

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL**

**Facultad Ciencias de la Vida**

COMPARACION DE LA CAPACIDAD DE BIODEGRADACION  
DE PLASTICOS DE UN SOLO USO POR  
MICROORGANISMOS AISLADOS VERSUS CONSORCIOS  
MICROBIANOS.

**PROYECTO INTEGRADOR**

Previo la obtención del Título de:

**BIÓLOGO**

Presentado por:

Galo Fernando Gutiérrez Cevallos

GUAYAQUIL - ECUADOR

Año: 2022

## **AGRADECIMIENTOS**

Mi más sincero agradecimiento a la PhD. Nardy Diez por la confianza y todas las experiencias compartidas durante el desarrollo del proyecto. Al Ing. Jeffrey Vargas, por la predisposición a ayudar y compartir sus conocimientos. Al CIBE por poner a disposición sus instalaciones y equipos para la ejecución del proyecto.

A mi familia por el constante apoyo y las palabras de motivación para seguir adelante y conseguir esta meta tan anhelada.

## DECLARACIÓN EXPRESA

“Los derechos de titularidad y explotación, me corresponde conforme al reglamento de propiedad intelectual de la institución; *Galo Fernando Gutiérrez Cevallos* doy mi consentimiento para que la ESPOL realice la comunicación pública de la obra por cualquier medio con el fin de promover la consulta, difusión y uso público de la producción intelectual”.



Galo Fernando Gutiérrez Cevallos

# EVALUADORES



Firmado electrónicamente por:  
**NARDY DEL  
VALLE DIEZ  
GARCIA**

---

**Nombre del Profesor**

Diego Gallardo Polit

---

**Nombre del Profesor**

Nardy Diez García PhD

## RESUMEN

La producción del plástico incrementa año a año debido a la gran diversidad de usos de estos polímeros sintéticos para satisfacer la demanda de la industria y de una población que crece en gran medida. La forma incorrecta de desechar y manejar los plásticos de un solo uso y los indeterminados tiempos de degradación que tienen la mayoría de estos polímeros esta provocando graves impactos en los ecosistemas, en la salud animal e incluso afectando la salud humana. Para enfrentar este problema ambiental, desde hace varios años se han investigado el uso de organismos vivos para degradar este tipo de materiales. Este trabajo es la continuación de resultados previos en el que se uso el consorcio comercial de microorganismos sugiriendo incrementar las dosis para evaluar el potencial de degradación de estos sobre el poliestireno. La fase experimental consistió en la comparación de dos dosis del consorcio comercial (2mg/100 ml y 5mg/ 100ml) con un hongo endófito del cacao en platos de poliestireno en condiciones normal y platos de poliestireno Fotooxidado (300 horas de radiación UV). Los resultados demostraron que tanto las bacterias del consorcio comercial de microorganismos como el hongo fueron capaces de colonizar el plástico al utilizarlo como fuente de carbono y formar una biopelícula sobre la lamina superficial, el peso promedio máximo de biomasa generado llego a 0,0118 g producido por la dosis de 2mg/100ml. Con relación al porcentaje de degradación se encontró que la dosis de 5mg/100ml fue la que produjo el mayor porcentaje alcanzando el 1,87% sobre el plato Fotooxidado ya que este tratamiento previo cumple un rol muy importante facilitando el proceso de colonizacion para los organismos debido al incremento de la porosidad en el material y cambios producidos en la estructura química principalmente en los cambios en los enlaces carbono-carbono.

**Palabras Clave:** consorcio de microorganismos, hongo, degradación, poliestireno, fotooxidación.

## **ABSTRACT**

*Plastic production is increasing year by year due to the great diversity of uses of these synthetic polymers to satisfy the demand of the industry and of a population that is growing to a great extent. The incorrect disposal and handling of single-use plastics and the indeterminate degradation times of most of these polymers are causing serious impacts on ecosystems, animal health and even affecting human health. To address this environmental problem, the use of living organisms to degrade these materials has been investigated for several years. This work is the continuation of previous results in which the commercial consortium of microorganisms was used, suggesting to increase the doses to evaluate the degradation potential of these microorganisms on polystyrene. The experimental phase consisted of the comparison of two doses of the commercial consortium (2mg/100 ml and 5mg/ 100ml) with an endophytic cocoa fungus on polystyrene plates under normal conditions and photooxidized polystyrene plates (300 hours of UV radiation). The results showed that both the bacteria of the commercial consortium of microorganisms and the fungus were able to colonize the plastic by using it as a carbon source and form a biofilm on the surface sheet, the maximum average weight of biomass generated reached 0.0118 g produced by the dose of 2mg/100ml. In relation to the percentage of degradation, it was found that the 5mg/100ml dose was the one that produced the highest percentage reaching 1.87% over the photooxidized plate, since this pretreatment plays a very important role in facilitating the colonization process for the organisms due to the increase of porosity in the material and changes produced in the chemical structure, mainly in the changes in the carbon-carbon bonds.*

**Keywords:** *microorganism consortium, fungus, degradation, polystyrene, photooxidation.*

# ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	I
ABSTRACT.....	II
ÍNDICE GENERAL .....	III
ABREVIATURAS.....	V
SIMBOLOGÍA .....	VI
ÍNDICE DE FIGURAS .....	VII
ÍNDICE DE TABLAS .....	VIII
<b>CAPÍTULO 1 .....</b>	<b>1</b>
<b>1 INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Descripción del problema.....	1
1.2 Justificación .....	1
1.3 Objetivos.....	3
1.3.1 Objetivo General.....	3
1.3.2 Objetivos Específicos .....	3
1.4 Marco teórico .....	3
<b>CAPÍTULO 2 .....</b>	<b>8</b>
<b>2 METODOLOGÍA .....</b>	<b>8</b>
2.1 Investigación previa.....	8
2.2 Preselección del hongo .....	8
2.3 Diseño del experimento.....	9
2.4 Evaluación de la biodegradación .....	10
2.4.1 Biomasa .....	10
2.4.2 Estéreo microscopía .....	10
2.5 Análisis Estadístico.....	11
2.6 Espectrometría infrarroja por transformada de Fourier (FTIR). .....	11

<b>CAPÍTULO 3</b> .....	13
<b>3 RESULTADOS Y ANÁLISIS</b> .....	13
3.1 Resultados.....	13
3.1.1 Biomasa .....	14
3.1.2 Estéreo microscopia .....	15
3.1.3 Análisis de varianza.....	16
3.1.4 Prueba de comparaciones múltiples.....	17
3.1.5 Espectrometría infrarroja por transformada de Fourier.....	18
3.2 Discusión .....	19
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	20
<b>4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b> .....	20
4.1 Conclusiones .....	20
4.2 Recomendaciones.....	20
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	22



## ABREVIATURAS

COA	Código orgánico del ambiente
ANOVA	Análisis de una varianza
PET	Tereftalato de Polietileno
HDPE	Polietileno de alta densidad
LDPE	Polietileno de baja densidad
PP	Polipropileno
PU	Poliuretano
PS	Poliestireno
EPS	Poliestireno expandido
FTIR	Infrarrojos por transformada de Fourier

## **SIMBOLOGÍA**

g	Gramo
mg	Miligramo
mL	Mililitro
°C	Grados Celsius
rpm	Revoluciones por minuto
mm	Milímetros

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 Representación gráfica del experimento .....	9
Figura 3.1 Procentaje de degradacion .....	14
Figura 3.2 Biomasa generada.....	15
Figura 3.3 Estereomicroscopia del poliestieno normal .....	16
Figura 3.4 Comparaciones multiples.....	17
Figura 3.5.- Espectrometría infrarroja por transformada de Fourier.....	17

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 3.1 Porcentaje de degradación.....	13
Tabla 3.2 Promedio de biomasa generada.....	14
Tabla 3.4 Analisis de varianza de dos factores.....	16

# CAPÍTULO 1

## 1 INTRODUCCIÓN

### 1.1 Descripción del problema

A partir de los años 50 fueron desarrollados los polímeros que conocemos en la actualidad para la fabricación de plásticos de un solo uso, a partir de entonces muchos materiales fueron reemplazados por el plástico debido a la versatilidad de usos que tiene este material. Si bien inicialmente el uso del plástico se lo vio una solución a muchos problemas para la industria por el bajo costo de producción y su durabilidad, hoy en día el uso excesivo y el mal manejo de los mismos está provocando graves problemas ambientales.

