

Identificación de marcadores metabólicos en la biodegradación de plásticos por hongos  
nativos del género *Fusarium*

Silvia Juliana Corrales Murillo

Universidad Industrial de Santander  
Facultad de Ciencias  
Escuela de Química  
Bucaramanga  
2025

Identificación de marcadores metabólicos en la biodegradación de plásticos por hongos  
nativos del género *Fusarium*

Silvia Juliana Corrales Murillo

Trabajo de Grado para Optar por el título de Magíster en Química

Director

William Fernando Hidalgo Bucheli

Dr. En Química Ecológica

Codirector

Sergio Andrés Marchant Rojas

Dr. En Ciencias Biológicas

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Química

Bucaramanga

2025

## Resumen

**Título:** Identificación de marcadores metabólicos en la biodegradación de plásticos por hongos nativos del género *Fusarium*\*

**Autores:** Silvia Juliana Corrales-Murillo, William Hidalgo, Sergio Marchant\*\*

**Palabras claves:** GC-MS, LC-MS, LDPE, Metabolómica, Polietileno de baja densidad, Rugosidad.

La acumulación de residuos plásticos, especialmente polietileno de baja densidad (LDPE), constituye una creciente preocupación ambiental debido a su persistencia y resistencia a la degradación. Los microorganismos, particularmente los hongos, han mostrado la capacidad de biodegradación de polímeros sintéticos, ofreciendo una alternativa prometedora para la gestión de los residuos plásticos. Sin embargo, los mecanismos subyacentes a la biodegradación del LDPE por hongos aún no se comprenden completamente. Este estudio investigó el potencial para biodegradar LDPE por dos cepas de hongos nativos del género *Fusarium* (FOCIC01 y FECIC02) con un enfoque metabolómico no dirigido a través de cromatografía de gases y cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (GC-MS y LC-MS). La tasa de degradación de LDPE se evaluó mediante la pérdida de peso del material, FTIR, SEM de alta resolución, análisis de rugosidad y análisis metabolómico durante un periodo de incubación de 30 días. Los resultados mostraron que la cepa FOCIC01 degradó el material polimérico en un 4,73%, mientras que FECIC02 solo alcanzó un 0,30%, lo que indica una menor capacidad de biodegradación en comparación. El análisis por FTIR reveló cambios químicos en las bandas correspondientes al C-H y C=C, correspondiente a la despolimerización del LDPE, siendo los resultados con FOCIC01 los de mayor relevancia. Adicional, a través de un análisis de rugosidad fue posible observar cambios significativos en la superficie del LDPE tratado con FOCIC01. El análisis del metaboloma del hongo mostró variaciones significativas en rutas metabólicas clave, incluyendo el metabolismo central del carbono, la respuesta al estrés oxidativo y la biosíntesis de metabolitos secundarios. Se observaron cambios significativos en los metabolismos del almidón y sacarosa, glutatión, glioxilato y dicarboxilato, arginina y prolina, así como en la biosíntesis de arginina, alanina, aspartato y glutamato, fenilalanina, y la síntesis de fenilalanina, tirosina y triptófano. La dinámica metabólica de FOCIC01 durante el tratamiento con LDPE permitió identificar la estrategia del microorganismo para asimilar los productos de la degradación. Los resultados brindan una mejor comprensión de los mecanismos bioquímicos que permitieron a FOCIC01 degradar y metabolizar LDPE, destacándolo como un microorganismo de gran interés biotecnológico para mitigar el impacto negativo de la acumulación de residuos plásticos a nivel mundial.

## Abstract

**Title:** Identification of Metabolic Markers in Plastic Biodegradation by Native *Fusarium* Species\*

**Authors:** Silvia Juliana Corrales-Murillo, William Hidalgo, Sergio Marchant\*\*

**Keywords:** GC-MS, LC-MS, LDPE, Metabolomics, Low-Density Polyethylene, Roughness

The accumulation of plastic waste, particularly low-density polyethylene (LDPE), has become an escalating environmental concern due to its persistence and resistance to degradation. Microorganisms, especially fungi, have demonstrated the capacity to biodegrade synthetic polymers, offering a promising alternative for managing plastic waste. However, the mechanisms underlying fungal LDPE biodegradation remain poorly understood. This study investigated the LDPE biodegradation potential of two native *Fusarium* strains (FOCIC01 and FECIC02) using an untargeted metabolomic approach based on gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS) and liquid chromatography–mass spectrometry (LC-MS). The extent of LDPE degradation was assessed through weight loss measurements, Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), high-resolution scanning electron microscopy (SEM), surface roughness analysis, and metabolomic profiling over a 30-day incubation period.

The results showed that FOCIC01 degraded the polymeric material by 4.73%, whereas FECIC02 achieved only 0.30%, indicating a comparatively lower biodegradation capacity. FTIR analysis revealed chemical changes in the bands associated with C–H and C=C bonds, indicative of LDPE depolymerization, with FOCIC01 producing the most pronounced effects. In addition, surface roughness analysis confirmed significant alterations in the LDPE treated with FOCIC01. The fungal metabolome analysis demonstrated substantial shifts in key metabolic pathways, including central carbon metabolism, oxidative stress response, and secondary metabolite biosynthesis. Notable changes were observed in starch and sucrose metabolism, the glutathione pathway, glyoxylate and dicarboxylate metabolism, as well as arginine and proline metabolism. Alterations in the biosynthesis of arginine, alanine, aspartate, and glutamate; phenylalanine; and the aromatic amino acids phenylalanine, tyrosine, and tryptophan were also detected.

The metabolic dynamics of FOCIC01 during LDPE treatment elucidated its strategies for assimilating degradation products. These findings provide deeper insight into the biochemical mechanisms enabling FOCIC01 to degrade and metabolize LDPE, underscoring its potential as a biotechnologically valuable microorganism to help mitigate the global environmental impact of plastic waste accumulation.

## Tabla de contenido

|   |    |
|---|----|
| Introducción.....   | 13 |
| 1. Estado del arte.....   | 14 |
| 2. Marco Teórico .....  | 22 |
| 2.1 Producción de plásticos .....   | 22 |
| 2.1.1. Tipos de polietileno .....   | 24 |
| 2.1.1.1 Polietileno de alta densidad (HDPE).....                                  | 25 |
| 2.1.1.2 Polietileno de baja densidad (LDPE).....                                  | 25 |
| 2.1.1.3 Polietileno de media densidad (MDPE) .....                                | 25 |
| 2.1 Residuos plásticos en Colombia .....  | 26 |
| 2.2 Degradación de plásticos usando microorganismos .....                         | 27 |
| 2.2.1 Biodeterioración.....   | 28 |
| 2.2.2 Biofragmentación.....   | 28 |
| 2.2.3 Asimilación.....  | 29 |
| 2.2.4 Mineralización .....  | 29 |
| 2.3 Microorganismos con capacidad para degradar plásticos.....                    | 30 |
| 2.3.1 Hongos del género Fusarium .....  | 30 |
| 2.4 Técnicas de análisis para la evaluación de la degradación de materiales ..... | 33 |
| 2.4.1 Pérdida de peso .....   | 33 |
| 2.4.2 Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).....           | 34 |

|         |   |    |
|---------|---|----|
| 2.4.3   | Microscopía electrónica de barrido (SEM).....   | 35 |
| 2.4.4   | Prueba de rugosidad.....  | 36 |
| 2.5.4.1 | Parámetros clave en la medición de rugosidad.....   | 37 |
| 2.5.4.2 | Equipo para la medición de rugosidad .....  | 38 |
| 2.5     | Metabolómica .....  | 39 |
| 2.5.1   | Cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas con analizador de tiempo de vuelo (RP-LC/MS-QTOF)..... | 41 |
| 2.5.2   | Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas con analizador de tiempo de vuelo (GC-QTOF-MS) .....  | 42 |
| 2.6     | Procesamiento de datos.....   | 43 |
| 3       | Objetivos .....   | 46 |
| 3.1     | Objetivo general.....   | 46 |
| 3.2     | Objetivos específicos .....   | 46 |
| 4       | Metodología experimental .....  | 47 |
| 4.1     | Montajes para evaluar la degradación de LDPE.....   | 47 |
| 4.1.1   | Cultivo y crecimiento de Fusarium en agar papa dextrosa (PDA) .....   | 47 |
| 4.1.2   | Aislamiento de esporas fúngicas.....  | 47 |
| 4.1.3   | Preparación de polietileno de baja densidad (LDPE) .....  | 48 |
| 4.1.4   | Incubación de los microorganismos en medio basal de sales .....   | 48 |
| 4.1.5   | Medición de pérdida de peso .....   | 49 |

|         |   |    |
|---------|---|----|
| 4.1.6   | Recuperación y cuantificación del micelio húmedo .....  | 49 |
| 4.1.7   | Análisis mediante espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)...                             | 50 |
| 4.1.8   | Análisis mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) de alta resolución ....                            | 50 |
| 4.1.9   | Análisis de rugosidad mediante microscopio óptico digital hirox HRX-01 .....                                  | 51 |
| 4.2     | Análisis metabolómico no dirigido.....  | 52 |
| 4.2.1   | Extracción de metabolitos.....  | 52 |
| 4.2.2   | Análisis de las muestras por cromatografía líquida acoplado a espectrometría de<br>masas (RP-LC/MS-QTOF)..... | 52 |
| 3.3.2.1 | Procesamiento de datos metabolómica no dirigida .....   | 53 |
| 3.3.2.2 | Análisis estadístico .....  | 53 |
| 3.3.2.3 | Anotación de características moleculares estadísticamente significativas .....                                | 54 |
| 4.2.3   | Análisis de las muestras por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de<br>masas (GC-QTOF-MS) .....  | 55 |
| 3.3.3.1 | Preparación de la muestra.....  | 55 |
| 3.3.3.2 | Análisis de muestras .....  | 56 |
| 3.3.3.3 | Procesamiento de datos metabolómica no dirigida por GC-QTOF-MS.....   | 56 |
| 3.3.3.4 | Análisis estadístico .....  | 57 |
| 4.3     | Trazabilidad metabólica.....  | 58 |
| 5       | Resultados y discusión .....  | 58 |
| 5.1     | Evaluación de la biodegradación de LDPE .....   | 58 |

|         |   |    |
|---------|---|----|
| 5.1.1   | Análisis de la pérdida de peso (en %) de las perlas de LDPE durante incubación con los microorganismos.....         | 58 |
| 5.1.2   | Análisis de producción de biomasa (micelio fúngico) de FOCIC01 y FECIC02 durante incubación con glucosa y LDPE..... | 61 |
| 5.1.3   | Evaluación de degradación de LDPE por espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) .....            | 63 |
| 5.1.4   | Evaluación de degradación de LPDE mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) .....                           | 66 |
| 5.1.5   | Evaluación de degradación de LDPE mediante la medición de rugosidad .....   | 68 |
| 5.2     | Análisis metabolómico no dirigido.....  | 71 |
| 5.2.1   | Análisis metabolómico no dirigido por RP-LC/MS-QTOF .....   | 71 |
| 5.2.2   | Análisis metabolómico no dirigido GC-MS-QTOF .....  | 74 |
| 5.2.3   | Análisis por componentes principales (PCA).....   | 76 |
| 5.2.4   | Análisis discriminantes de mínimos cuadrados parciales de señal ortogonal (OPLS-DA).....                            | 77 |
| 5.2.5   | Identificación de metabolitos inducidos e inhibidos.....  | 79 |
| 5.3     | Análisis rutas metabólicas .....  | 86 |
| 5.3.1   | Perfil metabólico de FOCIC01 .....  | 86 |
| 4.4.1.1 | Metabolismo del almidón y la sacarosa.....  | 88 |
| 4.4.1.2 | Metabolismo del glutatión .....   | 91 |
| 4.4.1.3 | Biosíntesis de otros metabolitos secundarios .....  | 94 |

|  |     |
|--|-----|
| 4.4.1.4 Metabolismo del glioxilato y el dicarboxilato .....                            | 95  |
| 4.4.1.5 Metabolismo de la arginina y la prolina .....                                  | 99  |
| 4.4.1.6 Biosíntesis de arginina.....   | 101 |
| 4.4.1.7 Metabolismo de la alanina, el aspartato y el glutamato.....                    | 102 |
| 4.4.1.8 Metabolismo de la fenilalanina.....  | 103 |
| 4.4.1.9 Biosíntesis de fenilalanina, tirosina y triptófano .....                       | 104 |
| 4.4.1.10 Integración de rutas metabólicas en la degradación del LDPE por FOCIC01 ..... | 105 |
| 5.3.2 Perfil metabólico de FECIC02.....  | 107 |
| 5.4.2.1 Metabolismo de almidón y sacarosa.....   | 108 |
| 5.4.2.2 Biosíntesis de metabolitos secundarios .....                                   | 108 |
| 5.4.2.3 Metabolismo de la arginina y la prolina .....                                  | 109 |
| 5.4.2.1 Biosíntesis de valina, leucina e isoleucina.....                               | 110 |
| 5.4.2.2 Degradación de valina, leucina e isoleucina.....                               | 112 |
| 5.4.2.3 Degradación de valina, leucina e isoleucina.....                               | 113 |
| 5.4.2.3 Integración de rutas metabólicas en la degradación del LDPE por FECIC02.....   | 114 |
| 6 Conclusiones .....   | 117 |
| 7 Recomendaciones.....   | 119 |
| Referencias .....  | 120 |

## Tabla de figuras

|   |     |
|---|-----|
| <b>Figura 1.</b> Estructuras reproductivas de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> .....   | 30  |
| <b>Figura 2.</b> Espectro FTIR de perlas de LDPE posterior a la incubación con FOCIC01 y FECIC02.....   | 63  |
| <b>Figura 3.</b> Micrografías de perlas de LDPE incubadas con FOCIC01 .....   | 64  |
| <b>Figura 4.</b> Imágenes de Microscopía Óptica Digital del LDPE incubado con FOCIC01: a) 14 días de incubación, aumento 1000x; b) 30 días de incubación, aumento 1000x; c) 30 días de incubación, aumento 200x. .... | 65  |
| <b>Figura 5.</b> Topografía 3D de la cara 1 de la superficie de LDPE con su perfil de rugosidad primario .....  | 67  |
| <b>Figura 6.</b> Topografía 3D de la cara 2 de la superficie de LDPE con su perfil de rugosidad primario posterior a incubación por 30 días con FOCIC01.....  | 67  |
| <b>Figura 7.</b> Perfil cromatográfico del extracto metabólico evaluado por RP-LC/MS-QTOF en polaridad positiva.....  | 69  |
| <b>Figura 8.</b> Perfil cromatográfico del extracto metabólico evaluado por RP-LC/MS-QTOF en polaridad negativa.....  | 70  |
| <b>Figura 9.</b> Perfil cromatográfico del extracto metabólico evaluado por GC-QTOF-MS.....   | 72  |
| <b>Figura 10.</b> Análisis de componentes principales (PCA) del perfil químico de los extractos metabólicos de FOCIC01 y FECIC02 con LDPE .....   | 74  |
| <b>Figura 11.</b> Análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales de señal ortogonal (OPLS-DA) del perfil químico de FOCIC01 y FECIC02 con LDPE y sus controles con glucosa.....                                | 76  |
| <b>Figura 12.</b> Distribución de metabolitos identificados por categorías químicas en FOCIC01 durante la biodegradación de LDPE.....   | 87  |
| <b>Figura 13.</b> Distribución de metabolitos identificados por categorías químicas en FECIC02 durante la biodegradación de LDPE.....   | 88  |
| <b>Figura 14.</b> Ruta metabólica propuesta para FOCIC01 .....  | 109 |
| <b>Figura 15.</b> Ruta metabólica propuesta para FECIC02.....   | 119 |

### Tabla de apéndices

|  |     |
|--|-----|
| Apéndice A. Publicaciones sobre la biodegradación de plásticos (2014-2025).....  | 145 |
| Apéndice B. Prueba t-test pérdida de peso del LDPE tratado con FOCIC01 (30 días de incubación). .....                  | 146 |
| Apéndice C. Prueba t-test de pérdida de peso del LDPE tratado con FECIC02 (30 días de incubación). .....               | 146 |
| Apéndice D. Desviación estándar, coeficiente de variación y promedio de LDPE peso inicial tratado con FOCIC01.....     | 147 |
| Apéndice E. Desviación estándar, coeficiente de variación y promedio de LDPE peso final tratado con FOCIC01.....       | 147 |
| Apéndice F. Desviación estándar, coeficiente de variación y promedio de LDPE peso inicial tratado con FECIC02. ....    | 148 |
| Apéndice G. Desviación estándar, coeficiente de variación y promedio de LDPE peso final tratado con FECIC02. ....      | 148 |
| Apéndice H. Prueba t-test de producción de micelio de FOCIC01 producido con LDPE y glucosa. ....                       | 149 |
| Apéndice I. Desviación estándar, coeficiente de variación y promedio de micelio de FOCIC01 producido con LDPE. ....    | 149 |
| Apéndice J. Desviación estándar, coeficiente de variación y promedio de micelio de FOCIC01 producido con glucosa. .... | 150 |
| Apéndice K. Prueba t-test de producción de micelio de FECIC02 producido con LDPE y glucosa. ....                       | 150 |
| Apéndice L. Desviación estándar, coeficiente de variación y promedio de micelio de FECIC02 producido con LDPE.....     | 151 |
| Apéndice M. Desviación estándar, coeficiente de variación y promedio de micelio de FECIC02 producido con glucosa.....  | 151 |

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

|   |     |
|---|-----|
| Apéndice N. Evaluación del modelo de análisis metabolómico de FOCIC01 mediante RP-LC/MS-QTOF en polaridad positiva: Valores de $R^2Y$ y $Q^2$ ..... | 152 |
| Apéndice O. Evaluación del modelo de análisis metabolómico de FECIC02 mediante RP-LC/MS-QTOF en polaridad positiva: Valores de $R^2Y$ y $Q^2$ ..... | 152 |
| Apéndice O. Evaluación del modelo de análisis metabolómico de FOCIC01 mediante RP-LC/MS-QTOF en polaridad negativa: Valores de $R^2Y$ y $Q^2$ ..... | 152 |
| Apéndice P. Evaluación del modelo de análisis metabolómico de FECIC02 mediante RP-LC/MS-QTOF en polaridad negativa: Valores de $R^2Y$ y $Q^2$ ..... | 153 |
| Apéndice Q. Evaluación del Modelo de Análisis Metabolómico de FOCIC01 mediante GC-QTOF-MS: Valores de $R^2Y$ y $Q^2$ .....                          | 153 |
| Apéndice R. Evaluación del modelo de análisis metabolómico de FECIC02 mediante GC-QTOF-MS: Valores de $R^2Y$ y $Q^2$ .....                          | 153 |
| Anexo A. Tabla de metabolitos reportados (este anexo puede ser consultado y descargado en el repositorio institucional)                             |     |

### Introducción

La contaminación por plásticos es uno de los problemas más graves que enfrenta el planeta. Entre los diferentes tipos de plásticos, el polietileno de baja densidad (LDPE) es comúnmente utilizado debido a sus propiedades mecánicas, pero, debido a que su degradación de manera natural puede tardar cientos de años, genera una gran desventaja respecto a su uso. A pesar de los esfuerzos para reducir su uso y promover el reciclaje, el LDPE sigue acumulándose en el medio ambiente, con graves consecuencias ecológicas (Gross & Enck, 2021; Khatua et al., 2024). En este contexto, la biodegradación de plásticos usando microorganismos (bacterias y hongos, principalmente) ha surgido como una estrategia prometedora para mitigar el impacto ambiental de estos materiales.

Los hongos del género *Fusarium* han sido estudiados debido a su capacidad para degradar materia orgánica. Sin embargo, los mecanismos moleculares y metabólicos involucrados en la biodegradación de plásticos como el LDPE por *Fusarium* aún no están completamente comprendidos. La identificación de metabolitos específicos y la elucidación de rutas metabólicas inducidas durante este proceso son fundamentales para avanzar en el desarrollo de soluciones biotecnológicas para la degradación de plásticos.

Este estudio tuvo como objetivo investigar los cambios metabólicos que se producen en el hongo *Fusarium* durante la biodegradación del LDPE, con un enfoque particular en la identificación de metabolitos producidos en respuesta a la exposición de este material. Para ello, se realizaron análisis metabolómicos utilizando técnicas avanzadas como la cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas de alta resolución (LC-MS QTOF) y la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas con analizador de tiempo de

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

vuelo (GC-QTOF-MS). Además, se llevaron a cabo análisis estadísticos uni- y multivariados, que permitieron identificar los metabolitos diferenciales entre la red metabólica del hongo *Fusarium* inducida durante la biodegradación de LDPE y un control de referencia en el cual se utilizó glucosa como fuente de carbono. Los modelos estadísticos aplicados como, análisis por componentes principales (PCA) y análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales ortogonales (OPLS-DA), permitieron no solo identificar los metabolitos presentes y diferenciales entre los dos tratamientos, sino también cuantificar los cambios en su abundancia, proporcionando una visión detallada de las adaptaciones metabólicas del hongo durante la biodegradación del LDPE.

### 1. Estado del arte

La acumulación masiva de plásticos, especialmente el polietileno de baja densidad (LDPE), ha generado un gran interés en encontrar soluciones biodegradativas que puedan ayudar a enfrentar este desafío ambiental global. Dentro de este contexto, los hongos han surgido como una de las herramientas más prometedoras, ya que tienen la capacidad de producir enzimas que descomponen las complejas estructuras de los polímeros plásticos (Ekanayaka et al., 2022; Ghatge et al., 2020; Srikanth et al., 2022). En la última década, se ha registrado un aumento significativo en los estudios relacionados con la biodegradación de plásticos mediante hongos. Según un análisis bibliográfico realizado en Scopus con las palabras clave "plastic AND degradation OR polymer AND degradation AND fungi OR microorganism", el número de publicaciones pasó de aproximadamente 10 documentos en 2014 a un pico de más de 60 en 2023, lo que evidencia un creciente interés en esta área de investigación (Apéndice A). Este incremento refleja la actual preocupación por el impacto

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

ambiental de los plásticos y la necesidad urgente de desarrollar soluciones biotecnológicas sostenibles.

Dentro de esta tendencia, los hongos se han convertido en un foco de atención, en gran parte debido a su capacidad para secretar enzimas como lacasas y peroxidasas, que facilitan la degradación de plásticos como el LDPE y el polietileno de alta densidad (HDPE) (Ekanayaka et al., 2022; Ghatge et al., 2020; Srikanth et al., 2022). Entre los hongos más estudiados se encuentran géneros como *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* y *Mucor*, que han demostrado tener un gran potencial para descomponer plásticos (Ekanayaka et al., 2022; Ghatge et al., 2020; Khan et al., 2022; Srikanth et al., 2022).

El LDPE ha sido el centro de muchas investigaciones debido a su uso extendido en productos de un solo uso, como bolsas plásticas y embalajes, y a su alta resistencia a la degradación natural. Estudios recientes revelan que más del 60% de las investigaciones sobre biodegradación de plásticos se centran en el LDPE, ya que es uno de los materiales más difíciles de descomponer (A. Dey et al., 2020; Khan et al., 2022; Ojha et al., 2017; Techawinyutham et al., 2021). Estos plásticos representan una gran parte de los desechos a nivel mundial. En 2019, se produjeron alrededor de 368 millones de toneladas de plástico en todo el mundo, siendo Asia el líder con un 51% de la producción, seguida de América del Norte con un 18% y Europa con un 17%. Aunque la producción disminuyó ligeramente hasta los 367 millones de toneladas en 2020, posiblemente debido al impacto de la pandemia de Covid-19, el problema persiste: cada año se producen cerca de 300 millones de toneladas de plástico, lo cual equivale, en peso, a toda la población humana (Singh Jadaun et al., 2022).

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

Un aspecto fundamental en la biodegradación del LDPE es que su degradación no solo depende de las capacidades metabólicas y enzimáticas del hongo, sino también de las propiedades físicas y químicas del plástico (Ghatge et al., 2020; Gong et al., 2023; Santacruz-Juárez et al., 2021). Factores como la rugosidad de la superficie y la hidrofobicidad juegan un papel crucial en la eficiencia del proceso de degradación. Estudios recientes han mostrado que los hongos colonizan con mayor facilidad superficies plásticas rugosas, lo que les permite anclarse mejor y penetrar el material (A. Dey et al., 2020; Gong et al., 2023). Esto subraya la importancia de las características físicas del plástico a la hora de evaluar su biodegradación.

El género *Aspergillus* ha sido ampliamente reconocido por su capacidad para degradar plásticos, destacando *Aspergillus niger*, identificado como uno de los hongos más eficientes para degradar polietileno de baja densidad (LDPE), logrando reducir el peso del plástico hasta en un 30 % en un periodo de 45 días. De manera similar, *Fusarium solani* ha sido estudiado por su capacidad para degradar este tipo de plásticos, alcanzando tasas de degradación de hasta el 40 % en condiciones de laboratorio (Spina et al., 2021; Srikanth et al., 2022). Estos resultados reflejan el enorme potencial de estos microorganismos para contribuir a la biorremediación ambiental.

Otro hongo que ha llamado la atención es el género *Penicillium*, especialmente en entornos acuáticos. Un estudio reciente que aisló especies de *Penicillium* en ecosistemas de manglares encontró que estas eran capaces de reducir el peso del LDPE en un 15 % en un periodo de 90 días (Asiandu et al., 2021). Estos hallazgos son importantes porque sugieren

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

que los hongos podrían ser utilizados en la remediación de ambientes acuáticos, lo cual es crucial dada la cantidad de plásticos que terminan en los océanos.

La biodegradación de plásticos por hongos no se limita a la acción física sobre el material, sino que también implica la producción de metabolitos que facilitan la ruptura de las cadenas poliméricas. Estos metabolitos incluyen ácidos orgánicos, como el ácido oxálico y el ácido cítrico, y alcoholes, como el etanol, que contribuyen a descomponer el plástico de diferentes maneras. Los ácidos orgánicos pueden actuar disminuyendo el pH local, lo que facilita la hidrólisis de ciertos enlaces químicos en las cadenas poliméricas, debilitando su estructura y promoviendo su ruptura. Los alcoholes, por otro lado, pueden alterar la estructura superficial del plástico al aumentar su solubilidad o actuar como intermediarios en reacciones que modifican la permeabilidad del material, facilitando el acceso de enzimas degradativas producidas por el hongo (Asiandu et al., 2021; Ekanayaka et al., 2022; Ghosh et al., 2019; Srikanth et al., 2022).

La metabolómica es una herramienta poderosa que permite identificar y cuantificar estos metabolitos producidos por los hongos durante la degradación de plásticos. Esto es crucial para comprender las rutas metabólicas implicadas y los compuestos clave que facilitan la descomposición de los polímeros plásticos. La aplicación de la metabolómica puede acelerar el desarrollo de estrategias de biorremediación, ya que revela los metabolitos específicos que intervienen en la degradación y cómo estos afectan la estructura del plástico (Spina et al., 2021; Ekanayaka et al., 2022).

Para profundizar en el estudio de los metabolitos involucrados en la degradación de plásticos, los científicos han recurrido a técnicas analíticas robustas como la cromatografía

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) y la cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS). Estas técnicas permiten identificar y cuantificar los compuestos liberados durante el proceso de degradación y proporcionan información clave sobre la actividad enzimática de los hongos.

Por ejemplo, Yuan et al. (2020) utilizaron LC-MS para analizar los metabolitos producidos por *Aspergillus flavus* durante la degradación de LDPE, identificando ácidos orgánicos como el ácido oxálico y el ácido cítrico, así como enzimas clave como las lacasas y las peroxidasas, las cuales están involucradas en la degradación del plástico. Del mismo modo, Sangeetha Devi et al. (2015) emplearon GC-MS para identificar los productos de degradación generados por *Penicillium simplicissimum* durante la descomposición de plásticos. Entre los compuestos identificados se encuentran grupos carbonilos, carboxilos y ésteres, que se forman durante el proceso de biodegradación. La oxidación inicial de la cadena polimérica genera grupos carbonilos, que posteriormente se convierten en carboxilos e ingresan al ciclo del ácido cítrico, produciendo CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O. Estos cambios incluyen la aparición de ácidos y cetonas en la estructura funcional del polietileno, lo que facilita su posterior degradación. Los compuestos generados, como los grupos carbonilos y carboxilos, pueden entrar en rutas metabólicas como la  $\beta$ -oxidación y el ciclo del ácido cítrico, donde son utilizados por los microorganismos como fuente de carbono y energía, contribuyendo a su crecimiento y completando así el ciclo de degradación.

Un estudio reciente titulado “*Integrated microbiology and metabolomics analysis reveal plastic mulch film residue affects soil microorganisms and their metabolic functions*” (Wu et al., 2021) investigó los efectos de los residuos de películas plásticas de acolchado

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

sobre las comunidades microbianas del suelo y sus funciones metabólicas. Utilizando secuenciación de alto rendimiento y metabolómica, el estudio analizó cómo estos residuos impactan a corto plazo en la estructura de la comunidad bacteriana, los metabolitos del suelo y las funciones metabólicas. El estudio detectó un total de 4.453 compuestos en las muestras de suelo, pertenecientes principalmente a lípidos, compuestos organoheterocíclicos y ácidos orgánicos. Se identificaron cambios en las rutas metabólicas del suelo, incluyendo el metabolismo del ácido linoleico, la biosíntesis de valina, leucina e isoleucina, la biosíntesis de pantotenato y CoA, y el metabolismo de la histidina. Además, se observó que la película plástica interfería con el metabolismo de carbohidratos, lípidos y aminoácidos, así como con la biosíntesis de metabolitos secundarios. Los metabolitos diferenciales identificados, como el ácido 2-propilglutárico y el citrato de trietilo, se asociaron con respuestas específicas de las bacterias frente a la presencia de residuos plásticos. Se observó, además, que ciertos metabolitos, como la (-) m-Chimonantina y el ácido 3-metilazelaico, eran característicos de ciertos períodos de exposición, sugiriendo cambios dinámicos en las funciones metabólicas a lo largo del tiempo. En general, los resultados sugieren que la presencia de residuos de películas plásticas altera la biodiversidad microbiana y afecta rutas metabólicas esenciales, lo que podría tener implicaciones significativas para la salud del suelo y la sostenibilidad agrícola. Este enfoque integrado de secuenciación y metabolómica es fundamental para comprender los efectos de los microplásticos en los ecosistemas terrestres y su potencial impacto en los ciclos de nutrientes y la seguridad ambiental (Wu et al., 2021).

Un estudio titulado *"Insights into the mechanisms involved in the fungal degradation"* (Okal et al., 2023) investigó la capacidad de los hongos para degradar diversos polímeros plásticos, incluyendo ácido poliláctico-polipropileno (PLA-PP), polietileno de baja densidad-

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

ácido poliláctico (LDPE-PLA), policaprolactona-polipropileno (PCL-PP) y policloruro de vinilo-celulosa (PVC-celulosa), mediante el uso de técnicas analíticas como espectrometría de masas con ionización de matriz asistida por láser (MALDI-Tof-MS), cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas (LC-MS), cromatografía líquida de alta resolución con detección ultravioleta y espectrometría de masas (HPLC-UV-MS), y espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR). Los hongos descomponen estos polímeros mediante la secreción de enzimas degradativas, como cutinasas y lipasas, que actúan sobre la estructura del polímero, generando fracturas y debilitando su integridad. Estas enzimas transforman los polímeros en oligómeros y monómeros que son posteriormente absorbidos por las células fúngicas y procesados por enzimas intracelulares, permitiendo su entrada al ciclo del ácido tricarbóxico (TCA) para la generación de energía. Entre los metabolitos generados durante el proceso de degradación se identificaron ácido tereftálico (TPA), monoéster de etilenglicol (MHET), bis-hidroxiethyl tereftalato (BHET), ácido benzoico, ácido glicólico, ácido butírico, ácido caproico, y otros ácidos carboxílicos. Estos metabolitos fueron generados gracias a la acción de diversas enzimas intracelulares como lipasas, cutinasas y monooxigenasas, involucradas en el proceso de catabolismo dentro de las células de los hongos. La investigación subraya la importancia de los hongos en la descomposición de plásticos recalcitrantes, destacando su capacidad de fragmentar y asimilar estos materiales a través de rutas metabólicas complejas. Este estudio demuestra cómo, mediante la combinación de técnicas de secuenciación y metabolómica, es posible identificar los metabolitos generados y las enzimas clave involucradas, proporcionando una mejor comprensión de los mecanismos bioquímicos que permiten a los hongos degradar los polímeros plásticos y evaluar las posibles aplicaciones industriales de este proceso.

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

Además de la metabolómica y las técnicas cromatográficas, técnicas como la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) y la microscopía electrónica de barrido (SEM) han sido esenciales para identificar los cambios estructurales en los plásticos durante la biodegradación. FTIR detecta modificaciones en los grupos funcionales del LDPE, confirmando la acción de los hongos en la descomposición del polímero (Bhargava et al., 2003; Qin et al., 2018; Spina et al., 2021). SEM permite visualizar la adhesión del micelio fúngico a la superficie del plástico, proporcionando una visión clara de la interacción entre el hongo y el polímero (Ekanayaka et al., 2022; Pramila & Ramesh, 2011; Spina et al., 2021).

La integración de la metabolómica con técnicas tradicionales permite una comprensión más profunda de los procesos de biodegradación. Mientras que el FTIR y el SEM proporcionan información sobre los cambios físicos y estructurales del plástico, la metabolómica y las técnicas cromatográficas aportan una visión detallada de los cambios bioquímicos y metabólicos subyacentes. De ahí la importancia de llevar a cabo estudios que evalúen los cambios metabólicos en el micelio del hongo, ya que la mayoría de las investigaciones se enfocan únicamente en el medio de cultivo y no en el propio micelio. Evaluar estos cambios directamente en el micelio es fundamental para mejorar la comprensión de los procesos metabólicos y bioquímicos que los hongos llevan a cabo para degradar materiales, lo cual podría abrir nuevas perspectivas para la optimización de la biorremediación.

## 2. Marco Teórico

### 2.1 Producción de plásticos

La producción de plásticos es un proceso mediante el cual se convierten los monómeros, derivados del petróleo y el gas natural, en polímeros utilizables a través de varias etapas. Inicialmente, los monómeros se preparan mediante procesos como la destilación fraccionada y el craqueo (Albertsson et al., 1995; Geyer et al., 2017; Royer et al., 2018). Luego, estos monómeros se someten a reacciones químicas de polimerización, que pueden ser por adición, donde los monómeros se añaden secuencialmente sin la eliminación de subproductos, o por condensación, donde se eliminan pequeñas moléculas como agua o alcohol. En la producción de plásticos, se añaden distintos aditivos, como plastificantes, estabilizadores, colorantes y agentes de refuerzo, que ayudan a mejorar las propiedades físicas, mecánicas y químicas del material, haciéndolo adecuado para una amplia variedad de usos (Eyerer, 2010). Estos aditivos juegan un papel clave para darle características como mayor flexibilidad, resistencia a los rayos UV y estabilidad térmica. Luego, el polímero se funde y se moldea en la forma deseada mediante procesos como la extrusión, la inyección, el soplado y el termoformado. Gracias a estas técnicas, se pueden crear productos plásticos de diversos tamaños y formas, adaptados para diferentes aplicaciones industriales y domésticas (Geyer, 2020; Geyer et al., 2017; Gironi & Piemonte, 2011; Inderthal et al., 2021).

A nivel mundial, la producción de plásticos ha crecido exponencialmente en las últimas décadas. En 2020, se produjeron más de 367 millones de toneladas de plástico, lo que refleja la creciente demanda en sectores como la construcción, la automoción, los envases y el consumo doméstico (Europe, 2021; Geyer et al., 2017). Este aumento ha sido impulsado

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

principalmente por el desarrollo de economías emergentes y el crecimiento de la población. En América Latina, y particularmente en Colombia, la producción de plásticos también ha crecido considerablemente. El más reciente informe de Acoplásticos revela que en 2023 Colombia produjo alrededor de 1,4 millones de toneladas de diferentes tipos de plásticos, como polipropileno, PVC, poliestireno y polietileno. Aunque hubo una leve disminución en la producción respecto a años anteriores, la industria del plástico sigue desempeñando un papel fundamental en la economía del país (ACOPLASTICOS 2023). Este sector no solo genera más de 250.000 empleos directos, sino que también aporta ingresos cercanos a los 31 billones de pesos anuales. Sin embargo, este crecimiento también implica retos ambientales serios, relacionados con la gestión de residuos y la contaminación por plásticos. Aunque la economía generada por la producción de plásticos es beneficiosa en términos de empleo y atracción de inversiones, es crucial implementar mejores prácticas para reducir el impacto ambiental y avanzar hacia una economía verdaderamente circular (Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 2021).

