

Revisión sistemática del estado del arte de la biodegradación de polietileno de baja densidad y tereftalato de polietileno

Daniel David Manrique López

María José Paternina Chavarriaga

Trabajo de Grado para optar al título de Ingeniero Químico

Directora

Viviana Sánchez Torres

Ingeniera Química, Ph.D.

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas

Escuela de Ingeniería Química

Bucaramanga

2023

Agradecimientos

Gracias a nuestra directora de tesis, la profesora Viviana Sánchez, quien con su paciencia y comprensión nos permitió llegar hasta aquí. Gracias a nuestros padres que siempre estuvieron brindando su apoyo incondicional ante todo lo que necesitáramos durante nuestros estudios, a compañeros como Jorge Gómez Betín que se convirtieron en grandes amigos durante los tiempos difíciles y a todos los profesores que nos brindaron su conocimiento a lo largo de la carrera.

Contenido

| | |
|---|----|
| Introducción | 11 |
| 1. Objetivos..... | 12 |
| 1.1 Objetivo general..... | 12 |
| 1.2 Objetivos específicos | 12 |
| 2. Marco teórico | 13 |
| 2.1. Polímero..... | 13 |
| 2.1.1 Termoestable..... | 13 |
| 2.1.2 Termoplástico | 13 |
| 2.2. Polietileno | 14 |
| 2.2.2. Polietileno de baja densidad (LDPE)..... | 14 |
| 2.3 Tereftalato de polietileno | 15 |
| 2.4. Biodegradación | 15 |
| 2.4.1. Degradación abiótica | 16 |
| 2.4.2. Biodeterioración..... | 16 |
| 2.4.3. Biofragmentación..... | 16 |
| 2.4.4. Asimilación y mineralización | 17 |
| 2.5. Microorganismos | 17 |
| 2.5.1 Bacterias..... | 17 |
| 2.5.2 Hongos | 17 |
| 2.5.3 Consorcios..... | 18 |
| 2.6. Enzimas..... | 18 |

| | |
|---|----|
| 3. Metodología | 19 |
| 3.1 Primera fase: búsqueda bibliográfica..... | 19 |
| 3.2 Segunda fase: filtrado de documentos | 20 |
| 3.3 Tercera fase: organización y categorización..... | 21 |
| 3.4 Cuarta fase: síntesis de información | 21 |
| 4. Resultados | 22 |
| 4.1 Análisis bibliométrico..... | 22 |
| 4.2 Pretratamientos | 24 |
| 4.2.1 Fotooxidación | 25 |
| 4.2.2 Oxidación térmica..... | 27 |
| 4.2.3 Oxidación química..... | 28 |
| 4.2.4 Oxidación mecanoquímica..... | 28 |
| 4.2.5 Surfactantes..... | 29 |
| 4.3 Microorganismos degradadores de LDPE y PET | 30 |
| 4.3.1 Estudio de los diferentes tipos de cultivo y microorganismos..... | 30 |
| 4.3.2 Estudio de las bacterias degradadoras de LDPE y PET..... | 31 |
| 4.3.3 Estudio de los hongos degradadores de LDPE y PET | 32 |
| 4.3.4 Microorganismos más eficaces biodegradando LDPE y PET | 33 |
| 4.4 Coadyuvantes..... | 34 |
| 4.4.1 Surfactantes..... | 34 |
| 4.4.2 Cofactores | 35 |
| 4.5 Mecanismos de biodegradación | 36 |
| 4.5.1 LDPE..... | 36 |

| | |
|--|----|
| 4.5.2 PET | 38 |
| 4.6. Técnicas de medición de la biodegradación | 40 |
| 4.6.1. Comparación de la biodegradación entre diferentes microorganismos | 40 |
| 4.6.2. Prueba por pérdida de masa (PM)..... | 42 |
| 4.6.3. Microscopio electrónico de barrido (SEM) | 42 |
| 4.6.4. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) | 43 |
| 4.6.5. Microscopio de fuerza atómica (AFM)..... | 43 |
| 4.6.6. Cromatografía de gases (GC)..... | 44 |
| 4.6.7. Cromatografía líquida de alta precisión (HPLC) | 44 |
| 4.6.8. Calorimetría diferencial de barrido (DSC) | 45 |
| 4.6.9. Análisis mecánico dinámico (DMA) | 45 |
| 4.6.10 Absorción de CO ₂ | 45 |
| 5. Conclusiones | 46 |
| 6. Recomendaciones | 47 |
| Referencias..... | 48 |
| Apéndices..... | 57 |

Lista de Tablas

| | Pág. |
|---|-------------|
| Tabla 1. <i>Ecuaciones de búsqueda</i> | 22 |
| Tabla 2. <i>Primeros diez microorganismos más efectivos para degradar LDPE</i> | 33 |
| Tabla 3. <i>Microorganismos más efectivos para degradar PET</i> | 34 |

Lista de Figuras

| | Pág. |
|--|-------------|
| Figura 1. <i>Unidad repetitiva del polietileno</i> | 14 |
| Figura 2. <i>Unidad repetitiva del tereftalato de polietileno</i> | 15 |
| Figura 3. <i>Diagrama de la metodología</i> | 19 |
| Figura 4. <i>Proceso de depuración</i> | 23 |
| Figura 5. <i>Número de artículos publicados por año</i> | 23 |
| Figura 6. <i>Distribución geográfica de los artículos elegidos</i> | 24 |
| Figura 7. <i>Uso de pretratamientos en la investigación de biodegradación de LDPE y PET</i> | 25 |
| Figura 8. <i>Reacciones Norrish</i> | 26 |
| Figura 9. <i>Distribución de los tipos de cultivo realizados en las investigaciones</i> | 31 |
| Figura 10. <i>Géneros de bacterias estudiadas para la degradación de LDPE y PET</i> | 32 |
| Figura 11. <i>Géneros de hongos estudiados para la degradación de LDPE y PET</i> | 33 |
| Figura 12. <i>Biofragmentación de LDPE</i> | 37 |
| Figura 13. <i>β-oxidación de ácidos carboxílicos</i> | 38 |
| Figura 14. <i>Diagrama esquemático del proceso de degradación de PET</i> | 39 |
| Figura 15. <i>Métodos de evaluación aplicados en las investigaciones.</i> | 41 |

Lista de Apéndices

| | pág. |
|---|-------------|
| Apéndice A. <i>Método de la gota colapsada</i> | 57 |

Resumen

Título: Revisión sistemática del estado del arte de la biodegradación de polietileno de baja densidad y tereftalato de polietileno

Autor: Daniel David Manrique López y María José Paternina Chavarriaga

Palabras clave: Polímeros, biodegradación, polietileno, plásticos, tereftalato

Descripción:

Esta investigación se enfocó en presentar un panorama de las investigaciones que se han realizado a partir de 2016 hasta 2021 respecto a la biodegradación de polietileno y tereftalato de polietileno, debido a que esta se presenta como una alternativa sostenible para el manejo de estos residuos. Se ejecutó una revisión sistemática de la literatura científica la cual permitió dar con 1394 resultados de los cuales se seleccionaron 62 que fueron categorizados de acuerdo con los materiales utilizados, pretratamientos, condiciones de cultivo, microorganismos y métodos de evaluación de la biodegradación. Se encontró que en la mayoría de estudios se efectuó la biodegradación sin pretratamiento, sin embargo, el pretratamiento más aplicado fue la fotooxidación, así mismo se ha estudiado el uso de surfactantes como pretratamiento y como coadyuvante en el medio de cultivo. Los microorganismos más estudiados fueron las bacterias, especialmente de los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas*, respecto a los hongos, el género más estudiado fue el *Aspegillus* y se encontró poca investigación del uso de consorcios microbianos. Los métodos de evaluación de la biodegradación más aplicados fueron el microscopio electrónico de barrido (SEM), la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) y la prueba por pérdida de masa. A partir del porcentaje de pérdida de masa se calculó la tasa de biodegradación la cual se usó como criterio de comparación de los resultados de los diferentes estudios.

*Trabajo de grado

**Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Directora Viviana Sánchez Torres Ingeniera Química, Ph.D.

Abstract

Title: Systematic review of the state of the art of the biodegradation of low-density polyethylene and polyethylene terephthalate

Author(s): Daniel David Manrique López and María José Paternina Chavarriaga

Key Words: Polymers, biodegradation, polyethylene, review, terephthalate

Description:

This research focused on presenting an overview of the research that has been carried out since 2016 until 2021 regarding the biodegradation of polyethylene and polyethylene terephthalate, since this is presented as a sustainable alternative for the management of these residues. A systematic review of the scientific literature was carried out, which allowed the finding of 1394 articles, of which 62 were selected and categorized according to the materials used, pretreatments, culture conditions, microorganisms, and the biodegradation test methods. It was found that most of the research is focused on biodegradation without pretreatment, however, the most applied pretreatment was photooxidation, likewise, the use of surfactants as pretreatment and as an adjuvant in the culture medium has been studied. The most studied microorganisms were bacteria, especially from the genera *Bacillus* and *Pseudomonas*, regarding fungi, the most studied genus was *Aspergillus* and little research was found on the use of microbial consortia. The most applied evaluation methods were the scanning electron microscope (SEM), the Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), and the mass loss test. From the percentage of mass loss, the rate of biodegradation was calculated, which was used as a criterion for comparison of the results of the different studies.

*Degree work

**Faculty of Physicochemical Engineering. School of Chemical Engineering. Director Viviana Sánchez Torres Chemical Engineer, Ph.D.

Introducción

Los plásticos son materiales compuestos de largas cadenas poliméricas que poseen propiedades tales como ligereza, bajo costo de producción, alta resistencia mecánica y química. Por este motivo, se han convertido en un material ampliamente atractivo y empleado por varias industrias. A nivel mundial se producen aproximadamente entre 350 a 400 millones de toneladas cada año y se espera que su uso aumente en una tasa de 12% anual (Ghatge et al., 2020). Se ha estimado que en el año 2017, 7000 millones de toneladas de residuos plásticos se han producido desde 1950, de los cuales 5300 millones de toneladas se encuentran en vertederos, convirtiendo la disposición de estos desechos en una gran problemática de contaminación (Geyer, 2020). Esto se debe a que su proceso de degradación es muy lento; por ejemplo, el polietileno puede tardar en degradarse entre 100-300 años en condiciones naturales (Samanta et al., 2020).

Las soluciones que se han implementado para mitigar este impacto a lo largo del tiempo son la producción de plásticos biodegradables, el reciclaje, que se da en un 9% de los desechos, y la incineración, que abarca el 12% y libera dióxido de carbono que actúa como un gas de efecto invernadero (Soleimani et al., 2020). Los plásticos biodegradables continúan presentando inconvenientes, ya que, dependiendo de las condiciones climáticas, su degradación puede llegar a tardar años (Sintim et al., 2020). Por lo tanto, ante investigaciones recientes que demuestran la capacidad de ciertos microorganismos para consumir materiales plásticos, la biodegradación se presenta como una alternativa de interés para la degradación de residuos plásticos.

El presente trabajo de investigación se realizó con el interés de conocer los avances realizados en las investigaciones sobre la biodegradación del polietileno de baja densidad (LDPE) y tereftalato de polietileno (PET), ya que estos son dos de los polímeros plásticos más consumidos

en Colombia, concretamente, se consumieron 170.000 y 190.000 toneladas para el año 2020, respectivamente (Acoplásticos, 2021).

De esta manera se propone realizar una revisión sistemática de la literatura en los últimos seis años en torno a los pretratamientos, microorganismos y metodología experimental para evaluar la biodegradación del LDPE y PET. El presente trabajo se llevó a cabo mediante cuatro fases metodológicas: la primera, consistió en la búsqueda de artículos científicos en bases de datos por medio de palabras clave y operadores booleanos durante el periodo 2016-2021, en la segunda fase, fueron filtrados por medio de palabras clave y operadores booleanos, en la tercera se categorizaron según el tipo de microorganismo y plástico que se estudió, y para la cuarta fase se, se determinó un criterio de comparación de resultados, se analizó la información extraída y se sintetizó en el apartado de resultados según los siguientes temas: pretratamientos, microorganismos degradadores de LDPE y PET, coadyuvantes, mecanismos de degradación y, técnicas de medición de la biodegradación.

1. Objetivos

1.1 Objetivo general

Realizar una revisión sistemática del estado del arte de la biodegradación de polietileno de baja densidad (LDPE) y tereftalato de polietileno (PET) en el periodo de 2016 a 2021.

1.2 Objetivos específicos

- ✓ Enunciar los pretratamientos del LDPE y PET empleados para preparar los sustratos plásticos antes de los tratamientos de biodegradación.
- ✓ Identificar los microorganismos y consorcios biodegradadores de LDPE y PET.

