



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

Efectividad de bacterias aisladas del humedal de Eten en la
degradación de poliestireno para disminuir su acumulación en el suelo

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

Ingeniera Ambiental

AUTORA:

Rubio Chavarry, Karla Evelyn (orcid.org/0000-0003-1249-9024)

ASESOR:

Dr. Ponce Ayala, Jose Elias (orcid.org/0000-0002-0190-3143)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Tratamiento y Gestión de Residuos Sólidos

LÍNEA DE RESPONSABILIDAD SOCIAL UNIVERSITARIA:

Desarrollo sostenible y adaptación al cambio climático

CHICLAYO – PERÚ

2022

DEDICATORIA

A mi hermana Frinne, me cambiaste la vida y
me enseñaste tanto.

Karla Evelyn

AGRADECIMIENTO

A mí misma, por todo el esfuerzo, autocuidado y ambición.

A mamá, Juan y Manuel por su apoyo económico y comprensión durante estos años.

A mis asesores el Dr. Lloclla y el Dr. Ponce por su capacidad de guiarme y su predisposición a apoyarme desde el inicio de esta investigación.

A la universidad César Vallejo por permitirme el uso de sus laboratorios y las facilidades para culminar mi carrera universitaria.

A todos los amigos que me acompañaron durante estos cinco años.

También considero importante agradecer a los docentes exigentes que he conocido durante mi etapa universitaria, exigentes no con soberbia, sino con empeño por enseñar.

Karla Evelyn

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD DEL ASESOR



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

**FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

Declaratoria de Autenticidad del Asesor

Yo, PONCE AYALA JOSE ELIAS, docente de la FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA de la escuela profesional de INGENIERÍA AMBIENTAL de la UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO SAC - CHICLAYO, asesor de Tesis titulada: "Efectividad de bacterias aisladas del humedal de Eten en la degradación de poliestireno para disminuir su acumulación en el suelo", cuyo autor es RUBIO CHAVARRY KARLA EVELYN, constato que la investigación tiene un índice de similitud de 15.00%, verificable en el reporte de originalidad del programa Turnitin, el cual ha sido realizado sin filtros, ni exclusiones.

He revisado dicho reporte y concluyo que cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio. A mi leal saber y entender la Tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad César Vallejo.

En tal sentido, asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada, por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas vigentes de la Universidad César Vallejo.

CHICLAYO, 12 de Julio del 2022

Apellidos y Nombres del Asesor:	Firma
PONCE AYALA JOSE ELIAS DNI: 16491942 ORCID: 0000-0002-0190-3143	Firmado electrónicamente por: PAYALAJE el 21-07- 2022 15:10:13

Código documento Trilce: TRI - 0337878

DECLARATORIA DE ORIGINALIDAD DE LA AUTORA



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

**FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

Declaratoria de Originalidad del Autor

Yo, RUBIO CHAVARRY KARLA EVELYN estudiante de la FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA de la escuela profesional de INGENIERÍA AMBIENTAL de la UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO SAC - CHICLAYO, declaro bajo juramento que todos los datos e información que acompañan la Tesis titulada: "Efectividad de bacterias aisladas del humedal de Eten en la degradación de poliestireno para disminuir su acumulación en el suelo", es de mi autoría, por lo tanto, declaro que la Tesis:

1. No ha sido plagiada ni total, ni parcialmente.
2. He mencionado todas las fuentes empleadas, identificando correctamente toda cita textual o de paráfrasis proveniente de otras fuentes.
3. No ha sido publicada, ni presentada anteriormente para la obtención de otro grado académico o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados no han sido falseados, ni duplicados, ni copiados.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de la información aportada, por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas vigentes de la Universidad César Vallejo.

Nombres y Apellidos	Firma
KARLA EVELYN RUBIO CHAVARRY DNI: 48970236 ORCID: 0000-0003-1249-9024	Firmado electrónicamente por: KRUBIOCH22 el 12-07- 2022 16:15:36

Código documento Trilce: TRI - 0337879



ÍNDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD DEL ASESOR	iv
DECLARATORIA DE ORIGINALIDAD DE LA AUTORA	v
ÍNDICE DE CONTENIDOS	vi
ÍNDICE DE TABLAS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	4
III. METODOLOGÍA	13
3.1. Tipo y diseño de investigación	13
3.2. Variables y operacionalización	13
3.3. Población, muestra, muestreo, unidad de análisis	14
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	14
3.5. Procedimientos	15
3.6. Método de análisis de datos	16
3.7. Aspectos éticos	17
IV. RESULTADOS	18
V. DISCUSIÓN	31
VI. CONCLUSIONES	35
VII. RECOMENDACIONES	36
REFERENCIAS	37
ANEXOS	43

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. <i>Descripción de morfología colonial bacteriana</i>	21
Tabla 2. <i>Descripción de morfología colonial bacteriana</i>	22
Tabla 3. <i>Datos obtenidos</i>	24
Tabla 4. <i>Disminuciones de peso calculados</i>	25
Tabla 5. <i>Resultados de efectividad de degradación de poliestireno</i>	25

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 01.</i> Composición química del estireno	9
<i>Figura 02.</i> Polimerización de estireno	10
<i>Figura 03.</i> Homogenización de muestra de suelo	18
<i>Figura 04.</i> Dilución de suelo	18
<i>Figura 05.</i> Recuento de colonias en placa	19
<i>Figura 06.</i> Identificación morfológica de colonias bacterianas	20
<i>Figura 07.</i> Aislamiento en viales	20
<i>Figura 08.</i> Aislamiento de colonia 4	21
<i>Figura 09.</i> Reducción física del poliestireno	22
<i>Figura 10.</i> Observación inicial placas con poliestireno	23
<i>Figura 11.</i> Observación final de placas 1 a 4 con poliestireno	23
<i>Figura 12.</i> Observación final de placas 5 a 9 con poliestireno.	24
<i>Figura 13.</i> Degradación en el día 4	26
<i>Figura 14.</i> Degradación en el día 9	26
<i>Figura 15.</i> Degradación en el día 14	27
<i>Figura 16.</i> Degradación en el día 23	28
<i>Figura 17.</i> Degradación en el día 30	29
<i>Figura 18.</i> Comparativa de líneas de tendencia	30

RESUMEN

El uso intensivo de plásticos, la falta de manejo de desechos y el comportamiento casual de la comunidad hacia su eliminación adecuada representan una amenaza significativa para el medio ambiente. Actualmente los residuos sólidos en la playa de Pimentel de Chiclayo se reconocen como inorgánicos y orgánicos, siendo estos últimos los más representativos. Entendiendo la problemática de residuos sólidos este estudio propuso como objetivo general evaluar la efectividad de biodegradación de las bacterias aisladas del Humedal de Eten para degradar poliestireno. El procedimiento constó en limpiar el poliestireno con agua destilada y desinfectarlo con alcohol puro a 96°. A continuación, se redujo el poliestireno en pedazos más pequeños de entre 3 a 5mm con un rallador y se integrarán los pedazos en las placas petry para disposición de los géneros bacterianos y luego la toma datos de los estados finales de la pérdida de peso de la placa. Se concluyó que las bacterias tienen entre un 6.5407% y 3.2608% en condiciones anaerobias y temperatura ambiente de entre 25 y 26°C durante 26 días de observación.

Palabras clave: Biodegradación, humedal, bacterias, poliestireno, plásticos.

ABSTRACT

The intensive use of plastics, the lack of waste management and the casual behavior of the community towards its proper disposal represent a significant threat to the environment. Currently, solid waste on the Pimentel beach in Chiclayo is recognized as inorganic and organic, the latter being the most representative. Understanding the problem of solid waste, this study proposed as a general objective to evaluate the effectiveness of biodegradation of bacteria isolated from the Eten Wetland to degrade polystyrene. The procedure consisted of cleaning the polystyrene with distilled water and disinfecting it with pure alcohol at 96°. Next, the polystyrene was reduced into smaller pieces of between 3 to 5mm with a grater and the pieces will be integrated into the petry plates for the disposal of the bacterial genera and then the data of the final states of the weight loss of the plate will be taken. It was concluded that the bacteria have between 6.5407% and 3.2608% in anaerobic conditions and room temperature between 25 and 26°C during 26 days of observation.

Keywords: Biodegradation, wetland, bacteria, polystyrene, plastics.

I. INTRODUCCIÓN

El uso intensivo de plásticos, la falta de manejo de desechos y el comportamiento casual de la comunidad hacia su eliminación adecuada representan una amenaza significativa para el medio ambiente. Esto ha generado una creciente preocupación entre las partes interesadas encargadas diseñar políticas y estrategias innovadoras para la gestión de residuos plásticos, el uso de polímeros biodegradables, especialmente en los envases, y la educación de las personas para su correcta eliminación. (Ahmed et al., 2018)

Hoy en día, China es el mayor productor de plástico del mundo. En 2020, se produjeron 76,032.2kt de productos de plástico en China, 135,877.0 kt de productos de plástico se consumen en el país y solo se reutilizan 16,000.0kt, por lo que la tasa de utilización de regeneración es solo del 17.6% (Liu et al. 2021) Además según lo señalado por el director de Plastics Europe en 2020 se fabricaron 367 millones de toneladas de plástico. (El peruano, 2021)

El panorama en Perú no difiere a las estadísticas mundiales, ya que en promedio se consumen casi 950 mil toneladas de plástico al año y de todo esto sólo un cuarto se recicla, el excedente se mezcla con los residuos no aprovechables y va a los basureros. (Oceana, 2021)

Actualmente los residuos sólidos en la playa de Pimentel se reconocen como inorgánicos y orgánicos, siendo estos últimos los más representativos. Los residuos orgánicos representan el 97,36 %, de los cuales son plásticos 95,57 %, colillas de cigarro 0,50 %, el papel con 0,90% y residuos de frutas 0.39% los residuos inorgánicos en un 2,64% siendo vidrio y latas 2,64 %, así como también se encontró micro plástico con un promedio de 9 partículas por cada metro cuadrado significando una contaminación grave del suelo. (Díaz Díaz, 2020)

El poliestireno es clasificado con el número 6, este tipo de plástico es raramente reciclable siendo el segundo menos reciclado por la industria debido a su presentación más común como envases de comida para llevar, la cual por lo general es de un solo uso. El poliestireno se caracteriza por ser ligero, estructuralmente débil

y de difícil degradación; por cuanto es habitual encontrársele en industria de alimentos, automotriz, construcción, etc. (Flores Arévalo 2020)

Ante la problemática de residuos sólidos se ha incursionado la investigación en medidas de control de éstos. La degradación de polímeros por bacterias permite la mineralización de este por ser cadena polimérica de carbono, y el método de microscopía óptica permite evidenciar la fragmentación y cambios en la estructura de los polímeros sintéticos de manera más sencilla. (Ccallo- Arela et al. 2020)

La formación del poliestireno consiste en la adhesión de las burbujas de estireno, los monómeros, una a una hasta lograr el polímero. El estireno a su vez es también llamado fenileno o vinilbenceno porque es un aro de benceno con una ramificación de vinilo (Recio del Bosque, 2012)

De acuerdo con lo mencionado en párrafos anteriores, se estableció como problema de investigación la interrogante ¿Cuál es la efectividad de las bacterias aisladas del Humedal de Eten en la degradación de poliestireno?

Comprendemos que como sociedad hoy en día somos dependientes de los plásticos, y no es de negar su importancia para usarle en muchas actividades que impulsan la economía y que se encuentran en la cotidianidad; pero su tardía degradación en condiciones naturales y su producción acelerada conllevan a su acumulación en los sitios de disposición final. Sin embargo, aunque se promueven regulaciones para disminuir su uso y tener una producción más controlada, la realidad es que existen muchos residuos de plástico en la naturaleza, quedando como misión la erradicación y rehabilitación de los nichos ecológicos afectados. Por tanto, la presente investigación se desarrolla con la finalidad de proporcionar una alternativa compatible con los objetivos de desarrollo sostenible de acción por el clima (13) y vida de ecosistemas terrestres (15).