El mayor porcentaje del plástico que se fabrica a nivel mundial es de un solo uso, una vez que cumplen su función son desechados o manejado de forma no apropiada. Como consecuencia de esto la contaminación por plástico genera números impactos negativos en la salud humana y a los ecosistemas terrestres y marinos. Un ejemplo de esto es que anualmente llegan a los océanos cerca de 12 millones de toneladas métricas y se estima que la acumulación de estos materiales en el océano hasta el momento asciende a 150 millones de toneladas métricas de plástico que afectan a una gran variedad de especies. (WWF, 2019).

### 1.2 Justificación

Para el desarrollo de este trabajo se ha tomado como referencia los objetivos del desarrollo sostenible, específicamente el objetivo doce que propone "garantizar modalidades de consumo y producción sostenibles con el fin de lograr la gestión ecológicamente racional de los productos químicos y de todos los desechos a lo largo de su ciclo de vida, de conformidad con los marcos internacionales convenidos, y reducir significativamente su liberación a la atmósfera, el agua y el suelo a fin de minimizar sus efectos adversos en la salud humana y el medio ambiente" (NN.UU., 2015)

Para cumplir con este objetivo en Ecuador en diciembre del 2020 la Asamblea Nacional aprobó la Ley Orgánica para la Racionalización, Reutilización y Reducción de plásticos de un solo uso, la cual contempla el uso de plásticos biodegradables, es decir, que puedan descomponerse en condiciones normales del ambiente con la intervención de agentes biológicos como microorganismos o plantas. Esta ley requiere que el tiempo de degradación no supere los 24 meses, además, los productos que cumplan con estas características deberán obtener la certificación correspondiente (Asamblea Nacional, 2020).

Adicional a esto el código orgánico del ambiente en su libro tercero de la calidad del ambiente, título V "Gestión integral de residuos y desechos", en el capítulo II sobre "Gestión integral de residuos y desechos sólido no peligrosos", Artículo 225.- "Políticas generales de la gestión integral de los residuos y desechos" numeral 6 que hace referencia al "fomento de la investigación, desarrollo y uso de las mejores tecnologías disponibles que minimicen los impactos al ambiente y la salud humana" (COA, 2017) lo que motiva a buscar alternativas amigables con el ambiente con el fin de dar solución a los problemas ambientales ocasionados por el manejo irresponsable de los plásticos de un solo uso.

Una de las medidas para el manejo de estos desechos que se está utilizando actualmente es el reciclado, de esta forma muchos de los materiales plásticos son reutilizados para la fabricación de nuevos materiales. El problema es que no todos los polímeros pueden ser reciclados con facilidad y ser reutilizados, uno de estos es el poliestireno (PS), es por esto que se busca alternativas innovadoras para el manejo de estos polímeros.

Con ayuda de la biotecnología se puede desarrollar diferentes vías alternativas que ayuden a degradar plásticos de un solo uso, es decir, poder degradarlos o transformarlos en moléculas más simples con ayuda de organismos vivos como bacterias y hongos, para ser eliminados más rápidamente del medio ambiente.

## **1.3 Objetivos**

### **1.3.1 Objetivo General**

Comparar la capacidad de degradación de microorganismos aislados y de un consorcio microbiano sobre plásticos de un solo uso, medida por la reducción general del material para establecer la efectividad de ambos modelos en la degradación del poliestireno.

### **1.3.2 Objetivos Específicos**

1. Determinar el nivel de degradación del plástico mediante el análisis del cambio de biomasa, grado de colonización y la reducción de peso del poliestireno entre ambos modelos.
2. Analizar la efectividad de ambos modelos en el proceso de degradación del poliestireno mediante un análisis estadístico.

## **1.4 Marco teórico**

En la actualidad, el planeta enfrenta uno de los problemas ambientales más serios de la historia a causa de la contaminación por plásticos. Debido a que la producción de estos materiales es sencilla y tiene costos bajos, la industria ha incurrido en la sobre producción de los mismos con el fin de cubrir la demanda de consumo de una población mundial en aumento. Por ejemplo, en el año 2019 de acuerdo a Nature conservancy la producción de plásticos por año ascendía a 460 millones de toneladas de plástico, de este total producido anualmente el 50% es desechado después de un solo uso (Nature, 2021), de esto una gran cantidad, entre 4,8–12,7 millones de toneladas métricas de plástico al año llega a los océanos donde se acumula (Haward, 2018). Según el American chemistry council, se prevé que para el 2050 la producción de plásticos se duplique, aumentando la cantidad de desechos plásticos mal manejados que llegan a los diferentes ecosistemas del mundo (Parker, 2020).

La industria del plástico ha tenido grandes avances desde su aparición que actualmente se conocen más de 300 tipos diferentes de plásticos de los cuales 60 son los de mayor

producción a nivel mundial, entre los cuales tenemos a él polietileno (PE), polipropileno (PP), cloruro de polivinilo (PVC), poliuretano (PU), la resina fenólica, el poliestireno (PS), entre otros. (Chen et al., 2021). El Poliestireno es un polímero muy utilizado en el sector de envasado y embalaje gracias a los beneficios que brinda como la protección contra impactos, el aislamiento térmico. Además, es un material sumamente liviano y maleable característica que le permite adaptarse a las necesidades de cada producto a proteger (Samper, M.D, 2008).

A pesar de que el PS puede presentar soluciones para conservación de temperatura de alimentos, empaquetado, e incluso en construcción, este también está causando problemas ambientales debido a que es considerado un material que no se degrada ya que puede tardar miles de años en ocurrir, además, la fabricación de PS genera grandes cantidades de gases de efecto invernadero, así como desechos líquidos y sólidos (Merrington, 2011). Al ser desechado el PS enfrenta condiciones ambientales que pueden complicar su eliminación. Estudios realizados sobre el material han demostrado que su estructura química dificulta que este polímero sea atacado por los microorganismos y lo degrade. Sin embargo, es esta misma estructura la que permite al PS absorber grandes cantidades de luz UV que romper los enlaces de carbono dando como resultado la oxidación fotoquímica del material promoviendo la fragmentación en partículas más pequeñas (Ward et al., 2019) de esta forma puede llegar a afectar a la cadena trófica al ingresar en ella, a su vez arrastrando otros contaminantes que pueden bioacumularse y biomagnificarse (Castelvetto et al., 2021). Otros estudios han revelado que la radiación UV produce la oxidación parcial de las moléculas de PS, debido a estas reacciones se producen productos de descomposición que contienen oxígeno en su estructura molecular como el CO<sub>2</sub> y que son los microorganismos quienes son capaces de oxidar completamente PS a CO<sub>2</sub> (Kershaw, 2015).

El consumo masivo y la creciente producción de plástico lleva a buscar alternativas que sean sostenibles en el tiempo y amigables con el ambiente apoyándose en la biotecnología ya que los métodos actuales para eliminar estos desechos (incineración, vertederos y reciclaje) tienen un costo enorme, no son sostenibles y suponen una carga mayor para el ambiente (Amobonye et al., 2021). Existen estudios previos sobre como los sistemas biológicos son capaces de degradar los plásticos de un solo uso utilizando



su estructura molecular como fuente de carbono, previniendo la producción de microplásticos y demás productos de desechos que puedan agravar aún más los problemas ya existentes en el planeta, esto se debe a que durante miles de años estos organismos han evolucionado para transformar y mineralizar diferentes compuestos, incluidos los xenobióticos (Amobonye et al., 2021).