En cuanto a la regulación de la producción de plásticos, Colombia ha tomado diversas medidas para enfrentar los problemas relacionados con el uso excesivo y la contaminación. En 2018, se aprobó la Resolución 1407, que regula la gestión ambiental de los residuos de envases y empaques, con el objetivo de fomentar la recolección, reutilización y reciclaje. Además, se han implementado leyes como la Ley 1973 de 2019, que busca prohibir gradualmente los plásticos de un solo uso, y se han promovido programas de responsabilidad extendida del productor (Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 2021).

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

En Colombia, se han implementado diversas iniciativas para promover la economía circular en el sector de los plásticos. Empresas como Coca-Cola, FEMSA Colombia, Postobón y Replasander S.A.S. han establecido programas de recolección y reciclaje de envases plásticos, buscando aumentar la tasa de recuperación y reducir la dependencia de materiales vírgenes. Replasander S.A.S., ubicada en Girón, Santander, es una empresa dedicada al reciclaje de plásticos y a la producción de materiales sostenibles. Según el Plan Nacional para la Gestión Sostenible de Plásticos de un Solo Uso, estas acciones son fundamentales para prevenir los impactos negativos de los residuos plásticos en los ecosistemas y para cumplir con las metas de economía circular establecidas para el año 2030 (MinAmbiente, 2021). Otros actores como Enka de Colombia también han contribuido significativamente, transformando residuos plásticos en fibras sintéticas y otros productos de alto valor agregado. Estudios han resaltado la importancia de integrar a los recicladores en las cadenas de valor, lo cual no solo mejora la recuperación de materiales, sino que también fortalece la sostenibilidad social y económica del sector (Guerrero-Cabrera et al., 2020).

### ***2.1.1. Tipos de polietileno***

El polietileno es uno de los plásticos más comunes y versátiles, utilizado en una amplia variedad de aplicaciones. Se obtiene a partir de la polimerización del etileno ( $C_2H_4$ ) y se clasifica en diferentes tipos según su densidad y estructura molecular: polietileno de alta densidad (HDPE), polietileno de baja densidad (LDPE) y polietileno de densidad media (MDPE) (Geyer et al., 2017).

#### ***2.1.1.1 Polietileno de alta densidad (HDPE)***

El HDPE se produce a través de la polimerización del etileno utilizando catalizadores de Ziegler-Natta o mediante el proceso de polimerización de Phillips (Moeini et al., 2024). Este proceso se lleva a cabo a bajas presiones y temperaturas moderadas, resultando en una estructura lineal con poca o ninguna ramificación. Dentro de sus propiedades se destaca una alta densidad (0,94-0,97 g/cm<sup>3</sup>), cristalinidad, resistencia a productos químicos e impacto y es usado en la fabricación de botellas de detergente, contenedores de comida, tuberías y juguetes (Salih et al., 2013; Techawinyutham et al., 2021).

#### ***2.1.1.2 Polietileno de baja densidad (LDPE)***

El LDPE se produce mediante el proceso de polimerización a alta presión y temperatura, utilizando un iniciador radical. Este método genera una estructura con un alto grado de ramificación, lo que da como resultado una menor densidad y cristalinidad en comparación con el HDPE. Dentro de sus propiedades se destaca una baja densidad (0,91-0,94 g/cm<sup>3</sup>), flexibilidad, elongación y transparencia, resistencia a la tracción baja y es usado en las películas plásticas, bolsas de plástico, recubrimientos de cables, botellas flexibles y empaques de alimentos (Ojha et al., 2017; Salih et al., 2013; Techawinyutham et al., 2021)

#### ***2.1.1.3 Polietileno de media densidad (MDPE)***

El MDPE se produce utilizando técnicas de polimerización similares a las del HDPE, pero con condiciones de proceso ajustadas para obtener una estructura molecular con una densidad intermedia. Esto se logra mediante la copolimerización del etileno con pequeñas cantidades de comonómeros. Se caracteriza por una densidad media (0,926-0,940 g/cm<sup>3</sup>), equilibrio entre rigidez y flexibilidad, buena resistencia al impacto y a la punción y es usado

comúnmente en tuberías de gas, películas de embalaje, contenedores de almacenamiento y tanques de agua (Geyer, 2020; Geyer et al., 2017; Gironi & Piemonte, 2011).

## **2.1 Residuos plásticos en Colombia**

En Colombia, en el 2017, se generaron 10,3 millones de toneladas de residuos sólidos según datos de la Superintendencia de Servicios Públicos (SSP). En el mismo año, en Bucaramanga, se generaron 200 mil toneladas de las cuales, el 56% corresponden a plásticos de un solo uso y tan solo el 13% se está aprovechando (Alcaldía de Bucaramanga, 2022; Sanchez-Gutierrez, 2021). Según el Plan de Gestión Integral de Residuos Sólidos (PGIRS), se estima que para el periodo 2016-2027, el 10% de los residuos destinados a disposición final en el relleno sanitario. El promedio mensual de residuos plásticos en El Carrasco es de 1.595 toneladas. De esta cantidad, solo el 6%, equivalente a 95,7 toneladas al mes, se recupera como parte de los esfuerzos para reducir la contaminación. Las bajas tasas de recuperación se deben en parte a la falta de demanda en el mercado y a la dificultad de reciclar el resto del plástico. En cuanto a la recuperación de estos materiales, el tereftalato de polietileno (PET), que representa el 15,7% de los residuos plásticos, es reciclado principalmente mediante procesos mecánicos de trituración y limpieza, para ser reutilizado en la fabricación de nuevos envases y productos textiles. Además, el reciclaje químico es otra opción viable para descomponer el PET en sus componentes básicos y producir materiales de alta calidad (Beghetto et al., 2021). El polietileno de alta densidad (HDPE), que conforma el 10,8%, es reciclado a través de técnicas de extrusión y fundición. Este material puede ser reutilizado en la producción de tuberías, envases no alimentarios y otros productos industriales. Sin embargo, solo un pequeño porcentaje del HDPE reciclado es apto para aplicaciones de grado alimentario, debido a las estrictas regulaciones y posibles

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

contaminantes presentes en el proceso (Luo et al., 2024). El cloruro de polivinilo (PVC), que constituye el 4,5% de los desechos plásticos, presenta mayores retos debido a los aditivos peligrosos que contiene. Su reciclaje se realiza mayormente en productos de construcción, como marcos de ventanas y tubos, aunque se están desarrollando nuevas tecnologías para descomponer el PVC en sus componentes básicos y reducir los residuos peligrosos (Luo et al., 2024). El polietileno de baja densidad (LDPE), que representa el 38,5%, es reciclado triturando y fundiendo el material para producir bolsas de plástico o láminas, aunque su recuperación sigue siendo limitada debido a la contaminación y la baja demanda en el mercado (Beghetto et al., 2021). El poliestireno (PS), que corresponde al 16,6%, es reciclado principalmente mediante su conversión en gránulos para productos de aislamiento o embalaje, aunque la dificultad de su reciclaje es significativa debido a su bajo valor comercial y baja densidad (Luo et al., 2024).

Finalmente, el 13% restante está compuesto por otros tipos de plásticos, como plásticos multicapa y resinas, cuya reciclabilidad es baja. Estos materiales suelen ser recuperados mediante procesos de pirólisis o incineración para la recuperación de energía, aunque estas técnicas aún presentan desafíos ambientales y económicos (Luo et al., 2024).

### **2.2 Degradación de plásticos usando microorganismos**

La biodegradación del plástico involucra una serie de reacciones bioquímicas que permiten la despolimerización de sustancias poliméricas en fragmentos más pequeños como lo son oligómeros o monómeros, los cuales pueden integrarse en el ciclo biogeoquímico. Diversas enzimas catalizan las diferentes etapas de este proceso. La biodegradación se divide en cuatro etapas principales: *(i)* Biodeterioración, *(ii)* biofragmentación, *(iii)* asimilación y

(iv) mineralización (Okal et al., 2023; Skariyachan et al., 2022). A continuación, se describe en mayor detalle cada una de estas etapas.

### **2.2.1 Biodeterioración**

Se refiere a la alteración de las propiedades físicas, químicas o mecánicas de un material causada por agentes biológicos (Walsh, 2001). Este proceso depende tanto de las características del polímero como de los factores ambientales. Para que el deterioro ocurra a través de la acción de los microorganismos, es fundamental la formación de una biopelícula o *biofilm* en la superficie del material, lo cual facilita la adhesión celular y promueve el biodeterioro. El *biofilm* produce una matriz extracelular que protege a los microorganismos de condiciones ambientales adversas (Karygianni et al., 2020). Además, puede atrapar contaminantes y productos químicos del entorno, sirviendo como fuente de carbono para las comunidades microbianas en crecimiento. La biodegradación sinérgica en el *biofilm* es crucial para la eficiencia del proceso, ya que los microorganismos comparten nutrientes y enzimas, favoreciendo el crecimiento de otros microorganismos y, al mismo tiempo, descomponiendo las cadenas poliméricas para ser utilizadas como fuente de carbono (Ghosh et al., 2019).

### **2.2.2 Biofragmentación**

La hidrólisis de los polímeros plásticos para convertirlos en monómeros u oligómeros es un paso clave en la biodegradación de estos materiales, ya que facilita su asimilación por microorganismos. Diversas enzimas producidas por hongos son fundamentales en este proceso, y su efectividad depende del material y del tipo de hongo involucrado (Okal et al., 2023; Skariyachan et al., 2022). Las lacasas y peroxidasas, producidas por hongos como

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

*Trametes versicolor* y *Phanerochaete chrysosporium*, son eficaces para degradar polietileno (PE) y cloruro de polivinilo (PVC) (Temporiti et al., 2022). Asimismo, las cutinasas y lipasas, producidas por hongos como *Fusarium solani*, han mostrado buenos resultados en la degradación de tereftalato de polietileno (PET) y poliuretano (PUR) (Bollinger et al., 2020). También se han utilizado proteasas y ureasas fúngicas para degradar poliuretano (PUR) de manera efectiva (Temporiti et al., 2022)

### **2.2.3 Asimilación**

Los microorganismos utilizan los productos de la biofragmentación (pequeños hidrocarburos) como fuentes de carbono o energía. Para que ocurra la asimilación, estas moléculas deben ingresar a la célula. Moléculas pequeñas y solubles, como monómeros simples (por ejemplo, etileno y propileno), pueden ser transportadas directamente a través de transportadores selectivos en la membrana celular. Por otro lado, moléculas más grandes o menos solubles, como oligómeros o fragmentos de polímeros, requieren transformaciones adicionales, como la despolimerización enzimática extracelular, para ser convertidas en unidades más pequeñas que puedan ser transportadas al interior de la célula (A. A. Shah et al., 2008).

### **2.2.4 Mineralización**

Representa la etapa final de la biodegradación. Dentro de la célula, las moléculas resultantes de la biofragmentación, como monómeros y oligómeros de plástico, se convierten en dióxido de carbono y agua a través de procesos metabólicos como la oxidación. Estos productos finales son excretados fuera de la célula después de la degradación metabólica. La energía liberada en este proceso catabólico contribuye al crecimiento celular y a la síntesis

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

de nuevos componentes celulares (Ali et al., 2014). Aunque existen numerosos informes que explican la biodeterioración y la biofragmentación del plástico, la información sobre la asimilación y mineralización de los productos plásticos es limitada (Mohan et al., 2020).

### 2.3 Microorganismos con capacidad para degradar plásticos

Los hongos son microorganismos heterótrofos con capacidad de descomposición de una gran variedad de sustancias orgánicas y en la oxidación de algunos compuestos inorgánicos (Milgroom, 2023; Tapia & Amaro, 2014). Los hongos filamentosos tienen la capacidad de producir una gran cantidad de biomasa en las superficies de los materiales inertes, sobreviviendo a condiciones de baja disponibilidad de nutrientes, baja humedad y bajo valores de pH (Acuña Molina, 2017; Milgroom, 2023). Los estudios demuestran que hay una amplia diversidad de hongos capaces de inducir cambios en la estructura del plástico; entre éstos, se encuentran los del género *Aspergillus*, más específicamente, *A. flavus*, el cual ha presentado los valores más altos de degradación de plástico, incluso sobre aquellas especies pertenecientes al mismo género, tales como *A. niger*, y *A. fumigatus*, y especies de otros géneros, tales como *Penicillium*, *Mucor*, *Fusarium*, *Rhodoturulla*, *Hyalodendron*, *Cladosporium*, *Martierella*, *Gliocladium* y *Phanerochaete* (Ekanayaka et al., 2022; Khan et al., 2022, 2022; Moreno et al., 2022; Pramila & Ramesh, 2011; Srikanth et al., 2022).

#### 2.3.1 Hongos del género *Fusarium*

El género *Fusarium* pertenece al filo Ascomycota dentro del reino Fungi y abarca una amplia variedad de especies de hongos que se encuentran distribuidas en todo el mundo (Leslie & Summerell, 2008; Tapia & Amaro, 2014). Este género es de gran interés en diversas disciplinas debido a su importancia en la agricultura, la ecología, la biotecnología y la

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

medicina (Jestoi, 2008; Kauffman, 2012; Leslie & Summerell, 2008). Los hongos del género *Fusarium* son principalmente conocidos por ser patógenos de plantas, aunque también incluyen especies saprófitas, capaces de descomponer materia orgánica (D. W. Brown et al., 2022; Tapia & Amaro, 2014).

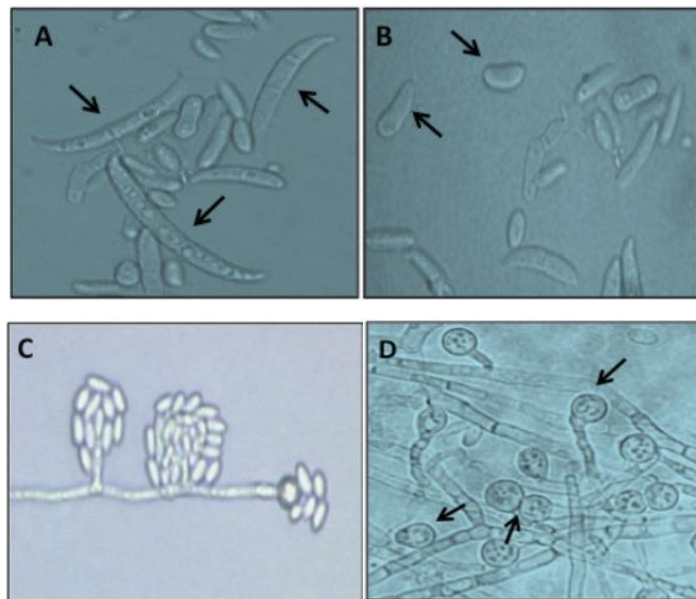
A pesar de su reputación como patógenos y productores de toxinas, los hongos del género *Fusarium* también ofrecen ventajas en el campo de la biotecnología. Algunas especies han sido exploradas por sus capacidades en la producción de enzimas, metabolitos secundarios y aplicaciones en biorremediación. Por ejemplo, *Fusarium* spp. producen diversas enzimas hidrolíticas, como celulasas, xilanasas y pectinasa, que son de interés en industrias como la alimentaria, textil y papelera (de Oliveira et al., 2013; Singh et al., 2016). Estas enzimas son utilizadas en la degradación de biomasa vegetal, mejorando procesos como la extracción de jugos, el tratamiento de residuos y la producción de biocombustibles (Singh et al., 2016; Bagewadi et al., 2017).

Además, algunas especies producen compuestos con actividad antimicrobiana, antifúngica y anticancerígena. Se han identificado fusarinas y enniatinas producidas por *Fusarium* spp., que tienen potencial como agentes terapéuticos (Jestoi, 2008; Kshirsagar et al., 2012). También se ha explorado el uso de *Fusarium* spp. en la biosíntesis de nanopartículas metálicas, como las de plata y oro, que tienen aplicaciones en medicina y tecnología (Ingle et al., 2009; Mishra et al., 2014). Asimismo, *Fusarium oxysporum* ha mostrado capacidad para degradar compuestos contaminantes como colorantes textiles y pesticidas, contribuyendo a la limpieza de ambientes contaminados (Singh, 2006; Bhatt et al., 2002).

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

Las especies de *Fusarium* presentan una morfología característica que incluye la formación de conidios (esporas asexuales). Estos conidios pueden ser de dos tipos: los macroconidios, que son esporas grandes, multicelulares y generalmente curvadas, con varios septos internos, y los microconidios, que son más pequeños, generalmente unicelulares o con pocos septos, y suelen ser esféricos o elípticos (Leslie & Summerell, 2008; Tapia & Amaro, 2014). Además, *Fusarium* puede producir clamidosporas, esporas de resistencia con una pared celular gruesa, que permiten al hongo sobrevivir en condiciones ambientales adversas. El micelio, compuesto por hifas, constituye la estructura vegetativa de *Fusarium*. Las hifas son filamentos que forman la mayor parte del cuerpo del hongo, y su función principal es la absorción de nutrientes y el crecimiento del hongo en su sustrato (D. W. Brown et al., 2022; Lysøe et al., 2014; Tapia & Amaro, 2014).

**Figura 1.** Estructuras reproductivas de *Fusarium oxysporum f. sp. cubense*. A. Macroconidios. B. Microconidios. C. Fialides y microconidios agrupados en falsas cabezas. Reproducido de Plan de contingencia ante un brote de la raza 4 tropical de *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* en un país de la región del OIRSA, por OIRSA. Copyright por OIRSA.



## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

En cuanto a la producción de micotoxinas, muchas especies de *Fusarium* son conocidas por producir estos compuestos tóxicos, que pueden contaminar alimentos, representando un riesgo para la salud animal y humana. Entre las micotoxinas más relevantes producidas se encuentran las fumonisinas, producidas principalmente por *Fusarium verticillioides* y *Fusarium proliferatum*, que se encuentran comúnmente en maíz y pueden ser carcinógenas para los humanos; los tricotecenos, como la deoxinivalenol (DON), que afectan la síntesis de proteínas y pueden causar síntomas como vómitos y pérdida de peso en animales; y la zearalenona, una micotoxina que imita el estrógeno, afectando la fertilidad en animales y representando un riesgo en productos agrícolas contaminados (D. W. Brown et al., 2022; Choi et al., 2024; Jeong et al., 2024; Jestoi, 2008; Tapia & Amaro, 2014; Woo et al., 2024; Zhao et al., 2023). La presencia de micotoxinas en alimentos constituye un desafío significativo para la seguridad alimentaria, lo que exige la implementación de medidas rigurosas de control y monitoreo.

### **2.4 Técnicas de análisis para la evaluación de la degradación de materiales**

#### **2.4.1 Pérdida de peso**

La medición de la pérdida de peso seco es un método ampliamente utilizado para evaluar la biodegradación de plásticos, ya que proporciona un indicador directo y cuantificable del grado de descomposición. Este enfoque se basa en que, durante la biodegradación, los microorganismos descomponen parte de la masa del plástico, transformándola en biomasa, dióxido de carbono, metano, agua y otros subproductos, lo que genera una reducción en el peso inicial del material (Khan et al., 2022). Este método no solo permite evaluar la eficiencia de los microorganismos en la descomposición del plástico, sino que también facilita la comparación de la degradabilidad de diferentes materiales plásticos

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

en condiciones de laboratorio. El procedimiento consiste en someter las muestras plásticas a un proceso de fermentación fúngica controlada. A intervalos específicos, se extraen las muestras, se lavan y se secan hasta alcanzar un peso constante, eliminando el contenido de agua para medir únicamente la masa sólida residual (Khan et al., 2022; Pramila & Ramesh, 2011; Srikanth et al., 2022). Este enfoque permite evaluar con precisión la pérdida de masa como una medida de la efectividad del proceso de biodegradación.

### **2.4.2 Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)**

La Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) es una técnica analítica utilizada en disciplinas como la química, la ciencia de materiales y la biología. Esta técnica explora cómo un haz de radiación infrarroja interactúa con la materia, midiendo la absorción de diferentes longitudes de onda por parte de las moléculas (Bhargava et al., 2003). Esta absorción induce vibraciones específicas en los enlaces químicos, que son características de los tipos de enlaces y grupos funcionales presentes. Gracias a esto, FTIR es una técnica que permite obtener una “huella digital” molecular, permitiendo la identificación precisa de diversos compuestos (Bhargava et al., 2003; Dimassi et al., 2023; Wilkie, 1999).

En el contexto de la biodegradación de plásticos, FTIR resulta útil debido a su sensibilidad para detectar la aparición de enlaces C=O, C-O y O-H, los cuales se generan durante el proceso de degradación y corresponden a la formación de grupos funcionales como carbonilos (C=O), ésteres y alcoholes (C-O), e hidroxilos (O-H), respectivamente. Estos grupos se producen durante la oxidación y la ruptura de las cadenas poliméricas, lo cual indica el progreso del proceso de biodegradación (Bhargava et al., 2003; Jung et al., 2023; Wilkie, 1999). Estos enlaces sirven como marcadores de la oxidación de los polímeros, un

paso fundamental en la biodegradación. Los espectros obtenidos mediante FTIR no solo permiten la detección temprana del inicio de la oxidación, sino que también facilitan una evaluación cuantitativa del grado de oxidación y ofrecen una comprensión detallada del mecanismo de degradación, a través de la identificación de funciones químicas específicas formadas durante el proceso (Xu et al., 2019).

En el polietileno de baja densidad (LDPE), FTIR permite identificar una variedad de señales espectrales que reflejan los procesos químicos involucrados en la oxidación del polímero. Durante la degradación de LDPE, se pueden formar compuestos como cetonas ( $1715\text{-}1720\text{ cm}^{-1}$ ), aldehídos ( $1730\text{ cm}^{-1}$ ), ésteres ( $1740\text{ cm}^{-1}$ ), ácidos carboxílicos ( $1705\text{-}1710\text{ cm}^{-1}$ ), y peróxidos ( $1775\text{ cm}^{-1}$ ), que se generan a partir de la ruptura y oxidación de las cadenas de polímero. También se observan señales correspondientes a perácidos ( $1785\text{ cm}^{-1}$ ), perésteres ( $1763\text{ cm}^{-1}$ ) y carboxilatos ( $1555\text{ cm}^{-1}$ ), que son indicativos de la oxidación avanzada y la formación de productos secundarios. Además, FTIR puede detectar cambios en la señal del enlace  $\text{C}=\text{C}$  de alquenos alrededor de  $1640\text{ cm}^{-1}$ , que se generan por la escisión de las cadenas y la formación de insaturaciones, así como en las señales de  $\alpha\text{-CH}_2$  a  $1410$  y  $1415\text{ cm}^{-1}$ , correspondientes a grupos metileno en posición alfa respecto a un carbonilo (Bhargava et al., 2003; Jung et al., 2023; Pramila & Ramesh, 2011; Qin et al., 2018; Sandt et al., 2021; Wilkie, 1999).

### **2.4.3 Microscopía electrónica de barrido (SEM)**

La microscopía electrónica de barrido (SEM) es una técnica avanzada utilizada para obtener imágenes de alta resolución y proporcionar información detallada sobre la superficie de las muestras (Abdullah & Mohammed, 2019). Emplea un haz de electrones enfocado para

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

escanear la superficie de la muestra, lo que permite generar imágenes con una resolución mucho mayor, que puede variar desde menos de 1 nanómetro hasta varios nanómetros. El funcionamiento del SEM se basa en la interacción entre los electrones del haz y los átomos de la muestra. Estas interacciones producen señales diversas que permiten obtener información detallada sobre la topografía y la composición elemental de la superficie analizada (Abdullah & Mohammed, 2019; Zhou et al., 2007).

En el estudio de la degradación de plásticos el SEM se convierte en una herramienta esencial para analizar el proceso de biodegradación mediado por microorganismos, tales como bacterias y hongos. Estos microorganismos colonizan la superficie del plástico, iniciando un proceso de degradación que puede ser visualizado con precisión mediante SEM. La técnica permite observar el desarrollo de colonias microbianas o *biofilms*, así como la aparición de grietas, porosidades y otros defectos superficiales resultantes de la actividad enzimática (Khan et al., 2022; Pramila & Ramesh, 2011; Srikanth et al., 2022).

Las imágenes detalladas obtenidas con SEM ofrecen información crucial sobre la interacción de los microorganismos con los plásticos y el impacto en la estructura física del material. Esta información es fundamental para comprender los mecanismos de biodegradación y para desarrollar estrategias más efectivas en la gestión y reciclaje de residuos plásticos.

### **2.4.4 Prueba de rugosidad**

La rugosidad superficial es una propiedad fundamental que influye directamente en las características físicas, químicas y mecánicas de los materiales. En los polímeros, como el polietileno de baja densidad (LDPE), la rugosidad permite evaluar cómo el material responde

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

ante factores como la fricción, la adhesión, el desgaste y los procesos de degradación. En particular, durante la degradación, la rugosidad de la superficie se convierte en un parámetro clave para evaluar la eficacia de los microorganismos, como los hongos, en la descomposición de plásticos sintéticos (A. Dey et al., 2020; Dimassi et al., 2022). Un aumento en la rugosidad indica una mayor superficie expuesta, lo cual facilita la adhesión y colonización de microorganismos y, por lo tanto, la acción de las enzimas degradativas. Medir la rugosidad es fundamental para entender cómo los microorganismos interactúan con la superficie del plástico y determinar su efectividad en la biodegradación. Además, conocer la rugosidad es crucial para el desarrollo de materiales más amigables con el medio ambiente, ya que permite diseñar polímeros con características superficiales que aumenten la accesibilidad para los agentes biológicos, haciendo que estos materiales sean más susceptibles a la degradación natural.

### ***2.5.4.1 Parámetros clave en la medición de rugosidad***

La rugosidad de la superficie se cuantifica mediante diversos parámetros que permiten describir la textura y las irregularidades del material. Los más relevantes incluyen: rugosidad media ( $R_a$ ), que es el promedio aritmético de las desviaciones absolutas del perfil respecto a la línea media, proporcionando una medida global de la rugosidad; rugosidad máxima ( $R_z$ ), que mide la distancia entre el pico más alto y el valle más profundo en una longitud de muestreo, siendo útil para identificar irregularidades notables; rugosidad total ( $R_t$ ), que indica la distancia vertical total entre el punto más alto y el más bajo en una longitud específica, evaluando la severidad de las imperfecciones; y rugosidad cuadrática media ( $R_q$ ), que representa la raíz cuadrada de la media de las desviaciones cuadráticas respecto a la línea

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

media, ofreciendo una mayor sensibilidad a los picos y valles extremos (Lyukshin et al., 2021).

Es importante medir estos parámetros antes de iniciar el proceso de biodegradación, ya que esto permite establecer una línea base para determinar cómo el hongo interactúa con el material. Durante la biodegradación, se puede observar un incremento en la rugosidad debido a la acción degradativa de las enzimas secretadas por el hongo, que generan fracturas y exponen nuevas áreas del material. En otros casos, la rugosidad podría disminuir si el hongo logra descomponer y alisar las irregularidades de la superficie. Evaluar los cambios en Ra, Rz, Rt y Rq durante el ataque fúngico proporciona información clave sobre la efectividad del proceso y la capacidad del microorganismo para adherirse y degradar la superficie del material, lo cual es fundamental para entender los mecanismos de biodegradación y mejorar el diseño de materiales más susceptibles a la degradación biológica.

### ***2.5.4.2 Equipo para la medición de rugosidad***

El microscopio óptico digital Hirox HRX-01 es una herramienta avanzada ideal para medir la rugosidad de materiales. Este equipo combina óptica de alta calidad con tecnología digital de última generación, lo que permite obtener imágenes detalladas de la superficie y realizar mediciones precisas de las características topográficas. Equipado con un sistema de lentes y una cámara digital de alta resolución, el HRX-01 facilita la reconstrucción tridimensional de las superficies, proporcionando datos cuantitativos esenciales para evaluar los parámetros de rugosidad y el grado de degradación del material (Hirox, 2023).

Este microscopio permite observar los cambios en la superficie del LDPE antes y después de la exposición a condiciones degradativas. Su capacidad para medir con precisión

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

parámetros como  $R_a$ ,  $R_z$  y  $R_t$  facilita la comprensión de la interacción entre los microorganismos y el material. Esto permite evaluar la efectividad de diferentes tratamientos y condiciones experimentales, consolidándose como una herramienta fundamental en la investigación de materiales (Lyuksin et al., 2021; Rosa et al., 2004).

### 2.5 Metabolómica

La metabolómica se enfoca en el análisis detallado de todos los metabolitos presentes en un sistema biológico. Estos metabolitos, que son moléculas de bajo peso molecular (<1800 Da) como aminoácidos, lípidos, azúcares, ácidos nucleicos, entre otros, actúan como productos intermedios o finales de procesos metabólicos (Idle & Gonzalez, 2007; Ramsden, 2009). La relevancia de la metabolómica radica en su capacidad para ofrecer una visión integral del metabolismo celular, lo que permite evaluar cómo este se adapta a diversas condiciones biológicas, patológicas y ambientales. Al analizar los metabolitos en células, tejidos y fluidos biológicos es posible obtener una representación detallada del estado bioquímico de un organismo, lo cual es fundamental para comprender su funcionamiento y su respuesta a distintos estímulos. Existen dos enfoques principales en la metabolómica: metabolómica dirigida y metabolómica no dirigida (Rey-Stolle et al., 2022).

La metabolómica no dirigida se centra en la medición de la mayor cantidad posible de metabolitos en cada muestra, lo que permite obtener un perfil global del metaboloma. Este enfoque proporciona una visión amplia de los cambios metabólicos que ocurren en respuesta a diversas condiciones. Al capturar un espectro amplio de metabolitos, el análisis no dirigido facilita la generación de hipótesis sobre las alteraciones metabólicas asociadas con diferentes estados patológicos o experimentales (Fiehn, 2016; Rey-Stolle et al., 2022). Se utilizan

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

diversas técnicas como la espectrometría de masas (mass spectrometry en inglés, MS) y la resonancia magnética nuclear (RMN) para identificar y cuantificar metabolitos en muestras biológicas. En la presente investigación se utilizó MS, puesto que esta técnica ofrece alta sensibilidad y reproducibilidad al medir la relación masa-carga ( $m/z$ ) de iones generados por la ionización de especies neutras, permitiendo así determinar la identidad de los metabolitos. Las muestras pueden ser introducidas en el espectrómetro de masas directamente o después de una separación previa mediante cromatografía líquida (LC), cromatografía de gases (GC), o electroforesis capilar (CE) (Idle & Gonzalez, 2007; Ramsden, 2009).

Por otro lado, la metabolómica dirigida se enfoca en el análisis de metabolitos específicos que son relevantes para cuestiones bioquímicas concretas. Este enfoque se basa en el estudio de intermediarios en una o más rutas metabólicas particulares, permitiendo una evaluación precisa de cómo se alteran determinados metabolitos bajo condiciones experimentales (Fiehn, 2016). Al identificar previamente los metabolitos de interés, se facilita una cuantificación exacta y una interpretación detallada de los cambios metabólicos, lo que contribuye a una comprensión profunda de las vías metabólicas involucradas en procesos biológicos. Para ello, se emplean técnicas analíticas avanzadas como la espectrometría de masas (MS), que mide la relación masa-carga ( $m/z$ ) de los metabolitos seleccionados, garantizando alta sensibilidad y precisión en la identificación y cuantificación de estos compuestos (Dudley et al., 2010; Fiehn, 2016; Rey-Stolle et al., 2022).

### ***2.5.1 Cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas con analizador de tiempo de vuelo (RP-LC/MS-QTOF)***

La cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas con analizador de tiempo de vuelo (RP-LC/MS-QTOF) es una técnica empleada en la metabolómica, la cual, integra la capacidad de separación de la cromatografía líquida con la alta sensibilidad y resolución de la espectrometría de masas. La cromatografía líquida de fase reversa (RPLC), conocida también como cromatografía de fase inversa, es ampliamente utilizada en estudios metabolómicos debido a su eficacia en la separación de metabolitos basándose en la polaridad (Lu et al., 2008).

En el proceso de RPLC, los metabolitos son separados en una columna que contiene una fase estacionaria no polar, como grupos octilo (C8) u octadecilo (C18), mientras que la fase móvil es una mezcla acuosa (Takenaka et al., 2021). Esta configuración permite la separación de compuestos en función de sus diferencias de polaridad, con los metabolitos menos polares retenidos por más tiempo en la columna. La alta polaridad del agua como fase móvil hace que esta técnica sea especialmente adecuada para la separación y análisis de metabolitos en muestras biológicas y acuosas. La RPLC puede ser utilizada tanto en metabolómica dirigida como no dirigida y puede separar una amplia gama de metabolitos, incluyendo aminoácidos, carbohidratos, lípidos, ácidos orgánicos, nucleótidos, péptidos y vitaminas (Lu et al., 2008; Ramsden, 2009; Takenaka et al., 2021).

### ***2.5.2 Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas con analizador de tiempo de vuelo (GC-QTOF-MS)***

La cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas con analizador de tiempo de vuelo (GC-QTOF-MS) es una técnica importante en la metabolómica, especialmente para el análisis de compuestos volátiles y semi-volátiles (Rey-Stolle et al., 2022). En esta técnica, la fase móvil es un gas, lo que permite la separación de los metabolitos en función de su volatilidad y su afinidad con la fase estacionaria de la columna cromatográfica. Una vez separados, los compuestos se introducen en el espectrómetro de masas, donde el analizador de tiempo de vuelo proporciona una alta resolución y precisión en la medición de la relación masa-carga ( $m/z$ ) de los iones generados (Fiehn, 2016).

La GC-QTOF-MS es capaz de identificar metabolitos como aminoácidos, ácidos orgánicos, catecolaminas, ácidos grasos, hormonas, ácidos hidroxílicos, esteroides, azúcares y eicosanoides, entre otros compuestos orgánicos volátiles (Dudley et al., 2010). Su alta sensibilidad y precisión permiten una identificación detallada y una cuantificación exacta de los metabolitos. Sin embargo, una limitación importante de esta técnica es que los analitos deben ser suficientemente volátiles y térmicamente estables a las temperaturas utilizadas durante la inyección y elución de la muestra. Para metabolitos polares o no volátiles, es necesario realizar un proceso de derivatización para convertirlos en formas volátiles y estables bajo las condiciones de análisis. Las técnicas de derivatización más comunes incluyen la sililación y la formación de ésteres metílicos (Fiehn, 2016). Este pretratamiento es esencial en metabolómica, ya que amplía significativamente el rango de compuestos que se pueden analizar mediante GC-MS.

Entre las principales ventajas de la GC-QTOF-MS se encuentran su alta eficiencia y excelente resolución para compuestos volátiles, así como la disponibilidad de amplias bibliotecas de espectros de masas que facilitan la identificación precisa de los metabolitos (Fiehn, 2016; Rey-Stolle et al., 2022).

## **2.6 Procesamiento de datos**

El procesamiento de datos es fundamental en los análisis metabolómicos e incluye varias etapas claves como: deconvolución, alineación, integración, normalización, transformación y análisis estadístico, cada una de las cuales contribuye a la correcta interpretación de los resultados.

El primer paso es la deconvolución, que se refiere a la descomposición de los datos crudos obtenidos mediante cromatografía de gases o líquidos en sus componentes individuales. Este proceso permite identificar cada compuesto presente en la muestra (Dunn et al., 2011). La deconvolución es crucial para resolver el solapamiento de picos y para reconocer señales que, de otra manera, podrían pasar desapercibidas. Al separar cada metabolito, se obtiene una representación más clara de la muestra, que posteriormente será utilizada para la comparación entre condiciones experimentales.

Una vez realizada la deconvolución, se procede a la alineación, un paso necesario para corregir las pequeñas variaciones en los tiempos de retención entre diferentes corridas (Katajamaa & Oresic, 2007). En cromatografía, los tiempos de retención pueden fluctuar debido a variaciones instrumentales. La alineación asegura que los mismos metabolitos se encuentren en las mismas posiciones a lo largo de todas las muestras, permitiendo una comparación directa y precisa. Esto es especialmente importante cuando se analizan grandes

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

cohortes de muestras, donde incluso pequeñas desviaciones pueden introducir errores significativos.

Luego, se realiza la integración de los picos alineados, lo cual implica la cuantificación de las áreas bajo cada pico para determinar la concentración relativa de los metabolitos. En este punto, es fundamental realizar una normalización de los datos, un proceso que corrige las diferencias no biológicas entre las muestras, como variaciones en la cantidad de muestra o en la eficiencia del equipo (Broadhurst & Kell, 2006). La normalización contribuye a que los datos sean comparables entre sí, minimizando el ruido y enfatizando las diferencias reales entre las condiciones experimentales.