En efecto el objetivo general de este estudio fue evaluar la efectividad de biodegradación de las bacterias aisladas del Humedal de Eten para degradar poliestireno. Asimismo, los objetivos específicos generados fueron aislar los géneros bacterianos presentes en el Humedal de Eten, Añadir poliestireno a la siembra de bacterias para su degradación y comparar la degradación de poliestireno a través del

tiempo. En base a ello se ha definido la hipótesis: Las bacterias aisladas del Humedal de Eten tienen efecto degradador de poliestireno.

II. MARCO TEÓRICO

Emmanuel-Akerele y Oluwatomi-Akinyemi (2022) nos dicen que el objetivo de su estudio fue aislar microorganismos degradadores de plástico de los suelos. Las muestras de suelo utilizadas para este estudio fueron recolectadas de tiraderos llenos de plástico y materiales plásticos y se estudió la efectividad de la degradación de los materiales plásticos durante un período de seis (6) semanas en cultivo en caldo y agar en condiciones de laboratorio por método de determinación de peso. Se realizaron análisis fisicoquímicos y microbiológicos de las distintas muestras de suelo utilizando protocolos estándar. La biodegradación del policloruro de vinilo (PVC) se realizó in vitro utilizando los microorganismos aislados del suelo. Se concluyó que los microorganismos que fueron capaces de degradar un mayor porcentaje de los materiales plásticos fueron; *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* sp, *Bacillus* sp, *Escherichia coli* *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* y *Trichoderma viridae*.

Auta et.al (2022) Investigó la biorremediación in situ de suelos de manglares contaminados con microplásticos de tereftalato de polietileno (PET) y poliestireno (PS) utilizando un consorcio microbiano indígena con capacidad adecuada para degradar los plásticos. Se aislaron ocho (8) bacterias del suelo de manglar inundado con plástico/microplástico y se analizaron para detectar la capacidad de degradar los microplásticos PET y PS. Los resultados obtenidos demostraron la elongación y desaparición de picos, sugiriendo que el consorcio microbiano podría modificar ambos tipos de microplásticos. Los resultados generales de la degradación de microplásticos mostraron diversos grados de pérdida de peso después de 90 días experimentales, y la parcela tratada registró una pérdida de peso del 18 %.

Mitzsssherling (2022) En su estudio donde se obtuvo *Nocardioides alcanivorans* sp. nov., una nueva especie degradante de hexadecano aislada de residuos plásticos, se le caracterizó como la cepa NGK65T, una nueva bacteria aerobia, Gram positiva, inmóvil, degradante de hexadecano, con forma de bastón a coco, se aisló de suelo contaminado con plástico muestreado en un vertedero. La cepa NGK65T hidrolizó caseína, gelatina, urea y fue catalasa positiva. Creció de manera óptima a 28 °C, en NaCl al 0–1 % y a un pH de 7,5–8,0. Como únicas fuentes de carbono se utilizaron glicerol, D-glucosa, arbutina, esculina, salicina, 5-cetogluconato de potasio, sacarosa, acetato, piruvato y hexadecano. El análisis filogenético basado en las secuencias del

gen 16S rRNA indicó que la cepa NGK65 T pertenece al género Nocardioides (phylum Actinobacteria), y parece estar más estrechamente relacionada con Nocardioides daejeonensis MJ31 T (98,6 %) y Nocardioides dubius KSL-104 T (98,3 %).

Hou y Majumder (2021) en su estudio descriptivo tuvieron como objetivo agrupar las especies microbiológicas identificadas como degradadores de poliestireno (PS), encontrándose con que las enzimas de éstos pueden romper enlaces Carbono-Carbono, específicamente las dioxigenasas hidroxilantes de anilo pueden romper la cadena lateral de PS y oxidar los compuestos aromáticos del anilo generados por descomposición de PS. Estas enzimas diana se distribuyeron en Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes y Firmicutes, lo que sugiere un amplio potencial de biodegradación de PS en varios entornos terrestres y microbiomas. Los resultados proporcionan información sobre la degradación enzimática de PS y sugerencias para realizar la biodegradación de este plástico recalcitrante.

Jiang et al. (2021) Realizaron una investigación experimental para aislar, identificar y caracterizar bacterias degradadoras de poliestireno del organismo de la larva de Galleria Mellonela (Lepidoptera; Pyralidae), La microscopía electrónica de barrido y la espectrometría dispersiva de energía de rayos X mostraron que la estructura y morfología de la película de poliestireno (PS) fue destruida por FS 1903, y que apareció más oxígeno en la película de PS degradada. Después de 30 días de incubación de tinción bacteriana con 0,15 g de PS, 80 ml de MSM, 30 ° C y PS de Mn 64400 y Mw 144400 Da, el peso de la película de PS disminuyó significativamente, con una pérdida de peso del $12,97 \pm 1,05\%$. Esta cantidad de degradación excede o es comparable a la reportada previamente para otras especies de bacterias que degradan el PS. Estos resultados muestran que Massilia sp. El FS1903 se puede usar potencialmente para degradar los desechos de PS.

Titah et al. (2021) en su investigación experimental indican que el propósito de esta investigación fue determinar la eficiencia de remoción de hidrocarburos totales de petróleo (TPH) en petróleo crudo utilizando Bacillus Subtilis y Pseudomonas Putida. El TPH sirve como un parámetro significativo en la detección de petróleo crudo, el medio de agua de mar simulado se describió como el medio de sal mineral (MSM), con 33% de salinidad. El inóculo de bacterias y la concentración de aceite crudo en cada unidad se estimaron en 5% y 10% (v / v), respectivamente. Los resultados

lograron la máxima eliminación de TPH al 66,29% en el reactor de PB después de 35 días. Sobre la base de los informes de ANOVA, no se observó una variación significativa entre las adiciones secuenciales de un único tratamiento bacteriano y los microbios del consorcio. En resumen, dos especies bacterianas demostraron un alto potencial para degradar el TPH, pero predijeron un aumento en el tiempo de descomposición, ya que el nutriente o el oxígeno tienden a acelerar el proceso.

Gaurav Saxena y Ram Naresh Bharagava (2020, p. 99-133) En el capítulo 6 de su libro, recopilación de diversos estudios respecto a desechos plásticos comentan las diferentes perspectivas respecto a efectos ambientales y de salud de la contaminación plástica, opciones de gestión de desechos plásticos, biodegradación de polímeros plásticos y el mecanismo involucrado, plásticos biodegradables y desafíos y limitaciones de la degradación de plásticos. De este modo concluyen que, entre los tratamientos térmicos, fotooxidativos, métodos de degradación por ozono, mecanoquímicos y catalíticos, la biodegradación se considera la mejor opción para degradar desechos plásticos debido a su bajo costo y naturaleza ecológica.

Mohanan et.al (2020) en su investigación acerca de la degradación enzimática de plásticos sintéticos, detalla los avances en biodegradación de plásticos: polietileno PE, poliestireno, polipropileno, cloruro de polivinilo, PET y PU y, descripción general de las enzimas involucradas en la biodegradación. Sus resultados demuestran que las fuentes de enzimas degradadoras de plástico se pueden encontrar en microorganismos de diversos entornos, así como intestino digestivo de algunos invertebrados. Concluyendo así que la degradación microbiana y enzimática de los Petro plásticos de desecho es una estrategia prometedora para la despolimerización de los Petro plásticos de desecho en monómeros poliméricos para el reciclaje, o para convertir los plásticos de desecho en bioproductos de mayor valor, como polímeros biodegradables a través de la mineralización.

Omunakwe Amadi y Osahon Nosayame (2020) en su estudio experimental con objetivo de biodegradar polipropileno por medio aislamientos bacterianos de los órganos del pez, *Liza grandisquamis* recolectado del estuario de Ohaukwu en el estado de Rivers, Nigeria, las bacterias aisladas de los órganos del pez *Liza grandisquamis* fueron sometidas a cribado de capacidad de degradación de polipropileno (PP) respectivamente. A partir de los datos obtenidos, la degradación

del PP se produjo en el siguiente orden; *Bacillus lentus* > *B. licheniformis* > *Staphylococcus epidermidis* > *Klebsiella pneumoniae* > *Escherichia coli*. Sin embargo, se necesitarían más investigaciones para comprender claramente el mecanismo de biodegradación del PP y la aplicabilidad de estas bacterias en polímeros sintéticos relacionados. También se requieren los protocolos estandarizados para la biodegradación del PP.

Montazer, Habbibi-Najafi, Mohebbi y Oromiehei (2018) en su investigación cuyo objetivo fue evaluar la Degradación microbiana de películas de polietileno de baja densidad pretratadas con UV por nuevas bacterias que degradan el polietileno aisladas del suelo de vertederos de plástico. Se realizó la degradación abiótica de las películas de LDPE por exposición ultravioleta (UV) artificial y natural se analizó mediante espectroscopia FT-IR. Las películas de LDPE tratadas con radiación UV también se inocularon con los aislamientos y se midió la producción de biopelículas y la degradación de LDPE. Los cambios en la superficie del LDPE inducidos por la formación de biopelículas bacterianas se visualizaron mediante microscopía electrónica de barrido. El aislado bacteriano más activo, IRN 19, fue capaz de degradar la película de polietileno en un $26,8 \pm 3,04\%$ del peso gravimétrico durante 4 semanas.

Singh, Sing y Baht (2016) en su investigación cuyo objetivo fue biodegradar polietileno con bacterias aisladas del suelo. Se recuperaron un total de 15 bacterias de diferentes áreas. Se realizó una detección adicional de microorganismos que degradan el polietileno mediante el método de zona de limpieza de 15 bacterias, solo 3 mostraron resultados positivos y se identificaron como *Staphylococcus* sp (P1A), *Pseudomonas* sp. (P1B) y *Bacillus* sp. (P1C). Se utilizaron un total de tres aislados P1A, P1B, PIC y un Consortium PID (P1A+P1B+P1C) para la degradación de polietileno de 10 y 40 micras. *Bacilo* sp. (PIC) mostró un 42,5% seguido de *Staphylococcus* sp. (P1A) 20% *Pseudomonas* sp. (P1B) 7,5 % y consorcio (PID) 5 % de degradación por pérdida de peso en 40 días.

Campos y Cieza Martínez (2017) desarrollaron su tesis pre grado con el objetivo de determinar la biodegradación del poliestireno por microorganismos presentes en humus de lombriz durante los meses octubre - diciembre del 2016. Su procedimiento consistió en colocar piezas de poliestireno a diferentes profundidades de

vermicompost, al finalizar se obtuvieron los resultados de que en la parte más profunda de la maceta se redujo un 9.4% del peso de poliestireno debido a los géneros de microorganismos *Bacillus* spp y *Clostridium* spp.

Savoldelli, Tomback y Savoldelli (2017) con el objetivo de descomponer el poliestireno mediante la aplicación de un método bacteriano y de degradación térmica de dos pasos para producir subproductos utilizables, se utilizó como primer paso un tratamiento químico lo que convierte al poliestireno en estireno, en la segunda fase se probó la degradación con microorganismos *Rhodococcus zopfii* stoecker, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas putida* y *Salmonella*, concluyéndose que éste método comprende una conversión total del poliestireno y aunque ha sido evaluado a pequeña escala se encuentran potenciales ventajas para el reciclaje de poliestireno debido a los costos bajos de energía y la cinética de degradación extremadamente rápida observada.

Shimpi et al. (2012) realizaron un estudio experimental investigar el potencial de *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) para la degradación de polímeros. Se utilizó poliestireno (PS) para preparar los compuestos Poliestireno (PS): poli ácido láctico (PLA) y PS: PLA: montmorillonita modificada orgánicamente (OMMT). Estos compuestos se sometieron a degradación en medio mínimo utilizando la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* en condiciones controladas, y el polímero es una fuente importante de carbono. La degradación se confirmó mediante microscopía electrónica de barrido, cambio de contenido de proteína extracelular, producción de biomasa y % de degradación con respecto al tiempo (hasta 28 días) después de la incubación. Concluyendo que en el compuesto desarrollado la bacteria logra crecer, confirmando una capacidad biodegradativa del ácido polyláctico de poliestireno.

Posada Bustamante (1994) en su artículo con la finalidad de señalar los factores restrictivos de la degradación de plásticos examina los mecanismos de degradación térmica, por radiaciones, degradación mecánica, química y biológica para resolver la biodegradabilidad y potencial de los plásticos biodegradables.

