subproductos de naturaleza tóxica, sin embargo, esto dependerá de las sustancias químicas o aditivos presentes en dicho material.

No genera gastos masivos en energía y en la economía lo cual es viable para las industrias.

5.2 Desventajas de la biodegradación de PET y PEBD

Entre las desventajas que presenta esta actividad se encuentra:

La cantidad de plástico degradado por los microorganismos es mínima en comparación a la cantidad de residuos que se producen, esto se encuentra relacionado con las capacidades adaptativas que presenta el microorganismo para descomponer el material.

Para que la biodegradación en el material sea exitosa dependerá de factores físicos (condiciones del entorno, suelo, agua, radiación solar, entre otros), factores químicos (pH, aditivos, etc.) y las sustancias presentes en el polímero.

Se necesitan pretratamientos para que la biodegradación sea más efectiva.

Conviene subrayar que, las ventajas y desventajas anteriormente mencionadas no abarcan por completo dicho tema, sin embargo, es un análisis en cuanto a la recopilación de los estudios y/o artículos realizados por diferentes autores acordes a la degradación de microorganismos. Los plásticos son un material complejo y en algunas ocasiones los microorganismos no logran deteriorar el material por diversos factores como pueden ser el lugar de disposición, las sustancias que contenía dicho plástico, entre otros. Por tal motivo el siguiente capítulo presenta una alternativa para ser investigada en el campo de la biodegradación, en ella se realiza una recopilación de qué tipo de microorganismos han sido estudiados en dicho campo y que son acordes a la degradación de PET y PEBD, además, se incluye una metodología para llevar el proceso.

6. Microorganismos estimulados con ondas sonoras ¿una posible alternativa para la biodegradación de PET y PEBD?

Para abarcar el siguiente capítulo es importante comprender la definición de las ondas sonoras. El sonido se define como un fenómeno que involucra la propagación de ondas a través de un medio, es decir es un fenómeno físico ondulatorio que se dispersa o se propaga a través del aire, el sonido se presenta en unidades de Hertz o hercio (Hz). “Una onda de sonido es una perturbación que se transporta a través de un medio, las partículas interactúan entre sí.” (Shaobin et al., 2010). Para que el sonido sea captado por el oído humano requiere que la frecuencia se encuentre entre los 20 Hz y los 20000 Hz.

Aunque suene algo extraño la influencia de las ondas sonoras en los organismos es posible debido a que se ha demostrado que los microorganismos presentan una posible señal de comunicación en donde “el sonido es emitido para transportar información sobre su estado metabólico (...). Los canales iónicos mecano-sensibles extendidos entre los microorganismos permiten la entrada de iones y la polarización interna en respuesta en la bicapa lipídica, proporcionando así un mecanismo para la recepción y transducción de señales de sonido.”(Reguera, 2011). A pesar de que el sonido es un factor universalmente presente, su efecto sobre las formas de vida microbianas no ha recibido suficiente investigación por la comunidad científica, sin embargo, existen algunas investigaciones las cuales son recopiladas a continuación.

Como se mencionó en el anterior párrafo se hallan algunas investigaciones en donde el sonido logra estimular a los microorganismos o pueden acelerar algunos procesos en el desarrollo de los seres vivos. “El efecto de las señales de sonido se determinó por la eficiencia de la formación de colonias. Matsushashi y sus compañeros de trabajo encontraron que había

una mayor formación de colonias cuando se encendía el generador de sonido.”(Trushin, 2003). Las ondas sonoras emitidas para la estimulación de microorganismos pueden variar, es el ejemplo del presente estudio que realizó su investigación sobre el crecimiento de microorganismos y producción de ciertos metabolitos importantes. La investigación “comprendió un rango de frecuencia entre 38 – 689 Hz utilizando dos tipos de bacterias Gram- negativas usados en este estudio *S. marcescens* y *C. violaceum* en este último se observó el crecimiento y pigmentación producido por la influencia de ondas sonoras.” (Sarvaiya & Kothari, 2015)

A su vez, se han presentado estudios sobre el sonido audible el cual es capaz de influenciar en el crecimiento microbiano, metabolismo y la susceptibilidad al antibiótico los cuales utilizaron un rango de sonido de 41 a 645 Hz. “El estudio utilizó un registro para observar el crecimiento y la influencia de las frecuencias en los microorganismos: *Xanthomonas campestris*, *Chromobacterium violaceum*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus mutans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*.” (Sarvaiya & Kothari, 2017). La investigación reportó una disminución de crecimiento en el microorganismo *S. marcescens* mientras que en los demás microorganismos mencionados anteriormente se encontró un mayor crecimiento de la población en un rango de 4% a 13%.

Las ondas sonoras también pueden ser utilizadas para observar si existen cambios en la permeabilidad de la membrana y en las actividades enzimáticas, una investigación utilizó el sonido como estimulación para la germinación de endosporas en el microorganismo *Bacillus*, la medición de dicho experimento fue realizado mediante: ensayo de fluorescencia de dipicolinato de terbio, medición de densidad óptica y microscopía de contraste. El resultado

obtenido determinó que, “la estimulación sónica (5 kHz a 90 dB) promovió la velocidad de germinación en $43.7\% \pm 11.3\%$ y el nivel de germinación final en $61.7\% \pm 11.9\%$ de *Bacillus atrophaeus*. Esta energía acústica absorbida por las endosporas se postula para cambiar la permeabilidad de la membrana y aumentar las actividades enzimáticas; de ese modo, agilizando el proceso de germinación.” (Liu, Wu, & Yung, 2015)

Pero eso no es todo un estudio realizó la prueba mediante 9 fases o frecuencias que varían entre los 100 Hz hasta los 2000 Hz y utilizaron dos cepas bacterianas la primera es la *P. aeruginosa* y *Serratia marcescens* dicho estudio explicó que “Los nueve tratamientos sónicos pudieron alterar significativamente el crecimiento de *P. aeruginosa* mientras que, para la *S. marcescens* todas las frecuencias de prueba pudieron alterar uno o ambos parámetros de prueba (por ejemplo, crecimiento y producción de pigmento)” (Kothari et al., 2017)

La siguiente tabla presenta una recopilación de estudios donde se obtienen las siguientes características: tipos de microorganismos, el rango de sonido aplicado y su respuesta ante este tipo de frecuencias.