Posteriormente, se pueden aplicar técnicas de transformación y escalado para preparar los datos para el análisis estadístico. Entre las opciones más comunes están la transformación logarítmica para corregir distribuciones no normales y el escalado centrado en la media para homogeneizar las variables. Estos pasos son esenciales para asegurar que las diferencias observadas se deban a variaciones biológicas reales y no a artefactos técnicos. El uso de técnicas adecuadas de normalización y escalado también mejora la comparabilidad entre muestras y reduce la influencia de valores atípicos (Sohn et al., 2024; van den Berg et al., 2006).

Además, se utilizan diferentes enfoques de análisis estadístico, como el Análisis Univariado (UVA) y el Análisis Multivariado (MVA). El UVA evalúa una sola variable a la vez, lo que permite observar cómo cada variable individual (por ejemplo, un metabolito específico) cambia entre diferentes condiciones experimentales. Aunque es útil para identificar comportamientos específicos, este enfoque puede no capturar las interacciones

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

complejas entre múltiples variables. Por otro lado, el MVA es crucial para estudios de metabolómica debido a la gran cantidad de datos generados. Este tipo de análisis permite analizar varias variables simultáneamente y ayuda a identificar patrones, correlaciones y diferencias entre las muestras, proporcionando una visión más completa del conjunto de datos (Cambiaghi et al., 2017; van den Berg et al., 2006).

Una vez que los datos han sido transformados y escalados, se aplican modelos estadísticos como el análisis de componentes principales (PCA) y el análisis discriminante ortogonal por proyecciones a estructuras latentes (OPLS-DA) (Trygg & Wold, 2002). El PCA es un método exploratorio no supervisado que reduce la dimensionalidad de los datos al identificar las principales fuentes de variabilidad entre las muestras. Esto permite visualizar las relaciones y los agrupamientos naturales entre las muestras, lo que facilita la identificación de patrones que podrían no ser evidentes en el análisis de variables individuales. Por su parte, el OPLS-DA es un método supervisado que se utiliza para maximizar la discriminación entre grupos predefinidos de muestras. Este método separa la variabilidad relacionada con los grupos (predictiva) de la variabilidad no relacionada (ortogonal), lo que permite una mejor clasificación y una interpretación más clara de las diferencias entre las condiciones experimentales (Anwardeen et al., 2023). Es especialmente útil para identificar biomarcadores potenciales y mejorar la comprensión de los metabolitos clave que contribuyen a las diferencias observadas.

Para garantizar la robustez de los resultados y evitar el sobreajuste de los modelos, es fundamental realizar una validación cruzada. Esta técnica permite evaluar la capacidad del modelo para generalizarse a nuevos conjuntos de datos, asegurando que los resultados sean

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

reproducibles y no específicos de las muestras analizadas. Además, se utilizan métricas como los valores de  $R^2$  y  $Q^2$  para medir la precisión y predictibilidad del modelo, y herramientas como las matrices de confusión ayudan a evaluar la exactitud de la clasificación de las muestras en los diferentes grupos definidos (Anwardeen et al., 2023; Geroldinger et al., 2023; Szymańska et al., 2012).

En el proceso de identificación de biomarcadores y variables significativas, el VIP (Variable Importance in Projection) juega un papel clave, destacando aquellas variables que contribuyen significativamente a la discriminación entre grupos en un modelo PLS-DA (Liu et al., 2020). Por otro lado, la tasa de falsos descubrimientos (FDR), calculada mediante el método de Benjamini-Hochberg, se emplea para ajustar los valores  $p$  y minimizar los falsos positivos, garantizando la robustez de los hallazgos obtenidos en análisis con múltiples pruebas (Benjamini & Hochberg, 1995).

### 3 Objetivos

#### 3.1 Objetivo general

Identificar marcadores metabólicos en la biodegradación de polietileno de baja densidad (LDPE) por *Fusarium*

#### 3.2 Objetivos específicos

Analizar los perfiles químicos del hongo *Fusarium* durante la biodegradación del polietileno de baja densidad (LDPE)

Identificar los metabolitos inducidos o inhibidos en el hongo durante el proceso de biodegradación.

Dilucidar las rutas metabólicas activadas durante el proceso de degradación.

## 4 Metodología experimental

Los microorganismos utilizados en este proyecto correspondieron a hongos del género *Fusarium* y fueron donados por la Corporación para la Investigación de la Corrosión (CIC); éstos fueron identificados previamente con potencial para degradar plásticos sintéticos y, durante la investigación, fueron codificados como FOCIC01 y FECIC02.

### 4.1 Montajes para evaluar la degradación de LDPE

#### 4.1.1 Cultivo y crecimiento de *Fusarium* en agar papa dextrosa (PDA)

Los hongos conservados en plugs de agar en agua destilada fueron reactivados mediante su transferencia a placas de agar papa dextrosa (PDA) y cultivados a 28 °C durante 7 días para promover su crecimiento y desarrollo de estructuras reproductivas. Posteriormente, se realizaron subcultivos en nuevas placas de PDA para asegurar la pureza y viabilidad de los aislamientos, estandarizando así las condiciones de cultivo para la obtención de esporas (G21, 2015).

#### 4.1.2 Aislamiento de esporas fúngicas

Posterior a la incubación del hongo en una caja de Petri con medio PDA, se agregó 10 mL de una solución estéril de dioctilsulfosuccinato de sodio (SDS) al 0,05% (v/v) a cada caja Petri y se raspo suavemente el crecimiento superficial del microorganismo. Se vertió la carga de esporas en un tubo estéril con 45 mL de agua estéril con SDS conteniendo 10 perlas de vidrio. Se agitó vigorosamente para liberar las esporas de los cuerpos fructíferos y romper los grupos de esporas. Se filtró la suspensión a través de una capa de lana de vidrio estéril en un embudo de vidrio para eliminar los fragmentos de micelio. Por último, se centrifugó la suspensión de esporas y se desechó el líquido sobrenadante para resuspender el residuo en

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

una alícuota de agua estéril (G21, 2015). Se realizó el recuento de esporas utilizando una cámara Neubauer ASTM (2015). Todo el proceso se realizó conforme a la norma de la Sociedad Estadounidense para Pruebas y Materiales ASTM G21 (2015).

### ***4.1.3 Preparación de polietileno de baja densidad (LDPE)***

Se adquirió 100 g de perlas de LDPE comercial que contenía 600 ppm de aditivos deslizantes (erucamida) y 900 ppm de aditivos de bloqueo (Lotrene FD0274) de la empresa Plastiandes Ltda (Bucaramanga, Colombia). Se lavó con agua destilada, se desinfectó con etanol al 70 % (v/v) en un sonicador Elmasonic P (Elma Schmidbauer GmbH, Alemania), durante 10 minutos y se dejó secar en cabina de bioseguridad (ESCO, Lifesciences, Singapur) a temperatura ambiente (Spina et al., 2021).

### ***4.1.4 Incubación de los microorganismos en medio basal de sales***

Se preparó medio basal de sales (MBS) que contenía: Dihidrógeno ortofosfato de potasio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 0,7g, sulfato de magnesio heptahidratado ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) 0,7g, nitrato de amonio ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) 1,0g, cloruro de sodio ( $\text{NaCl}$ ) 0,005g, sulfato ferroso heptahidratado ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) 0,002g, sulfato de zinc heptahidratado ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) 0,002g, sulfato de manganeso ( $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) 0,001g y ortofosfato monohidrógeno dipotásico ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) 0,7g (G21, 2015). Estas sales se disolvieron en agua destilada y se diluyeron hasta 1 L, se esterilizó en autoclave a  $121^\circ\text{C}$  durante 20 minutos. El medio fue suplementado con 3 g de polietileno de baja densidad (LDPE) para no saturar los montajes. Se estableció un diseño experimental controlado con dos tratamientos principales: uno con glucosa (A) y otro con polietileno de baja densidad (LDPE) (B). La concentración de esporas se mantuvo constante para ambas cepas, FOCIC1 y FECIC02, en todos los ensayos. Brevemente, cada tratamiento

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

experimental se llevó a cabo utilizando 50 mL de medio MBS con 600  $\mu$ L de una solución de esporas (concentración de  $1 \times 10^6$  esporas/mL, de FOCIC01 o FECIC02) y 3,0 g de LDPE. Como control de crecimiento y comparación se utilizó 0,2 g de glucosa en lugar de LDPE. Un control negativo fue preparado utilizando 50 mL de medio MBS con la misma cantidad de esporas fúngicas para cada caso, sin ninguna fuente de carbono. Todos los experimentos se dejaron en incubación durante 30 días, a temperatura ambiente, bajo oscuridad y sin agitación, utilizando matraces Erlenmeyer de 250 mL por septuplicado para cada tratamiento.

Evaluación de la biodegradación de LDPE

### **4.1.5 Medición de pérdida de peso**

Las perlas de polietileno de baja densidad (LDPE) fueron extraídas de los montajes después de 30 días de incubación con el fin de determinar la tasa de biodegradación, calculando la pérdida de peso seco. Una vez recuperadas las perlas, estas fueron meticulosamente lavadas con agua destilada, sometidas a sonificación (Elma Schmidbauer GmbH, Alemania), y cepillado para asegurar la eliminación completa de cualquier contaminante (A. S. Dey et al., 2020; Khan et al., 2022; Spina et al., 2021). Posteriormente, las perlas se colocaron en un desecador durante 3 días y finalmente, se registraron los pesos de las perlas para calcular la pérdida de peso experimentada durante el tratamiento siguiendo la fórmula utilizada por Khan y colaboradores:

$$\% \text{ Peso perdido} = \frac{\text{peso inicial} - \text{peso final}}{\text{peso inicial}} \times 100$$

### **4.1.6 Recuperación y cuantificación del micelio húmedo**

Las muestras (posterior a la incubación de 30 días) fueron sometida a centrifugación a 8000 rpm durante 15 minutos para recuperar el micelio, seguido de tres lavados con 5 mL

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

de solución de agua peptonada 0,1% p/v para eliminar cualquier residuo o contaminante y tres lavados con 3 mL de agua tipo I (estéril) (Hardy Diagnostics, 2020). La elección del agua peptonada se fundamentó en su capacidad para suministrar nutrientes esenciales, preservar la vitalidad del micelio y mantener la presión osmótica adecuada, lo cual es clave para asegurar un ambiente isotónico que favorezca la viabilidad celular sin fomentar la proliferación de microorganismos (Hardy Diagnostics, 2020). Se procedió a registrar el peso del tubo Falcon antes y después del procedimiento, con el propósito de determinar el peso húmedo del micelio siguiendo la fórmula:

$$\text{micelio húmedo} = \text{peso final falcon} - \text{peso inicial falcon}$$

Adicionalmente, el micelio fúngico fue liofilizado utilizando un equipo Biobase, voltaje 110V/60Hz (Biobase, Biobase Biodustry Co., Ltd., China) para posteriores estudios de metabolómica.

#### ***4.1.7 Análisis mediante espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)***

Para evidenciar cambios en la estructura química del LDPE después de 30 días de incubación, se analizaron las muestras mediante reflexión total atenuada utilizando el espectrofotómetro FT /IR-4X (JASCO, JASCO Corporation, Japón). Las mediciones se realizaron en el rango de 4500 a 450  $\text{cm}^{-1}$  con una resolución de 4  $\text{cm}^{-1}$  y 8 barridos/espectro (Bhargava et al., 2003).

#### ***4.1.8 Análisis mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) de alta resolución***

Para observar posibles cambios en la apariencia de las perlas de LDPE después del contacto con FOCIC01 y la formación de un *biofilm*, se registraron micrografías mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) de alta resolución (PHENOM Pro-X, Thermo

Fisher Scientific, Países Bajos). Las muestras se sometieron a secado por punto crítico utilizando dióxido de carbono en un equipo especializado. El proceso consistió en el reemplazo gradual del etanol por dióxido de carbono líquido bajo condiciones de alta presión. Posteriormente, se alcanzó el punto crítico donde el CO<sub>2</sub> pasó de fase líquida a gaseosa sin causar tensión superficial, lo que permitió secar las muestras sin colapsar las estructuras del biofilm. Las muestras secas se montaron en portaobjetos metálicos (stubs) con cinta de carbono conductora y se recubrieron con una capa de oro de 20 nm mediante pulverización catódica en un equipo Bal-tec SCD050 (BAL-TEC AG, Liechtenstein), con el objetivo de evitar la acumulación de carga electrostática durante la observación (Arunachalam & Davoodbasha, 2021).

Finalmente, las muestras se observaron bajo el microscopio electrónico de barrido PHENOM, Modelo Pro-X (Phenom, Thermo Fisher Scientific, Países Bajos).

#### ***4.1.9 Análisis de rugosidad mediante microscopio óptico digital hirox HRX-01***

Para la medición de imágenes utilizando el microscopio óptico digital HRX-01<sup>a</sup> (Hitachi, Hitachi High-Tech Corporation, Japón) consistió en una preparación de la muestra en donde se lavaron las perlas con agua destilada para eliminar el micelio adherido, seguida de una calibración precisa del equipo para garantizar mediciones exactas. Se procedió a capturar imágenes de la superficie de la muestra en diferentes áreas de interés, ajustando la ampliación y la configuración de la iluminación según fuera necesario. Estas imágenes fueron analizadas utilizando el software Hirox 3D Viewer versión Alpha para calcular parámetros de rugosidad como la altura máxima (Rz) y la rugosidad promedio (Rzjis) la cual es una medida que se refiere a la altura media de los valores de rugosidad en un perfil de superficie.

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

Esta medida se calcula como la distancia vertical promedio entre los puntos más altos y bajos dentro de un área de evaluación determinada. Los resultados obtenidos fueron interpretados para comprender el impacto de la rugosidad en las propiedades del material.

### **4.2 Análisis metabolómico no dirigido**

#### ***4.2.1 Extracción de metabolitos***

Se pesaron 10 mg de cada una de las muestras liofilizadas (sección 3.2.2), se adicionaron 300  $\mu$ L de MeOH frío y se agitaron en vórtex a 3200 rpm durante 5 minutos, seguido de un tratamiento de ultrasonido durante 10 minutos (Li et al., 2022; Rey-Stolle et al., 2022). Posteriormente, las muestras se centrifugaron a 14000 rpm y 4°C durante 10 minutos. El sobrenadante se retiró y se almacenó a -80 °C hasta su análisis (Fiehn, 2016).

#### ***4.2.2 Análisis de las muestras por cromatografía líquida acoplado a espectrometría de masas (RP-LC/MS-QTOF)***

Las muestras fueron analizadas utilizando un sistema de Cromatografía de Líquidos Agilent Technologies 1260, acoplado a un analizador de masas de cuadrupolo con tiempo de vuelo Q-TOF 6545 con ionización por electrospray. Se inyectó 1  $\mu$ L de la muestra en una columna C18 (InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 2.1 x 100 mm, 1,9  $\mu$ m) a 30 °C, utilizando una elución en gradiente compuesta por: 0,1 % (v/v) de ácido fórmico en agua Milli-Q (Fase A) y 0,1 % (v/v) de ácido fórmico en acetonitrilo (Fase B), con un flujo constante de 0,4 mL/min. El gradiente de elución cromatográfica inició con un 2 % de Fase B, aumentando gradualmente hasta alcanzar el 30 % de Fase B en 10 minutos. Posteriormente, se incrementó hasta el 98 % de Fase B al minuto 20, manteniéndose en estas condiciones durante 2 minutos. Luego, se retornó a las condiciones iniciales con un tiempo de reequilibrio de 5 minutos. La

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

detección por espectrometría de masas se realizó en modo ESI positivo y negativo, en un rango de escaneo completo de 100 a 1100  $m/z$ . Durante todo el análisis, para la corrección de masas, se emplearon dos masas de referencia:  $m/z$  121.0509 (7H-purina  $C_5H_4N_4$ ) y  $m/z$  922,0098 (Tris(hexafluorofosforil)fosfazeno  $C_{18}H_{18}O_6N_3P_3F_{24}$ ) para el modo positivo, y  $m/z$  112,9856 [Amonio 2,2,2-trifluoroacetato  $C_2O_2F_3(NH_4)$ ] y  $m/z$  1033,9881 (Tris(hexafluorofosforil)fosfazeno  $C_{18}H_{18}O_6N_3P_3F_{24}$ ) para el modo negativo. Se utilizó nitrógeno como gas de nebulización a 50 psi, con una temperatura de secado de 325 °C y un flujo de 8 L/min. La temperatura del gas de arrastre (sheath gas) fue de 350 °C con un flujo de 11 L/min, y los voltajes aplicados en el capilar y el fragmentador fueron de 3000 V y 175 V, respectivamente. El gas de colisión empleado fue nitrógeno con una pureza del 99,999 %.

**3.3.2.1 Procesamiento de datos metabólica no dirigida**

Los compuestos presentes fueron analizados e inspeccionados manualmente utilizando el software *Agilent Mass Hunter Profinder 10,0*, empleando el algoritmo *Recursive Molecular Extraction* con las siguientes condiciones: Extracción: 0-22 min; 5000 counts, especies de iones: iones positivos (+H, +Na, -H<sub>2</sub>O), iones negativos (-H, +Cl, -H<sub>2</sub>O).

Este algoritmo lleva a cabo la deconvolución del cromatograma y la integración de las características moleculares presentes en las muestras y en el blanco de solvente, basándose en la masa y el tiempo de retención. Los datos obtenidos fueron filtrados según su reproducibilidad y presencia (Alseekh et al., 2021).

**3.3.2.2 Análisis estadístico**

Para las comparaciones metabólicas de los hongos FOCIC01 y FECIC02 incubados con LDPE vs con glucosa, la selección de las características moleculares ( $m/z$ )

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

estadísticamente significativas se llevó a cabo mediante análisis estadístico multivariado (MVA) y univariado (UVA). Se realizó un análisis no supervisado de componentes principales (PCA) con el objetivo de observar la distribución no supervisada de las muestras analizadas. Posteriormente, se utilizó el modelo supervisado de análisis discriminante por proyecciones latentes ortogonales (OPLS-DA), con escalado centrado, para identificar las características moleculares responsables de la separación entre los grupos (Alseekh et al., 2021). Las características moleculares estadísticamente significativas se seleccionaron de acuerdo con los siguientes criterios: 1) UVA:  $p\text{-FDR} < 0,05$  y  $p\text{-valor} < 0,01$  y 2) MVA: importancia en la proyección de la varianza (VIP)  $> 1,0$ .

### ***3.3.2.3 Anotación de características moleculares estadísticamente significativas***

La anotación de características moleculares estadísticamente significativas se realizó empleando diferentes herramientas como la masa exacta, fórmula molecular, espectros de masa y tiempos de retención. Cada metabolito se reportó con el nivel de confianza ID acorde las pautas establecidas por la Metabolomics Standards Initiative (MSI). Estas pautas definen cuatro niveles: Nivel 1 para metabolitos identificados mediante estándares químicos, Nivel 2 para metabolitos con coincidencia espectral en bases de datos de referencia, Nivel 3 para compuestos putativos que tienen concordancia en fórmula molecular y datos MS/MS, y Nivel 4 para metabolitos que coinciden únicamente en MS1 en bases de datos en línea (Rey-Stolle et al., 2022).

Para la búsqueda de metabolitos en las diferentes bases de datos del CEU MASS MEDIATOR (<http://ceumass.eps.uspceu.es/>) se ejecutó una búsqueda en Batch con los siguientes parámetros: Tolerancia: 10 ppm, Bases de datos: Metlin

([https://metlin.scripps.edu/landing\\_page.php?pgcontent=mainPage](https://metlin.scripps.edu/landing_page.php?pgcontent=mainPage)), KEGG (<https://www.genome.jp/kegg/>), Lipid Maps (<https://www.lipidmaps.org/>), HMDB (<https://hmdb.ca/>), Metabolitos: Todos excepto péptidos, Modo de ionización: Modo positivo / Modo negativo, Aductos Positivos (M+H, M+Na, M+H-H<sub>2</sub>O), aductos Negativos (M-H, M+Cl, M+H-H<sub>2</sub>O, M+AF). Posteriormente, se generó la fórmula molecular de los datos experimentales empleando el Software *Agilent MassHunter Qualitative 10* con los siguientes parámetros: Iones positivos (+H, +Na), Elementos (H, C, O, N, P, S).

Para la confirmación de la anotación de metabolitos, se empleó el software MS-DIAL v1.5 y las siguientes librerías del MoNA - MassBank of North America: MoNA-export-LC-MS-MS\_Positive\_Mode, MoNA-export-GNPS, MoNA-export-MassBank y MoNA-export-Vaniya-Fiehn\_Natural\_Products\_Library (<https://massbank.us/>).

Se realizó el análisis de MS/MS utilizando el software Agilent Mass Hunter Qualitative Analysis, empleando el algoritmo Auto MS/MS para la adquisición automática de datos. Posteriormente, se compararon manualmente los espectros de masas obtenidos experimentalmente con aquellos reportados en la literatura científica.

#### ***4.2.3 Análisis de las muestras por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-QTOF-MS)***

##### ***3.3.3.1 Preparación de la muestra***

De los extractos preparados inicialmente (sección 3.3.1), se tomaron 30 µL los cuales fueron llevados a sequedad en SpeedVac durante 1 hora. Se adicionaron 20 µL de *O*-metoxiamina en piridina (15 mg/mL), se agitaron en vórtex a 3200 rpm durante 5 min y se incubaron en oscuridad a temperatura ambiente durante 16 horas. El proceso de sililación se

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

llevó a cabo adicionando 20  $\mu\text{L}$  de N,O-bis(trimetilsilil)fluoroacetamida (BSTFA) con 1% de trimetilclorosilano (TMCS), seguido de agitación en vortex durante 5 min e incubación a 70°C durante 1 hora. Tras enfriamiento a temperatura ambiente, se agregaron 80  $\mu\text{L}$  de heptadecanoato de metilo-D33 como estándar interno (5 mg/L) y se agitaron en vórtex durante 5 minutos a 3200 rpm (Rey-Stolle et al., 2022).

### **3.3.3.2 Análisis de muestras**

El análisis de las muestras se realizó en un cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890B GC acoplado a un espectrómetro de masas con tiempo de vuelo Agilent Technologies 7250GC/Q-TOF. Brevemente, 1  $\mu\text{L}$  de las muestras derivatizadas fueron inyectadas con split 30 en una columna HP-5MS (30 m, 0.25 mm, 0.25  $\mu\text{m}$ ) (Agilent Technologies) a flujo constante de 0.7 mL/min. La temperatura del horno se programó desde 60°C (1 minuto) @10°C/min hasta 325 °C (10 minutos). Los espectros de masas se registraron a 70 eV en modo de barrido completo con valores de  $m/z$  en el rango de 50 a 600. La temperatura de la línea de transferencia al detector, del filamento de la fuente y del cuadrupolo se mantuvieron a 280 °C, 230 °C y 150 °C, respectivamente.

### **3.3.3.3 Procesamiento de datos metabólica no dirigida por GC-QTOF-MS**

La deconvolución, alineamiento e integración se realizó empleando el software *Agilent Unknowns Analysis B.10.0* el software *MassProfiler Professional v15* y el software *Agilent MassHunter Quantitative Analysis B.10.00*, respectivamente. Finalizado este proceso, se aplicó un filtro basado en la presencia del metabolito, seleccionando únicamente aquellas presentes en el 100 % de las muestras analizadas y con un coeficiente de variación (CV) en el control de calidad inferior al 30%. Posteriormente, se aplicó un método de

normalización conocido como Systematical Error Removal using Random o SERRF (<https://slfan2013.github.io/SERRF-online/>) que se fundamenta en la utilización de muestras pertenecientes a grupos de control de calidad, seguido de normalización por área total (Rey-Stolle et al., 2022).

La identificación se realizó mediante la búsqueda en dos bibliotecas específicas: “*Fiehn GC-MS Metabolomics RTL Library*” versión 2011, donde se tiene en cuenta la coincidencia en el tiempo de retención, el espectro de masas y/o los índices de retención (RI) de *FAMES* (ésteres metílicos de ácidos grasos) o alcanos C7 a C20. El nivel de identificación asignado para estos metabolitos según la *Metabolomics Standards Initiative* (MSI) es 2. El análisis estadístico multivariado (MVA) se realizó utilizando el programa libre MetaboAnalyst v6.0 en el que se realizaron análisis no supervisados y supervisados como análisis de componentes principales (PCA) y análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales ortogonales (OPLS-DA) utilizando escalado univariado (UV). Adicionalmente, se realizó el análisis univariado (UVA) donde se emplearon pruebas *t* no paramétricas y se aplicaron correcciones por *False Discovery Rate* (FDR) de Benjamini-Hochberg (Fiehn, 2016; Gallo, 2022).

#### **3.3.3.4 Análisis estadístico**

Para las comparaciones entre (i) FOCIC01 con LDPE vs con glucosa y, (ii) FECIC02 con LDPE vs con glucosa, se realizó un modelo no supervisado de Análisis de Componentes Principales (PCA) entre los dos grupos. Adicionalmente, para encontrar patrones distintivos entre estos grupos, se llevó a cabo un modelo supervisado de OPLS-DA, con el propósito de identificar los metabolitos que contribuyeran a la separación, se empleó la medición de

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

importancia en la proyección (VIP). De este modo, se seleccionaron los metabolitos estadísticamente significativos considerando dos criterios: (1)  $p$ -valor  $\leq 0,05$  y (2) un valor de VIP  $> 1$ .

### 4.3 Trazabilidad metabólica

Se realizó un análisis de rutas metabólicas utilizando la plataforma MetaboAnalyst v6.0 con el fin de identificar las rutas relevantes durante la biodegradación de polietileno de baja densidad (LDPE) por el hongo *Fusarium* (Chong et al., 2019). Para el análisis, se emplearon los códigos de metabolitos obtenidos del Human Metabolome Database (HMDB). Debido a la ausencia de una biblioteca específica para *Fusarium* en la base de datos de Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) versión diciembre 2023, se seleccionó la biblioteca de *Aspergillus flavus* como organismo de referencia, ya que ha sido previamente investigado en el contexto de la biodegradación de materiales.

Las rutas metabólicas significativas (con un  $p < 0,05$ ) fueron utilizadas para construir el mapa metabólico durante la biodegradación, integrando los resultados obtenidos con el conocimiento previo sobre las actividades metabólicas de *Fusarium*.

## 5 Resultados y discusión

### 5.1 Evaluación de la biodegradación de LDPE

#### 5.1.1 *Análisis de la pérdida de peso (en %) de las perlas de LDPE durante incubación con los microorganismos*

Los resultados mostraron una disminución del 4,73% en el peso de las perlas de LDPE tratadas con el hongo FOCIC01, la prueba  $t$  de student mostró diferencias estadísticamente significativas en comparación con el peso inicial del material utilizado (Tabla 1,

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

$p < 2,03461 \times 10^{-8}$ ) (Apéndice A). Esta pérdida de peso sugiere una tendencia hacia la degradación del LDPE, que es consistente con estudios previos que documentan la capacidad de ciertos hongos para modificar y degradar plásticos.

De acuerdo con Ibrahim et al. (2024) e Inderthal et al. (2021), aunque el LDPE es generalmente resistente a la biodegradación, algunos hongos poseen mecanismos adaptativos que les permiten alterarlo gradualmente. En este contexto, es posible que FOCIC01 esté empleando estrategias similares a las observadas en *Fusarium solani*, un hongo conocido por su capacidad de degradar poliuretano (PU), un polímero hidrofóbico que también presenta resistencia a la biodegradación. Según Spina y colaboradores, *F. solani* desarrolla adaptaciones morfológicas y produce enzimas hidrolíticas que facilitan tanto la adhesión al polímero como su descomposición. Estos cambios permiten a las células fúngicas colonizar el material y utilizarlo como fuente de carbono y energía en condiciones limitadas de nutrientes.

Para el caso del LDPE, FOCIC01 podría estar implementando una serie de mecanismos enzimáticos y adaptativos que incluyen la producción de enzimas como peroxidasas y esterasas, que han sido bien documentadas en otros hongos con actividad degradativa (Ibrahim et al., 2024). Estas enzimas pueden romper parcialmente las cadenas de hidrocarburos presentes en el polietileno, lo que resulta en una fragmentación gradual del polímero. Además, la capacidad de adhesión de FOCIC01 al LDPE podría estar facilitada por proteínas y lípidos en la superficie celular que favorecen la interacción con el polímero, formando una biopelícula estable sobre la superficie del plástico (Inderthal et al., 2021). La

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

formación de esta biopelícula puede ser crítica en el proceso, ya que crea un microambiente propicio para la actividad enzimática y promueve una degradación localizada del LDPE.

Aunque la magnitud de la pérdida de peso observada no alcanzó significancia estadística, estos resultados preliminares subrayan el potencial de FOCIC01 en la biodegradación de plásticos, específicamente en plásticos hidrofóbicos y difíciles de degradar como el LDPE. Esto también indica que, al optimizar las condiciones de cultivo y mejorar la producción de enzimas relevantes, podría ser posible incrementar la efectividad de FOCIC01 en aplicaciones de biodegradación, aportando una solución innovadora al problema de la acumulación de residuos plásticos.

Por su parte, las muestras tratadas con FECIC02 presentaron una pérdida de peso promedio de 0,30%, con una reducción estadísticamente significativa (Tabla 1,  $p < 0,001$ ) (Apéndice B). Esto indica que, aunque FECIC02 tiene capacidad para degradar LDPE, su degradación, su rendimiento resulta inferior al de FOCIC01, que mostró una mayor reducción en el peso de las muestras.

De lo anterior, es necesario resaltar que FOCIC01 es más eficaz en la biodegradación de polietileno de baja densidad (LDPE) en comparación con FECIC02, cuyo resultado puede estar relacionado con la activación de rutas metabólicas y la producción de enzimas específicas en FOCIC01, que facilitan la ruptura del polímero de LDPE. Además, estudios previos sobre poliuretano (PU) han demostrado que la actividad enzimática inicial en hongos del género *Fusarium* genera intermediarios como ácidos carboxílicos, ésteres y alcoholes, los cuales sirven como fuentes de carbono y energía, aumentando la concentración de carbono orgánico soluble disponible para el crecimiento fúngico (Ibrahim et al., 2024;

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

Inderthal et al., 2021); por tanto, es posible que en nuestro estudio, mecanismos bioquímicos similares estén ocurriendo durante la degradación de LDPE.

**Tabla 2.** Pérdida de peso del LDPE seco tratado con FOCIC01 y FECIC02 tras 30 días de incubación

| Microorganismo       | FOCIC01               |                     |                     | FECIC02               |                     |                     |
|----------------------|-----------------------|---------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|---------------------|
| Réplica              | Peso inicial LDPE (g) | Peso final LDPE (g) | Pérdida de peso (%) | Peso inicial LDPE (g) | Peso final LDPE (g) | Pérdida de peso (%) |
| 1                    | 3,010                 | 2,869               | 4,68%               | 3,003                 | 2,992               | 0,36%               |
| 2                    | 3,026                 | 2,887               | 4,58%               | 3,020                 | 3,010               | 0,33%               |
| 3                    | 3,061                 | 2,922               | 4,53%               | 3,029                 | 3,025               | 0,13%               |
| 4                    | 3,054                 | 2,911               | 4,68%               | 3,028                 | 3,024               | 0,13%               |
| 5                    | 3,013                 | 2,867               | 4,85%               | 3,032                 | 3,020               | 0,39%               |
| 6                    | 3,008                 | 2,873               | 4,50%               | 3,056                 | 3,049               | 0,32%               |
| 7                    | 3,110                 | 2,945               | 5,30%               | 3,037                 | 3,023               | 0,46%               |
| Promedio             | 3,040                 | 2,896               | 4,73%               | 3,029                 | 3,020               | 0,30%               |
| Desviación estándar  | 0,035                 | 0,030               | 0,26%               | 0,016                 | 0,017               | 0,11%               |
| Coficiente variación | 1,14%                 | 1,14%               | -                   | 0,60%                 | 0,65%               | -                   |

### 5.1.2 Análisis de producción de biomasa (micelio fúngico) de FOCIC01 y FECIC02 durante incubación con glucosa y LDPE

Se comparó la producción de micelio fúngico (biomasa) entre FOCIC01 y FECIC02 durante el proceso de degradación de perlas de polietileno de baja densidad (LDPE).

Los resultados mostraron que no hubo diferencias significativas en la cantidad de biomasa (micelio fúngico) producida con el hongo FOCIC01 durante los experimentos conducidos con (a) LPDE y (b) glucosa como fuente de carbono (tabla 2,  $p > 0,567$ ) (Apéndice

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

G). Sin embargo, para FECIC02, si se determinaron diferencias estadísticamente significativas para las dos fuentes de carbono analizadas ( $p < 0,001$ ) (Apéndice H). Específicamente, en el caso del FECIC02, el micelio recolectado en el tratamiento con LDPE fue significativamente menor en comparación con el control (tabla 2).

Estos hallazgos destacan la relación entre la producción de biomasa fúngica y su capacidad para degradar materiales poliméricos, subrayando la importancia del crecimiento de micelio o *biofilm* en el proceso de biodegradación ya que, la primera etapa es la colonización (Restrepo-Flórez et al., 2014).

La capacidad del hongo para colonizar la superficie de los materiales es un factor determinante en su eficiencia para degradar polímeros como el LDPE. Estudios recientes indican que la producción de biomasa micelial está estrechamente relacionada con la capacidad del hongo para secretar enzimas hidrolíticas que descomponen los enlaces poliméricos. A mayor colonización de la superficie, mayor es la eficiencia de la degradación (Attias et al., 2020; Khatua et al., 2024; Skariyachan et al., 2022; Spina et al., 2021)

En el presente estudio, las diferencias observadas en la producción de micelio entre FOCIC01 y FECIC02 sugieren que el FOCIC01 tiene una mayor capacidad para colonizar la superficie del LDPE, lo que podría explicar su mayor eficacia en la degradación del polímero y cuyos resultados están en concordancia con los presentados en la sección 4.1.1. Este fenómeno se ha observado en otros estudios donde la colonización fúngica está directamente relacionada con la eficiencia de la biodegradación, ya que un mayor contacto entre el micelio y el material aumenta la actividad enzimática (Di Pippo et al., 2023; Khatua et al., 2024; Wright et al., 2020).

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

Además, el menor crecimiento micelial en FECIC02, en comparación con su control, puede indicar una limitación en su capacidad de colonización del LDPE, lo que reduciría su eficacia para degradar el polímero. Estos resultados coinciden con estudios previos que sugieren que la interacción entre el micelio y la superficie del polímero depende de factores como la rugosidad de la superficie, la hidrofobicidad del material y las características del cultivo (A. S. Dey et al., 2020; Gong et al., 2023).

