



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

Eficiencia en la biodegradación de plástico de baja densidad por
Enterobacter sp. y *Bacillus* sp. aisladas de la larva *Galleria
mellonella* sometidas a radiación ultravioleta (UV).

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

Ingeniera Ambiental

AUTORAS:

Prada Veliz, Karen Antonella (ORCID: 0000-0003-2738-5935)

Rojas Llamo, Deysi Natalic (ORCID: 0000-0002-7529-9700)

ASESOR:

Dr. Garzón Flores Alcides (ORCID: 0000-0002-0218-8743)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Tratamiento y Gestión de los Residuos

CHICLAYO – PERÚ

2020

Dedicatoria

En primer lugar, se lo quiero dedicar a Dios, que durante todo este tiempo me estuvo acompañando, iluminando y guiándome para llegar a mi meta.

A mis padres que con amor incondicional me apoyaron en todo momento, en mis momentos de fortaleza y debilidad, siempre estuvieron para incentivar me a seguir a delante.

A aquellas personas que tanto amo que con sus consejos y ayuda incondicional me motivaron a seguir adelante para cumplir mis metas trazadas.

Karen Antonella

Dedico nuestra tesis a Dios, por cuidarnos, ser nuestro guía y darnos fuerzas en los momentos más difíciles para así lograr culminar nuestra carrera universitaria.

A nuestros padres, por su esfuerzo, constante apoyo y sabiduría para darnos consejos y lograr nuestros anhelos más deseados.

A todas las personas, que con su apoyo y dedicación nos brindaron sus conocimientos durante nuestro trabajo y estadía en la universidad.

Deysi Natalic

Agradecimiento

A Dios por darnos la oportunidad de seguir nuestros sueños, a nuestros padres por el amor, a mi enamorado y seres querido por su apoyo, consejos y fuerzas que me dieron, a nuestro asesor Ing. Alcides Garzón Flores por su conocimiento, experiencia y orientación que nos permitió culminar este trabajo de investigación.

Karen Antonella

Agradecer a nuestros docentes, por haber formado parte esencial en nuestros estudios ya que con su sabiduría y conocimientos hemos logrado nuestros objetivos propuestos y poder culminar con éxito nuestro proyecto de investigación.

Para concluir, nuestro agradecimiento a todos nuestros compañeros durante nuestra estadía Universitaria.

Deysi Natalic

Índice de contenidos

Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Índice de contenidos	iv
Índice de tablas	v
Resumen	vi
Abstract	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	7
III. METODOLOGÍA	12
3.1 Tipo y diseño de investigación	12
3.2. Variables y operacionalización	12
3.3. Población, muestra y muestreo	13
3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	14
3.5 Procedimientos	15
3.6 Método de análisis de datos.....	20
3.7 Aspectos éticos	20
IV. RESULTADOS	21
V. DISCUSIÓN	30
VI. CONCLUSIONES	32
VII. RECOMENDACIONES	33
REFERENCIAS	34
ANEXOS	42
Anexo 01. Matriz de operacionalización de variables.....	42
Anexo 02. Instrumento de recolección de datos.....	43

Índice de tablas

Tabla 01. <i>Estimaciones de los pesos y tamaño de las larvas Galleria mellonella</i>	16
Tabla 02. <i>Alimentación de las larvas Galleria mellonella</i>	17
Tabla 03. <i>Crecimiento bacteriano en agar Agar Nutritivo y Agar Mac Conkey</i>	21
Tabla 04. <i>Identificación de los cultivos bacterianos.</i>	23
Tabla 05. <i>Pruebas bioquímicas del género bacteriano Enterobacter sp.</i>	24
Tabla 06. <i>Cultivos bacterianos según la resistencia en todos los tiempos expuestos a la radiación ultravioleta (UV).</i>	25
Tabla 07. <i>Eficiencia de biodegradación de la cepa N°5_ Bacillus sp.</i>	26
Tabla 08. <i>Eficiencia de biodegradación. N°16_ Bacillus sp.</i>	26
Tabla 09. <i>Eficiencia de biodegradación de la cepa N°20_ Bacillus sp.</i>	27
Tabla 10. <i>Eficiencia de biodegradación de la cepa N°30_ Enterobacter sp.</i>	28
Tabla 11. <i>Pruebas de efectos inter-sujetos en el Programa SPSS.</i>	28

Resumen

El problema principal de esta investigación es sobre ¿De qué manera la radiación ultravioleta puede incrementar la capacidad biodegradadora del plástico de *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. aisladas del intestino de *Galleria mellonella*? Donde el objetivo fue estudiar la eficiencia en la biodegradación de plástico de baja densidad por bacterias *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. Las bacterias fueron aisladas del líquido intestinal de la larva y cultivadas en Agares y un medio de sales minerales, donde se les hizo diferentes estudios para determinar las cepas bacterianas. Posteriormente las cepas fueron sometidas a irradiación ultravioleta con diferentes escalas de tiempos en segundos. Para luego ser sembradas en tubos con un medio de sales minerales y un grupo testigo; donde cada cultivo fue expuesto a un 1 gramo de plástico PET en polvo; finalmente las placas fueron llevadas a la incubadora a una temperatura de 30°C por un espacio de 28 días, donde se determinó la capacidad biodegradadora de los cultivos bacterianos irradiados, teniendo así que la Cepa N°20 de *Bacillus* sp. irradiada a 90 segundos fue la más eficiente con un 25% de biodegradación. En conclusión, el grupo control no mostro ningún grado de degradación a diferencia de las bacterias irradiadas.

Palabras clave: *Enterobacter* sp., *Bacillus* sp., Biodegradación, Polietileno, Radiación Ultravioleta.

Abstract

The main problem of this research is on how ultraviolet radiation can increase the biodegradable capacity of *Enterobacter* sp. and *Bacillus* sp. isolated from the intestine of *Galleria mellonella*? Where the objective was to study the efficiency in the biodegradation of low-density plastic by bacteria *Enterobacter* sp. and *Bacillus* sp. The bacteria were isolated from the intestinal fluid of the larva and cultivated in agar and a mineral salt medium, where different studies were carried out to determine the bacterial strains. Subsequently, the strains were subjected to ultraviolet irradiation with different time scales in seconds. To later be seeded in tubes with a medium of mineral salts and a control group; where each culture was exposed to 1 gram of PET plastic powder; finally, the plates were taken to the incubator at a temperature of 30 °C for a period of 28 days, where the biodegrading capacity of the irradiated bacterial cultures was determined, thus having Strain N°. 20 of *Bacillus* sp. irradiated at 90 seconds it was the most efficient with 25% biodegradation. In conclusion, the control group did not show any degree of degradation unlike the irradiated bacteria.

Keywords: *Enterobacter* sp., *Bacillus* sp., Biodegradation, Polyethylene, Ultraviolet Radiation.