- ✓ Detallar la metodología empleada para evaluar la biodegradación del LDPE y el PET.

2. Marco teórico

2.1. Polímero

Son materiales compuestos por moléculas denominadas monómeros, los cuales actúan como unidades básicas estructurales que se enlazan repetidamente mediante enlaces covalentes. Este proceso de formación recibe el nombre de polimerización. Por consiguiente, se conforman cadenas de alto peso molecular que pueden plegarse sobre sí mismas generando estructuras complejas (Askeland et al., 2017). Los polímeros se pueden formar de manera natural, como es el caso de la celulosa y la lana, así como ser sintetizados de manera artificial, como los plásticos. Los polímeros se pueden clasificar en dos categorías de acuerdo con su estructura molecular.

2.1.1 Termoestable

Los polímeros termoestables presentan una estructura reticular a base de enlaces covalentes, en estos, las largas cadenas de monómeros se entrecruzan formando redes tridimensionales que generalmente los hace resistentes y rígidos (Smith et al., 2006). Una vez que su forma es fijada durante la reacción de formación, esta no se puede modificar puesto que, a altas temperaturas, se rompen sus enlaces primarios y el material no puede recuperarse, es decir, que estos polímeros no son reciclables.

2.1.2 Termoplástico

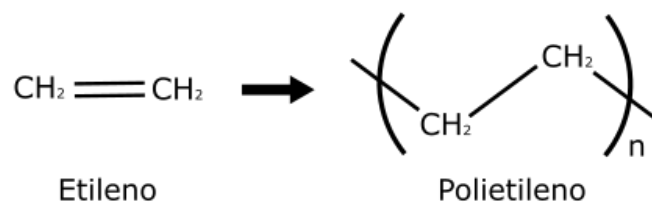
Los polímeros termoplásticos se deforman al ser calentados hasta derretirse formando un fluido que vuelve a endurecerse al disminuir la temperatura. Este tipo de polímero está formado

por largas cadenas poliméricas lineales que se enlazan entre sí con enlaces secundarios (Smith et al., 2006). En algunos termoplásticos, las cadenas de polímero adquieren una estructura parcialmente ordenada durante su enfriamiento, estos son conocidos como termoplásticos semicristalinos. El polietileno y el tereftalato de polietileno se encuentran dentro de esta clasificación (Akay, 2012).

2.2. Polietileno

El polietileno es un material plástico compuesto únicamente por carbono e hidrógeno, siendo su unidad repetitiva $-(\text{CH}_2-\text{CH}_2)_n-$ proveniente del etileno como se observa en la figura 1. Este plástico se obtiene a partir de la polimerización catalítica del etileno gaseoso proveniente de petroquímicas (Shah et al., 2008). Se caracteriza por ser altamente hidrofóbico, siendo junto con el tereftalato de polietileno uno de los plásticos más usados para la fabricación de empaques, entre otras aplicaciones, lo que le otorga una gran importancia a nivel comercial (Ghatge et al., 2020).

Figura 1. *Unidad repetitiva del polietileno*



2.2.1. Polietileno de baja densidad (LDPE)

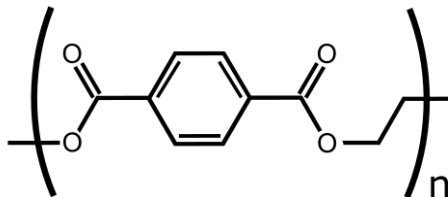
El polietileno de baja densidad tiene densidad de 0.915 a 0.94 g/cm^3 , posee grandes grupos laterales ramificados los cuales son responsables de su baja densidad al separar las cadenas del polímero

(Shah et al., 2008). Es usado para embalaje de mercancías, estuches de transporte, cubiertas de cableado y bolsas (Simul Bhuyan et al., 2021).

2.3 Tereftalato de polietileno

Se puede definir al tereftalato de polietileno como un plástico sintetizado a partir de ácido tereftálico (TPA) y etilenglicol, unidos por un enlace éster, en la figura 2 se observa su unidad repetitiva. Este material se caracteriza por ser transparente, ligero, hidrofóbico y resistente a los agentes químicos, debido a estas características, es uno de los plásticos derivados del petróleo más comúnmente usados para fibras textiles, botellas y material de empaque (Sagong et al., 2020).

Figura 2. *Unidad repetitiva del tereftalato de polietileno*



2.4. Biodegradación

De acuerdo con el estándar ASTM D-5488-94d, la biodegradación se define como “proceso capaz de descomponer materiales a dióxido de carbono, metano, agua, compuestos inorgánicos o biomasa, en el cual predomina la acción enzimática de los microorganismos, que puede ser medida mediante pruebas estandarizadas en un periodo específico de tiempo, reflejando disponibilidad de condiciones para su eliminación”. El proceso de biodegradación puede llevarse a cabo bajo condiciones aerobias, dando como resultado dióxido de carbono y agua, mientras que bajo condiciones anaerobias se obtiene metano y dióxido de carbono (Singh & Sharma, 2008).

El proceso de biodegradación de los polímeros ocurre en las siguientes etapas:

2.4.1. Degradación abiótica

Las condiciones físicas (clima, luz solar, agua, entre otros) a las cuales se encuentran expuestos los materiales poliméricos pueden provocar que estos sufran debilitamiento de su estructura, lo que facilita el ataque microbiano. Por consiguiente, los polímeros pueden experimentar procesos de fotooxidación, oxidación térmica, química o mecanoquímica (Siracusa, 2019).

2.4.2. Biodeterioración

Es la etapa en la cual se da la deterioración del material polimérico principalmente por la acción microbiológica, mediante su crecimiento sobre la superficie o al interior del material (Lucas et al., 2008). Los microorganismos pueden actuar de forma mecánica, química o enzimática, y el avance de la biodeterioración dependerá de factores tales como la naturaleza del microorganismo y las condiciones del medio tales como la temperatura, humedad o contaminantes atmosféricos (Siracusa, 2019).

2.4.3. Biofragmentación

Los materiales poliméricos no pueden ser absorbidos directamente por los microorganismos debido a la longitud y alto peso molecular de sus cadenas moleculares. Para poder llevar a cabo el proceso de biodegradación, los microorganismos segregan exoenzimas específicas las cuales rompen las cadenas poliméricas en fragmentos de menor peso molecular (monómeros y oligómeros) que pueden atravesar la membrana celular del microorganismo para ser asimilados (Lucas et al., 2008).

2.4.4. Asimilación y mineralización

La asimilación y mineralización es la etapa final en la cual los fragmentos poliméricos son absorbidos a través de la membrana celular del microorganismo para así ser utilizados como una fuente de carbono y energía, dándose la liberación de compuestos producto del metabolismo catabólico de la célula (Lucas et al., 2008).

2.5. Microorganismos

2.5.1 Bacterias

Las bacterias son microorganismos procariotas con una morfología muy variada los cuales tienden a agruparse en distintas disposiciones formando colonias. Comúnmente se clasifican de acuerdo con la estructura de su pared celular, teniendo a las bacterias Gram positivas, las cuales poseen una capa exterior gruesa de peptidoglicano y, por otro lado, a las Gram negativas, que tienen una capa delgada de peptidoglicano y una membrana lipídica externa (Madigan, 2009).

2.5.2 Hongos

Los hongos constituyen un gran grupo de organismos eucariotas que pueden ser tanto unicelulares (denominados levaduras) como pluricelulares y pueden reproducirse de manera sexual o asexual (Muñoz de Malajovich, María Antonia, 2012). Pueden digerir compuestos orgánicos complejos mediante la secreción de enzimas extracelulares, reduciéndolos hasta obtener sus monómeros constituyentes, que son absorbidos por la célula fúngica como fuentes de carbono y energía (Madigan, 2009).

La estructura de los hongos multicelulares se compone de células que forman un entramado de filamentos llamados hifas, estas están formadas por paredes celulares tubulares que rodean la membrana citoplasmática. Las hifas generalmente se agrupan sobre una superficie y crecen juntas, formando una masa compacta y visible a nivel macroscópico, llamada micelio (Madigan, 2009).

2.5.3 Consorcios

Los consorcios microbianos son asociaciones entre poblaciones microbianas de diferentes especies, estas, dependiendo de las especies y su compatibilidad, pueden actuar sinérgicamente en beneficio de todo el grupo, formando así una comunidad compleja. Dentro de un consorcio exitoso se mantiene una simbiosis estrecha y un estilo de vida en el que el crecimiento y el flujo de nutrientes se da de forma más efectiva y eficaz que en poblaciones individuales gracias a una comunicación por medio de señales fisicoquímicas que les permite combinar tareas entre especies (Ochoa Carreño & Montoya Restrepo, 2010).

2.6. Enzimas

Las enzimas son proteínas que cumplen con la función de ser catalizadores biológicos, disminuyendo la energía de activación necesaria para que se lleve a cabo una reacción. El sustrato se acopla al sitio activo de la enzima formando un complejo enzima-sustrato que facilita la transformación del sustrato en los productos de reacción, la enzima no se consume ni transforma durante el proceso (Muñoz de Malajovich, María Antonia, 2012).

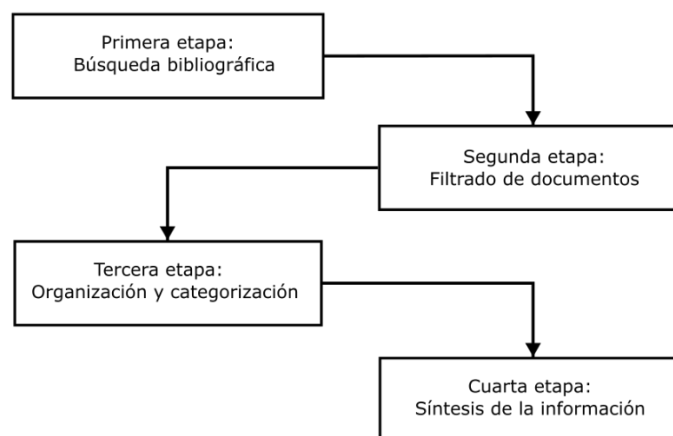
Una característica muy importante de las enzimas es su especificidad, cada enzima cataliza un solo tipo de reacción química y se acopla a un sustrato específico debido a su estructura tridimensional. La actividad enzimática en estas reacciones depende de las condiciones del medio,

como pH, temperatura y presencia de cofactores orgánicos (coenzimas) e inorgánicos (iones metálicos) (Muñoz, 2012).

3. Metodología

En el presente trabajo de investigación se llevó a cabo una revisión sistemática del estado del arte sobre la biodegradación del polietileno de baja densidad (LDPE) y tereftalato de polietileno (PET). El proceso constó de cuatro fases metodológicas que se presentan en la figura 3.

Figura 3. Diagrama de la metodología



3.1 Primera fase: búsqueda bibliográfica

El proceso investigativo partió definiendo un protocolo de búsqueda, el cual consistió en la búsqueda de artículos científicos o de revisión publicados a partir del año 2016 hasta el año 2021. Para ello, se emplearon diferentes bases de datos disponibles en la biblioteca digital de la Universidad Industrial de Santander tales como Scopus, Science Direct y Springer.

Con el fin de obtener resultados más específicos y directamente relacionados con el tema de investigación, se emplearon ecuaciones de búsqueda con las palabras clave “biodegradation” “Low density polyethylene”, “LDPE”, “Polyethylene terephthalate”, “PET”, “Microbial”, “Consortia”, “Enzymatic” junto con los operadores booleanos “and” y “or”. Así mismo, los documentos seleccionados debían incluir en su título y/o resumen por lo menos dos de las palabras clave anteriormente mencionadas.

3.2 Segunda fase: filtrado de documentos

Con el fin de identificar claramente la documentación más relevante al tema de investigación, se realizó una serie de filtraciones a la información recolectada en el proceso de búsqueda teniendo en cuenta que esta cumpliera con los siguientes criterios:

Año de publicación: Se seleccionaron los artículos publicados en el periodo de tiempo de 2016 a 2021.

Título: Los documentos elegidos debían estar relacionados con pretratamientos, técnicas de evaluación, condiciones sobre la biodegradación de polietileno de baja densidad y tereftalato de polietileno, al igual que la caracterización o aislamiento de microorganismos aplicados al proceso.

Resumen: Se realizó la lectura del resumen de cada artículo con el fin de descartar artículos que no se encuentren directamente relacionados con los objetivos de la investigación a pesar de contener las palabras clave en su título.

Contenido: Se llevó a cabo la lectura de todo el contenido del artículo, para identificar los aspectos relacionados con la presente temática de investigación, verificando la rigurosidad de la información y resultados.