Con ayuda de la biotecnología se están estudiando la capacidad de diversos organismos de degradar plásticos de un solo uso como el PS. Algunas bacterias y hongos tienen la capacidad de formar biopelículas sobre la capa superficial del PS y muchos de estos microorganismos pueden alterar las propiedades químicas del material haciéndolo más susceptible a los procesos de degradación (Kim et al., 2021). Otros organismos como los gusanos de la harina específicamente las larvas de *Tenebrio molitor* mastican y comen espuma de poliestireno y polietileno (Liu et al., 2022; Yang et al., 2015).

En el estudio realizado por Mor y Sivan denominado "Formación de biopelículas y biodegradación parcial de poliestireno por el actinomiceto *Rhodococcus ruber*" lograron determinar que la bacteria fue capaz de colonizar el polietileno y utilizarlo como única fuente de carbono y energía, realizaron el monitoreo de la cinética de formación de biopelículas sobre poliestireno, determinaron la actividad fisiológica de la biopelícula y probando la capacidad del microorganismo para degradar poliestireno puro (2008). Otros estudios se han realizado analizando el microbiota de insectos como, por ejemplo, Aislamiento, identificación y caracterización de bacterias degradadoras de poliestireno del intestino de larvas de *Galleria Mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae), donde se aisló del intestino de las larvas de *Galleria mellonella* una bacteria degradadora de PS que fue identificada como *Massilia* sp. FS1903, una vez que las larvas fueron alimentadas con PS realizaron análisis como microscopía electrónica de barrido y espectrometría de dispersión de energía de rayos X con lo que pudieron determinar que la estructura y la morfología de la película de PS fue destruida por la bacteria aislada lo que demuestra el potencial uso de la bacteria en la degradación del PS (Jiang et al., 2021).

Otra alternativa estudiada en la biodegradación de plásticos de un solo uso es con la ayuda de consorcios microbianos que se define como "una asociación natural de dos o más poblaciones microbianas de diferentes especies que actúan de forma conjunta

como una comunidad en un sistema complejo” (Kwang Joong et al., 2002), esta asociación refleja sinergia donde el crecimiento y el ciclo de nutrientes se conduce con mayor eficiencia que en las poblaciones individuales (Ochoa Carreño & Montoya Restrepo, 2010). Con este concepto se sabe que la degradación del plástico de un solo uso puede aumentar aún más por la actividad cooperativa de múltiples especies microbianas. Esto se ha demostrado en un estudio analizar de viabilidad de utilizar un consorcio microbiano para degradar polietileno (PE) ya que el uso excesivo de este ha llevado a una acumulación significativa de desechos plásticos en los suelos agrícolas.

Para el estudio se utilizaron dos nuevas cepas de *Arthrobacter sp.* y *Streptomyces sp.* que se aislaron de suelos agrícolas y se demostró que crecían con el PE como única fuente de carbono. Las bacterias del género *Arthrobacter sp.* crecieron principalmente en la fase de suspensión del cultivo, y las del género *Streptomyces sp.* formaron biopelículas en la superficie del PE, lo que indica que estas cepas eran de diferentes tipos metabólicos y ocupaban diferentes microambientes con diferente acceso a nutrientes (Han et al., 2020). Estudios como estos brinda nuevos conocimientos para nuevas alternativas en la biodegradación de plásticos de un solo uso, ya que hasta el momento se conoce diversos géneros y especies de bacterias que degradan los polímeros plásticos como *Brevibacillus borstelensis*, *Rhodococcus ruber*, *Pseudomonas chlororaphis*, *Pseudomonas putida AJ*, *Thermomonospora fusca*, *Alcaligenes faecalis*, *Clostridium sp.*, etc. (Jaiswal et al., 2020).

Otra alternativa que se ha venido estudiando desde hace varios años es el uso de hongos para la degradación de plásticos de un solo uso. Tal es el caso de un estudio realizado utilizando especies del género *Curvularia* que es un patógeno facultativo, o socio beneficioso de muchas especies de plantas y común en el suelo (Madrid et al., 2019) donde demostraron que las hifas del hongo se habían adherido y habían penetrado en la estructura del polímero. Las muestras del poliestireno oxidado que fueron utilizadas en el estudio fueron analizadas con espectroscopia infrarroja transformada de Fourier (FTIR) con lo que se identificó que la recibir el tratamiento químico oxidativo se formaron grupos carbonilos e hidroxilos lo que ayudo a la colonización del PS por parte del hongo (Motta et al., 2009). Las enzimas producidas por estos organismos, que han sido aisladas de basidiomicetos y de ascomicetos son de

gran interés ya que producen una gran variedad de compuestos especializados en la degradación de sustancias recalcitrantes lo que los convierte en una potencial alternativa en el área de degradación de plásticos. Dentro de este grupo de enzimas se encuentran las lacasas y peroxidasas, que generalmente son utilizadas por los hongos para degradar la lignina, las mismas muestran buenos resultados en la degradación del polietileno (PE) y el cloruro de polivinilo (PVC), mientras que las esterasas como las cutinasas y las lipasas se utilizaron han sido utilizadas con éxito para degradar el tereftalato de polietileno (PET) y el poliuretano (PUR).

# CAPÍTULO 2

## 2 METODOLOGÍA

### 2.1 Investigación previa

Este trabajo fue desarrollado como continuación de una serie de trabajos previos sobre bioprospección de organismos para la degradación de plásticos de un solo uso y evaluación de la biodegradación de plásticos de un solo uso a partir de un consorcio de microorganismos. Para la ejecución de estos trabajos de investigación se utilizaron platos de poliestireno expandido (EPS) en condiciones normales y platos de poliestireno fotooxidado, es decir sometido a un proceso de fotooxidación por un periodo de 300 horas con radiación UV. Junto a estos materiales se seleccionaron diferentes organismos como hongos y bacterias.

Una vez creados los diferentes tratamientos las muestras de plásticos junto con los microorganismos fueron incubadas en un medio salino, para asegurarse de que la fuente de carbono utilizada por ellos sea el EPS. La incubación fue realizada por 30 días tiempo promedio en el que se espera que los microorganismos hayan colonizado el sustrato. Al finalizar este periodo las muestras de EPS fueron evaluadas por cambio en la biomasa, microscopía y espectrometría infrarroja por transformada de Fourier, análisis que fue realizado previo a la incubación.

### 2.2 Preselección del hongo

Inicialmente para este proyecto se seleccionó un grupo de cuatro especies diferentes de hongos provenientes de muestras de suelo y otros endófitos del cacao.