En ecología microbiana se reconoce la capacidad de los microorganismos de adaptarse a condiciones ambientales, la ley del mínimo de Liebig dicta que el crecimiento de los microorganismos está ligado a la disponibilidad de nutrientes que serán usados para la biosíntesis; y aunque los componentes principales son basados

en hidrógeno, carbono, nitrógeno, fósforo y azufre, es posible que las células requieran cationes metálicos como el potasio, magnesio, calcio, hierro, manganeso, cobalto, cobre, molibdeno y zinc, inclusive del cloro. Por lo que, en un ecosistema deficiente de un nutriente, lo que limita una población microbiana en específico, puede también existir otra que utilice los componentes disponibles para su supervivencia (M. Atlas, Bartha and Guerrero 2002).

El poliestireno es un compuesto de resultante de la polimerización de monómeros de estireno el cual es un derivado del petróleo al igual que el resto de los plásticos; unidos un anillo de benceno y etileno en forma de ramificación (Ver Figura 1)

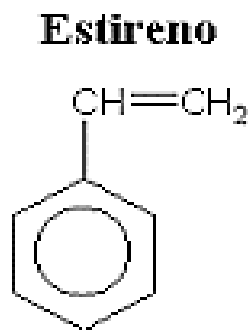


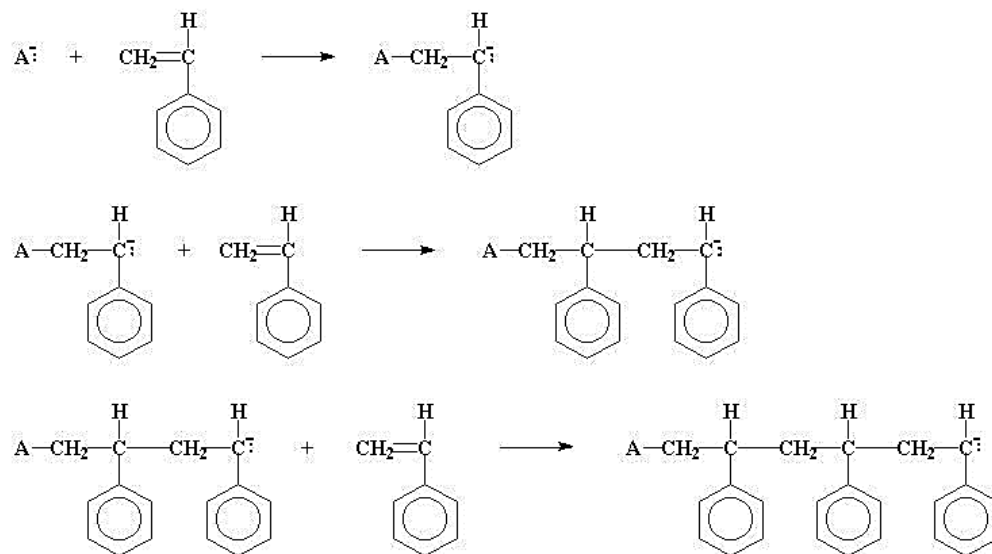
Figura 01. Composición química del estireno

Fuente: Colín, 2006

Los autores Clayden, Greeves y Warren (2017) mencionan que la polimerización es la unión de monómeros de moléculas a través de enlaces químicos para formar la macromolécula llamada polímero; existen cuatro tipos de procesos de polimerización de los cuales se desarrollan los diferentes tipos de plástico, pero en el caso del poliestireno ocurre la polimerización aniónica por crecimiento de cadena. (Ver figura 2).

Entonces, de acuerdo a la teoría básica de química orgánica y a la imagen del polímero de estireno, el poliestireno es un compuesto orgánico del tipo hidrocarburo alqueno, conformado por más de 16 átomos de carbono en su molécula y que en presencia de hidrógeno y catalizadores se transforma en alcano. Asimismo, vemos que los enlaces químicos que se forman son del tipo covalente simple no polar puesto que la unión ocurre entre átomos del mismo elemento con la misma carga

electronegativa ya que hablamos de un carbanión, por lo que en este caso la unión es más fuerte.



Polimerización por crecimiento de cadena: en la polimerización aniónica del estireno, únicamente el estireno monómero puede reaccionar con la cadena creciente de poliestireno. Dos cadenas crecientes de poliestireno no pueden reaccionar entre sí.

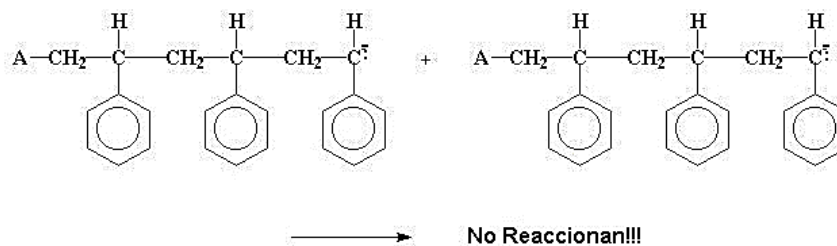


Figura 02. Polimerización de estireno

Fuente: Tecnología de los plásticos, 2013

El proceso industrial de obtención de estireno se realiza mediante tres vías, aunque la más común es la deshidrogenación catalítica del etil benceno, en segundo puesto se encuentra la alquilación de tolueno y en tercer puesto la deshidrogenación oxidativa.

Se somete el etil benceno a la actividad fisicoquímica de una reacción endotérmica propiciada por la presión de dióxido de carbono a $800^{\circ}C$ y catalizadores, de este modo ocurre la deshidrogenación directa del etilbenceno para la obtención del monómero estireno y la deshidrogenación oxidativa del etilbenceno con el oxidante, en este caso, dióxido de carbono para formar monómero.

Para el caso de la deshidrogenación directa, proceso común para la obtención del estireno, el exceso de vapor sobrecalentado cerca de 800 °C se combina con etilbenceno en un reactor adiabático de baja presión que contiene un catalizador de óxido de hierro promovido por potasio, con una temperatura de reacción entre 600 – 650 °C y 40 – 80 KPa de presión. El vapor también proporciona el calor para impulsar la reacción de deshidrogenación, que es altamente endotérmica, y disminuye la formación de coque sobre el catalizador del reactor por gasificación con vapor. (Gómez et al. 2018).

Dicho esto, es recomendable entender el comportamiento de los microorganismos y el petróleo, por ejemplo, se ha utilizado ciertas especies para la recuperación de crudo por medio de la aplicación de poblaciones microbianas in situ las cuales se encargarían de desalojar el crudo, finalmente los autores demostraron la degradación parcial del petróleo (M. Atlas, Bartha and Guerrero, p. 539, 2002).

La biodegradación de plásticos es una práctica antigua, en donde informes anteriores aprecian que la degradación de plásticos se vuelve dificultosa por la presencia de agentes plastificantes, que suelen ser ésteres de ácidos grasos de cadena larga y alcoholes, como el adipato de dioctilo, sin embargo, dice también que el peso molecular es determinante para el proceso, en pocas palabras los fragmentos con peso molecular menor a 500 son biodegradables (M. Atlas, Bartha and Guerrero, p.536, 2002).

El metabolismo usual de degradación de polímeros de bacterias es mediante hidrólisis enzimática completa, en el que las enzimas hidrolazas y actúan sobre los enlaces químicos formados por los monómeros, el PET se degrada en ácido tereftálico (TPA) y etilenglicol (EG), los productos de la hidrólisis incluyen mono-(2-hidroxietil) tereftalato (MHET) y bis-(2-hidroxietil) tereftalato que luego puede ser hidrolizado en TPA y EG. Además, EG se puede procesar a través de glioxilato en el ciclo de TCA. (Chunga Campos y Cieza Martinez 2017; Wilkes y Aristilde 2017)

Las bacterias con capacidad de biorremediación de derivados del petróleo crecen en presencia de gran cantidad de petróleo, su metabolismo consiste en dos caminos la oxidativa donde los aceites se transforman en ácidos, dióxido de carbono e hidrógeno; y por su parte la vía reductora consiste en la activación de las enzimas que modifican

químicamente el poliestireno hasta subproductos menos recalcitrantes. (Nava-Centeno et.al, 2019).

III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño de investigación

La investigación realizada fue del tipo aplicada, ya que resuelve una problemática basándose en teorías propuestas en investigaciones básicas; es también llamada tecnológica por que impone un conocimiento técnico, desarrollando sus sistemas en beneficio del progreso de métodos ya conocidos. (Nieto, 2018). Enfoque cuantitativo, ya que los resultados presentaron información, datos, etc, que facilitan el análisis de lo estudiado contrastando los valores (Ballester et al. 2021). Típicamente se reflejan en las conclusiones con cifras numéricas que se traducen en un panorama que comprueba o rechaza la hipótesis planteada.

El diseño fue experimental, en que se manipula la variable independiente para medir sus efectos sobre la variable dependiente. (Melo, López y E. Melo 2020) Para ver diagrama de diseño experimental, Ver anexo 01.

3.2. Variables y operacionalización

Variable independiente: Efectividad de géneros bacterianos

Capacidad catabólica que tienen algunos microorganismos de degradar, transformar, sintetizar y acumular de forma natural diversos compuestos: desde ligninas, almidón, celulosa y hemicelulosa hasta hidrocarburos, fármacos y metales. (Ccallo- Arela et al. 2020)

Variable dependiente: Degradación de poliestireno

Es el proceso de descomposición de un material en dióxido de carbono (CO_2) y metano (CH_4), agua (H_2O) y materia orgánica debido a agentes microbianos, que se hace visible con la formación de películas en la superficie del polímero, asimismo constituye cambios en la estructura química o física de la cadena del polímero. (Ccallo- Arela et al. 2020) Para la operacionalización de variables, ver Anexo 02.

3.3. Población, muestra, muestreo, unidad de análisis

Población: La población es indefinida, debido a que la cantidad en cepas de géneros bacterianos en los humedales de Eten es muy vasta para cuantificar.

Criterios de inclusión: Cepas que reaccionen positivamente a la prueba de biodegradación.

Criterios de exclusión: Cepas que reaccionen negativamente a la prueba de biodegradación.

Muestra: 5 cepas bacterianas aisladas del Humedal de Eten.

Muestreo: La técnica de muestreo aplicada es no probabilístico por conveniencia longitudinal porque el criterio de selección de la muestra ha sido designado por el investigador a beneficio de facilitar la proyección de resultados hacia una población no conocida existente, y longitudinal por que se realizaran mediciones a través del tiempo (Otzen y Manterola, 2017).

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Puesto que esta investigación constó de fase de recopilación de fuentes bibliográficas para el marco teórico y fase de investigación para la obtención de resultados; los instrumentos de recolección han sido: la biblioteca virtual de libre acceso para usuarios de UCV TRILCE (que proporciona libros, artículos científicos, artículos de revisión sistemática, artículos de opinión, ensayos), además de los buscadores Google (para consultas en páginas web de periódicos) y Google Académico, todo lo mencionado corresponde a la fase de recopilación de información.

Para la fase experimental, se dividió en tres subfases, la sub fase recolección de muestras en la se usó los conocimientos e insumos que menciona el protocolo de toma de muestras biológicas de suelo, con el objetivo de recolectar las bacterias para su aislamiento, subfase de procesamiento de muestras donde se emplearon los equipos y reactivos para obtener datos de la biodegradación y actividad microbiana. Estos equipos consisten de la autoclave para la desinfección del material de aislamiento (Placas Petri de

vidrio, pipetas, vasos de precipitados, matraz de Erlenmeyer y embudo), otros equipos usados fueron la balanza de precisión y microscopio óptico; con respecto a instrumentos de laboratorio se usaron asa mango bacteriológico, asa de inoculación, portaobjetos, mechero y pinza. En cuanto a los insumos se utilizó lo requerido para tinción gran: violeta de genciana, Lugol, etanol, safranina y agua destilada.

Finalmente, la subfase de análisis estadístico en que se realizó el procesamiento de datos en la que se aplicaron conocimientos estadísticos como parte de las pruebas de confiabilidad y validez de los resultados.