3.3 Tercera fase: organización y categorización

Una vez seleccionados los artículos, se ejecutó la recopilación del título, autores, año, revista, DOI, microorganismo empleado y su fuente de obtención, pretratamientos, condiciones experimentales de biodegradación, evaluación de la biodegradación y observaciones en una hoja de cálculo. Posteriormente fueron clasificados en dos categorías principales según el plástico empleado: Polietileno de baja densidad o tereftalato de polietileno, y dentro de estas categorías se subdividió según el microorganismo empleado: bacterias, hongos o consorcios. Así mismo, se empleó el gestor de bibliografía Mendeley para almacenar y organizar la documentación.

3.4 Cuarta fase: síntesis de información

Mediante la revisión de los documentos, se identificaron los aspectos principales referentes al tema de investigación tales como los pretratamientos, microorganismos, condiciones técnicas de evaluación y de la biodegradación de los plásticos estudiados. Para esto, se empleó como apoyo la categorización y la hoja de cálculo realizadas en la fase anterior.

Así mismo, basados en la investigación “A survey of intact low-density polyethylene film biodegradation by terrestrial Actinobacterial species” de la Alzahra University en Tehran, Irán (Soleimani et al., 2020), se determinó la tasa de biodegradación como unidad de medida común para la comparación de resultados en las investigaciones que ofrecieron la suficiente información para su cálculo aplicando las ecuaciones 1 y 2 a continuación.

$$Tasa\ de\ biodegradación = \frac{((masa\ inicial[g]) - masa\ final[g]) * 1000}{masa\ inicial\ [g]} * \frac{1}{tiempo[días]} \quad (Ec. 1)$$

$$Tasa\ de\ biodegradación = \frac{\%PM}{100} * \frac{1000}{tiempo[días]} = \frac{\%PM * 10}{tiempo[días]} \quad (Ec. 2)$$

Posteriormente se sintetizaron de manera detallada los temas anteriormente mencionados en el apartado de resultados.

4. Resultados

4.1 Análisis bibliométrico

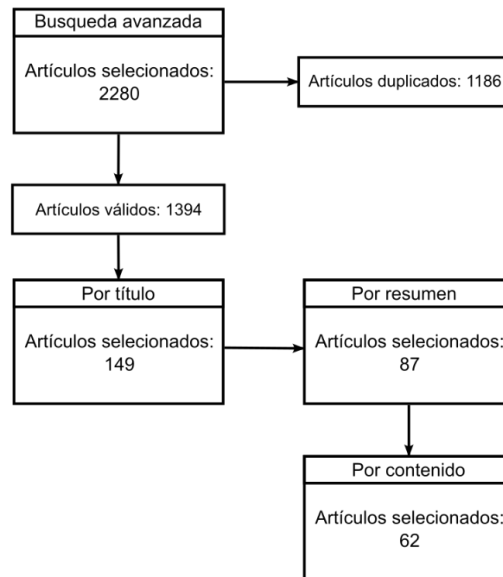
Se plantearon 6 ecuaciones de búsqueda a partir de la combinación de las palabras clave determinadas en la metodología utilizando operadores booleanos. Estas se ingresaron en las bases de datos Scopus, Science direct y Springer. En la tabla 1 se observan las ecuaciones empleadas en el proceso de búsqueda bibliográfica y los resultados obtenidos por cada una, para dar un total de 2580 resultados.

Tabla 1. *Ecuaciones de búsqueda*

| Id | Ecuaciones de búsqueda | Resultados |
|--------------|--|-------------------|
| 1 | ("Low density polyethylene" or LDPE) and microbial and biodegradation | 928 |
| 2 | ("Low density polyethylene" or LDPE) and enzymatic and biodegradation | 520 |
| 3 | ("Low density polyethylene" or LDPE) and consortia and biodegradation | 178 |
| 4 | ("Polyethylene terephthalate" or PET) and microbial and biodegradation | 524 |
| 5 | ("Polyethylene terephthalate" or PET) and enzymatic and biodegradation | 336 |
| 6 | ("Polyethylene terephthalate" or PET) and consortia and biodegradation | 94 |
| Total | | 2580 |

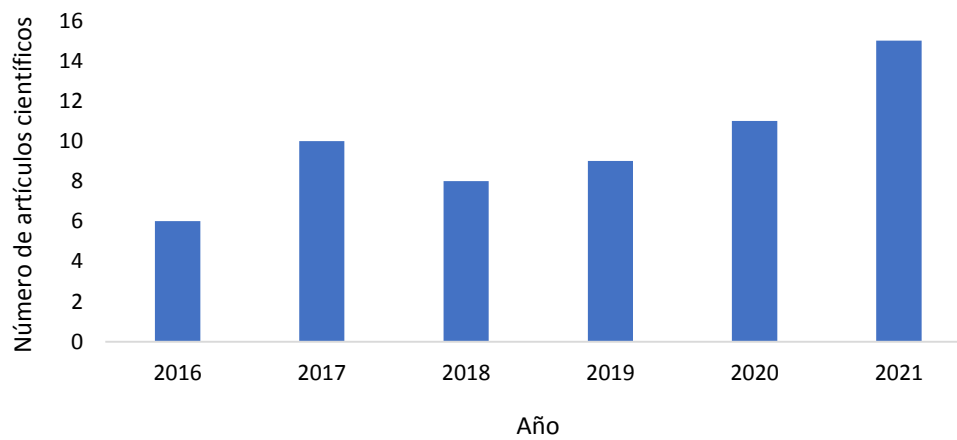
La información de estos resultados fue extraída de cada base de datos como archivos .ris, los cuales fueron ingresados al software Mendeley con el fin de facilitar su gestión y depuración. Se retiraron 1186 artículos duplicados de los resultados. Esta cifra es elevada debido al uso de tres bases de datos diferentes las cuales coincidieron en muchos de sus resultados.

En la figura 4 se expone cada etapa del proceso de filtrado, en primer lugar, usando como criterio el título del artículo, luego su resumen y por último su contenido, así mismo se muestra la cantidad de artículos seleccionados luego de cada filtro.

Figura 4. *Proceso de depuración*

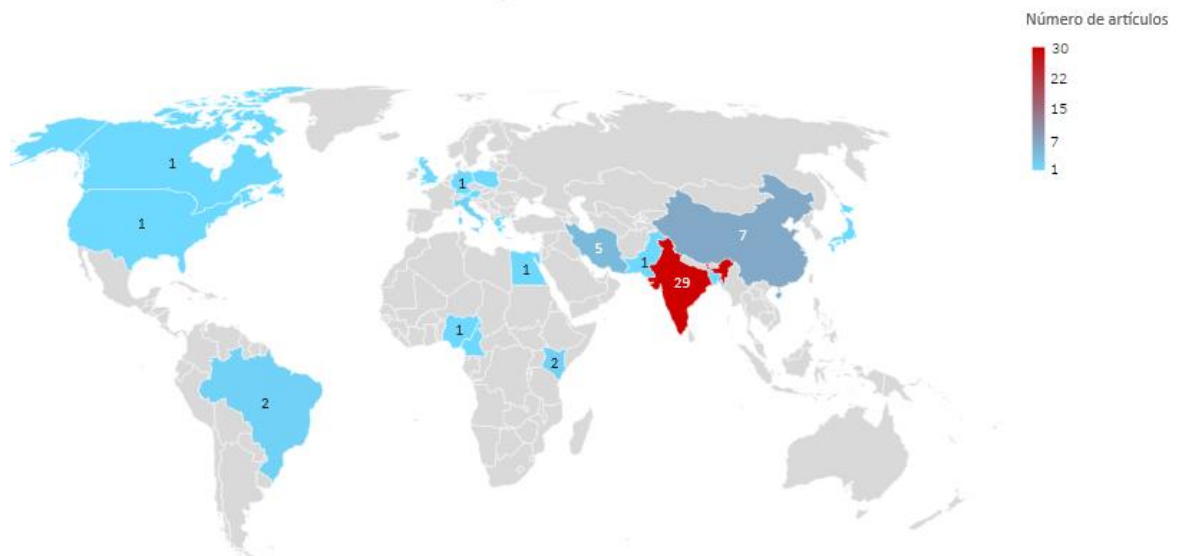
Otros criterios tomados en cuenta en cada una de las etapas de filtrado fueron, trabajar únicamente con microorganismos tales como bacterias y hongos, así mismo, se descartaron artículos de revisión e investigaciones en las cuales se alteró la matriz del polímero con aditivos.

Se realizó un recuento de los artículos publicados durante cada año desde el 2016 hasta el 2021 el cual se puede observar en la figura 5, mostrando un aumento en el número de publicaciones por año desde el 2019.

Figura 5. *Número de artículos publicados por año*

Al categorizar los artículos de acuerdo con su país de origen (figura 6) se observó una gran concentración de investigaciones en Asia, especialmente en India y China. En 2015, Lebreton y Andrady estimaron que China produce 17.2 millones de toneladas de residuos plásticos por año mientras que India se encuentra en segundo lugar con una producción de 14.4 millones de toneladas por año. Adicional a esto, se estima que el 70 y el 85% de los residuos municipales son mal administrados en China e India, respectivamente (Lebreton & Andrady, 2019), principalmente porque estos son recolectados por sectores informales de reciclaje obstaculizando la correcta gestión de los residuos (Borrelle et al., 2020).

Figura 6. *Distribución geográfica de los artículos seleccionados*



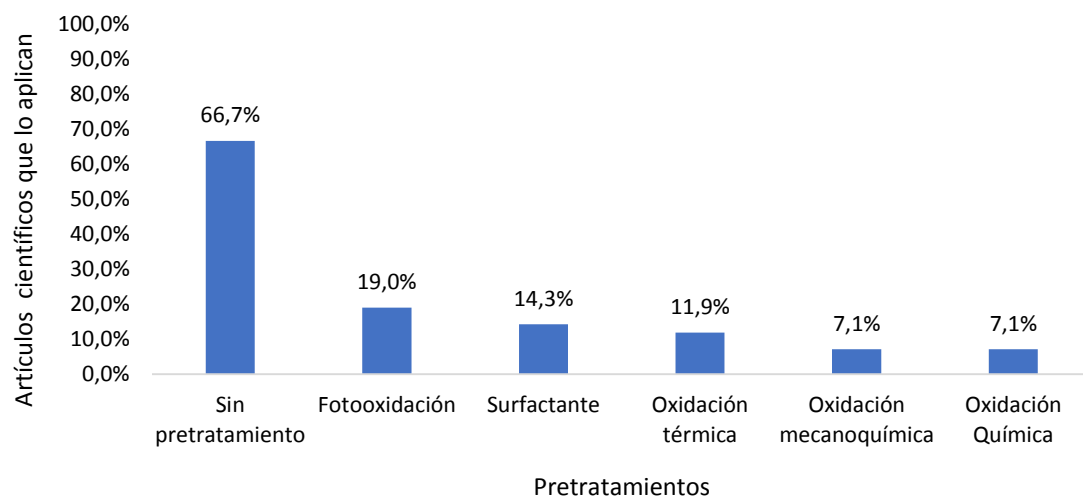
4.2 Pretratamientos

Los pretratamientos son procesos de degradación abiótica los cuales inician la oxidación parcial del plástico y reducen propiedades como su hidrofobicidad, peso molecular, cristalinidad y algunas propiedades mecánicas con el fin de favorecer la asimilación del polímero por parte de los microorganismos (Rojas-Parrales et al., 2018). Estos se dan por factores como la luz, calor,

sustancias químicas y esfuerzos mecánicos. Una práctica común en las investigaciones fue la combinación de varios tipos de pretratamientos con el fin de obtener mejores resultados y en varios casos, obtener un efecto sinérgico sobre la degradación del material polimérico (Chaudhary et al., 2021; El-Sayed et al., 2021).

En la figura 7 se observa la frecuencia de uso de los pretratamientos más comúnmente realizados a polímeros para facilitar su degradación. A pesar de los beneficios que trae someter el polímero a pretratamientos, en su mayoría las investigaciones se orientaron a la biodegradación sin ayuda de estos.