I. INTRODUCCIÓN

El Banco mundial (2018), En el mundo se está presentando un problema muy alarmante que son los residuos sólidos, generando así un incremento de desecho anualmente entre 3 a 4 mil millones de toneladas métricas, hasta el 2016 se generó residuos sólidos en un aproximado de 2.5 millones de toneladas, en su totalidad es un 12% de desecho. (p.1)

Municipalidad Provincial de Chiclayo (2012), En Chiclayo la valorización de generación de Residuos Sólidos de origen Domiciliarios es de 151.15 ton/día y 5517 ton/año, en lo que es Residuos No Domiciliarios son 87.11 ton/día y 31795 ton/año, en Residuos Sólidos Municipales es de 238.26 ton/día y 86966 ton/año. (p.32)

Según Ulloa (2011), Debido al inadecuado tratamiento que se les da a los residuos sólidos como el uso de bolsas de polietileno en la actualidad es un problema a nivel mundial, ya que son fáciles de obtener y tiene un valor monetario bajo ya que son utilizados por toda la urbe, causando así impactos negativos en el ambiente como alteración en la capa de ozono, alteración de ecosistemas (destrucción), entre otros. Es por ello que los gobiernos han formulado leyes para restringir la utilización de estos plásticos, ocasionando polémica entre los sectores de producción de estos insumos, es por ello que se debe hacer una prohibición y a su vez una concientización a la población para que ya no se consuma o utilice este tipo de residuos. (p.2)

Así mismo Domínguez, (2015), En la actualidad la utilización de polímeros ha incrementado de una forma exponencial generando así contaminación al ambiente, es por ello que entidades públicas y privadas están buscando alternativas de solución como plásticos biodegradables, y así mismo centrarse en proyectos de investigación para degradación de plástico. Sin embargo, en la actualidad trabajar con productos orgánicos son de costo elevado debido que la gran mayoría de personas no le toman importancia debida y optan por lo más fácil y económico. (vol. 10, no 1, p. 9-21)

Ocampo (2019); Uno de los problemas principales es la destrucción de ecosistemas marinos, debido a que no cuenta con las medidas correctas ni con los tratamientos adecuados de los residuos sólidos. En la Costa de Sudáfrica se encuentra plástico por kilómetro cuadrado en promedio de 3.500 partículas, dichos controles se obtuvieron de 50 playas a partir Cabo Este hasta ciudad de Cabo. (p.2)

Además, Borrego y García (2011), Debido a que la contaminación por plástico se da en todo el mundo la comunidad mundial tuvo la necesidad de implementar productos orgánicos o biodegradables y así poder disminuir los problemas que están ocasionando los micro plásticos en los ecosistemas. vol. 42, no 2, p.7

Rodríguez (2007), La contaminación de océanos ha incrementado de una forma acelerada debido a que el plástico forma parte de la vida cotidiana por su bajo costo y fácil obtención, generando así daño a los ecosistemas marinos por los micro plásticos lo cual ocasiona hasta la muerte a la fauna marina. (p.4)

Según Elías, Rodolfo (2015), En la actualidad la salud humana y de los animales está en peligro debido a la contaminación por micro plásticos, su nivel de impacto es tan elevado que estas partículas de plásticos se depositan en aguas marinas y continentales y a su vez son consumidos por la fauna marina donde estos micro plásticos se alojan en la parte del estómago de estos animales ocasionando la muerte. Otro impacto negativo es que estos plásticos generan asfixia a los animales por lo que quedan enredados en ellos, generando una muerte lenta ya que no se pueden alimentar. (vol. 20, p.7)

Borrego y García (2011), En la actualidad se está buscando alternativas de solución para la contaminación por plásticos como trabajar con plástico biodegradables y así aportar a la disminución de estos, sin embargo, esta alternativa de solución no ha sido tan eficiente debido a que dicho contaminante sigue afectando a las cadenas alimenticias de los ecosistemas marinos, causando daños a la salud, fauna y flora.

Por ello investigadores han decidido trabajar con la parte microbiana para la desintegración de estos polímeros donde se utiliza cepas de *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Nocardia*, *Pseudomonas*, entre otras aislados de suelos, aguas y barros en ambientes naturales. (vol. 40, no 2, p.10)

Teniendo como justificación del estudio de investigación en la actualidad trabajar con la contaminación de plástico con métodos tradicionales de transformación no es tan eficiente debido a muchos factores, el más resaltante es la falta de concientización por parte de la población ya que carecen de conocimiento en el tema de clasificación de residuos o tratamientos, estos compuestos permanecen años en el ambiente como en masas de agua y suelo, aportando a la acumulación de carbono en la atmosfera y perdida de ecosistemas. Se necesitaría un alto valor económico para tratar o eliminar estos residuos de manera tradicional por ello es que se debería dar mayor importancia a la degradación de plástico con la parte microbiológica.

Según MINAM, (2012); En Perú del año 2010 a 2011 se hizo un estudio para ver el incremento de porcentaje de residuos plásticos, obteniendo como cifras que de un 8,07% se extendió a un 9,85%, esto nos indica que la contaminación por plásticos viene en aumento desde años antepasados y hasta la actualidad no se puede disminuir estos contaminantes, debido a que las fabricaciones de polímeros son de bajo costo y factibles siendo así utilizados en la vida diaria del hombre. (p.8)

La Municipalidad Provincial de Chiclayo (2012), En la Provincia de Chiclayo existe una problemática muy relevante que es el incremento de residuos sólidos, debido a que la población carece de conocimientos o cultura ambiental, generando así impactos negativos para el ambiente y su salud, esto se debe a que la prioridad del hombre es la parte económica como satisfacer sus necesidades de ambición dejando de lado la parte ambiental sin importar los beneficios que brinda nuestros ecosistemas. (p.6)

Además, la Municipalidad Provincial de Chiclayo (2012), La Provincia de Chiclayo tiene un problema muy alarmante debido a que su población prioriza sus necesidades básicas, por ejemplo, el incremento de negocios informales generando con ello el consumo excesivo de polietileno, cuya disposición final de estos residuos son en lugares no apropiados como las calles que solo generan mal aspecto ante la sociedad y perjudican al ambiente. (p.5)

En la actualidad se están realizando estudios donde se ha identificado que el mundo microbiano e insectil tienen un papel muy significativo ya que, por medio de sus enzimas o propia microflora, los polímeros como plásticos de baja, mediada o alta densidad pueden ser degradados por estos, significa que son una alternativa de solución ante la contaminación por polímeros para así poder contribuir al cuidado del ambiente y la salud humana.

La finalidad de este proyecto de investigación es ver la eficiencia de la biodegradación de plástico con radiación ultravioleta (UV) en bacterias *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. aisladas de la larva *Galleria mellonella* como una forma práctica y ecoeficiente de reducir el plástico por parte de estos grupos microbianos presentes en el contenido intestinal de larvas de insectos.

Ante la realidad problemática mostrada se planteó el problema general y los problemas específicos de la investigación. El problema general de la investigación fue ¿De qué manera radiación ultravioleta puede incrementar la capacidad biodegradadora del plástico de *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. aisladas del intestino de *Galleria mellonella*?

Los problemas específicos de la investigación fueron los siguientes:

PE1: ¿Podrán ser aisladas en medios de cultivo las bacterias *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. presentes en el intestino de la larva de *Galleria mellonella*?

H0: Los medios de cultivo no permiten el aislamiento de las bacterias *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. presentes en el intestino de la larva de *Galleria mellonella*.

H1: Los medios de cultivo permiten el aislamiento de las bacterias *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. presentes en el intestino de la larva de *Galleria mellonella*.

PE2: ¿Con el análisis macroscópico, microscópico y bioquímico se podrá identificar las bacterias *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. presentes en el contenido intestinal de las larvas de *Galleria mellonella*?

H0: El análisis macroscópico, microscópico y bioquímico no se podrá identificar las bacterias *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. presentes en el contenido intestinal de las larvas de *Galleria mellonella*.

H1: El análisis macroscópico, microscópico y bioquímico se podrá identificar las bacterias *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. presentes en el contenido intestinal de las larvas de *Galleria mellonella*.