Tabla 4 Caracterización de estudios realizados en microorganismos estimulados con ondas sonoras.

Microorganismos	Rango de sonido			Porcentaje de crecimiento en fase 1	Porcentaje de crecimiento en fase 2	Porcentaje de crecimiento en fase 3
	Fase 1	Fase 2	Fase 3			
<i>Chromobacterium violaceum</i>	150-7811Hz 172- 581 Hz	43-5620 Hz 86- 839 Hz	70 – 90 dB 85 – 110 Db	4.00%	-24.19%	N.A
	300 Hz	N.A	N.A	1.44%	N.A	N.A
	41 – 645 Hz	N.A	N.A	9.36%	N.A	N.A
	300 – 400 Hz	600 Hz-700 Hz	2000 Hz	4.54%	N.A	N.A

Microorganismos	Rango de sonido			Porcentaje de crecimiento en fase 1	Porcentaje de crecimiento en fase 2	Porcentaje de crecimiento en fase 3
	Fase 1	Fase 2	Fase 3			
	38 – 689 Hz	N.A	N.A	40.37% OD	N.A	N.A
<i>Serratia marcescens</i>	150-7811Hz 172- 581 Hz	43-5620 Hz 86- 839 Hz	70 – 90 dB 85 – 110 Db	-4.32%	- 7.46%	N.A
	41 – 645 Hz	N.A	N.A	-7.05%	N.A	N.A
	38 – 689 Hz	N.A	N.A	-7.86% OD	N.A	N.A
<i>Xanthomonas campestris</i>	150-7811Hz 172- 581 Hz	43-5620 Hz 86- 839 Hz	70 – 90 dB 85 – 110 Db	6.66%	9.32%	N.A
	41 – 645 Hz	N.A	N.A	9.62%	N.A	N.A
<i>Brevibacillus parabrevis</i>	150-7811Hz 172- 581 Hz	43-5620 Hz 86- 839 Hz	70 – 90 dB 85 – 110 Db	18.75%	18%	N.A
<i>Lactobacillus plantarum</i>	150-7811Hz 172- 581 Hz	43-5620 Hz 86- 839 Hz	70 – 90 dB 85 – 110 Db	6.14%	3.41%	N.A
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	150-7811Hz 172- 581 Hz	43-5620 Hz 86- 839 Hz	70 – 90 dB 85 – 110 Db	8.94%	4.68%	N.A
	41 – 645 Hz	N.A	N.A	4.28%	N.A	N.A
	38 – 689 Hz	N.A	N.A	3.15% OD	N.A	N.A
<i>Streptococcus mutans</i>	41 – 645 Hz	N.A	N.A	8.27%	N.A	N.A
<i>Streptococcus pyogenes</i>	41 – 645 Hz	N.A	N.A	14.89%	N.A	N.A
	38 – 689 Hz	N.A	N.A	24.63% OD	N.A	N.A
<i>Staphylococcus aureus</i>	41 – 645 Hz	N.A	N.A	9.57%	N.A	N.A
	38 – 689 Hz	N.A	N.A	8.59% OD	N.A	N.A
<i>Candida albicans</i>	41 – 645 Hz	N.A	N.A	13.23%	N.A	N.A

Microorganismos	Rango de sonido			Porcentaje de crecimiento en fase 1	Porcentaje de crecimiento en fase 2	Porcentaje de crecimiento en fase 3
	Fase 1	Fase 2	Fase 3			
		38 – 689 Hz	N.A			
<i>E. coli</i>	1,5- 10 Hz	N.A	N.A	2- 3 %	N.A	N.A
	1 Hz	5Hz	15 Hz	7 %	34%	30.5%
<i>Bacillus carboniphilus</i>	6 – 10 kHz	18 – 22 kHz	28 – 38 kHz	No definido	No definido	No definido
<i>Bacillus subtilis</i>	8.5 kHz	19 – 29 kHz	37 kHz	No definido	No definido	No definido
<i>Bacillus atrophaeus</i>	5 kHz	90 Db	N.A	No definido	No definido	No definido
<i>B. subtilis</i>	5 kHz	90 Db	N.A	No definido	No definido	No definido

Fuente: Propia

La conglomeración de la información investigada permite conocer las características que se pueden ver influenciadas en los microbios mediante la aplicación de frecuencias sonoras. En la tabla número 4 se realiza un pequeño listado de microorganismos influenciados mediante el sonido, pero ¿cómo es realizada esta estimulación? ¿las ondas sonoras pueden estimular a los microorganismos para una mejor degradación de plástico? En el presente capítulo se realiza una propuesta mediante algunas metodologías utilizadas en dichas investigaciones para la aplicación del sonido en las bacterias degradadoras de plástico.

6.1 Propuesta Metodológica para la estimulación de bacterias degradadoras de plástico mediante ondas sonoras.

La gran mayoría de los estudios recopilados en este trabajo abarcan la siguiente metodología:

En primer paso es la creación o grabación de las ondas sonoras la cual puede ser generada mediante altavoces o generadores de tonos por ejemplo una investigación utilizó “NCH generador de tono y utilizaron un editor master de sonido de ondas v 5.5. de cierto

modo tiene un tiempo de segundos entre las dos consecutivas ondas profundas.” (Joshi et al., 2018). La investigación realizó la prueba mediante la cepa *Chromobacterium violaceum* con el fin de observar el crecimiento y la producción de pigmento en dicha bacteria en los resultados se obtuvo un balance positivo para el uso del sonido en estos procesos.

Luego de realizar dicho paso los microorganismos inoculados en diferentes sustancias pasan a una cámara la cual aísla completamente el sonido. La cámara contiene un altavoz en donde las frecuencias grabadas son generadas a un rango medido en dB este altavoz se encuentra a una distancia mínima de 15 cm (ver ilustración 5.) el material para aislar el sonido puede ser desde fomi, cartón, icopor, entre otros.