Figura 7. *Uso de pretratamientos en la investigación de biodegradación de LDPE y PET*

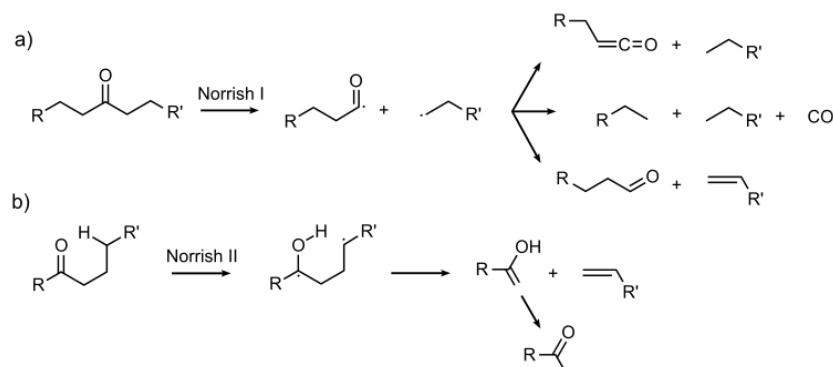


4.2.1 Fotooxidación

La fotooxidación o fotólisis es la degradación que se da en un material por la acción de la luz. En los plásticos, los rayos UV afectan los electrones de enlaces débiles pertenecientes a grupos funcionales carbonilo que se presentan en la cadena polimérica como impurezas remanentes de su proceso de síntesis, lo que provoca su rotura y posterior reacción con el oxígeno del entorno. Estas

reacciones son conocidas como reacciones Norrish (Singh & Sharma, 2008), en la figura 8 se observa el mecanismo de la reacción Norrish tipo 1 (a) y la Norrish tipo 2 (b).

Figura 8. *Reacciones Norrish*



Nota. *Modificado de (Chamas et al., 2020).*

Diferentes investigaciones compararon la biodegradación obtenida para muestras de LDPE tratadas y no tratadas con luz UV. Se reportó que el tratamiento de LDPE con UV por 72 h provocó una pérdida de peso de 9.26% en muestras con 18 micras de espesor luego de ser cultivadas en medio líquido de sales minerales con *Bacillus subtilis* por 30 días con surfactina (biosurfactante) como coadyuvante, mientras que las muestras sin tratamiento perdieron solo el 1.85% con las mismas condiciones de cultivo, concluyendo así que los rayos UV actúan como iniciadores de la oxidación del polietileno lo que aumenta su degradación bacteriana (Vimala & Mathew, 2016).

También se ha estudiado la fotooxidación del PET con resultados similares. Se analizó la biodegradación de muestras de PET, sometiendo previamente la mitad a luz UV de 365 nm por 30 minutos y posteriormente se adicionaron a cultivos en medio líquido basal inoculados con dos consorcios bacterianos (consorcio 9 y consorcio 13) y una cepa aislada de *Pseudomonas sp.* (Cepa 10), cada uno por separado. Únicamente las muestras tratadas con UV mostraron cambios

sustanciales en su espectro FTIR; los valores de los índices carbonilo y ester fueron menores para estas, pasando de unos índices de carbonilo de 4.4, 4.3 y 4.3 respectivamente para cultivos de PET sin tratamiento UV a 4.1, 4.05 y 3.9 con tratamiento; así mismo los índices de ester pasaron de 4.7, 4.65 y 4.68 a 4.5, 4.37 y 4.2 (Roberts et al., 2020).

La formación de diferentes grupos funcionales en el polímero como alcoxi, acilo y principalmente carbonilo da lugar a la reducción de la hidrofobicidad del plástico debida a la incorporación de enlaces funcionales. La reducción de la hidrofobicidad mejora la degradación microbiana facilitando la acción de sus enzimas en la superficie (Dey et al., 2020).

4.2.2 Oxidación térmica

Este tipo de pretratamiento se da por la aplicación de calor al material plástico. Al igual que la fotooxidación, la oxidación térmica provoca la rotura de enlaces débiles, con la diferencia de que esto ocurre no solo en la superficie del material sino también en su interior (Varjani et al., 2017), lo que ocasiona el aumento de grupos funcionales como los carbonilos. Esto se evidenció al tratar muestras de polietileno térmicamente a 60°C durante un mes. Se reportó un índice de carbonilo de 0.12 y un índice de 0.08 de dobles enlaces en las muestras tratadas térmicamente, respecto a muestras no tratadas con índices de menos del 0.01 (Mukherjee et al., 2017).

Al igual que ocurre con la fotooxidación, la formación de grupos funcionales carbonilo por parte de la oxidación térmica provoca la reducción de la hidrofobicidad del polímero. Según pruebas de gota colapsada (Apéndice B) realizadas a LDPE oxidado térmicamente en un horno de aire caliente a 70°C durante 10 días, las muestras sin tratar pasaron de un ángulo de gota de 98.6° a uno de 91.5° luego del tratamiento térmico, demostrando una mayor afinidad con el agua (Awasthi et al., 2017).

4.2.3 Oxidación química

La oxidación química se da debido a diferentes sustancias presentes en el medio donde se encuentra el material. En los plásticos, la exposición a soluciones con una elevada acidez o alcalinidad provoca el desprendimiento de microplásticos, lo cual facilita la biodegradación dependiendo del microorganismo utilizado (Annamalai & Namasivayam, 2017).

El ácido nítrico ha demostrado ser efectivo para el tratamiento del polietileno, el análisis mediante FTIR de muestras de LDPE sumergidas en ácido nítrico por 7 días, mostró la incorporación de grupos NO_2 en la matriz del polímero además de la vibración y estiramiento de enlaces C-O y O-H debido a la oxidación. Luego, el LPDE tratado químicamente fue biodegradado durante un mes en un cultivo en medio líquido de sales minerales inoculado con *Thermomyces lanuginosus*. En el espectro FTIR de las muestras posteriores a la biodegradación se observó la reducción de la intensidad de los picos correspondientes al estiramiento de OH y NO_2 , lo que sugiere el consumo de estos grupos por parte del hongo, de tal manera que el tratamiento químico promovió la biodegradación (Chaudhary et al., 2021).

4.2.4 Oxidación mecanoquímica

La degradación mecánica de los plásticos se da por la exposición de estos a estrés mecánico. Esfuerzos mecánicos como el cizallamiento descomponen las cadenas de polímero, estas roturas de la cadena provocan reacciones químicas del material con el oxígeno de la atmósfera (Singh & Sharma, 2008). En procesos de biodegradación de plásticos, estos suelen ser degradados mecánicamente mediante molinos principalmente con el fin de reducir su tamaño. Dicha reducción de tamaño aumenta a su vez el área superficial del material, facilitando la interacción con los microorganismos (El Hadri et al., 2020).

Investigaciones han hecho uso de nitrógeno líquido para llevar los polímeros por debajo de su temperatura de transición vítrea, estado en el que estos se tornan frágiles y quebradizos lo que facilita el proceso de molienda. Usando mallas, se separó el material molido en 4 diferentes tamaños de partícula los cuales se cultivaron con cepas de *Streptomyces* y se comparó su grado de degradación mostrando que conforme disminuye el tamaño de la partícula, aumenta el grado de degradación, de esto se concluyó que la pulverización es un pretratamiento eficaz para obtener altas eficiencias de degradación (Farzi et al., 2019).

4.2.5 Surfactantes

Los surfactantes son compuestos que al ser absorbidos por la superficie de un material reducen la energía libre interfacial entre este y otras sustancias, facilitando así la expansión de la interfase al requerir menos trabajo para formarse (Rosen & Kunjappu, 2012). En lo que respecta a la biodegradación de polímeros, los surfactantes son utilizados para permitir el contacto entre la superficie del plástico (hidrofóbica) y los microorganismos (hidrofílicos).

Para probar su efectividad, se pretrataron muestras de LDPE con 3 diferentes surfactantes, uno catiónico, el cetiltrimetilamonio (CTAB); uno aniónico, dodecilsulfato de sodio (SDS) y uno no iónico, tween 80, posteriormente compararon los índices carbonilo y dobles enlaces de estas muestras y muestras tratadas térmicamente. El SDS obtuvo el mayor aumento de estos índices respecto a los demás tratamientos, por este motivo se probó compararlo con tres surfactantes aniónicos más, se midió el cambio de la cristalinidad y la oxidación que provocaron. El SDS se mantuvo por mucho a la cabeza en cuanto a la oxidación y fue el único que favoreció la posterior biodegradación del LDPE ya que con los demás no se presentó pérdida de peso. La mayor pérdida

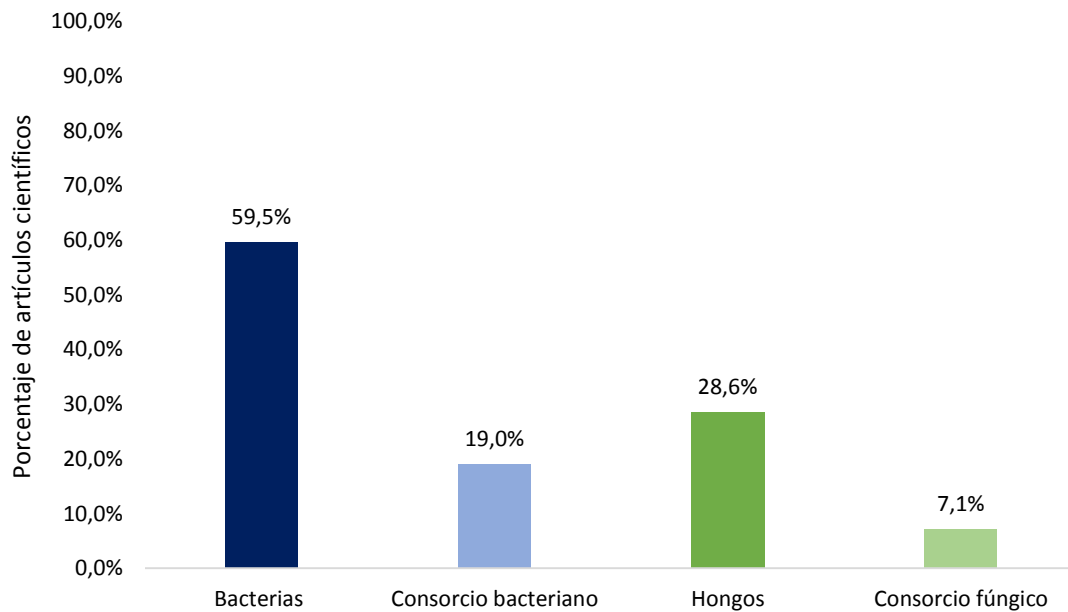
de peso se obtuvo con el LDPE tratado con SDS al 6% de concentración por un mes (Mukherjee et al., 2017).

4.3 Microorganismos degradadores de LDPE y PET

4.3.1 Estudio de los diferentes tipos de cultivo y microorganismos

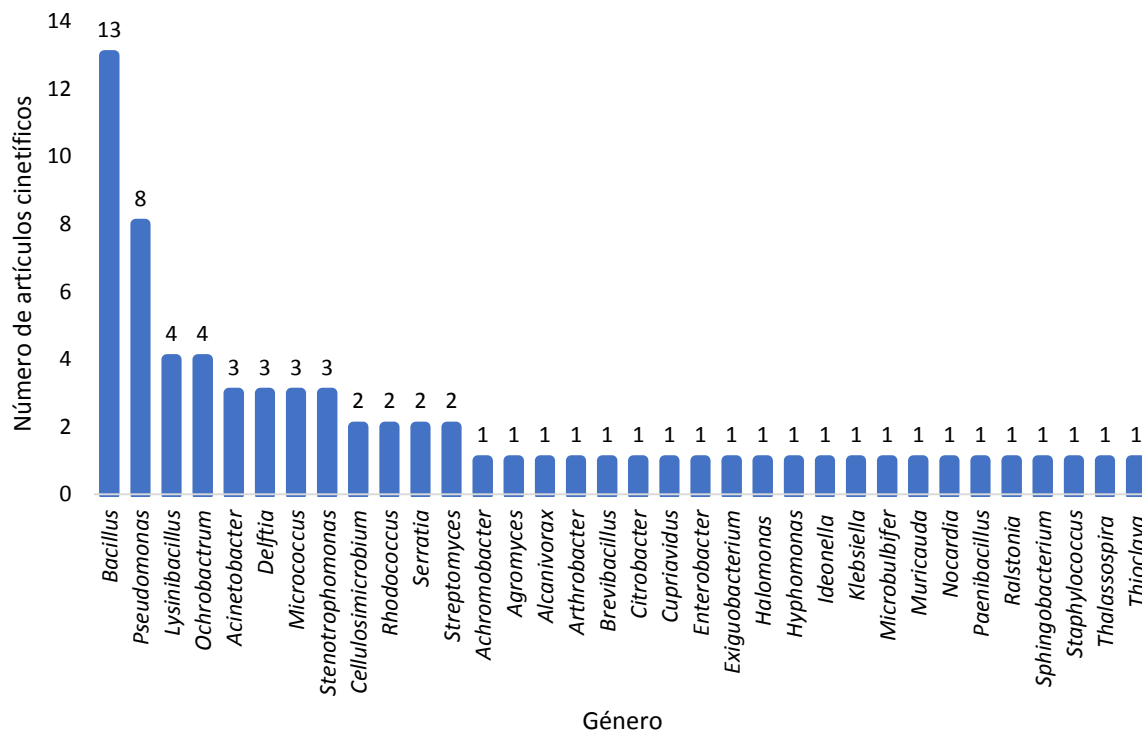
Varios estudios apuntaban a los hongos como buenos candidatos para degradar polímeros debido a su superficie hidrofóbica compatible con la superficie de los polímeros, el crecimiento micelial y ramificación de las hifas, lo que les permite una mayor adherencia y facilita la formación de biopelículas (Ghatge et al., 2020; Malafatti-Picca et al., 2019; Rojas-Parrales et al., 2018), sin embargo, en la figura 9 se observa que tan solo el 28.6% de las investigaciones recopiladas se dedicó al estudio de hongos individualmente y un 7.1% al estudio de consorcios de hongos, en cambio, un 61.9% estudiaron bacterias individuales y un 16.7% consorcios bacterianos.