PE3: ¿De qué manera la longitud de onda de 260 nm de la radiación ultravioleta (UV) y a una distancia de 45 cm será suficiente para incrementar la capacidad biodegradadora de plástico de las bacterias *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. presente en el intestino de larvas de *Galleria mellonella*?

H0: La longitud de onda de 260 nm de la radiación ultravioleta (UV) y a una distancia de 45 cm no será suficiente para incrementar la capacidad biodegradadora de plástico de las bacterias *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. presente en el intestino de larvas de *Galleria mellonella*.

H1: La longitud de onda de 260 nm de la radiación ultravioleta (UV) y a una distancia de 45 cm será suficiente para incrementar la capacidad biodegradadora de plástico de las bacterias *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. presente en el intestino de larvas de *Galleria mellonella*.

PE4: ¿Se podrá determinar si hay diferencias significativas en el incremento de la capacidad biodegradadora de plástico de las bacterias *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. sometidas a radiación ultravioleta (UV) comparadas con el grupo testigo?

H0: No se podrá determinar si hay diferencias significativas en el incremento de la capacidad biodegradadora de plástico de las bacterias *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. sometidas a radiación ultravioleta (UV) comparadas con el grupo testigo.

H1: Se podrá determinar si hay diferencias significativas en el incremento de la capacidad biodegradadora de plástico de las bacterias *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. sometidas a radiación ultravioleta (UV) comparadas con el grupo testigo.

El objetivo general fue estudiar la eficiencia en la biodegradación de plástico de baja densidad por bacterias *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. aisladas de la larva *Galleria mellonella* sometidas a radiación ultravioleta (UV)

Los objetivos específicos fueron los siguientes:

OE1: Aislar en medios de cultivo bacterias *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. presentes en el contenido intestinal de la larva *Galleria mellonella*.

OE2: Identificar mediante el análisis macro, microscópico y bioquímico las bacterias *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. presentes en el contenido intestinal de la larva *Galleria mellonella*.

OE3: Someter a cepas de *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. a la radiación ultravioleta con una longitud de onda de 260 nm y una distancia de 45 cm.

OE4: Comparar la biodegradación del plástico de *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. aisladas del intestino de larvas de *Galleria mellonella* sometidas a la radiación ultravioleta (UV) con las cepas testigo.

II. MARCO TEÓRICO

El gusano de cera negra posee etapas muy aceleradas, ya que necesita de ambientes excelentes para poder cumplir con su ciclo biológico ya que tarda aproximadamente unas seis semanas para conseguir todo su período biológico. Los gusanos de polillas adultas instalan sus huevos en las casillas de las ceras de la abeja que se hallan en las colmenas. Las polillas surgen a la superficie entre los días tres y cinco. Los gusanos de cera negra son eficaces y poseen un aparato masticador muy capaz de degradar plástico, y gracias a ello van fabricando pasajes y crujías que las envuelven con redes de seda. (Rodríguez,2015, p.17).

Además, las larvas que recientemente salen pueden alcanzar a trasladarse a colonias vecinas de las colmenas de las abejas, y en algunos trabajos de investigación ratifican que estas larvas de *Galleria mellonella* alcanzan a correr un trayecto de 50 metros. Después de diecinueve días, el lepidóptero consigue progresar y desplegar lo suficiente para convertirse en una crisálida, en aquel tiempo ellas logran encontrar un lugar conveniente en donde se enrollan en su capullo de seda y es ahí donde ellas logran transformarse en crisálida que dura entre 18 y 15 días. Después de esta etapa los adultos surgen a la superficie del capullo lo único en lo que se dedican ellos es propagarse y volver al principio del ciclo biológico del gusano de cera negra. El macho maduro posee el trabajo de atraer las feromonas expuestas por las hembras. (Rodríguez,2015, p.21).

La larva de cera negra *Galleria mellonella* tiene un tamaño que se halla entre unos 0,6 o 0,7 mm, estos se sustentan de cera y miel de las colmenas de abejas, sus trasmutas de la larva alcanza a tener 7 mudas, estando entre la más esencial la primera fase de la larva que se facilita cuando se halla en el huevo y la última fase es cuando se halla en pupa, el gusano de cera negra se identifica por una tonalidad blancuzco medio translucido, este logra adoptar el color gris a un gris penetrante en la parte dorsal y frente de la cabeza se asemeja por poseer un color marrón. (Velasco, 2017, p.7).

Así también el lepidóptero *Galleria mellonella* son identificadas como una plaga que le corresponde liquidar con los panales de las colmenas de las abejas, ya que su subsistencia de este gusano de cera negra se fundamenta en cera, polen y miel; que se logra obtener de las colmenas de abejas fructíferas en donde puede llegar a obtener la destrucción de las colmenas. (Revilla (como se citó en LLORET, 2006), p.13).

También a los gusanos de cera negra son considerados como parásitos ya que ellos solo se encargan de comer miel de las colmenas y no producen su propio alimento, pero una de las más relevantes superioridades que se manifestó por una investigadora apicultora es que son aptos para la biodegradación de plástico, entre uno de los materiales para la fabricación del plástico es el polietileno. (Mohamed, Ansari y Kaur, 2014, p.2)

La biodegradación de plástico de baja densidad a través del lepidóptero de cera negra, esta larva es conocida como el insecto del ocio. Cuando una ración de plástico se situó en disposición inmediata con la larva, las perforaciones empezaron a exponerse después de 40 minutos, con una interrupción de 2,2 a 1,2 perforaciones por cada una de la larva de cera negra por hora. Situando como muestreo 100 gusanos de la polilla de cera negra en disposición inmediata con una bolsa de materia de polietileno que se emplea para las compras situando a disposición durante 12 horas, lo que ocasiono una descendencia exuberante de 92 mg. (Toledo,2018, p.3).

Así mismo también tenemos la posibilidad de tener unos resultados de que el sistema digestivo era el que ocasionaba la degradación del plástico de baja densidad ya que expusieron una muestra de plástico PE para hacer un estudio gravimétrico con pruebas tratadas teniendo unos resultados de la disminución del 13% en un tiempo de 14 horas. (Toledo,2018, p.6).

Además, la larva *Galleria mellonella* es un insecto que puede biodegradar el plástico y poder darle una solución a lo que es el plástico. En la actualidad este problema es muy difícil de disminuir que la población consuma el polietileno y esto afecta a la contaminación del ambiente, ya que estudios realizados dicen que una

bolsa de baja densidad tarda en degradarse en más de 100 años a 400 años. (Timón, 2017, p.2).

Así mismo también la temperatura interviene en el período del gusano de cera negra, se difunde extensamente a nivel global, pero este gusano no se puede adaptar a temperaturas frías. Las larvas maduras del lepidóptero comienzan a multiplicarse en temperaturas cálidas y se dispersan en mayor tiempo de primavera, sin embargo, en diferentes ciudades alcanza a multiplicarse en todo el periodo del año. La larva principalmente sitúa sus huevos en lugares oscuros, con pocas entradas de aire, la larva prefiere buscar colmenas de abejas que estén deshabitado y con poca luz. (Marquina, R., y Carbajal, W, 2017, p.2)

El alimento, la temperatura y la humedad son los componentes primordiales que establecen la etapa biológica del gusano de cera negra. Su ambiente perfecto están a una temperatura cociente que se encuentra a 30°C y 35 °C, con una humedad pertinente del 75-85% con búsqueda de alimento y aireación. Si la humedad pertinente se encuentra en alto grado de su ambiente adecuado puede de que haya crecimientos de hongos que ocasionan la defunción del gusano de cera negra. (Rodríguez, 2015, p.21).