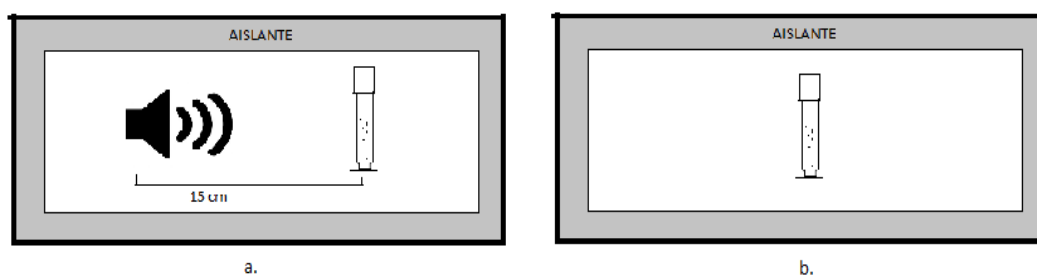


Figura 1. Montaje experimental; a). grupo experimental y b). Grupo control

Ilustración 21 Metodología para la aplicación de ondas sonoras en microorganismos. Fuente: Propia

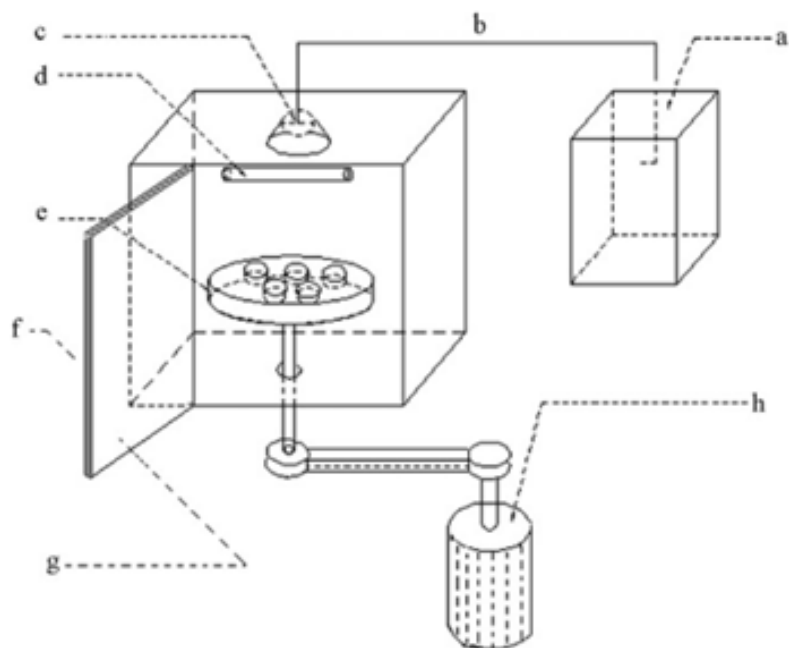


Ilustración 22 Esquema de ondas sonoras para experimentación. a) mediante la unidad generadora de frecuencias, b) la transferencia del sonido mediante un cable, c) altavoz, d) lámpara UV (utilizada para la esterilización antes de iniciar con la experimentación de simulación de sonido), e) porta muestras, f) pared exterior de la cámara (algunas ocasiones realizada en metal), g) pared inferior de la cámara (desarrollada con material que absorbe el sonido) y h) motor. La presente imagen fue tomada de: (Gu, Zhang, & Wu, 2016;

Shaobin et al., 2010)

Cabe mencionar que el nivel de respuesta de los microorganismos dependerá del rango de frecuencias a utilizar para dichos experimentos es el ejemplo con el microorganismo *E. coli* el cual advierte que “el grado de respuesta es diferente a una frecuencia de sonido distinto. Esto es coherente con el hallazgo reportado por otros investigadores. En este experimento, encontramos que *E. coli* en NA y NB respondió más al sonido a una frecuencia de 5 kHz en comparación con otras frecuencias.” (Lee Ying, Dayou, & Phin, 2009) A continuación se presenta las fotografías de dicho estudio en donde se logra comprender que efectivamente el mejor rango de frecuencia para el crecimiento microbiano es de 5kHz.

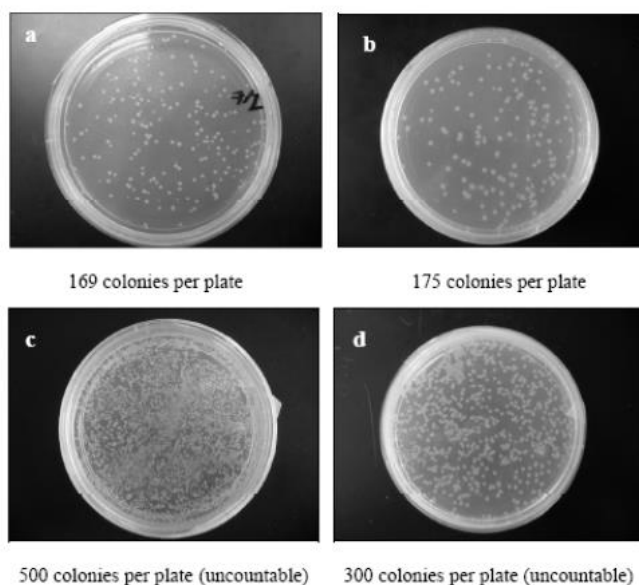


Figure 3. Number of colony per plate for the different sound treatments.

(a) Control, (b) 1kHz, (c) 5 kHz and (d) 15kHz

Ilustración 23 Numero de colonias en diferentes tratamientos de sonido a) muestra control, b) 1kHz, c) 5kHz y d)

15kHz fuente: (Lee Ying et al., 2009)

Continuando con el microorganismo *E. coli* uno de las investigaciones logró determinar que “el microorganismo expuesto a ondas de sonido poseía una biomasa más alta y una tasa de crecimiento específico más rápida en comparación con el grupo de control.

