

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

"Biodegradación de polietileno tereftalato (PET) por acción de Pseudomona aeruginosa, en condiciones de laboratorio"

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERA AMBIENTAL

AUTORES:

BARBARÁN SILVA, Hellen Maripaz.

CABANILLAS PAREDES, Lilian Janet.

RUBIO RODRIGUEZ, Yoselin Escarlet.

ASESOR:

Dr. QUEZADA ALVAREZ, Medardo Alberto.

LINEA DE INVESTIGACIÓN:

Tratamiento y Gestión de Residuos

TRUJILLO – PERÚ 2018

JURADO EVALUADOR

| PRESID | DENTE |
|--------------------------------|------------------------------|
| Dr. MEDARDO ALBERTO | O QUEZADA ÁLVAREZ |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | _ |
| SECRETARIO | VOCAL |
| Dr. UGAZ ODAR FERNANDO ENRIQUE | Dr. CRUZ MONZON JOSE ALFREDO |

DEDICATORIA

A mi madre por ser mi consejera y compañera en cada desvelo; a mi padre por su apoyo incondicional y su confianza en mí; a mi hermano, por ser el motivo que me impulsa a seguir adelante; al ángel que vive en mi corazón y mis recuerdos, que siempre confió en mí y me tuvo presente en sus oraciones; y a todos aquellos que fueron parte de mi proceso de formación académica. El logro también es de ustedes.

Barbarán Silva, Hellen Maripaz

La presente tesis es dedicada a mi madre Nelly Paredes, por su amor, por apoyarme en mi educación, por su apoyo y confianza absoluta en mí y por asumir el rol de padre y madre. A mi padre Hermes Cabanillas, a pesar de no estar juntos físicamente, sé que este momento hubiera sido una alegría más para ti como lo es para mí, siempre serás mi ángel. A los profesores María Elena Vásquez y William Bazán, por compartir momentos importantes conmigo y estar dispuestos a escuchar y apoyarme en cualquier momento. A Graciela, mi hermana menor, por apostar por mí y brindarme su apoyo en cada momento y al mismo tiempo agradecerle por darnos el ser más preciado que Dios nos pudo mandar a nuestra familia, Santiago. Decirles a todas las personas mencionadas, que mi objetivo es alcanzar que ellos se sientan orgullosos por mí, ya que es una manera de poder agradecerles por estar conmigo siempre.

Cabanillas Paredes, Lilian Janet

Esta tesis se la dedico con todo mi amor a mis padres por su sacrificio y esfuerzo por darme una carrera, por alentarme a seguir adelante a pesar de las dificultades y aunque la distancia nos ha separado durante estos años, siempre he sentido que están a mi lado acompañándome y guiando mis pasos y sé que sin ellos yo no sería lo que soy ahora.

Rubio Rodriguez, Yoselin Escarlet

AGRADECIMIENTO

Agradecer a Dios, por guiar nuestros caminos y permitirnos haber triunfado hasta este momento tan importante de nuestra formación profesional, el que siempre ha estado con nosotras ayudándonos a levantarnos después de cada tropiezo y el que estará a nuestro lado vaya a donde vayamos.

A nuestros familiares por estar presentes durante este largo camino, por su apoyo incondicional y su amor infinito.

A nuestro asesor de tesis, Dr. Alberto Quezada Álvarez, por brindarnos sus conocimientos, su apoyo y cada una de sus palabras que no nos permitió rendirnos.

Al Dr. Luis Cabanillas, por su orientación en el desarrollo de la presente investigación, por su paciencia y sus consejos y al mismo tiempo al Instituto de Investigación de la Universidad César Vallejo por facilitarnos del uso de los materiales, reactivos y equipos durante todo el transcurso de la presente investigación.

A nuestros amigos porque han sido parte importante de esta etapa que concluye, por el apoyo mutuo en cada dificultad y por cada uno de los momentos vividos en su compañía. A cada uno de los docentes que fueron parte de nuestra formación académica y que compartieron sus conocimientos con cada una de nosotras.

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

La tesis titulada "Biodegradación de polietileno tereftalato (PET) por acción de *Pseudomona aeruginosa*, en condiciones de laboratorio" fue realizada en su totalidad por : **Hellen Maripaz Barbarán Silva** con el DNI N° 70474464, **Lilian Janet Cabanillas Paredes** con el DNI N° 72094929, y **Yoselin Escarlet Rubio Rodríguez** con el DNI N° 48212143; a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Cesar Vallejo, Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniera Ambiental, declaramos bajo juramento que toda la documentación que acompañamos es de verdad y auténtico.

Asimismo, declaramos también bajo juramento que todos los datos e información que se presenta en la presente tesis son auténticos y veraces.

En tal sentido asumimos la responsabilidad que corresponde ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual nos sometemos a lo dispuesto en las normas académicas de la Universidad César Vallejo.

Trujillo, diciembre del 2018.

BARBARÁN SILVA, HELLEN MARIPAZ Autor

CABANILLAS PAREDES, LILIAN JANET Autor

RUBIO RODRÍGUEZ, YOSELIN ESCARLET
Autor

PRESENTACIÓN

Señores miembros del jurado, en cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Cesar Vallejo se presenta ante ustedes la tesis titulada "Biodegradación de polietileno tereftalato (PET) por acción de *Pseudomona aeruginosa.*, en condiciones de laboratorio", en las siguientes líneas se describe el trabajo realizado para lograr biodegradar el polietileno tereftalato

En la presente tesis se encuentra en el primer capítulo la introducción, en el que describe la realidad problemática que motivó a la realización de esta investigación, después de ello se encuentra los trabajos previos la cual nos brindaron información acerca de investigaciones semejantes y que servirán para más adelante hacer las discusiones. Por consiguiente, se hace referencia a las teorías relacionadas al tema de estudio, que nos brindaron conocimientos para terminar la investigación; por consecuente, nos formulamos un problema y justificamos la tesis con el propósito de dar a conocer el porque es que se está realizando esta investigación.

Asimismo, en los siguientes capítulos, se explica la metodología utilizada para procesar los datos, los métodos utilizados fueron ANOVA y Duncan para determinar el mejor tratamiento de los nueve tratamientos realizados, la población y muestra empleada y los resultados de esta investigación.

El objetivo de esta investigación fue determinar la concentración de *Pseudomona aeruginosa* aplicada en diferentes periodos de tiempo que logra mayor porcentaje de biodegradacion del *Polietileno tereftalato*, en condiciones de laboratorio, para poder cumplir con este objetivo se pulvorizó las botellas de agua CIELO para la posterior aplicación de nueve tratamientos donde se inocularon concentraciones de *Pseudomona aeruginosa* y se caracterizó el polímero mediante el método de pérdida de peso, obteniendo como resultado que durante un periodo de 35 días biodegrada un 19.93% de polietileno tereftalato.

ÍNDICE

| I. I | NTRODUCCIÓN | 10 |
|------|--|-----------------|
| 1.1 | . REALIDAD PROBLEMÁTICA | 10 |
| 1.2 | TRABAJOS PREVIOS | 11 |
| 1.3 | . TEORIAS RELACIONADAS AL TEMA | 14 |
| 1 | 1.3.1. POLÍMEROS | 14 |
| | 1.3.1.1. Clasificación | 15 |
| | 1.3.1.1.1. De acuerdo con su origen | 15 |
| | a. Polímeros Naturales | 15 |
| | b. Polímeros semi-sintéticos | 15 |
| | c. Polímeros Sintéticos: | 15 |
| | 1.3.1.1.2. De acuerdo con su composicion quimica | 15 |
| | a. Homopolímeros | 15 |
| | b. Copolímeros | 15 |
| | 1.3.1.1.3. De acuerdo con la estructura de las cadenas poliméricas | 16 |
| | a. Cadenas lineales | 16 |
| | b. Cadenas Ramificadas | 16 |
| | 1.3.1.1.4. De acuerdo a su comportamiento térmico | 16 |
| | a. Termoplásticos | 17 |
| | b. Elastómeros | 17 |
| | c. Termoestables | 17 |
| 1 | 1.3.2. TEREFTALATO DE POLIETILENO | 17 |
| | 1.3.2.1. Estructura Química | 17 |
| 1 | 1.3.3. DEGRADACIÓN DE POLÍMEROS | 18 |
| 1 | 1.3.4. BIODEGRADACIÓN | 18 |
| 1 | 1.3.5. CARACTERIZACIÓN DE LA DEGRADACIÓN DE LOS POLÍMEROS | 18 |
| | 1.3.5.1. Técnicas para la caracterización de polímeros degradados | 19 |
| | a. IR (FTIR) Espectroscopía | 19 |
| | b. Resonancia magnética nuclear (NMR) | 19 |
| | c. Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC | S-MS)19 |
| | d. DTA (Análisis térmico diferencial) y DSC (calorimetría dife | |
| | barrido) | 19 |
| | e. GPC (Cromatografía de exclusión molecular) | 19 |

| f. Microscopio óptico | 19 |
|--|----|
| g. Consumo de oxígeno | 19 |
| 1.3.6. MICROORGANISMOS | 20 |
| 1.3.6.1. Bacterias | 20 |
| 1.3.6.1.1. Género Pseudomonas | 20 |
| 1.3.6.1.2. Pseudomona aeruginosa | 20 |
| 1.4. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA | 21 |
| 1.5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO | 21 |
| 1.6. HIPÓTESIS | 22 |
| 1.7. OBJETIVOS | 22 |
| 1.7.1. OBJETIVO GENERAL | 22 |
| 1.7.2. OBJETIVO ESPECÍFICO | 22 |
| II. MÉTODO | |
| 2.1. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN | 22 |
| 2.2. VARIABLES Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABI | |
| 2.2.1. Variable dependiente | 24 |
| 2.2.2. Variable Independiente: | 24 |
| 2.3. POBLACIÓN Y MUESTRA | 25 |
| 2.3.1. Población: | 25 |
| 2.3.2. Muestra: | 25 |
| 2.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE CONFIABILIDAD | |
| 2.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS | |
| 2.6. ASPECTOS ÉTICOS | |
| III. RESULTADOS | |
| IV. DISCUSIÓN | |
| V. CONCLUSIONES | |
| VI. RECOMENDACIONES | |
| VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | |
| VIII ANEVOS | 40 |

RESUMEN

Los residuos plásticos son uno de los problemas más importantes a nivel global y actualmente el polietileno tereftalato, es en cierta medida el material plástico más utilizado en nuestra vida diaria, y el que permanece visible por periodos de tiempo indefinido afectando a los seres vivos y alterando los ecosistemas. La presente investigación es de tipo aplicativa, se utilizaron 35 gramos de polietileno tereftalato en polvo que fue obtenido de botellas de agua CIELO, para la posterior aplicación de nueve tratamientos donde se inocularon concentraciones de *Pseudomona aeruginosa* de 18x10⁷ UFC, 36x10⁷ UFC y 9x10⁸ UFC para periodos de tiempo de 15, 25 y 35 días, considerando tres repeticiones por cada tratamiento, y al finalizar, mediante el método de pérdida de peso se determinó el porcentaje de biodegradación. Finalmente se aplicaron métodos estadísticos como ANOVA y Duncan para determinar el mejor tratamiento dando como resultado que la aplicación de 9x10⁸ UFC de *Pseudomona aeruginosa* durante un periodo de 35 días biodegrada un 19.93% de polietileno tereftalato.