Así también la biodegradación es fijada por una diversidad de componentes que incluye el tipo de organismos, polímeros, y su naturaleza en procedimiento. El plástico se identifica por cristalinidad, sutacticidad y su cantidad molecular ya que son las características importantes del polímero para la biodegradación. (Díaz, Sierra y Pérez, 2018, p.5).

La biodegradación por microorganismos vivos tiene correlación a que estos seres producen una enzima biodegradadora de plástico de baja, media y alta densidad de su tracto digestivo. Esto ayuda en la actualidad a que el problema por la contaminación de plástico se pueda disminuir de una forma microbiana. (Revilla (como se citó en Frías, [ét al], 2003), p.15).

El autor nos comenta que los plásticos proceden de polímeros sintéticos obtenidos del aceite fósil y la mayor parte de estos son resistentes a la biodegradación, afirmando que el plástico aumentado de una forma exponencial en los últimos años

generando así un impacto negativo para el ambiente, por ello están buscando nuevas alternativas de solución para la degradación de plástico donde han realizado investigaciones con las larvas de *Galleria mellonella* siendo eficientes en la biodegradación del PE haciendo mención los autores comentan que la biodegradación de plásticos dependía de los microorganismos que estaban presentes dentro del intestino de la larva donde se identificaron dos tipos de bacterias *Bacillus* sp. YP1 y *Enterobacter asburiae* YT1. (Bombelli, Howe y Bertocchin 2017 p.2)

Así mismo el gusano de cera negra se han comprobado que tiene un mayor aumento de especies de levaduras y bacterias que se ubican en su aparato digestivo de estas larvas, manifestándose una gran cantidad de diferentes clases de estas levaduras (la más representativa es la *Saccharomyces*) la usan para la asimilación de hemicelulosa y xilosa del tracto digestivo del lepidóptero. (Galvis, Quiñones y Jiménez, 2009, p.108).

Los *Bacillus* sp. son microorganismos celulíticos que origina celulosa; estas alcanzan a tener un crecimiento en la familia de *Bacillus* sp que son sometidas a radiación ultravioleta, pero el autor en la investigación al momento de ser sometidas a radiación ultravioleta por tiempos la familia de *Bacillus* sp. iba reduciendo a los 10 minutos. (Gutiérrez, 2014, p.21).

La eficiencia es el esfuerzo de poder efectuar la cabida para cumplir convenientemente una actividad. (Revilla (como se citó en Cerda, 2010), p.15)

Además, la radiación ultravioleta es la desintegración del plástico de baja densidad de 1 a 3.300 cm que se origina del etilenglicol; se prevé que en la radiación alcanzan ser procedentes por una proteína en el espacio del plástico, esto se realiza gracias a la biodegradación del gusano de cera negra. (Cabra, 2015, p.1)

Para obtener una máxima eficiencia en mutaciones se utiliza los rayos ultravioletas (UV), la mutación de los insectos opera ablandando los tejidos se dice que es su medio favorito, Se comprobó que a una longitud de onda de 260 nanómetros tiene mayor eficiencia ya que en ese proceso los ácidos nucleicos tienen mayor absorción (Enríquez y Plaza (como se citó en Cubero, 2003), p.3).

Así mismo la radiación ultravioleta influye en su tiempo de muestra, modificando a los insectos su variabilidad genética, se confirmó los antecedentes de los autores donde se comenta que la irradiación o radiación (UV) son muy importantes para la obtención de resultados ya sea positivo o negativo. (Enríquez y Plaza ,2012, p.38)

En la actualidad existen normativas con relación al uso de bolsas plásticas donde los centros comerciales, tiendas, entre otras tienen la obligación de cumplirlas, pero existen mercados informales que no cumplen con esta normativa y es ahí donde se genera un problema ya que la población tiene a las bolsas plásticas como parte de su vida cotidiana por ello se busca nuevas alternativas de solución de una manera científica donde se trabajó con el mejoramiento genético por medio de radiación ultravioleta (UV). (Contreras, 2013, vol. 29, no 3, p.6)

En la actualidad se necesita trabajar más con la eliminación de plásticos debido a que representa un problema para el ambiente por lo que se encuentra grandes cantidades de plástico en el mundo sin darles un adecuado tratamiento. Por ello se cree conveniente trabajar con microorganismos que tienen la capacidad de biodegradar. Otra alternativa para la eliminación de plástico sería trabajar con plásticos naturales provenientes de fuentes animales y vegetales, con ello cuando termina su vida útil se daría un tratamiento con microorganismos bacterianos y aumentaría su eficiencia de biodegradación. (Journal of Applied & Environmental Microbiology. 2017, Vol. 5 No. 1 p.5)

III. METODOLOGÍA

3.1 Tipo y diseño de investigación

Tipo de investigación: La investigación es de tipo aplicada según Vargas (como se citó en Murillo, 2008), Nos comenta que está basada en conocimientos teóricos con evidencias, buscando resolver problemas de forma práctica o empírica de la vida cotidiana. (p.6). En nuestra investigación carece de antecedentes preliminares en relación a estudios de modificaciones con radiación ultravioleta (UV), de *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. aisladas del contenido intestinal de la larva *Galleria mellonella*, cuyos resultados obtenidos permitirá contribuir con el fortalecimiento de nuevas investigaciones en el futuro con otras cepas bacterianas en la tendencia de reducir el plástico de baja densidad.

Diseño de investigación: Este proyecto de investigación es de diseño experimental: experimental-puro ya que según Maldonado (2016), comenta que el investigador necesita manipular tan solo una variable para poder controlar el resto de dichas variables y así poder obtener el objetivo planteado en una investigación, así mismo dar una explicación a los resultados que genere los objetivos tanto general como específicos. (p.3); en nuestra investigación trabajamos con cepas de bacterias de los géneros

Enterobacter sp. y *Bacillus* sp. aisladas del contenido intestinal de *Galleria mellonella* se consideraron 1 cepa *Enterobacter* sp. y 3 cepas de *Bacillus* sp. con tres repeticiones las que fueron irradiadas con luz ultravioleta (UV) con una longitud de onda de 260 nm y un grupo control.

3.2. Variables y operacionalización

Variable dependiente: Eficiencia en la biodegradación de plástico.

Variable independiente: Efecto de la radiación ultravioleta (UV) en bacterias *Enterobacter* sp y *Bacillus* sp.

3.3. Población, muestra y muestreo

A. Población: Según Belloso (como se citó en Vargas 2007, p.162) la población es un estudio de un conjunto de individuos de una exploración u observación de una investigación, que nos permite llegar a los resultados del objeto de estudio.

En nuestro proyecto de investigación se trabajó con una población de dos géneros bacterianos *Enterobacter* sp. de la familia *Enterobacteriaceae* y *Bacillus* sp. de la familia *Bacillaceae* aislados del intestino de 10 larvas *Galleria mellonella*. Teniendo como característica de inclusión que las bacterias que se encuentran en el intestino de la *Galleria mellonella* en su etapa larvaria y como característica de exclusión los géneros bacterianos obtenidos del intestino estomacal de la larva.

B. Muestra: Según Belloso (como se citó en Vargas 2007, p.167) la muestra se determina como una alternativa de representación de la población que nos ayuda a proporcionar resultados del objeto de estudio. En nuestro proyecto de investigación se trata de una muestra no probabilística o dirigida de acuerdo a las características que se orienta la investigación.