3.5. Procedimientos

La muestra seleccionada para el aislamiento de los géneros de interés se tomó del suelo de las orillas de los humedales de Eten-Chiclayo, ya que según Gede et al. (2021) se logró cultivar a 28 °C durante 28 días y se obtuvieron 165 colonias de bacterias degradadoras de plástico, de suelo del manglar Ngurah Rai. Igualmente, Ávila de Navia et al. (2019) determinan que, en el Humedal Córdoba, un humedal con condiciones de la misma problemática que el humedal de Eten respecto al vertimiento de aguas residuales domésticas, realizaron la identificación de los microorganismos coliformes y enterococcus.

El poliestireno fue limpiado, con agua destilada y desinfectado con alcohol puro a 96°. A continuación, se redujo el poliestireno en pedazos más pequeños de entre 3 a 5mm con un rallador y se integrarán los pedazos en las placas petry para disposición de los géneros bacterianos y en los días 4,9,14, 23 y 30 se tomaron los datos de los estados finales de la pérdida de peso de la placa.

Ahora bien, el procedimiento de aislamiento e identificación se llevó a cabo diluyendo la muestra de suelo, en concentración de base 10 (10^{-1}) y se cultivó durante 6 días a 37 °C. A continuación, se sembró en el medio Agar Potato Dextrosa (PDA) puesto que éste es un medio de cultivo apto para el crecimiento de todo tipo de organismo microscópico, entre ellos bacterias (Filius et al. 2003)

De este cultivo se visualizaron 5 colonias, cada una de estas colonias fue sometida a identificación morfológica mediante tinción de gram. Ver Anexo 3 Posteriormente cada colonia fue sembrada en viales individuales para el aislamiento de la cepa pura en agar PDA a temperatura ambiente durante 3 días, a partir de este crecimiento se sembraron placas Petri con cada una de las clases identificadas morfológicamente y se le añadió el poliestireno para su observación, para mayor entendimiento revisar Anexo 4.

3.6. Método de análisis de datos

La metodología ejecutada para la evaluación del potencial biodegradado de poliestireno fue a través de la aplicación de varias pruebas, siendo éstas la de pérdida de peso de poliestireno, microscopía óptica y conteo en placa.

Inicialmente luego de la siembra para crecimiento de bacterias en general provenientes del Humedal de Eten, se debe realizar el cálculo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) para determinar el número de células viables de acuerdo al recuento en placa. Para esto se utilizó la fórmula de Valenzuela (2001, p. 102)

$$UFC = \frac{A \text{ colonias enumeradas}}{B \text{ ml sembrados}} * \text{Factor de dilución}$$

El análisis de la degradación de poliestireno mediante la aplicación de las fórmulas de pérdida de peso se realizó mediante lo efectuado por Chunga Campos y Cieza Martínez (2017):

$$\text{Peso biodegradado} = w \text{ inicial} - W \text{ final}$$

$$\% \text{ Peso biodegradado} = \frac{w \text{ inicial} - w \text{ final}}{w \text{ inicial}}$$

Para terminar la fase de investigación, se realizó la aplicación de estadística descriptiva para analizar el sondeo de datos recopilados en base a tablas, gráficos y líneas de tendencia.

3.7. Aspectos éticos

Esta investigación es original, producto de la recopilación de información citada en formato ISO 690 de acuerdo a los lineamientos de la Universidad César Vallejo para la protección de los derechos de autor y aplicada en diseño experimental, cuyos resultados son verídicos según lo obtenido en los análisis. La calidad es asegurada por los asesores proporcionados por la Universidad César Vallejo a la autora, quienes son especialistas en microbiología y estadística.

Cabe mencionar que no existe conflicto de intereses, más que proporcionar los conocimientos obtenidos a la sociedad para mitigar los impactos negativos ambientales de este tipo de contaminación por residuos sólidos.

IV. RESULTADOS

4.1 Aislamiento de bacterias del Humedal de Eten

En el primer día de la fase experimental se recolectó aproximadamente 2 kg de suelo de la orilla del primer Humedal de Eten, de una profundidad de 40 cm de profundidad. De esta muestra se procedió a la homogenización y se depositó en una bolsa ziploc de cierre hermético y estéril. Ver figura 3.



Figura 03. Homogenización de muestra de suelo

Fuente: Elaboración propia

De aquí se realizó una dilución de 1 gr de suelo en 10 ml de agua destilada lo que resulta en una dilución de factor 10^{-1} (ver figura 6) de la que se obtuvieron 2 ml de filtrado y cada milímetro fue depositado en placas Petry con Agar PDA para cultivo a 37°C en horno de incubación durante 6 días. De las cuales se logró obtener 5 colonias. Ver figura 4.



Figura 04. Dilución de suelo

Fuente: Elaboración propia



Figura 05. Recuento de colonias en placa

Fuente: Elaboración propia

A la izquierda se encuentra la placa número 1 con tres colonias desarrolladas, y a la derecha se encuentra la placa número 2 con dos colonias desarrolladas. El conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) se realizó mediante la siguiente fórmula, para identificar las células viables de las placas.

$$UFC = \frac{A \text{ colonias enumeradas}}{B \text{ ml sembrados}} * \text{Factor de dilución}$$

$$UFC = \frac{5 \text{ colonias enumeradas}}{1 \text{ ml sembrado}} * 10^{-1}$$

$$= 5 * 10^{-1} \text{ UFC/ml}$$

Del cálculo realizado resulta que las 5 colonias representan 5 células bacterianas cultivables.

La prueba de identificación morfológica (Tinción Gram) determinó que, en condiciones anaerobias, medio Agar PDA no selectivo, pH 5 a temperatura de 37°C, se obtuvieron bacterias con forma de cocos y bacilos gram positivos en todas las colonias. Al ser prácticamente iguales los resultados en las tinciones se adjunta una sola imagen de lo visualizado en la tinción de la colonia 5 en microscopio óptico aumento x100. Ver figura 6.

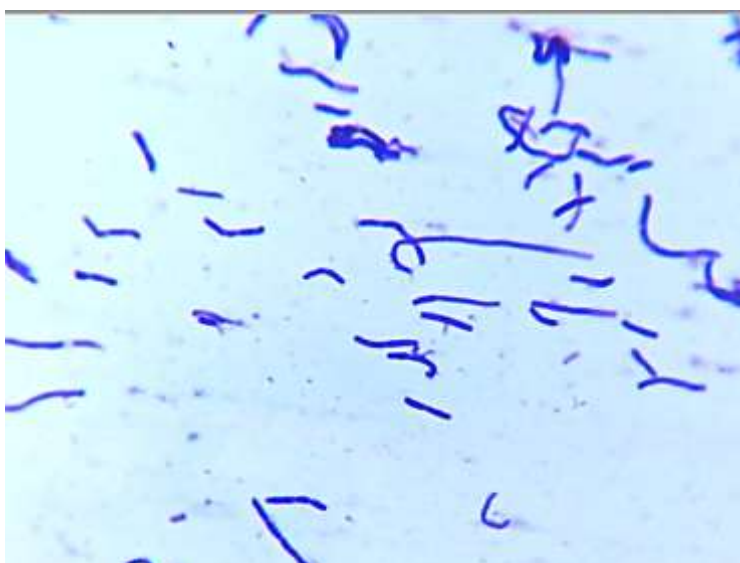


Figura 06. Identificación morfológica de colonias bacterianas

Fuente: Elaboración propia

Cada una de las colonias crecidas en las placas petry fue aislada individualmente en viales con agar PDA, a temperatura ambiente de entre 25 y 26 °C (las fluctuaciones debido a los cambios meteorológicos normales durante un día en Chiclayo), humedad 58 %, durante 3 días. Ver figura 7.



Figura 07. Aislamiento en viales

Fuente: Elaboración propia

De izquierda a derecha se visualiza el crecimiento bacteriano de las cepas 1, 2, 3, 4 y 5. Las colonias 1 y 3 aparentan ser del mismo género, las colonias 2 y 5 evidencian diferencias, mientras que a la fecha de aislamiento la colonia 4 no ha crecido. Luego en el día 7 se evidenció crecimiento de la colonia 4. Ver figura 8.



Figura 08. Aislamiento de colonia 4

Fuente: Elaboración propia

Para mayor entendimiento de la descripción de la morfología colonial se elaboró la siguiente tabla:

Tabla 1. Descripción de morfología colonial bacteriana

N°	SUPERFICIE	FORMA	BORDE	COLOR
Colonia 1	Umbilicada	Irregular	Lobulado	Amarillo
Colonia 2	Acuminada	Irregular	Ondulado	Blanco
Colonia 3	Umbilicada	Irregular	Lobulado	Amarillo
Colonia 4	Convexa	Irregular	Redondeado	Blanquesino
Colonia 5	Acuminada	Circular	Redondeado	Blanco amarillento

Fuente: Elaboración propia

4.2 Añadir Poliestireno a la siembra de cepas bacterianas

En la fase de reducción físico del poliestireno se logró obtener piezas de polvo y otras de mayor tamaño que corresponden a los característicos microplásticos. Ver figura 9.



Figura 09. Reducción física del poliestireno

Fuente: Elaboración propia

Se añadió este polvo a unas placas petri con agar PDA en las cuales previamente se habían sembrado las colonias identificadas.

De las 5 colonias encontradas sólo lograron aislarse 4, siendo la colonia número 4 la que no logró crecer, por lo que la colonia 5 pasó a ser aislada en la placa 4.

Más adelante, debido al crecimiento tardío de la colonia 4 se replicaron las placas en donde se pasó a identificar de la siguiente manera:

Tabla 2. Descripción de morfología colonial bacteriana

N° Placa	N° Colonia
1	1
2	2
3	3
4	5
5	1
6	2
7	3
8	4
9	5

Fuente: Elaboración propia

4.3 Comparar degradación a través del tiempo

Se elaboró una comparativa fotográfica de la degradación a través del tiempo. De la fecha de adición de poliestireno el día 10/05/2022 con cuatro placas iniciales, luego la fecha 14/05/2022 cuando se prepararon las siguientes 5 placas. Ver figuras 10, figura 11 y figura 12.



Figura 10. Observación inicial placas con poliestireno

Fuente: Elaboración propia

En la fila superior se visualizan las placas 1, 2,3 y 4.

En la fila inferior se visualizan las placas 5,6,7,8 y 9



Figura 11. Observación final de placas 1 a 4 con poliestireno

Fuente: Elaboración propia.

De izquierda a derecha se visualizan las placas 1, 2, 3 y 4.



Figura 12. Observación final de placas 5 a 9 con poliestireno.

Fuente: Elaboración propia.

De la figura 12 se visualiza en la fila superior las placa 9.

En la columna inferior izquierda de abajo a arriba se visualizan las placas 5 y 6.

En la columna inferior derecha de arriba hacia abajo se visualizan las placas 7 y 8.

La degradación de poliestireno fue también sometida a la medición de pérdida de peso haciendo uso de balanza de precisión, de los cuales se obtuvieron los siguientes datos:

Tabla 3. Datos obtenidos

Tiempo	Día 0 (10/05/22)	Día 4 (14/05/22)	Día 9 (19/05/22)	Día 14 (24/05/22)	Día 23 (2/06/2022)	Día 30 (9/06/2022)
N° Placa	Peso inicial (g)	Peso (g)	Peso (g)	Peso (g)	Peso (g)	Peso (g)
1	80.2735	79.5772	78.486	77.371	75.5133	74.3723
2	81.396	80.6465	79.5086	78.4138	76.7021	76.1221
3	82.7808	82.2367	81.3634	80.4185	78.7022	77.6127
4	83.6687	82.9938	81.8586	80.7382	79.5566	79.5532
5		115.1055	114.1397	113.4053	112.1982	111.3521
6		127.3882	126.1817	125.1233	123.3832	122.1749
7		125.4672	124.4507	123.6007	122.1414	121.0817
8		119.0313	117.9328	117.0142	115.4712	114.3859

Fuente: Elaboración propia.