Palabras clave: Pseudomona aerugionosa, polietileno tereftalato, biodegradación.

ABSTRACT

Plastic waste is one of the most important problems globally and currently, polyethylene terephthalate is, to a certain extent, the most used plastic material in our daily life, and the one that remains visible for indefinite periods of time affecting living beings and altering the ecosystems. The present investigation belongs to the applicate type, 35 grams of polyethylene terephthalate powder were used, which were obtained from CIELO's water bottles, the powder was used for the subsequent application of nine treatments where concentrations of $18x10^7$ CFU, $36x10^7$ CFU and $9x10^8$ CFU of Pseudomonas aeruginosa were inoculated for periods of 15, 25 and 35 days performing three repetitions for each treatment, and at the end, the percentage of biodegradation was determined by the "weight loss" method. At the end, statistical methods such as ANOVA and Duncan were applied to determine the best treatment, being the result that the application of $9x10^8$ CFU of Pseudomonas aeruginosa over a period of 35 days biodegrades 19.93% of Polyethylene terephthalate.

Palabras clave: *Pseudomona aerugionosa, Polyethylene Terephthalate, biodegradation.*

I. INTRODUCCIÓN

1.1.REALIDAD PROBLEMÁTICA

Los residuos en la actualidad constituyen uno de los más grandes problemas ambientales; siendo el material plástico uno de los desechos más comunes a nivel global; sobre esto, Meza, en el año 2013, refiere que el avanzado crecimiento del sector industrial, en específico del plástico, este ha formado parte importante en la vida diaria de las personas, propiciando problemas ambientales de gran impacto, debido a que la mayoría de estos productos son de difícil degradación, ya que no se oxidan ni se descomponen de forma natural con el transcurrir del tiempo.

Sobre este problema, se dio a conocer que a nivel mundial se generan aproximadamente 8 300 millones de toneladas de plástico, de los cuales solo el 9% son reciclados, 12% son incinerados y el 79% es acumulado en vertederos o entornos naturales, según lo señalado por un equipo dirigido por Universidades de Georgia, California en Santa Bárbara y la Asociación de Educación del Mar, quienes analizaron la producción histórica de plásticos en todo el mundo, su uso y su destino, así lo informó Moreno, en el año 2018.

De los materiales plásticos, sin duda el polietileno tereftalato (PET), en cierta medida, es el material plástico más utilizado en nuestra vida diaria, y por ende el residuo plástico de mayor generación.

El *Polietileno tereftalato* está contituido por polímeros de difícil en degradación debido a que su principal materia prima, el petróleo, y la adición de otros productos tóxicos lo hacen más resistente ante la acción de los organismos microscópicos presentes en el suelo, permaneciendo visibles en el ambiente por tiempo indefinido; constituyendo un problema de contaminación ambiental afectando de manera directa e indirectamente la salud de los seres vivos, alterando la estabilidad de los ecosistemas.

El daño que está causando a nivel mundial es la contaminación de océanos y mares, en los últimos años se han encontrado residuos plásticos en grandes volúmenes alterando los ecosistemas marinos, representando una amenaza para la biodiversidad marina, encontrándose animales heridos y/o muertos; sobre esto, en una entrevista a Makus Eriksen, científico ambiental, investigador de 5Gyres Institute, realizado por Samaniego, en el año 2017, refiere que 269 mil toneladas métricas de plástico flotan en los océanos, fragmentadas en 5 trillones de partículas.

Además de la problemática referida por Eriksen, en algunos países, estos residuos son

incinerados con el fin de reducir la cantidad de plástico, sin embargo, tras la liberación de toxinas durante dicha actividad, se contamina el aire contrayendo problemas en la salud de las personas, tales como enfermedades asociados al cáncer, infertibilidad, autismo, entre otros.

Por otro lado, en nuestro pais se muestra un crecimiento paulatino de la industria de bebidas embotelladas, siendo mayor el incremento de demanda de agua embotellada, por lo que se muestra como una problemática importante en la generacion de residuos de PET. Euromonitor International, en su reporte titulado "Bottled Water in Peru" señala que, el aumento de demanda de agua embotellada responde a la preocupacion mundial de salud y bienestar; así como en las estaciones de verano que son cada vez más calurosos y prolongados que el país experimenta. Así también señala que la marca de agua embotellada más importante es Cielo, de Ajeper, que se impuso en el mercado hace poco tiempo con una estrategia de asequibilidad y rápida expansión de la distribución.

Finalmente, nos vemos en la necesidad de desarrollar un método que permita acelerar la degradación del plástico, y en consecuencia disminuir sus impactos negativos en el medio ambiente, utilizando *Pseudomona aeruginosa* como agente biodegradante del plástico de polietileno tereftalato (PET).

1.2.TRABAJOS PREVIOS

GUTIERREZ, Karem. (2018), en su investigación acerca de la degradación de polietileno de baja densidad por *Pseudomona aeruginosa*, tuvo como propósito determinar como influían los factores ambientales, tales como las variable de pH y temperatura de la *Pseudomona aeruginosa* con el fin de degradar de polietileno de baja densidad, concluyendo que esta bacteria degrada el plástico de baja densidad, a un pH 8 y 25°C, asimismo se observó crecimiento de colonias a las 24, 48 y 72 horas en las placas con cepa pura, siendo mayor tras el periodo de 72 horas con un reecuento de 3.5 x 10^6 UFC, 6 veces más que el recuento inicial.

CHUNGA, Lourdes. y CIEZA, Carlos (2017), en su investigación de tesis se propuso determinar la biodegradación de poliestireno, aislando bacterias del humus de lombriz como el *Bacillus spp y Clostridium spp*; utilizando el método de disminución de peso

del poliestireno cada 30 días durante 3 meses, obteniendo como resultado que la biodegradación del poliestireno fue de 9.4%, y comprobando que los géneros bacterianos tienen capacidad degradativa.

ALANIA, Yorka. y PÉREZ, Silvia. (2017), realizaron una investigación con el fin de degradar el polipropileno evaluando el crecimiento de dos cepas ATCC de *Pseudomonas sp.* N° 9027 y N° 10145 a dos temperaturas diferentes; obteniendo como resultados que las dos cepas tuvieron mejor crecimiento a 37°C en comparación a la temperatura de 4°C, y demostrándose estadísticamente la relación directa de la cinética de las *Pseudomonas sp.* con la degradación del polipropileno.

MARTÍN, Alejandra (2017), en su estudio preliminar de la biodegradacion de plásticos por bacterias marinas, se planteó como objetivo el estudio de estos microorganismos en muestras de agua recogidas en el Puerto de Santa Cruz de Tererife, aplicados a distintos tipos de plásticos, concluyendo con la identificacion de poblaciones de bacilos Gram- y Gram + y la determinacion de que el PETE experimentó la mayor pérdida de peso.

GONZALES et al. (2016), en su investigación sobre cutinasas recombinantes de Aspergillus nidulans para biodegradación de poliésteres, se planteó como propósito principal proporcionar un procedimiento para la degradación de poliésteres como PET, usando las cutinasas modificadas y los microorganismos recombinantes con actividad de degradación de poliésteres incrementada; evaluándose por pérdida de peso y concluyendo que la degradación del PET es mínima ya que no se visualizó pérdida importante en los 3 primeros días, logrado su degradación a los 15 días de iniciado el ensayo.

AYALA, Laura (2015), en su trabajo de investigación tiene como propósito aislar hongos endófitos y degradar de forma parcial el poliuretano, teniendo como resultados variaciones en los rangos de absorbancia y microscopía electrónica y que demostraron curvas y modificaciones estructurales muy diferentes entre controles y experimentales, sugiriendo una degradación parcial del poliuretano en el tiempo estudiado, posiblemente con la existencia de exoenzimas capaces de romper los enlaces de uretano y éster.

MUÑOZ, Susan. (2014) en su tesis, se planteó como propósito caracterizar la degradación de 7 polímeros de interés industrial usando una mezcla de bacterias, llegando a la conclusión que la *Alternaria sp y Cladosporium sp* conllevaron a una despolimerización, no obstante, no se visualizó un desarrollo en los grupos conformados por *Pseudomonas aeruginosa*.

YEPES, Laura. (2014), se propuso realizar una investigación literaria acerca de la biodegradación del polietileno de baja consistencia (PEBD) usando hongos; concluyendo que de todos los hongos estudiados, el hongo más efectivo es el *Aspergillus*, que aplicado al PEBD genera enzimas extracelulares y energía.; y que adicionanado sustancias oxo-degradables y aplicando la fototermodegradación como herramientas facilitan la biodegradación de este material exponiendolo a grupos más simples de metabolizar como lo es el grupo carbonilo (-CO).

GUTIERREZ, Jazmin. (2013) en su investigación de tesis, se planteó saber sí los consorcios microbianos contenidos en los residuos de polietileno de baja consistencia, recolectados de un relleno sanitario, tienen la capacidad de biodegradar esta clase de polímeros; concluyendo que la biodegradación se proyectó con base a la disminución del peso del polímero, observándose que el consorcio microbiano conformado por hongos y levaduras, en un medio de cultivo líquido a pH 5 muestra una biopelícula con aptitud biodegradadora usando al polietileno como sustento y fuente de carbono.

MEZA, Mauricio (2013), tuvo como propósito investigar si las bacterias presentes en el humus de lombriz, caballo y gallina tienen la acción de biodegradar del polietileno tereftalato *y de oxopolietileno*, concluyendo que los microorganismos del humus de caballo en el transcurso de treinta y cinco días de la fase de prueba, biodegradó el polietileno tereftalato un 10,89% más que el humus de lombriz y gallina. Sin embargo, las bacterias del humus de lombriz biodegradaron al *Oxopolietileno* un 39,99%, presentándose una diferencia significatica con respecto a los humus de caballo y gallina.