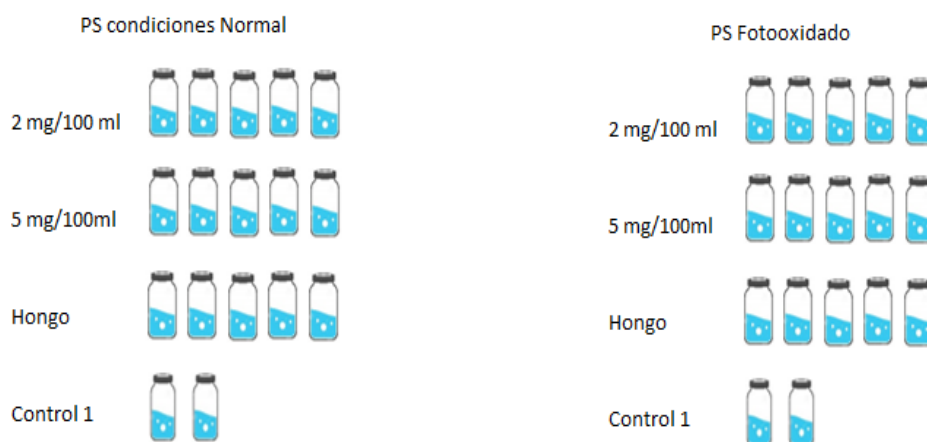
Fueron establecidos dos tratamientos diferentes uno con EPS en condiciones normales y el otro con EPS fotooxidado por 300 horas para cada uno de los cuales se realizaron dos réplicas. Los microorganismos junto con las muestras de plástico (30 discos de aproximadamente 7mm de diámetro) fueron incubados en 30 ml de un medio mineral ( $KH_2PO_4$  0.1%,  $NaH_2PO_4$  0.25%, NaCl 0.10%,  $(NH_4)_2SO_4$  0.20%,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.005%,  $CaCl_2$  0.005%, Tryptone 0.20%) en frascos de aproximadamente 250 ml de capacidad.

El tiempo de incubación fue de 15 días a una temperatura de 27 °C sin agitación. Posterior a esto se determinó cambios en la biomasa y la degradación del poliestireno para seleccionar el hongo que haya tenido mejor resultados y utilizarlo en el experimento principal.

### 2.3 Diseño del experimento

El experimento principal se compone de un análisis de dos tratamientos. El primero con muestras de EPS en condiciones normales. Para el segundo tratamiento, se utilizó platos de EPS que fueron sometidos a un tratamiento previo de fotooxidación con 300 horas de luz ultravioleta con lo que se busca simular la exposición a la que se expondría un plato en el ambiente junto con dos dosis diferentes del consorcio microbiano (2mg/100ml y 5mg/100ml) y el hongo que haya sido preseleccionado.

Para cada tratamiento se realizaron 5 réplicas en frascos con capacidad de 250 mL aproximadamente (Figura 2.1) con 30 piezas de EPS de 7 mm de diámetro y 30 mL del medio mineral descrito en la etapa de preselección del hongo. Se realizó un control por cada tratamiento, el primero de ellos con el medio mineral y PS en condiciones normales sin consorcio ni hongos y para el segundo tratamiento se colocó medio mineral con el EPS fotooxidado y sin consorcio de microorganismos ni hongos, para descartar la posibilidad de contaminación y la alteración de los resultados del experimento como la degradación del plástico o aumento en la biomasa.



**Figura 2.1 Representación gráfica del experimento principal.**

## 2.4 Evaluación de la biodegradación

Una vez transcurridos los 30 días de incubación, se retiraron los frascos de la incubadora observar los cambios en el plástico producido por las bacterias y el hongo. Se debe determinar si se liberaron partículas de las muestras de EPS en el líquido, por lo que las muestras fueron centrifugadas por 5 minutos a 10000 rpm para observar si existía material precipitado. Para separar del poliestireno la capa de biomasa generada durante la incubación se realizaron lavados con una solución Twin al 0.05% por 3 ocasiones, después de cada lavado se centrifuga el plástico con la solución en tubos de 50 ml a 10 °C, 10000 rpm durante 5 minutos (Mejía et al., 2021).

Posterior a los lavados, el material fue preparado dejándolo secar durante 24 horas a 60°C para asegurarse de que estén libres de humedad para la evaluación de la biomasa y el análisis con el estereoscopio lo que permitirá determinar la capacidad de los microorganismos de colonizar el plástico y utilizarlo como única fuente de carbono disponible. Para determinar el porcentaje de degradación de plástico se utilizó la siguiente ecuación (ecuación 2.1):

$$\% \text{ pérdida de peso} = \frac{\text{peso inicial} - \text{peso final}}{\text{peso inicial}} * 100 \quad (2.1)$$

### 2.4.1 Biomasa

Para calcular la biomasa, es decir, la cantidad de materia viva de origen vegetal o animal presente en un momento dado en un área determinada (García & Martínez, 2014). Se utilizó una balanza analítica, esta medida nos ayudó a estimar la cantidad de microorganismos que lograron fijarse al sustrato para degradarlo utilizándolo como fuente de carbono.

### 2.4.2 Estéreo microscopía

La estéreo microscopía permitió observar de cerca el proceso de colonización de las bacterias y el hongo en los sustratos, específicamente la formación del biofilm determinando la diferencia en la cantidad de fijación de los microorganismos entre los tratamientos. Para identificar el biofilm se analizaron características macroscópicas, por

lo que cada pieza de plástico fue teñida con azul de lactofenol y posteriormente observadas en estereoscopio.

## **2.5 Análisis Estadístico**

Los datos cuantitativos permitieron identificar cuál de los sistemas establecidos presenta más efectividad en la degradación. Para esto se utilizaron herramientas estadísticas como el análisis de varianza de dos factores para determinar el efecto de la dosis de consorcio microbiano y el hongo sobre el plástico, es decir, si ha sido degradado y si existen diferencias significativas entre ellos, bajo la hipótesis de que todas las observaciones realizadas con respecto a la degradación del plástico son igual es media y varianza (King, 2016).

Una vez realizado el análisis de varianza si se presentan medias comparadas con diferencias significativas, se realizará la prueba de Fisher de comparaciones múltiples con la que se identificó cuál de las medias en el porcentaje de degradación presenta diferencias significativas que permitan establecer el modelo planteado que tuvo mayor efectividad en la degradación.

## **2.6 Espectrometría infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).**

Es una técnica que permitió detectar múltiples parámetros sobre la composición y la estructura química del plástico empleado para las pruebas. Mediante el uso de este análisis se pudo recopilar datos espectrales de absorción del material con relación a los enlaces químicos y a la estructura del polímero a través de las diferentes longitudes de onda en la región electromagnética del infrarrojo (Mata-Miranda et al., 2017).

# CAPÍTULO 3

## 3 RESULTADOS Y ANÁLISIS

### 3.1 Resultados

Una vez transcurridos los 30 días de incubación determinamos el porcentaje de degradación del plástico considerando las variaciones en el peso del mismo. El promedio de los porcentajes de degradación calculados se muestra en la tabla 3.1

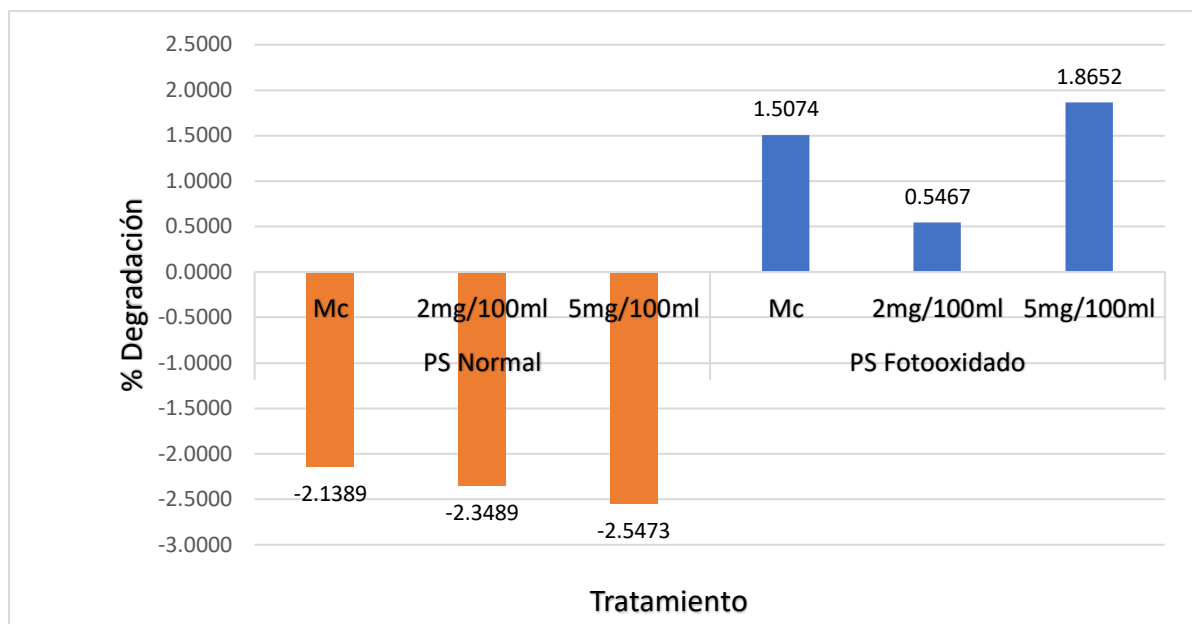
**Tabla 3.1.- Porcentajes de degradación**