**Tabla 2.** Producción de biomasa micelial en fresco de FOCIC01 y FECIC02 tras 30 días de incubación con Glucosa (control) y LDPE (tratamiento)

| Microorganismo/               | FOCIC01        |                 | FECIC02       |                 |
|-------------------------------|----------------|-----------------|---------------|-----------------|
| Réplica                       | Control (g)    | Tratamiento (g) | Control (g)   | Tratamiento (g) |
| 1                             | 0,8431         | 0,7982          | 0,8373        | 0,5753          |
| 2                             | 0,984          | 0,973           | 0,8249        | 0,5051          |
| 3                             | 0,9019         | 1,1161          | 0,8507        | 0,6507          |
| 4                             | 0,9244         | 1,3419          | 0,8569        | 0,6843          |
| 5                             | 1,0515         | 0,8405          | 0,7088        | 0,5908          |
| 6                             | 1,0683         | 1,1533          | 0,8303        | 0,6477          |
| 7                             | 1,3147         | 1,2048          | 0,8214        | 0,587           |
| Promedio                      | 1.0125         | 1.0611          | 0.8186        | 0.6058*         |
| Desviación estándar           | 0.1557         | 0.1838          | 0.05015       | 0.0599          |
| <u>Coefficiente variación</u> | <u>14.2365</u> | <u>17.3246</u>  | <u>5.6712</u> | <u>9.1653</u>   |

\*Diferencias estadísticamente significativa entre el tratamiento vs control ( $p > 0,05$ )

### 5.1.3 Evaluación de degradación de LDPE por espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

En la Figura 2, se observan los espectros de FTIR para (a) perlas de LDPE sin ningún tratamiento (control negativo) y, (b) y (c), corresponden a los análisis realizados de las perlas

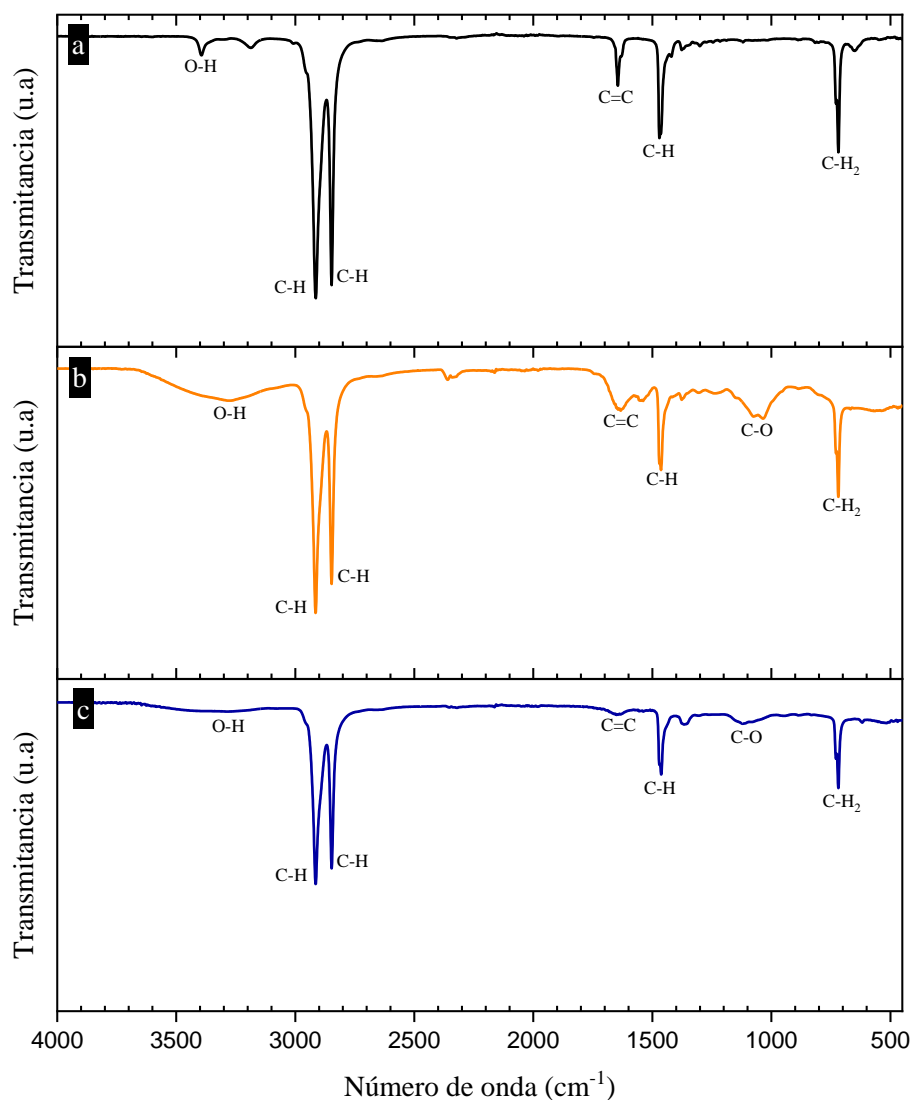
## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

de LDPE después de un periodo de incubación de 30 días con FOCIC01 y FECIC02, respectivamente. En (a), se observan las señales características del polietileno, que se presentan a  $2916,80\text{ cm}^{-1}$  y  $2848,34\text{ cm}^{-1}$ , indicativos de estiramiento de enlaces C-H. Además, se identifican la señal de estiramiento de C=C alqueno a  $1644,98\text{ cm}^{-1}$ , la vibración de flexión  $\text{CH}_2$  a  $1471,42\text{ cm}^{-1}$  y la señal de vibración  $\text{CH}_2$  a  $717,38\text{ cm}^{-1}$ . Sin embargo, en (b) y (c), se observan cambios significativos en las señales antes mencionadas; las señales de estiramiento de C-H, localizadas a  $2916,80\text{ cm}^{-1}$  y  $2848,34\text{ cm}^{-1}$ ,  $1471,42\text{ cm}^{-1}$  y  $717,38\text{ cm}^{-1}$ , muestran una reducción en la transmitancia posterior al tratamiento fúngico. Además, se observa un ensanchamiento de las señales correspondientes a C=C en  $1635,34\text{ cm}^{-1}$ , estiramiento de C-O a  $1034,62\text{ cm}^{-1}$  y estiramiento de O-H a  $3273,57\text{ cm}^{-1}$  (Elsamahy et al., 2023; Khan et al., 2022). Estas señales son más evidentes en las perlas tratadas con FOCIC01 en comparación con las tratadas con FECIC02, lo que soporta los hallazgos antes descritos para este hongo. Estos cambios en los picos del espectro FTIR son consistentes con la degradación del LDPE por parte de los hongos, lo que evidencia que tanto FOCIC01 como FECIC02 han consumido las cadenas de C-H del polietileno, lo que sugiere un proceso de despolimerización del LDPE que ha dado lugar a la formación de diferentes compuestos oxigenados. En particular, el ensanchamiento de las señales correspondientes al estiramiento O-H ( $3273,57\text{ cm}^{-1}$ ) y C-O ( $1034,62\text{ cm}^{-1}$ ) indica la presencia de grupos hidroxilo y éteres, como resultado de la producción de alcoholes y éteres. Además, la modificación de las señales asociadas al enlace C=C ( $1635,34\text{ cm}^{-1}$ ) está relacionada con la formación de ácidos grasos, respaldando la degradación del LDPE por parte de los hongos. La reducción en la intensidad relativa y el ensanchamiento de las bandas correspondientes a los grupos metilo tras la exposición al hongo indica que la biodegradación ocurrió principalmente a través del

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

ataque a los grupos metilo terminales del polímero. La escisión de las cadenas de LDPE con la ruptura de los enlaces C=C ha sido provocada de forma similar por diferentes organismos (Ghatge et al., 2020; Kumar Sen & Raut, 2015; Kundungal et al., 2019). Además, la degradación oxidativa es una vía conveniente para polímeros desprovistos de grupos fácilmente hidrolizables, como el polietileno (Inderthal et al., 2021), y es promovida por enzimas microbianas para crear grupos funcionales que mejoran la hidrofiliidad del polímero y, en consecuencia, la biodegradabilidad (Z. Shah et al., 2013).

**Figura 2.** Espectro FTIR de a) perlas de LDPE (control negativo), b) LDPE posterior a la incubación con FOCIC01 y c) LDPE posterior a la incubación con FECIC02.



#### 5.1.4 Evaluación de degradación de LPDE mediante microscopía electrónica de barrido (SEM)

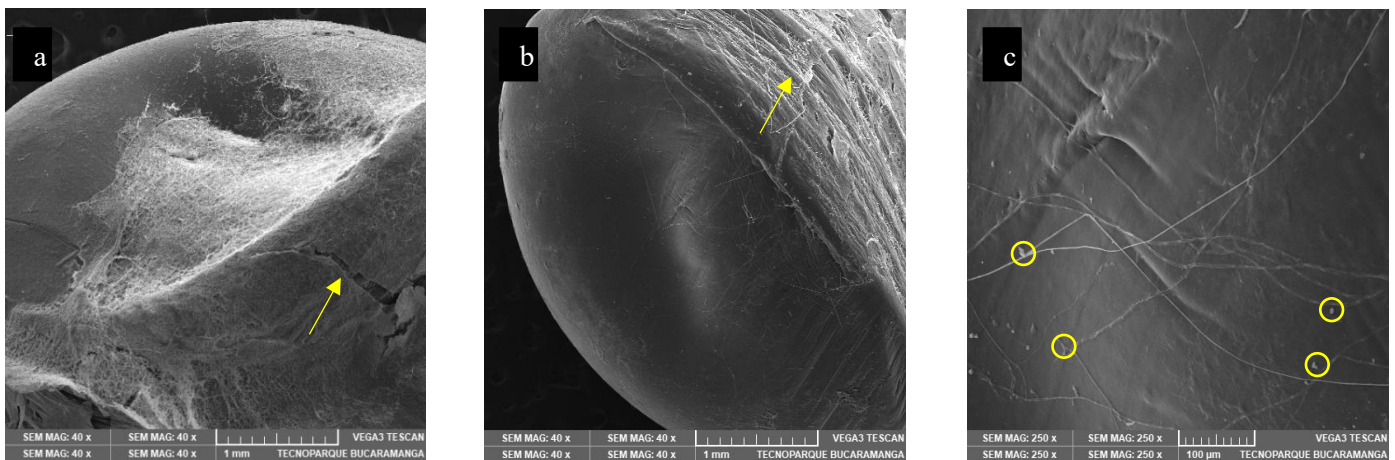
Con el objetivo de confirmar la degradación del LDPE por FOCIC01, se realizaron análisis mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) tanto para las muestras tratadas como el control. Los análisis revelaron la presencia de cavidades, ranuras y la formación de un *biofilm* sobre la superficie de las perlas de LDPE (Figura 3, a y b), lo que sugiere una posible biodegradación del polímero. Además, a pesar de los procedimientos de prelavado,

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

las hifas y los conidios del hongo FOCIC01 permanecieron adheridos a la superficie del LDPE (Figura 3c).

Los resultados obtenidos mediante SEM resaltaron la capacidad del hongo FOCIC01 para colonizar y adherirse firmemente a la superficie del LDPE, lo que es fundamental en el proceso de biodegradación de cualquier material. Este contacto prolongado facilita la liberación constante de enzimas hidrolíticas que descomponen el material. Además, la formación de *biofilm* protege y permite al micelio resistir condiciones adversas, optimizando la degradación. La adhesión del micelio también indica una interacción estable entre el hongo y el polímero, lo que favorece su crecimiento (Attias et al., 2020; Khan et al., 2022; Khatua et al., 2024).

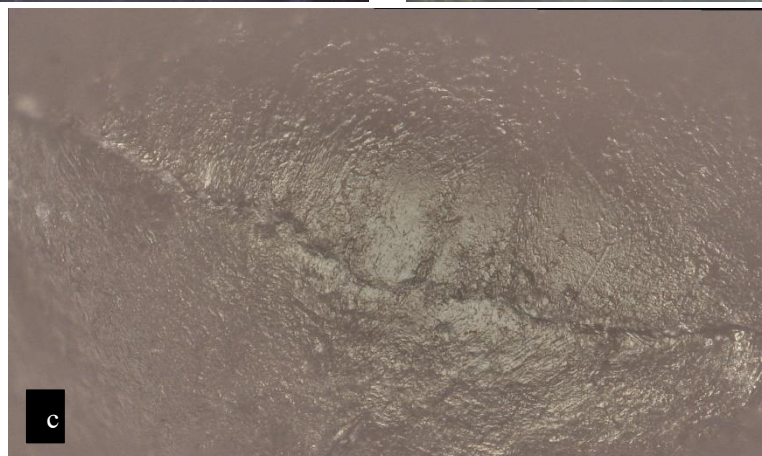
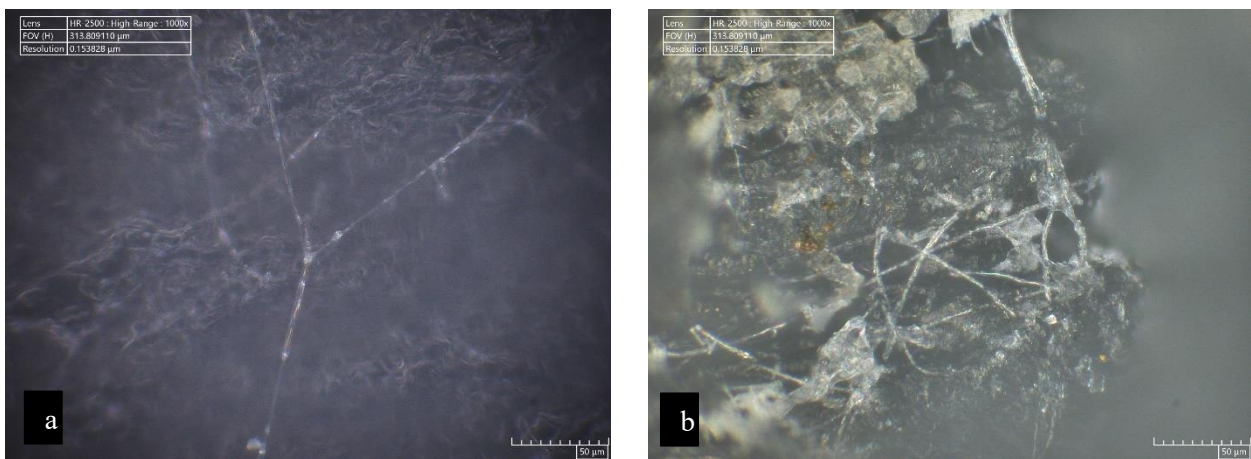
**Figura 3.** Micrografías de perlas de LDPE incubadas con FOCIC01: a) magnificación 40x; b) magnificación 40x; c) magnificación 250x. Las flechas indican la formación de biofilms sobre la superficie del LDPE, mientras que los círculos señalan las áreas donde se encuentran las hifas del hongo



### 5.1.5 Evaluación de degradación de LDPE mediante la medición de rugosidad

El análisis de la rugosidad superficial del polietileno de baja densidad (LDPE) tras el tratamiento con FOCIC1 reveló modificaciones significativas en la morfología del material. Las imágenes obtenidas muestran cambios progresivos en la textura y el color del LDPE a medida que avanza el tiempo de incubación, con un aumento en la aparición de marcas distintivas, como cavidades y surcos, especialmente evidentes en las muestras de 30 días (Figura 4b). En la imagen a los 14 días (Figura 4a), se observan pocas marcas, lo cual sugiere un inicio en la interacción entre el hongo y la superficie del polímero, mientras que a los 30 días (Figura 4b y 4c) las alteraciones son más pronunciadas, evidenciando una degradación física más avanzada en la superficie del material. Estos hallazgos subrayan el potencial de FOCIC1 para alterar la estructura superficial del LDPE, favoreciendo su biodegradación.

**Figura 4.** Imágenes de Microscopía Óptica Digital del LDPE incubado con FOCIC01: a) 14 días de incubación, aumento 1000x; b) 30 días de incubación, aumento 1000x; c) 30 días de incubación, aumento 200x.



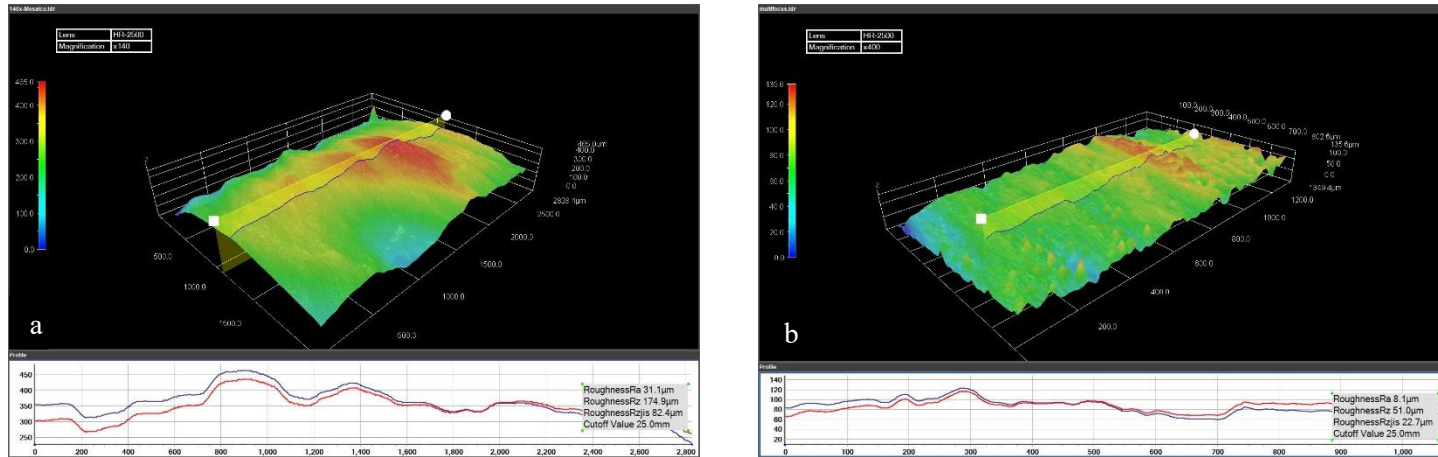
## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

La medición de la rugosidad del material en ambas caras del LDPE tratadas con FOCIC1 reveló reducciones significativas, indicando un proceso de degradación superficial progresivo. En la cara 1, la rugosidad disminuyó de 82,4 micrones a 22,7 micrones en 30 días, según los valores Rzjis (Figura 5), lo que sugiere una acción biológica de FOCIC1 sobre la capa externa del LDPE y confirma una degradación continua y pronunciada. De manera similar, en la cara 2, la rugosidad se redujo de 8,8 micrones en el control a 1,8 micrones después de 30 días de tratamiento (Figura 6), evidenciando una respuesta diferencial del LDPE en función de la cara analizada. Estos resultados destacan la importancia de considerar las variaciones en la exposición y degradación superficial en distintas áreas del material durante el proceso de biodegradación.

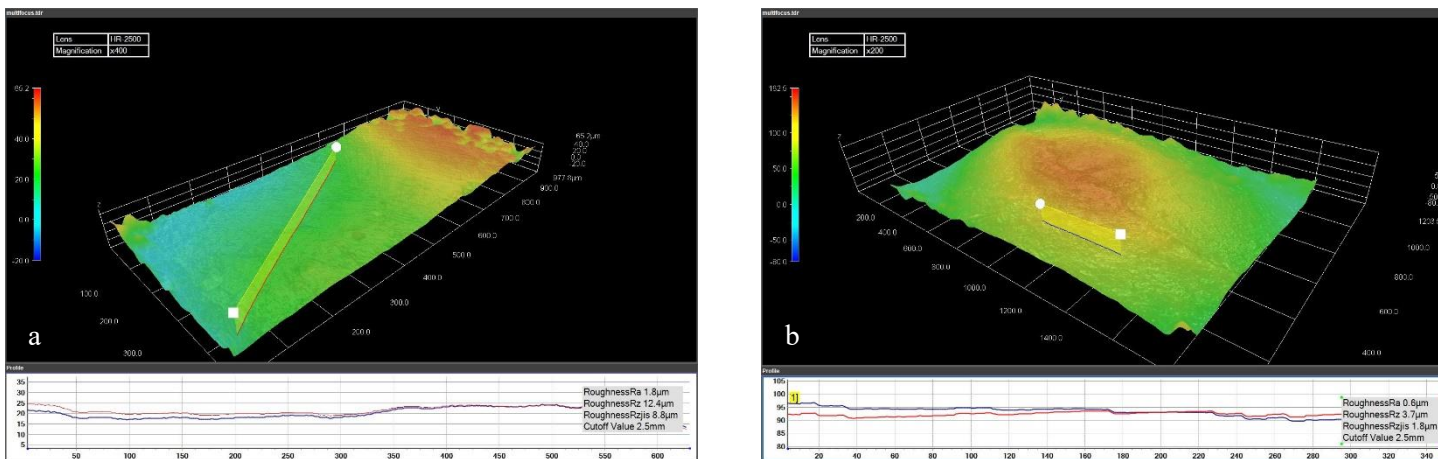
En conjunto, estos hallazgos resaltan la importancia de la rugosidad superficial como un indicador crucial en la evaluación de la biodegradación de materiales poliméricos. Además, ponen de manifiesto la capacidad de los hongos para alterar y modificar las propiedades superficiales de los polímeros, lo que tiene implicaciones significativas en términos de su durabilidad y rendimiento a largo plazo.

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

**Figura 5.** Topografía 3D de la cara 1 de la superficie de LDPE con su perfil de rugosidad primario de a) control b) posterior a incubación por 30 días con FOCIC01.



**Figura 6.** Topografía 3D de la cara 2 de la superficie de LDPE con su perfil de rugosidad primario de a) control b) posterior a incubación por 30 días con FOCIC01



## 5.2 Análisis metabolómico no dirigido

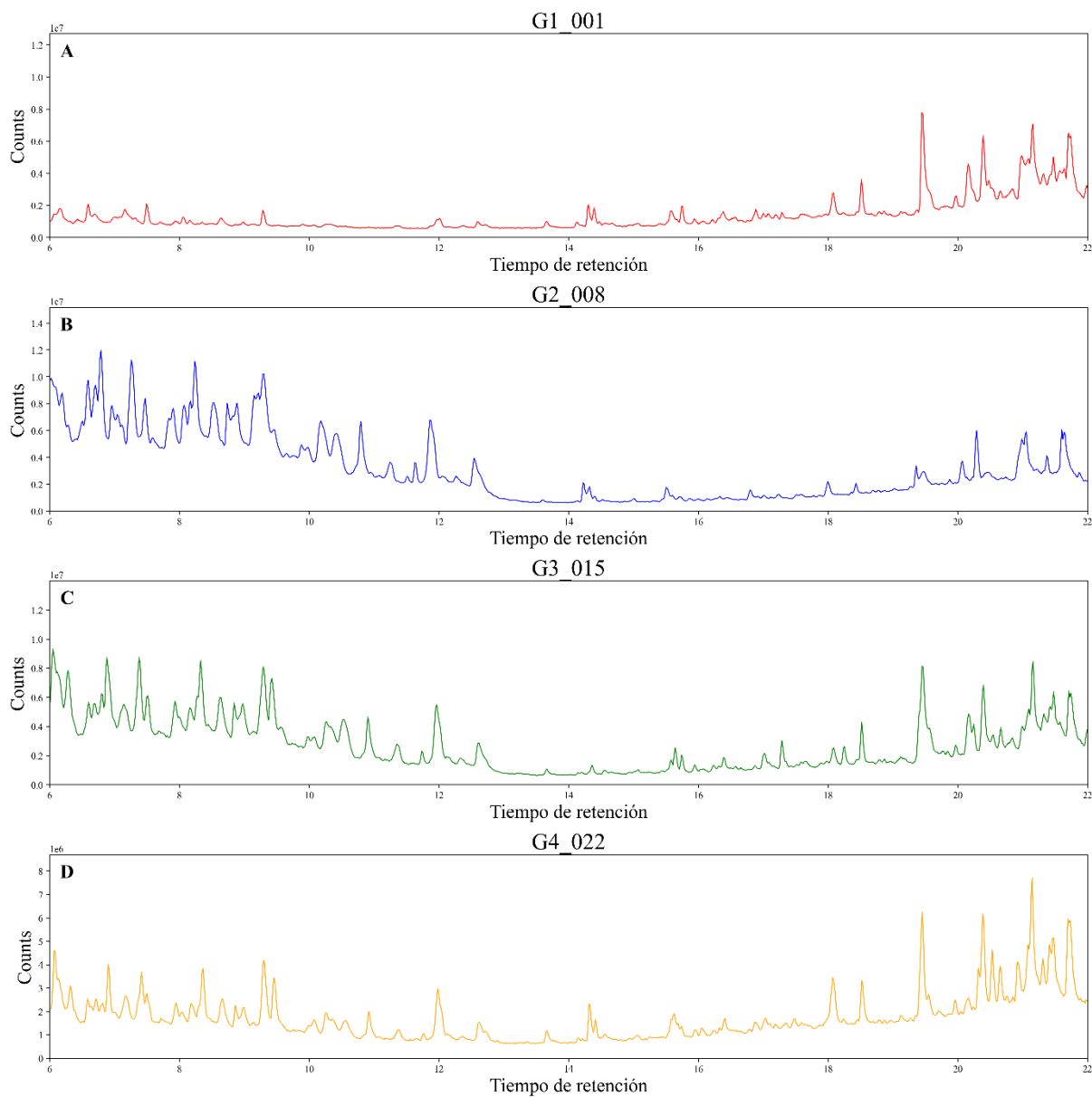
### 5.2.1 Análisis metabolómico no dirigido por RP-LC/MS-QTOF

En el análisis del perfil químico obtenido mediante RP-LC/MS-QTOF, se observó una disminución significativa de las señales en el rango de tiempo de retención de 3 a 11 minutos en el extracto del hongo FOCIC01 en presencia de polietileno de baja densidad (LDPE) (Figura 7a), en comparación con su respectivo control con glucosa (Figura 7b). Esta disminución sugiere que el hongo está alterando su metabolismo en respuesta al LDPE, lo que resulta en una menor producción o acumulación de ciertos metabolitos polares que suelen eluir primero en este rango de tiempo de retención (Witting et al., 2016; Xue et al., 2024). En presencia de LDPE, la actividad metabólica del hongo podría estar dirigida hacia rutas alternativas, posiblemente vinculadas a la biodegradación del polímero, en lugar de las rutas metabólicas comunes observadas en el control con glucosa. Estos cambios en la elución de los metabolitos reflejan una respuesta adaptativa del hongo, disminuyendo la producción de compuestos polares y ajustando su metabolismo para adaptarse a las condiciones del entorno con LDPE. Esta tendencia se observó en los perfiles químicos tanto en análisis por modo de adquisición de iones positivo como negativo.

Por otro lado, en el extracto del hongo FECIC02 en presencia de polietileno de baja densidad (LDPE) (Figura 7c), en comparación con el control con glucosa (Figura 7d), no se observaron los cambios en el perfil químico descritos anteriormente, lo que indica que la respuesta metabólica de FECIC02 no presenta alteraciones significativas a simple vista. Esta tendencia se observó en los perfiles químicos obtenidos tanto en análisis por modo de adquisición de iones positivo como negativo.

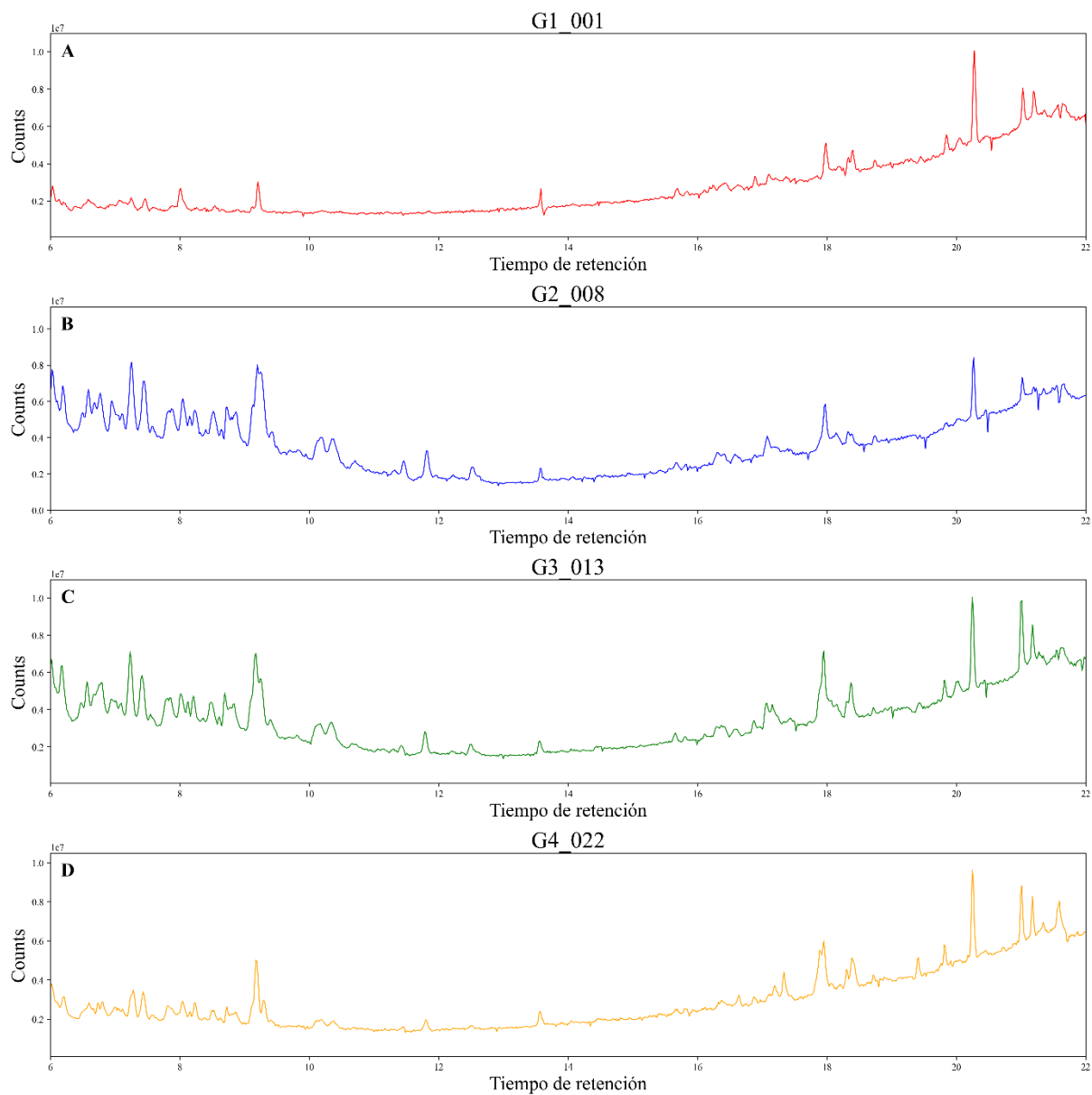
## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

**Figura 7.** Perfil cromatográfico del extracto metabólico evaluado por RP-LC/MS-QTOF en polaridad positiva: a) FOCIC01 con LDPE, b) FOCIC01 con glucosa (control), c) FECIC02 con LDPE, d) FECIC02 con glucosa (control)



## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

**Figura 8.** Perfil cromatográfico del extracto metabólico evaluado por RP-LC/MS-QTOF en polaridad negativa: a) FOCIC01 con LDPE, b) FOCIC01 con glucosa (control), c) FECIC02 con LDPE, d) FECIC02 con glucosa (control)



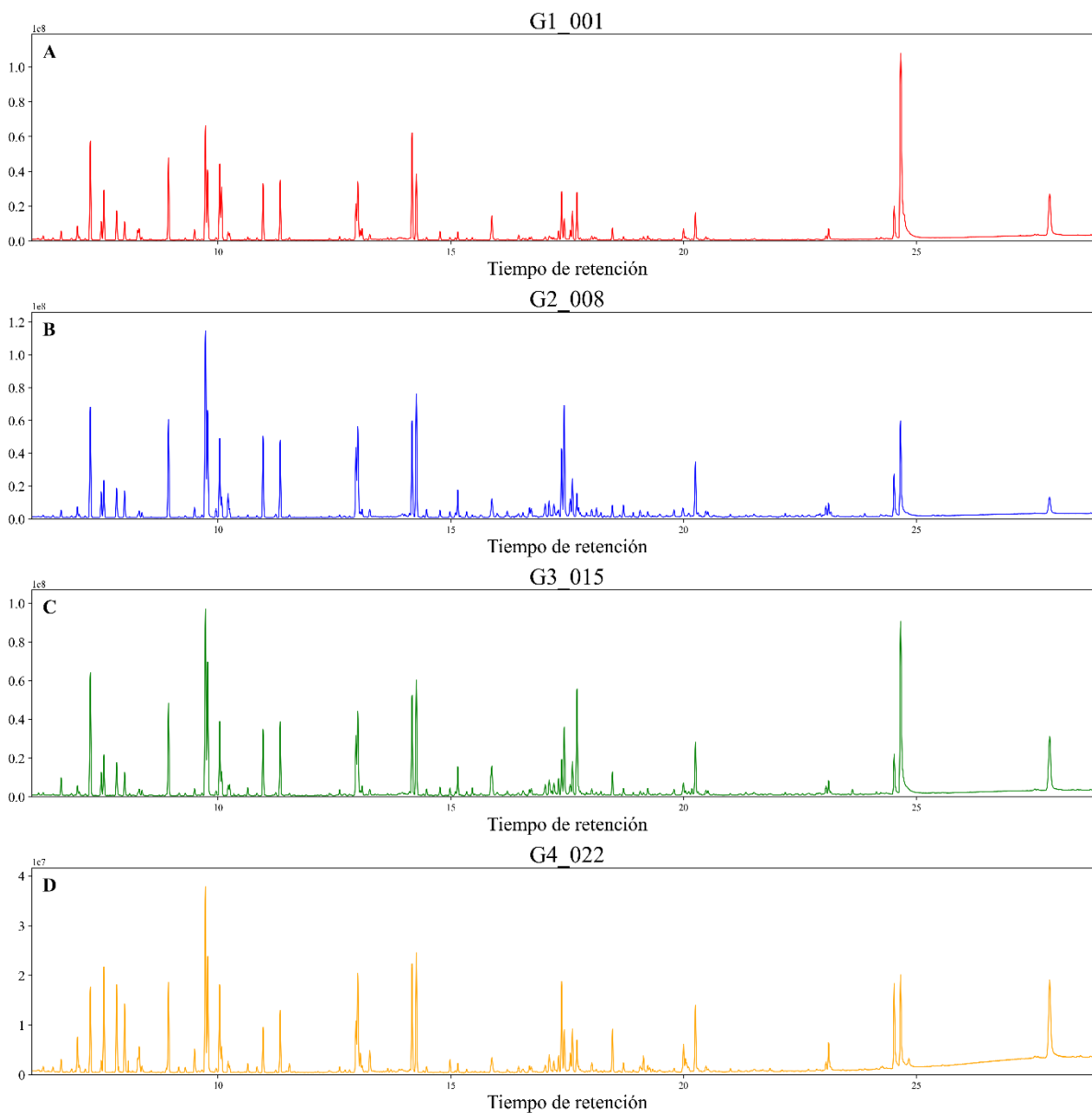
### 5.2.2 *Análisis metabolómico no dirigido GC-MS-QTOF*

En el análisis del perfil químico obtenido mediante GC-QTOF-MS, se observó una disminución en la intensidad de las señales a los tiempos de retención de 10, 13 y 25 minutos en el extracto del hongo FOCIC01 expuesto a polietileno de baja densidad (LDPE) (Figura 9a), en comparación con su respectivo control con glucosa (Figura 9b). Estos resultados sugieren que la presencia de LDPE induce alteraciones en la actividad metabólica del hongo, lo que lleva a una disminución en la producción o acumulación de ciertos metabolitos. Esta modificación en el perfil metabólico podría estar vinculada a la activación de rutas metabólicas alternativas, posiblemente asociadas con la biodegradación del polímero.

En contraste, el perfil químico del hongo FECIC02 no mostró cambios significativos, manteniéndose similar entre la muestra expuesta a LDPE y el control con glucosa (Figuras 9c y 9d). Esto indica que, en el caso de FECIC02, la exposición al LDPE no provoca alteraciones evidentes en la elución ni en la intensidad de los metabolitos.

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

**Figura 9.** Perfil cromatográfico del extracto metabólico evaluado por GC-QTOF-MS: a) FOCIC01 con LDPE, b) FOCIC01 con glucosa (control), c) FECIC02 con LDPE, d) FECIC02 con glucosa (control)



Previo a la identificación de los metabolitos diferenciales, se realizaron análisis de componentes principales (PCA) y Análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales con señal ortogonal (OPLS-DA) para evaluar la variabilidad y la capacidad discriminativa de las muestras.

### 5.2.3 *Análisis por componentes principales (PCA)*

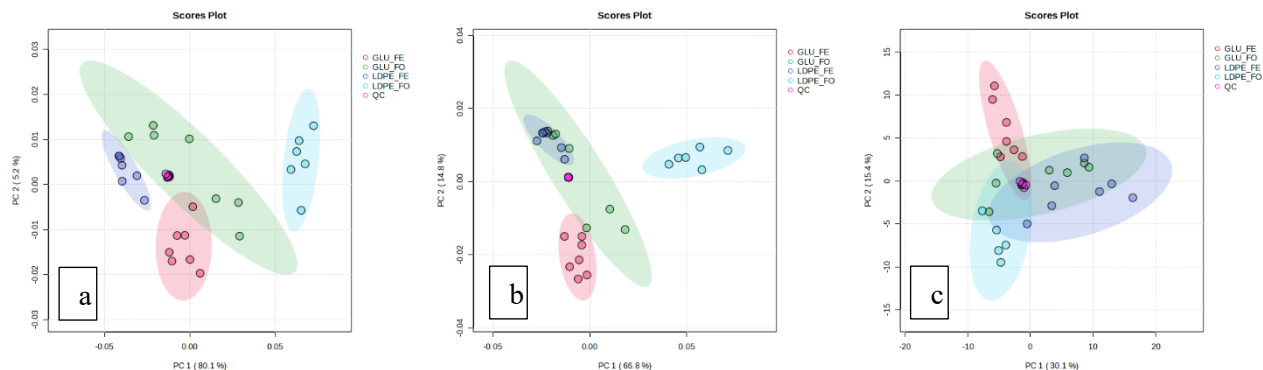
Posterior al proceso de deconvolución, alineamiento e integración, los cuales son pasos fundamentales para asegurar la precisión y reproducibilidad en los estudios metabolómicos, se realizó el análisis de componentes principales (PCA). Este análisis es fundamental para la reducción de dimensionalidad y la identificación de patrones en los datos. El PCA también juega un papel esencial en el control de calidad al verificar la consistencia y la fiabilidad de los datos obtenidos. Las muestras de control de calidad en los análisis garantizan que las diferencias significativas observadas entre los grupos de muestras reflejen verdaderos cambios en las intensidades de las características, y no sean resultado de errores aleatorios como problemas en la extracción de muestras, deficiencias en la corrida cromatográfica, o fallos técnicos. Para RP-LC/MS-QTOF, al agrupar las muestras en el PCA, se observó que las réplicas de la muestra de control de calidad (QC) mostraron una alta consistencia en ambos modos de adquisición (figura 10a y b). En modo positivo, el primer componente principal (PC1) explicó el 80,1% de la variabilidad en los datos, mientras que, en modo negativo, PC1 explicó el 66,8%. Estos altos porcentajes indican que el primer componente principal captura una gran parte de la variabilidad en los datos, facilitando así una identificación y semi-cuantificación de los metabolitos presentes y diferenciadores en los grupos de muestras analizadas. La alta proporción de variabilidad explicada por PC1 refuerza la validez de los resultados y confirma que las diferencias observadas son representativas y no producto de variaciones aleatorias.