MARIN, Karen (2012), en su investigación sobre bioprospección de la degradación del polietileno, se planteó identificar los principales microorganismos capaces de degradar el polietileno y proponer procedimientos biológicos ejecutables para la

degradación del polietileno; llegando a la conclusión que las bacterias con mayor capacidad de degradar el polietileno fueron *Bacillus cereus, Bacillus sphaericus, Pseudomonas sp. y Rhodococcus sp.*, teniendo como metodología en primer lugar hacer polvo el polietileno y exponerlo al sol para bajar el tiempo de degradación, haciendo mas eficiente la acción de los microorganismos y postularlo como una opción posible de biodegradacion, frente a las que ya están en Colombia y en Latinoamérica.

URIBE et al. (2010), tuvieron como propósito investigar muestras de plástico de polietileno de baja densidad (PEBD), en estado de deterioro obtenidos de un relleno sanitario, para observar si los microrganismos presentes en el plástico tienen la capacidad biodegradativa, y asi poder evaluar su actividad en condiciones ambientales controladas; logrando identificar en las muestras de plástico bacterias de *Penicillium sp. Pseudomonas sp.* MP3a y MP3b, MP3a, *Hyalodendron sp.* MP3c, *Rhodotorula sp.* MP3b, y una levadura no identificada, y demostrándose que estos microorganismos tienen capacidad degradativa.

ARCINIEGA, Ilse. (2008) en su investigación tuvo como propósito, aislar microorganismos degradadores de polietileno en un ambiente donde la concentración de residuos de PET es alta, tal como los rellenos sanitarios, mejorando las condiciones de degradación; concluyendo que los microrganismos degradan el PET a pH ácido en un tiempo de 25 días; sin embargo, estos resultados no son cuantificables puesto que el procedimiento que se utilizó no fue el correcto para la medición, infiriendo que la degradación del PET requiere mayor tiempo.

1.3.TEORIAS RELACIONADAS AL TEMA

1.3.1. POLÍMEROS

Los polímeros son macromoléculas que están conformadas por moléculas más pequeñas, conocidas como monómeros que, según Miranda (2017), están unidas por enlaces covalentes.

En el medio existen diversos polímeros, los cuales al igual que los polímeros sintéticos, según lo mencionado por Miranda (2017), son formados como producto de la reacción de polimerización, a partir de monómeros.

1.3.1.1. Clasificación

Los polímeros se clasifican según a diferentes criterios, los cuales tienen la posibilidad a su vez subdiviciones que hacen cada vez más difícil la categorización de los polímeros. (MIRANDA, 2017, p. 4)

1.3.1.1.1 De acuerdo con su origen

a. Polímeros Naturales

Los polímeros naturales, según Miranda (2017) son productos del metabolismo de organismos vivos no modificados, tal es el caso de las proteínas, polisacáridos, y caucho natural.

b. Polímeros semi-sintéticos

Miranda (2017) refiere que los polímeros semi-sintéticos son producto de la alteración industrial de los plásticos naturales, sin eliminar en su totalidad su naturaleza molecular.

c. Polímeros Sintéticos:

Estos se obtienen de manera sintética a partir del bajo peso molecular de los monómeros. Como ejemplos, Miranda (2017) menciona al nylon, poliolefinas, poliésteres, adhesivos, vidrio orgánico, entre otros". (MIRANDA, 2017, p. 5)

1.3.1.1.2. De acuerdo con su composicion quimica

a. Homopolímeros

Macromoléculas compuestas por un solo tipo de unidades constitucionales repetitivas (ucr) que se unen a través de un mecanismo de polimerización único. (LÁREZ, 2008, p. 5)

Según Miranda (2017), dentro de este tipo de polímeros, se pueden encontrar los poliolefinas, poliestirénicos, polivinilos y poliacrílicos.

b. Copolímeros

Macromoléculas con más de un tipo de unidad repetitiva, es decir, que las cadenas tengan distintos constituyentes o con dos tipos de monómeros. (LÁREZ, 2008, p. 5)

Según Miranda (2017), dentro de este tipo de polímeros, se pueden encontrar las resinas poliestirenos acrilonitrilo, los diferentes tipos de Nylon, los poliésteres y los polietilenos tereftalato (PET).

1.3.1.1.3. De acuerdo con la estructura de las cadenas poliméricas

"Los monómeros al unirse pueden dar lugar a cadenas poliméricas de diferentes formas y estructuras, lo cual influye en sus propiedades físicas y mecánicas, como ejemplo, en un material blando y moldeable, comúnmente las cadenas tienen una forma lineal y están unidas por interacciones moleculares secundarias débiles (fuerzas de Van der Waals), mientras que en un polímero más rígido y frágil, la cadenas tienen una estructura ramificada, y de esta forma la estructura influye en muchas otras características", según lo menciona (MIRANDA, 2017, p. 6)

a. Cadenas lineales

Según Miranda (2017), esto ocurre cuando el monómero que lo origina tiene dos puntos de unión para formar polímeros en una sola dirección como resultados del proceso de polimerización.

b. Cadenas Ramificadas

"Los polímeros con cadenas ramificadas se forman debido a que los monómeros tienen tres o más puntos de unión, así la polimerización se da en diferentes direcciones en el espacio. Las ramificaciones de las cadenas polimétricas pueden llegar a entrecruzarse en diferentes formas, comúnmente son: en formas de red, estrella y de dentrita, dependiendo de las estructuras el polímero tendrá distintas propiedades mecánicas." (MIRANDA, 2017, p. 6)

1.3.1.1.4. De acuerdo a su comportamiento térmico

"El efecto de la temperatura sobre los polímeros permite realizar la clasificación en tres grupos, este comportamiento hacia las altas temperaturas tiene una total relación con la estructura de los polímeros." (MIRANDA, 2017, p. 6)

a. Termoplásticos

Hermida (2011), refiere que estos polímeros presentan comportamiento plástico a elevadas temperaturas, y que sus enlaces no se modifican radicalmente cuando la temperatura se eleva, por lo que pueden ser conformados o reconformados sin afectar su comportamiento. A su vez, también refiere que todo polímero termoplástico es lineal.

Según Miranda (2017), el polietileno tereftalato, poliestireno, cloruro de Polivinilo, nylon y el polipropileno, son los que conforman de este grupo de termoplásticos.

b. Elastómeros

Según Hermida (2011), este polímero depende de su estructura líneal o reticulada variando su comportamiento de termoplástico o termorrígido,

c. Termoestables

Miranda (2017) refiere que a temperatura normal estos polímeros son altamente reticulados, duros y rígidos, pero a la vez son frágiles.

1.3.2. TEREFTALATO DE POLIETILENO

El tereftalato de polietileno, es definido por Meza y Pérez (2015), como un polímero que pertenece al grupo poliéster que se obtiene por policondensación entre el ácido tereftálico y el etilenglicol.

Meza y Pérez (2015) también refieren que el PET está compuesto con el 64% de petróleo, 23% de soluciones provenientes del gas natural y 13% de aire; asimismo refiere que para obtener el ácido tereftálico, primero se extrae el paraxileno a partir del petróleo crudo, para finalmente oxidarse con el aire. Sin embargo, para obtenerse el etilenglicol, se oxida el etileno con el aire, obteniéndose el etileno de derivados del gas natural.

Según su comportamiento, el PET es térmico y termoplástico; con estructura molecular lineal y con grado de cristalinidad alto, según lo sostienen Meza y Pérez (2015).

1.3.2.1.Estructura Química

Gennaro (2003) describe que, el PET se obtiene en base al etilglicerol y acido tereftalico y que su estructura química es p-HO(COC₆H₄COOCH₂CH₂O)₆H; asi

tambien, detalla que el polietileno de tereftalato existe en un estado amorfo, orientado y parcilamente cristalino y en un estado altamente cristalino. (Ver anexo N° 03).

Los átomos de carbono que forman la cadena principal del PET, según Beltrán (2013) tienen hibridación sp3, por lo tanto, los orbitales se orientarán formando un tetraedro alrededor del átomo de carbono y el ángulo de enlace entre dos carbonos próximos será de 109º aproximadamente.

1.3.3. DEGRADACIÓN DE POLÍMEROS

Gama (2014) define a la degradación como el cambio físico o químico del material por factores ambientales, condiciones químicas (oxidación, hidrolisis) o actividad biológica, hasta su completa desintegración.

1.3.4. BIODEGRADACIÓN

Gama (2014) califica al proceso de biodegradación como el proceso natural que descompone un material en CO₂, metano, agua y constituyentes orgánicos, a causa de la acción enzimática de los microbios.

Por otro lado, Posada, en 1994, se refriere a la biodegradación como la asimilación de los polímeros por organismos vivos, incluyendo la asimilación por insectos, roedores y otros animales.

Sobre el inicio de la biodegradación, Blanco (2007) refiere que se evidencia por la colonización de la superficie del polímero por bacterias y hongos, dependiendo de factores como la tensión superficial, porosidad y textura superficial.

1.3.5. CARACTERIZACIÓN DE LA DEGRADACIÓN DE LOS POLÍMEROS

Los ensayos de biodegradabilidad de los polímeros se estudian, según Miranda (2017), determinando:

- La producción de dióxido de carbono (CO₂)
- El consume de oxígeno.
- Pérdida de peso.
- El aumento de las células o de la masa de las células.
- Examen físico de la muestra para detector evidencias del crecimiento de colonias y destrucción de esta.

1.3.5.1. Técnicas para la caracterización de polímeros degradados

a. IR (FTIR) Espectroscopía

Chiella et al. (2014) describe que esta técnica permite el análisis cualitativo de compuestos orgánicos a través de la aparición de bandas en el espectro infrarrojo en frecuencias específicas; a su vez, la espectroscopia FTIR es una excelente herramienta para análisis cuantitativo porque las intensidades de absorción de las bandas en el espectro son proporcionales a la concentración.

b. Resonancia magnética nuclear (NMR)

"Medición de los cambios inducidos por la degradación, en los grupos funcionales". (MIRANDA, 2017, p. 62)

HALIM et al., New York, 1992 citado por MIRANA, México, 2017.

c. Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS)

"Separación e identificación de productos de degradación, en los grupos funcionales". (MIRANDA, 2017, p. 62)

d. DTA (Análisis térmico diferencial) y DSC (calorimetría diferencial de barrido)

"Medida de los tiempos de inducción de oxidación para el estudio de la efectividad de un estabilizador y su difusión dentro del sólido". (MIRANDA, 2017, p. 62)

e. GPC (Cromatografía de exclusión molecular)

"Distribución de peso molecular de polímeros degradados." (MIRANDA, 2017, p. 62)

f. Microscopio óptico

"Agrietamiento y profundidad de los daños en la superficie erosionada." (MIRANDA, 2017, p. 62)

g. Consumo de oxígeno

"Medición de la oxidación". (MIRANDA, 2017, p. 62)

a. Valoración gravimétrica de la degradación

"Una manera simple y rápida de medir la biodegradación de los polímeros es mediante la determinación de la pérdida de peso. Aunque los microorganismos que crecen utilizando un sustrato polimérico pueden

conducir a un aumento de peso debido a su adherencia, la pérdida de peso detectada sobre dicho polímero indica un deterioro de su integridad, producto del ataque microbiano" (GAJENDIRAN et al., 2016).