Tratamiento	Mc	2mg/100ml	5mg/100ml
PS normal	-2.1389	-2.3489	-2.5473
PS Fotooxidado	1.5074	0.5467	1.8652

La figura 3.1 nos muestra que en el caso del PS en condiciones normales no fue posible determinar el porcentaje de degradación. Los valores negativos, son un indicativo de que el peso final del plástico fue mayor al peso inicial debido a la biomasa que logro adherirse a la superficie del poliestireno.

Con relación al PS fotooxidado los valores positivos indican que, si existió degradación, el peso final del plástico fue menor al peso inicial debido a la actividad de los microorganismos sobre el material y a la fragmentación del material producida por la radiación UV. El mayor porcentaje de degradación fue alcanzado por el hongo y la dosis de 5mg/100ml del consorcio con 1.5074% y 1.8657% respectivamente.





**Figura 3.1 Porcentaje de degradación.**

### 3.1.1 Biomasa

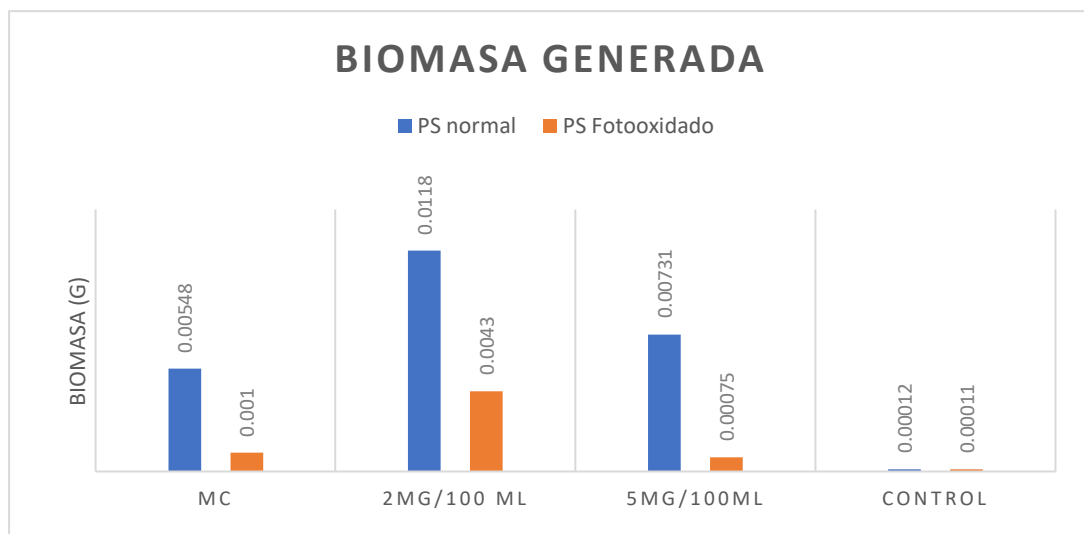
Para determinar la biomasa generada durante los 30 días de incubación se calculó la variación entre el peso inicial del poliestireno y el peso final una vez cumplido el tiempo.

En la tabla 3.2 se muestran los promedios obtenidos de las diferencias entre los pesos iniciales y finales para todas las réplicas de los tratamientos junto con el control. En el caso del poliestireno en condiciones normales la dosis de 2mg/100ml fue la que generó mayor incremento con 0.0118 g, es decir, que el peso final fue mayor al peso inicial a causa de la biomasa fijada al plástico, en contraste la dosis que generó menor biomasa como se demuestra en la tabla 3.2 fue el hongo con 0.00548 g esto debido a la degradación que se produce una vez que los microorganismos han colonizado el material para utilizarlo como fuente de carbono.

**Tabla 3.2 Promedio de biomasa generada**

Tratamiento	Mc (g)	2mg/100 ml (g)	5mg/100ml (g)	Control (g)
PS normal	0.00548	0.0118	0.00731	0.00012
PS Fotooxidado	0.001	0.0043	0.00075	0.00011

Para el poliestireno fotooxidado los cálculos realizados para determinar la biomasa dieron valores inferiores con relación al plástico sin tratamiento previo. La figura 3.2 muestra que con la dosis de 2mg/100ml del consorcio de microorganismos se produjo la mayor cantidad de biomasa adherida al plástico con 0.0043 g, por el contrario, la menor cantidad de biomasa adherida al plástico se generó con la dosis de 5mg/100ml de consorcio con 0.00075 g. Debe tenerse en cuenta que mucha de la biomasa para ambos tratamientos puede haberse perdido durante los lavados sucesivos del plástico.



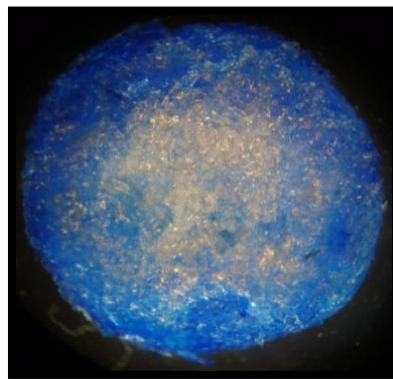
**Figura 3.2.- Biomasa Generada.**

### 3.1.2 Estéreo microscopia

Una vez cumplido el periodo de incubación se tiñó el plástico para identificar las zonas en que los microorganismos había logrado colonizar, al analizarlos en el estereoscopio se encontró que todos presentaban colonización ya que tenían muchas zonas teñidas. La dosis de 2mg/100ml del consorcio fue la que presento mayor biomasa y al momento de tinción se pudo observar como gran parte del plástico de color azul como se muestra en la figura 3.3. La dosis de 5mg/100ml y el hongo mostraron valores cercanos en la biomasa generada que colonizo el plástico por lo que se realizó una tabla comparativa (Tabla 3.3) de la actividad de ambos con respecto a la biopelícula formada sobre la capa superficial del plástico y la degradación producida por los microorganismos. Para la dosis de 5mg/100ml se observó mayor tinción del plástico lo que está acorde a los datos obtenidos de la cantidad de biomasa generada, en el caso del hongo, aunque la

producción de biomasa fue la menor se pudo observar con la tinción una gran cantidad de áreas colonizadas.

Para el PS fotooxidado la radiación UV incremento la porosidad del material, debido a esto se infiere que fue más fácil para los microorganismos fijarse al plástico llegando hasta las capas más internas teñidas de azul intenso como se puede observar en la tabla 3.3. Las imágenes correspondientes al PS Fotooxidado tratados con el hongo y la dosis de 5mg/100ml presentan áreas sin teñir similares a orificios en la superficie del plástico, son regiones donde el plástico ha sido degradado por los organismos demostrando que el proceso previo de fotooxidación facilita la colonización y degradación por los cambios en la estructura del material que este proceso genera.