Además, la longitud promedio de las células *E. coli K-12* aumentó más del 27,26%. (...) Además, se observó que *E. coli K-12* puede responder rápidamente al estrés acústico tanto a nivel transcripcional como postranscripcional promoviendo la síntesis de ARN intracelular y proteína total.” (Gu et al., 2016). Esto es determinante puesto que la contaminación acústica si logra influenciar y estresar a los microbios para un aumento o disminución de su propia población.

El sonido logra influenciar a los microorganismos debido a que logra traspasar los canales mecanosensibles. “Todas las células incluidas las de bacterias, tienen la capacidad de detectar y responder a fuerzas mecánicas. Cuando la membrana está bajo presión, las proteínas del canal pueden abrirse directamente. La vibración / presión externa puede alterar el flujo de iones a través de proteínas de canal mecanosensibles. El canal mecanosensible en la levadura también es sensible al estiramiento de la membrana. Es posible que las proteínas ubicadas en la bicapa lipídica puedan responder a los cambios (originados por las vibraciones creadas por las ondas sonoras) en el entorno mecánico proporcionado por la bicapa lipídica.” (Kung, Martinac, & Sukharev, 2010)

Sintetizando lo mencionado en este capítulo podemos decir que, el crecimiento microbiano se encuentra influenciado en las frecuencias sonoras puesto que, algunas frecuencias pueden generar la disminución de los microbios o su propio aumento, por tal motivo, es importante realizar un análisis de los diversos estudios con el fin de encontrar las ondas sonoras más aptas para ser aplicadas a los microbios capaces de degradar el plástico. Por otro lado, se logra visualizar que en la recopilación de la tabla 1 y 4 que, existe una bacteria en común la cual es: *E. coli* por tanto, se sugiere utilizar dicho microorganismo para la elaboración de la metodología propuesta.

3. Conclusiones

La biorremediación mediante agentes microbianos es una buena alternativa para la descomposición de plásticos siempre y cuando se comprenda que es una relación entre microorganismos y las condiciones del entorno.

La recopilación de la información permite conocer que los seres vivos presentan características adaptativas para obtener su fuente de carbono y energía, es el caso de los microorganismos quienes utilizan el PET y PEBD como su principal fuente de alimento.

La mayoría de los estudios han demostrado que los microorganismos que son hidrofóbicos generan una mayor invasión o absorción del plástico. Debido a que las bacterias y hongos presentan una mejor atracción a materiales que no presentan absorción del agua.

Las investigaciones en relación entre microorganismos y PEBD se encuentra en un constante crecimiento, diversas investigaciones han logrado revisar y clasificar bacterias y hongos capaces de degradar el material, sin embargo, aún no existe un gran número de estudios referentes a microorganismos capaces de degradar el PET, este es un tema que se debe tomar a consideración por la cantidad de residuos que se están arrojando al ambiente.

Cabe mencionar que, para una mayor degradación debe existir un pretratamiento del plástico como lo es, la aplicación de radiación solar o procesos fototermicos, lo que ayudará a reducir en gran medida la permanencia del material en el entorno por tal motivo debe continuarse explorando sobre alternativas de pretratamiento de plástico, enzimas extracelulares e influencia de otros medios para la degradación del material.

En cuanto a las medidas para observar la degradación de PET y PEBD mediante microorganismos se puede observar una inclinación a utilizar técnicas como Valoración Gravimétrica por su bajo costo, La microscopia electrónica de barrido (SEM) la cual presenta la degradación física del material y la Espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR) que permite observar la transformación química del material.

Se han realizado algunos estudios con *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli* para la degradación de PET y PEBD los cuales han demostrado que efectivamente utilizan el material para su propio desarrollo y, como se logra evidenciar en el capítulo seis (6) dichos microorganismos han sido evaluados para observar la influencia de ondas sonoras en su crecimiento poblacional generando resultados favorables para ser aplicados como un alternativa de pretratamiento en el crecimiento microbiano y en la biodegradación de plásticos.

Recomendaciones

Proseguir con las investigaciones sobre la degradación de PET y PEBD mediante agentes microbianos.

Desarrollar métodos cuantitativos o agrupaciones de métodos para la medición de la degradación de plásticos.

Realizar investigaciones acerca de la influencia de ondas sonoras en la biodegradación de PET y PEBD, se propone utilizar las bacterias *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli* y la metodología descrita en el capítulo 6 del presente documento.

4. Bibliografía

- Abraham, J., Ghosh, E., Mukherjee, P., & Gajendiran, A. (2016). Microbial Degradation of Low Density Polyethylene. *AlChE*, 00(00), 1–8. <https://doi.org/10.1002/ep>
- ACRR. (2004). *Guía de buenas prácticas para el reciclaje de los residuos plásticos*.
- Ahmed, T., Shahid, M., Azeem, F., Rasul, I., Shah, A. A., Noman, M., ... Muhammad, S. (2018). Biodegradation of plastics: current scenario and future prospects for environmental safety. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(8), 7287–7298. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1234-9>
- Alshehrei, F. (2017). Biodegradation of Synthetic and Natural Plastic by Microorganisms. *Journal of Applied & Environmental Microbiology*, Vol. 5, 2017, Pages 8-19, 5(1), 8–19. <https://doi.org/10.12691/JAEM-5-1-2>
- Andrade, L., O'Dwyer, J., O'Neill, E., & Hynds, P. (2018). Surface water flooding, groundwater contamination, and enteric disease in developed countries: A scoping review of connections and consequences. *Environmental Pollution*, 236, 540–549. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.01.104>
- Arciniega Carreon, I. Y. (2008). *AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS DEGRADADORES DE TEREFTALATO DE POLIETILENO (PET) EN MEDIO AMBIENTE COMBINADO*.
- Arhant, M., Le Gall, M., Le Gac, P. Y., & Davies, P. (2019). Impact of hydrolytic degradation on mechanical properties of PET - Towards an understanding of microplastics formation. *Polymer Degradation and Stability*, 161, 175–182.