A continuación, se hallaron las variaciones de peso entre los días monitoreados a través de la siguiente fórmula mencionada anteriormente y se ordenaron en la siguiente tabla:

Tabla 4. Disminuciones de peso calculados

Tiempo	Día 0 (10/05/22)	Día 4 (14/05/22)	Día 9 (19/05/22)	Día 14 (24/05/22)	Día 23 (2/06/2022)	Día 30 (9/06/2022)
N° Placa	Peso inicial (g)	Peso (g)	Peso (g)	Peso (g)	Peso (g)	Peso (g)
1		0.6963	1.0912	1.115	1.8577	1.141
2		0.7495	1.1379	1.948	1.7117	0.58
3		0.5541	0.8733	0.9449	1.7163	1.0895
4		0.6749	1.1352	1.1204	1.1816	0.0034
5			0.9658	0.7344	1.2071	0.8461
6			1.2065	1.0584	1.7401	1.2083
7			1.0165	0.85	1.4593	1.0597
8			1.0985	0.9185	1.543	1.0853
9			1.0823	0.9758	1.3615	1.0706

Fuente: Elaboración propia

A partir de ambas tablas presentadas anteriormente se calculó el total de disminución del peso en gramos a partir de la fecha en que se tuvieron las 9 placas y el porcentaje de peso disminuido en 26 días.

Tabla 5. Resultados de efectividad de degradación de poliestireno.

N° PLACA	TOTAL	(%) DEGRADADO
	Peso (g)	Peso (g)
Placa 1	5.2049	6.5407%
Placa 2	5.3776	5.6102%
Placa 3	4.624	5.6228%
Placa 4	3.4406	4.1456%
Placa 5	3.7534	3.2608%
Placa 6	5.2133	4.0925%
Placa 7	4.3855	3.4953%
Placa 8	4.6453	3.9027%
Placa 9	4.4902	3.4672%

Fuente: Elaboración propia

4.4 Análisis estadístico

Como parte del análisis estadístico se elaboraron gráficos de barras que permitan visualizar la biodegradación a través de la reducción del tamaño de la barra.

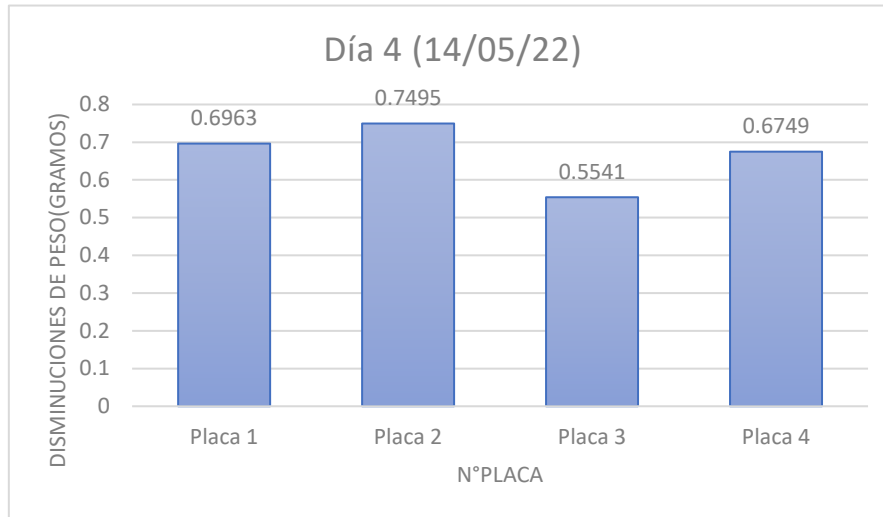


Figura 13. Degradación en el día 4

Fuente: Elaboración propia

En la figura 13 se muestra la cantidad de peso reducido desde el día 10/05/2022 hasta el día 14/05/2022, recordemos que esto corresponde a las colonias 1,2,3 y 5. Donde se visualiza que inicialmente la colonia 3 tiene el menor rendimiento mientras que la colonia 2 obtuvo el mayor crecimiento.

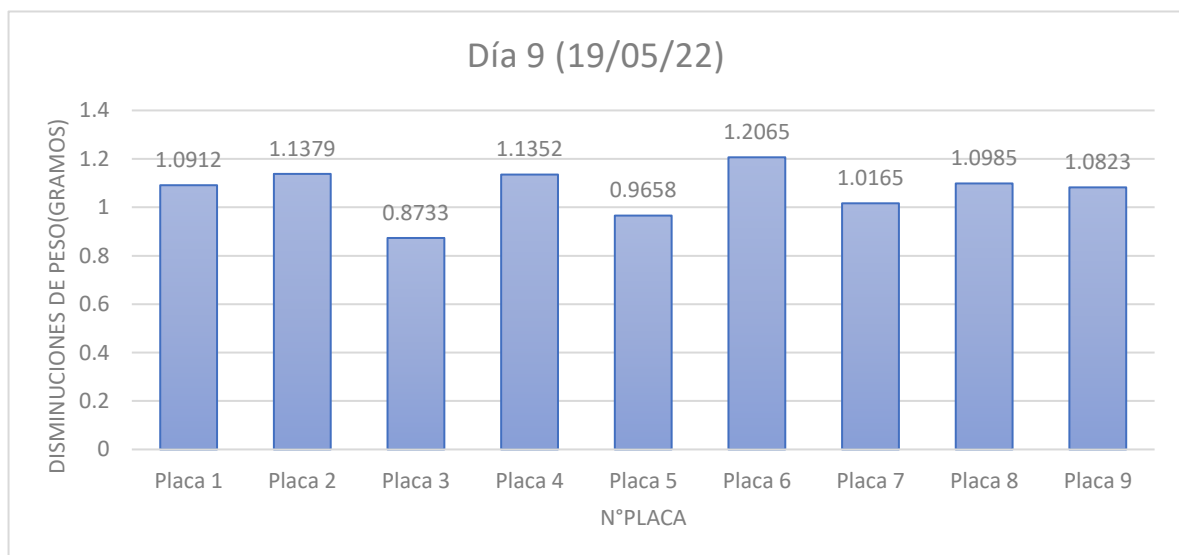


Figura 14. Degradación en el día 9

Fuente: Elaboración propia

En la figura 14 se visualiza la pérdida en peso a partir del día 14/05/2022 hasta el día 19/05/2022, es decir en cuatro días de crecimiento de las últimas cinco placas que se añadieron el 14/05/2022. En esta imagen se ve que la colonia 3 de la placa 7 ha aumentado su rendimiento hacia el promedio, pero que la misma colonia de la placa 3 se mantiene como la de menor degradación del grupo. En segundo lugar, se visualiza que la colonia 1 de la placa 5 es la segunda de menor degradación, aunque su efecto ha sido mayor en estos cuatro días iniciales, de lo que fue en los cuatro días iniciales de esta colonia en placa 1. En otras palabras, que esta colonia en placa 1 durante sus primeros cuatro días de crecimiento redujo 0.6963 gr, pero la misma colonia en placa 5 durante sus primeros cuatro días redujo un 0.9658 gr.

Se evidencia también que en el transcurso de esos días el promedio de degradación subió de 0.6 a 1.067 gr.

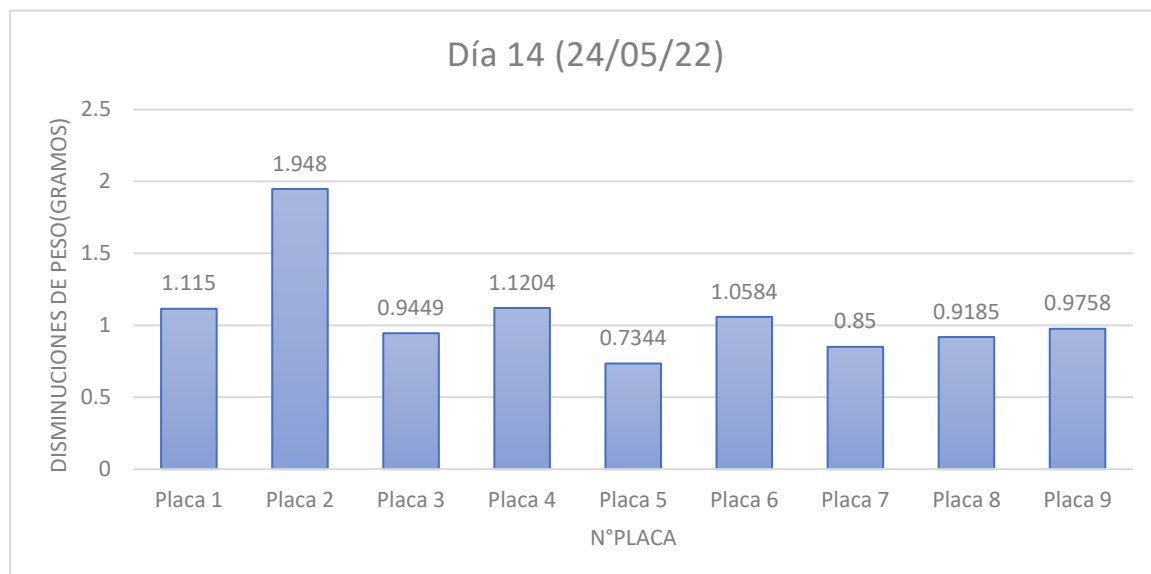


Figura 15. Degradación en el día 14

Fuente: Elaboración propia

En la figura 15 se observa el rendimiento de degradación de los días 19/05/2022 al día 24/05/22, es decir en cinco días. Es preciso señalar que las placas 1 a la placa 4 son las que se encuentran en el día catorce su cultivo, mientras que las placas 5 a 9 aún están en el día diez.

De cualquier manera, se visualiza que para esta fecha las bacterias redujeron sus promedios de rendimiento a 0.8628 gr a excepción de la colonia 2 en placa 2.

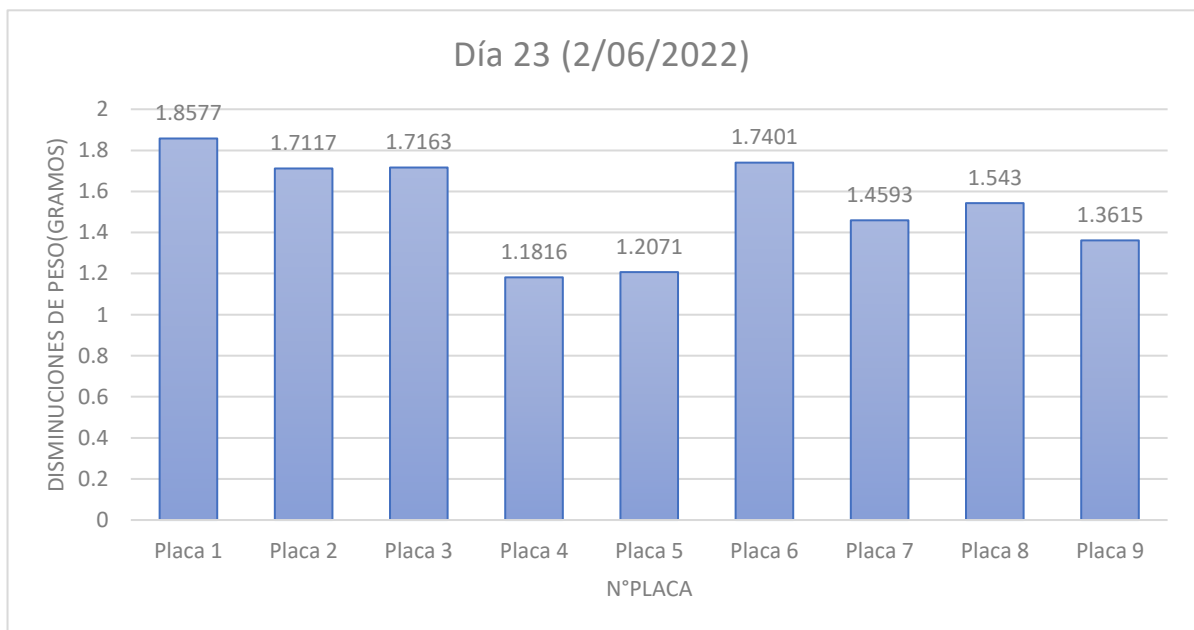
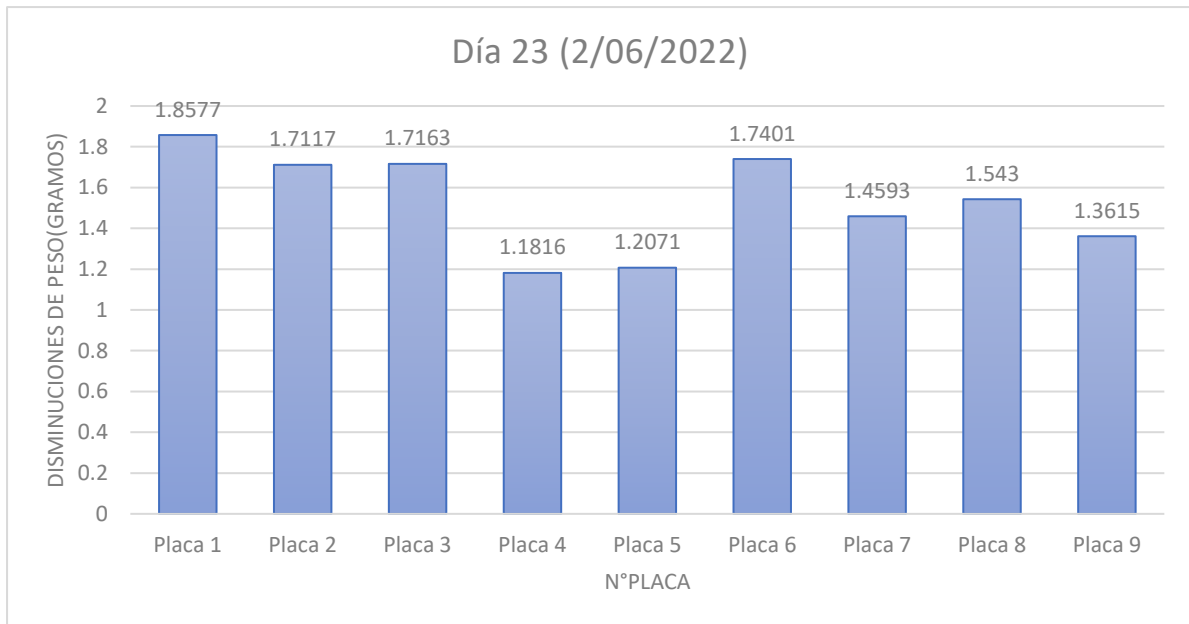