Los consorcios también fueron poco estudiados a pesar de ofrecer una gran variedad de opciones al explorar la sinergia entre diferentes especies y sus enzimas, sin embargo, estudios demuestran su potencial para la degradación de LDPE y PET respectivamente (DSouza et al., 2021) (Farzi et al., 2019).

Figura 9. Distribución de los tipos de cultivo realizados en las investigaciones

4.3.2 Estudio de las bacterias degradadoras de LDPE y PET

En la figura 10 se muestran los géneros de bacterias que fueron más estudiados para la degradación de LDPE y PET, en el primer y segundo lugar están los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas*, sin embargo, de estos solo la especie *Bacillus subtilis* se posicionó en la Tabla 2, en el noveno puesto, así mismo el género *Acinetobacter*, al que pertenece la segunda especie con más tasa de biodegradación (*Acinetobacter pittii*), solo fue estudiado en 3 investigaciones y el género *Cupriavidus* al que pertenece el primer lugar (*Cupriavidus necator*) solo en una investigación. Del mismo modo, los géneros *Rhodococcus* y *Streptomyces* con el mayor potencial de biodegradación de PET solo fueron estudiados por 2 investigaciones cada una. Esto deja espacio para futuras investigaciones que profundicen en el estudio de estas especies que demostraron un gran potencial de degradación.

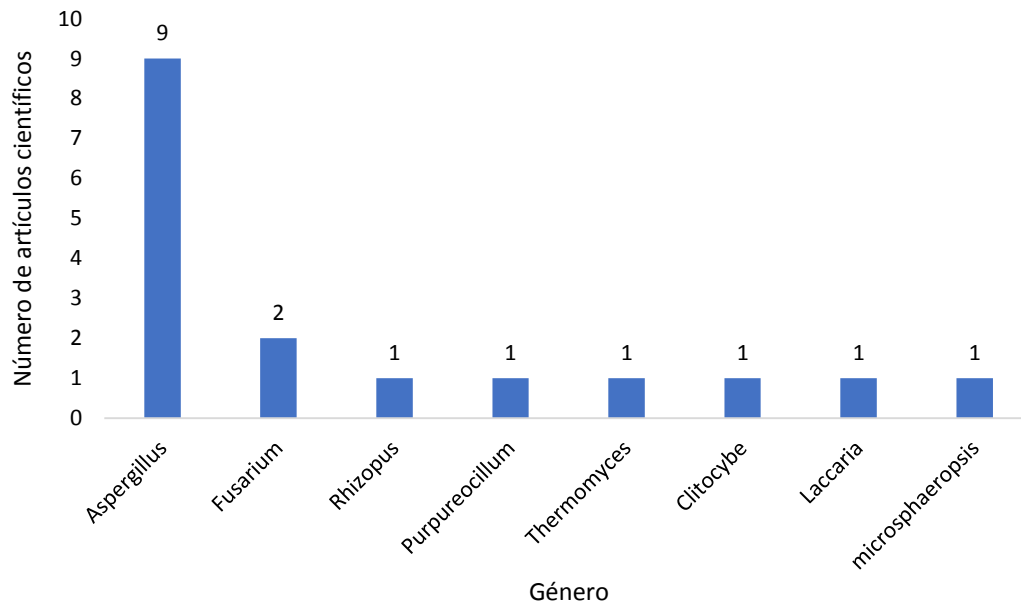
Figura 10. Géneros de bacterias estudiadas para la degradación de LDPE y PET

4.3.3 Estudio de los hongos degradadores de LDPE y PET

En cuanto a los hongos, como lo muestra la figura 11, el género *Aspergillus* fue el más estudiado. Especies del género *Aspergillus* también demostraron un gran potencial para degradar el LDPE con 5 investigaciones cuyas tasas de biodegradación se posicionaron entre las 10 mejores. La mayor tasa de biodegradación de LDPE fue obtenida a partir de un consorcio de especies de este género compuesto por las especies *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* y *Aspergillus oryzae*. Se cultivaron láminas de LDPE de 2x2 cm y 3x3cm en dos diferentes medios de cultivo, PDB (caldo de dextrosa de papa) y CDB (Caldo Czapek Dox) junto al consorcio de especies *Aspergillus* durante 55 días, también adicionó surfactante tween 80 a algunos cultivos, sin embargo, este no

mostró ninguna mejora. El mejor resultado fue obtenido a partir del cultivo hecho con PDB y láminas de 2x2 cm sin tween 80, obtuvo una pérdida de peso del 26.153% (DSouza et al., 2021).

Figura 11. Géneros de hongos estudiados para la degradación de LDPE y PET



4.3.4 Microorganismos más eficaces biodegradando LDPE y PET

El orden de eficacia de cada microorganismo se determinó de acuerdo con su tasa de biodegradación. En la tabla 2 se observa el escalafón de los 10 microorganismos e investigaciones que obtuvieron la mayor tasa de biodegradación de LDPE y en la tabla 3 los que obtuvieron la mayor tasa de biodegradación de PET.

Tabla 2. Primeros diez microorganismos más efectivos para degradar LDPE

| Microorganismo | Tipo | Tasa de biodegradación (mg/g/día) | Referencia |
|--------------------------------|----------|-----------------------------------|-------------------------|
| <i>Cupriavidus necator H16</i> | Bacteria | 16.07 | (Montazer et al., 2019) |

| Microorganismo | Tipo | Tasa de biodegradación (mg/g/día) | Referencia |
|---|-------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|
| <i>Acinetobacter pittii</i> | Bacteria | 9.57 | (Montazer et al., 2018) |
| <i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus oryzae</i> | Consorcio fúngico | 4.76 | (DSouza et al., 2021) |
| <i>Aspergillus versicolor</i> | Hongo | 4.51 | (Gajendiran, A. et al., 2017) |
| <i>Aspergillus clavatus</i> | Hongo | 3.89 | (Gajendiran, Anudurga et al., 2016) |
| <i>Paenibacillus sp.</i> | Bacteria | 3.42 | (Bardají et al., 2019) |
| <i>Aspergillus oryzae</i> | Hongo | 3.25 | (Muhonja et al., 2018) |
| <i>Aspergillus versicolor</i> | Hongo | 3.17 | (Das et al., 2018) |
| <i>Bacillus subtilis</i> | Bacteria | 3.09 | (Vimala & Mathew, 2016) |
| <i>Thermomyces lanuginosus</i> | Hongo | 3.07 | (Chaudhary et al., 2021) |

Tabla 3. *Microorganismos más efectivos para degradar PET*

| Microorganismo | Tipo | Tasa de biodegradación (mg/g/día) | Referencia |
|--|----------------------|-----------------------------------|--------------------------------|
| <i>Rhodococcus sp. SSM1</i> | Bacteria | 55.49 | (Kumar et al., 2020) |
| <i>Streptomyces</i> | Consorcio bacteriano | 38.22 | (Farzi et al., 2019) |
| <i>Ideonella sakaiensis 201-F6</i> | Bacteria | 22.22 | (Yoshida et al., 2016) |
| <i>Bacillus cereus</i> , <i>Agromyces mediolanus</i> | Consorcio bacteriano | 1.01 | (Torena et al., 2021) |
| <i>Microsphaeropsis arundinis</i> | Hongo | 0.36 | (Malafatti-Picca et al., 2019) |

4.4 Coadyuvantes

4.4.1 Surfactantes

Los surfactantes también han demostrado buenos resultados al ser agregados al cultivo durante la biodegradación del plástico, ya sea de forma aislada o producidos por el mismo microorganismo biodegradador, haciendo las veces de un coadyuvante.

Se obtuvo una pérdida de peso del 9.26% en LDPE biodegradado durante 30 días en un cultivo de *Bacillus subtilis* al cual se añadió biosurfactante (surfactina) producido por esta misma bacteria y aislado de un cultivo inicial de la misma, las muestras de LDPE biodegradadas en

cultivos sin biosurfactante añadido solo lograron 1.85% de pérdida de peso (Vimala & Mathew, 2016).

También se aprovechó la secreción de biosurfactante directamente dentro del cultivo con LDPE. Se aislaron las 11 cepas que mostraron ser más eficaces para degradar LDPE y se realizó prueba de gota colapsada a cada medio de cultivo, todas las gotas de los medios tenían más difusividad que el agua debido a la producción de biosurfactantes. Siete de estas cepas se inocularon junto a láminas de LDPE y disminuyeron la tensión superficial en una mayor medida que una solución al 10% de SDS. El efecto del biosurfactante se observó en la formación de la biopelícula, a mayor diámetro de la gota colapsada, el número de bacterias en la superficie del LDPE fue mayor, sin embargo, esto no mostró una correlación con la pérdida de peso, ya que algunas bacterias provocaron una degradación alta sin haber generado una gran masa celular en la biopelícula, a diferencia de otras con una gran masa celular pero baja degradación (Montazer et al., 2018).

4.4.2 Cofactores

Para poder llevar a cabo su función catalítica las enzimas requieren de ciertos compuestos no proteicos conocidos como cofactores. Estos pueden estar fuertemente ligados a los sitios activos o estar débilmente asociados con la enzima. Los cofactores más conocidos son las vitaminas las cuales son moléculas orgánicas, sin embargo, también existen cofactores inorgánicos, generalmente iones metálicos (Richter, 2013).

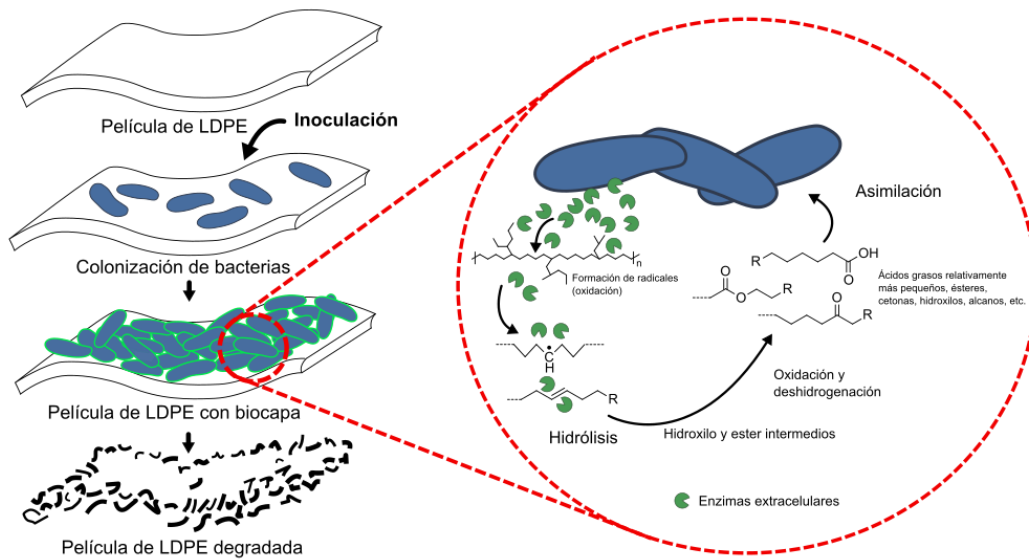
La enzima lacasa es dependiente de los iones de cobre como cofactores, ya que cada una de sus moléculas requiere cuatro átomos de cobre para ser completamente funcional. Esta enzima ha demostrado potencial para la biorremediación y desintoxicación de diferentes medios

(D'Souza-Ticlo et al., 2009), por este motivo, con el objetivo de aumentar la degradación de LDPE, se probó agregar sulfato de cobre para incentivar la producción de lacasa por parte de la bacteria *Microbulbifer hydrolyticus*. Se realizaron cultivos con partículas de LDPE pretratadas con UV, añadiendo 0.2 $\mu\text{mol/ml}$ de sulfato de cobre a algunos de estos para posteriormente compararlos. Las imágenes obtenidas por medio de SEM mostraron un mayor deterioro de las muestras provenientes de cultivos con sulfato de cobre, mientras que las muestras de control y las tratadas únicamente con UV no mostraron daños notables. Esto confirmó las especulaciones de que enzimas dependientes del cobre, como la lacasa, estarían involucradas en la degradación de plásticos (Li et al., 2020).