Por otro lado, en el análisis realizado con GC-QTOF-MS, se observó una tendencia similar en el control de calidad (QC), con el primer componente principal (PC1) explicando el 30,1% de la variabilidad en los datos (figura 10c). Aunque este porcentaje es menor en

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

comparación con el PCA en las dos polaridades, sigue proporcionando información importante sobre la variabilidad de los datos.

**Figura 10.** *Análisis de componentes principales (PCA) del perfil químico de los extractos metabólicos de FOCIC01 y FECIC02 con LDPE, sus respectivos controles con glucosa y los controles de calidad (QC): a) RP-LC/MS-QTOF en modo positivo, b) RP-LC/MS-QTOF en modo negativo, c) GC-QTOF-MS*



### 5.2.4 Análisis discriminantes de mínimos cuadrados parciales de señal ortogonal (OPLS-DA)

Se empleó OPLS-DA para evaluar la separación y discriminación entre los perfiles metabólicos de los hongos FOCIC01 y FECIC02 en comparación con la glucosa, durante el proceso de biodegradación del polietileno de baja densidad (LDPE). Esta técnica permitió identificar los metabolitos diferenciales asociados con los cambios metabólicos específicos en presencia de LDPE, proporcionando una comprensión más profunda de los mecanismos de biodegradación involucrados. Los valores de  $R^2Y$  y  $Q^2$  evalúan la calidad y la capacidad predictiva de los modelos OPLS-DA.  $R^2Y$  representa la varianza explicada por el modelo, indicando qué tan bien el modelo puede describir los datos experimentales, mientras que  $Q^2$  mide la capacidad predictiva del modelo mediante validación cruzada. Valores de  $R^2Y$  y  $Q^2$  cercanos a 1 sugieren que el modelo no solo ajusta bien los datos, sino que también tiene un

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

alto poder predictivo y no está sobreajustado, lo cual garantiza que las conclusiones derivadas son robustas (Anwardeen et al., 2023; Geroldinger et al., 2023; Szymańska et al., 2012).

En los análisis de RP-LC/MS-QTOF en modo positivo, el hongo FOCIC01 mostró valores de  $R^2Y$  de 0,981 y  $Q^2$  de 0,951 (apéndice G), lo que indica que el modelo es altamente explicativo y predictivo, con una separación clara entre las muestras tratadas y los controles. De manera similar, FECIC02 presentó valores de  $R^2Y$  de 0,915 y  $Q^2$  de 0,97 (apéndice H), lo que refuerza la consistencia del modelo, respaldando la hipótesis de que la biodegradación del LDPE induce cambios metabólicos específicos en ambos hongos. En modo negativo, FOCIC01 mostró valores de  $R^2Y$  de 0,983 y  $Q^2$  de 0,961 (apéndice I), lo que sugiere un modelo aún más robusto y una separación más pronunciada entre los grupos. Por su parte, FECIC02 presentó un  $R^2Y$  de 0,984 y un  $Q^2$  de 0,934 (apéndice J), manteniendo la capacidad discriminatoria y predictiva, aunque ligeramente inferior a la observada en FOCIC01, lo que podría indicar diferencias sutiles en las rutas metabólicas activadas.

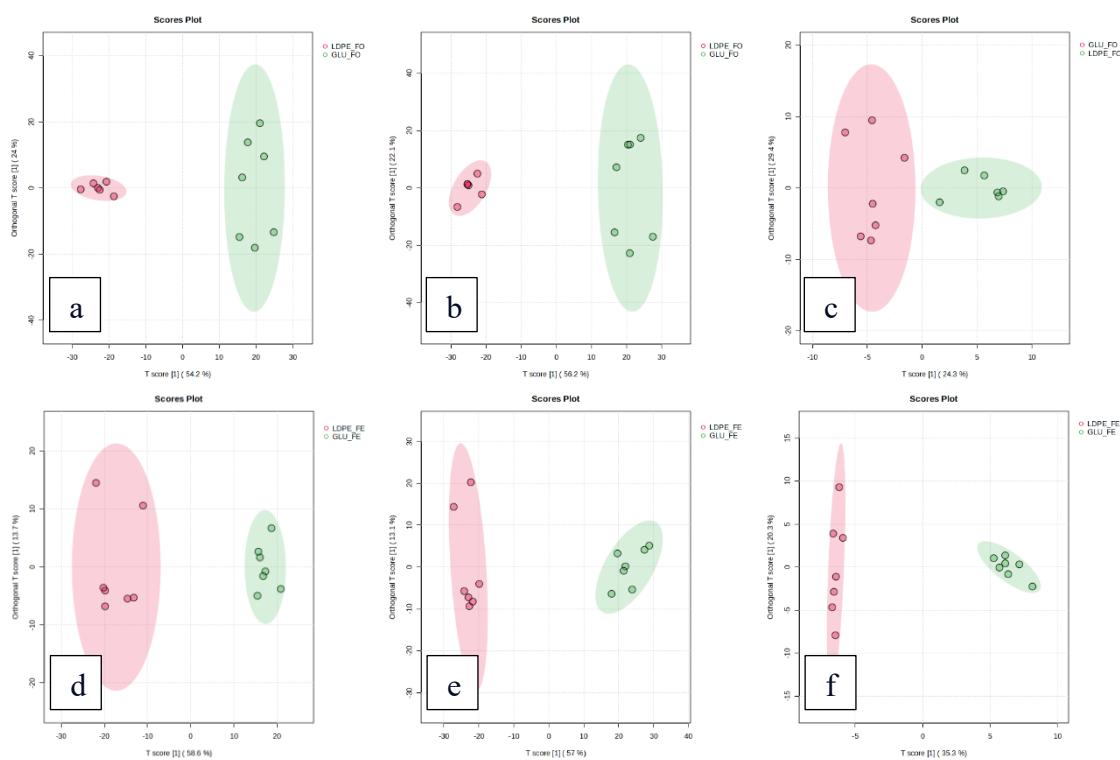
En el análisis por GC-QTOF-MS, los resultados para FOCIC01 mostraron valores de  $R^2Y$  de 0,886 y  $Q^2$  de 0,677 (apéndice K), lo que indica un modelo explicativo, aunque con una capacidad predictiva menor en comparación con los análisis de LC-MS, posiblemente debido a la menor sensibilidad de GC-MS o a la complejidad de los metabolitos detectados. Para FECIC02, se observó un  $R^2Y$  de 0,99 y un  $Q^2$  de 0,905 (apéndice L), lo que refleja un modelo altamente robusto y con buena capacidad predictiva. Los altos valores de  $R^2Y$  y  $Q^2$  en la mayoría de los casos validan la discriminación efectiva de los grupos y corroboran que los hongos alteran significativamente su metabolismo en respuesta a la presencia de LDPE. Esto facilita la identificación de metabolitos clave y potenciales rutas metabólicas implicadas

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

en la biodegradación del plástico, respaldando la hipótesis de que el LDPE induce un perfil metabólico diferencial durante su degradación.

**Figura 11.** Análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales de señal ortogonal (OPLS-DA) del perfil químico de FOCIC01 y FECIC02 con LDPE y sus controles con glucosa: a) FOCIC01 evaluado por RP-LC/MS-QTOF en modo positivo, b) FOCIC01 evaluado por RP-LC/MS-QTOF en modo negativo, c) FOCIC01 evaluado por GC-QTOF-MS, d) FECIC02 evaluado por RP-LC/MS-QTOF en modo positivo, e) FECIC02 evaluado por RP-LC/MS-QTOF en modo negativo, f) FECIC02 evaluado por GC-QTOF-MS.

### 5.2.5 Identificación de metabolitos inducidos e inhibidos



En el análisis metabólico mediante RP-LC/MS-QTOF, la selección de características metabólicas (relación  $m/z$ ) relevantes se basó en parámetros estadísticos que aseguraron la fiabilidad y relevancia biológica de los datos. El  $p$ -valor indicó la significancia estadística de las diferencias observadas, con valores menores a 0,01, lo cual indicó diferencias altamente significativas. El  $p$ -FDR (False Discovery rate) ajustó estos  $p$ -valores para controlar la tasa de descubrimientos falsos, reduciendo el riesgo de falsos positivos en

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

los análisis. El VIP (Variable importance in projection), con un valor superior a 1, identificó las variables más importantes en la discriminación de grupos dentro del modelo multivariado, identificando a aquellas que contribuyeron significativamente a la separación entre comparaciones.

Lo anterior permitió identificar 974 características en modo negativo, de las cuales se anotaron 53 metabolitos. En modo positivo, se detectaron 723 características, con 30 anotadas, reflejando la capacidad del método para determinar los metabolitos diferenciadores.

Para la identificación de metabolitos en GC-QTOF-MS, se emplearon las bibliotecas “Fiehn GC-MS Metabolomics RTL Library” (versión 2011), considerando la coincidencia de espectros de masas, tiempos de retención y/o índices de retención (RI) de FAMES o alcanos C7 a C20, lo que permitió identificar un total de 100 metabolitos.

Para evaluar los cambios metabólicos entre las comparaciones estudiadas (FOCIC01 vs. control y FECIC02 vs. control), se calculó el Fold change para cada metabolito, el cual midió el cambio relativo en la abundancia de un metabolito entre los grupos comparados. Un Fold change mayor o menor a 1 indicó un aumento o disminución significativa en la concentración del metabolito, proporcionando información sobre las alteraciones metabólicas inducidas durante la biodegradación de LDPE. Los resultados obtenidos se presentan en la tabla de material suplementario.

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

De manera general, los metabolitos identificados para el hongo FOCIC01 se presentan en la figura 12, donde se encontró que la mayor cantidad de metabolitos identificados pertenecían a la categoría de aminoácidos y péptidos (36 metabolitos), lo que subrayó la importancia de estos compuestos en su metabolismo celular y adaptación a diversas condiciones ambientales. Los aminoácidos, además de ser bloques fundamentales para la síntesis de proteínas, también desempeñaron un papel clave en la regulación del metabolismo energético y la respuesta a condiciones de estrés (Cabiscol et al., 2000; Hong et al., 2024; San-Millán, 2023). Aminoácidos como el glutamato participan en la regulación del ciclo del nitrógeno y en la asimilación de amonio, procesos esenciales en hongos cuando tienen bajas concentraciones de nutrientes (Li et al., 2022; Nelson & Cox, 2022). En estudios metabolómicos previos sobre hongos como *Fusarium verticillioides*, se observó que el glutamato puede actuar como depósitos de nitrógeno, liberando amoniaco cuando se necesitan átomos de nitrógeno para la síntesis de otros compuestos esenciales como otros aminoácidos o nucleótidos. Además, los aminoácidos como la fenilalanina es importante en la síntesis de metabolitos secundarios, como las micotoxinas, que juegan un papel crucial en la defensa del hongo frente a otros microorganismos y depredadores, como se ha reportado en estudios sobre *Aspergillus* y *Fusarium* (Kluger et al., 2015; Li et al., 2022).

Los glicerofosfolípidos (15 metabolitos) fueron otro grupo importante de metabolitos encontrados en FOCIC01. Estos lípidos no solo forman la base de las membranas celulares, sino que también participan en la señalización intracelular y en la adaptación a cambios ambientales, como el estrés osmótico (Tereshina et al., 2010; van Meer et al., 2008). Los estudios metabolómicos en *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida albicans* han demostrado que los hongos son capaces de modificar la composición de sus membranas lipídicas en

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

respuesta a cambios en la disponibilidad de nutrientes, lo que les permite mantener la integridad celular y resistir condiciones adversas (Mishra & Prasad, 1991; Prasad & Singh, 2013; Vanderwaeren et al., 2022).

Una mayor concentración de glicerofosfolípidos no solo refuerza la estructura de la membrana, sino que también optimiza la capacidad del hongo para responder a cambios ambientales, garantizando una adaptación más eficiente a condiciones adversas, como la falta de nutrientes o fluctuaciones osmóticas (Hishikawa et al., 2014). Además, estos lípidos son precursores de importantes moléculas señalizadoras, como el fosfatidilinositol, que regula diversas rutas metabólicas críticas para el crecimiento y la diferenciación celular. Por tanto, los glicerofosfolípidos no solo cumplen una función estructural, sino que también son esenciales para garantizar la supervivencia del hongo bajo diferentes condiciones ambientales (H. E. Brown et al., 2020; Hishikawa et al., 2014; Xia et al., 2019)

En cuanto a los carbohidratos y conjugados de carbohidratos (14 metabolitos), estos fueron esenciales para la generación de energía y para la estructura de la pared celular. Los hongos pueden descomponer polímeros complejos como el almidón o la celulosa en moléculas más simples, como la glucosa, maltosa y celobiosa, las cuales son procesadas a través de la glucólisis para producir ATP. Esto concuerda con estudios metabólicos en *Ustilago maydis*, donde se ha reportado la importancia de estos carbohidratos en la generación de energía y en la biosíntesis de la pared celular, proporcionando una barrera física esencial para la protección del hongo frente a su entorno (Nelson & Cox, 2022; Zamani et al., 2020)

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

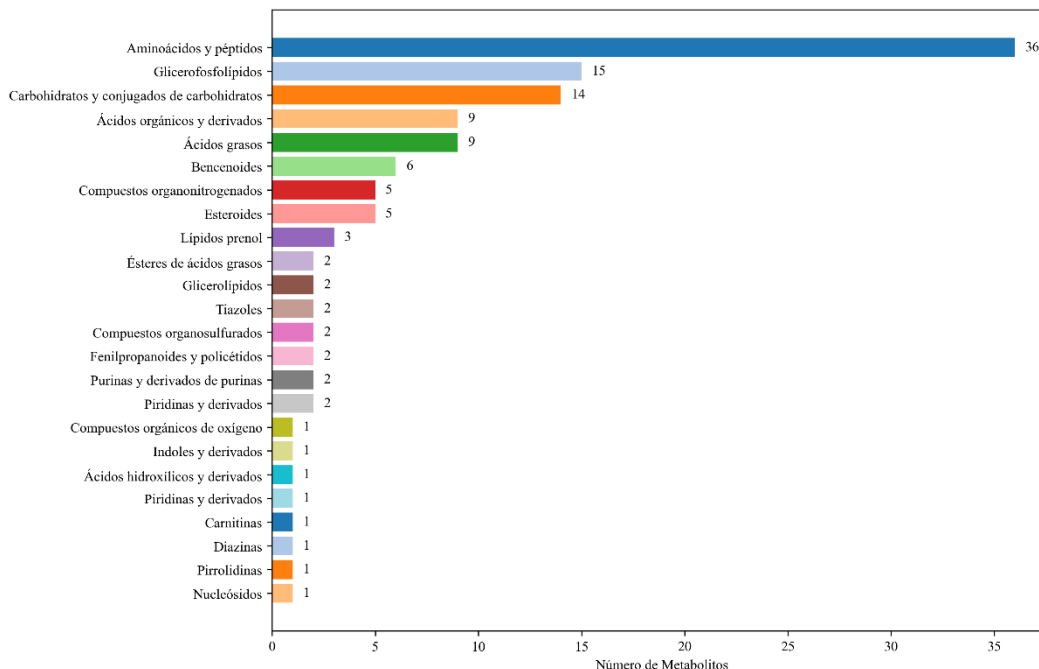
Los ácidos orgánicos y derivados (9 metabolitos), como el succinato, el fumarato y el oxaloacetato, son intermediarios clave del ciclo de Krebs. Este ciclo es la vía central para la oxidación de acetil-CoA, lo que resulta en la producción de NADH y FADH<sub>2</sub>, que luego alimentan la cadena de transporte de electrones para generar ATP. En situaciones de restricción de carbono, el ciclo del glioxilato se activa, permitiendo que el hongo sintetice precursores biosintéticos como el succinato sin la pérdida de carbono en forma de CO<sub>2</sub>, como se ha observado en estudios sobre hongos que crecen en condiciones limitadas de carbono (Chew et al., 2019; Nelson & Cox, 2022).

Los ácidos grasos (9 metabolitos) también desempeñan un papel crucial en la síntesis de lípidos de membrana y en la generación de energía mediante la  $\beta$ -oxidación. En donde se convierten los ácidos grasos en acetil-CoA, que luego entra en el ciclo de Krebs para la producción de ATP (Nelson & Cox, 2022). En estudios sobre *Candida albicans*, se ha observado que los hongos utilizan los ácidos grasos como una fuente de energía alternativa cuando la glucosa es limitada. Además, los ácidos grasos actúan como moléculas señalizadoras que regulan procesos importantes como la esporulación y la diferenciación celular (Ariza & Sánchez, 2012).

Por último, los compuestos organonitrogenados, los fenilpropanoides y policétidos, aunque presentes en menor proporción, son esenciales en la síntesis de ácidos nucleicos y en la regulación del metabolismo celular (Rodríguez-Valdovinos et al., 2024). En estudios sobre hongos productores de micotoxinas, como *Aspergillus* y *Fusarium*, se ha demostrado que estos metabolitos son clave en la defensa química del hongo, permitiéndoles competir eficazmente en su entorno (Kluger et al., 2015).

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

**Figura 12.** Distribución de metabolitos identificados por categorías químicas en FOCIC01 durante la biodegradación de LDPE.



En el caso de FECIC02, se observó que los aminoácidos y péptidos se encontraron en igual cantidad que en FOCIC01 (36 metabolitos), lo que subraya la importancia de estos compuestos en el metabolismo y adaptación celular (figura 13). Sin embargo, hubo una disminución significativa en los glicerofosfolípidos, que son esenciales no solo para la estructura y función de las membranas celulares, sino también para procesos críticos como la señalización intracelular y la adaptación al estrés, particularmente el estrés osmótico (Guerzoni et al., 2001; Hishikawa et al., 2014; Xia et al., 2019)

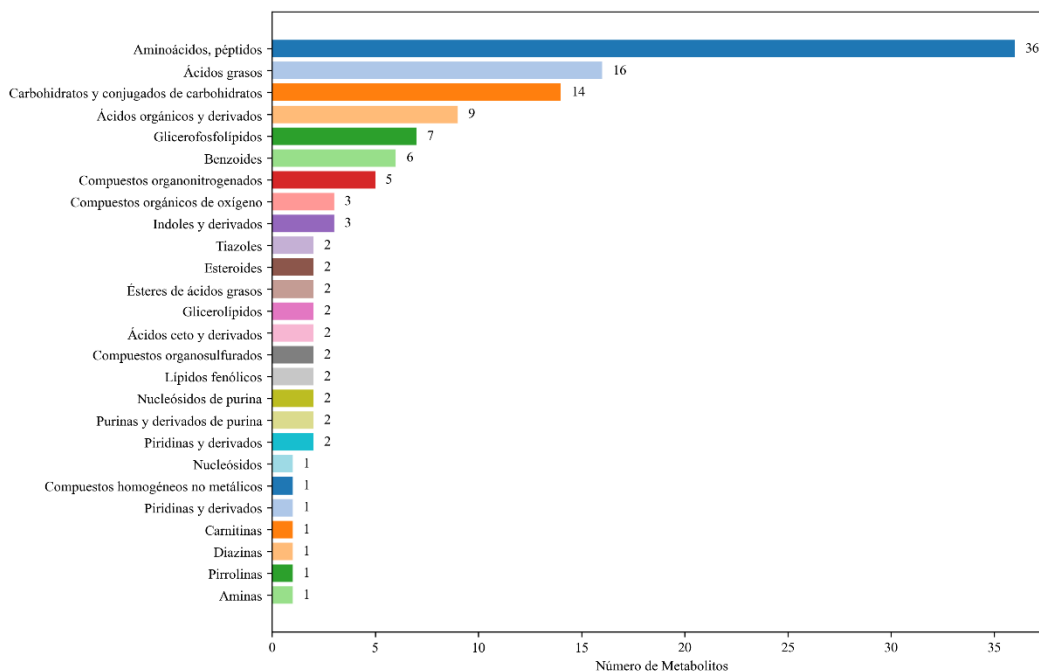
La reducción de los lípidos de membrana, especialmente aquellos involucrados en la señalización, como los glicerofosfolípidos, afecta directamente la capacidad de la célula para generar y transmitir señales internas. Estos lípidos actúan como precursores y mediadores en diversas rutas de señalización que regulan procesos celulares esenciales. Cuando esta señalización se ve comprometida, la célula pierde la capacidad de adaptarse a estímulos

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

externos, lo que puede interrumpir procesos clave como la proliferación y diferenciación celular, afectando negativamente el crecimiento del hongo (H. E. Brown et al., 2020; Xia et al., 2019).

En el caso de los hongos, la disminución de los glicerofosfolípidos también puede comprometer su capacidad para resistir condiciones de estrés, como la limitación de nutrientes o el estrés osmótico, debido a que la fluidez y organización de la membrana celular son fundamentales para mantener su homeostasis y funciones vitales (H. E. Brown et al., 2020; Hishikawa et al., 2014). Como resultado, estos cambios pueden tener un impacto negativo en la capacidad de crecimiento y supervivencia del hongo bajo condiciones adversas

**Figura 13.** Distribución de metabolitos identificados por categorías químicas en FECIC02 durante la biodegradación de LDPE.



### 5.3 Análisis rutas metabólicas

Se realizó un análisis de rutas metabólicas utilizando la plataforma MetaboAnalyst para identificar rutas relevantes en la biodegradación de polietileno de baja densidad (LDPE) por *Fusarium*. En este análisis, se emplearon códigos de metabolitos del Human Metabolome Database (HMDB) y se seleccionó la biblioteca de *Aspergillus flavus* en KEGG debido a la ausencia de una biblioteca específica para *Fusarium*. *Aspergillus flavus* fue elegido de referencia debido a que también ha sido estudiado en la biodegradación de materiales. Es relevante destacar que no todos los códigos HMDB pudieron ser identificados o mapeados en la base de datos de MetaboAnalyst.

Las rutas metabólicas identificadas se presentaron en función de los valores  $p$  obtenidos en el análisis de enriquecimiento de rutas los cuales reflejaron la significancia estadística de la asociación entre los metabolitos identificados y las rutas metabólicas. Se seleccionaron las rutas con un valor  $p < 0,05$ , que reflejan la significancia estadística de la asociación entre los metabolitos identificados y las rutas metabólicas.

#### 5.3.1 Perfil metabólico de FOCIC01

En el perfil metabólico de FOCIC01 se identificaron varias rutas metabólicas diferenciales, que se presentan de manera detallada en la tabla 3.

**Tabla 3.** Análisis de enriquecimiento de vías metabólicas con los metabolitos identificados en el micelio de FOCIC01 en LDPE

| Ruta metabólica    | Hits | p-valor        | Metabolitos identificados                                 |
|--------------------|------|----------------|---|
| Almidón y sacarosa | 5    | $4,8804e^{-4}$ | Cellobiosa; D-Fructosa; D-Glucosa; Maltosa;<br>Isomaltosa |

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

|  |   |                |   |
|--|---|----------------|---|
| Glutación  | 5 | $9,1649e^{-4}$ | Glicina; L-Glutamato; Ácido pídólico; L-Ornitina; Cis-Glicina     |
| Biosíntesis de otros metabolitos secundarios       | 2 | 0,0096763      | L-Fenilalanina; L-Triptófano                                      |
| Glioxilato y dicarboxilato                         | 3 | 0,015901       | Oxalato; Glicina; L-Glutamato; Succinato                          |
| Arginina y prolina                                 | 4 | 0,017753       | 4-Guanidinobutanoato; N-Acetilputrescina; L-Glutamato; L-Ornitina |
| Biosíntesis de arginina                            | 3 | 0,018462       | L-Glutamato; L-Ornitina; Fumarato                                 |
| Alanina, aspartato y glutamato                     | 3 | 0,031854       | L-Glutamato; Fumarato; Succinato                                  |
| Fenilalanina                                       | 2 | 0,039288       | L-Fenilalanina; 2-Fenilacetamida                                  |
| Biosíntesis de fenilalanina, tirosina y triptófano | 3 | 0,040037       | Indol; L-Triptófano; L-Fenilalanina                               |

Los resultados obtenidos sobre los cambios metabólicos ocurridos en el microorganismo permiten vincular el crecimiento de FOCIC01 sobre LDPE con las reservas energéticas acumuladas durante su fase inicial de desarrollo en medio PDA. Este medio, rico en carbohidratos derivados de la papa y azúcares simples como la dextrosa, proporcionó una fuente abundante de nutrientes y energía. En estas condiciones óptimas, el hongo absorbió glucosa, que fue almacenada en forma de glucógeno como reserva energética. Dichas reservas de glucógeno habrían sido cruciales para permitir la transición del hongo a un ambiente menos favorable, como el LDPE, ya que su estructura ramificada facilita una rápida movilización de glucosa en respuesta a las demandas energéticas (Ortega-Martínez et al., 2023).

#### ***4.4.1.1 Metabolismo del almidón y la sacarosa***

El metabolismo del almidón y la sacarosa es fundamental para hongos como *Fusarium*, ya que estos polisacáridos sirven como fuente primaria de carbono y energía, particularmente en ambientes ricos en materia orgánica. Estos carbohidratos complejos son degradados por enzimas como las amilasas y glucosidasas, que hidrolizan las cadenas de polisacáridos en unidades más simples, como maltosa y glucosa. Estas moléculas luego ingresan en vías catabólicas como la glucólisis y el ciclo de Krebs, maximizando la producción de ATP (Nelson & Cox, 2022). En este estudio, se observaron cambios significativos en estas rutas metabólicas clave, que sugieren un reajuste metabólico en el hongo en respuesta a las condiciones nutricionales contrastantes por la presencia del LDPE.

Por ejemplo, los metabolitos de la ruta del almidón y la sacarosa, como la D-fructosa, D-glucosa e isomaltosa, mostraron una regulación a la baja, con fold changes de 0,64, 0,63 y 0,26, respectivamente. En el caso de la celobiosa, que es un metabolito derivado de la celulosa y no del almidón o la sacarosa, también se observó una regulación a la baja con un fold change de 0,31. La disminución de la celobiosa sugiere una reducción en la actividad de la  $\beta$ -glucosidasa, una enzima crucial en la conversión de celobiosa en glucosa. Esto indica que el hongo está desviando sus recursos enzimáticos para abordar la degradación de compuestos derivados del LDPE, lo cual coincide con estudios previos que señalan que los microorganismos ajustan sus perfiles metabólicos en respuesta a sustratos no convencionales (Liu & Cao, 2014; Méndez-Líter et al., 2020). La menor disponibilidad de fuentes de carbono simples, como fructosa y glucosa, sugiere que algunos microorganismos recurren a rutas alternativas, como la  $\beta$ -oxidación y el ciclo del glioxilato, para adaptarse a estas condiciones. La  $\beta$ -oxidación es esencial en estos casos, ya que permite la degradación de ácidos grasos en

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

unidades de acetil-CoA, que pueden entrar en el ciclo de Krebs para generar energía en forma de ATP y producir poder reductor (NADH y FADH<sub>2</sub>), necesario para el crecimiento y mantenimiento celular (Nelson & Cox, 2021).

La disponibilidad limitada de fuentes de carbono simples, como fructosa y glucosa, sugiere que ciertos hongos activan rutas metabólicas alternativas, como la  $\beta$ -oxidación y el ciclo del glioxilato, para adaptarse a estas condiciones. La  $\beta$ -oxidación permite la degradación de ácidos grasos en unidades de acetil-CoA, que luego ingresan al ciclo de Krebs para la producción de ATP y poder reductor (NADH y FADH<sub>2</sub>), esenciales para el crecimiento y mantenimiento celular (Nelson & Cox, 2021).

El ciclo del glioxilato, en cambio, cumple una función crucial al complementar el ciclo de Krebs en situaciones de carbono limitado, al permitir que el hongo conserve el carbono disponible evitando la descarboxilación. Esto significa que, en lugar de perder carbono como CO<sub>2</sub>, el ciclo del glioxilato convierte el acetil-CoA en intermediarios como succinato y malato. Estos intermediarios pueden desviarse hacia la gluconeogénesis para la síntesis de glucosa, proceso que resulta esencial para la biosíntesis de componentes celulares y el mantenimiento de las funciones vitales en condiciones de escasez de carbohidratos (Chew et al., 2019). Este ciclo es particularmente ventajoso en hongos que degradan compuestos complejos, ya que permite aprovechar el acetil-CoA derivado de ácidos grasos no solo para obtener energía, sino también para conservar carbono y mantener el metabolismo celular. Así, el ciclo del glioxilato facilita la adaptación del hongo al convertir eficientemente los productos de la  $\beta$ -oxidación en glucosa y otros precursores biosintéticos esenciales. Este ciclo permite que el hongo utilice los subproductos de manera óptima, maximizando la

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

conservación de carbono y garantizando un suministro continuo de glucosa para la proliferación celular y el crecimiento, incluso en entornos con escasez de carbohidratos (Huang et al., 2023).

En particular, la disminución de la isomaltosa (fold change de 0,26) refleja una posible reducción en su disponibilidad o un aumento en su consumo, lo que sugiere un cambio en las prioridades metabólicas del hongo hacia rutas que no dependen de este disacárido. Este reajuste metabólico podría estar favoreciendo la activación de rutas alternativas, como la  $\beta$ -oxidación y el ciclo del glioxilato, procesos que son esenciales para metabolizar fuentes de carbono alternativas y mantener la homeostasis energética en condiciones desfavorables (Chew et al., 2019; Deng et al., 2023; Huang et al., 2023). Estudios han demostrado que la activación del ciclo del glioxilato en hongos filamentosos es crucial para la adaptación a la limitación de carbono, permitiendo la síntesis de metabolitos esenciales y asegurando la continuidad de procesos biosintéticos fundamentales (Chew et al., 2019; Kerkaert & Huberman, 2023).

En contraste con la disminución de estos metabolitos, la maltosa mostró un aumento significativo (fold change de 1,29), lo que puede interpretarse como un mecanismo de acumulación, posiblemente debido a la inhibición de su conversión a glucosa. La maltosa, un disacárido compuesto por dos moléculas de glucosa, se forma durante la degradación del almidón y el glucógeno. Su aumento sugiere que el hongo está movilizando sus reservas internas de glucógeno, lo que es coherente con su uso como fuente de energía en condiciones de estrés. Durante la glucogenólisis, el glucógeno se descompone mediante la glucógeno fosforilasa, liberando glucosa-1-fosfato; sin embargo, en las ramificaciones del glucógeno,

los enlaces alfa-1,6 liberan disacáridos como la maltosa, que luego es convertida en glucosa por la maltasa para alimentar la glucólisis y la producción de energía (Méndez-Líter et al., 2020; Ortega-Martínez et al., 2023). Este mecanismo de acumulación y utilización de maltosa en respuesta a la limitación de fuentes de carbono ha sido reportado en otros estudios sobre hongos (Xiong et al., 2017).

#### ***4.4.1.2 Metabolismo del glutatión***

El glutatión, un tripéptido compuesto por glutamato, cisteína y glicina, es fundamental en la respuesta antioxidante de los hongos. Actúa como un antioxidante endógeno que neutraliza las especies reactivas de oxígeno (ROS), permitiendo al hongo mantener la homeostasis redox en condiciones adversas y protegiendo las células frente al estrés oxidativo (Nelson & Cox, 2022). Además, participa en reacciones de conjugación y detoxificación, siendo esencial en la defensa celular contra el daño oxidativo.

Durante la respiración aeróbica, los microorganismos consumen oxígeno molecular para la generación de energía. Sin embargo, este proceso puede conducir a la producción de ROS a través de la reducción univalente secuencial del oxígeno molecular, catalizada principalmente por enzimas de la cadena respiratoria asociadas a la membrana y por la transferencia de electrones mitocondriales (Cabisco et al., 2000). La acumulación de ROS intracelulares como oxígeno singlete, superóxido, peróxido de hidrógeno y radical hidroxilo puede causar daños oxidativos a lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, resultando en toxicidad oxidativa, envejecimiento celular, mutaciones y muerte celular (Imlay, 2015; Lia et al., 2018).

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

Para protegerse de este daño, los microorganismos han desarrollado diversos mecanismos de defensa contra el estrés oxidativo. Estos incluyen la reducción de la generación de ROS, su degradación y eliminación, el refuerzo de posibles objetivos de ataque y la reparación de daños oxidativos. El glutatión juega un papel central en estos procesos, ayudando a mantener la integridad celular y la función óptima de los sistemas biológicos (Cabiscol et al., 2000; Nelson & Cox, 2022).

En este estudio, se observaron alteraciones significativas en varios metabolitos relacionados con el metabolismo del glutatión durante la exposición de *Fusarium* al LDPE. La glicina mostró una reducción notable (fold change de 0,55), lo que indica un aumento en su utilización como precursor para la síntesis de glutatión. Esta disminución en la disponibilidad de glicina sugiere una demanda elevada de este aminoácido para combatir el incremento de ROS producido durante la degradación del plástico. Este hallazgo es coherente con investigaciones que resaltan la importancia de la glicina en la respuesta antioxidante bajo condiciones de estrés oxidativo (Breitenbach et al., 2015; Yang et al., 2022).

Asimismo, el L-glutamato, otro precursor esencial del glutatión, presentó una leve disminución (fold change de 0,86). Esto sugiere que el hongo está desviando sus recursos metabólicos hacia la síntesis de glutatión para fortalecer su defensa antioxidante. El glutamato es fundamental no solo en la síntesis de glutatión, sino también en el metabolismo general del nitrógeno y en la síntesis de otros aminoácidos (Nelson & Cox, 2021). Estudios anteriores han demostrado que, en presencia de estrés oxidativo, los hongos ajustan sus rutas metabólicas para priorizar la producción de glutatión, ayudando a mantener el equilibrio redox y minimizando el daño celular (Chew et al., 2019; Grant, 2001).

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

El aumento significativo en los niveles de ácido pirrolidónico (fold change de 2,08) indica un ciclo acelerado de reciclaje del glutatión. El ácido pirrolidónico, también conocido como ácido pirrolidona carboxílico, es un intermediario en la degradación del glutatión y otros péptidos (Meister & Anderson, 1983). Su acumulación sugiere que el hongo está reciclando activamente este antioxidante para manejar los efectos del estrés oxidativo causado por los subproductos del LDPE. Esta respuesta es consistente con la activación de mecanismos de reciclaje de glutatión observados en otros organismos bajo condiciones de estrés ambiental (Liaud et al., 2014; Xiong et al., 2017).

La L-ornitina también mostró una reducción significativa (fold change de 0,56), lo que podría estar relacionado con una disminución en la síntesis de poliaminas, compuestos involucrados en la respuesta al estrés y el crecimiento celular. Las poliaminas, como la putrescina, espermidina y espermina, derivan de la ornitina y están implicadas en la estabilización de ácidos nucleicos y membranas celulares (Valdés-Santiago & Ruiz-Herrera, 2014). En condiciones de estrés oxidativo severo, es común que los hongos prioricen la defensa antioxidante sobre procesos de crecimiento como la biosíntesis de poliaminas (Breitenbach et al., 2015).

Por último, la disminución de Cys-Gly (fold change de 0,41), un dipéptido intermediario en la degradación del glutatión, refuerza la hipótesis de que el hongo está utilizando activamente el glutatión para neutralizar las ROS generadas durante la degradación del LDPE. La reducción de este metabolito sugiere un agotamiento de las reservas de glutatión para mantener una respuesta antioxidante eficaz (Chew et al., 2019; Yang et al., 2022).

#### 4.4.1.3 Biosíntesis de otros metabolitos secundarios

El aumento significativo en los niveles de L-fenilalanina (fold change de 2,67) indica una activación de la ruta del ácido shikímico, fundamental en la biosíntesis de aminoácidos aromáticos en microorganismos, plantas y hongos. Esta ruta metabólica conduce a la formación de fenilpropanoides, compuestos secundarios derivados de la fenilalanina que poseen propiedades antioxidantes y antimicrobianas (Herrmann & Weaver, 1999). En hongos como *Fusarium*, la producción de fenilpropanoides es crucial para la adaptación a ambientes hostiles, ya que estos compuestos permiten mitigar los efectos del estrés oxidativo inducido por la degradación del plástico LDPE (Breitenbach et al., 2015; Chew et al., 2019).