Figura 16. Degradación en el día 23

Fuente: Elaboración propia.

En la figura 16 se visualiza que el rendimiento en esta fecha ha subido en general para todas las placas, sin embargo, las colonias 5 y 1 en placas 4 y 5 respectivamente son las de menor rendimiento esta semana.

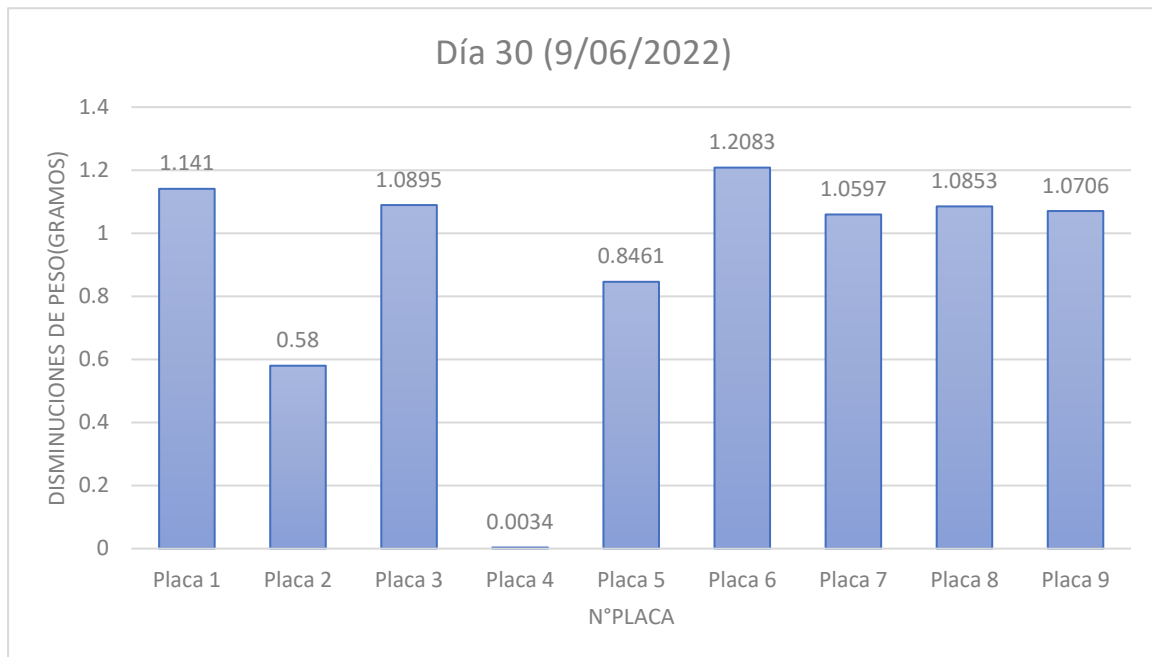


Figura 17. Degradación en el día 30

Fuente: Elaboración propia

En la figura 17, se visualiza que la placa 4 ha reducido casi en su totalidad la actividad microbiana por lo que ha habido una degradación de 0.0034 gr. Esto significa que al día treinta la colonia 5 en placa 4 está entrando en una fase de paralización de su crecimiento.

Por otra parte, las placas 5 a 9, que a la fecha llevan 26 días en tratamiento, aunque mantienen un rendimiento de degradación de promedio constante de acuerdo a lo revisado previamente, se ve que ha habido una ligera reducción en su capacidad respecto a la fecha 02/06/2022.

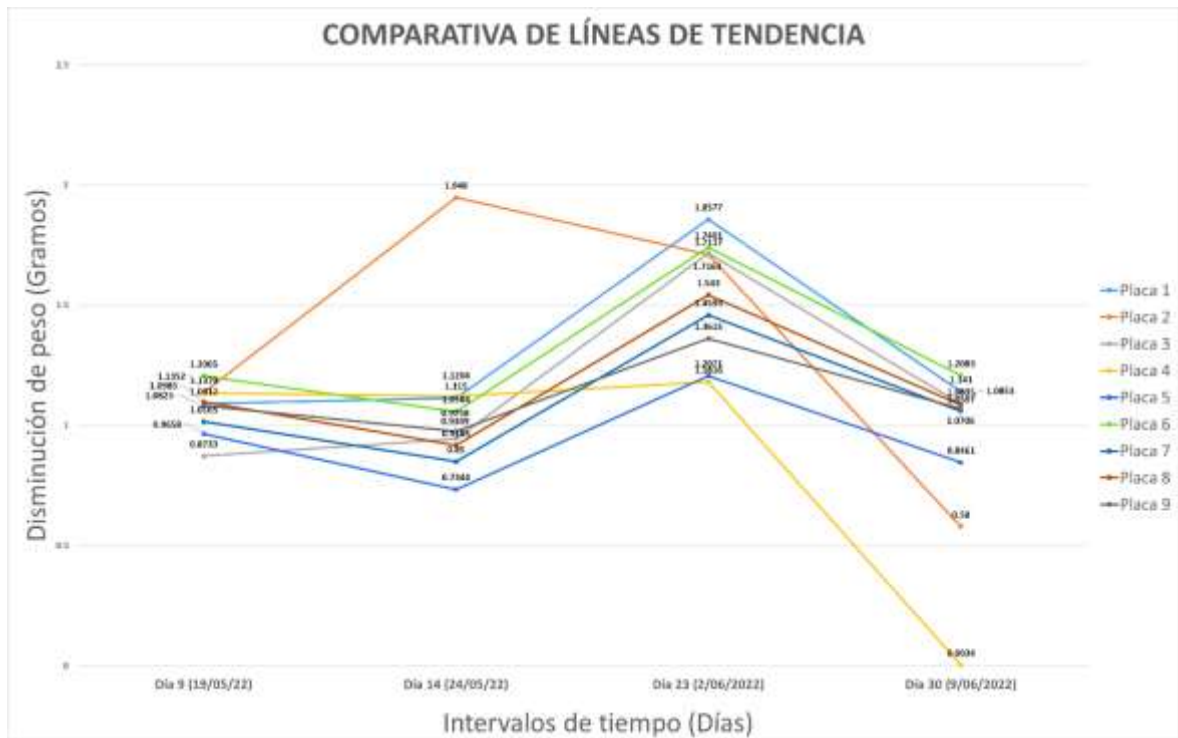


Figura 18. Comparativa de líneas de tendencia

Fuente: Elaboración propia

En la figura 18, se muestra la comparativa de las líneas de tendencia los rendimientos de biodegradación observados desde el día 9 (10/05/2022), día en el que se obtuvieron los resultados iniciales de las 9 placas.

El gráfico comparativo evidencia los desarrollos bacterianos han sido muy similares en las placas 5, 9,7,8,3,6,1. Este orden denota la capacidad biodegradativa de las colonias en orden de menor a mayor, siendo la placa 5 de menor degradación y la placa 1 la de mayor degradación.

V. DISCUSIÓN

En el proceso de cultivo de las bacterias para la prueba de degradación se utilizó Agar PDA debido a que este había sido el medio de crecimiento inicial de las colonias, sin embargo, Emmanuel-Akerele y Oluwatomi-Akinyemi (2022) en la utilizaron inicialmente Agar PDA y para el aislamiento donde determinaron la biodegradación de cloruro de polivinilo utilizaron Mineral Salt Medium (MSM) dando como resultado una reducción de entre 0.00 y 0.05 gr de las bacterias *S.Hyicus* y *Bacillus* sp. Respectivamente durante 6 semanas de observación.

Los autores Emmanuel-Akerele y Oluwatomi-Akinyemi (2022) estudiaron bacterias provenientes de suelo de vertedero aislándolas en el medio mineral salino incubadas a 37° durante 4 semanas donde identificaron como grampositivas pertenecientes a las especies *stafilococos aéreus*, *streptococcus pneumoniae*, *streptococcus faecium*, *stafilococcus hycus*, *micrococcus radiodurans*, *estafilococos spp*, *bacillus spp*, *micrococcus luteus*, *micrococcus radiodurans*, *streptococcus equi*, *streptococcus mitior*, *Lactobacillus spp*, *streptococcusspp*, *streptococcus agalactiae*, *listeria spp*, *micrococcus Mucilaginosos*, *proteus spp*, *staphylococcus xylosus*, *stafilococcus varians*, *cellobiosococcus sp*. Se puede contrastar con la metodología aplicada la que solo se cultivó durante 4 días en incubadora a 37 °C por lo que no se obtuvo colonias bacterianas en gran cantidad ni en diversidad.

En el estudio de Emmanuel-Akerele y Oluwatomi-Akinyemi (2022) se encontró que las bacterias aisladas de vertederos aquellas con mejor capacidad de degradar fueron *bacillus spp* y *stafilococos aéreus*. Asimismo, Ávila de Navia et al. (2019) encontraron bacterias del género *enterococcus* en un humedal de Colombia y M. Atlas, Bartha y Guerrero (2002) ordena estos géneros de bacterias dentro la clase Bacilli que a su vez es parte del fillum Firmicutes dentro del grupo de bacterias Gram Positivas. Estas bacterias son de morfología bacilar y de acuerdo a los resultados de la identificación morfológica de las colonias aisladas es posible que se trate de colonias de los géneros anteriormente mencionados.

Jiang et al. (2021) Realizó el análisis de degradación mediante microscopía electrónica de barrido microscopía SEM para analizar el biofilm formado en la superficie del poliestireno luego de 30 días Este método le permite visualizar con

mayor precisión y Claridad los cambios en la superficie que un microscopio óptico no permitiría esto se relaciona con la presente investigación debido a que en este estudio se utilizó un microscopio óptico.