4.5 Mecanismos de biodegradación

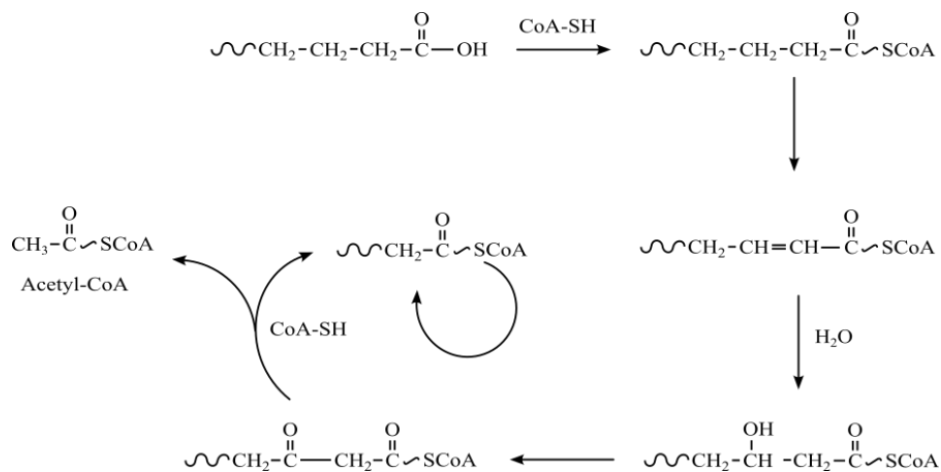
4.5.1 LDPE

La biodegradación del polietileno es un proceso complejo debido a que los microorganismos no pueden utilizarlo directamente como fuente de carbono debido a su alto peso molecular, así como falta de grupos funcionales que las enzimas microbianas puedan atacar (Dey et al., 2020). Por lo tanto, suele ser acompañado de factores abióticos tales como la fotooxidación con UV, tratamiento químico o térmico los cuales fragmentan la cadena de carbono en oligómeros, aumentando el área superficial y la hidrofobicidad por la introducción de grupos funcionales (Carbonilo, hidroxilo, keto, nitro). Posteriormente, tal como se observa en la figura 12, estos grupos funcionales son atacados por los microorganismos, adhiriéndose a la superficie, segregando enzimas extracelulares y fragmentando aún más el polímero (Dey et al., 2020) ; (Ghatge et al., 2020).

Figura 12. Biofragmentación de LDPE

Nota. Adaptado de (Dey et al., 2020).

Luego de la etapa de fragmentación, los microorganismos pueden asimilar y emplear en su proceso metabólico las moléculas de ácido carboxílico, las cuales son el producto principal de la degradación abiótica por medio de la β -oxidación (Albertsson et al., 1995; Restrepo-Flórez et al., 2014). Esta reacción, como se muestra en la figura 13, requiere la activación por la coenzima A, donde posteriormente se remueven dos fragmentos de carbón de la molécula carboxílica a manera de acetyl-CoA, quedando un ácido todavía activo, el cual, participa repetidamente en el ciclo. El acetyl-CoA puede ingresar al ciclo de Krebs liberando finalmente dióxido de carbono y agua (Albertsson et al., 1995).

Figura 13. β -oxidación de ácidos carboxílicos


Nota. Adaptado de (Albertsson et al., 1995).

4.5.2 PET

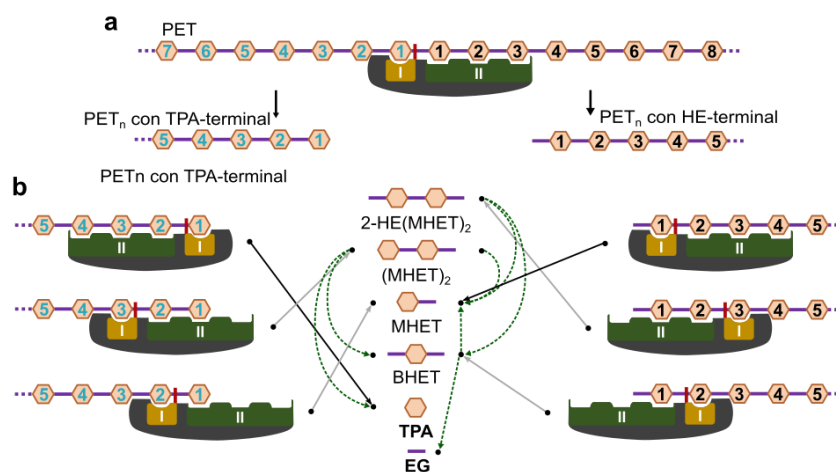
Se han reportado variedad de enzimas capaces de degradar el PET, entre las cuales se encuentran las esterasas, lipasas y cutinasas, siendo estas últimas las más efectivas del grupo (Chen et al., 2020; Han et al., 2017; Joo et al., 2018; Taniguchi et al., 2019). Sin embargo, la estructura química del PET y la cutina son muy diferentes, por lo cual, el mecanismo de hidrólisis de PET a través de esta permanece sin establecerse más allá de que esta enzima ataca los enlaces éster de los sustratos (Chen et al., 2020; Han et al., 2017).

Así mismo, la identificación de la bacteria *Ideonella sakaiensis* 201-F6, cuya enzima llamada *IsPETasa* ha reportado ser de 5.5 a 120 veces más eficiente que las enzimas anteriormente mencionadas (Han et al., 2017), esto ha llevado que se busque esclarecer su mecanismo de degradación del PET. Para ello, a través de una serie de experimentos de mutagénesis estructural y sitio dirigido se propuso que la biodegradación inicia con la unión de la PETasa secretada por la bacteria a la superficie del PET por su superficie hidrofóbica (Joo et al., 2018).

Posteriormente, el proceso continúa con el paso llamado “nick generation step”, donde cuatro fracciones de MHET (Bis(2-hydroxyethyl) terephthalate) se unen a cada subsitio de la enzima, una en el subsitio I y 3 en el subsitio II donde la escisión del enlace éster genera la formación de dos cadenas de PET con diferentes terminaciones, una con la terminación TPA (ácido tereftálico) liberada del subsitio I y del subsitio II con terminación HE (grupo 2-hidroxietil) (Joo et al., 2018). **(Figura 14a)**

En el segundo paso “terminal digestion step”, las cadenas de PET obtenidas en el paso anterior se convierten en MHET de maneras diferentes. Para molécula HE-terminal (${}^{\text{HE}}\text{PET}$), el MHET terminal se une al subsitio I y las tres subsecuentes MHET al subsitio II, donde la ruptura del enlace éster genera una molécula de MHET y un monómero ${}^{\text{HE}}\text{PET}_{(n-1)}$ que pasa por un proceso similar al anterior. Mientras que la cadena con terminal TPA, ocurre por la ubicación de la terminación TPA en el subsitio I y las tres fracciones de MHET siguientes en el subsitio II, donde se genera una molécula de TPA y una cadena de ${}^{\text{HE}}\text{PET}_{(n-1)}$ que pasa por el proceso de escisión mencionado anteriormente (Joo et al., 2018). **(Figura 14b)**

Figura 14. Diagrama esquemático del proceso de degradación de PET



Nota. Adaptado de (Joo et al., 2018).

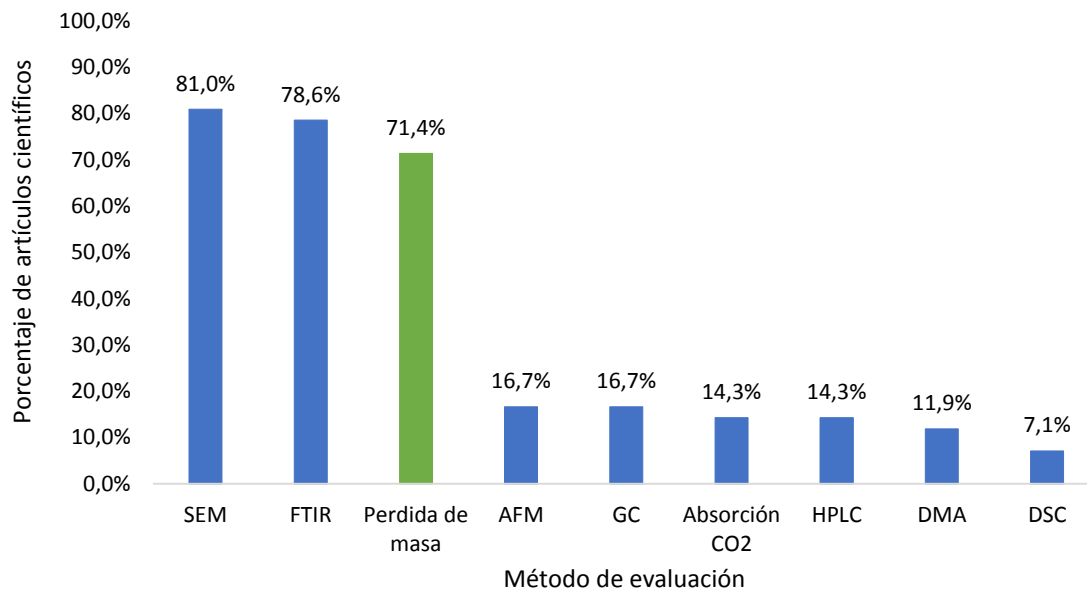
La continuación de la digestión de estas cadenas de PET de manera combinatoria produce la acumulación de MHET, ácido tereftálico y etilenglicol al final del proceso (Joo et al., 2018; Taniguchi et al., 2019). Finalmente, a través de la MHETasa presente en la pared celular se hidroliza el MHET en ácido tereftálico y etilenglicol las cuales pueden ser introducidas al ciclo de Krebs de la bacteria (Taniguchi et al., 2019).

4.6. Técnicas de medición de la biodegradación

4.6.1. Comparación de la biodegradación entre diferentes microorganismos

Determinar qué microorganismos fueron los más eficaces entre todos los que se estudiaron es una labor compleja debido a la cantidad de variables que intervienen en el proceso de biodegradación. Además del mismo microorganismo, variables como el tiempo de biodegradación del cultivo, su temperatura, coadyuvantes agregados, pretratamientos aplicados y variables propias de cada pretratamiento, tienen una influencia importante en el resultado final, además, cada investigación las manipula de diferentes maneras y con diferentes valores.

Los métodos de medición dan un resultado concreto del estado de las muestras de polímero, sin embargo, es difícil tener la certeza de a qué factores exactamente se debe este. Por este motivo fue necesario encontrar una manera de relacionar estos resultados con una o varias de las variables iniciales del proceso. La figura 15 da una visión general del uso de los diferentes métodos de evaluación en el estudio de la biodegradación de polímeros. Entre los 3 métodos más usados tenemos al microscopio electrónico de barrido (SEM), la espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) y la medición de pérdida de masa.

Figura 15. *Métodos de evaluación aplicados en las investigaciones.*

Las imágenes obtenidas a través de SEM ofrecen un método cualitativo de evaluación de la degradación, esto, aunque es una manera sencilla de observar directamente los daños provocados por los microorganismos y tratamientos, no permite una comparación exacta entre diferentes cepas.

Por su parte, los espectros FTIR permiten comparar tanto cualitativa como cuantitativamente los cambios provocados a la estructura molecular del polímero con indicadores como el índice de carbonilo o el índice de dobles enlaces, pero estos no son relacionados con variables iniciales lo que impide poder comparar entre estudios con diferentes condiciones.

La medición de la pérdida de masa al igual que FTIR, permite obtener un indicador cuantitativo del nivel de degradación, generalmente expresado como porcentaje de pérdida de masa, de este se puede calcular la tasa de biodegradación la cual relaciona el porcentaje de pérdida de masa de la muestra con el tiempo de biodegradación del cultivo y permite una comparación independientemente del tiempo que se dio a cada cultivo y el tamaño inicial de las muestras de

polímero. Al ser aplicado en el 71.4 % de los artículos consultados, se consideró calcular la tasa de biodegradación a partir del porcentaje de pérdida de masa, para cada una de estas investigaciones recopiladas y aplicarla como criterio de comparación del rendimiento de los microorganismos con mejor resultado de cada una.

4.6.2. Prueba por pérdida de masa (PM)

La prueba por pérdida de masa consiste en la medición de la masa del polímero de interés antes y después de la biodegradación con el fin de cuantificar el consumo de este por parte de los microorganismos, sin embargo, se debe tener precaución con esta técnica puesto que la pérdida de masa resultante puede ser consecuencia del consumo de los aditivos del plástico (Ghatge et al., 2020).