Los fenilpropanoides actúan como eliminadores de radicales libres y pueden fortalecer las defensas antioxidantes del hongo, protegiendo las estructuras celulares del daño oxidativo. Además, participan en la formación de compuestos estructurales como lignina y melanina, que contribuyen a la integridad celular y a la resistencia frente a factores ambientales adversos (Sharma et al., 2019).

De manera similar, el incremento en los niveles de L-triptófano (fold change de 1,84) sugiere una activación de rutas metabólicas relacionadas con la síntesis de compuestos derivados del indol. El triptófano es un precursor clave en la biosíntesis de diversas moléculas bioactivas, como alcaloides indólicos, melatonina y ácido indolacético, que desempeñan funciones importantes en la regulación del crecimiento, la respuesta al estrés y la defensa antioxidante (Tzin & Galili, 2010). En hongos, estos compuestos pueden actuar como antioxidantes, fitohormonas y moléculas señalizadoras que facilitan la adaptación al estrés ambiental (Liu & Cao, 2014; Xiong et al., 2017).

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

La activación de estas rutas metabólicas secundarias podría estar relacionada con la necesidad del hongo de generar moléculas que contrarresten el estrés oxidativo asociado con la degradación del LDPE. La producción de metabolitos secundarios antioxidantes, como fenilpropanoides y alcaloides indólicos, es una respuesta común en organismos expuestos a condiciones adversas y ha sido reportada como un mecanismo de adaptación y supervivencia (Hu et al., 2021; Sharma et al., 2019).

Además, el incremento en aminoácidos aromáticos como la fenilalanina y el triptófano puede estar asociado con una regulación metabólica que favorece la síntesis de proteínas y enzimas antioxidantes, incluyendo peroxidasas y catalasas. Estas enzimas son esenciales para neutralizar las especies reactivas de oxígeno (ROS) y mantener la homeostasis redox (Breitenbach et al., 2015; Cabicol et al., 2000). La activación de la ruta del ácido shikímico y la acumulación de estos aminoácidos sugieren una respuesta coordinada del hongo para fortalecer sus defensas antioxidantes y protegerse del daño celular causado por el estrés oxidativo.

### ***4.4.1.4 Metabolismo del glioxilato y el dicarboxilato***

El ciclo del glioxilato es una ruta metabólica complementaria al ciclo del ácido cítrico (ciclo de Krebs) que permite a microorganismos como hongos, bacterias y vegetación convertir sustancias de carbono básico, incluidos ácidos grasos y moléculas de dos carbonos, cuando las fuentes energéticas comunes, como la glucosa, son limitadas o no están disponibles (Dunn et al. ., 2009. Eastmond y Graham, 2001). Esta vía es crucial para producir carbohidratos a partir de acetil-CoA, apoyar la gluconeogénesis y crear sustancias necesarias para el crecimiento y la supervivencia generando glucosa y otros precursores necesarios para

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

la biosíntesis de moléculas complejas y la producción de energía (Breitenbach et al., 2015; Chew et al., 2019). (Lorenz & Fink, 2001). Strijbis & Distel, 2010). .

La  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos es la principal fuente de acetil-CoA para el ciclo del glioxilato. En este estudio, aunque no fue posible realizar un análisis detallado de ácidos grasos mediante MetaboAnalyst debido a limitaciones en la identificación, se observó un aumento en varios metabolitos derivados de lípidos o relacionados con el metabolismo de ácidos grasos.

Entre estos metabolitos destaca el ácido 13-hidroxiocetadecadienoico (13-HODE), que presentó un fold change de 4,13. El 13-HODE es un ácido graso hidroxilado derivado del ácido linoleico, involucrado en la señalización celular y en rutas oxidativas de ácidos grasos (Kühn & O'Donnell, 2006). Asimismo, se observó un incremento en el ácido linoleico (fold change de 2,88); este ácido graso poliinsaturado esencial puede ser metabolizado vía  $\beta$ -oxidación para generar acetil-CoA (Nelson & Cox, 2022).

Otro metabolito de interés es el ácido dimorfecólico, que mostró un fold change de 3,60. Se trata de un ácido graso inusual que puede ser sometido a  $\beta$ -oxidación tras modificaciones previas (Napier, 2007). Además, se detectó un aumento en lisofosfolípidos como LPE 18:2, con fold changes de 4,89 y 4,68 para dos isómeros, y LPC 18:2, con fold changes de 10,53 y 5,44 para dos isómeros. Estos lisofosfolípidos pueden liberar ácidos grasos poliinsaturados como el ácido linoleico y el ácido oleico tras hidrólisis, alimentando así la  $\beta$ -oxidación (van Meer et al., 2008).

Finalmente, la 13-docosenamida (erucamida) presentó un notable fold change de 13,68. La erucamida es una amida de ácido graso derivada del ácido erúcico (C22:1) y se

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

utiliza ampliamente como agente deslizante en la fabricación de plásticos, especialmente en películas de polietileno de baja densidad (LDPE), para reducir la fricción y mejorar las propiedades de procesamiento (Getachew et al., 2016). Dado su elevado fold change y su alta concentración en LDPE, es plausible que la erucamida esté siendo utilizada por el hongo como fuente de carbono y energía. La hidrólisis de la erucamida liberaría ácido erúico, el cual puede ser sometido a  $\beta$ -oxidación para producir acetil-CoA (Aguilar et al., 2017).

El incremento en estos metabolitos sugiere que el hongo está intensificando el catabolismo de lípidos, posiblemente utilizando ácidos grasos liberados de su propio metabolismo de membranas o del medio ambiente, incluyendo aditivos del plástico como la erucamida. Esto proporcionaría unidades de acetil-CoA a través de la  $\beta$ -oxidación, alimentando el ciclo del glioxilato y permitiendo al hongo generar energía y precursores biosintéticos en condiciones de limitación de glucosa.

Por otro lado, se observó una disminución en el Glyceryl Monostearate (fold change de 0,89), lo que indica su posible utilización como fuente de energía mediante su conversión en ácidos grasos y glicerol, que luego pueden entrar en rutas metabólicas como la  $\beta$ -oxidación y la gluconeogénesis.

En cuanto al oxalato, un metabolito clave en el ciclo del glioxilato, mostró una reducción moderada (fold change de 0,81). El oxalato desempeña un papel en la detoxificación y puede ser excretado para manejar subproductos metabólicos. Su disminución puede estar asociada con un incremento en su utilización dentro del ciclo del glioxilato, apoyando la adaptación del hongo en ambientes con recursos limitados de carbono (Dutton & Evans, 2011).

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

La glicina, involucrada en el ciclo del glioxilato y en la síntesis de glutatión, disminuyó significativamente (fold change de 0,55). Esto sugiere que el hongo está redirigiendo glicina hacia la biosíntesis de compuestos antioxidantes, en respuesta al estrés oxidativo inducido por la degradación de plásticos (Abba' et al., 2007; Chew et al., 2019).

El L-glutamato mostró una ligera disminución (fold change de 0,86). Dado su papel central en el metabolismo del nitrógeno y como precursor de aminoácidos y compuestos antioxidantes, su reducción puede indicar una mayor demanda en procesos de adaptación al estrés (Liu & Cao, 2014; Nelson & Cox, 2022).

El succinato, un intermediario crucial tanto en el ciclo del ácido cítrico como en el ciclo del glioxilato, exhibió un leve aumento (fold change de 1,04). El succinato desempeña un papel fundamental en la respiración celular, ya que es oxidado a fumarato por el complejo II (succinato deshidrogenasa) de la cadena de transporte de electrones en la mitocondria, contribuyendo a la generación de ATP (Nelson & Cox, 2022). Si el complejo II se ve afectado, como podría ocurrir en condiciones de estrés oxidativo intenso o debido a la presencia de compuestos tóxicos generados durante la degradación del LDPE, la oxidación del succinato podría disminuir, llevando a su acumulación y a una reducción en la eficiencia de la cadena de transporte de electrones (Bénit et al., 2022).

Una afectación del complejo II puede resultar en un incremento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), ya que los electrones pueden escapar y reaccionar con el oxígeno molecular para formar radicales superóxido (Quinlan et al., 2012). El aumento de ROS puede exacerbar el estrés oxidativo, obligando al hongo a intensificar sus defensas antioxidantes. Por lo tanto, el leve incremento en el succinato podría ser indicativo de una

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

alteración en la actividad del complejo II, contribuyendo a una mayor generación de ROS y a una respuesta adaptativa del hongo para mitigar el daño oxidativo.

### ***4.4.1.5 Metabolismo de la arginina y la prolina***

El metabolismo de la arginina y la prolina son importantes para que los hongos produzcan aminoácidos, controlen el crecimiento y manejen sustancias tóxicas. Estas vías metabólicas no solo son vitales para la proliferación y maduración celular, sino que también son esenciales para permitir la adaptación a circunstancias ambientales desafiantes (Liang et al., 2013; Szabados & Savouré, 2010).

La arginina y la prolina están interconectadas a través de una serie de transformaciones que facilitan su síntesis y degradación, desempeñando un papel crucial en múltiples rutas metabólicas (Takagi, 2008).

La prolina sirve como protección contra la presión osmótica y como agente defensivo contra la oxidación, ayudando a los hongos en ambientes duraderos de estrés osmótico y oxidativo (Chen & Dickman, 2005, Liang et al., 2013). Esto ayuda al hongo a mantenerse estable y adaptarse (Branduardi y otros, 2004). La prolina, se sintetiza a partir del glutamato y puede convertirse de nuevo en glutamato a través de su degradación. Este ciclo es importante en la regeneración de intermediarios del ciclo del ácido cítrico y en la producción de energía. Además, la prolina juega un papel crucial en la respuesta celular al estrés, ya que su acumulación es común en situaciones de estrés osmótico y oxidativo, actuando como osmoprotector y antioxidante (Kavi Kishor et al., 2022; Majumdar et al., 2016).

En este caso, se observó una reducción significativa en el nivel de 4-guanidinobutanoato (fold change de 0,11). Este compuesto es un intermediario en la

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

degradación de la arginina hacia  $\gamma$ -aminobutirato (GABA), que en microorganismos actúa como una molécula señal en respuestas al estrés y como intermediario en la producción de energía y antioxidantes (Shelp et al., 1999). La disminución del 4-guanidinobutanoato sugiere que el hongo podría estar reduciendo la degradación de arginina para conservar este aminoácido para funciones esenciales, como la síntesis de proteínas (Fancy et al., 2017).

Asimismo, la N-acetilputrescina mostró una disminución significativa (fold change de 0,20). Este metabolito es un intermediario en la biosíntesis de poliaminas como la putrescina, la espermidina y la espermina, que son esenciales para la estabilización de membranas, la regulación del crecimiento celular y la respuesta al estrés (Kusano et al., 2008). La reducción en los niveles de N-acetilputrescina puede indicar una disminución en la síntesis de poliaminas, lo cual es coherente con estudios que demuestran que, en condiciones de estrés oxidativo, los hongos desvían sus recursos metabólicos desde procesos de crecimiento hacia mecanismos de defensa antioxidante (Sharma et al., 2019). Esta adaptación metabólica podría ser crucial para sobrevivir en un ambiente donde el LDPE es la principal fuente de carbono y donde el estrés oxidativo puede ser elevado debido a la generación de especies reactivas de oxígeno durante la degradación del polímero.

Por último, la L-ornitina presentó una disminución moderada (fold change de 0,56). La ornitina es un precursor clave en la biosíntesis de arginina y en el ciclo de la urea, desempeñando un papel vital en el metabolismo del nitrógeno (Wu & Morris, 1998). Según Lehninger, la ornitina también es un intermediario en la producción de prolina, que se sintetiza a partir del glutamato. La reducción en los niveles de ornitina sugiere una menor disponibilidad para la síntesis de arginina y prolina, posiblemente debido a su utilización en

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

otras rutas metabólicas activadas durante el estrés (Nelson & Cox, 2022)(Szabados & Savouré, 2010). Es posible que la reducción en los niveles de ornitina indique su utilización en otras rutas metabólicas o una limitación en su síntesis, lo que podría afectar la disponibilidad de arginina y, por ende, impactar en procesos esenciales como la producción de óxido nítrico y la respuesta al estrés.

### ***4.4.1.6 Biosíntesis de arginina***

La biosíntesis de arginina es esencial para la supervivencia, crecimiento y adaptación de los hongos frente al estrés oxidativo y la limitación de nutrientes. La arginina es un aminoácido básico que desempeña múltiples funciones en el metabolismo celular, incluyendo la síntesis de proteínas, la detoxificación del amonio a través del ciclo de la urea y como precursor de moléculas señalizadoras como el óxido nítrico (NO) (Wu & Morris, 1998).

En nuestro estudio, se observó una ligera disminución en los niveles de L-glutamato (fold change 0,86). El L-glutamato es un aminoácido central en el metabolismo celular, actuando como un punto clave en la transferencia de nitrógeno a través de reacciones de transaminación y como precursor en la síntesis de otros aminoácidos, incluyendo la arginina y la prolina (Nelson & Cox, 2022). En la biosíntesis de arginina, el L-glutamato se convierte en N-acetilglutamato, iniciando una serie de reacciones que culminan en la formación de arginina. La disminución de L-glutamato sugiere que está siendo utilizado activamente en estas rutas biosintéticas y en la producción de compuestos antioxidantes como el glutatión, lo cual es crucial para contrarrestar el estrés oxidativo (Culbertson et al., 2007).

Por otro lado, el fumarato presentó un aumento significativo (fold change 2,06). El fumarato es un intermediario clave en el ciclo del ácido tricarboxílico (TCA), esencial para

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

la producción de energía en forma de ATP mediante la oxidación de acetyl-CoA (Nelson & Cox, 2022). El incremento en los niveles de fumarato sugiere una activación del ciclo del TCA, indicando una mayor actividad catabólica para satisfacer las demandas energéticas adicionales que implica la degradación de compuestos como el LDPE. Además, el fumarato es producido durante el ciclo de la urea en la conversión de argininosuccinato a arginina y fumarato por la enzima argininosuccinato liasa, conectando así la biosíntesis de arginina con el ciclo energético (Majumdar et al., 2016).

#### ***4.4.1.7 Metabolismo de la alanina, el aspartato y el glutamato***

Estas rutas metabólicas son fundamentales para la regulación del ciclo del nitrógeno y la producción de energía. Los aminoácidos alanina, aspartato y glutamato están interconectados a través de reacciones de transaminación, que permiten la transferencia de grupos amino y el equilibrio del metabolismo nitrogenado (Nelson & Cox, 2022).

El L-glutamato actúa como principal donador de grupos amino en reacciones de transaminación catalizadas por aminotransferasas. Por ejemplo, la alanina aminotransferasa transfiere el grupo amino del glutamato al piruvato para formar alanina y  $\alpha$ -cetoglutarato. De manera similar, la aspartato aminotransferasa transfiere el grupo amino del glutamato al oxaloacetato para formar aspartato y  $\alpha$ -cetoglutarato. La leve disminución del L-glutamato (fold change 0,86) sugiere un uso intensificado en estas reacciones para sintetizar aminoácidos esenciales y compuestos necesarios para la adaptación al estrés oxidativo (Forde & Lea, 2007).

El aumento significativo del fumarato (fold change 2,06) también es relevante. En el metabolismo del aspartato, el fumarato se genera durante la conversión de argininosuccinato

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

a arginina en el ciclo de la urea. Este fumarato puede ingresar al ciclo del TCA, promoviendo la producción de energía necesaria para las actividades celulares intensificadas durante la degradación del LDPE (Majumdar et al., 2016).

El leve aumento en el succinato (fold change 1,04) indica una acumulación mínima de este intermediario del ciclo del TCA. Aunque el cambio no es significativo, podría reflejar un equilibrio entre la producción y el consumo de succinato, manteniendo la homeostasis energética sin alteraciones drásticas (Tretter et al., 2016).

### ***4.4.1.8 Metabolismo de la fenilalanina***

La ruta del metabolismo de la fenilalanina es esencial para la producción de metabolitos secundarios que desempeñan roles cruciales en la defensa y adaptación al ambiente. La L-fenilalanina es un aminoácido aromático que sirve como precursor para la síntesis de fenilpropanoides, compuestos que incluyen flavonoides, lignina y taninos (Vogt, 2010). Estos metabolitos secundarios poseen propiedades antioxidantes, antimicrobianas y participan en la señalización celular, ayudando al hongo a resistir condiciones adversas como el estrés oxidativo generado por la degradación del LDPE.

El aumento en los niveles de L-fenilalanina (fold change 2,67) indica una acumulación de este aminoácido, posiblemente debido a una regulación adaptativa que prioriza su disponibilidad para la síntesis de compuestos fenólicos protectores. La activación de la vía del ácido shikímico, que conduce a la síntesis de aminoácidos aromáticos, es una respuesta común al estrés ambiental (Herrmann & Weaver, 1999). La acumulación de fenilalanina puede mejorar la capacidad del hongo para neutralizar especies reactivas de oxígeno y fortalecer sus defensas antioxidantes (Cheynier et al., 2013).

Por otro lado, la disminución drástica de 2-fenilacetamida (fold change 0,02) sugiere que el hongo está reduciendo la degradación de fenilalanina hacia este derivado catabólico, posiblemente para conservar fenilalanina para rutas biosintéticas más críticas en condiciones de estrés. Esto refleja una optimización de los recursos metabólicos hacia procesos que contribuyen directamente a la supervivencia y adaptación del hongo (Gerke et al., 2020).

#### ***4.4.1.9 Biosíntesis de fenilalanina, tirosina y triptófano***

La biosíntesis de los aminoácidos aromáticos L-fenilalanina, L-tirosina y L-triptófano ocurre a través de la vía del ácido shikímico, una ruta metabólica presente en plantas y microorganismos pero ausente en animales (Herrmann & Weaver, 1999). Esta vía es fundamental para la producción de una amplia variedad de metabolitos secundarios aromáticos que desempeñan funciones esenciales en procesos celulares y fisiológicos (Im et al., 2023).

El aumento significativo de L-fenilalanina (fold change 2,67) y L-triptófano (fold change 1,84) sugiere una activación de la vía del ácido shikímico y una acumulación de estos aminoácidos para la producción de compuestos bioactivos. La L-fenilalanina puede convertirse en ácidos fenólicos y flavonoides con propiedades antioxidantes, mientras que la L-triptófano es precursora de compuestos indólicos que participan en la señalización celular y la respuesta al estrés (Hu et al., 2021; Radwanski & Last, 1995).

El aumento en los niveles de indol (fold change 1,82), un metabolito derivado del triptófano, indica que el hongo está intensificando la producción de compuestos indólicos. Estos pueden actuar como antioxidantes o moléculas señalizadoras, mejorando la capacidad

de *Fusarium* para adaptarse y resistir las condiciones adversas durante la biodegradación del LDPE (Lee & Lee, 2010).

#### ***4.4.1.10 Integración de rutas metabólicas en la degradación del LDPE por FOCIC01***

Basado en las rutas metabólicas significativas y los metabolitos clave asociados con la biodegradación de LDPE, se diseñó un esquema que ilustra las principales vías metabólicas activadas en el hongo FOCIC01. Este esquema resalta cómo el hongo adapta su metabolismo durante el proceso de degradación del LDPE, proporcionando una visión detallada de los metabolitos más relevantes involucrados en este proceso. De esta manera, se facilita una comprensión clara de los mecanismos bioquímicos implicados en la biodegradación.



### 5.3.2 Perfil metabólico de FECIC02

En la comparación del perfil metabólico de FECIC02, se identificaron varias rutas metabólicas diferenciales, las cuales se detallan en la tabla 4

**Tabla 4.** Análisis de enriquecimiento de vías metabólicas con los metabolitos identificados en el micelio de FECIC02 cultivados en LDPE

| Ruta metabólica                              | Hits | p-valor        | Metabolitos identificados                                       |
|--|------|----------------|---|
| Almidón y sacarosa                           | 5    | $3,2759e^{-4}$ | Cellobiosa; D-Fructosa; D-Glucosa; Maltosa; Isomaltosa          |
| Biosíntesis de otros metabolitos secundarios | 2    | 0,0082326      | L-Fenilalanina; L-Triptófano                                    |
| Arginina y prolina                           | 4    | 0,013342       | 4-Guanidinobutanoato; N-Acetilputrescina; D-prolina; L-Ornitina |
| Biosíntesis de valina, leucina e isoleucina  | 3    | 0,019772       | L-Isoleucina; 4-Metil-2-oxopentanoato; L-Valina                 |
| Degradación de valina, leucina e isoleucina  | 4    | 0,0222028      | L-Valina; L-Isoleucina; 4-Metil-2-oxopentanoato; Metilmalonato  |
| Fenilalanina                                 | 2    | 0,033713       | L-Fenilalanina; 2-Fenilacetamida                                |

Al igual que FOCIC01, el hongo FECIC02 presentó modificaciones en varias rutas metabólicas durante su crecimiento con LDPE. Sin embargo, las respuestas metabólicas de FECIC02 sugieren diferencias en la adaptación y eficiencia en la degradación del plástico.

#### **5.4.2.1 Metabolismo de almidón y sacarosa**

El metabolismo del almidón y la sacarosa es esencial para los hongos, ya que proporciona fuentes primarias de carbono y energía. En FECIC02, se observaron tendencias similares a las de FOCIC01, con disminuciones en metabolitos como celobiosa, D-fructosa, D-glucosa e isomaltosa, con fold changes de 0,45, 0,70, 0,68 y 0,30, respectivamente. Esta reducción indica que el hongo está utilizando sus reservas internas de carbohidratos almacenados durante su crecimiento inicial en medio rico como PDA, para mantener sus funciones metabólicas en un ambiente menos favorable como el LDPE.

La disminución de estos azúcares sugiere que FECIC02 está movilizandando sus reservas de glucógeno para proporcionar energía y precursores metabólicos necesarios para su supervivencia. Sin embargo, el aumento moderado en la maltosa (fold change 1,20) indica una acumulación de este disacárido, posiblemente debido a una inhibición parcial de su conversión a glucosa. Este patrón es consistente con estudios que muestran que los hongos pueden acumular maltosa como una estrategia para regular el flujo de carbono bajo condiciones de estrés (Xiong et al., 2017).

Aunque FECIC02 muestra una respuesta similar a FOCIC01 en esta ruta, la magnitud de los cambios es menor, lo que sugiere una adaptación menos eficiente al uso de LDPE como fuente de carbono. Esto puede deberse a diferencias en la capacidad enzimática o en la regulación de las rutas catabólicas necesarias para la degradación del polímero.

#### **5.4.2.2 Biosíntesis de metabolitos secundarios**

En cuanto a la biosíntesis de metabolitos secundarios, FECIC02 presentó aumentos en L-fenilalanina (fold change 1,50) y L-triptófano (fold change 1,30), aunque en menor

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

medida que FOCIC01. Estos aminoácidos aromáticos son precursores de compuestos fenólicos y alcaloides indólicos, que desempeñan roles importantes en la defensa antioxidante y la adaptación al estrés (Tzin & Galili, 2010).

El incremento en estos aminoácidos sugiere que FECIC02 está ajustando su metabolismo proteico en respuesta al estrés oxidativo generado durante la exposición al LDPE. Estos aminoácidos pueden estar involucrados en la síntesis de proteínas antioxidantes o en mecanismos de reparación celular (A. J. P. Brown et al., 2014; Shao et al., 2019). Sin embargo, el menor aumento en comparación con FOCIC01 indica una respuesta más limitada, lo que podría afectar la eficacia del hongo en la degradación del plástico y en su capacidad para manejar el estrés asociado.

### ***5.4.2.3 Metabolismo de la arginina y la prolina***

El metabolismo de la arginina y la prolina es crucial en hongos para regular la respuesta al estrés y mantener el equilibrio entre crecimiento y supervivencia en condiciones adversas. Estos aminoácidos desempeñan roles esenciales en la osmorregulación, detoxificación y producción de energía (Apostolaki et al., 2009; Hasanuzzaman et al., 2020).

En FECIC02, se observó un aumento significativo en 4-guanidinobutanoato (fold change 4,12) y N-acetilputrescina (fold change 3,33). Estos metabolitos son intermediarios en la biosíntesis de poliaminas, moléculas que en hongos están implicadas en la regulación del crecimiento, la morfogénesis y la respuesta al estrés (Valdés-Santiago & Ruiz-Herrera, 2014). Las poliaminas son esenciales para la viabilidad celular en hongos. Sin embargo, un exceso de poliaminas puede llevar a una retroinhibición de enzimas clave y generar estrés metabólico (Kusano et al., 2008; Majumdar et al., 2016). En hongos filamentosos, se ha

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

demostrado que niveles elevados de poliaminas pueden inhibir el crecimiento y alterar la diferenciación celular (Valdés-Santiago & Ruiz-Herrera, 2014).

El incremento en 4-guanidinobutanoato y N-acetilputrescina en FECIC02 sugiere que el hongo está respondiendo al estrés causado por el LDPE mediante la acumulación de poliaminas. Sin embargo, este aumento podría estar asociado con efectos negativos en el crecimiento y la eficiencia metabólica, ya que la acumulación excesiva de poliaminas puede ser tóxica y afectar procesos celulares esenciales (Valdés-Santiago & Ruiz-Herrera, 2014).

La D-prolina mostró una disminución significativa (fold change 0,12) en FECIC02. En hongos, la prolina es un aminoácido importante para la respuesta al estrés osmótico y oxidativo. Actúa como osmoprotector, estabiliza estructuras proteicas y membranas, y funciona como fuente de carbono y nitrógeno cuando hay limitación de nutrientes (Apostolaki et al., 2009; Hasanuzzaman et al., 2020). La disminución de prolina puede indicar que FECIC02 no está acumulando este aminoácido en niveles suficientes para contrarrestar el estrés inducido por el LDPE. Esto podría resultar en una menor capacidad para detoxificar especies reactivas de oxígeno (ROS) y mantener la integridad celular, afectando negativamente su crecimiento y capacidad para degradar el plástico (Chen & Dickman, 2005; Szabados & Savouré, 2010).

#### ***5.4.2.1 Biosíntesis de valina, leucina e isoleucina***

La biosíntesis de los aminoácidos de cadena ramificada (BCAAs), que incluye valina, leucina e isoleucina, es fundamental en hongos para la síntesis de proteínas, el crecimiento celular y la adaptación al estrés. Estos aminoácidos se sintetizan a partir de precursores como el piruvato y el 2-cetobutirato, mediante una serie de reacciones catalizadas por enzimas

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

clave como la acetohidroxiácido sintasa (AHAS) y la dihidroxiácido deshidratasa (Binder, 2010; Majumdar et al., 2016).

La disminución en los niveles de L-isoleucina (fold change 0,45) sugiere que el hongo está utilizando este aminoácido de manera más activa o que su biosíntesis está comprometida. La isoleucina es esencial no solo para la síntesis proteica, sino también para la regulación del metabolismo energético y la respuesta al estrés (Wang et al., 2023). Su reducción podría indicar una desviación de recursos hacia rutas catabólicas que involucran los aminoácidos tipo BCAAs, posiblemente para generar energía o proporcionar intermediarios metabólicos en condiciones de estrés, como la exposición al LDPE.

El 4-metil-2-oxopentanoato (también conocido como  $\alpha$ -cetoisocaproato) es un intermediario clave en el catabolismo de la leucina. Su disminución (fold change 0,36) sugiere que el hongo está aumentando la degradación de leucina para obtener energía o generar precursores necesarios en otras rutas metabólicas adaptativas (Joshi et al., 2010)(Joshi et al., 2010). Este incremento en la actividad catabólica de los aminoácidos de cadena ramificada BCAAs puede estar relacionado con la necesidad de suplir la demanda energética y metabólica.

La valina mostró una disminución en sus niveles (fold change 0,52). Este aminoácido es crucial para la síntesis proteica y el mantenimiento del balance nitrogenado. Su reducción puede indicar que el hongo está utilizando la valina como fuente de energía alternativa o que la biosíntesis de valina está siendo limitada debido a la reasignación de recursos metabólicos hacia rutas críticas para la supervivencia bajo estrés (Steyer & Todd, 2023). Esta disminución

podría afectar la síntesis proteica y, en consecuencia, impactar negativamente en el crecimiento y adaptación del hongo.

El incremento en la utilización de los aminoácidos de cadena ramificada (BCAAs) como fuente energética en condiciones de estrés es una estrategia adaptativa bien conocida en microorganismos. La degradación de los BCAAs puede proporcionar intermediarios del ciclo del ácido tricarboxílico (TCA), como acetil-CoA y succinil-CoA, esenciales para la producción de ATP y la biosíntesis de otros compuestos necesarios para la adaptación al estrés (Derbyshire & Delange, 2021; Gournas et al., 2016). Además, la catabolización de estos aminoácidos puede generar NADH y FADH<sub>2</sub>, contribuyendo a la producción de energía a través de la cadena de transporte de electrones.

#### ***5.4.2.2 Degradación de valina, leucina e isoleucina***

Esta ruta es esencial en hongos para convertir aminoácidos de cadena ramificada en compuestos que pueden alimentar el ciclo del ácido tricarboxílico (TCA) o ser utilizados en otros procesos metabólicos. Estos aminoácidos son degradados a través de una serie de reacciones que incluyen la transaminación, la descarboxilación y la  $\beta$ -oxidación (Jastrzębowska & Gabriel, 2015).

En el caso de la L-Valina (fold change 0,52) y L-Isoleucina (fold change 0,45) mostraron disminuciones significativas, lo que sugiere que el hongo está utilizando estos aminoácidos más activamente, posiblemente debido a la necesidad de energía derivada de su catabolismo. Este comportamiento puede estar relacionado con la exposición a un sustrato no convencional, como el LDPE, lo que fuerza al hongo a depender de rutas alternativas de obtención de energía (Jastrzębowska & Gabriel, 2015).

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

El 4-Methyl-2-oxopentanoato mostró una reducción aún mayor (fold change 0,36), lo que indica un aumento en la actividad de la degradación de leucina, probablemente para generar precursores de energía en condiciones de estrés (Steyer & Todd, 2023).

Por último, el metilmalonato presentó un ligero aumento (fold change 1,14), lo que podría reflejar la acumulación de intermediarios en la ruta de degradación de los BCAAs, sugiriendo que el hongo está usando esta vía para mantener la homeostasis energética bajo condiciones adversas (Jastrzębowska & Gabriel, 2015).

### ***5.4.2.3 Degradación de valina, leucina e isoleucina***

El metabolismo de la fenilalanina es un conjunto de reacciones bioquímicas en las que el aminoácido L-fenilalanina es utilizado para la síntesis de diversos compuestos esenciales, como proteínas y metabolitos secundarios, o es degradado para obtener energía. La fenilalanina es un aminoácido aromático que tiene roles fundamentales en múltiples procesos celulares (Jastrzębowska & Gabriel, 2015).

El incremento de L-fenilalanina (fold change 1,17) y de su derivado 2-fenilacetamida (fold change 1,38) sugiere que el hongo está activando rutas metabólicas asociadas a la fenilalanina para responder al estrés oxidativo generado durante la degradación del plástico (Steyer & Todd, 2023). La fenilalanina es un precursor clave en la biosíntesis de metabolitos secundarios como los compuestos fenólicos, que poseen propiedades antioxidantes y pueden ayudar al hongo a contrarrestar los efectos del estrés ambiental. La producción de 2-fenilacetamida indica una posible transformación de la fenilalanina en moléculas que contribuyen a mecanismos de defensa y adaptación, fortaleciendo la capacidad del hongo para resistir condiciones hostiles.

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

En el caso de FECIC02, la activación de diversas rutas metabólicas durante la exposición al LDPE no se tradujo en una degradación efectiva del plástico. En lugar de dirigir su metabolismo hacia la utilización del LDPE como fuente de carbono, el hongo priorizó la activación de mecanismos de defensa contra el estrés oxidativo inducido por el plástico. Rutas como el metabolismo de la arginina y la prolina y la biosíntesis de poliaminas estuvieron enfocadas en proteger al hongo, pero esta estrategia demandó una considerable inversión de energía y recursos metabólicos.

La activación de las rutas de defensa antioxidante requiere una inversión considerable de energía y precursores metabólicos. La síntesis de compuestos como poliaminas y antioxidantes consume ATP y nucleótidos reducidos, que son esenciales para procesos anabólicos y catabólicos (Halliwell & Gutteridge, 2015). Además, el desequilibrio metabólico, evidenciado por la disminución de aminoácidos como la prolina y los aminoácidos de cadena ramificada, pudo haber afectado procesos críticos como la síntesis proteica y la generación eficiente de energía (A. J. P. Brown et al., 2014). Como consecuencia, FECIC02 experimentó un crecimiento limitado y una capacidad reducida para degradar el LDPE, ya que no logró equilibrar sus necesidades de defensa con las demandas metabólicas necesarias para la biodegradación efectiva del plástico.

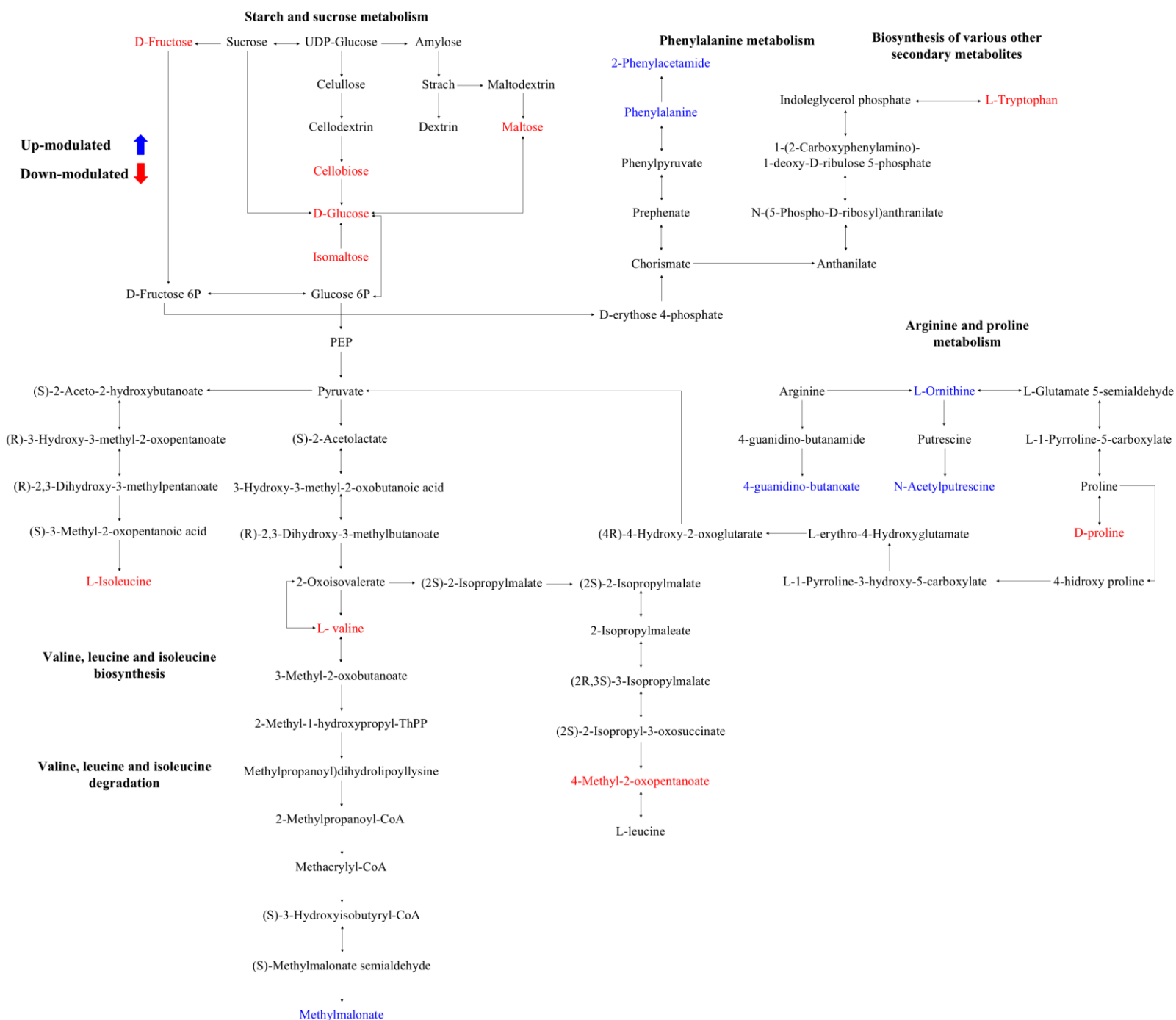
### ***5.4.2.3 Integración de rutas metabólicas en la degradación del LDPE por FECIC02***

Basado en las rutas metabólicas significativas y los metabolitos clave asociados con la biodegradación de LDPE, se desarrolló un esquema que muestra las principales vías metabólicas activadas en el hongo FECIC02. Aunque este hongo no logró una degradación mayor que FOCIC01, se llevó a cabo la integración de sus rutas metabólicas para comprender

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

mejor su adaptación metabólica durante el proceso de degradación del LDPE. El esquema proporciona una visión detallada de los metabolitos más importantes involucrados en este proceso, facilitando así una comprensión más clara de los mecanismos bioquímicos implicados en la biodegradación.