<https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2019.01.021>

Aurelio Ramírez, Navarro, L. G., & Acevedo, J. C. (2010). Degradación química del poli(etileno tereftalato). *Revista colombiana de química*, 39(200), 321–331. Recuperado de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-28042010000300002&lng=pt&nrm=is&tlng=es

Azoulay, D., Villa, P., Arellano, Y., Gordon, M., Moon, D., Miller, K., & Thompson, K. (2019). Plastic & Health: The Hidden Costs of a Plastic. *CIEL*, 65.

Barbarán Silva, H. M., Cabanillas Paredes, L. J., & Rubio Rodríguez, Y. E. (2018). *Biodegradación de polietileno tereftalato (PET) por acción de Pseudomona aeruginosa, en condiciones de laboratorio.*

Benítez, A., Sánchez, J. J., Arnal, M. L., Müller, A. J., Rodríguez, O., & Morales, G. (2013). Abiotic degradation of LDPE and LLDPE formulated with a pro-oxidant additive. *Polymer Degradation and Stability*, 98(2), 490–501. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2012.12.011>

Bernache-Pérez, G. (2012). RIESGO DE CONTAMINACIÓN POR DISPOSICIÓN FINAL DE RESIDUOS. UN ESTUDIO DE LA REGIÓN CENTRO OCCIDENTE DE MÉXICO. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 28 Sup., (1), 97–105.

Chaves, M. R. B., Lima, M. L. S. O., Malafatti-Picca, L., De Angelis, D. A., De Castro, A. M., Valoni, É., & Marsaioli, A. J. (2018). A practical fluorescence-based screening protocol for polyethylene terephthalate degrading microorganisms. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 29(6), 1278–1285. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20170224>

- CIT - COTEC. (1998). EL PLASTICO A FAVOR DE LA VIDA BOLETÍN TÉCNICO INFORMATIVO N° 8 La Relación entre la Biodegradación y los Residuos Plásticos, 19. Recuperado de <http://www.ingenieroambiental.com/4012/8.pdf>
- Daane, L. L., Harjono, I., Zylstra, G. J., & Häggblom, M. M. (2001). Isolation and Characterization of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-Degrading Bacteria Associated with the Rhizosphere of Salt Marsh Plants. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(6), 2683–2691. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.6.2683>
- Dang, T. C. H., Nguyen, D. T., Thai, H., Nguyen, T. C., Hien Tran, T. T., Le, V. H., ... Nguyen, Q. T. (2018). Plastic degradation by thermophilic *Bacillus* sp. BCBT21 isolated from composting agricultural residual in Vietnam. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 9(1). <https://doi.org/10.1088/2043-6254/aaabaf>
- Demicheli, M. (2019). *Plásticos biodegradables a partir de fuentes renovables. Colombia Laboral y seguridad social.*
- Esmaeili, A., Pourbabaee, A. A., Alikhani, H. A., Shabani, F., & Esmaeili, E. (2013). Biodegradation of Low-Density Polyethylene (LDPE) by Mixed Culture of *Lysinibacillus xylanilyticus* and *Aspergillus niger* in Soil. *PLoS ONE*, 8(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071720>
- Espinilla Peña, M. (2017). *Estudio preliminar de la degradacion de plasticos por poblaciones bacterianas presentes en suelo del Complejo Ambiental de Arico.*
- Espinoza Arias, L. M. (2018). *Evaluación de la degradación de polietileno de baja densidad mediada por diferentes especies de hongos.*

- Farzi, A., Dehnad, A., & Fotouhi, A. F. (2019). Biodegradation of polyethylene terephthalate waste using *Streptomyces* species and kinetic modeling of the process. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *17*(November 2018), 25–31.
<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.11.002>
- Fernanda, M., Contreras, R., Morillas, A. V., María, R., Valdemar, E., Villavicencio, M. B., ... González, U. (2013). Propuesta metodológica para la evaluación de la degradabilidad de Plásticos mediante Composteo. *Int. Contam. Ambie*, *29*(5338), 127–133.
- Gajendiran, A., Krishnamoorthy, S., & Abraham, J. (2016). Microbial degradation of low-density polyethylene (LDPE) by *Aspergillus clavatus* strain JASK1 isolated from landfill soil. *3 Biotech*, *6*(1), 1–6. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0394-x>
- García, P., Huilcaman, M., Allende, F., Gajardo, S. S., & Legarraga, P. (2012). Bacterial identification based on protein mass spectrometry: A new insight at the microbiology of the 21st century. *Revista Chilena de Infectología*, *29*(3), 263–272.
<https://doi.org/10.4067/S0716-10182012000300003>
- Geyer, R., Jambeck, J. R., & Law, K. L. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made - Supplementary Information. *Science Advances*, *3*(7), 19–24.
<https://doi.org/10.1126/sciadv.1700782>
- Gómez-méndez, L. D. (2018). *Transformación física, química y microbiológica de polietileno de baja densidad (PEBD) empleando plasma de Oxígeno, fotocatalisis TiO2 /UV y Pleurotus ostreatus*.
- Gómez, J., & Oliveros, C. (2018). DISPOSICIÓN BIODEGRADACIÓN DE POLIETILENO DE TEREFTALATO POR MICROORGANISMOS AISLADOS DE SITIOS DE FINAL DE

RESIDUOS SÓLIDOS, TÁCHIRA, VENEZUELA Polyethylene terephthalate Biodegra...
Serbiluz, 6 N° 2(September), 57–62.

Gong, J., Kong, T., Li, Y., Li, Q., Li, Z., & Zhang, J. (2018). Biodegradation of Microplastic Derived from Poly (ethylene terephthalate) with Bacterial Whole-Cell Biocatalysts. *mdpi*, 10, 13. <https://doi.org/10.3390/polym10121326>

Góngora, J. (2014). La industria del plástico en México y el mundo. *Comercio Exterior*, 64(5), 6–9. Recuperado de http://revistas.bancomext.gob.mx/rce/magazines/761/3/la_industria_del_plastico.pdf

González García, Y., Meza Contreras, J. C., González Reynoso, O., & Córdova López, J. A. (2013). Síntesis y biodegradación de polihidroxicanoatos: Plásticos de origen microbiano. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, 29(1), 77–115.