El grado de degradación del polímero calculado a partir de la pérdida de masa, se expresó generalmente como porcentaje de pérdida de masa, calculada de acuerdo con la ecuación 3 presentada a continuación (Das et al., 2018; Kumari et al., 2019).

$$\% \text{pérdida de masa} = \frac{\text{masa inicial} - \text{masa final}}{\text{masa inicial}} * 100 \quad (\text{Ec. 3})$$

4.6.3. Microscopio electrónico de barrido (SEM)

El microscopio electrónico de barrido es un tipo de microscopio electrónico capaz de ofrecer una gran resolución. El microscopio escanea la superficie con un haz de electrones el cual pasa a través de varios lentes que lo enfocan para ampliar o reducir el área que se desea observar. La interacción entre los electrones y los átomos de la muestra da como resultado diferentes señales en forma de electrones y fotones, que son recolectados y analizados para obtener la imagen de la muestra observada (Nouailhat, 2010).

4.6.4. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

La espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier es un método que permite determinar las sustancias presentes en una muestra y su cantidad. En este, se aplica un haz de radiación infrarroja sobre la muestra, la cual absorbe parte de la radiación y transmite el resto. Al detectar la radiación transmitida se obtiene como resultado un espectro con los picos de absorción correspondientes a las frecuencias de vibraciones entre los enlaces de los átomos del material y así mismo, el tamaño de los picos es proporcional a la cantidad presente de cada compuesto (Thermo, 2001).

4.6.5. Microscopio de fuerza atómica (AFM)

El microscopio de fuerza atómica (AFM) es un instrumento de escaneo de superficies a ultra alta resolución. Consta de una sonda flexible en cuyo extremo se encuentra una punta micro fabricada de silicio la cual se mueve con alta precisión sobre la superficie. Un detector óptico mide las fuerzas que actúan sobre la sonda y a partir de estas genera una imagen de la topología de la superficie.

Al basar sus observaciones en un principio mecánico, el AFM logra superar las limitaciones impuestas por la longitud de onda en los microscopios que trabajan con luz. Así mismo, la muestra requiere menos tratamientos para su observación lo que permite mantenerla lo más cerca de su estado original, llegando incluso a permitir a observación de células vivas en tiempo real (Jena & Cho, 2002).

4.6.6. Cromatografía de gases (GC)

La cromatografía de gases (GC) es una técnica en la cual se aplica una fase móvil gaseosa y una fase estacionaria líquida que interactúan con la mezcla que se analiza para separar sus componentes gracias a sus diferencias en punto de ebullición, presión de vapor y polaridad. El equipo en el que se realiza consta de una columna o tubería en espiral en la que se encuentra la fase estacionaria, en su entrada posee un puerto inyector en el que se introduce la mezcla a analizar y esta es arrastrada por la inyección de la fase móvil gaseosa, la mezcla es obligada a atravesar la columna que es calentada por un horno a una temperatura determinada. La fase estacionaria dentro de la columna ralentiza los compuestos que le son afines y el detector mide la cantidad de estos a la salida de la columna. Los componentes menos afines a la fase estacionaria salen primero y posteriormente, los más afines (Stauffer et al., 2008).

4.6.7. Cromatografía líquida de alta precisión (HPLC)

La cromatografía líquida de alta precisión es una técnica que permite separar componentes de distinta naturaleza presentes en una mezcla sin comprometer la integridad de estos.

Este método tiene como componentes principales: la muestra a analizar, una fase móvil líquida y una fase estacionaria, la cual puede ser sólida o una película líquida soportada en un sólido inerte. La fase móvil lleva la muestra a través de la fase estacionaria, en donde las interacciones entre estos tres componentes provocan la separación de los compuestos en la mezcla, ralentizando y reteniendo los que posean mayor afinidad con la fase estacionaria y dejando avanzar los más afines a la fase móvil (Suarez Ospina & Morales Hernández, 2018).

4.6.8. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

La calorimetría diferencial de barrido (DSC) es un método de análisis térmico ampliamente usado para la caracterización de materiales y en específico, permite una fácil medición del nivel de cristalinidad de los polímeros. Este se basa en la medición del flujo de calor a través de la muestra respecto a un material de referencia, de esta manera permite obtener datos importantes del material como temperatura de transición vítrea y el punto de fusión (Koshy et al., 2017).

4.6.9. Análisis mecánico dinámico (DMA)

El análisis mecánico dinámico consiste en una serie de pruebas a partir de las cuales se obtiene información sobre las propiedades mecánicas de los materiales viscoelásticos en función del tiempo, la temperatura y la frecuencia. Esta técnica consiste en someter la muestra de material a tensiones mecánicas sinusoidales, lo que hace que el material se deforme siguiendo el mismo patrón periódico. El analizador mide las amplitudes de la fuerza y el desplazamiento, y calcula el desfase entre la fuerza y la señal de desplazamiento. Como resultado se obtiene el módulo complejo de la muestra (Wagner, 2018).

4.6.10. Absorción de CO₂

La medición del CO₂ liberado, es una técnica común para la determinación del grado de biodegradación. Esta se puede realizar por análisis gravimétrico o volumétrico.

El análisis gravimétrico inicia con el burbujeo de aire estéril libre de CO₂ hacia el matraz en estudio, esto permite que el CO₂ producido por la actividad microbiológica se disuelva en el caldo de cultivo. Para estimar la cantidad de este gas disuelto, se inicia una reacción de precipitación de este y finalmente se calcula graviméricamente el CO₂ liberado tomando el peso

del precipitado. El método volumétrico difiere del anteriormente mencionado únicamente en que en vez de precipitar el CO₂, se calcula el volumen de este mediante titulación del caldo de cultivo previamente filtrado para retirar la biomasa. Para este fin se hace uso de una solución de hidróxido de sodio y como indicadores se aplican naranja de metilo y posteriormente fenolftaleína (Ameen et al., 2015).

5. Conclusiones

En el 66.7% de los artículos analizados no se realizó ningún pretratamiento a las muestras de plástico, sin embargo, las investigaciones que aplicaron pretratamientos sobre los plásticos evidenciaron en su mayoría un aumento en la biodegradación de estos respecto a la biodegradación de las muestras no pretratadas. El pretratamiento más aplicado en investigación fue la fotooxidación, seguido de los surfactantes y la oxidación térmica, estos a su vez fueron combinados para aprovechar la sinergia entre tratamientos mostrando un efecto superior al de cada uno de manera individual.

La fotooxidación mostró efectos notables en el índice carbonilo a partir de los 30 minutos de exposición y reducción de la hidrofobicidad de la superficie del plástico, así mismo, la oxidación térmica, aumentó el índice carbonilo de las muestras y redujo la hidrofobicidad desde los 60°C. Los surfactantes con mejores resultados al reducir la hidrofobicidad y aumentar la biodegradación del material fueron el dodecilsulfato de sodio (SDS) de tipo aniónico y la surfactina producida por la bacteria *Bacillus subtilis*.

Los microorganismos más investigados fueron las bacterias, específicamente el género *Bacillus*, del cual resalta la especie *B. subtilis* con una tasa de biodegradación de 3.09, seguido de

las *Pseudomonas*. Entre los hongos, el género más investigado fue el *Aspergillus*, del cual resaltan las especies *A. niger*, *A. flavus* y *A. oryzae* que obtuvieron una tasa de biodegradación de 4.76 al formar un consorcio para degradar LDPE. En cuanto a eficiencia biodegradando plásticos la especie con mejor tasa de biodegradación de LDPE fue la *Cupriavidus necator* H16 con una tasa de biodegradación del 16.07 mg/g/día y la que obtuvo la mejor tasa de biodegradación de PET fue la *Rhodococcus* sp. SSM1 con una tasa de biodegradación de 55.49 mg/g/día.

El método de evaluación de la biodegradación más usado fue el SEM, seguido del FTIR y la pérdida de masa. La pérdida de masa permitió obtener la comparación más adecuada de los resultados de cada microorganismo.

6. Recomendaciones

Se recomienda explorar la sinergia entre diferentes tipos de pretratamiento y estudiar el gasto energético que implica cada uno para descartar los que puedan generar contaminación o una huella de carbono mayor o igual a la producida por el plástico que se está procesando.

Al momento de seleccionar las especies para desarrollar una prueba experimental se sugiere poner énfasis en los hongos, de los cuales no se ha hecho la suficiente investigación, especialmente en el género *Aspergillus* que ha mostrado muy buenos resultados con LDPE, pero no se ha aplicado en la degradación de PET. Así mismo, evaluar la eficiencia de cultivos inoculados con consorcios de microorganismos, ya que han sido poco estudiados, sin embargo, en las interacciones positivas entre especies se puede hallar gran potencial para incentivar la biodegradación.

Referencias

- Acoplasticos. (2021, Plásticos en Colombia 2021-2022. *Issn-0120-8624-X*, , 226.
<https://www.acoplasticos.org/index.php/mnu-nos/mnu-pyr/mnu-pyr-pi/378>
- Akay, M. (2012). *Introduction to polymer science and technology*. Bookboon.
- Albertsson, A., Barenstedt, C., Karlsson, S., & Lindberg, T. (1995). Degradation product pattern and morphology changes as means to differentiate abiotically and biotically aged degradable polyethylene. *Polymer*, *36*(16), 3075-3083.
- Ameen, F., Moslem, M., Hadi, S., & Al-Sabri, A. E. (2015). Biodegradation of low density polyethylene (LDPE) by mangrove fungi from the red sea coast. *Progress in Rubber Plastics and Recycling Technology*, *31*(2), 125-143.
- Annamalai, J., & Namasivayam, V. (2017). Determination of effect of pH and storage temperature on leaching of phthalate esters from plastic containers by ultrasound-assisted dispersive liquid–liquid micro-extraction. *Journal of Food Measurement & Characterization*, *11*(4), 2222-2232. 10.1007/s11694-017-9607-1
- Askeland, D. R., Fulay, P. P., & Wright, W. J. (2017). *Ciencia e ingeniería de materiales*. Cengage learning.
- Awasthi, S., Srivastava, N., Singh, T., Tiwary, D., & Mishra, P. K. (2017). Biodegradation of thermally treated low density polyethylene by fungus *Rhizopus oryzae* NS 5. *3 Biotech*, *7*(1), 1-8.
- Bardají, D. K. R., Furlan, J. P. R., & Stehling, E. G. (2019). Isolation of a polyethylene degrading *Paenibacillus* sp. from a landfill in Brazil. *Archives of Microbiology*, *201*(5), 699-704.

- Bodour, A. A., & Miller-Maier, R. M. (1998). Application of a modified drop-collapse technique for surfactant quantitation and screening of biosurfactant-producing microorganisms. *Journal of Microbiological Methods*, 32(3), 273-280.
- Borrelle, S. B., Ringma, J., Law, K. L., Monnahan, C. C., Lebreton, L., McGivern, A., Murphy, E., Jambeck, J., Leonard, G. H., & Hilleary, M. A. (2020). Predicted growth in plastic waste exceeds efforts to mitigate plastic pollution. *Science*, 369(6510), 1515-1518.
- Chamas, A., Moon, H., Zheng, J., Qiu, Y., Tabassum, T., Jang, J. H., Abu-Omar, M., Scott, S. L., & Suh, S. (2020). Degradation rates of plastics in the environment. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 8(9), 3494-3511.
- Chaudhary, A. K., Chaitanya, K., Dalmia, R., & Vijayakumar, R. P. (2021). Synergistic effect of UV, thermal, and chemical treatment on biological degradation of low-density polyethylene (LDPE) by *Thermomyces lanuginosus*. *Environmental Monitoring and Assessment*, 193(8), 1-11.
- Chen, Z., Wang, Y., Cheng, Y., Wang, X., Tong, S., Yang, H., & Wang, Z. (2020). Efficient biodegradation of highly crystallized polyethylene terephthalate through cell surface display of bacterial PETase. *The Science of the Total Environment*, 709, 136138. 10.1016/j.scitotenv.2019.136138
- D'Souza-Ticlo, D., Garg, S., & Raghukumar, C. (2009). Effects and interactions of medium components on laccase from a marine-derived fungus using response surface methodology. *Marine Drugs*, 7(4), 672-688.
- Das, M. P., Kumar, S., & Das, J. (2018). Fungal-mediated deterioration and biodegradation study of low-density polyethylene (LDPE) isolated from municipal dump yard in Chennai, India. *Energy, Ecology and Environment*, 3(4), 229-236.