1.3.6. MICROORGANISMOS

Según Montaño et al. (2010), refiere que los microorganismos se agrupan en dos clases de familia: procarióticos, donde se clasifican las archaeas y las bacterias; y los eucarióticos donde se encuentran hongos, algas y protozoarios.

1.3.6.1.Bacterias

Pírez y Mota (2008) definen a las bacterias como microorganismos unicelulares, en su mayoría de vida libre, capaces de producir energía y material genéticos para su desarrollo y crecimiento.

1.3.6.1.1. Género Pseudomonas

El género *Pseudomonas*, refiere Fernández (2015), que estas bacterias se encuentran en el orden Pseudomonadales formando parte de la familia *Pseudomonadaceae*.

Oyola, (2014), a su vez, refiere que este género pertenece al género de bacilo Gram negativo.

Sobre sus características, el género de las *Pseudomonas*, no forman esporas, y encuentran su temperatura óptima de desarrollo a 35 °C, con tolerancia de 42 °C; y 4°C, según lo sostiene Fernández (2015), quien, a su vez, reconoce la versatilidad metabólica y plasticidad genética de este género, por lo que utiliza diferentes compuestos orgánicos como fuentes de carbono, creciendo en cualquier parte del ambiente.

1.3.6.1.2. Pseudomona aeruginosa

La *Pseudomona aeruginosa*, según lo menciona Matinez (2014) se caracteriza por las pigmentaciones hidrosolubles que producen, tal como la pioverdina, de color amarillo-verdoso y fluorescente siempre que se irradie luz ultravioleta (UV); la piocianina, de color azul, que se envidencia cuando el medio donde se desarrolla tiene bajas cantidades de hierro. Por otro lado, puede generar otros pigmentos como la piorubina de color rojo o la piomelanina de color marrón.

1.4.FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cuál será el porcentaje de biodegradación de *Polietileno Tereftalato* (PET) a distintas concentraciones de *Pseudomona aeruginosa*, en condiciones de laboratorio?

1.5.JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La contaminación por plástico, hoy en día se ha convertido en un problema global, debido al uso intensivo de éste, siendo responsable de residuos capaces de acumularse en el medio, gracias a su resistencia y durabilidad.

Es por ello, que enfrentar esta problemática, para reducir la contaminación por plástico, se han adoptado una serie de estrategias, como el reciclaje, sin embargo, esta tecnica no es factible económicamente, debido al costo de las máquinarias que se usan para realizar esta actividad; por el cual se han creado diferentes procedimientos y tecnologías que permitan degradar el plásticos través del uso bacterias, degradando de forma óptima el polietileno tereftalato, tomándose como una de los avances más importantes en nuestro desarrollo como investigadores teniendo en cuenta nuestra comunidad, colegios y universidades con el compromiso de buscar soluciones para combatir el conflicto de la contaminación por plásticos.

Meza, en el año 2013, nos relata que el uso de los microorganismos en la biodegradación de los materiales plásticos, es aceptada por la comunidad científica, gracias a su eficacia al atacar el plástico, utilizándolo como medio carbonado para su desarrollo, y a su vez degradandolo en ausencia y/o prescencia de oxigeno.

La ejecución de este proyecto es netamente práctico, debido a que se aplicaran una serie de tratamiento por medio de ensayos en laboratorio, donde se evaluaran las variables elegidas para determinar el efecto por el cual la *Pseudomona aeruginosa* logre biodegradar al polietileno tereftalato, para de esta forma enfrentar los problemas de la actualidad y poder transformar positivamente el panorama cada vez más arduo en relación a la problemática ambiental en nuestro planeta, con el fin conocer los efectos benéficos que pueden ejercer los microorganismos sobre el PET al emplearlo como fuente de carbono y de esta forma disminuir el impacto ambiental, beneficiando las necesidades futuras.

1.6.HIPÓTESIS

A mayor concentracion de *Pseudomona aeruginosa*, mayor será el porcentaje de biodegradacion de *Polietileno Tereftalato* (PET), en condiciones de laboratorio.

1.7.OBJETIVOS

1.7.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar el porcentaje de biodegradación del *Polietileno Tereftalato* (PET) por acción de *Pseudomona Aeruginosa*, en condiciones de laboratorio.

1.7.2. OBJETIVO ESPECÍFICO

- Calcular el porcentaje de biodegradación del polietileno tereftalato (PET), por acción de 18x10⁷ UFC de *Pseudomona aeruginosa* durante un periodo de 15, 25 y 35 días, en condiciones de laboratorio.
- Calcular el porcentaje de biodegradación del polietileno tereftalato (PET), por acción de 36x10⁷ UFC de *Pseudomona aeruginosa* durante un periodo de 15, 25 y 35 días, en condiciones de laboratorio.
- Calcular el porcentaje de biodegradación del polietileno tereftalato (PET), por acción de 9x10⁸ UFC de *Pseudomona aeruginosa* durante un periodo de 15, 25 y 35 días, en condiciones de laboratorio.
- Evaluar el tratamiento de *Pseudomona aeruginosa* con mayor acción biodegradadora de polietileno tereftalato (PET).

II. MÉTODO

2.1.DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

La presente investigación es de tipo Aplicativa ya que se utilizaron conocimientos previos sobre la acción degradadora de la *Pseudomona aeruginosa* con el fin de determinar su acción sobre el polietileno tereftalato (PET).

El nivel de la presente investigación es Experimental porque se llevó a cabo la manipulación de las variables de estudio.

Asimismo su diseño es de tipo factorial debido a que se desea comprender el efecto de las dos variables independientes con respecto a la variable dependiente.

A continuacion se muestra el diseño del tratamiento experimental:

Tabla 1: Diseño del tratamiento experimental

| TRATAMIENTO | Concentración bacteriana (UFC) | Tiempo de Biodegradación (Días) | Número de repeticiones |
|-------------|--------------------------------------|---------------------------------------|------------------------|
| 01 | $18x10^{7}$ | 15 días | 3 |
| 02 | $18x10^{7}$ | 25 días | 3 |
| 03 | $18x10^{7}$ | 35 días | 3 |
| 04 | $36x10^7$ | 15 días | 3 |
| 05 | $36x10^7$ | 25 días | 3 |
| 06 | $36x10^7$ | 35 días | 3 |
| 07 | $9x10^{8}$ | 15 días | 3 |
| 08 | $9x10^{8}$ | 25 días | 3 |
| 09 | $9x10^{8}$ | 35 días | 3 |

Fuente: Elaboración propia

Tabla 2: Combinación del tratamiento experimental

| TRATAMIENTO | Combinación | Número de repeticiones |
|-------------|-----------------|------------------------|
| 01 | PET+PA(1)+TB(1) | 3 |
| 02 | PET+PA(1)+TB(2) | 3 |
| 03 | PET+PA(1)+TB(3) | 3 |
| 04 | PET+PA(2)+TB(1) | 3 |
| 05 | PET+PA(2)+TB(2) | 3 |
| 06 | PET+PA(2)+TB(3) | 3 |
| 07 | PET+PA(3)+TB(1) | 3 |
| 08 | PET+PA(3)+TB(2) | 3 |
| 09 | PET+PA(3)+TB(3) | 3 |

Fuente: Elaboración propia

Leyenda:

PET: Cantidad de Polietilno Tereftalato (1g.)

PA (1): Concentración de Pseudomona aeruginosa (18x10⁷ UFC/mL)

PA (2): Concentración de Pseudomona aeruginosa (36x10⁷ UFC/mL)

PA (2): Concentración de Pseudomona aeruginosa (9x10⁸ UFC/mL)

TB (1): Tiempo de biodegradación de 15 días

TB (2): Tiempo de biodegradación de 25 días

TB (3): Tiempo de biodegradación de 35 días

2.2. VARIABLES Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

2.2.1. Variable dependiente

Porcentaje de Biodegradación del Polietileno tereftalato (PET)

a. V. Conceptual

La Biodegradación es la modificación de la materia orgánica en compuestos sencillos utilizando microorganismos.

El *polietileno tereftalato*, se obtiene por la polimerización de etilenglicol con ácido tereftálico, siendo un polímero termoplástico. (REYNA, 2016)

b. V. Operacional

Los resultados se calcularon en base al método de Diferenciación de pesos.

c. Inicadores

Los resultados obtenidos por Diferencia de pesos, fueron convertidos a unidades en Porcentaje de biodegradación (%)

d. Escala de medicion

El indicador, por su escala de medicion es cuantitativa-razón.

2.2.2. Variable Independiente:

Concentración de Pseudomona aeruginosa.

a. V. Conceptual

La *Pseudomona aeruginosa* es un bacilo Gram negativo aerobio, no fermentador, y móvil, por la presencia de un flagelo polar. (FERNÁNDEZ, 2016)

b. V. Operacional

El valor de la concentración de *Pseudomona aeruginosa* fue definido por recuento en placa.

c. Inicadores

La concentracion de *Pseudomona aeruginosa* se midió en Unidades Formadoras de Colonias (UFC)

d. Escala de medicion

El indicador, por su escala de medicion es cuantitativa-razón.

Tiempo de Biodegradación

a. V. Conceptual

El tiempo es un periodo, en el que se realiza una acción.

b. V. Operacional

El valor del tiempo fue definido por días calendarios.

c. Inicadores

Tiempo en días.

d. Escala de medicion

El indicador, por su escala de medicion es cuantitativa-razón.

2.3.POBLACIÓN Y MUESTRA

2.3.1. Población:

La población de la presente investigación es el polietileno tereftalato (PET) de los envases de bebidas en el mercado.

2.3.2. Muestra:

La muestra consiste en 35 gramos de polietileno tereftalato (PET) obtenido de envases de agua de mesa, marca "Cielo".

2.4.TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD

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

La ficha de observación, instrumento que se utilizará en la investigación, está constituida por recuadros de aspectos que guían la observación del comportamiento del proceso en estudio.