Greenpeace. (2018). *Colombia, mejor sin plásticos*. Recuperado de http://greenpeace.co/pdf/reporte_plasticos.pdf

Gu, S., Zhang, Y., & Wu, Y. (2016). Effects of sound exposure on the growth and intracellular macromolecular synthesis of *E. coli* k-12. *PeerJ*, 2016(4), 13. <https://doi.org/10.7717/peerj.1920>

Hynds, P. D., Thomas, M. K., & Pintar, K. D. M. (2014). Contamination of groundwater systems in the US and Canada by enteric pathogens, 1990-2013: A review and pooled-analysis. *PLoS ONE*, 9(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093301>

Ingeniería, E. C. de. (2008). *Identificación de Plásticos Protocolo*.

Ipohorski, M., & Bozzano, P. B. (2013). Microscopía Electrónica de Barrido (SEM): en la

Caracterización de Materiales. *Ciencia e Investigacion*, 63(3), 43–53.

<https://doi.org/10.1093/nq/s10-IV.96.358-a>

Islam, S., Saha, S., Bakr, A., & Mondal, I. (2016). A Review on Biodegradations of Polymers and its Effect on Environment. *Journal of Composites and Biodegradable Polymers*, 3(2), 46–54. <https://doi.org/10.12974/2311-8717.2015.03.02.3>

Jambeck, J. R., Geyer, R., Wilcox, C., Siegler, T. R., Perryman, M., Andrady, A., ... Law, K. L. (2015). Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science*, 347(January), 4.

Janczak, K., Hryniewicz, K., Znajewska, Z., & Dąbrowska, G. (2018). Use of rhizosphere microorganisms in the biodegradation of PLA and PET polymers in compost soil. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 130(November 2017), 65–75. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2018.03.017>

Joshi, C., Patel, P., Singh, A., Sukhadiya, J., Shah, V., & Kothari, V. (2018). Frequency-dependent response of *Chromobacterium violaceum* to sonic stimulation and altered gene expression associated with enhanced violacein production at 300 Hz. *Current Science*, 115(1), 83–90. <https://doi.org/10.18520/cs/v115/i1/83-90>

Kochetov, R., Christen, T., & Gullo, F. (2017). FTIR analysis of LDPE and XLPE thin samples pressed between different protective anti-Adhesive films. *ICEMPE 2017 - 1st International Conference on Electrical Materials and Power Equipment*, 49–52. <https://doi.org/10.1109/ICEMPE.2017.7982097>

Kothari, V., Patel, P., Joshi, C., Mishra, B., Dubey, S., & Mehta, M. (2017). Sonic stimulation can affect production of quorum sensing regulated pigment in *Serratia marcescens* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 11(2), 121–128.

- Kourmentza, C., Plácido, J., Venetsaneas, N., Burniol-Figols, A., Varrone, C., Gavala, H. N., & Reis, M. A. M. (2017). Recent advances and challenges towards sustainable polyhydroxyalkanoate (PHA) production. *Bioengineering*, 4(2), 1–43.
<https://doi.org/10.3390/bioengineering4020055>
- Koutny, M., Amato, P., Muchova, M., Ruzicka, J., & Delort, A. M. (2009). Soil bacterial strains able to grow on the surface of oxidized polyethylene film containing prooxidant additives. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 63(3), 354–357.
<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2008.11.003>
- Kumar, M., Xie, A., & Curley, J. (2019). Determining the Potential Secondary Impacts Associated with Microorganismal Biodegradation of Microplastics in the Marine Environment. *Experimental Secondary Science*, 3(4), 1–12.
- Kumar Sen, S., & Raut, S. (2015). Microbial degradation of low density polyethylene (LDPE): A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 3(1), 462–473.
<https://doi.org/10.1016/j.jece.2015.01.003>
- Kundungal, H., Gangarapu, M., Sarangapani, S., Patchaiyappan, A., & Devipriya, S. P. (2019). Role of Pretreatment and Evidence for the Enhanced Biodegradation and Mineralization of Low Density Polyethylene Films by Greater Waxworm. *Environmental Technology*, 0(0), 1–43. <https://doi.org/10.1080/09593330.2019.1643925>
- Kung, C., Martinac, B., & Sukharev, S. (2010). Mechanosensitive Channels in Microbes. *Annual Review of Microbiology*, 64(1), 313–329.
<https://doi.org/10.1146/annurev.micro.112408.134106>
- Kunlere, I. O., Fagade, O. E., & Nwadike, B. I. (2019). Biodegradation of low density

- polyethylene (LDPE) by certain indigenous bacteria and fungi. *International Journal of Environmental Studies*, 76(3), 428–440. <https://doi.org/10.1080/00207233.2019.1579586>
- Lee Ying, J. C., Dayou, J., & Phin, C. K. (2009). Experimental Investigation on the Effects of Audible Sound to the Growth of *Escherichia coli*. *Modern Applied Science*, 3(3). <https://doi.org/10.5539/mas.v3n3p124>
- Liu, S. L., Wu, W. J., & Yung, P. T. (2015). Effect of sonic stimulation on *Bacillus* endospore germination. *FEMS Microbiology Letters*, 363(1), 1–7. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnv217>
- Madigan, M. T., & Martinko, J. M. (2006). Brock Biology of Microorganisms (11th edn). *ResearchGate*, (May), 12–14.
- Mahalakshmi, V. (2014). Evaluation of Biodegradation of Plastics. *International Journal of Innovative Research & Development*, 3(7), 185–190. Recuperado de <http://www.ijird.com/index.php/ijird/article/view/51589>
- Maldonado, A. T. (2012). *La complejidad de la problemática ambiental de los residuos plásticos : una aproximación al análisis narrativo de política pública en Bogotá. Tesis de Magister en Medio Ambiente y Desarrollo, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia. pp.24.*
- Manzur, A., Limón-González, M., & Favela-Torres, E. (2004). Biodegradation of Physicochemically Treated LDPE by a Consortium of Filamentous Fungi. *Journal of Applied Polymer Science*, 92(1), 265–271. <https://doi.org/10.1002/app.13644>
- Mårtensson, P., Fors, U., Wallin, S. B., Zander, U., & Nilsson, G. H. (2016). Evaluating