Figura 14. Ruta metabólica propuesta para FECIC02



## 6 Conclusiones

En esta investigación se evaluó la capacidad de biodegradación de polietileno de baja densidad (LDPE) por parte de las cepas de *Fusarium* FOCIC01 y FECIC02. Los resultados indicaron que FOCIC01 fue significativamente más eficiente, lo cual se reflejó en una mayor pérdida de peso de las perlas de LDPE tratadas, un ensanchamiento más pronunciado en las señales espectroscópicas asociadas a la degradación, y un mayor crecimiento de micelio.

El análisis de las rutas metabólicas activadas mostró la participación de procesos clave, como el ciclo del glioxilato y la  $\beta$ -oxidación, lo que sugiere que FOCIC01 es capaz de utilizar compuestos derivados del LDPE, como la erucamida, como fuente de energía. Las rutas identificadas incluyeron el metabolismo del almidón y la sacarosa, el ciclo del glioxilato y dicarboxilato, el metabolismo de arginina y prolina, la biosíntesis de arginina, alanina, aspartato y glutamato, glutatión, fenilalanina, y la biosíntesis de fenilalanina, tirosina y triptófano.

Además, se identificaron importantes marcadores metabólicos como celobiosa, D-glucosa, isomaltosa, oxalato, succinato, fumarato y ácido pídólico, que reflejan una adaptación metabólica ante el estrés oxidativo inducido por la degradación del polímero. La disminución de los niveles de metabolitos asociados con el metabolismo de almidón y sacarosa, junto con el aumento de maltosa, indica que el hongo podría estar utilizando glucógeno como fuente alternativa de energía en respuesta al proceso de biodegradación del LDPE.

El L-glutamato podría haber desempeñado un rol central en esta adaptación, posibilitando la síntesis de glutatión para potencialmente neutralizar las especies reactivas de

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

oxígeno generadas durante la degradación. Asimismo, la activación de la vía del ácido shikímico incrementó la producción de metabolitos antioxidantes como fenilalanina y triptófano, lo que refuerza las defensas celulares del hongo. La acumulación de metabolitos lipídicos, junto con la activación del ciclo del glioxilato, sugiere que FOCIC01 es capaz de aprovechar los ácidos grasos como fuente de energía, lo que demuestra su notable flexibilidad metabólica durante la degradación de LDPE.

Por otro lado, FECIC02 demostró ser significativamente menos eficiente en la degradación del polietileno de baja densidad (LDPE), evidenciado por la escasa disminución de peso del plástico y su limitado crecimiento durante el experimento. Aunque este hongo activó varias rutas metabólicas, como el metabolismo del almidón y la sacarosa, la biosíntesis de metabolitos secundarios y el metabolismo de la arginina y la prolina, estas rutas no contribuyeron de manera efectiva a la biodegradación del LDPE.

La activación predominante de rutas metabólicas orientadas a la defensa contra el estrés oxidativo, como la acumulación de poliaminas y la disminución de prolina, indica que FECIC02 priorizó mecanismos de supervivencia frente al estrés ambiental inducido por el plástico. Sin embargo, esta estrategia defensiva no fue suficiente para promover un crecimiento adecuado ni para facilitar la degradación del LDPE. La inversión de recursos metabólicos en mecanismos de defensa pudo haber limitado la disponibilidad de energía y precursores necesarios para la síntesis de enzimas degradativas y el crecimiento celular.

## 7 Recomendaciones

Exploración de otras cepas fúngicas: Dado que FOCIC01 mostró una mayor capacidad de degradación, se recomienda la búsqueda y evaluación de más cepas del género *Fusarium* o de otros géneros que podrían presentar características similares o superiores para la biodegradación de plásticos.

Optimización de condiciones ambientales: Es recomendable optimizar factores ambientales como la temperatura, pH y disponibilidad de nutrientes, que podrían potenciar aún más la eficiencia de biodegradación observada en FOCIC01.

Aplicación de técnicas de ingeniería genética: Se podrían explorar técnicas de ingeniería genética para potenciar la capacidad degradativa de cepas como FOCIC01, enfocándose en la mejora de las rutas metabólicas involucradas en la descomposición del LDPE.

Ampliación de estudios a nivel industrial: Sería beneficioso llevar los estudios a una escala industrial para evaluar la viabilidad de usar FOCIC01 u otras cepas fúngicas en procesos de biorremediación de plásticos en ambientes naturales o en plantas de reciclaje.

### Referencias

- Abba', S., Balestrini, R., Benedetto, A., Rottensteiner, H., De Lucas, J. R., & Bonfante, P. (2007). The role of the glyoxylate cycle in the symbiotic fungus *Tuber borchii*: Expression analysis and subcellular localization. *Current Genetics*, 52(3), 159-170. <https://doi.org/10.1007/s00294-007-0149-7>
- Abdullah, A., & Mohammed, A. (2019, enero 5). *Scanning Electron Microscopy (SEM): A Review*.
- Acuña Molina, N. R. (2017). *Revisión Bibliográfica sobre los Microorganismos Biodegradadores de Polietileno de Baja Densidad LDPE y sus Efectos en el Material*.
- Aguilar, L. R., Pardo, J. P., Lomelí, M. M., Bocardo, O. I. L., Juárez Oropeza, M. A., & Guerra Sánchez, G. (2017). Lipid droplets accumulation and other biochemical changes induced in the fungal pathogen *Ustilago maydis* under nitrogen-starvation. *Archives of Microbiology*, 199(8), 1195-1209. <https://doi.org/10.1007/s00203-017-1388-8>
- Albertsson, A.-C., 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.
- Alcaldía de Bucaramanga. (2022). *Plan de Gestión Integral de Residuos Sólidos (PGIRS) de Bucaramanga 2022-2033*.
- Alseekh, S., Aharoni, A., Brotman, Y., Contrepolis, K., D'Auria, J., Ewald, J., C. Ewald, J., Fraser, P. D., Giavalisco, P., Hall, R. D., Heinemann, M., Link, H., Luo, J., Neumann, S., Nielsen, J., Perez de Souza, L., Saito, K., Sauer, U., Schroeder, F. C., ... Fernie, A. R. (2021). Mass spectrometry-based metabolomics: A guide for annotation,

- quantification and best reporting practices. *Nature Methods*, 18(7), 747-756.  
<https://doi.org/10.1038/s41592-021-01197-1>
- Anwardeen, N. R., Diboun, I., Mokrab, Y., Althani, A. A., & Elrayess, M. A. (2023). Statistical methods and resources for biomarker discovery using metabolomics. *BMC Bioinformatics*, 24(1), 250. <https://doi.org/10.1186/s12859-023-05383-0>
- Apostolaki, A., Erpapazoglou, Z., Harispe, L., Billini, M., Kafasla, P., Kizis, D., Peñalva, M. A., Scazzocchio, C., & Sophianopoulou, V. (2009). AgtA, the dicarboxylic amino acid transporter of *Aspergillus nidulans*, is concertedly down-regulated by exquisite sensitivity to nitrogen metabolite repression and ammonium-elicited endocytosis. *Eukaryotic Cell*, 8(3), 339-352. <https://doi.org/10.1128/EC.00270-08>
- Ariza, Y., & Sánchez, L. (2012). Determinación de metabolitos secundarios a partir de *Bacillus subtilis* efecto biocontrolador sobre *Fusarium* sp. *Nova*, 10(18), 149-155.
- Arunachalam, K., & Davoodbasha, M. (2021). Imaging Bacteria and Biofilm by Field Emission Scanning Electron Microscopy. En M. Nag & D. Lahiri (Eds.), *Analytical Methodologies for Biofilm Research* (pp. 205-222). Springer US. [https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1378-8\\_9](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1378-8_9)
- Attias, N., Danai, O., Abitbol, T., Tarazi, E., Ezov, N., Pereman, I., & Grobman, Y. J. (2020). Mycelium bio-composites in industrial design and architecture: Comparative review and experimental analysis. *Journal of Cleaner Production*, 246, 119037. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.119037>
- Beghetto, V., Sole, R., Buranello, C., Al-Abkal, M., & Facchin, M. (2021). Recent Advancements in Plastic Packaging Recycling: A Mini-Review. *Materials (Basel, Switzerland)*, 14(17), 4782. <https://doi.org/10.3390/ma14174782>

- Bénit, P., Goncalves, J., El Khoury, R., Rak, M., Favier, J., Gimenez-Roqueplo, A.-P., & Rustin, P. (2022). Succinate Dehydrogenase, Succinate, and Superoxides: A Genetic, Epigenetic, Metabolic, Environmental Explosive Crossroad. *Biomedicines*, *10*(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10081788>
- Bhargava, R., Wang, S.-Q., & Koenig, J. L. (2003). FTIR Microspectroscopy of Polymeric Systems. En *Liquid Chromatography / FTIR Microspectroscopy / Microwave Assisted Synthesis* (pp. 137-191). Springer. <https://doi.org/10.1007/b11052>
- Binder, S. (2010). Branched-Chain Amino Acid Metabolism in *Arabidopsis thaliana*. *The Arabidopsis Book*, *8*, e0137. <https://doi.org/10.1199/tab.0137>
- Breitenbach, M., Weber, M., Rinnerthaler, M., Karl, T., & Breitenbach-Koller, L. (2015). Oxidative stress in fungi: Its function in signal transduction, interaction with plant hosts, and lignocellulose degradation. *Biomolecules*, *5*(2), 318-342. <https://doi.org/10.3390/biom5020318>
- Brown, A. J. P., Budge, S., Kaloriti, D., Tillmann, A., Jacobsen, M. D., Yin, Z., Ene, I. V., Bohovych, I., Sandai, D., Kastora, S., Potrykus, J., Ballou, E. R., Childers, D. S., Shahana, S., & Leach, M. D. (2014). Stress adaptation in a pathogenic fungus. *The Journal of Experimental Biology*, *217*(1), 144. <https://doi.org/10.1242/jeb.088930>
- Brown, D. W., Kim, H.-S., McGovern, A. E., Probyn, C. E., & Proctor, R. H. (2022). Genus-wide analysis of *Fusarium* polyketide synthases reveals broad chemical potential. *Fungal Genetics and Biology: FG & B*, *160*, 103696. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2022.103696>

- Brown, H. E., Esher, S. K., & Alspaugh, J. A. (2020). Chitin: A “Hidden Figure” in the Fungal Cell Wall. En J.-P. Latgé (Ed.), *The Fungal Cell Wall: An Armour and a Weapon for Human Fungal Pathogens* (pp. 83-111). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/82\\_2019\\_184](https://doi.org/10.1007/82_2019_184)
- Cabiscol, E., Tamarit, J., & Ros, J. (2000). Oxidative stress in bacteria and protein damage by reactive oxygen species. *International Microbiology: The Official Journal of the Spanish Society for Microbiology*, 3(1), 3-8.
- Cambiaghi, A., Ferrario, M., & Masseroli, M. (2017). Analysis of metabolomic data: Tools, current strategies and future challenges for omics data integration. *Briefings in Bioinformatics*, 18(3), 498-510. <https://doi.org/10.1093/bib/bbw031>
- Chen, C., & Dickman, M. B. (2005). Proline suppresses apoptosis in the fungal pathogen *Colletotrichum trifolii*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(9), 3459-3464. <https://doi.org/10.1073/pnas.0407960102>
- Chew, S. Y., Chee, W. J. Y., & Than, L. T. L. (2019). The glyoxylate cycle and alternative carbon metabolism as metabolic adaptation strategies of *Candida glabrata*: Perspectives from *Candida albicans* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Biomedical Science*, 26(1), 52. <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0546-5>
- Cheyrier, V., Comte, G., Davies, K. M., Lattanzio, V., & Martens, S. (2013). Plant phenolics: Recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *Plant Physiology and Biochemistry*, 72, 1-20. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.05.009>
- Choi, J.-H., Nah, J.-Y., Lee, M., Yim, S.-B., Jang, J. Y., Lee, T., & Kim, J. (2024). Fungal diversity in ginger and effect of storage conditions on occurrence of *Fusarium* and its

mycotoxins. *Food Control*, *165*, 110631.

<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2024.110631>

Chong, J., Wishart, D. S., & Xia, J. (2019). Using MetaboAnalyst 4.0 for Comprehensive and Integrative Metabolomics Data Analysis. *Current Protocols in Bioinformatics*, *68*(1), e86. <https://doi.org/10.1002/cpbi.86>

Culbertson, B. J., Krone, J., Gatebe, E., Furumo, N. C., & Daniel, S. L. (2007). Impact of carbon sources on growth and oxalate synthesis by the phytopathogenic fungus *Sclerotinia sclerotiorum*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *23*(10), 1357-1362. <https://doi.org/10.1007/s11274-007-9371-1>

Deng, Y., Wang, R., Zhang, Y., Li, J., & Gooneratne, R. (2023). Effect of Amino Acids on *Fusarium oxysporum* Growth and Pathogenicity Regulated by TORC1-Tap42 Gene and Related Interaction Protein Analysis. *Foods*, *12*(9), 1829. <https://doi.org/10.3390/foods12091829>

Dey, A., 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*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.603210>

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*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.603210>

Di Pippo, F., Bocci, V., Amalfitano, S., Crognale, S., Levantesi, C., Pietrelli, L., Di Lisio, V., Martinelli, A., & Rossetti, S. (2023). Microbial colonization patterns and

- biodegradation of petrochemical and biodegradable plastics in lake waters: Insights from a field experiment. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1290441>
- Dimassi, S. N., Hahladakis, J. N., Daly Yahia, M. N., Ahmad, M. I., Sayadi, S., & Al-Ghouti, M. A. (2023). Insights into the degradation mechanism of PET and PP under marine conditions using FTIR. *Journal of Hazardous Materials*, 447, 130796. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.130796>
- Dimassi, S. N., Hahladakis, J. N., Yahia, M. N. D., Ahmad, M. I., Sayadi, S., & Al-Ghouti, M. A. (2022). Degradation-fragmentation of marine plastic waste and their environmental implications: A critical review. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(11), 104262. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.104262>
- Dudley, E., Yousef, M., Wang, Y., & Griffiths, W. J. (2010). Chapter 2—Targeted metabolomics and mass spectrometry. En R. Donev (Ed.), *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology* (Vol. 80, pp. 45-83). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381264-3.00002-3>
- Dutton, M., & Evans, C. (2011). Oxalate production by fungi: Its role in pathogenicity and ecology in the soil environment. *Canadian Journal of Microbiology*, 42, 881-895. <https://doi.org/10.1139/m96-114>
- Ekanayaka, A. H., Tibpromma, S., Dai, D., Xu, R., Suwannarach, N., Stephenson, S. L., Dao, C., & Karunarathna, S. C. (2022). A Review of the Fungi That Degrade Plastic. *Journal of Fungi*, 8(8), 772. <https://doi.org/10.3390/jof8080772>
- Elsamahy, T., Sun, J., Elsilk, S. E., & Ali, S. S. (2023). Biodegradation of low-density polyethylene plastic waste by a constructed tri-culture yeast consortium from wood-

- feeding termite: Degradation mechanism and pathway. *Journal of Hazardous Materials*, 448, 130944. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.130944>
- Europe, P. (2021). *Plásticos-Situación en 2020, un análisis de los datos sobre la producción, demanda y residuos de plástico en Europa*.
- Fancy, N. N., Bahlmann, A.-K., & Loake, G. J. (2017). Nitric oxide function in plant abiotic stress. *Plant, Cell & Environment*, 40(4), 462-472. <https://doi.org/10.1111/pce.12707>
- Fiehn, O. (2016). Metabolomics by Gas Chromatography–Mass Spectrometry: Combined Targeted and Untargeted Profiling. *Current Protocols in Molecular Biology*, 114(1), 30.4.1-30.4.32. <https://doi.org/10.1002/0471142727.mb3004s114>
- Forde, B. G., & Lea, P. J. (2007). Glutamate in plants: Metabolism, regulation, and signalling. *Journal of Experimental Botany*, 58(9), 2339-2358. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm121>
- G21, A. (2015). Standard Practice for Determining Resistance of Synthetic Polymeric Materials to Fungi. *RUBBER SHEET Section*, 9661, 2.
- Gallo, M. (2022). *Metaboanalyst step-by-step*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.20578.81609>
- Gerke, J., Köhler, A. M., Meister, C., Thieme, K. G., Amoedo, H., & Braus, G. H. (2020). Coordination of Fungal Secondary Metabolism and Development. En J. P. Benz & K. Schipper (Eds.), *Genetics and Biotechnology* (pp. 173-205). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-49924-2\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-030-49924-2_8)
- Geroldinger, A., Lusa, L., Nold, M., & Heinze, G. (2023). Leave-one-out cross-validation, penalization, and differential bias of some prediction model performance measures—a simulation study. *Diagnostic and Prognostic Research*, 7(1), 9. <https://doi.org/10.1186/s41512-023-00146-0>

- Getachew, P., Getachew, M., Joo, J., Choi, Y. S., Hwang, D. S., & Hong, Y.-K. (2016). The slip agents oleamide and erucamide reduce biofouling by marine benthic organisms (diatoms, biofilms and abalones). *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 8(5), 341-348. <https://doi.org/10.1007/s13530-016-0295-8>
- Geyer, R. (2020). A Brief History of Plastics. En M. Streit-Bianchi, M. Cimadevila, & W. Trettnak (Eds.), *Mare Plasticum—The Plastic Sea: Combatting Plastic Pollution Through Science and Art* (pp. 31-47). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-38945-1\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-030-38945-1_2)
- Geyer, R., Jambeck, J., & Law, K. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances*, 3, e1700782. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1700782>
- Ghatge, S., Yang, Y., Ahn, J.-H., & Hur, H.-G. (2020). Biodegradation of polyethylene: A brief review. *Applied Biological Chemistry*, 63(1), 27. <https://doi.org/10.1186/s13765-020-00511-3>
- Ghosh, S., Qureshi, A., & Purohit, H. (2019). *Microbial degradation of plastics: Biofilms and degradation pathways* (pp. 184-199). <https://doi.org/10.26832/AESA-2019-CAE-0153-014>
- Gironi, F., & Piemonte, V. (2011). Bioplastics and Petroleum-based Plastics: Strengths and Weaknesses. *Energy Sources, Part A: Recovery*, 1949-1959. <https://doi.org/10.1080/15567030903436830>
- Gong, Z., Jin, L., Yu, X., Wang, B., Hu, S., Ruan, H., Sung, Y.-J., Lee, H.-G., & Jin, F. (2023). Biodegradation of Low Density Polyethylene by the Fungus *Cladosporium* sp. Recovered from a Landfill Site. *Journal of Fungi*, 9(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/jof9060605>

- Gross, L., & Enck, J. (2021). Confronting plastic pollution to protect environmental and public health. *PLOS Biology*, *19*(3), e3001131. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001131>
- Guerzoni, M. E., Lanciotti, R., & Cocconcelli, P. S. (2001). Alteration in cellular fatty acid composition as a response to salt, acid, oxidative and thermal stresses in *Lactobacillus helveticus*. *Microbiology*, *147*(8), 2255-2264. <https://doi.org/10.1099/00221287-147-8-2255>
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M. B., Parvin, K., Bhuiyan, T. F., Anee, T. I., Nahar, K., Hossen, Md. S., Zulfiqar, F., Alam, Md. M., & Fujita, M. (2020). Regulation of ROS Metabolism in Plants under Environmental Stress: A Review of Recent Experimental Evidence. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(22), 8695. <https://doi.org/10.3390/ijms21228695>
- Herrmann, K. M., & Weaver, L. M. (1999). THE SHIKIMATE PATHWAY. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, *50*, 473-503. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.50.1.473>
- Hishikawa, D., Hashidate, T., Shimizu, T., & Shindou, H. (2014). Diversity and function of membrane glycerophospholipids generated by the remodeling pathway in mammalian cells. *Journal of Lipid Research*, *55*(5), 799-807. <https://doi.org/10.1194/jlr.R046094>
- Hong, Y., Boiti, A., Vallone, D., & Foulkes, N. S. (2024). Reactive Oxygen Species Signaling and Oxidative Stress: Transcriptional Regulation and Evolution. *Antioxidants*, *13*(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/antiox13030312>

- Hu, Y., Chen, S., Yang, F., & Dong, S. (2021). Marine Indole Alkaloids—Isolation, Structure and Bioactivities. *Marine Drugs*, 19(12), 658. <https://doi.org/10.3390/md19120658>
- Huang, Z., Wang, Q., Khan, I. A., Li, Y., Wang, J., Wang, J., Liu, X., Lin, F., & Lu, J. (2023). The Methylcitrate Cycle and Its Crosstalk with the Glyoxylate Cycle and Tricarboxylic Acid Cycle in Pathogenic Fungi. *Molecules*, 28(18), Article 18. <https://doi.org/10.3390/molecules28186667>
- Ibrahim, S. S., Ionescu, D., & Grossart, H.-P. (2024). Tapping into fungal potential: Biodegradation of plastic and rubber by potent Fungi. *Science of The Total Environment*, 934, 173188. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.173188>
- Idle, J. R., & Gonzalez, F. J. (2007). Metabolomics. *Cell Metabolism*, 6(5), 348-351. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2007.10.005>
- Im, J.-H., Yu, H.-W., Park, C.-H., Kim, J.-W., Shin, J.-H., Jang, K.-Y., & Park, Y.-J. (2023). Phenylalanine Ammonia-Lyase: A Key Gene for Color Discrimination of Edible Mushroom *Flammulina velutipes*. *Journal of Fungi*, 9(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/jof9030339>
- Imlay, J. A. (2015). Diagnosing oxidative stress in bacteria: Not as easy as you might think. *Current Opinion in Microbiology*, 24, 124-131. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2015.01.004>
- Inderthal, H., Tai, S. L., & Harrison, S. T. L. (2021). Non-Hydrolyzable Plastics—An Interdisciplinary Look at Plastic Bio-Oxidation. *Trends in Biotechnology*, 39(1), 12-23. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2020.05.004>
- Jastrzębowska, K., & Gabriel, I. (2015). Inhibitors of amino acids biosynthesis as antifungal agents. *Amino Acids*, 47(2), 227-249. <https://doi.org/10.1007/s00726-014-1873-1>

- Jeong, D.-H., Jung, D.-W., You, C., & Lee, H.-S. (2024). Mechanistic insight into human androgen receptor-mediated endocrine disrupting potential of cyclic depsipeptide mycotoxin, beauvericin, and influencing environmental factors for its biosynthesis in *Fusarium oxysporum* KFCC 11363P on rice cereal. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 274, 116227. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2024.116227>
- Jestoi, M. (2008). Emerging Fusarium -Mycotoxins Fusaproliferin, Beauvericin, Enniatins, And Moniliformin—A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(1), 21-49. <https://doi.org/10.1080/10408390601062021>
- Joshi, V., Joung, J.-G., Fei, Z., & Jander, G. (2010). Interdependence of threonine, methionine and isoleucine metabolism in plants: Accumulation and transcriptional regulation under abiotic stress. *Amino Acids*, 39(4), 933-947. <https://doi.org/10.1007/s00726-010-0505-7>
- Jung, S., Raghavendra, A. J., & Patri, A. K. (2023). Comprehensive analysis of common polymers using hyphenated TGA-FTIR-GC/MS and Raman spectroscopy towards a database for micro- and nanoplastics identification, characterization, and quantitation. *NanoImpact*, 30, 100467. <https://doi.org/10.1016/j.impact.2023.100467>
- Karygianni, L., Ren, Z., Koo, H., & Thurnheer, T. (2020). Biofilm Matrixome: Extracellular Components in Structured Microbial Communities. *Trends in Microbiology*, 28(8), 668-681. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2020.03.016>
- Kauffman, C. A. (2012). Infecciones por Fusarium. *Infectio*, 16, 38-43. [https://doi.org/10.1016/S0123-9392\(12\)70025-5](https://doi.org/10.1016/S0123-9392(12)70025-5)

- Kavi Kishor, P. B., Suravajhala, P., Rathnagiri, P., & Sreenivasulu, N. (2022). Intriguing Role of Proline in Redox Potential Conferring High Temperature Stress Tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.867531>
- Kerkaert, J. D., & Huberman, L. B. (2023). Regulation of nutrient utilization in filamentous fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 107(19), 5873. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12680-4>
- Khan, S., Ali, S. A., & Ali, A. S. (2022). Biodegradation of low density polyethylene (LDPE) by mesophilic fungus 'Penicillium citrinum' isolated from soils of plastic waste dump yard, Bhopal, India. *Environmental Technology*, 1-15.
- Khatua, S., Simal-Gandara, J., & Acharya, K. (2024). Myco-remediation of plastic pollution: Current knowledge and future prospects. *Biodegradation*, 35(3), 249-279. <https://doi.org/10.1007/s10532-023-10053-2>
- Kluger, B., Lehner, S., & Schuhmacher, R. (2015). Metabolomics and Secondary Metabolite Profiling of Filamentous Fungi. En S. Zeilinger, J.-F. Martín, & C. García-Estrada (Eds.), *Biosynthesis and Molecular Genetics of Fungal Secondary Metabolites, Volume 2* (pp. 81-101). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2531-5\\_6](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2531-5_6)
- Kühn, H., & O'Donnell, V. B. (2006). Inflammation and immune regulation by 12/15-lipoxygenases. *Progress in Lipid Research*, 45(4), 334-356. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2006.02.003>
- 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). Efficient biodegradation of polyethylene (HDPE) waste by the plastic-eating lesser waxworm (*Achroia grisella*). *Environmental Science and Pollution Research*, 26(18), 18509-18519. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05038-9>
- Kusano, T., Berberich, T., Tateda, C., & Takahashi, Y. (2008). Polyamines: Essential factors for growth and survival. *Planta*, 228(3), 367-381. <https://doi.org/10.1007/s00425-008-0772-7>
- Lee, J.-H., & Lee, J. (2010). Indole as an intercellular signal in microbial communities. *FEMS Microbiology Reviews*, 34(4), 426-444. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2009.00204.x>
- Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (2008). *The Fusarium laboratory manual*. John Wiley & Sons.
- Li, G., Jian, T., Liu, X., Lv, Q., Zhang, G., & Ling, J. (2022). Application of Metabolomics in Fungal Research. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(21), 7365. <https://doi.org/10.3390/molecules27217365>
- Lia, D., Reyes, A., de Melo Campos, J. T. A., Piolot, T., Baijer, J., Radicella, J. P., & Campalans, A. (2018). Mitochondrial maintenance under oxidative stress depends on mitochondrially localised  $\alpha$ -OGG1. *Journal of Cell Science*, 131(12), jcs213538. <https://doi.org/10.1242/jcs.213538>
- Liang, X., Zhang, L., Natarajan, S. K., & Becker, D. F. (2013). Proline mechanisms of stress survival. *Antioxidants & Redox Signaling*, 19(9), 998-1011. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.5074>

- Liaud, N., Giniés, C., Navarro, D., Fabre, N., Crapart, S., Gimbert, I. H., Levasseur, A., Raouche, S., & Sigoillot, J.-C. (2014). Exploring fungal biodiversity: Organic acid production by 66 strains of filamentous fungi. *Fungal Biology and Biotechnology*, *1*(1), 1. <https://doi.org/10.1186/s40694-014-0001-z>
- Liu, J., & Cao, X. (2014). Biodegradation of cellulose by  $\beta$ -glucosidase and cellulase immobilized on a pH-responsive copolymer. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, *19*(5), 829-837. <https://doi.org/10.1007/s12257-013-0716-3>
- Lu, X., Zhao, X., Bai, C., Zhao, C., Lu, G., & Xu, G. (2008). LC-MS-based metabonomics analysis. *Journal of Chromatography B*, *866*(1-2), 64-76.
- Luo, H., Tyrrell, H., Bai, J., Muazu, R. I., & Long, X. (2024). Fundamental, Technical and Environmental Overviews of Plastic Chemical Recycling. *Green Chemistry*. <https://doi.org/10.1039/D4GC03127J>
- Lysøe, E., Harris, L. J., Walkowiak, S., Subramaniam, R., Divon, H. H., Riiser, E. S., Llorens, C., Gabaldón, T., Kistler, H. C., Jonkers, W., Kolseth, A.-K., Nielsen, K. F., Thrane, U., & Frandsen, R. J. N. (2014). The Genome of the Generalist Plant Pathogen *Fusarium avenaceum* Is Enriched with Genes Involved in Redox, Signaling and Secondary Metabolism. *PLoS ONE*, *9*(11), e112703. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112703>
- Lyukshin, V., Shatko, D., & Strelnikov, P. (2021). Methods and approaches to the surface roughness assessment. *Materials Today: Proceedings*, *38*, 1441-1444. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.08.122>
- Majumdar, R., Barchi, B., Turlapati, S. A., Gagne, M., Minocha, R., Long, S., & Minocha, S. C. (2016). Glutamate, Ornithine, Arginine, Proline, and Polyamine Metabolic

- Interactions: The Pathway Is Regulated at the Post-Transcriptional Level. *Frontiers in Plant Science*, 7, 78. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00078>
- Meister, A., & Anderson, M. E. (1983). Glutathione. *Annual Review of Biochemistry*, 52, 711-760. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.52.070183.003431>
- Méndez-Líter, J. A., Nieto-Domínguez, M., Fernández de Toro, B., González Santana, A., Prieto, A., Asensio, J. L., Cañada, F. J., de Eugenio, L. I., & Martínez, M. J. (2020). A glucotolerant  $\beta$ -glucosidase from the fungus *Talaromyces amestolkiae* and its conversion into a glycosynthase for glycosylation of phenolic compounds. *Microbial Cell Factories*, 19(1), 127. <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01386-1>
- Milgroom, M. G. (2023). Fungi. En M. G. Milgroom (Ed.), *Biology of Infectious Disease: From Molecules to Ecosystems* (pp. 109-122). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-38941-2\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-031-38941-2_8)
- Mishra, P., & Prasad, R. (1991). Lipids of *Candida albicans*. En R. Prasad (Ed.), *Candida Albicans: Cellular and Molecular Biology* (pp. 128-143). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-75253-7\\_9](https://doi.org/10.1007/978-3-642-75253-7_9)
- Moeini, N., Teimoury, H., Salimi, M., Bahri-Laleh, N., Joshaghani, M., Duran, J., Poater, A., & Posada-Pérez, S. (2024). Influence of the reaction conditions on the Ziegler-Natta catalyzed ethylene polymerization: Kinetics and properties of the resulting polymers. *Polymer*, 293, 126640. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2023.126640>
- Moreno, L. G. N., Cordero, A. R., Hipólito, C. N., & Collado, L. F. (2022). Degradación química de pet y su metabolismo por consorcios fúngicos: Chemical degradation of pet and its metabolism by fungal consortia. *South Florida Journal of Development*, 3(1), 1492-1506. <https://doi.org/10.46932/sfjdv3n1-114>

- Napier, J. A. (2007). The production of unusual fatty acids in transgenic plants. *Annual Review of Plant Biology*, 58, 295-319. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.58.032806.103811>
- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2022). *Principios de bioquímica de Lehninger*. Artmed Editora.
- Ojha, N., Pradhan, N., Singh, S., Barla, A., Shrivastava, A., Khatua, P., Rai, V., & Bose, S. (2017). Evaluation of HDPE and LDPE degradation by fungus, implemented by statistical optimization. *Scientific Reports*, 7(1), 39515. <https://doi.org/10.1038/srep39515>
- Okal, E. J., Heng, G., Magige, E. A., Khan, S., Wu, S., Ge, Z., Zhang, T., Mortimer, P. E., & Xu, J. (2023). Insights into the mechanisms involved in the fungal degradation of plastics. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 262, 115202. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.115202>
- Ortega-Martínez, P., Roldán, M., Díaz-Troya, S., & Florencio, F. J. (2023). Stress response requires an efficient connection between glycogen and central carbon metabolism by phosphoglucomutases in cyanobacteria. *Journal of Experimental Botany*, 74(5), 1532-1550. <https://doi.org/10.1093/jxb/erac474>
- Pramila, R., & Ramesh, K. V. (2011). Biodegradation of low density polyethylene (LDPE) by fungi isolated from marine water a SEM analysis. *African Journal of Microbiology Research*, 5(28), 5013-5018.
- Prasad, R., & Singh, A. (2013). Lipids of *Candida albicans* and their role in multidrug resistance. *Current Genetics*, 59(4), 243-250. <https://doi.org/10.1007/s00294-013-0402-1>

- Qin, L., Han, J., Zhao, B., Wang, Y., Chen, W., & Xing, F. (2018). Thermal degradation of medical plastic waste by in-situ FTIR, TG-MS and TG-GC/MS coupled analyses. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 136, 132-145. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2018.10.012>
- Quinlan, C., Orr, A., Perevoshchikova, I., Treberg, J., Ackrell, B., & Brand, M. (2012). Mitochondrial Complex II Can Generate Reactive Oxygen Species at High Rates in Both the Forward and Reverse Reactions. *The Journal of biological chemistry*, 287, 27255-27264. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.374629>
- Radwanski, E. R., & Last, R. L. (1995). Tryptophan biosynthesis and metabolism: Biochemical and molecular genetics. *The Plant Cell*, 7(7), 921-934.
- Ramsden, J. (2009). *Metabolomics and Metabonomics* (pp. 1-6). [https://doi.org/10.1007/978-1-84800-257-9\\_16](https://doi.org/10.1007/978-1-84800-257-9_16)
- Restrepo-Flórez, J.-M., Bassi, A., & Thompson, M. (2014). Microbial degradation and deterioration of polyethylene – A review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 88, 83-90. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.12.014>
- Rey-Stolle, F., Dudzik, D., Gonzalez-Riano, C., Fernández-García, M., Alonso-Herranz, V., Rojo, D., Barbas, C., & García, A. (2022). Low and high resolution gas chromatography-mass spectrometry for untargeted metabolomics: A tutorial. *Analytica Chimica Acta*, 1210, 339043. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.339043>
- Rodríguez-Valdovinos, K. Y., Salgado-Garciglia, R., Hernández-García, A., Saavedra-Molina, A., del Río-Torres, R. E. N., López-Meza, J. E., Monribot-Villanueva, J. L., Guerrero-Analco, J. A., & Medina-Medrano, J. R. (2024). Antioxidant and Antifungal Activities and Characterization of Phenolic Compounds Using Ultra-High

- Performance Liquid Chromatography and Mass Spectrometry (UPLC-MS) of Aqueous Extracts and Fractions from *Verbesina sphaerocephala* Stems. *Plants*, *13*(19), Article 19. <https://doi.org/10.3390/plants13192791>
- Rosa, D., Lotto, T., Lopes, D. R., & Fassina, C. (2004). The use of roughness for evaluating the biodegradation of poly- $\beta$ -(hydroxybutyrate) and poly- $\beta$ -(hydroxybutyrate-co- $\beta$ -valerate). *Polymer Testing*, *23*, 3-8. [https://doi.org/10.1016/S0142-9418\(03\)00042-4](https://doi.org/10.1016/S0142-9418(03)00042-4)
- Royer, S.-J., Ferrón, S., Wilson, S. T., & Karl, D. M. (2018). Production of methane and ethylene from plastic in the environment. *PLOS ONE*, *13*(8), e0200574. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200574>
- Salih, S., Hamood, A. alkhalig, & Abd Alsalam, A. (2013). Comparison of the characteristics of LDPE: PP and HDPE: PP polymer blends. *Modern Applied Science*, *7*, 33-42. <https://doi.org/10.5539/mas.v7n3p33>
- Sanchez-Gutierrez, F. O. (2021). Retos pos pandemia en la gestión de residuos sólidos. *CienciAmérica*, *10*(1), 11-23.
- Sandt, C., Waeytens, J., Deniset-Besseau, A., Nielsen-Leroux, C., & Réjasse, A. (2021). Use and misuse of FTIR spectroscopy for studying the bio-oxidation of plastics. *Spectrochimica Acta. Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, *258*, 119841. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2021.119841>
- San-Millán, I. (2023). The Key Role of Mitochondrial Function in Health and Disease. *Antioxidants*, *12*(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/antiox12040782>
- Santacruz-Juárez, E., Buendia-Corona, R. E., Ramírez, R. E., & Sánchez, C. (2021). Fungal enzymes for the degradation of polyethylene: Molecular docking simulation and