Jiang et al. (2021) dice que disolvió el poliestireno en diclorometano lo cual formó una solución que fue depositada luego en una placa Petri que posteriormente se solidificó, esto formó una lámina que fue desionizada y deshidratada antes de su uso para la biodegradación en Agar medio salino, una vez aquí el cultivo de bacterias forman un biofilm oxidan el poliestireno convirtiéndole de una superficie hidrofóbica e hidrofílica a partir de la oxidación del grupo hidroxilo o grupo carbonilo. De este estudio la bacteria con potencial biodegradación fue la FS 1903 que está basada en el Gen 16 s rRNA asociado al género *Massilia*. Para esto se utilizaron un amplificador del gen y para la determinación de los grupos químicos involucrados se utilizó el equipo Thermo Fisher lo cual nos permite reconocer las diferentes tecnologías de análisis químico y físico de la biodegradación bacteriana que es ser pudieron haber aplicado en esta investigación para tener Datos a una escala más técnica.

En relación a los resultados obtenidos de la respuesta de las colonias sometidas a la prueba de degradación M. Atlas, Bartha y Guerrero (2002) afirma que algunas bacterias que no logran sobrevivir en placa son cultivables en la naturaleza, para detectar esto se debe hallar la viabilidad por medio de recuento de células viables. Esto se debe a que ante la carencia de nutrientes la célula ejecuta la reducción de la necesidad del nutriente escaso, reorganizando las rutas metabólicas celulares por sistemas de transporte de nutrientes afines a la disponibilidad y finalmente una reducción de la velocidad de crecimiento celular.

Basándose en Haurlyuk et al. (2015) el crecimiento bacteriano es una curva logarítmica que representa la fase de latencia, fase exponencial, fase estacionaria y fase de muerte. En la fase estacionaria se realiza un efecto bacteriostático ralentizando el crecimiento de la célula, pero manteniéndola viva, de modo que al iniciar la fase estacionaria entra en proceso la respuesta restrictiva produciendo pentafofato gua- nosina (pppGpp) y el tetrafofato guanósina (ppGpp) a través de enzimas RSH (RelA/SpoT Homologue).

En tanto RelA se activan, las enzimas de la familia Spot/Rel/RSH y SAS sintetizan (p)ppGpp en respuesta a la falta de aminoácidos, por su parte (p)ppGpp limita el crecimiento bacteriano y determina si la célula es viable debido a la acción hidrolasa de la enzima sintetasa-hidrolasa bifuncional multidominio mediante el agotamiento de nucleótidos celulares guanosina y adenosina o mediante la inhibición de los genes que propician el crecimiento activo. En bacterias del phylum Firmicutes las enzimas que contienen este dominio son la principal fuente de moléculas efectoras de respuesta estricta durante la inanición de aminoácidos, glucosa y ácidos grasos. (Das y Bhadra 2020)

Posada Bustamante (1994) concluyó que los polímeros sintéticos generalmente no son sensibles a las enzimas generadas por los microorganismos, a pesar que la causa principal de degradación biológica son los microbios. Sin embargo, es un error confundir la biodegradación con la degradación ambiental, la cual se refiere a la degradación que sufren los polímeros por el efecto combinado y acumulado de la luz, el calor, el oxígeno, el agua, la contaminación química, los microorganismos, los insectos, los animales, más los microorganismos, los insectos, los animales, más los efectos mecánicos del viento, la lluvia, el tráfico de vehículos y otras fuerzas similares. Por ende, los factores ambientales cumplen aportes a la degradación de los materiales, especialmente en condiciones naturales.

Una vez hecha esta precisión, cabe mencionar que los polímeros altamente cristalinos como el polietileno (95%), son rígidos y con poca capacidad para resistir impactos. Los plásticos a base de PET poseen un alto grado de cristalinidad (30–50 %), que es una de las principales razones de su baja tasa de degradación microbiana, que se prevé que tome más de 50 años por completo degradado en el medio ambiente natural, y cientos de años si se desechan en los océanos, debido a su menor temperatura y disponibilidad de oxígeno. Mohanan et al. (2020) Por lo que las altas temperaturas y las condiciones aerobias facilitarían la degradación de los plásticos en futuros ensayos.

Zumstein et al. (2019) observan que debe haber una discusión rigurosa de estos datos respirométricos en el contexto de condiciones específicas de incubación (por ejemplo,

tiempo, temperatura, humedad relativa) y las propiedades clave específicas del polímero. Esto implica que la biodegradabilidad de un plástico certificado biodegradable en un sistema determinado (p. ej., compost industrial o suelo agrícola) no puede cuestionarse en base a experimentos que muestran que el mismo plástico no se biodegrada lo suficiente en un sistema diferente (p. ej., agua dulce o el medio ambiente marino).

Un corolario más de Gieg, Fowler y Berdugo-Clavijo (2014) en que estudios genómicos, transcriptómicos y de mutantes realizados con cocultivos están arrojando nueva información sobre cómo los microbios interactúan y se benefician energéticamente a través de diferentes mecanismos de transferencia de electrones entre especies. En el sentido de que el poliestireno es un polímero que se genera a partir de hidrocarburos de petróleo y contiene benceno en su composición, los procesos sintróficos de degradación de hidrocarburos, principalmente benceno, ocurren en la presencia de elementos que acepten electrones como nitrato, Fe (III) o sulfato; lo que ocurre es que el primer organismo combina la oxidación del benceno con la reducción del hierro, produciendo H₂ que sirve como fuente de energía para el segundo.

Gaurav Saxena y Ram Naresh Bharagava (2020) Enumera los desafíos en la degradación de polímeros, detallando que son en primer lugar la composición química del propio polímero, el peso molecular, hidrofobicidad, tamaño de las moléculas, adición de grupos carbonilos, aditivos, enlaces químicos, factores de estrés y condiciones ambientales. Lo cual se ve reflejado en los resultados, de que las fluctuaciones entre la temperatura ambiente juegan un rol crucial en la actividad de los microorganismos, lo cual también depende del género que se tenga en cultivo.

VI. CONCLUSIONES

1. La efectividad de las bacterias aisladas del Humedal de Eten para degradar poliestireno fue determinada a través de cálculos matemáticos y mediciones progresivas de estados finales e iniciales, con lo que se resolvió que las bacterias tienen entre un 6.5407% y 3.2608% en condiciones anaerobias y temperatura ambiente de entre 25 y 26°C durante 26 días de observación. Se estima que las bacterias utilizadas en este estudio pueden sobrevivir durante más de treinta días dependiendo de su capacidad de adaptarse a condiciones de déficit de aminoácidos y la activación de las enzimas encargadas de la respuesta restrictiva.
2. El aislamiento bacteriológico del Humedal de Eten con el objetivo de aplicársele en la degradación de poliestireno resulta viable de acuerdo a los datos obtenidos en los que se visualizó un crecimiento normal de acuerdo a cada una de las fases del desarrollo bacteriano, se concluye que una dilución 10^{-1} para el cultivo inicial en Agar PDA a 37°C dentro de incubadora permitió obtener el crecimiento de la cantidad de colonias viables, por lo que se debe mantener esa metodología. Después de la identificación morfológica de las colonias aisladas se determinó que se obtuvieron 5 géneros diferentes y probablemente 2 de estas colonias aisladas pertenezcan al mismo género, pero diferente especie. Inclusive se resuelve que durante los primeros 6 días las bacterias que logran adaptarse al medio son Gram positivas.
3. Para facilitar a las bacterias el acceso a la estructura interna del polímero se debe realizar un pretratamiento, en este caso el pretratamiento físico terminó siendo suficiente para ser efectivo y tener mejores resultados que estudios anteriores que sitúan la degradación muy por debajo de lo obtenido. Durante la degradación se obtuvo 1 repetición por colonia aislada a excepción de la colonia 4 que fue observada en una sola placa.
4. La toma de datos a nivel longitudinal demostró que en etapa exponencial las bacterias logran degradar hasta 1 gr por semana durante la última semana del verano, porque en la semana del 19-05 al 24-05 que son días de cambio de estación a invierno se vio una reducción en la actividad microbiana para posteriormente regularse a aproximadamente 1.6 gr.

VII. RECOMENDACIONES

1. Para mejorar el cultivo de cepas a aislar se debería utilizar agar MSM de acuerdo a los antecedentes revisados. Asimismo, es recomendable que cada una de las etapas tanto de siembra, cultivo, aislamiento y prueba de biodegradación deben prolongarse más de lo que se realizó en este estudio con la finalidad de obtener mayor cantidad de colonias bacterianas y de diversas especies que permitan compararlas entre sí y también para medir el potencial biodegradador durante más de 30 días.
2. Del mismo modo, se debería tratar de replicar la prueba de degradación en un invernadero que permita mantener una temperatura cálida sin necesidad de energía eléctrica para mantener el proceso ecológico y económico. Ya que según lo observado parece ser que las condiciones atmosféricas determinan la reproducción. Adicionalmente se aconseja realizar diferentes fases de pretratamiento como disolución química, reducción física con un equipo especializado, reducción térmica y finalmente experimentar con consorcios bacterianos para inducir a sintrofia. También se recomienda realizar pruebas de identificación bioquímica para corroborar la identidad de las bacterias aisladas, especialmente las de medios naturales con gran concentración.
3. Para simplificar el proceso de aislamiento de bacterias de nichos ecológicos, es recomendable revisar estudios de caracterización bacteriológica, estos estudios proporcionan también obtener datos de la versatilidad de los microorganismos y obtener coincidencias de los lugares en que se encuentre el mismo tipo de bacteria. Cabe mencionar que, dado que hoy en día se encuentran plásticos en casi todos los entornos, se recomienda experimentar con las bacterias de diferentes entornos como suelos agrícolas, vertederos, humus, parques, así como también se ha logrado identificar bacterias con estas capacidades en frutas, verduras, intestinos animales, residuos plásticos degradados, agua marina, sedimentos costeros, etc.
4. Con la finalidad de adicionar un beneficio económico y poder replicar estos sistemas a nivel industrial se debería realizar un análisis de COSTO-BENEFICIO respecto a los posibles servicios ecosistémicos de los lugares contaminados luego de su rehabilitación.

REFERENCIAS

ÁVILA DE NAVIA, S.L., ESTUPIÑÁN TORRES, S.M., CAICEDO CARDONA, L.M., CALDERÓN CÁRDENAS, X.M. y RUBIANO AGUIRRE, W.L., 2019. Diagnóstico de la calidad bacteriológica del agua del Humedal Córdoba, Bogotá. Nova, vol. 17, no. 31, pp. 87-95. DOI 10.22490/24629448.3625.

AHMED, T., SHAHID, M., AZEEM, F., RASUL, I., SHAH, A.A., NOMAN, M., HAMEED, A., MANZOOR, N., MANZOOR, I. and MUHAMMAD, S., 2018. Biodegradation of plastics: current scenario and future prospects for environmental safety. Environmental Science and Pollution Research, vol. 25, no. 8, pp. 7287–7298. DOI 10.1007/s11356-018-1234-9.

BALLESTER, L., ROSÓN, C., QUESADA, V. and CABELLOS, A., 2021. La integración del análisis cualitativo y cuantitativo en la evaluación de un programa familiar en procesos de emancipación juvenil. A Prática Na Investigação Qualitativa Experiências De Grupos De Investigação - La Práctica En Investigación Cualitativa Experiências De Grupos De Investigación, pp. 13–27. DOI 10.36367/ntqr.5.2021.13-27.

CCALLO- ARELA, M., SACACA-MASCOS, F., CALLATA-CHURAC, R., VIGO-RIVERA, J. and CALLA-CALLA, J., 2020. Biodegradación de polímeros de plástico por Pseudomonas. Revista de Investigación: Ciencia, Tecnología y Desarrollo, vol. 5, no. 2.

CLAYDEN, J., GREEVES, N. y WARREN, S., 2017. Organic chemistry. Johannesburg: Mtm. ISBN 978-0-19-927029-3.

CHUNGA CAMPOS, L.D.R. y CIEZA MARTÍNEZ, C.A., 2017. BIODEGRADACIÓN DE POLIESTIRENO UTILIZANDO MICROORGANISMOS PRESENTES EN EL HUMUS DE LOMBRIZ DURANTE LOS MESES, OCTUBRE – DICIEMBRE 2016. [en línea]. Tesis de pregrado. UNIVERSIDAD DE LAMBAYEQUE: s.n. Disponible en: https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/RUDL_848bfa60f4931a1519b59d1487c3195c.