Plástico: Se tomó una determinada cantidad de muestras de plástico comercial de baja densidad.

Se tomó 1 gramo de LPDE molido y se trabajó con 3 tiempos (30,60 y 90 segundos) de irradiación y un grupo control.

Bacterias: Del grupo de bacterias aisladas (33 cultivos) de las cuales se tomó una cepa de *Enterobacter* sp. y 3 cepas de *Bacillus* sp. las mismas que fueron sometidas a distintos tiempos (30,60 y 90 segundos) de exposición a la radiación ultravioleta.

C. Marco Muestral: El marco muestral fue el peso del plástico de baja densidad y dos géneros de cepas aisladas del intestino de *Galleria mellonella*.

D. Muestreo: Según Belloso (como se citó en Vargas 2007, p.164) el muestreo establece un conjunto de intervenciones que ejecutará el investigador para escoger la muestra que formará la investigación. En este proyecto de investigación trabajamos con un muestreo aleatorio simple ya que avala que todos los sujetos que forman la población de estudio tienen la misma posibilidad de ser comprendidos en la muestra. (Otzen y Manterola, 2017, p.7)

Para el manejo de las muestras relacionado con las cepas bacterianas de *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp., así como el Polietileno de baja densidad, se utilizaron los EPP de bioseguridad al momento de ingresar a laboratorio con la finalidad de no contaminar y cuantificar los cambios del Polietileno de baja densidad al tener contacto con las cepas bacterianas y así poder medir la eficiencia de biodegradación.

E. Unidad de Análisis: Se determinó qué tan eficiente es la biodegradación en el plástico, con el uso de la variable dependiente e independiente, aplicándose la siguiente fórmula:

$$\% \text{ pérdida} = (w \text{ inicial} - w \text{ final}) / w \text{ inicial} \times 100 \text{ (Kyaw et al., 2012)}$$

Se midió el tiempo y los resultados se obtuvieron en el momento que el plástico tuvo contacto con el tratamiento por un periodo de 28 días interrumpidos.

El peso inicial y final del polietileno de baja densidad, se calculó con el uso de una Balanza Analítica.

3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Técnicas:

La técnica que se aplicó en el presente estudio es de tipo cuantitativa y directa, por lo cual se realizaron cálculos de eficiencia en la biodegradación del plástico de baja densidad (PEBD) en relación al Peso Inicial (Pi) y Peso Final (Pf) del plástico, en contacto con *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. que se

sometieron a radiación ultravioleta aisladas del intestino de *Galleria mellonella*, al cual llamaremos “tratamiento”.

Instrumentos de recolección de Datos:

Los instrumentos que se utilizaron en el presente trabajo de investigación, son los siguientes:

Ficha de los pesos del polietileno de baja densidad: Se generó una matriz para la incorporación de los datos. En donde se registró los Pesos iniciales y Pesos finales, para el polietileno de baja densidad.

Ficha de la modificación con radiación ultravioleta: Se recolectaron los datos relacionados con los cambios macroscópicos y microscópicos relacionados con los cambios en la coloración de las colonias.

Ficha de eficiencias: Se generaron matrices para recolectar los datos de la degradación del polietileno de baja densidad sometidos a las cepas de *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. modificadas con radiación ultravioleta, considerando cinco repeticiones y los días transcurridos.

3.5 Procedimientos

3.5.1. Recolección de larvas de *Galleria mellonella*

Se procedió a recolectar larvas de *Galleria mellonella* de la zona apícola de Íllimo en el Caserío La Pintada en diferentes etapas de su ciclo biológico para su uso posterior en el desarrollo del proyecto.

Tabla 01. *Estimaciones de los pesos y tamaño de las larvas Galleria mellonella*

	Peso	Tamaño
1	1.1 gr	1.50 cm
2	0.1 gr	2.00 cm
3	0.2 gr	2.50 cm
4	0.2 gr	1.60 cm
5	0.2 gr	1.40 cm
6	0.1 gr	1.70 cm
7	0.1 gr	2.10 cm
8	0.1 gr	2.10 cm
9	0.2 gr	2.10 cm
10	0.1 gr	1.65 cm

Fuente: Elaboración propia

3.5.2. Invernadero

Las larvas recolectadas fueron alimentadas con miel de abeja, avena, polen y ricocan; según SENASA (2015) la alimentación a los primeros 8 días debe ser con polen para que puedan desarrollarse en buenas condiciones y sean fuertes; después que ha pasado esos días, los 30 días restantes que quedan se alimentan de una mezcla hecha de avena, ricocan y miel este compuesto tiene vitaminas, proteínas y minerales (vitamina C, vitamina B, vitamina E, calcio, hierro, potasio entre otros); porque en ese tiempo las larvas se están desarrollando y después siguen su ciclo biológico.(p.27) .

Las larvas se acondicionaron en pequeños invernaderos hechos a base de tápers a una temperatura de 30° C con la finalidad de que generen pupas y luego emerjan los adultos, los mismos que depositaron sus huevos y de estos salieron las larvas objeto del presente estudio.

Tabla 02. Alimentación de las larvas *Galleria mellonella*

	1 alimentación Postura (8 días)	2 alimentación Larva (15 días)	3 alimentación Larva (7 días)
Polen	200 gr	-	-
Ricocan	-	250 gr	250 gr
Miel	-	250 gr	250 gr
Avena	-	200 gr	200 gr

Fuente: Elaboración propia

3.5.3. Laboratorio

Primera etapa

Se sometieron las larvas a un estrés de comer plástico por un tiempo de 7 días hasta observar un daño significativo; posteriormente se desinfectaron las larvas en una solución de etanol de 75% en 5 ml por un tiempo de 20 segundos. (Yang, et al; 2014)

Las larvas fueron colocadas en una placa Petri donde se realizó la disección, utilizando estiletes en forma de agujas de insulina se procedió a realizar cortes ventrales y transversales desde la zona anal y la zona cefálica.

El contenido digestivo fue extraído cortando la región anterior y posterior del sistema intestinal con el fin de separarlo del resto del cuerpo de la larva. (Vasanthakumar et al., 2006; Vasanthakumar et al., 2008).

Finalmente se procedió a homogenizar el contenido intestinal en una placa Petri que contenía 1 ml de solución salina fisiológica estéril.

Luego se procedió a preparar el Agar Mc Conkey, Agar Nutritivo y adicional un medio de sales minerales que está compuesto por sulfato ferroso, sulfato de magnesio y otras sales ya que este compuesto no tiene bases de carbono, se procedió a pesar 15 gramos y 6.9 gramos de los mismos que fueron disueltos en 300 ml de agua destilada estéril, con ayuda de una cocina eléctrica se procedió a disolver los medios de cultivo, luego se enfrió a temperatura ambiente, posteriormente los medios de cultivo se esterilizaron usando la autoclave considerando la temperatura de 121° C una atmosfera de presión y 30 minutos de tiempo; finalmente los medios de cultivo Agar Mc Conkey y Agar Nutritivo fueron vertidos en dos placas Petri previamente esterilizadas para luego pasar por un control de calidad para su uso posterior.

El aislamiento bacteriano de la suspensión intestinal, fue con la ayuda del asa bacteriológica se procedió a sembrar en 3 placas Petri con 1 de Agar Mac Conkey, 1 de Agar Nutritivo y 1 del medio de sales minerales por la técnica del agotamiento por estría posteriormente se llevó a la estufa a una temperatura de 36° C por espacio medido gradualmente por 24, 48 y 72 horas.