**Figura 3.3.- Tinción de poliestireno en condiciones normales tratado con la dosis de 2mg/100ml.**

### **3.1.3 Análisis de varianza**

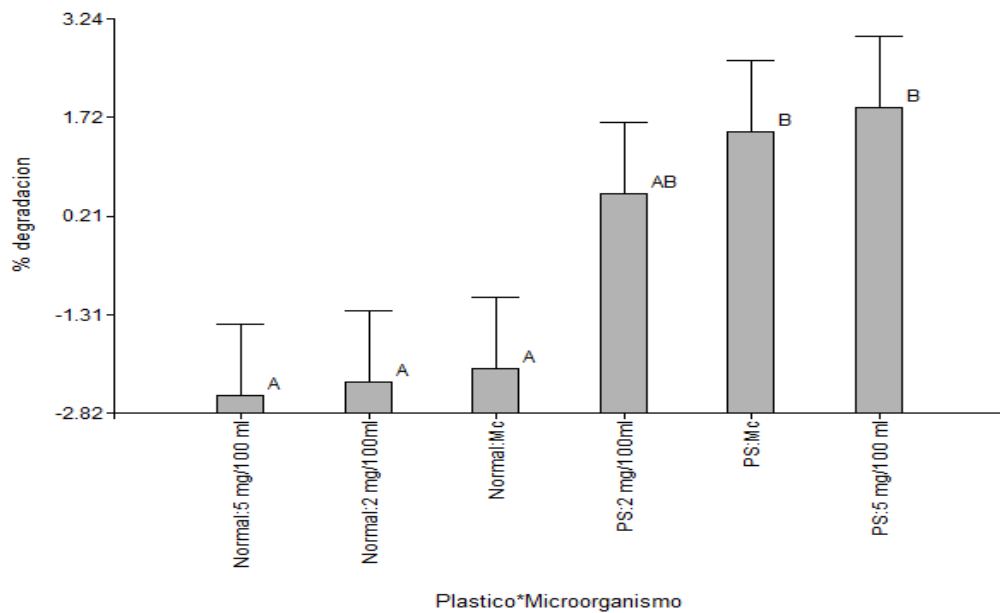
El análisis de varianza realizado (Tabla 3.3) demostró que no existen diferencias significativas entre las diferentes dosis del consorcio de microorganismos utilizado y el hongo, estadísticamente las medias son muy similares. El coeficiente de variación obtenido fue muy alto (C.V.:473.38) lo que indica datos atípicos. Sin embargo, se pudo detectar diferencias significativas entre el tratamiento dado al plástico, para determinar con cuál de las dosis utilizadas (consorcio, hongo) hubo mayor degradación se realizó una prueba de Fisher de comparaciones múltiples.

**Tabla 3.3 Análisis de varianza de dos factores.**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Plástico	100.00	1	100.00	16.55	0.0004
Microorganismo	2.19	2	1.09	0.18	0.8354
Plast*Microorganismo	2.88	2	1.44	0.24	0.7900
Error	145.02	24	6.04		
Total	250.08	29			

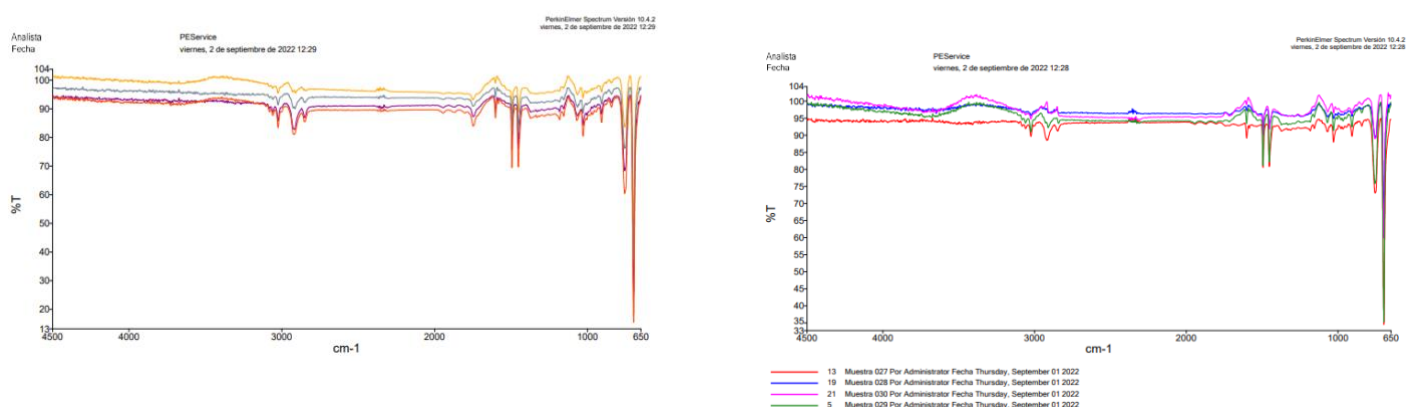
### 3.1.4 Prueba de comparaciones múltiples

Los resultados del análisis de comparaciones múltiples de Fisher en el que se compararon los diferentes tratamientos dados al PS junto con la diferentes dosis del consorcio de microorganismos y el hongo demostraron que el PS fotooxidado junto con la dosis de 5mg/100ml del consorcio microbiano fue la que presento mayor diferencia alcanzando el 1,87% de degradación (Figura 3.4) del plástico en 30 días. Lo que confirma los resultados obtenidos del porcentaje de degradación utilizando las variaciones en los pesos y al análisis realizado con en estereomicroscopio donde se puede observar las áreas donde ocurrió la degradación.



**Figura 3.4.- Comparaciones múltiples**

### 3.1.5 Espectrometría infrarroja por transformada de Fourier



**Figura 3.5.- Espectrometría infrarroja por transformada de Fourier.**

La figura 3.5 muestra la espectrometría infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) antes y después del experimento donde se observó que el plástico en condiciones normales junto con la dosis de 5mg/100 ml del consorcio de microorganismos fue el que sufrió mayores modificaciones a nivel de la estructura química del material. Los espectros emitidos en el análisis (FTIR) del plástico una vez cumplido los 30 días del ensayo muestran formación de estiramientos en la longitud de onda comprendida entre 1600-1800  $\text{cm}^{-1}$  donde se encuentran los enlaces dobles entre carbono=carbono, carbono=oxígeno y carbono=nitrógeno en este punto se produjo cambios completos en el espectro superior con lo que se puede inferir la existencia de degradación. También se pudo observar espectros invertidos comprendidos en la longitud de onda entre 2700 y 3600  $\text{cm}^{-1}$  donde se encuentran uniones entre oxígeno e hidrogeno (hidroxilo) y nitrógeno-hidrogeno (amino), lo que significa que en esta zona se podrían estar acumulando proteínas sintetizadas por las bacterias del consorcio o incluso fijarse las enzimas ya presentes en el mismo. Comparando lo ocurrido entre el hongo y la dosis de 5mg/100ml y ambos tratamientos dados al plástico, se determinó que la mayor biomasa producida con la dosis de 5mg/100ml en el plástico normal inicia una degradación por capas desde la más superficial donde se fija hasta llegar a las más internas en contraste a lo que ocurre con el poliestireno fotooxidado que a causa del aumento de la porosidad los microorganismos aprovechan estos espacios para colonizar el plástico.

### 3.2 Discusión

La biodegradación del plástico es un proceso secuencial que inicia con la fijación de los macroorganismos a la superficie del polímero, estos lo utilizan como fuente de carbono que por la actividad enzimática generan productos como CO<sub>2</sub> y agua cuando las condiciones son aeróbicas, y biogás y agua en condiciones anaerobias.

La biomasa generada por los microorganismos les brinda protección contra condiciones desfavorables para su desarrollo (Chauhan et al., 2018). Los estudios antes realizados han demostrado que la degradación del plástico por parte de bacterias y hongos inicia con la fijación a la capa superficial del plástico hasta llegar a las capas más internas donde inicia el proceso de degradación.