Para determinar la validez y confiabilidad del instrumento es necesario conocer en qué grado, una medida representa a cada elemento de un constructo, sirviendo como indicador de si la característica deseada es la medida; por ello se determinó la validez del instrumento por contenido, la cual fue evaluada por tres profesionales con amplia experiencia e el tema desarrollado.

2.5.MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS

Lo datos registrados en la ficha de observación que se muestra en el anexo 2, serán ordenado en hojas de Excel para posteriormente, haciendo uso de la estadística inferencial, determinar el contraste de normalidad para tener la certeza de que los datos obtenidos sean fiables para realizar en análisis de varianza (ANOVA), que permite determinar si los tratamientos difieren significativamente entre sí. Posteriormente se aplicará el Test de comparaciones múltiples según Duncan con el objeto de especificar la alternativa de tratamiento diferente.

Los resultados de cada uno de los tratamientos serán mostrados por estadística descriptiva, mediante gráficos y tablas para poder evidenciar los datos más relevantes.

2.6.ASPECTOS ÉTICOS

Las diversas investigaciones científicas brindan una infinidad de aportes a la ciencia permitiendo el desarrollo de nuevos procesos y tecnologías para ser utilizadas en favor de la sociedad y en entorno.

La presente investigación muestra resultados veraces en base al correcto cumplimiento de procedimientos desarrollados con anterioridad, los mismos que serán expuestos mediante evidencias en cada una de las etapas desarrolladas durante la investigación, las cuales no se consideran perjudiciales para el ambiente y la sociedad, ya que se adoptaron las medidas de seguridad e higiene adecuadas para la manipulación del material biológico.

Sobre el material biológico, este está identificado y certificado por un Laboratorio con el fin de tener la plena certeza de ser el mencionado en la presente investigación.

Por otro lado, toda información recopilada en base a investigaciones científicas relacionadas a la presente investigación, y que forman parte del fundamento de la misma están correctamente citadas según la Norma ISO 690, respetando la propiedad intelectual de cada uno de los autores.

III. RESULTADOS

Se aplicaron 09 tratamientos, cada uno de estos replicados 03 veces en las mismas condiciones, obteniéndose los siguientes resultados:



Fig. 1. Aplicación de los tratamientos en condiciones de laboratorio

Fuente: Elaboración propia

La figura muestra la apariencia de los ensayos tras 3 días de la aplicación de los tratamientos, los cuales se mantuvieron en movimientos y a condiciones de laboratorio.

Tabla 3. Porcentajes de Biodegradación del polietileno tereftalato (PET) tras la aplicación de tratamientos de diferentes concentraciones de *Pseudomona aeruginosa* y tiempo de biodegradación, utilizados en condiciones de laboratorio.

| | Concentración | Tiempo de |] | Biodegradació | n del PET (%) | |
|-------------|---------------------|-----------|--------|---------------|---------------|----------|
| Tratamiento | Bacteriana (UFC) | | | Repetición 2 | Repetición 3 | Promedio |
| 1 | $18x10^{7}$ | 15 días | 4.90% | 5.60% | 5.50% | 5.33% |
| 2 | $18x10^{7}$ | 25 días | 9.60% | 9.90% | 10.60% | 10.03% |
| 3 | $18x10^{7}$ | 35 días | 13.90% | 12.70% | 13.00% | 13.20% |
| 4 | $36x10^{7}$ | 15 días | 4.50% | 6.10% | 5.40% | 5.33% |
| 5 | $36x10^7$ | 25 días | 9.40% | 10.90% | 10.10% | 10.13% |
| 6 | $36x10^{7}$ | 35 días | 13.30% | 19.50% | 18.50% | 17.10% |
| 7 | 9x10 ⁸ | 15 días | 7.30% | 7.20% | 6.40% | 6.97% |
| 8 | $9x10^{8}$ | 25 días | 10.60% | 11.00% | 10.50% | 10.70% |
| 9 | $9x10^{8}$ | 35 días | 19.60% | 19.90% | 20.30% | 19.93% |

Fuente: Elaboración propia

Los tratamientos muestran relación directa entre el tiempo y la concentración de *Pseudomona aeruginosa* respecto al porcentaje de biodegradación del polietileno tereftalato A su vez, el mayor porcentaje de remoción obtenido fue resultado de la aplicación del tratamiento N° 9, el cual consistió en la aplicación de 9 x 10⁸ UFC de *Pseudomona aeruginosa* en un periodo de tiempo de 35 días logrando biodegradar 19.93%.

Para tener certeza de que los resultados obtenidos de la biodegradación del polietileno tereftalato están distribuidos con normalidad se realizó la prueba de Normalidad bajo las siguientes hipótesis:

H₀: La variable "Biodegradación del polietileno tereftalato" presenta distribución normal.

H₁: La variable "Biodegradación del polietileno tereftalato" no presenta distribución normal.

Tabla 4. Prueba de Normalidad según Shapiro – Wilk

| Tratamientos — | | Shapiro- | | |
|------------------------|---|-------------|----|-----------|
| Tratamentos | | Estadístico | gl | p - valor |
| | 1 | 0.855 | 3 | 0.253 |
| | 2 | 0.949 | 3 | 0.567 |
| | 3 | 0.923 | 3 | 0.463 |
| Porcentaje de | 4 | 0.995 | 3 | 0.862 |
| | 5 | 0.999 | 3 | 0.927 |
| Biodegradación del PET | 6 | 0.867 | 3 | 0.288 |
| | 7 | 0.832 | 3 | 0.194 |
| | 8 | 0.893 | 3 | 0.363 |
| | 9 | 0.993 | 3 | 0.843 |

Fuente: Elaboración Propia

Asistencia: Programa IBM SPSS Statistics 24

Se muestra que el p-valor es mayor a 0.05 en todos los tratamientos por ende se acepta la hipótesis nula que determina que los resultados sobre la biodegradación del polietileno tereftalato presenta distribución normal.

Luego de haber realizado la prueba de normalidad realizamos la prueba de Homogeneidad de varianza y posteriormente el Análisis de Varianza para determinar si los distintos tratamientos empleados influencian significativamente a la variable dependiente Consumo de Plástico por la Bacteria, para ello se muestran las siguientes hipótesis:

H₀: Para las diferentes combinaciones Concentración bacteriana y tiempo de biodegradación, los consumos medios de plástico obtenidos son iguales.

H₁: Para las diferentes combinaciones Concentración bacteriana y tiempo de biodegradación, al menos uno de los consumos medios de plástico obtenidos no es igual.

Tabla 5. Porcentajes de Biodegradación del polietileno tereftalato (PET) tras la aplicación de tratamientos de diferentes concentraciones de *Pseudomona aerugionosa* y tiempo de biodegradación utilizados en condiciones de laboratorio.

| | | F | Sig. |
|---------|--------------------------------|-------|------|
| 15 días | Se asumen varianzas iguales | ,500 | ,519 |
| | No se asumen varianzas iguales | | |
| 25 días | Se asumen varianzas iguales | 1,600 | ,275 |
| | No se asumen varianzas iguales | | |
| 35 días | Se asumen varianzas iguales | 1,527 | ,284 |
| | No se asumen varianzas iguales | | |

Fuente: Elaboración Propia

Asistencia: Programa IBM SPSS Statistics 24

Los resultados obtenidos para el p-valor en todos los tratamientos son superiores al 0.05 por ende se acepta la hipótesis que califica a las varianzas como homogéneas.

Tabla 6. Análisis de Varianza de los resultados obtenidos sobre la biodegradación del polietileno tereftalato por acción de *Pseudomona aeruginosa*, en condiciones de laboratorio.

| Origen | Tipo III de suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | p - valor |
|------------------------|-------------------------------------|----|---------------------|----------|-----------|
| Modelo corregido | 612,336 ^a | 8 | 76.542 | 50.953 | 0.000 |
| Intersección | 3249.424 | 1 | 3249.424 | 2163.078 | 0.000 |
| CONCENTRACION | 40.979 | 2 | 20.489 | 13.639 | 0.000 |
| TIEMPO | 537.650 | 2 | 268.825 | 178.951 | 0.000 |
| CONCENTRACION * TIEMPO | 33.708 | 4 | 8.427 | 5.610 | 0.004 |
| Error | 27.040 | 18 | 1.502 | | |
| Total | 3888.800 | 27 | | | |
| Total corregido | 639.376 | 26 | | | |

Fuente: Elaboración Propia

Asistencia: Programa IBM SPSS Statistics 24

Los p – valor muestran valores inferiores al 0.05 por ende se rechaza la hipótesis nula; lo que indica que al menos uno de los tratamientos en relación a la concentración de *Pseudomona aeruginosa* y el tiempo influyen en la biodegradación de polietileno tereftalato.

Una vez comprobado que existe influencia significativa de los distintos tratamientos sobre el Consumo de Plástico por Bacterias se procedió a realizar la Prueba de Duncan para determinar específicamente aquellos tratamientos que afectan en mayor medida dicha variable.

Tabla 7. Determinación del tratamiento con mayor acción biodegradadora del polietileno tereftalato (PET) en condiciones de laboratorio

| | | | Subcon | junto para a | fa =0.05 | |
|---------------|---|------|--------|--------------|----------|-------|
| Tratamientos | N | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Tratamiento 1 | 3 | 5,33 | | | | |
| Tratamiento 4 | 3 | 5,33 | | | | |
| Tratamiento 7 | 3 | 6,97 | | | | |
| Tratamiento 2 | 3 | | 10,03 | | | |
| Tratamiento 5 | 3 | | 10,13 | | | |
| Tratamiento 8 | 3 | | 10,70 | | | |
| Tratamiento 3 | 3 | | | 13,20 | | |
| Tratamiento 6 | 3 | | | | 17,10 | |
| Tratamiento 9 | 3 | | | | | 19,93 |
| Sig. | | ,139 | ,537 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |

Fuente: Elaboración Propia

Asistencia: Programa IBM SPSS Statistics 24

Los resultados obtenidos en los tratamientos 1, 4 y 7 que corresponden al periodo de biodegradación de 15 días y la aplicación de $18x10^7$, $36x10^7$ y $9x10^8$ UFC respectivamente, no muestran diferencias significativas, al igual que en los tratamientos 2, 5 y 8 consistentes en la aplicación de las concentraciones mencionadas anteriormente durante un periodo de 25 días; caso contrario, los tratamientos 3, 6 y 9 en función a los 35 días de biodegradación si muestran diferencia significativa, mostrándose que el tratamiento 9 logró la mayor biodegradación en comparación a los otros tratamientos obteniendo 19.93% de biodegradación del polietileno tereftalato.