La identificación macro y microscópica, fueron las colonias que crecieron en la parte superficial del Agar Mac Conkey y Agar Nutritivo con la ayuda de un estereoscopio se procedió a caracterizarlas en relación a su forma, color, aspecto, tamaño, etc. y estas colonias se pudieron observar al tercer día.

Para la identificación microscópica tomamos con el asa bacteriológica una parte de la colonia y lo extendimos en una lámina porta objetos para posteriormente realizarle la coloración Gram para luego ser llevadas al microscopio y observarlo con el objetivo de 1000x haciendo uso del aceite de inmersión donde se puede identificar la forma y la afinidad tintó real de la bacteria.

Segunda etapa

Se aplicó plástico de baja densidad de tipo PET (1 gramo por cada muestra), seguidamente se colocó una muestra de las bacterias identificadas en tubos de ensayo con 5ml del caldo salino y se procedió a irradiar por (30, 60, 90 segundos) y un grupo control respectivamente se utilizó una lámpara de luz ultravioleta (fluorescente marca OSRAM HNS FOR, de luz UV- C con longitud de onda de 260 nm) a 45 cm de distancia; teniendo en cuenta los tubos testigos sin irradiar con géneros bacterianos *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp.

Luego se procedió a incubar a una temperatura de 36°C por un periodo de 28 días con una agitación constante de 250 revoluciones por minuto con la ayuda de un shaker análogo, y cada 9 días se evaluó el crecimiento por la turbidez del medio.

Después de la identificación macro, microscópica y el tratamiento de irradiación hemos sembrado los cultivos puros con más eficiencia de biodegradación en viales con Agar TSA (Agar Soja Triptona). Así mismo se realizaron las pruebas bioquímicas para confirmar el género de las bacterias aisladas del intestino de *Galleria mellonella* se procedió a realizar las pruebas bioquímicas, Catalasa, Oxidasa, Agar TSI (Agar Triple Azúcar Hierro), Agar LIA (Agar Lisina Hierro), Agar Citrato de Simmons, Urea e Indol.

Tercera etapa

Después de pasar los 28 días se procedió a cortar en cuadros de 6x6 cm de papel filtro para depositar el contenido de los tubos que obtuvieron la mayor turbidez para así obtener un peso inicial y final para luego ser pesados, por un tiempo de 3 días hasta alcanzar un peso constante y ser evaluado; aplicando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ pérdida} = (w \text{ inicial} - w \text{ final}) / w \text{ inicial} \times 100 \text{ (Kyaw et al., 2012)}$$

3.6 Método de análisis de datos

En el siguiente proyecto de investigación la información generada en el laboratorio se recopiló y procesó con el uso de Microsoft Excel 2016 y SPSS Statistics 24, a fin de realizar los análisis estadísticos.

3.7 Aspectos éticos

En el siguiente proyecto de investigación se trabajó teniendo en cuenta los siguientes aspectos éticos:

- Tuvimos en cuenta el criterio de la guía detallada para la elaboración del proyecto de investigación cuantitativo.
- El respeto de autoría de las investigaciones científicas.
- El programa de anti plagio turnitin.
- Se tuvo ética y cuidado al momento de trabajar con la larva de *Galleria mellonella*.

IV. RESULTADOS

Se logró aislar los dos géneros bacterianos *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. del contenido intestinal de la larva *Galleria mellonella* mediante los medios de cultivo Agar Nutritivo y Agar Mac Conkey el cual es un medio selectivo y diferencial para el aislamiento y diferenciación, donde se observó un crecimiento de las colonias por 24, 48 y 72 horas. Confirmando que los medios de cultivo permiten el aislamiento de las bacterias *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. presentes en el intestino de la larva de *Galleria mellonella* que es la hipótesis alternativa.

Tabla 03. Crecimiento bacteriano en agar Agar Nutritivo y Agar Mac Conkey

Muestra	Medio	Tiempo/ Horas		
		24 h	48 h	72 h
Larva 1	Agar Nutritivo	+	++	+++
	Agar Mac conkey	-	+	++
Larva 2	Agar Nutritivo	++	+++	++++
	Agar Mac conkey	-	-	++
Larva 3	Agar Nutritivo	-	+	++
	Agar Mac conkey	+	++	+++
Larva 4	Agar Nutritivo	-	-	+
	Agar Mac conkey	+	++	+++
Larva 5	Agar Nutritivo	+	++	+++
	Agar Mac conkey	-	+	++
Larva 6	Agar Nutritivo	+	++	+++
	Agar Mac conkey	-	+	++
Larva 7	Agar Nutritivo	++	+++	+++
	Agar Mac conkey	-	-	+
Larva 8	Agar Nutritivo	-	+	++
	Agar Mac conkey	+	++	+++
Larva 9	Agar Nutritivo	+	++	+++
	Agar Mac conkey	-	-	+
Larva 10	Agar Nutritivo	+	++	+++
	Agar Mac conkey	-	+	++

Fuente: Elaboración propia

La tabla 3 muestra resultados de la siembra y aislamiento en medios selectivos y básico, donde el crecimiento de colonias se desarrolla casi de la misma manera; sin embargo, la diferencia estuvo evidenciada en la velocidad de crecimiento en cuanto el tiempo de incubación. Donde: (+) = bajo, (++) = moderado, (+++) = abundante y (++++) = muy abundante.

Se logró confirmar que los análisis macroscópico, microscópico y bioquímico si se puede identificar las bacterias *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. presentes en el contenido intestinal de las larvas de *Galleria mellonella* que es la hipótesis alternativa. Gracias al procedimiento de aislamiento de los géneros bacterianos. En los análisis anteriormente indicados se señaló que:

En el análisis Macro: Luego de la incubación y pasar los tiempos 24, 48 y 72 horas se escogieron los cultivos con características formofológicas propias de cada especie, color para la identificación macroscópica.

En este nivel de análisis se obtuvo la identificación de los rasgos y características de las colonias encontradas en los medios de Agar Nutritivo que tuvieron un color blanco, colonias rugosas e irregulares, y para Agar Mac Conkey que fueron reconocidas fácilmente ya que son colonias rosadas claras y rosadas intensas ya que esta identificación fue gracias a la observación a simple vista.

En el análisis Microscópico: En este análisis se realizó el método aleatorio para la elección de numerosas colonias de las familias existentes, empleando el procedimiento de Tinción Gram, seguidamente se logró la identificación de 33 cultivos bacterianos puros del contenido intestinal de la larva, a los cuales se le hicieron tinción gram. Logrando apreciar las características de los géneros bacterianos las cuales tienen una peculiaridad que poseen un color morado y un color rojizo.