En el presente estudio se demostró que las diferentes dosis de un consorcio de microorganismos (2mg/100ml y 5mg/100ml) que contiene probióticos como *bifidobacterium sp.*, *lactobacillus sp* y *bacillus sp.* Lograron fijarse a las capas del poliestireno que posee una estructura carbono-carbono que lo hace muy resistente a la actividad enzimática que producen las bacterias por procesos redox (Goldman, 2010). De los probióticos presentes en este consorcio la mayoría de estudios han sido realizados con organismos de género *bacillus sp.* Como el realizado por Saeed en el presente año, en el que se utilizó bacterias de los géneros *Achromobacter sp* y *Bacillus sp.* En este estudio se demostró que alcanzaron un porcentaje de degradación de 32,2 % de un contaminante plástico como el policloruro de vinilo (PVC) en un periodo de 4 semanas (Saeed et al., 2022) en contraste con nuestro estudio en el que en el mismo periodo de tiempo se alcanzó el 1,87% de degradación utilizando una dosis de 5mg/100ml del consorcio microbiano. Se debe tomar en cuenta que el estudio no se realizó con el mismo tipo de polímeros y que el PVC se establece como un material biodegradable. Sin embargo, se debe resaltar que con la gran diversidad de microorganismos disponibles en el ambiente existen muchas alternativas de gran potencial para acelerar la degradación de los diferentes polímeros contaminantes.

Por otra parte, los estudios realizados con diferentes especies de hongos también han demostrado gran efectividad en la degradación de plásticos de un solo uso. En investigaciones más recientes donde se han utilizados especies de hongos bien estudiadas en este campo debido a la efectividad que han mostrado en la degradación del plástico como *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, *Cladosporium sp.* Además, de hongos

saprophytes, como *Pleurotus ostreatus*, *Agaricus bisporus* y *Pleurotus eryngii* que son capaces de degradar el plástico al crecer sobre ellos (Sánchez, 2020). En estas investigaciones se identificó que el proceso de degradación era más rápido y sencillo por parte de estos organismos cuando el plástico utilizado para los ensayos era sometido a un proceso de fotodegradación previo utilizando radiación UV y a mecanismos termo oxidativos (Srikanth et al., 2022).

En los resultados del trabajo se pudo corroborar los resultados obtenidos en estudios previos ya que el hongo utilizado tuvo la capacidad de colonizar tanto el plástico en condiciones normales como el que había sido sometido a 300 horas de radiación UV. En el caso de la biopelícula formada en la capa superficial del poliestireno determinó que las piezas de plástico utilizadas aumentaran su masa por lo que no se puede inferir que si existió degradación considerando solo las variaciones de estos pesos para calcular el porcentaje de degradación, recordemos que la colonización ocurre por la posibilidad de aprovechamiento de la materia orgánica del plástico.

En el caso del poliestireno fotooxidado es donde se pudo comprobar aún más lo identificado en estudios previos ya que tanto la determinación del porcentaje de degradación donde se alcanzó el 1,51% superando incluso el trabajo previo a este en el que se alcanzó un 1,20% de degradación utilizando una dosis de 1mg/100ml de un consorcio comercial de microorganismos (Mejía, Dueñas, 2021). Las imágenes tomadas con ayuda del estereomicroscopio demostraron que en el mismo periodo de incubación las bacterias del consorcio y el hongo pudieron iniciar la degradación en el poliestireno fotooxidado, pero no así en el poliestireno en condiciones normales, ratificando que este tratamiento previo favorece en gran medida la biodegradación.

Estudios realizados utilizando bacterias para la degradación del plástico se pudo determinar mediante un análisis FTIR que debido al proceso de degradación después de los 30 días de incubación se produjeron cambios en la superficie del plástico alterando su hidrofobicidad lo que facilita la colonización de sustrato permitiendo la acción de las enzimas para llevar a cabo la degradación. En un estudio en el que se utilizó bacterias del género *Exiguobacterium* durante el mismo periodo de incubación, se produjeron cambios entre las longitudes de onda 1600-1800  $\text{cm}^{-1}$  es decir en los grupos carbonilo (carbono-oxígeno) lo que coincide con los resultados obtenidos en este estudio (Chauhan et al., 2018)

# CAPÍTULO 4

## 4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La excesiva producción de plásticos para satisfacer la demanda de la industria y de una población que crece año a año de manera exponencial, sumado al mal manejo de los residuos plásticos una vez que han cumplido su función están provocando que estos materiales se acumulen en enormes cantidades en los diferentes ecosistemas del planeta provocando graves problemas ambientales y poniendo en riesgo la vida de las diferentes especies incluso llegando a perjudicar la salud humana.

Esta problemática que enfrentamos nos lleva a buscar alternativas para el manejo de desechos plásticos que sean sostenibles y ecológicas como el uso de diferentes microorganismos que tengan la capacidad de degradarlo.

### 4.1 Conclusiones

- Una combinación de dosis del consorcio bacteriano comercial (5mg/100ml) junto a el proceso previo de fotooxidación de los plásticos demostró la hipótesis de que un incremento en el tratamiento podría generar mejoras en proceso de degradación de los plásticos de un solo uso en estudio para un protocolo de 30 días alcanzando en este caso 1,87% de degradación.
- Los organismos encontrados en ambientes comunes como el suelo en cultivos o en ambientes extremos como la Antártida presentan gran potencial en la degradación del este tipo de materiales a tal punto de presentar resultados similares a los obtenidos con el consorcio microbiano comercial el cual tiene resultados previos de efectividad frente a contaminantes ambientales de difícil degradación.

### 4.2 Recomendaciones

- Se debe tener en cuenta establecer un diseño de experimento con el que se pueda reducir la variabilidad de los datos obtenidos para garantizar la confiabilidad de los resultados soportado por el análisis estadístico.



- Se han probado varias dosis diferentes del consorcio de microorganismos, pero aún no se tiene los datos suficientes para fijar cual es la dosis exacta que presentaría los mejores resultados de degradación con los diferentes tratamientos dados al plástico, por lo que sería de gran utilidad un diseño experimental que permita determinarlo ya que el uso de más herramientas estadísticas ayudara a determinar los resultados con mayor confiabilidad.
- Seguir evaluando hongos de diferentes ambientes, es una alternativa interesante para evidenciar todo su potencial.
- Es recomendable realizar ensayos de mayor tiempo de incubación que permitan identificar si incrementando el tiempo se podrían alcanzar mayores porcentajes en la degradación del plástico considerando que en la medida que avancen los procesos de degradación así como incorporar condiciones anaerobicas.