IV. DISCUSIÓN

En la presente investigación, se logró evidenciar la degradación de polietileno tereftalato (PET) tras la aplicación de tres concentraciones de *Pseudomona aeruginosa* en diferentes periodos de tiempo y bajo condiciones de laboratorio. Los resultados muestran que los mayores porcentajes de biodegradación de polietileno tereftalato fueron

obtenidos con la mayor concentración bacteriana y el mayor tiempo de biodegradación utilizados en condiciones de laboratorio.

En la figura 1 se observa la presencia de micelas y turbidez, como evidencia de un posible ataque microbiano, a diferencia del blanco que se encuentra en las mismas condiciones que los tratamientos. Por su parte, se evidencia mayor formación de micelas cuando la concentración de bacterias aplicada fue superior. Estas características son semejantes a los reportados por Uribe (2010) quien durante los dos meses que duró la incubación del polietileno de baja densidad ante la acción biodegradadora de un consorcio microbiano, también observó la presencia de micelas, indicando que se debería a la acción degradante de los microorganismos.

Por otro lado, cabe señalar que los tratamientos fueron aplicados en condiciones de laboratorio habilitándose en medio necesario para mantenerlos en movimientos debido a que, según los resultados obtenidos por Gutierrez (2013) en la aplicación de consorcios microbianos para la biodegradación de polietileno de baja densidad, se obtienen mayores porcentajes de biodegradación cuando los tratamientos se aplican en agitación rotativa en comparación a los obtenidos por los tratamientos en reposo, indicando que la agitación estimula el desarrollo bacteriano, en particular cuando los microorganismo son aeróbicos, tal como la *Pseudomona aeruginosa* según lo señalan fuentes bibliográficas.

En la Tabla 3, se muestra los resultados obtenidos de los 09 tratamientos y sus 03 repeticiones, observándose que a medida que se incrementa el tiempo, aumenta el porcentaje de biodegradación del PET. Del mismo modo, se puede observar que en los tres primeros tratamientos se aplicaron concentraciones bacterianas de 18 x 10⁷ UFC, mientras que, en los siguientes tres, la concentración se duplicó a 36 x 10⁷ UFC, por lo que se esperaba que los resultados de biodegradación a obtenerse se relacionaran directamente; sin embargo, estos no se duplicaron en relación a los resultados obtenidos en los primero tratamientos. De igual modo, al quintuplicar la concentración de *Pseudomona aeruginosa* de 18 x 10⁷ UFC a 9 x 10⁸ UFC los resultados de biodegradación del PET obtenidos solo muestran ligeras variaciones; es decir, que el incremento de la concentración bacteriana no influye considerablemente en la biodegradación del polietileno tereftalato, lo que se debería a la lenta actividad de

biodegradación señalada también por Alania y Pérez (2017) en alusión a la acción de la *Pseudomona* ATCC en el Polipropileno, donde se evidenció un proceso lento a consecuencia de la adaptación de la bacteria en el medio.

De lo mencionado anteriormente se infiere que la *Pseudomona aeruginosa* aplicada para la degradación del PET en esta investigación, tuvo un proceso de crecimiento más lento debido a que no fue aislada de un medio similar necesitando un periodo de adaptación que no fue tomado en cuenta en la presente, por lo que consideramos importante resaltar la capacidad de los microorganismos para asimilar diferentes compuestos, su tiempo de adaptación, así como la importancia de la concentración bacteriana aplicada a cada tratamiento y el periodo del mismo.

Por otro lado, en la Tabla 3, se observa que en un periodo de 15 días tras aplicarse 18 x 10⁷ UFC, 36 x 10⁷ UFC y 9 x 10⁸ UFC de *Pseudomona aeruginosa* se muestran resultados de remoción del PET muy bajos obteniéndose un porcentaje de 5.33% en las dos primeras concentraciones y 6.97% en la última concentración. De igual manera se observa a los 25 días de terminar el tratamiento, con las concentraciones anteriormente mencionadas, que el porcentaje de remoción del PET varía más que a los 15 días, obteniéndose resultados de 10.03%, 10.13% y 10.70% respectivamente. No obstante, al finalizar el periodo de 35 días de se incrementó el porcentaje de biodegradación, obteniendo resultados de 13.20%, 17.10% y 19.93%; por lo tanto, se infiere que conforme se aumenta la duración del tratamiento, la influencia en la biodegradación del polietileno tereftalato, lo que se relaciona con la investigación realizada por Arciniega (2008), en la cual utilizaron microorganismos degradadores del PET, mostrándose como resultados mayor degradación a tiempos de exposición más prolongados.

En esta investigación, los resultados obtenidos tras la aplicación de los 9 tratamientos muestran porcentajes de biodegradación similares, evidenciándose que, tras la aplicación de las diferentes concentraciones bacterianas, los mejores resultados obtenidos estuvieron en relación al periodo de biodegradación al que fue expuesto el PET; cabe mencionar que, los tratamientos aplicados por un periodo de 15 días solo mostraron porcentajes de biodegradación mínimos; en comparación con los resultados obtenidos en la investigaciones realizada por Gonzáles. et al. (2016), quienes utilizaron el *Aspergillus nidulans* como agente biodegradante del poliéster entre ellos el PET, obteniendo

resultados mayores al 90% de biodegradación a este tipo de poliésteres en 15 días, mencionando que el PET tuvo un proceso lento de degradación debido a que a los 3 días no se mostró evidencia de degradación, al no producir proteínas recombinantes, según el método que utilizaron para comprobar la degradación, puesto que se infiere que estas enzimas rompen enlaces de esteres del PET, en forma rápida. Cabe señalar que, en otra investigación realizada por Gutiérrez (2018), se logró observar mayor degradacion en un periodo de 72 horas, indicando que la *Pseudomona aeruginosa* logra biodegradar el Politieleno de baja densidad; obteniendose mejores resultados pero altas concentraciones bacterianas y a mayor periodo de biodegradacion demostrando que la *Pseudomona aeruginosa* si logra afectar al polimero que es utilizado como fuente de carbono.

A partir de las pruebas estadísticas aplicadas a las variaciones en el porcentaje de biodegradación del polietileno tereftalato se demostró que las variables concentración de *Pseudomona aeruginosa* y tiempo de biodegradación si intervienen en el proceso de biodegradación del polímero en cuestión, resaltando que el tiempo tiene mayor influencia que la concentración bacteriana.

Además, como resultado del Test de Duncan, se determinó que los tratamientos con mayores porcentajes de biodegradación del polietileno tereftalato fueron obtenidos tras un periodo de 35 días bajo la aplicación de las tres diferentes concentraciones bacterianas. En comparación a lo mencionado anteriormente, Meza(2013), determinó que las bacterias del humus de caballo al finalizar los 35 días del experimento biodegradó un 10.89% de polietileno tereftalato, el humus de gallina degradó 6.64% y el humos de lombriz 7.87%, lo que indicaría que *Pseudomona aeruginosa* a un periodo de 35 días tiene mayor capacidad de biodegradación respecto a la acción de bacterias nativas presentes en el humus de caballo, gallina y lombriz, pudiéndose deber a la lucha constante por la supervivencia de un microorganismo frente al otro dentro de un mismo medio.

Finalmente se determinó una notoria diferencia entre el resultado obtenido del tratamiento N° 9 y el resto de tratamientos en las mismas condiciones, por lo que se considera como el tratamiento con mejores resultados de biodegradación de polietileno tereftalato dentro de la presente investigación.

V. CONCLUSIONES

Después de la realización del presente trabajo de investigación se concluye que:

- De los tratamientos utilizados en la presente tesis, el mejor tratamiento para la biodegradación de polietileno tereftalato fue la aplicación de 9x10⁸ UFC de Pseudomona aeruginosa durante un periodo de 35 días con un porcentaje de biodegradación del 19.93%
- 2. La remoción del polietileno tereftalato, depende del tiempo en el que el material este expuesto al factor biodegradante, comprobándose así, que el polietileno tereftalato requiere más tiempo para su degradación, y, que la influencia de la concentración bacteriana en la biodegradación del polímero es baja.
- 3. Finalmente, la metodología propuesta de la presente tesis, nos permitió determinar el porcentaje de biodegradación de polietileno tereftalato mediante pérdida de peso, y así postularlo como una alternativa viable en el uso de la biotecnología.

VI. RECOMENDACIONES

- Realizar ensayos con tiempos de biodegradación superiores a los aplicados en esta investigación con el objeto de obtener mejores resultados y reafirmar la influencia de esta variable en la biodegradación del polietileno tereftalato.
- 2. Realizar ensayos con temperatura y sistema de aireación controlado, para observar si estos factores intervienen significativamente en el proceso de biodegradación del polietileno tereftalato.
- 3. Realizar pruebas de biodegradación con diferentes polímeros bajo acción de la Pseudomona auriginosa, y a su vez, realizar ensayos con diferente material biológico, en busca de nuevas especies bacterianas capaces de biodegradar polímeros.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALANIA, Yorka. PÉREZ, Romero. "Efecto de la temperatura en el crecimiento de dos cepas ATCC de Pseudomonas sp. expuestas a polipropileno". Lima: Universidad Peruano Cayetano Heredia, 2017. 27p. [En Línea] [Fecha de consulta: El 16 de abril del 2018.] Disponible en: http://repositorio.upch.edu.pe/handle/upch/819

ARCINIEGA, Ilse. Aislamiento de Microoganismos degradadores de Tereftalato de Polietileno (PET) en medio ambiente combinado. Título (Ingeniero en Biotecnología). México: Instituto Politécnico Nacional, 2008. 49 pp. [En Línea] [Fecha de consulta: El 16 de abril del 2018.] Disponible en: http://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/14439/ProyectoFinal.pdf?sequenc e=1.

ÁLVAREZ et al. Biodegradative activities of selected environmental fungi on a polyester polyurethane varnish and polyether polyurethane foams. Applied and Environmental Microbiology, 2017. P. 82(17). [En Línea] [Fecha de consulta: El 07 de mayo del 2018.] Disponible en: https://doi.org/10.1128/AEM.01344-16

AYALA, Laura. Estudios en degradación de poliuretano con hongos endófitos del género Pestalotiopsis. Título (Licenciado en Ciencias Biológicas). Quito: Pontifica Universidad Católica del Ecuador, 2015. 37 pp. [En Línea] [Fecha de consulta: El 12 de abril del 2018.] Disponible en: http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/9934/TESIS%20LAURA% 20AYALA%20BUCHELI.pdf?sequence=1.

BELTRÁN, Maribel. y MARCILLA, Antonio. *Tecnología de Polímeros*. España: s.n., 2013. 978-84-9717-232-5.