- biodegradation pathway proposal. *Journal of Hazardous Materials*, 411, 125118.  
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125118>
- Shah, A. A., Hasan, F., Hameed, A., & Ahmed, S. (2008). Biological degradation of plastics: A comprehensive review. *Biotechnology Advances*, 26(3), 246-265.  
<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.12.005>
- Shah, Z., Hasan, F., Krumholz, L., Aktas, D., & Shah, A. (2013). Degradation of polyester polyurethane by newly isolated *Pseudomonas aeruginosa* strain MZA-85 and analysis of degradation products by GC–MS. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 77, 114-122. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.11.009>
- Shao, H., Tu, Y., Wang, Y., Jiang, C., Ma, L., Hu, Z., Wang, J., Zeng, B., & He, B. (2019). Oxidative Stress Response of *Aspergillus oryzae* Induced by Hydrogen Peroxide and Menadione Sodium Bisulfite. *Microorganisms*, 7(8), 225.  
<https://doi.org/10.3390/microorganisms7080225>
- Sharma, A., Shahzad, B., Rehman, A., Bhardwaj, R., Landi, M., & Zheng, B. (2019). Response of Phenylpropanoid Pathway and the Role of Polyphenols in Plants under Abiotic Stress. *Molecules*, 24(13), 2452. <https://doi.org/10.3390/molecules24132452>
- Shelp, B. J., Bown, A. W., & McLean, M. D. (1999). Metabolism and functions of gamma-aminobutyric acid. *Trends in Plant Science*, 4(11), 446-452.  
[https://doi.org/10.1016/s1360-1385\(99\)01486-7](https://doi.org/10.1016/s1360-1385(99)01486-7)
- Singh Jadaun, J., Bansal, S., Sonthalia, A., Rai, A. K., & Singh, S. P. (2022). Biodegradation of plastics for sustainable environment. *Bioresource Technology*, 347, 126697.  
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.126697>

- Skariyachan, S., Taskeen, N., Kishore, A. P., & Krishna, B. V. (2022). Recent advances in plastic degradation—From microbial consortia-based methods to data sciences and computational biology driven approaches. *Journal of Hazardous Materials*, 426, 128086. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.128086>
- Sohn, M. B., Monaco, C., & Gill, S. R. (2024). An optimal normalization method for high sparse compositional microbiome data. *PLoS Computational Biology*, 20(8), e1012338. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1012338>
- Spina, F., Tummino, M. L., Poli, A., Prigione, V., Ilieva, V., Cocconcelli, P., Puglisi, E., Bracco, P., Zanetti, M., & Varese, G. C. (2021). Low density polyethylene degradation by filamentous fungi. *Environmental Pollution*, 274, 116548. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116548>
- Srikanth, M., Sandeep, T. S. R. S., Sucharitha, K., & Godi, S. (2022). Biodegradation of plastic polymers by fungi: A brief review. *Bioresources and Bioprocessing*, 9(1), 42. <https://doi.org/10.1186/s40643-022-00532-4>
- Steyer, J. T., & Todd, R. B. (2023). Branched-chain amino acid biosynthesis in fungi. *Essays in Biochemistry*, 67(5), 865-876. <https://doi.org/10.1042/EBC20230003>
- Szabados, L., & Savouré, A. (2010). Proline: A multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science*, 15(2), 89-97. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.11.009>
- Szymańska, E., Saccenti, E., Smilde, A. K., & Westerhuis, J. A. (2012). Double-check: Validation of diagnostic statistics for PLS-DA models in metabolomics studies. *Metabolomics: Official Journal of the Metabolomic Society*, 8(Suppl 1), 3-16. <https://doi.org/10.1007/s11306-011-0330-3>

- Takagi, H. (2008). Proline as a stress protectant in yeast: Physiological functions, metabolic regulations, and biotechnological applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *81*(2), 211-223. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1698-5>
- Takenaka, M., Yoshida, T., Hori, Y., Bamba, T., Mochizuki, M., Vavricka, C. J., Hattori, T., Hayakawa, Y., Hasunuma, T., & Kondo, A. (2021). An ion-pair free LC-MS/MS method for quantitative metabolite profiling of microbial bioproduction systems. *Talanta*, *222*, 121625.
- Tapia, C., & Amaro, J. (2014). Género *Fusarium*. *Revista chilena de infectología*, *31*(1), 85-86. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182014000100012>
- Techawinyutham, L., Tengsuthiwat, J., Srisuk, R., Techawinyutham, W., Mavinkere Rangappa, S., & Siengchin, S. (2021). Recycled LDPE/PETG blends and HDPE/PETG blends: Mechanical, thermal, and rheological properties. *Journal of Materials Research and Technology*, *15*, 2445-2458. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2021.09.052>
- Tretter, L., Patocs, A., & Chinopoulos, C. (2016). Succinate, an intermediate in metabolism, signal transduction, ROS, hypoxia, and tumorigenesis. *Biochimica Et Biophysica Acta*, *1857*(8), 1086-1101. <https://doi.org/10.1016/j.bbabbio.2016.03.012>
- Tzin, V., & Galili, G. (2010). The Biosynthetic Pathways for Shikimate and Aromatic Amino Acids in *Arabidopsis thaliana*. *The Arabidopsis Book / American Society of Plant Biologists*, *8*, e0132. <https://doi.org/10.1199/tab.0132>
- Valdés-Santiago, L., & Ruiz-Herrera, J. (2014). Stress and polyamine metabolism in fungi. *Frontiers in Chemistry*, *1*, 42. <https://doi.org/10.3389/fchem.2013.00042>

- van den Berg, R. A., Hoefsloot, H. C., Westerhuis, J. A., Smilde, A. K., & van der Werf, M. J. (2006). Centering, scaling, and transformations: Improving the biological information content of metabolomics data. *BMC Genomics*, 7(1), 142. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-7-142>
- van Meer, G., Voelker, D. R., & Feigenson, G. W. (2008). Membrane lipids: Where they are and how they behave. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 9(2), 112-124. <https://doi.org/10.1038/nrm2330>
- Vanderwaeren, L., Dok, R., Voordeckers, K., Nuyts, S., & Verstrepen, K. J. (2022). *Saccharomyces cerevisiae* as a Model System for Eukaryotic Cell Biology, from Cell Cycle Control to DNA Damage Response. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(19), 11665. <https://doi.org/10.3390/ijms231911665>
- Vogt, T. (2010). Phenylpropanoid biosynthesis. *Molecular Plant*, 3(1), 2-20. <https://doi.org/10.1093/mp/ssp106>
- Walsh, J. H. (2001). Ecological considerations of biodeterioration. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 48(1), 16-25. [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(01\)00063-4](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(01)00063-4)
- Wang, P., Park, H.-S., Wang, W., & Yin, W.-B. (2023). Editorial: Gene regulation of fungal secondary metabolism. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1260849. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1260849>
- Wilkie, C. A. (1999). TGA/FTIR: An extremely useful technique for studying polymer degradation. *Polymer Degradation and Stability*, 66(3), 301-306. [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(99\)00054-3](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(99)00054-3)

- Witting, M., Sillner, N., Spaggiari, D., Rudaz, S., Lintelmann, J., Schnitzler, J.-P., Begou, O. A., Theodoridis, G., Gika, H., Schmitt-Kopplin, P., & Quilliam, M. (2016). *Retention time indexing in RP-LC-MS based metabolomics for enhancing metabolite identification. A cross-lab trial.*
- Woo, S. Y., Lee, S. Y., Park, S. B., & Chun, H. S. (2024). Simultaneous determination of 17 regulated and non-regulated *Fusarium* mycotoxins co-occurring in foodstuffs by UPLC-MS/MS with solid-phase extraction. *Food Chemistry*, *438*, 137624. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137624>
- Wright, R. J., Erni-Cassola, G., Zadjelovic, V., Latva, M., & Christie-Oleza, J. A. (2020). Marine Plastic Debris: A New Surface for Microbial Colonization. *Environmental Science & Technology*, *54*(19), 11657-11672. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c02305>
- Wu, G., & Morris, S. M. (1998). Arginine metabolism: Nitric oxide and beyond. *The Biochemical Journal*, *336 (Pt 1)*(Pt 1), 1-17. <https://doi.org/10.1042/bj3360001>
- Xia, Z., Zhou, X., Li, J., Li, L., Ma, Y., Wu, Y., Huang, Z., Li, X., Xu, P., & Xue, M. (2019). Multiple-Omics Techniques Reveal the Role of Glycerophospholipid Metabolic Pathway in the Response of *Saccharomyces cerevisiae* Against Hypoxic Stress. *Frontiers in Microbiology*, *10*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01398>
- Xiong, Y., Wu, V. W., Lubbe, A., Qin, L., Deng, S., Kennedy, M., Bauer, D., Singan, V. R., Barry, K., Northen, T. R., Grigoriev, I. V., & Glass, N. L. (2017). A fungal transcription factor essential for starch degradation affects integration of carbon and nitrogen metabolism. *PLoS Genetics*, *13*(5), e1006737. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006737>

- Xu, J.-L., Thomas, K. V., Luo, Z., & Gowen, A. A. (2019). FTIR and Raman imaging for microplastics analysis: State of the art, challenges and prospects. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *119*, 115629.
- Xue, J., Wang, B., Ji, H., & Li, W. (2024). RT-Transformer: Retention time prediction for metabolite annotation to assist in metabolite identification. *Bioinformatics*, *40*(3), btae084. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btae084>
- Yang, J., Xia, X., Guo, M., Zhong, L., Zhang, X., Duan, X., Liu, J., & Huang, R. (2022). 2-Methoxy-1,4-naphthoquinone regulated molecular alternation of *Fusarium proliferatum* revealed by high-dimensional biological data. *RSC Advances*, *12*(24), 15133-15144. <https://doi.org/10.1039/d2ra02425j>
- Zamani, A. I., Barig, S., Ibrahim, S., Mohd Yusof, H., Ibrahim, J., Low, J. Y. S., Kua, S. F., Baharum, S. N., Stahmann, K.-P., & Ng, C. L. (2020). Comparative metabolomics of *Phialemonium curvatum* as an omnipotent fungus cultivated on crude palm oil versus glucose. *Microbial Cell Factories*, *19*(1), 179. <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01434-w>
- Zhao, Y., Chen, D., Duan, H., Li, P., Wu, W., Wang, X., Poapolathep, A., Poapolathep, S., Logrieco, A. F., Pascale, M., Wang, C., & Zhang, Z. (2023). Sample preparation and mass spectrometry for determining mycotoxins, hazardous fungi, and their metabolites in the environment, food, and healthcare. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *160*, 116962. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.116962>
- Zhou, W., Apkarian, R., Wang, Z. L., & Joy, D. (2007). Fundamentals of scanning electron microscopy (SEM). *Scanning microscopy for nanotechnology: techniques and applications*, 1-40.

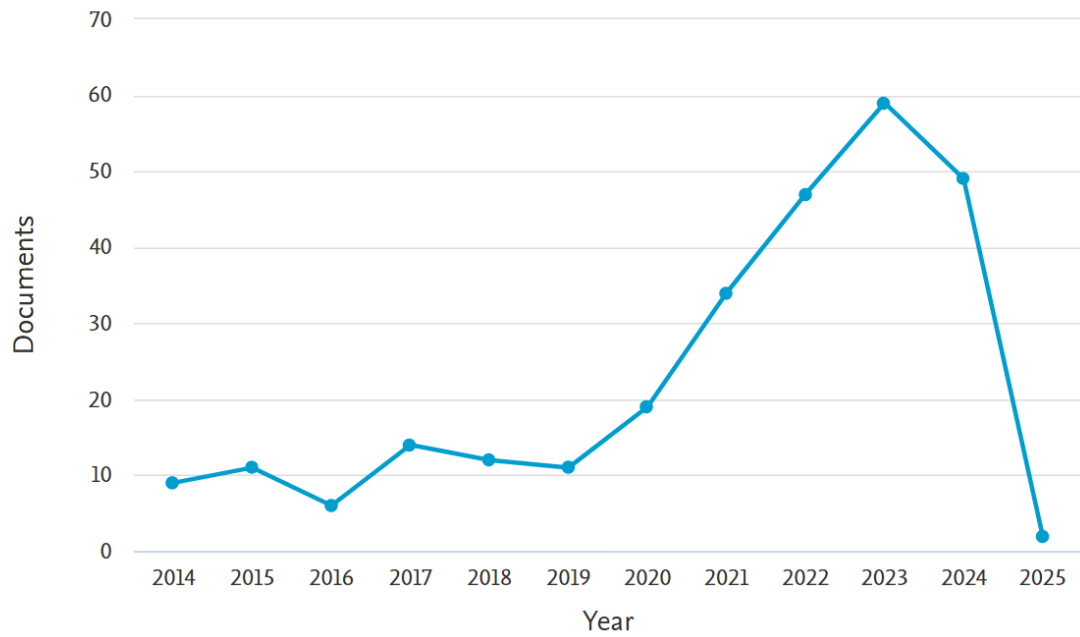


## Apéndices

**Apéndice A. Tendencia de publicaciones científicas sobre la biodegradación de plásticos mediante hongos (2014-2025)**

TITLE-ABS-KEY ( plastic AND degradation "OR" polymer AND degradation AND fungi OR microorganism ) AND PUBYEAR &gt; 2013 AND PUBYEAR &lt; 2026

Documents by year



## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

### Apéndice B. Prueba t-test de pérdida de peso del LDPE tratado con FOCIC01 tras 30 días de incubación.

Paired Sample t Test (8/11/2024 17:04:14)

Notes

|            |                      |
|------------|----------------------|
| X-Function | Paired Sample t Test |
| User Name  | silvi                |
| Time       | 8/11/2024 17:04:14   |

Input Data

|                | Data                          | Range   |
|----------------|-------------------------------|---------|
| 1st Data Range | [Book1]Sheet1!A"PESO INICIAL" | [1*:7*] |
| 2nd Data Range | [Book1]Sheet1!B"PESO FINAL"   | [1*:7*] |

Descriptive Statistics

|                | N | Mean    | SD      | SEM     |
|----------------|---|---------|---------|---------|
| "PESO INICIAL" | 7 | 3,04029 | 0,03738 | 0,01413 |
| "PESO FINAL"   | 7 | 2,89629 | 0,03023 | 0,01142 |
| Difference     |   | 0,144   |         |         |

Test Statistics

| t Statistic | DF | Prob> t    |
|-------------|----|------------|
| 38,55124    | 6  | 2,03461E-8 |

Null Hypothesis: mean1-mean2 = 0  
 Alternative Hypothesis: mean1-mean2 <> 0  
 At the 0.05 level, the difference of the population means is significantly different from the test difference(0).

### Apéndice C. Prueba t-test de pérdida de peso del LDPE tratado con FECIC02 tras 30 días de incubación.

Paired Sample t Test (8/11/2024 17:16:15)

Notes

|            |                      |
|------------|----------------------|
| X-Function | Paired Sample t Test |
| User Name  | silvi                |
| Time       | 8/11/2024 17:16:15   |

Input Data

|                | Data                          | Range   |
|----------------|-------------------------------|---------|
| 1st Data Range | [Book1]Sheet1!A"PESO INICIAL" | [1*:7*] |
| 2nd Data Range | [Book1]Sheet1!B"PESO FINAL"   | [1*:7*] |

Descriptive Statistics

|                | N | Mean    | SD      | SEM     |
|----------------|---|---------|---------|---------|
| "PESO INICIAL" | 7 | 3,02929 | 0,01612 | 0,00609 |
| "PESO FINAL"   | 7 | 3,02043 | 0,01719 | 0,0065  |
| Difference     |   | 0,00886 |         |         |

Test Statistics

| t Statistic | DF | Prob> t |
|-------------|----|---------|
| 5,95677     | 6  | 0,001   |

Null Hypothesis: mean1-mean2 = 0  
 Alternative Hypothesis: mean1-mean2 <> 0  
 At the 0.05 level, the difference of the population means is significantly different from the test difference(0).

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

### Apéndice D. Desviación estándar, coeficiente de variación y promedio de LDPE peso inicial tratado con FOCIC01.

One Sample t Test (8/11/2024 16:56:50)

Notes

|            |                    |
|------------|--------------------|
| X-Function | One Sample t Test  |
| User Name  | silvi              |
| Time       | 8/11/2024 16:56:50 |

Input Data

|              | Data                          | Range   |
|--------------|-------------------------------|---------|
| PESO INICIAL | [Book1]Sheet1!A"PESO INICIAL" | [1*:7*] |

Descriptive Statistics

|                | N | Mean    | SD      | SEM     |
|----------------|---|---------|---------|---------|
| "PESO INICIAL" | 7 | 3,04029 | 0,03738 | 0,01413 |

Test Statistics

|                | t Statistic | DF | Prob> t     |
|----------------|-------------|----|-------------|
| "PESO INICIAL" | -280,23725  | 6  | 1,39335E-13 |

Null Hypothesis: Mean = 7  
Alternative Hypothesis: Mean <> 7  
"PESO INICIAL": At the 0.05 level, the population mean is significantly different from the test mean (7).

Confidence Intervals for Mean

|                | Conf. Levels in % | Lower Limits | Upper Limits |
|----------------|-------------------|--------------|--------------|
| "PESO INICIAL" | 95                | 3,00571      | 3,07486      |

### Apéndice E. Desviación estándar, coeficiente de variación y promedio de LDPE peso final tratado con FOCIC01.

One Sample t Test (8/11/2024 16:58:54)

Notes

|            |                    |
|------------|--------------------|
| X-Function | One Sample t Test  |
| User Name  | silvi              |
| Time       | 8/11/2024 16:58:54 |

Input Data

|            | Data                        | Range   |
|------------|-----------------------------|---------|
| PESO FINAL | [Book1]Sheet1!B"PESO FINAL" | [1*:7*] |

Descriptive Statistics

|              | N | Mean    | SD      | SEM     |
|--------------|---|---------|---------|---------|
| "PESO FINAL" | 7 | 2,89629 | 0,03023 | 0,01142 |

Test Statistics

|              | t Statistic | DF | Prob> t     |
|--------------|-------------|----|-------------|
| "PESO FINAL" | -359,21535  | 6  | 3,14139E-14 |

Null Hypothesis: Mean = 7  
Alternative Hypothesis: Mean <> 7  
"PESO FINAL": At the 0.05 level, the population mean is significantly different from the test mean (7).

Confidence Intervals for Mean

|              | Conf. Levels in % | Lower Limits | Upper Limits |
|--------------|-------------------|--------------|--------------|
| "PESO FINAL" | 95                | 2,86833      | 2,92424      |

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

### Apéndice F. Desviación estándar, coeficiente de variación y promedio de LDPE peso inicial tratado con FECIC02.

One Sample t Test (8/11/2024 17:12:57)

**Notes**

|            |                    |
|------------|--------------------|
| X-Function | One Sample t Test  |
| User Name  | silvi              |
| Time       | 8/11/2024 17:12:57 |

**Input Data**

|              | Data                          | Range   |
|--------------|-------------------------------|---------|
| PESO INICIAL | [Book1]Sheet11A"PESO INICIAL" | [1*:7*] |

**Descriptive Statistics**

|                | N | Mean    | SD      | SEM     |
|----------------|---|---------|---------|---------|
| "PESO INICIAL" | 7 | 3,02929 | 0,01612 | 0,00609 |

**Test Statistics**

|                | t Statistic | DF | Prob> t     |
|----------------|-------------|----|-------------|
| "PESO INICIAL" | -651,64421  | 6  | 8,81504E-16 |

Null Hypothesis: Mean = 7  
Alternative Hypothesis: Mean <> 7  
"PESO INICIAL": At the 0.05 level, the population mean is significantly different from the test mean (7).

**Confidence Intervals for Mean**

|                | Conf. Levels in % | Lower Limits | Upper Limits |
|----------------|-------------------|--------------|--------------|
| "PESO INICIAL" | 95                | 3,01438      | 3,0442       |

### Apéndice G. Desviación estándar, coeficiente de variación y promedio de LDPE peso final tratado con FECIC02.

One Sample t Test (8/11/2024 17:13:49)

**Notes**

|            |                    |
|------------|--------------------|
| X-Function | One Sample t Test  |
| User Name  | silvi              |
| Time       | 8/11/2024 17:13:49 |

**Input Data**

|            | Data                        | Range   |
|------------|-----------------------------|---------|
| PESO FINAL | [Book1]Sheet11B"PESO FINAL" | [1*:7*] |

**Descriptive Statistics**

|              | N | Mean    | SD      | SEM    |
|--------------|---|---------|---------|--------|
| "PESO FINAL" | 7 | 3,02043 | 0,01719 | 0,0065 |

**Test Statistics**

|              | t Statistic | DF | Prob> t     |
|--------------|-------------|----|-------------|
| "PESO FINAL" | -612,37735  | 6  | 1,27988E-15 |

Null Hypothesis: Mean = 7  
Alternative Hypothesis: Mean <> 7  
"PESO FINAL": At the 0.05 level, the population mean is significantly different from the test mean (7).

**Confidence Intervals for Mean**

|              | Conf. Levels in % | Lower Limits | Upper Limits |
|--------------|-------------------|--------------|--------------|
| "PESO FINAL" | 95                | 3,00453      | 3,03633      |

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

### Apéndice H. Prueba t-test de producción de micelio de FOCIC01 producido con LDPE y glucosa.

**Paired Sample t Test (8/11/2024 18:26:14)**

**Notes**

|            |                      |
|------------|----------------------|
| X-Function | Paired Sample t Test |
| User Name  | silvi                |
| Time       | 8/11/2024 18:26:14   |

**Input Data**

|                | Data                              | Range   |
|----------------|-----------------------------------|---------|
| 1st Data Range | [Book1]Sheet1!A"MICELIO LDPE"     | [1":7"] |
| 2nd Data Range | [Book1]Sheet1!B"MICELIO GLUCOS A" | [1":7"] |

**Descriptive Statistics**

|                   | N | Mean     | SD      | SEM     |
|-------------------|---|----------|---------|---------|
| "MICELIO LDPE"    | 7 | 1,01256  | 0,1557  | 0,05885 |
| "MICELIO GLUCOSA" | 7 | 1,06111  | 0,19856 | 0,07505 |
| Difference        |   | -0,04856 |         |         |

**Test Statistics**

| t Statistic | DF | Prob> t |
|-------------|----|---------|
| -0,60601    | 6  | 0,56671 |

Null Hypothesis: mean1-mean2 = 0  
 Alternative Hypothesis: mean1-mean2 <> 0  
 At the 0.05 level, the difference of the population means is NOT significantly different from the test difference(0).

### Apéndice I. Desviación estándar, coeficiente de variación y promedio de micelio de FOCIC01 producido con LDPE.

**One Sample t Test (8/11/2024 18:20:48)**

**Notes**

|            |                    |
|------------|--------------------|
| X-Function | One Sample t Test  |
| User Name  | silvi              |
| Time       | 8/11/2024 18:20:48 |

**Input Data**

|              | Data                          | Range   |
|--------------|-------------------------------|---------|
| MICELIO LDPE | [Book1]Sheet1!A"MICELIO LDPE" | [1":7"] |

**Descriptive Statistics**

|                | N | Mean    | SD     | SEM     |
|----------------|---|---------|--------|---------|
| "MICELIO LDPE" | 7 | 1,01256 | 0,1557 | 0,05885 |

**Test Statistics**

| t Statistic    | DF         | Prob> t |             |
|----------------|------------|---------|-------------|
| "MICELIO LDPE" | -101,73987 | 6       | 6,07709E-11 |

Null Hypothesis: Mean = 7  
 Alternative Hypothesis: Mean <> 7  
 "MICELIO LDPE": At the 0.05 level, the population mean is significantly different from the test mean (7).

**Confidence Intervals for Mean**

|                | Conf. Levels in % | Lower Limits | Upper Limits |
|----------------|-------------------|--------------|--------------|
| "MICELIO LDPE" | 95                | 0,86856      | 1,15656      |

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

### Apéndice J. Desviación estándar, coeficiente de variación y promedio de micelio de FOCIC01 producido con glucosa.

One Sample t Test (8/11/2024 18:23:08)

Notes

|            |                    |
|------------|--------------------|
| X-Function | One Sample t Test  |
| User Name  | silvi              |
| Time       | 8/11/2024 18:23:08 |

Input Data

|                 | Data                              | Range   |
|-----------------|-----------------------------------|---------|
| MICELIO GLUCOSA | [Book1]Sheet1!B"MICELIO GLUCOS A" | [1*:7*] |

Descriptive Statistics

|                   | N | Mean    | SD      | SEM     |
|-------------------|---|---------|---------|---------|
| "MICELIO GLUCOSA" | 7 | 1,06111 | 0,19856 | 0,07505 |

Test Statistics

|                   | t Statistic | DF | Prob> t     |
|-------------------|-------------|----|-------------|
| "MICELIO GLUCOSA" | -79,13215   | 6  | 2,74217E-10 |

Null Hypothesis: Mean = 7  
Alternative Hypothesis: Mean <> 7  
"MICELIO GLUCOSA": At the 0.05 level, the population mean is significantly different from the test mean (7).

Confidence Intervals for Mean

|                   | Conf. Levels in % | Lower Limits | Upper Limits |
|-------------------|-------------------|--------------|--------------|
| "MICELIO GLUCOSA" | 95                | 0,87747      | 1,24476      |

### Apéndice K. Prueba t-test de producción de micelio de FECIC02 producido con LDPE y glucosa.

Paired Sample t Test (8/11/2024 18:31:35)

Notes

|            |                      |
|------------|----------------------|
| X-Function | Paired Sample t Test |
| User Name  | silvi                |
| Time       | 8/11/2024 18:31:35   |

Input Data

|                | Data                              | Range   |
|----------------|-----------------------------------|---------|
| 1st Data Range | [Book1]Sheet1!A"MICELIO LDPE"     | [1*:7*] |
| 2nd Data Range | [Book1]Sheet1!B"MICELIO GLUCOS A" | [1*:7*] |

Descriptive Statistics

|                   | N | Mean    | SD      | SEM     |
|-------------------|---|---------|---------|---------|
| "MICELIO LDPE"    | 7 | 0,81861 | 0,05015 | 0,01895 |
| "MICELIO GLUCOSA" | 7 | 0,60584 | 0,05998 | 0,02267 |
| Difference        |   | 0,21277 |         |         |

Test Statistics

|  | t Statistic | DF | Prob> t    |
|--|-------------|----|------------|
|  | 8,54919     | 6  | 1,40515E-4 |

Null Hypothesis: mean1-mean2 = 0  
Alternative Hypothesis: mean1-mean2 <> 0  
At the 0.05 level, the difference of the population means is significantly different from the test difference(0).

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

### Apéndice L. Desviación estándar, coeficiente de variación y promedio de micelio de FECIC02 producido con LDPE.

One Sample t Test (8/11/2024 18:29:20)

Notes

|            |                    |
|------------|--------------------|
| X-Function | One Sample t Test  |
| User Name  | silvi              |
| Time       | 8/11/2024 18:29:20 |

Input Data

|              | Data                          | Range   |
|--------------|-------------------------------|---------|
| MICELIO LDPE | [Book1]Sheet1!A"MICELIO LDPE" | [1*:7*] |

Descriptive Statistics

|                | N | Mean    | SD      | SEM     |
|----------------|---|---------|---------|---------|
| "MICELIO LDPE" | 7 | 0,81861 | 0,05015 | 0,01895 |

Test Statistics

|                | t Statistic | DF | Prob> t     |
|----------------|-------------|----|-------------|
| "MICELIO LDPE" | -326,13889  | 6  | 5,60821E-14 |

Null Hypothesis: Mean = 7  
Alternative Hypothesis: Mean <> 7  
"MICELIO LDPE": At the 0.05 level, the population mean is significantly different from the test mean (7).

Confidence Intervals for Mean

|                | Conf. Levels in % | Lower Limits | Upper Limits |
|----------------|-------------------|--------------|--------------|
| "MICELIO LDPE" | 95                | 0,77224      | 0,86499      |

### Apéndice M. Desviación estándar, coeficiente de variación y promedio de micelio de FECIC02 producido con glucosa.

One Sample t Test (8/11/2024 18:30:22)

Notes

|            |                    |
|------------|--------------------|
| X-Function | One Sample t Test  |
| User Name  | silvi              |
| Time       | 8/11/2024 18:30:22 |

Input Data

|                 | Data                              | Range   |
|-----------------|-----------------------------------|---------|
| MICELIO GLUCOSA | [Book1]Sheet1!B"MICELIO GLUCOS A" | [1*:7*] |

Descriptive Statistics

|                   | N | Mean    | SD      | SEM     |
|-------------------|---|---------|---------|---------|
| "MICELIO GLUCOSA" | 7 | 0,60584 | 0,05998 | 0,02267 |

Test Statistics

|                   | t Statistic | DF | Prob> t     |
|-------------------|-------------|----|-------------|
| "MICELIO GLUCOSA" | -282,06661  | 6  | 1,34001E-13 |

Null Hypothesis: Mean = 7  
Alternative Hypothesis: Mean <> 7  
"MICELIO GLUCOSA": At the 0.05 level, the population mean is significantly different from the test mean (7).

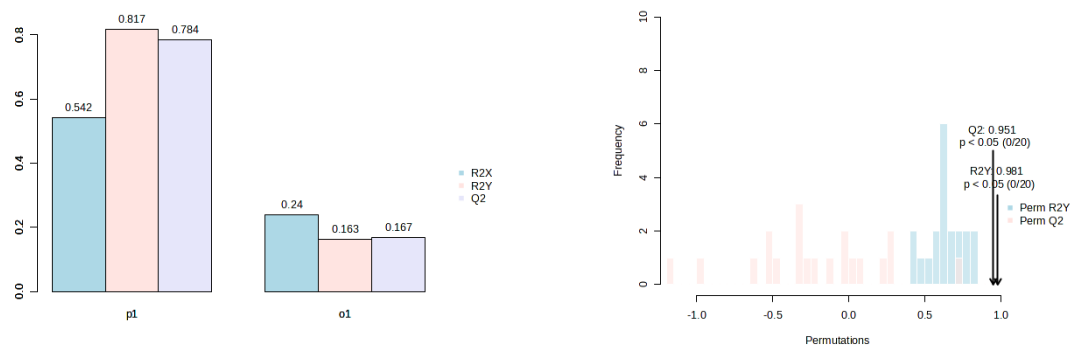
Confidence Intervals for Mean

|                   | Conf. Levels in % | Lower Limits | Upper Limits |
|-------------------|-------------------|--------------|--------------|
| "MICELIO GLUCOSA" | 95                | 0,55037      | 0,66131      |

## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

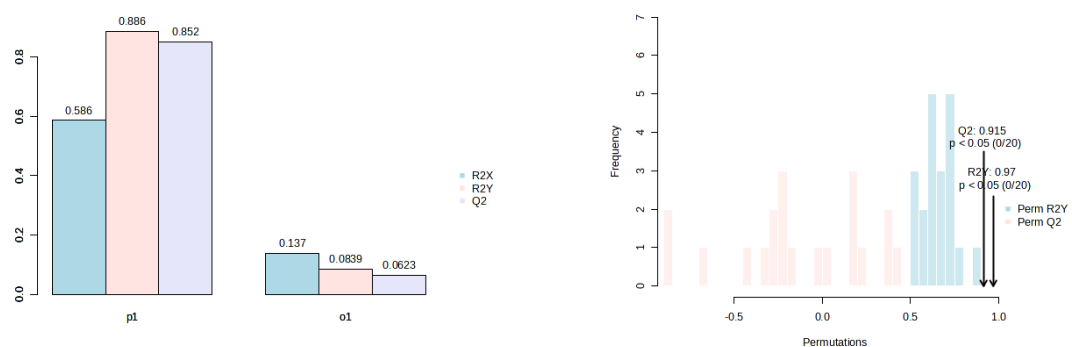
### Apéndice N. Evaluación del modelo de análisis metabolómico de FOCIC01 mediante

#### RP-LC/MS-QTOF en polaridad positiva: Valores de $R^2Y$ y $Q^2$



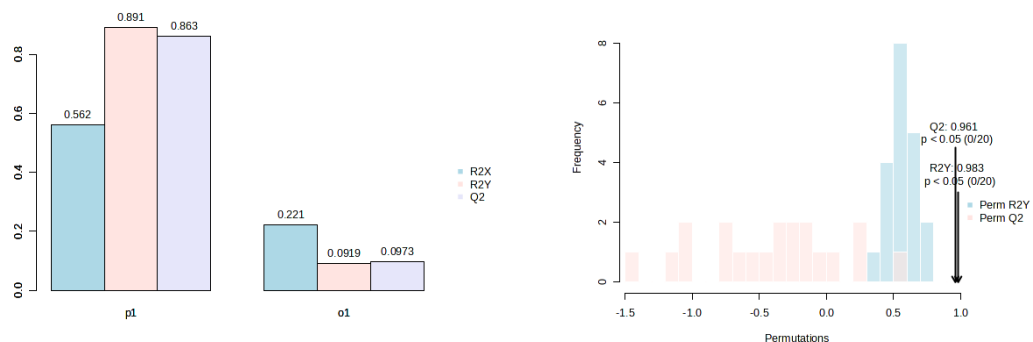
### Apéndice O. Evaluación del modelo de análisis metabolómico de FECIC02 mediante

#### RP-LC/MS-QTOF en polaridad positiva: Valores de $R^2Y$ y $Q^2$



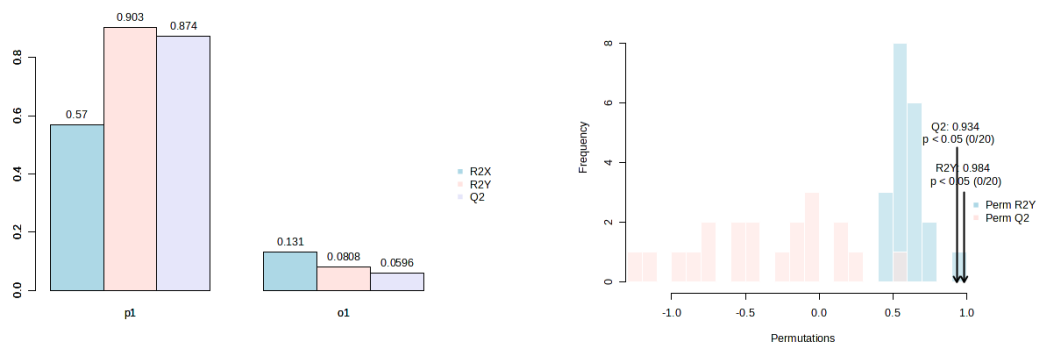
### Apéndice O. Evaluación del modelo de análisis metabolómico de FOCIC01 mediante

#### RP-LC/MS-QTOF en polaridad negativa: Valores de $R^2Y$ y $Q^2$

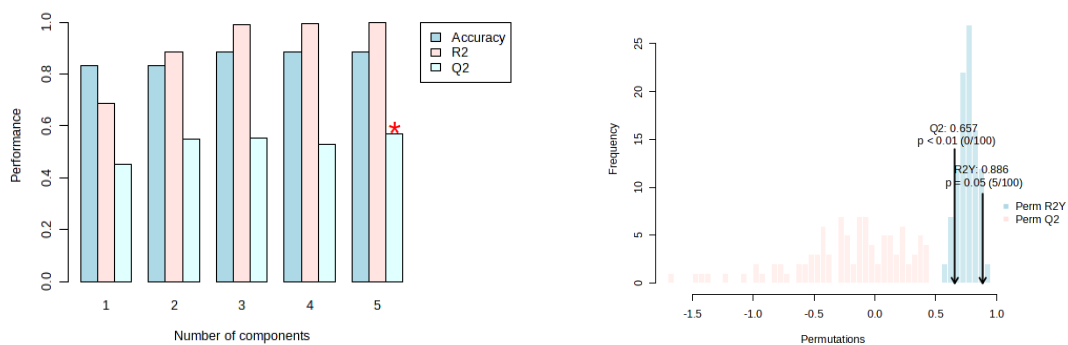


## MARCADORES METABÓLICOS EN LA BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

### Apéndice P. Evaluación del modelo de análisis metabólico de FECIC02 mediante RP-LC/MS-QTOF en polaridad negativa: Valores de R<sup>2</sup>Y y Q<sup>2</sup>



### Apéndice Q. Evaluación del Modelo de Análisis Metabolómico de FOCIC01 mediante GC-QTOF-MS: Valores de R<sup>2</sup>Y y Q<sup>2</sup>



### Apéndice R. Evaluación del modelo de análisis metabólico de FECIC02 mediante GC-QTOF-MS: Valores de R<sup>2</sup>Y y Q<sup>2</sup>