- research: A multidisciplinary approach to assessing research practice and quality. *Research Policy*, 45(3), 593–603. <https://doi.org/10.1016/j.respol.2015.11.009>
- Martín Clavijo, K. F. (2012). *Bioprospección de la degradación del polietileno*. Recuperado de <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/11849/MartinClavijoKarenFerna2012.pdf?sequence=1> <http://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/11849>
- Martín Peraza, A. (2017). *Estudio preliminar de la biodegradación de plásticos por bacterias marinas*. Recuperado de [https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/5762/Estudio preliminar de la biodegradacion de plasticos por bacterias marinas.pdf?sequence=1](https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/5762/Estudio%20preliminar%20de%20la%20biodegradacion%20de%20plasticos%20por%20bacterias%20marinas.pdf?sequence=1)
- Mehmood, C. T., Qazi, I. A., Hashmi, I., Bhargava, S., & Deepa, S. (2016). Biodegradation of low density polyethylene (LDPE) modified with dye sensitized titania and starch blend using *Stenotrophomonas pavanii*. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 113, 276–286. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.01.025>
- Meza Vargas, M. F. (2013). *BIODEGRADABILIDAD DE POLIETILENO TEREFALATO Y DE OXOPOLIETILENO, A NIVEL DE LABORATORIO, POR LA ACCIÓN DE BACTERIAS NATIVAS PRESENTES EN HUMUS DE LOMBRIZ, CABALLO Y GALLINA*.
- Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial. (2004). *Guías Ambientales para el Sector Plástico. Xpress Estudio Gráfico* (Vol. 1).
- Mohamed, F. M. (2015). *Evaluación de los impactos de ambientales de una incineradora de residuos urbanos con recuperación de energía mediante el análisis de ciclo de vida*.
- Molina, N. R. A. (2017). *REVISIÓN BIBLIOGRAFICA SOBRE LOS MICROORGANISMOS BIODEGRADADORES DE POLIETILENO DE BAJA DENSIDAD Y SUS EFECTOS EN*

EL MATERIAL.

- Montazer, Z., Habibi-Najafi, M. B., Mohebbi, M., & Oromiehei, A. (2018). Microbial Degradation of UV-Pretreated Low-Density Polyethylene Films by Novel Polyethylene-Degrading Bacteria Isolated from Plastic-Dump Soil. *Journal of Polymers and the Environment*, 26(9), 3613–3625. <https://doi.org/10.1007/s10924-018-1245-0>
- Mostafa, H. ., Sourell, H., &, & Bockisch, F. j. (2010). The Mechanical Properties of Some Bioplastics Under Different Soil Types for Use as a Biodegradable Drip Tubes. *Engineering*, XII(1), 1–16.
- Muthukumar, A., & Veerappapillai, S. (2015). Biodegradation of plastics – A brief review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 31(2), 204–209.
- Napper, I. E., & Thompson, R. C. (2019). Environmental Deterioration of Biodegradable, Oxo-biodegradable, Compostable, and Conventional Plastic Carrier Bags in the Sea, Soil, and Open-Air Over a 3-Year Period. *Environmental Science & Technology*, 53(9), 4775–4783. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b06984>
- Novotný, Č., Malachová, K., Adamus, G., Kwiecień, M., Lotti, N., Soccio, M., ... Fava, F. (2018). Deterioration of irradiation/high-temperature pretreated, linear low-density polyethylene (LLDPE) by *Bacillus amyloliquefaciens*. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 132(September 2017), 259–267. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2018.04.014>
- Nowak, B., Pajk, J., & Karcz, J. (2012). *Biodegradation of Pre-Aged Modified Polyethylene Films. Scanning Electron Microscopy*. <https://doi.org/10.5772/35128>

- Ojha, N., Pradhan, N., Singh, S., Barla, A., Shrivastava, A., Khatua, P., ... Bose, S. (2017). Evaluation of HDPE and LDPE degradation by fungus, implemented by statistical optimization. *Scientific Reports*, 7(July 2016), 1–13. <https://doi.org/10.1038/srep39515>
- Orhan, Y., & Büyüküngör, H. (2000). Enhancement of biodegradability of disposable polyethylene in controlled biological soil. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 45(1–2), 49–55. [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(00\)00048-2](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(00)00048-2)
- Paul, M., Santosh, D., & Jayabrata, K. (2018). Fungal-mediated deterioration and biodegradation study of low-density polyethylene (LDPE) isolated from municipal dump yard in Chennai , India. *Energy, Ecology and Environment*. <https://doi.org/10.1007/s40974-018-0085-z>
- Pérez Moreno, V. J., & Barroso Caro, A. (2015). *Caracterización De Materiales Termoplásticos : Polietileno*.
- Plascencia Villa, G. (2003). *Espectrometría de masas*.
- PlasticsEurope. (2017). *Plásticos – Situación en 2017. Plastic the Facts 2017*. Recuperado de https://www.plasticseurope.org/download_file/force/1452/632%0A
- Quinchía, A., & Maya, S. (2015). Degradabilidad de Polietileno de Baja Densidad –LDPE utilizando *Pycnopus sanguineus* UTCH 03. *Escuela de Ingeniería de Antioquía*, 9.
- Rafiq, S., Fathima, F., Shahina, S. K. J., & Ramesh, K. V. (2018). Biodegradation of Low Density Polyethylene (LDPE) by Halophilic Bacteria Isolated from Solar Saltpans , Kovalam, Chennai. *Nature Enviroment and Pollution Technology*, 17, 5.
- Rajandas, H., Parimannan, S., Sathasivam, K., Ravichandran, M., & Su Yin, L. (2012). A novel FTIR-ATR spectroscopy based technique for the estimation of low-density polyethylene

biodegradation. *Polymer Testing*, 31(8), 1094–1099.