Tabla 04. *Identificación de los cultivos bacterianos.*

	Cultivos Bacterianos	Tinción Gram	Catalasa
1	<i>Bacillus</i>	Gram (+)	(+)
2	<i>Bacillus</i>	Gram (+)	(+)
3	<i>Bacillus</i>	Gram (+)	(+)
4	<i>Cocos</i>	Gram (+)	(-)
5	<i>Bacillus Largos</i>	Gram (+)	(+)
6	<i>Cocos en Racimos</i>	Gram (+)	(+)
7	<i>Cocos Tetradas</i>	Gram (+)	(-)
8	<i>Bacillus</i>	Gram (+)	(+)
9	<i>Bacillus</i>	Gram (+)	(+)
10	<i>Bacillus</i>	Gram (-)	(-)
11	<i>Bacillus</i>	Gram (-)	(-)
12	<i>Bacillus</i>	Gram (-)	(-)
13	<i>Bacillus</i>	Gram (-)	(-)
14	<i>Bacillus</i>	Gram (-)	(-)
15	<i>Bacillus</i>	Gram (-)	(+)
16	<i>Bacillus</i>	Gram (+)	(+)
17	<i>Bacillus</i>	Gram (+)	(+)
18	<i>Bacillus</i>	Gram (+)	(+)
19	<i>Bacillus</i>	Gram (-)	(+)
20	<i>Bacillus</i>	Gram (-)	(-)
21	<i>Bacillus</i>	Gram (-)	(-)
22	<i>Bacillus</i>	Gram (-)	(-)
23	<i>Cocos</i>	Gram (+)	(+)
24	<i>Bacillus</i>	Gram (+)	(+)
25	<i>Bacillus</i>	Gram (+)	(+)
26	<i>Bacillus</i>	Gram (+)	(+)
27	<i>Bacillus</i>	Gram (+)	(+)
28	<i>Bacillus</i>	Gram (+)	(+)
29	<i>Bacillus</i>	Gram (-)	(-)
30	<i>Enterobacter</i>	Gram (-)	(+)
31	<i>Cocos</i>	Gram (+)	(+)
32	<i>Bacillus Largos</i>	Gram (+)	(+)
33	<i>Bacillus en Cadenas</i>	Gram (+)	(+)

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 4 nos muestra que existen 13 *Bacillus* gram positivos, 3 cocos gram positivos, 2 *Bacillus Largos* gram positivos, 1 *cocos en racimos* gram positivo, 1 *cocos tétradas* gram positivo, 11 *Bacillus* gram negativos, 1 *enterobacter* gram negativa y 1 *cocos cadenas* gram positivo.

En el análisis Bioquímico: En este análisis se efectuaron pruebas bioquímicas como el Agar Citrato de Simonns, Agar TSI (*Agar Triple Azúcar Hierro*), Agar LIA (*Agar Lisina Hierro*), Urea, Indol y el análisis de peróxido de hidrogeno (Agua Oxigenada), que son Oxidasa y Catalasa, con los cuales los resultados obtenidos se consiguió identificar el género *Enterobacter* sp en el contenido intestinal de larva *Galleria mellonella*. Para el género *Bacillus* sp se evaluó la tinción de Gram que arroja *Bacillus* Gram positivos, esporulados, móviles, con positividad en la prueba de catalasa positiva y crecimiento en aerobiosis positivo.

Tabla 05. Pruebas bioquímicas del género bacteriano *Enterobacter* sp.

Tinción Gram	Oxidasa	Catalasa	TSI	LIA	Citrato de Simons	Urea	Indol
-	-	+	+	+	+	-	-

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 5 nos muestra las pruebas bioquímicas de la *Enterobacter* sp. donde la oxidasa nos da negativo, la catalasa es positiva, TSI es positivo cuando en la superficie degradada la lactosa y la glucosa pero no degrada la sacarosa por eso se aprecia en la superficie amarillo y en el inferior es rojo con una producción de gas leve, LIA es positivo cuando cambia de un color lila a su indicador que es púrpura bromocresol, el Citrato de Simons es positivo cuando de color verde cambia a su indicador que es azul bromotimol, la prueba de urea es negativa al igual que el indol.

Se logró irradiar los 33 cultivos bacterianos con los 3 tiempos que son 30, 60 y 90 segundos; teniendo en cuenta el tiempo 0 que es el grupo control a una longitud de onda de 260 nm y a una distancia de 45 cm. Se procedió con adaptación gradual bacteriana que se acondicionaron en caldo medio mineral con 1 gramo de polietileno de baja densidad que fueron irradiadas a los tiempos. Observando el crecimiento por la turbidez del medio.

Tabla 06. *Cultivos bacterianos según la resistencia en todos los tiempos expuestos a la radiación ultravioleta (UV).*

Números de Cepa	Cultivos Bacterianos Seleccionados
Cepa N°5	<i>Bacillus</i> sp.
Cepa N°16	<i>Bacillus</i> sp.
Cepa N°20	<i>Bacillus</i> sp.
Cepa N°30	<i>Enterobacter</i> sp.

Fuente: Elaboración propia

Se logró comparar la biodegradación del plástico de *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. aisladas del intestino de larvas de *Galleria melonella* sometidas a la radiación ultravioleta (UV) con las cepas testigo.

La evaluación de la biodegradación del plástico por los cultivos identificado se logró apreciar la turbidez del medio y siendo evaluadas cada 9 días donde estos se mantuvieron en agitación constante para que haya un homogéneo crecimiento bacteriano.

En este objetivo se logró comparar la biodegradación del plástico, aplicando 1 gramo de plástico molido a los 33 cultivos identificados y su grupo control, en cada tiempo del tratamiento, teniendo como resultado de las bacterias irradiadas que 4 cepas mostraron mayor eficiencia en el tratamiento y donde el grupo testigo no mostro ningún cambio durante el proceso.

Concluido el periodo de 28 días en las siguientes tablas se pueden apreciar los siguientes resultados:

Tabla 07. Eficiencia de biodegradación de la cepa N°5_ *Bacillus sp*

<i>Bacillus sp. Cepa N° 5</i>	
Tiempo de exposición a la radiación ultravioleta (UV)	Eficiencias
T1= 0 seg.	0%
T2= 30 seg.	0%
T3= 60 seg.	2%
T4= 90 seg.	16%

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: Tras la evaluación del periodo de 28 días de la eficiencia de la biodegradación del plástico de baja densidad se pudo observar que en los tiempos de irradiación ultravioleta apreciamos que el tiempo 0 que es el grupo control y el tiempo 2 que es a una irradiación de 30 segundos da un 0% por ciento esto quiere decir que el género bacteriano no ha tenido eficiencia de biodegradación en esos tiempos, sin embargo en el tiempo 3 que es a una irradiación de 60 segundos si ha podido biodegradar el 2% del plástico y por último tenemos que el tiempo 4 que es a una irradiación de 90 segundos ha podido biodegradar el 16% de plástico esto quiere decir que el más eficiente ha sido el tiempo 4.

Tabla 08. Eficiencia de biodegradación. N°16_ *Bacillus sp.*

<i>Bacillus sp. Cepa N° 16</i>	
Tiempo de exposición a la radiación ultravioleta (UV)	Eficiencias
T1= 0 seg.	0%
T2= 30 seg.	0%
T3= 60 seg.	4%
T4= 90 seg.	17%

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: Tras la evaluación del periodo de 28 días de la eficiencia de la biodegradación del plástico de baja densidad se pudo observar que en los tiempos de irradiación ultravioleta apreciamos que el tiempo 0 que es el grupo control y el tiempo 2 que es a una irradiación de 30 segundos da un 0% por ciento esto quiere decir que el género bacteriano no ha tenido eficiencia de biodegradación en esos tiempos, sin embargo en el tiempo 3 que es a una irradiación de 60 segundos si ha podido biodegradar el 4% del plástico y por ultimo tenemos que el tiempo 4 que es a una irradiación de 90 segundos ha podido biodegradar el 17% de plástico esto quiere decir que el más eficiente ha sido el tiempo 4.