DAS, B. y BHADRA, R.K., 2020. (p)ppGpp Metabolism and Antimicrobial Resistance in Bacterial Pathogens. *Frontiers in Microbiology* [en línea], vol. 11, no. 1. DOI 10.3389/fmicb.2020.563944. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2020.563944/full>.

DÍAZ DÍAZ, M. de M., 2020. “EFECTO DE LAS ACTIVIDADES ANTROPOGÉNICAS EN LA CALIDAD DEL SUELO DE LA PLAYA DE PIMENTEL - LAMBAYEQUE” [en línea]. Tesis pregrado. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo: s.n. Disponible en: https://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12893/8815/D%C3%ADaz_D%C3%ADaz_Milagritos_de_Mar%C3%ADa.pdf?sequence=1&isAllowed=y

EL PERUANO, 2021. Producción mundial de plástico retrocedió en 2020 debido a la pandemia. *elperuano.pe* [en línea]. [Consulta: 1 October 2021]. Disponible en: <https://elperuano.pe/noticia/122511-produccion-mundial-de-plastico-retrocedio-en-2020-debido-a-la-pandemia>

EMMANUEL-AKERELE, H. y OLUWATOMI-AKINYEMI, P., 2022. Physico-Chemical and Microbiological Assessment of Soils from Dumpsites for Plastic Degrading Microorganisms. *Pollution* [en línea], vol. 8, no. 2. DOI 10.22059/POLL.2021.330648.1186. Disponible en: https://jpoll.ut.ac.ir/article_85965.html

ESTEBAN NIETO, N.T., 2018. TIPOS DE INVESTIGACIÓN. [en línea], Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/250080756.pdf>

FILIUS, P.M.G., VAN NETTEN, D., ROOVERS, P.J.E., VULTO, A.G., GYSSENS, I.C., VERBRUGH, H.A. and ENDTZ, H.P., 2003. Comparative evaluation of three chromogenic agars for detection and rapid identification of aerobic Gram-negative bacteria in the normal intestinal microflora. *Clinical Microbiology and Infection*, vol. 9, no. 9, pp. 912–918. DOI 10.1046/j.1469-0691.2003.00667.x.

FLORES ARÉVALO, P., 2020. The issue of plastic use during the Covid-19 pandemic La problemática del consumo de plásticos durante la pandemia de la covid-19. South Sustainability [en línea], vol. 1, no. 2, pp. 16. DOI 10.21142/SS-0102-2020-016. Disponible en: <https://revistas.cientifica.edu.pe/index.php/southsustainability/article/download/733/750/>.

GEDE, A., WIJAYA, M., SURYANDITHA, P., ISKAYANI, A. and JANURIANTI, N.M., 2021. Antibacterial Screening of Bacterial Isolates Associated with Mangrove Soil from the Ngurah Rai Mangrove Forest Bali. Biology, Medicine, & Natural Product Chemistry, vol. 10, no. 2. DOI 10.14421/biomedich.2021.102.129-133.

GAURAV SAXENA y RAM NARESH BHARAGAVA, 2020. Bioremediation of Industrial Waste for Environmental Safety. Volume I, Industrial waste and its management [en línea]. Singapore: Springer. ISBN 9789811318900. Disponible en: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-13-1891-7_6.

GIEG, L.M., FOWLER, S.J. and BERDUGO-CLAVIJO, C., 2014. Syntrophic biodegradation of hydrocarbon contaminants. Current Opinion in Biotechnology, vol. 27, pp. 21–29. DOI 10.1016/j.copbio.2013.09.002.

GÓMEZ, Y., TELLERÍA, N., VILLANUEVA, S. y HENRIQUEZ, M., 2018. TECNOLOGÍAS PARA LA OBTENCIÓN DEL MONÓMERO ESTIRENO. [en línea]. S.l.: Disponible en: <http://www.ing.ucv.ve/jifi2018/documentos/materiales/MSN-005.pdf>.

GUERRERO-ORTIZ, P., QUINTERO-LIZAOLA, R., ESPINOZA-HERNÁNDEZ, V., BENEDICTO-VALDÉS, G. and SÁNCHEZ-COLÍN, M., 2012. RESPIRACIÓN DE CO₂ COMO INDICADOR DE LA ACTIVIDAD MICROBIANA EN ABONOS ORGÁNICOS DE LUPINUS. Terra Latinoamericana, vol. 30, no. 4.

HAURYLIUK, V., ATKINSON, G.C., MURAKAMI, K.S., TENSION, T. y GERDES, K., 2015. Recent functional insights into the role of (p)ppGpp in bacterial physiology. Nature Reviews Microbiology [en línea], vol. 13, no. 5, pp. 298-309. DOI 10.1038/nrmicro3448. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4659695/>.

HOU, L. and MAJUMDER, E.L.-W. , 2021. Potential for and Distribution of Enzymatic Biodegradation of Polystyrene by Environmental Microorganisms. *Materials*, vol. 14, no. 3, pp. 503. DOI 10.3390/ma14030503.

JIANG, S., SU, T., ZHAO, J. and 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*, vol. 9. DOI 10.3389/fbioe.2021.736062.

LIU, J., YANG, Y., AN, L., LIU, Q. and DING, J., 2021. The Value of China's Legislation on Plastic Pollution Prevention in 2020. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, DOI 10.1007/s00128-021-03366-6.

LÓPEZ-JÁCOME, L., HERNÁNDEZ-DURÁN, M., COLÍN-CASTRO, C., ORTEGA-PEÑA, S., CERÓN-GONZÁLEZ, G. and FRANCO-CENDEJAS, R., 2014. Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología. *Investigación en Discapacidad*, vol. 3, no. 1.

M. ATLAS, R., BARTHA, R. and GUERRERO, R., 2002. *Ecología microbiana y microbiología ambiental*. México: Pearson. ISBN 9788478291106.

MELO, O., LÓPEZ, L. and E. MELO, S., 2020. *Diseño de Experimentos Métodos y Aplicaciones*. Segunda Edición. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.

MOHANAN, N., MONTAZER, Z., SHARMA, P.K. and LEVIN, D.B., 2020. Microbial and Enzymatic Degradation of Synthetic Plastics. *Frontiers in Microbiology*, vol. 11. DOI 10.3389/fmicb.2020.580709.

NÄKKI, P., ERONEN-RASIMUS, E., KAARTOKALLIO, H., KANKAANPÄÄ, H., SETÄLÄ, O., VAHTERA, E. and LEHTINIEMI, M., 2021. Polycyclic aromatic hydrocarbon sorption and bacterial community composition of biodegradable and conventional plastics incubated in coastal sediments. *Science of The Total Environment*, vol. 755, no. 2, pp. 143088. DOI 10.1016/j.scitotenv.2020.143088.

NAVA-CENTENO, A.R., RONQUILLO-GONZÁLEZ, A., CABRERA-CEJA, A.J., SILVA-BAUTISTA, D., PÉREZ-CRUZ, K.A. y GARCÍA-GONZÁLEZ, C.A., 2019. KLEBSIELLA OXYTOCA: EL FUTURO DE LA BIORREMEDIACIÓN. Revista Materia, Ciencia y Nanociencia, vol. 2, no. 1.

NIETO, N.T.E., 2018. TIPOS DE INVESTIGACIÓN. Ingeniería de Sistemas e Informática [en línea], Disponible en: <http://repositorio.usdg.edu.pe/handle/USDG/34>

OMUNAKWE AMADI, L. and OSAHON NOSAYAME, T., 2020. Biodegradation of polypropylene by bacterial isolates from the organs of a fish, *Liza grandisquamis* harvested from Ohiakwu estuary in Rivers State, Nigeria. World Journal of Advanced Research and Reviews [en línea], vol. 7, no. 2, pp. 258–263. DOI 10.30574/wjarr.2020.7.2.0299. Disponible en: <https://wjarr.com/content/biodegradation-polypropylene-bacterial-isolates-organs-fish-liza-grandisquamis-harvested>

OTZEN, T. and MANTEROLA, C., 2017. Técnicas de Muestreo sobre una Población a Estudio. International Journal of Morphology, vol. 35, no. 1, pp. 227–232. DOI 10.4067/s0717-95022017000100037.

OCEANA, P., 2021. CONTAMINACIÓN POR PLÁSTICOS ¿UN MAR DE PLÁSTICOS? Oceana Perú [en línea]. Disponible en: <https://peru.oceana.org/es/our-campaigns/plasticos/campaign>.

POSADA BUSTAMANTE, B., 1994. La degradación de los plásticos. Revista Universidad EAFIT [en línea], vol. 30, no. 094. Disponible en: <https://repository.eafit.edu.co/handle/10784/16534>

RECIO DEL BOSQUE, F., 2012. Química orgánica. Cuarta Edición. Editorial: México: McGraw-Hill Interamericana. ISBN 9786071508492.

SAVOLDELLI, J., TOMBACK, D. y SAVOLDELLI, H., 2017. Breaking down polystyrene through the application of a two-step thermal degradation and bacterial method to produce usable byproducts. Waste Management, vol. 60, pp. 123–126. DOI 10.1016/j.wasman.2016.04.017.

SHIMPI, N., BORANE, M., MISHRA, S. and KADAM, M., 2012. Biodegradation of polystyrene (PS)-poly(lactic acid) (PLA) nanocomposites using *Pseudomonas aeruginosa*. *Macromolecular Research*, vol. 20, no. 2, pp. 181–187. DOI 10.1007/s13233-012-0026-1.

TITAH, H.S., PRATKNO, H., PURWANTI, I. and WARDHANI, W.K., 2021. Biodegradation of Crude Oil Spill Using *Bacillus Subtilis* and *Pseudomonas Putida* in Sequencing Method. *Journal of Ecological Engineering* [en línea], vol. 1. Disponible en: <http://www.jeeng.net/Biodegradation-of-Crude-Oil-Spill-Using-Bacillus-Subtilis-and-Pseudomonas-Putida,142913,0,2.html>

VALENZUELA, A., 2001. Manual de análisis microbiológico de alimentos [en línea]. Perú: Dirección General de Salud Ambiental. Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/informes-publicaciones/352931-manual-de-analisis-microbiologico-de-alimentos>.

WILKES, R.A. and ARISTILDE, L., 2017. Degradation and metabolism of synthetic plastics and associated products by *Pseudomonas* spp.: capabilities and challenges. *Journal of Applied Microbiology*, vol. 123, no. 3, pp. 582–593. DOI 10.1111/jam.13472.

ZUMSTEIN, M.T., NARAYAN, R., KOHLER, H.-P.E., MCNEILL, K. y SANDER, M., 2019. Dos and Do Nots When Assessing the Biodegradation of Plastics. *Environmental Science & Technology*, vol. 53, no. 17, pp. 9967-9969. DOI 10.1021/acs.est.9b04513.

ANEXOS

Anexo 01. Operacionalización de las variables

VARIABLES DE ESTUDIO	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIÓN	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
Degradación de poliestireno (Dependiente)	Propiedades de un material en un determinado ambiente.	Realizar monitoreo del progreso de la biodegradación en un periodo determinado de tiempo.	Peso de poliestireno	Gramos	de razón
			Tiempo de biodegradación	Días	Intervalo
Efectividad de géneros bacterianos (Independiente)	Capacidad catabólica de degradar polímeros derivados de petróleo.	Analizar los microorganismos que se desarrollen en poliestireno.	Concentración de microorganismos	Unidades formadoras de colonias (UFC)	de razón
			Identificación morfológica de las cepas	Forma de las bacterias	Nominal
				Clasificación Gram	

Fuente: Elaboración propia

Anexo 02. Cronograma de procedimientos

N°	ACCIÓN	FECHA
1	Toma de muestras de suelo	28-Abr
2	Siembra de bacterias generales	28-Abr
3	Tinción de gram colonias	4-May
4	Siembra de colonias a viales- T° ambiente	7-May
5	Crecimiento de viales - Tinción Gram	10-May
6	Siembra de viales a placas (4)	10-May
7	Siembra de viales a placas (5)- Observación placas anteriores	14-May
8	Observación placas (9)	19-May
9	Observaciones longitudinales	19-May
10		9-Jun

Fuente: Elaboración propia

Anexo 03. Tinción Gram