BLANCO, Iris y CABALLERO, Cecilia. Propuesta de Validación del Método de Espectroscopia Infrarroja para la cunatificación de Grasas Trans en Margarina. Tesis (Licenciada en Química y Framacia). San Salvador: Universidad de El

Salvador, 2015. 163 pp. [En Línea] [Fecha de consulta: El 05 de Mayo del 2018.] Disponible en: http://ri.ues.edu.sv/7661/1/16103580.pdf.

BLANCO, M. *Generalidades sobre polímeros*. [en línea] Barcelona : Universidad Politécnica de Cataluña (UPC), 2007. [Fecha de consulta:18 de abril de 2018]. Disponible en: https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099.1/4536/Anexo%20%20B.pdf?s equence=3.

CHIELLA, et al. Análisis exploratorio aplicado a espectros de reflexión total atenuada en el infrarrojo con transformada de Fourier (ATR-FTIR) de mezclas de biodiesel / diesel. Revista Química Nueva [en línea].Vol. 37, n° 5, 2014. [Fecha de consulta: 12 e abril de 2018]. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422014000500009. ISSN: 0100-4042

CHUNGA, Loudes. y CIEZA, Carlos. Biodegradación de poliestireno utilizando microorganismos presentes en el Humus de lombriz durante los meses, octubre - diciembre 2016. Título (Ingeniero Ambiental). Chiclayo: Universidad de Lambayeque, 2017. [En Línea] [Fecha de consulta: El 12 de abril del 2018.] Disponible en: http://repositorio.udl.edu.pe/bitstream/UDL/83/3/CHUNGA%20CAMPOS%2c%

20LOURDES%20DEL%20ROSARIO%20ok.pdf. **DOMÍNGUEZ, Samuel.** *Laboratorio de Microbiología.* [En línea] [Fecha de

consulta: 02 de mayo de 2018.] http://perso.wanadoo.es/microdominguez/c.htm.

EUROMONITOR INTERNATIONAL. Bottled wáter in Peru. 2018. [En línea] [Fecha de consulta: 15 de junio de 2018] Disponible en: http://www.euromonitor.com/bottled-water-in-peru/report.

FERNÁNDEZ, Ana. Primocolonización por "Pseudomonas aeruginosa" en la colonización patogénica broncopulmonar en fibrosis quística: diagnóstico por

técnicas de microbiología molecular, estudio de clonalidad y crecimiento en biofilm. Tesis (Doctor en Farmacia). Madrid. 2016. 274 pp. [En línea] [Citado el: 02 de Mayo de 2018.] Disponible en: http://eprints.ucm.es/36109/1/T36916.pdf

GAJENDIRAN, A., KRISHNAMOORTHY, S. y ABRAHAM, J. Microbial degradation of low-density polyethylene (LDPE) by Aspergillus clavatus strain JASK1 isolated from landfill soil. 3 Biotech, 6:52

GAMA, Cynthia. Acción de la Celulosa en la biodegradación de Películas de Gelatina. Tesis (Magíster en Ciencias en Desarrollo de Productos Bióticos) Yautepec de Zaragoza: Instituto Politécico Nacional, 2014. 82 pp. [En línea] [Citado el: 18 de abril de 2018.] Disponible en: http://tesis.ipn.mx/handle/123456789/13565.

GENNARO, **Alfonso**. Remington: Farmacia. Montevideo: Ed. Médica Panamericana, 2003. 9500618664.

GONZALEZ, et al. Cutinasas recombinantes de aspergillus nidulans para biodegradación de poliésteres. México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2016.

GUTIÉRREZ, Jazmin. Biodegradación de Polietileno de Baja Densidad Por consorcios Microbianos. Tesis (Bióloga) México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2013. 58 p. [En línea] [Citado el: 18 de abril de 2018.] Disponible en: https://www.zaragoza.unam.mx/portal/wp-content/Portal2015/Licenciaturas/biologia/tesis/tesis gutierrez pescador.pdf.

GUTIÉRREZ, Karem. Influencia de Factores ambientales de crecimiento microbiano en la degradación de polietileno de baja densidad por la bacteria Pseudomona aeruginosa en Huancayo. Tesis(Ingeniero Ambiental). Huancayo: Universidad Continental, 2018. 165p. [En línea] [Citado el: 18 de abril de 2018.] Disponible

http://repositorio.continental.edu.pe/bitstream/continental/4507/1/IV_FIN_107_T E_Gutierrez_Taipe_2018.pdf

HERMIDA, Élida. Polímeros. En: Guía didáctica. Buenos Aires: Instituto Nacional de Educación Tecnológica, 2011. p. 8. [En línea] [Fecha de consulta: 29 de abril de 2018.] Disponible en: http://www.inet.edu.ar/wp-content/uploads/2012/11/09_Polimeros.pdf.

LÁREZ, Cristóbal. Terminología Básica utilizada en Polímeros. 2008. s.l.: Universidad del País Vasco, 2008. [En línea] [Fecha de consulta el 29 de abril de 2018.]

Disponible en: http://www.ehu.eus/reviberpol/pdf/publicados/cristobal1.pdf.

MONTAÑO, Arias, et. al. Los microorganismos: Pequeños Gigantes. 77, México: División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, 2010, Redalyc, Vol. 17. 01879073.

MARTÍN, Alejandra. Estudio preliminar de la biodegradación de plásticos. España: Universidad de la Laguna, 2017. [En línea] [Fecha de consulta: 15 de mayo de 2018]. Disponible en: https://riull.ull.es/xmLui/bitstream/handle/915/5762/Estudio%20preliminar%20de %20la%20biodegradacion%20de%20plasticos%20por%20bacterias%20marinas.p df?sequence=1&isAllowed=y.

MARTIN, Karen. *Bioprospección de la degradación del Polietileno*. Tesis (Microbiología Industrial) Bogotá: Pontifica Universidad Javeriana, 2012. 37p. [En línea] [Citado el: 12 de abril de 2018.] Disponible en: https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/11849/MartinClavijoK arenFernanda2012.pdf?sequence=1.

MARTÍNEZ, Inmaculada. Papel de EF-TU en la interacción de Pseudomonas aeruginosas con los queratinocitos Humanos. España: s.n., 2014. 141p. [En línea] [Citado el: 05 de mayo de 2018.] Disponible en:

http://ibdigital.uib.es/greenstone/collect/tesisUIB/index/assoc/Martinez/_Ramos_I .dir/Martinez_Ramos_Inmaculada.pdf

MEZA, Mauricio. Biodegradabilidad de Polietileno tereftalato y de Oxopolietileno, a nivel de Laboratorio, por la acción de Bacterias Nativas Presentes en Humus de Lombriz, Caballo y Gallina. Tesis (Ingeniero en Biotecnología) Sangolquí: Escuela Politécnica del Ejercito, 2013. 89p. [En línea] [Citado el: 12 de abril de 2018.] Disponible en: https://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/6263.

MEZA, Shirley. y PEREZ, Bryan. Caracterización de la cadena de abastecimiento de Botellas de Tereftalato de Polietileno como estrategia de Optimización del Reciclaje en la ciudad de Barranquilla. Universidad de la Costa, 2015. [En línea] [Citado el: 10de mayo de 2018.] Disponible en: http://repositorio.cuc.edu.co/xmLui/bitstream/handle/11323/498/1143131593.pdf? sequence=1&isAllowed=y.

MIRANDA, José. Reacciones y sus mecanismos en la degradación de polímeros. Tesis (Ingeniero Químico Petrolero) México: Instituto Politécnico Nacional, 2017. 4p- 57p. [En línea] [Citado el: 28 de abril de 2018.] Disponible en: http://tesis.ipn.mx:8080/xmLui/bitstream/handle/123456789/18230/25-1-16842.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

MORENO, Raquel. El ser humano ha generado 8300 millones de toneladas plástico. [En línea] [Citado el: 28 de abril de 2018.] Disponible en: https://www.muyinteresante.es/naturaleza/articulo/el-ser-humano-ha-generado-8-300-millones-de-toneladas-de-plastico-361500536592

MUÑOZ, Susan. Degradación de polímeros de interés industrial utilizando una mezcla de Pseudomonas aeruginosa, Cladosporium sp y Alternaria sp. Tesis. (Tecnólogo Médico, mención laboratorio Clínico, Hematología y banco de Sangre) Santiago, Chile: Universidad Santo Tomás Tecnológica Médica, 2014. 174p. [En línea] [Citado el: 11 de abril de 2018.] Disponible en:

https://www.researchgate.net/profile/Eugenio_Reyes/publication/290431329_Deg radacion_de_Plasticos_utilizando_Bacterias_y_Hongos/links/5697acbd08ae34f3c f1f0a26/Degradacion-de-Plasticos-utilizando-Bacterias-y-Hongos.pdf.

SAMANIEGO, **Juan**. *Tecnología para las personas*. Entrevista a Marcus Eriksen. 2017. [Fecha de consulta: 26 de abril del 2018] Disponible en : https://www.nobbot.com/personas/entrevista-marcus-eriksen-5-gyres-institute/

OYOLA, Delia. "Evaluación de la influencia del meropenem en la formación de piocianina y alginato en pseudomonas aeruginosa formadora de biopelícula". Lima: Universidad Mayor de San Marcos, 2014. [En línea] [Citado el: 03 de mayo de 2018.]Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/3881?mode=full

PÍREZ, M y MOTA, M. Morfología y Estructura Bacteriana. Temas de bacteriología y virología médica. 2008. p23. [En línea] [Citado el: 04 de mayo de 2018.]

Disponible en: http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/MorfologiayEstructuraBacteriana.pdf

POSADA, Beatriz. La degradación de los plásticos. Medellín: Universidad Eafit, 1994, Vol. 30. 23448172.

RESPONSE, T. (N.D.). Response to Comment on "A bacterium that degrades and assimilates poly(ethylene terephthalate)." *Science*, p. 13–15.