<https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2012.07.015>

Randy H. Adams Schroeder¹, V. I. D. R. y L. G. H. (1999). POTENCIAL DE LA BIORREMEDIACION DE SUELO Y AGUA IMPACTADOS POR PETROLEO EN EL TROPICO MEXICANO. *Terra*, 17, 159–174.

Reguera, G. (2011). When microbial conversations get physical. *Trends in Microbiology*, 19(3), 105–113. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2010.12.007>

Restrepo-Flórez, J. M., Bassi, A., & Thompson, M. R. (2014). Microbial degradation and deterioration of polyethylene - A review. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 88, 83–90. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.12.014>

Sarmah, P., & Rout, J. (2018). Efficient biodegradation of low-density polyethylene by cyanobacteria isolated from submerged polyethylene surface in domestic sewage water. *Environmental Science and Pollution Research*.

Sarvaiya, N., & Kothari, V. (2015). Effect of audible sound in form of music on microbial growth and production of certain important metabolites. *Microbiology*, 84(2), 227–235. <https://doi.org/10.1134/S0026261715020125>

Sarvaiya, N., & Kothari, V. (2017). Audible Sound in Form of Music Can Influence Microbial Growth , Metabolism and Antibiotic Susceptibility. *Biotechnology & bioengineering*, (April). <https://doi.org/10.15406/jabb.2017.02.00048>

Shah, A. A., Hasan, F., Hameed, A., & Ahmed, S. (2008). Biological degradation of plastics : A comprehensive review, 26, 246–265. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.12.005>

- Shaobin, G., Wu, Y., Li, K., Li, S., Ma, S., Wang, Q., & Wang, R. (2010). A pilot study of the effect of audible sound on the growth of *Escherichia coli*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 78(2), 367–371. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.02.028>
- Sharma, M., Sharma, P., Sharma, A., & Chandra, S. (2015). MICROBIAL DEGRADATION OF PLASTIC- A BRIEF REVIEW. *Microbiology*, 4(1), 85–89.
- Singh, G., Kaur, N., Haripada, B., Bajpai, P., & Mandal, U. (2010). Degradation Behaviors of Linear Low-Density Polyethylene and Poly(L-lactic acid) Blends. *Journal of Applied Polymer Science*, 116(5), 2658–2667. <https://doi.org/10.1002/app>
- Singh, J., & Gupta, K. . (2014). Original Research Article Screening and Identification of Low density Polyethylene (LDPE) Degrading Soil Fungi Isolated from Polythene Polluted Sites around Gwalior city (M . P .). *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 3(6), 443–448.
- Suasnavas, D. (2017). *Degradación de materiales plásticos “PET” (polyethylene terephthalate), como alternativa para su gestión.*
- Teotia, M., Tarannum, N., & Soni, R. K. (2017). Depolymerization of PET waste to potentially applicable aromatic amides: Their characterization and DFT study. *Journal of Applied Polymer Science*, 134(31). <https://doi.org/10.1002/app.45153>
- Tokiwa, Y., & Calabia, B. P. (2004). Degradation of microbial polyesters. *Biotechnology Letters*, 26(Ici), 1181–1189.
- Tokiwa, Y., Calabia, B. P., Ugwu, C. U., & Aiba, S. (2009). Biodegradability of plastics. *International Journal of Molecular Sciences*. <https://doi.org/10.3390/ijms10093722>
- Trushin, M. V. (2003). The possible role of electromagnetic fields in bacterial communication. *J*

- Microbiol Immunol Infect*, 36(3), 153–160. Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14582558>
- Urbanek, A. K., Rymowicz, W., & Mirończuk, A. M. (2018). Degradation of plastics and plastic-degrading bacteria in cold marine habitats. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(18), 7669–7678. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9195-y>
- 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. *Peruana de Biología*, 17(1), 133–136.
- Vimala, P. P., & Mathew, L. (2016). Biodegradation of Polyethylene using *Bacillus subtilis*. *Procedia Technology*, 24, 232–239. <https://doi.org/10.1016/j.protcy.2016.05.031>
- Wertz, J.-L., Deleu, M., Coppée, S., & Richel, A. (2018). *Hemicelluloses and Lignin in Biorefineries*. *The British Journal of Psychiatry* (Vol. 111). <https://doi.org/10.1192/bjp.111.479.1009-a>
- Wilfong, R. E. (1961). Linear Polyesters. *Journal of Polymer Science*, 54, 385–410. <https://doi.org/10.1002/pol.1961.1205416010>
- Yang, S. S., Brandon, A. M., Andrew Flanagan, J. C., Yang, J., Ning, D., Cai, S. Y., ... Wu, W. M. (2018). Biodegradation of polystyrene wastes in yellow mealworms (larvae of *Tenebrio molitor* Linnaeus): Factors affecting biodegradation rates and the ability of polystyrene-fed larvae to complete their life cycle. *Chemosphere*, 191, 979–989. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.10.117>
- Yepes Aguirre, L. M. (2014). *Degradación de Polietileno de Baja Densidad Utilizando Hongos*.

Revisión Sistemática de la Literatura. Universidad Javeriana.

<https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.01.043>

Yoshida, S., Hiraga, K., Takehana, T., Taniguchi, I., Yamaji, H., Maeda, Y., ... Oda, K. (2016).

A bacterium that degrades and assimilates poly(ethyleneterephthalate). *Research*, 351(6278),

5. <https://doi.org/10.1126/science.aad6359>

Zahra, S., Abbas, S. S., Mahsa, M. T., & Mohsen, N. (2010). Biodegradation of low-density

polyethylene (LDPE) by isolated fungi in solid waste medium. *Waste Management*, 30(3),

396–401. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2009.09.027>