# BIBLIOGRAFÍA

Amobonye, A., Bhagwat, P., Singh, S., & Pillai, S. (2021). Plastic biodegradation: Frontline microbes and their enzymes. *Science of The Total Environment*, 759, 143536. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143536>

Asamblea Nacional. (2020). *Ley Orgánica para la Racionalización, Reutilización y Reducción de Plásticos de un solo Uso | Oficial*. <https://www.oficial.ec/ley-organica-razionalizacion-reutilizacion-reduccion-plasticos-solo-uso>

Castelvetro, V., Corti, A., Bianchi, S., Giacomelli, G., Manariti, A., & Vinciguerra, V. (2021). Microplastics in fish meal: Contamination level analyzed by polymer type, including polyester (PET), polyolefins, and polystyrene. *Environmental Pollution*, 273, 115792. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115792>

Chauhan, D., Agrawal, G., Deshmukh, S., Roy, S. S., & Priyadarshini, R. (2018). Biofilm formation by *Exiguobacterium* sp. DR11 and DR14 alter polystyrene surface properties and initiate biodegradation. *RSC Advances*, 8(66), 37590-37599. <https://doi.org/10.1039/c8ra06448b>

Chen, Y., Awasthi, A. K., Wei, F., Tan, Q., & Li, J. (2021). Single-use plastics: Production, usage, disposal, and adverse impacts. *Science of The Total Environment*, 752, 141772. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141772>

COA. (2017). *El Código Orgánico del Ambiente (COA) – Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica*. <https://www.ambiente.gob.ec/codigo-organico-del-ambiente-coa/>

García, J. L., & Martínez, M. J. (2014). *Biomasa y Biotecnología*. <https://digital.csic.es/handle/10261/137345>

Goldman, A. S. (2010). Organometallic chemistry: Carbon-carbon bonds get a break. *Nature*, 463(7280), 435-436. <https://doi.org/10.1038/463435a>

Han, Y.-N., Wei, M., Han, F., Fang, C., Wang, D., Zhong, Y.-J., Guo, C.-L., Shi, X.-Y., Xie, Z.-K., & Li, F.-M. (2020). Greater Biofilm Formation and Increased Biodegradation

of Polyethylene Film by a Microbial Consortium of *Arthrobacter* sp. And *Streptomyces* sp. *Microorganisms*, 8(12), E1979. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8121979>

Haward, M. (2018). Plastic pollution of the world's seas and oceans as a contemporary challenge in ocean governance. *Nature Communications*, 9(1), 667. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03104-3>

Jaiswal, S., Sharma, B., & Shukla, P. (2020). Integrated approaches in microbial degradation of plastics. *Environmental Technology & Innovation*, 17, 100567. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100567>

Jiang, S., Su, T., Zhao, J., & Wang, Z. (2021). Isolation, Identification, and Characterization of Polystyrene-Degrading Bacteria From the Gut of *Galleria Mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) Larvae. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 736062. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.736062>

Kershaw, P. (2015). *Sources, fate and effects of microplastics in the marine environment: A global assessment* [Technical Report]. International Maritime Organization. <http://localhost:8080/xmlui/handle/123456789/735>

Kim, H.-W., Jo, J. H., Kim, Y.-B., Le, T.-K., Cho, C.-W., Yun, C.-H., Chi, W. S., & Yeom, S.-J. (2021). Biodegradation of polystyrene by bacteria from the soil in common environments. *Journal of Hazardous Materials*, 416, 126239. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126239>

King. (2016). *R Tutorials*. <https://ww2.coastal.edu/kingw/statistics/R-tutorials/>

Kwang Joong, O., Kim, Y. S., Cho, S. K., & Kim, D. (2002). Degradation of benzene and toluene by a fluidized bed bioreactor including microbial consortium. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 19(6), 1026-1029. <https://doi.org/10.1007/BF02707228>

Liu, J., Liu, J., Xu, B., Xu, A., Cao, S., Wei, R., Zhou, J., Jiang, M., & Dong, W. (2022). Biodegradation of polyether-polyurethane foam in yellow mealworms (*Tenebrio molitor*) and effects on the gut microbiome. *Chemosphere*, 304. Scopus. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135263>

Madrid, H., Cárcamo, C., Tapia, C., Madrid, H., Cárcamo, C., & Tapia, C. (2019). *Curvularia spicifera*. *Revista chilena de infectología*, 36(5), 646-647. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182019000500646>

Mata-Miranda, M. M., Guerrero-Robles, C. I., Rojas-López, M., Delgado-Macuil, R. J., González-Díaz, C. A., Sánchez-Monroy, V., Pérez-Ishiwara, D. G., Vázquez-Zapién, G. J., Mata-Miranda, M. M., Guerrero-Robles, C. I., Rojas-López, M., Delgado-Macuil, R. J., González-Díaz, C. A., Sánchez-Monroy, V., Pérez-Ishiwara, D. G., & Vázquez-Zapién, G. J. (2017). Componentes Principales mediante Espectroscopia FTIR como Técnica de Caracterización Innovadora durante la Diferenciación de Células Madre Pluripotentes a Células Pancreáticas. *Revista mexicana de ingeniería biomédica*, 38(1), 225-234. <https://doi.org/10.17488/rmib.38.1.17>

Mejia, M. G., Dueñas, R. F. D., & Diez García, N. (2021). *Evaluación de biodegradación de plásticos de un solo uso a partir de un Consorcio de Microorganismo* [Thesis, ESPO. FCV.]. <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/53105>

Merrington, A. (2011). Recycling of Plastics. En M. Kutz (Ed.), *Applied Plastics Engineering Handbook* (pp. 177-192). William Andrew Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4377-3514-7.10011-X>

Mor, R., & Sivan, A. (2008). Biofilm formation and partial biodegradation of polystyrene by the actinomycete *Rhodococcus ruber*: Biodegradation of polystyrene. *Biodegradation*, 19(6), 851-858. Scopus. <https://doi.org/10.1007/s10532-008-9188-0>

Motta, O., Proto, A., De Carlo, F., De Caro, F., Santoro, E., Brunetti, L., & Capunzo, M. (2009). Utilization of chemically oxidized polystyrene as co-substrate by filamentous fungi. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 212(1), 61-66. Scopus. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2007.09.014>

Nature. (2021). *Es ahora o para siempre*. The Nature Conservancy. <https://www.nature.org/es-us/que-hacemos/nuestras-prioridades/ciudades-saludables/detener-residuos-plasticos/>

NN.UU. (2015). *Objetivos del desarrollo Sostenible*. <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/>

Ochoa Carreño, D. C., & Montoya Restrepo, A. (2010). CONSORCIOS MICROBIANOS: UNA METÁFORA BIOLÓGICA APLICADA A LA ASOCIATIVIDAD EMPRESARIAL EN CADENAS PRODUCTIVAS AGROPECUARIAS. *Revista Facultad de Ciencias Económicas: Investigación y Reflexión*, 18(2), 55-74.

Parker, L. (2020, octubre 7). *La contaminación por plástico es un gran problema, pero aún se pueden implementar soluciones*. National Geographic. <https://www.nationalgeographic.com/ciencia/2020/10/contaminacion-por-plastico-problema-y-posibles-soluciones>

Saeed, S., Iqbal, A., & Deeba, F. (2022). Biodegradation study of Polyethylene and PVC using naturally occurring plastic degrading microbes. *Archives of Microbiology*, 204(8). Scopus. <https://doi.org/10.1007/s00203-022-03081-8>

Samper, M.D. (2008). *REDUCCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL RESIDUO DE POLIESTIRENO EXPANDIDO*. I Simposio Iberoamericano de Ingeniería de Residuos. <http://www.redisa.net/>

Sánchez, C. (2020). Fungal potential for the degradation of petroleum-based polymers: An overview of macro- and microplastics biodegradation. *Biotechnology Advances*, 40. Scopus. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.107501>

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). Scopus. <https://doi.org/10.1186/s40643-022-00532-4>

Ward, C. P., Armstrong, C. J., Walsh, A. N., Jackson, J. H., & Reddy, C. M. (2019). Sunlight Converts Polystyrene to Carbon Dioxide and Dissolved Organic Carbon. *Environmental Science & Technology Letters*, 6(11), 669-674. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.9b00532>

WWF. (2019). *El problema del plástico en la naturaleza y cómo puedes ayudar*. World Wildlife Fund. <https://www.worldwildlife.org/descubre-wwf/historias/el-problema-del-plastico-en-la-naturaleza-y-como-puedes-ayudar>

Yang, Y., Yang, J., Wu, W.-M., Zhao, J., Song, Y., Gao, L., Yang, R., & Jiang, L. (2015). Biodegradation and Mineralization of Polystyrene by Plastic-Eating Mealworms: Part 1.

Chemical and Physical Characterization and Isotopic Tests. *Environmental Science and Technology*, 49(20), 12080-12086. Scopus. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b02661>