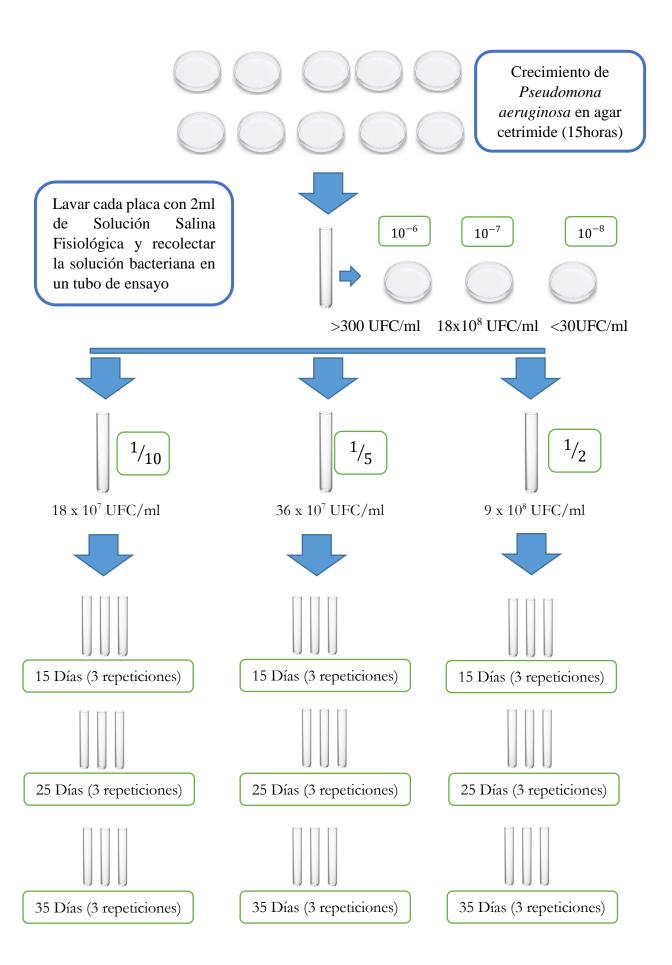
REYNA, César. Reutilización de Plástico PET, papel y Bagazo de Caña de Azúcar, como materia Prima en la Elaboración de Concreto Ecológico para la Construcción de Viviendas de Bajo Costo. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo, 2016. 70p. [En línea] [Citado el: 01 de mayo de 2018.] Disponible en: http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/3158/TESIS%20MAESTR IA%20CESAR%20ALBERTO%20REYNA%20PARI.pdf?sequence=1&isAllow ed=y

URIBE et al. *Biodegradación de polietileno de baja densidad por acción de un consorcio microbiano aislado de un relleno sanitario, Lima, Perú.* Revista peruana de Biología [en línea]. Vol. 17, n°1, **2010.** [En línea] [Fecha de consulta: 19 de abril de 2018]. Disponible en: https://www.ucv.edu.pe/datafiles/FONDO%20EDITORIAL/Manual_ISO.pdf. ISSN: 1727-9933.

YEPES, Laura. Degradación de Polietileno de Baja Densidad Utilizando Hongos. Revisión Sistemática de la Literatura. Tesis (Microbiología Industrial) Bogotá, Colombia: Pontifica Universidad Javeriana, 2014. 49 p. [En línea] [Citado el: 11 de abril de 2018.] Disponible en: https://repository.javeriana.edu.co:8443/bitstream/handle/10554/16184/YepesAgu irreLauraMaria2014.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

VIII. ANEXOS

ANEXO 01: Procedimiento Gráfico



ANEXO 02: Ficha de Observación

| | | FICH | A DE OBSERVAC | ION | | |
|------------------|-------|---|---------------------------|----------------|--|-----|
| nvestigación | | | | Lugar | | |
| Observador | | | | Asesor | | |
| NFORMACIÓN GEI | NERAL | | | | | |
| ipo de polímero | | | Microorganismo | | | |
| Medio de cultivo | | | Volumen del me | dio de cultivo | | |
| emperatura | | | рН | | | |
| echa Inicio | | | Fecha fin | | | |
| DETERMINACIÓN E | | | ara medir la biodegradaci | TIEMPO | (días) | |
| | | | | | | |
| | | | Peso inicial | | Pesos finales | |
| | | [] Microorganismo (UFC/mL) | Peso inicial Od | 15d | Pesos finales 25d | 35d |
| REPETICIÓN | N 1 | 18x10^7 | | 15d | | 35d |
| REPETICIÓN | N 1 | 18x10^7 36x10^7 | | 15d | | 35d |
| REPETICIÓN | N 1 | 18x10^7 | | 15d | | 35d |
| REPETICIÓN | N 1 | 18x10^7 36x10^7 | | 15d | 25d | 35d |
| REPETICIÓN | N 1 | 18x10^7 36x10^7 | | | 25d | 35d |
| | | 18x10^7 36x10^7 | Od | | 25d | 35d |
| REPETICIÓN | | 18x10^7 36x10^7 9x10^8 [] Microorganismo (UFC/mL) 18x10^7 | Od Peso inicial | TIEMPO | 25d O (días) Pesos finales | |
| | | 18x10^7 36x10^7 9x10^8 [] Microorganismo (UFC/mL) 18x10^7 36x10^7 | Od Peso inicial | TIEMPO | 25d O (días) Pesos finales | |
| | | 18x10^7 36x10^7 9x10^8 [] Microorganismo (UFC/mL) 18x10^7 | Od Peso inicial | TIEMPO | 25d O (días) Pesos finales | |
| | | 18x10^7 36x10^7 9x10^8 [] Microorganismo (UFC/mL) 18x10^7 36x10^7 | Od Peso inicial | TIEMPO | 25d (días) Pesos finales 25d | |
| | | 18x10^7 36x10^7 9x10^8 [] Microorganismo (UFC/mL) 18x10^7 36x10^7 | Od Peso inicial | TIEMPO 15d | 25d (días) Pesos finales 25d | |
| | | 18x10^7 36x10^7 9x10^8 [] Microorganismo (UFC/mL) 18x10^7 36x10^7 | Peso inicial Od | TIEMPO 15d | 25d (días) Pesos finales 25d | |
| | N 2 | 18x10^7 36x10^7 9x10^8 [] Microorganismo (UFC/mL) 18x10^7 36x10^7 9x10^8 | Peso inicial Od | TIEMPO | 25d O (días) Pesos finales 25d O (días) Pesos finales | 35d |
| REPETICIÓN | N 2 | 18x10^7 36x10^7 9x10^8 [] Microorganismo (UFC/mL) 18x10^7 36x10^7 9x10^8 [] Microorganismo (UFC/mL) | Peso inicial Od | TIEMPO | 25d O (días) Pesos finales 25d O (días) Pesos finales | 35d |

ANEXO 03:

Fórmula del Polietileno tereftalato

Figura N^{\circ} 02: Fórmula química del Polietileno tereftalato

Fuente: http://www.wikiwand.com/es/Tereftalato_de_polietileno

ANEXO 04: Evidencias fotográficas

Figura N^{\circ} 03: Tamizando el polietileno tereftalato en 0.5 mm.



Figura N° 04: Purificación de polietileno tereftalato.



Fuente: Elaboración propia

Figura N° 05: Tubos de ensayo contenido de polietileno tereftalato, *solución fisiológica salina y solución mínima de sales* esterelizados.



Figura N° 06 : Lavado de cada placa con 2ml de Solución Salina Fisiológica y recolectar la solución bacteriana en un tubo de ensayo



Fuente: Elaboración propia



Figura N° 07: Recolección de solución bacteriana.

Figura N° **08 :** Dilución 10^{-6} 10^{-7} 10^{-8} de la bacteria para recuento en placas.



Fuente: Elaboración propia.

Figura N° 09: Siembra de bacteria por incorporación





Figura N° 10: Reecuento en placa de crecimiento de *Pseudomona aeruginosa*



Fuente: Elaboración propia

Figura N° 11: Dilución de la solución bacteriana 1/10, 1/5, 1/2.



Figura N° 12: Colocando los tratamientos en la máquina de rotación



Fuente: Elaboración propia.

Figura N° 13: Los 09 tratamiento de remoción del polietileno tereftalato a concentraciones de $18x10^7$ UFC, $36x10^7$ UFC y $9x10^8$ UFC al culminar los 15 días, más el tratamiento en blanco.



Figura N° 14: Filtrando las muestras de los tratamientos utilizados.



Fuente: Elaboración propia.

Figura N $^{\circ}$ **15:** Filtrando las muestras con alcohol al 96%.



Figura N° 16: Filtrándose las muestras de los tratamientos utilizados.



Fuente: Elaboración propia

ANEXO 05:

Certificado de Pseudomona aeruginosa



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications

Microorganism Name: Pseudomonas aeruginosa

Catalog Number: 0353 Lot Number: 353-260**

Reference Number: ATCO® 27853™* Purity: > 99.9% of Total Pellet CFU Passage from Reference: 2

Expiration Date: 2018/11/30

Release Information:

Quality Control Technologist: Christine Condon

Release Date: 2016/12/5

Performance

Macroscopic Features:

Medium:

Two cology types: Large, flat, circular to irregular shaped, gray with silver SBAP sheen(98%); And small and compact

Straight or slightly curved gram negative rod

Microscopic Features:

Gram Stain (1)

ID System: MALDI-TOF (1)

See attached ID System results document.

Other Features/ Challenges: Results

(1) Oxidase (Kovacs): positive (1) Motility B Medium: positive

(1) Gentamicin (10 mcg - Disk Susceptibility): 16 - 21 mm

Amanda Kuperus Quality Control Manager

AUTHORIZED SIGNATURE

"Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

🚵 Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

individual products are traceable to a recognized outlure collection.



certificate is the actual base lot number.

- The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.
- These tests are accredited to IBO/IEC 17025:2005.



TESTING CERT #2655_01

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

| Range | Description | Symbols | Color |
|-------------|--|---------|--------|
| 2.300 3.000 | highly probable species identification | (+++) | green |
| 2.000 2.299 | secure genus identification, probable species identification | (++) | green |
| 1.700 1.999 | probable genus identification | (+) | yellow |
| 0.000 1.699 | not reliable identification | (-) | red |

Meaning of Consistency Categories (A - C)

| Category | Description |
|----------|--|
| Α | Species Consistency: The best match was classified as 'green' (see above). Further 'green' matches are of the |
| | same species as the first one. Further 'yellow' matches are at least of the same genus as the first one. |
| В | Genus Consistency: The best match was classified as 'green' or 'yellow' (see above). Further 'green' or 'yellow' |
| | matches have at least the same genus as the first one. The conditions of species consistency are not fulfilled. |
| С | No Consistency: Neither species nor genus consistency (Please check for synonyms of names or microbial |
| | mixture). |

Analyte Name: Pseudomonas aeruginosa

Analyte Description: 0353 Analyte ID: 353-260

Analyte Creation Date/Time: 2016-11-29T13:36:38.952 KN/CC

Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, IVD, Listeria

Applied Taxonomy Tree:

| Analyte Name | Analyte ID | Organism (best match) | Score Value |
|-------------------|------------|------------------------|-------------|
| <u>E1(+++)(A)</u> | 353-260 | Pseudomonas aeruginosa | 2.501 |

Comments:

| N/A | |
|-----|--|
| | |