- Dey, A. S., Bose, H., Mohapatra, B., & Sar, P. (2020). Biodegradation of unpretreated low-density polyethylene (LDPE) by *Stenotrophomonas sp.* and *Achromobacter sp.*, isolated from waste dumpsite and drilling fluid. *Frontiers in Microbiology*, *11*, 603210.
- DSouza, G. C., Sheriff, R. S., Ullanat, V., Shrikrishna, A., Joshi, A. V., Hiremath, L., & Entoori, K. (2021). Fungal biodegradation of low-density polyethylene using consortium of *Aspergillus* species under controlled conditions. *Heliyon*, *7*(5), e07008.
- El Hadri, H., Gigault, J., Maxit, B., Grassl, B., & Reynaud, S. (2020). Nanoplastic from mechanically degraded primary and secondary microplastics for environmental assessments. *NanoImpact*, *17*, 100206. 10.1016/j.impact.2019.100206
- El-Sayed, M. T., Rabie, G. H., & Hamed, E. A. (2021). Biodegradation of low-density polyethylene (LDPE) using the mixed culture of *Aspergillus carbonarius* and *A. fumigates*. *Environment, Development and Sustainability*, *23*(10), 14556-14584.
- 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*, 25-31.
- Gajendiran, A., Subramani, S., & Abraham, J. (2017). (2017). Effect of *Aspergillus versicolor* strain JASS1 on low density polyethylene degradation. Paper presented at the *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, , 263(2) 022038.
- 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.
- Ghatge, S., Yang, Y., Ahn, J., & Hur, H. (2020). Biodegradation of polyethylene: a brief review. *Applied Biological Chemistry*, *63*(1), 1-14. 10.1186/s13765-020-00511-3

- Han, X., Liu, W., Huang, J., Ma, J., Zheng, Y., Ko, T., Xu, L., Cheng, Y., Chen, C., & Guo, R. (2017). Structural insight into catalytic mechanism of PET hydrolase. *Nature Communications*, 8(1), 1-6.
- Jain, D. K., Collins-Thompson, D. L., Lee, H., & Trevors, J. T. (1991). A drop-collapsing test for screening surfactant-producing microorganisms. *Journal of Microbiological Methods*, 13(4), 271-279.
- Jena, B. P., & Cho, S. (2002). Chapter 2 - The Atomic Force Microscope in the Study of Membrane Fusion and Exocytosis. *Methods in Cell Biology*, 68, 33-50.
[https://doi.org/10.1016/S0091-679X\(02\)68003-3](https://doi.org/10.1016/S0091-679X(02)68003-3)
- Joo, S., Cho, I. J., Seo, H., Son, H. F., Sagong, H., Shin, T. J., Choi, S. Y., Lee, S. Y., & Kim, K. (2018). Structural insight into molecular mechanism of poly (ethylene terephthalate) degradation. *Nature Communications*, 9(1), 1-12.
- Koshy, O., Subramanian, L., & Thomas, S. (2017). Chapter 5 - Differential Scanning Calorimetry in Nanoscience and Nanotechnology. In S. Thomas, R. Thomas, A. K. Zachariah & R. K. Mishra (Eds.), *Thermal and Rheological Measurement Techniques for Nanomaterials Characterization* (pp. 109-122). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46139-9.00005-0>
- Kumar, V., Maitra, S. S., Singh, R., & Burnwal, D. K. (2020). Acclimatization of a newly isolated bacteria in monomer tere-phthalic acid (TPA) may enable it to attack the polymer polyethylene tere-phthalate (PET). *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(4), 103977.

- Kumari, A., Chaudhary, D. R., & Jha, B. (2019). Destabilization of polyethylene and polyvinylchloride structure by marine bacterial strain. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(2), 1507-1516.
- Lebreton, L., & Andrady, A. (2019). Future scenarios of global plastic waste generation and disposal. *Palgrave Communications*, 5(1), 1-11.
- Li, Z., Wei, R., Gao, M., Ren, Y., Yu, B., Nie, K., Xu, H., & Liu, L. (2020). Biodegradation of low-density polyethylene by *Microbulbifer hydrolyticus* IRE-31. *Journal of Environmental Management*, 263, 110402.
- Lucas, N., Bienaime, C., Belloy, C., Queneudec, M., Silvestre, F., & Nava-Saucedo, J. (2008). Polymer biodegradation : Mechanisms and estimation techniques. *Chemosphere (Oxford)*, 73(4), 429-442.
- Madigan, M. T. (2009). Brock biologia de los microorganismos (12ed.. ed.). Madrid Pearson Educacion.
- Malafatti-Picca, L., de Barros Chaves, Michel Ricardo, de Castro, A. M., Valoni, É, de Oliveira, V. M., Marsaioli, A. J., de Franceschi de Angelis, Dejanira, & Attili-Angelis, D. (2019). Hydrocarbon-associated substrates reveal promising fungi for poly (ethylene terephthalate)(PET) depolymerization. *Brazilian Journal of Microbiology*, 50(3), 633-648.
- Montazer, Z., Habibi Najafi, M. B., & Levin, D. B. (2019). Microbial degradation of low-density polyethylene and synthesis of polyhydroxyalkanoate polymers. *Canadian Journal of Microbiology*, 65(3), 224-234.
- 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.
- Muhonja, C. N., Makonde, H., Magoma, G., & Imbuga, M. (2018). Biodegradability of polyethylene by bacteria and fungi from Dandora dumpsite Nairobi-Kenya. *PloS One*, 13(7), e0198446.
- Mukherjee, S., RoyChaudhuri, U., & Kundu, P. P. (2017). Anionic surfactant induced oxidation of low density polyethylene followed by its microbial bio-degradation. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 117, 255-268.
- Muñoz de Malajovich, María Antonia. (2012). Biotecnología. *Biotecnología* (pp. 446)
- Nouailhat, A. (2010). *An introduction to nanoscience and nanotechnology*. John Wiley & Sons.
- Ochoa Carreño, D. C., & Montoya Restrepo, A. (2010). Consorcios microbianos: una metáfora biológica aplicada a la asociatividad empresarial en cadenas productivas agropecuarias. *Revista Facultad De Ciencias Económicas: Investigación Y Reflexión*, 18(2), 55-74.
- Orhan, Y., & Büyükgüngör, H. (2000). Enhancement of biodegradability of disposable polyethylene in controlled biological soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 45(1), 49-55. 10.1016/S0964-8305(00)00048-2
- Restrepo-Flórez, J., Bassi, A., & Thompson, M. R. (2014). Microbial degradation and deterioration of polyethylene—A review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 88, 83-90.
- Richter, M. (2013). Functional diversity of organic molecule enzyme cofactors. *Natural Product Reports*, 30(10), 1324-1345.
- Roberts, C., Edwards, S., Vague, M., León-Zayas, R., Scheffer, H., Chan, G., Swartz, N. A., & Mellies, J. L. (2020). Environmental consortium containing *pseudomonas* and *bacillus*

- species synergistically degrades polyethylene terephthalate plastic. *Mosphere*, 5(6), 1151.
- Rojas-Parrales, A., Orantes-Sibaja, T., Redondo-Gómez, C., & Vega-Baudrit, J. (2018). Biological Degradation of Plastics: Polyethylene Biodegradation by *Aspergillus* and *Streptomyces* Species—A Review. *Integrated and Sustainable Environmental Remediation*, , 69-79.
- Rosen, M. J., & Kunjappu, J. T. (2012). *Surfactants and interfacial phenomena*. John Wiley & Sons.
- Sagong, H., Seo, H., Kim, T., Son, H. F., Joo, S., Lee, S. H., Kim, S., Woo, J., Hwang, S. Y., & Kim, K. (2020). Decomposition of the PET film by MHETase using exo-PETase function. *ACS Catalysis*, 10(8), 4805-4812. 10.1021/acscatal.9b05604
- Samanta, S., Datta, D., & Halder, G. (2020). Biodegradation efficacy of soil inherent novel sp. *Bacillus tropicus* onto low density polyethylene matrix. *Journal of Polymer Research*, 27(10)10.1007/s10965-020-02296-x
- Shah, A. A., Hasan, F., Hameed, A., & Ahmed, S. (2008). Biological degradation of plastics: A comprehensive review. *Biotechnology Advances*, 26(3), 246-265. 10.1016/j.biotechadv.2007.12.005
- Simul Bhuyan, M., S, V., S, S., Szabo, S., Maruf Hossain, M., Rashed-Un-Nabi, M., C.R, P., M.P, J., & Shafiqul Islam, M. (2021). Plastics in marine ecosystem: A review of their sources and pollution conduits. *Regional Studies in Marine Science*, 4110.1016/j.rsma.2020.101539
- Singh, B., & Sharma, N. (2008). Mechanistic implications of plastic degradation. *Polymer Degradation and Stability*, 93(3), 561-584. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2007.11.008>

- Sintim, H. Y., Bary, A. I., Hayes, D. G., Wadsworth, L. C., Anunciado, M. B., English, M. E., Bandopadhyay, S., Schaeffer, S. M., DeBruyn, J. M., Miles, C. A., Reganold, J. P., & Flury, M. (2020). In situ degradation of biodegradable plastic mulch films in compost and agricultural soils. *The Science of the Total Environment*, 727, 138668. 10.1016/j.scitotenv.2020.138668
- Siracusa, V. (2019). Microbial degradation of synthetic biopolymers waste. *Polymers*, 11(6), 1066. 10.3390/polym11061066
- Smith, W. F., Hashemi, J., Cázares, G. N., & González-Caver, P. A. (2006). *Fundamentos de la ciencia e ingeniería de materiales*. McGraw-Hill México, DF.
- Soleimani, Z., Gharavi, S., Soudi, M., & Moosavi-Nejad, Z. (2020). A survey of intact low-density polyethylene film biodegradation by terrestrial *Actinobacterial* species. *International Microbiology*, 10.1007/s10123-020-00142-0
- Sperling, L. H. (1996). Introduction to physical polymer science/LH Sperling.
- Stauffer, E., Dolan, J. A., & Newman, R. (2008). CHAPTER 8 - Gas chromatography and gas chromatography—mass spectrometry. In E. Stauffer, J. A. Dolan & R. Newman (Eds.), *Fire Debris Analysis* (pp. 235-293). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012663971-1.50012-9>
- Suarez Ospina, D., & Morales Hernández, Y. (2018). Principios básicos de la cromatografía líquida de alto rendimiento para la separación y análisis de mezclas.
- Taniguchi, I., Yoshida, S., Hiraga, K., Miyamoto, K., Kimura, Y., & Oda, K. (2019). Biodegradation of PET: current status and application aspects. *Acs Catalysis*, 9(5), 4089-4105.

- Thermo, N. (2001). Introduction to Fourier transform infrared spectrometry. *Thermo Nicolet Corporation: Madison-USA*,
- Torena, P., Alvarez-Cuenca, M., & Reza, M. (2021). Biodegradation of polyethylene terephthalate microplastics by bacterial communities from activated sludge. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 99, S69-S82.
- Varjani, S. J., Gnansounou, E., Gurunathan, B., Pant, D., & Zakaria, Z. A. (2017). *Waste Bioremediation*. Singapore: Springer Singapore Pte. Limited.
- Vimala, P. P., & Mathew, L. (2016). Biodegradation of polyethylene using *Bacillus subtilis*. *Procedia Technology*, 24, 232-239.
- Wagner, M. (2018). 12 - Dynamic Mechanical Analysis. In M. Wagner (Ed.), *Thermal Analysis in Practice* (pp. 210-240). Hanser. <https://doi.org/10.3139/9781569906446.012>
- Yoshida, S., Hiraga, K., Takehana, T., Taniguchi, I., Yamaji, H., Maeda, Y., Toyohara, K., Miyamoto, K., Kimura, Y., & Oda, K. (2016). A bacterium that degrades and assimilates poly (ethylene terephthalate). *Science*, 351(6278), 1196-1199.

Apéndices

Apéndice A. *Método de la gota colapsada*

El método de la gota colapsada fue desarrollado por Jain et al. (1991), el cual tiene como objetivo detectar de manera rápida la presencia de surfactantes en medios de cultivo. Esta prueba se basa en la habilidad de los surfactantes de desestabilizar las gotas de líquido sobre una superficie oleosa (Jain et al., 1991).

Para realizar este método, se toma una gota de la suspensión celular y se traslada a microplacas recubiertas de aceite. Si la gota contiene biosurfactantes, esta colapsa debido a la reducción de la tensión superficial entre las moléculas de la suspensión y la superficie hidrofóbica. Si la gota no contiene surfactantes, esta permanecerá estable. Sin embargo, presenta una baja sensibilidad debido a que las concentraciones de surfactantes deben ser altas para que la gota colapse.

En caso de que el surfactante sea puro, Bodour y Miller, han presentado modificaciones de este método para que sea cuantitativo en las cuales se realizan pruebas con soluciones de concentración conocida de surfactantes y se generan curvas de estandarización de la concentración de surfactante versus el diámetro de la gota para luego ser comparadas con los diámetros de las gotas obtenidas de los medios de cultivo (Bodour, Miller 1998).