Tabla 09. *Eficiencia de biodegradación de la cepa N°20_ Bacillus sp.*

<i>Bacillus sp. Cepa N° 20</i>	
Tiempo de exposición a la radiación ultravioleta (UV)	Eficiencias
T1= 0 seg.	0%
T2= 30 seg.	2%
T3= 60 seg.	19%
T4= 90 seg.	25%

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: Tras la evaluación del periodo de 28 días de la eficiencia de la biodegradación del plástico de baja densidad se pudo observar que en los tiempos de irradiación ultravioleta apreciamos que el tiempo 0 que es el grupo control da un 0% por ciento esto quiere decir que el género bacteriano no ha tenido eficiencia de biodegradación en ese tiempo, sin embargo, en el tiempo 2 que es a una irradiación de 30 segundos ha podido biodegradar un 2% de plástico; así mismo el tiempo 3 que es a una irradiación de 60 segundos si ha podido biodegradar el 19% del plástico y por último tenemos que el tiempo 4 que es a una irradiación de 90 segundos ha podido biodegradar el 25% de plástico esto quiere decir que el más eficiente ha sido el tiempo 4.

Tabla 10. Eficiencia de biodegradación de la cepa N°30_ *Enterobacter sp.*

Enterobacter sp. Cepa N° 30	
Tiempo de exposición a la radiación ultravioleta (UV)	Eficiencias
T1= 0 seg.	0%
T2= 30 seg.	14%
T3= 60 seg.	8%
T4= 90 seg.	0%

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: Tras la evaluación del periodo de 28 días de la eficiencia de la biodegradación del plástico de baja densidad se pudo observar que en los tiempos de irradiación ultravioleta apreciamos que el tiempo 0 que es el grupo control y el tiempo 4 que es a una irradiación de 90 segundos da un 0% por ciento esto quiere decir que el género bacteriano no ha tenido eficiencia de biodegradación en esos tiempos, sin embargo en el tiempo 2 que es a una irradiación de 30 segundos si ha podido biodegradar el 14% del plástico y por ultimo tenemos que el tiempo 3 que es a una irradiación de 60 segundos ha podido biodegradar el 8% de plástico esto quiere decir que el más eficiente ha sido el tiempo 2.

Tabla 11. Pruebas de efectos inter-sujetos en el Programa SPSS.

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: Eficiencias					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	125,688 ^a	3	41,896	,516	,679
Intersección tiempos uv x eficiencia	715,563	1	715,563	8,818	,012
Error	125,688	3	41,896	,516	,679
Total	973,750	12	81,146		
Total, corregido	1815,000	16			
Total, corregido	1099,438	15			

a. R al cuadrado = ,114 (R al cuadrado ajustada = -,107)

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: En la tabla N°11 podemos observar el tiempo irradiado y la eficiencia de degradación de plástico de baja densidad, donde el programa nos arroja que la significancia es de 0.012 esto quiere decir que es significativa y donde la prueba F sale con un rango significativo, aquí tratamos que los datos obtenidos en la investigación y procesados en el programa spss nos arroja que los datos si están adecuados significativamente para tener un peso de investigación.

V. DISCUSIÓN

En la investigación de YANG Jun, YANG Yu, WU Wei-Min, ZHAO Jiao y JIANG Lei (2014, p.1) en la siguiente investigación el autor evidencia que en el aislamiento a utilizado el Agar Nutritivo, Agar Mac Conkey y un medio de sales minerales donde se pudo observar el creciente de poblaciones bacterianas en los primeros tres días y en los tres medios anteriormente mencionados.

Los resultados obtenidos en nuestra investigación indica que la siembra en medios de cultivos selectivos y medios generales a una temperatura de incubación 37°C, y aun tiempo prolongados, evidencian que a partir del tercer día las poblaciones bacterianas han tenido un crecimiento favorable donde solamente se pudo observar el creciente de las bacterias *Enterobacter* sp. Y *Bacillus* sp. en Agar Nutritivo y Agar Mac Conkey mas no en el medio de sales minerales como pudo obtener el autor citado.

YANG Jun, YANG Yu, WU Wei-Min, ZHAO Jiao y JIANG Lei (2014, p.1) en su investigación nos dice que sometieron a las bacterias que fueron aisladas de la larva de polilla de la harina de la india a un pretratamiento de degradación de plástico de baja densidad en 2 días para luego extraerle el líquido intestinal y así poder aislar los géneros bacterianos y ponerlos a un tratamiento con medios de cultivos dejándolos con un periodo de prolongación de 60 días de tratamiento, teniendo como resultado que su mayor porcentaje de degradación fue de 0.3 % de una muestra de 100 mg.

En nuestra investigación los microorganismos que fueron encontrados en su medio natural de la larva *Galleria mellonella*, poco a poco se adaptaron a las condiciones de laboratorio donde estas tuvieron un pretamiento de 7 días a consumir plástico de baja densidad, otorgando así una adaptabilidad para la elección de cepas bacterianas para luego ser sometidas a un tratamiento de irradiación e incubación por 28 días donde se obtuvo un mayor porcentaje de biodegradación con la cepa N° 20 *Bacillus* sp. con un porcentaje de 25 % de un 1 gramo.

(Gutiérrez, 2014, p.21). en su investigación utiliza el parámetro físico que es la radiación ultravioleta en bacterias *Bacillus* sp. son microorganismos celulíticos que origina celulosa; estas alcanzan a tener un crecimiento en la familia de *Bacillus* sp que son sometidas a radiación ultravioleta a una distancia de 44 cm en seis tiempos (10, 20, 30, 40, 50 y 60 segundos), donde el autor determino que el tiempo más eficiente para trabajar con radiación ultravioleta es de 40 segundos obteniendo un 0.1 % de efectividad.

En nuestra investigación también se utilizó el parámetro físico que es la radiación ultravioleta dándole unos tiempos diferentes de (30, 60 y 90 segundos), con un distanciamiento de 45 cm y 260 nm de longitud de onda. Teniendo como resultado que el tiempo de irradiación más eficiente fue de 90 segundos con una efectividad de 25 % de biodegradación.

Así mismo CCALLO Magali y SACACA Franklin (como se citó en Speight, 2011, p.5) nos reitera que es su investigación la biodegradación es una modificación de su estructura tanto química como física de los polímeros de baja densidad esto causa que sus cadenas que los componen se rompan y pierdan sus enlaces que los forman.

En nuestra investigación la biodegradación es un proceso metabólico porque hemos utilizado encima de microorganismos que se encontraban dentro del intestino de la larva *Galleria mellonella*, estas encima secretadas tienden a romper estructuras grandes que en este caso la estructura del plástico de baja densidad reduciéndola (degradándola) causando que en el tiempo del tratamiento esta pierda peso debido a que su estructura va perdiendo enlaces.

Los resultados obtenidos en esta investigación arrojan que la degradación a exposiciones prolongadas de (30, 60 y 90 segundos) sobre estos microorganismos arroja tanto porcentaje de degradación en 28 días.

VI. CONCLUSIONES

1. Se logró el aislamiento en medios de cultivo de las bacterias *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. presentes del contenido intestinal de la larva *Galleria mellonella*, por medio de cultivos Agar Mc Conkey, Agar Nutritivo y medio de sales minerales, ya que se observó el crecimiento de microorganismos dentro de los tres primeros días, los cuales fueron identificados de acuerdo a sus análisis.
2. Mediante el análisis macroscópico, microscópico y bioquímicos de los microorganismos, se identificó 33 cultivos de géneros bacterianos puros presentes en el líquido intestinal de la larva *Galleria mellonella* donde 1 cultivo bacteriano de *Enterobacter* sp. y 3 cultivos bacterianos de *Bacillus* sp. aislados del contenido intestinal de larva *Galleria mellonella*.
3. Se logró realizar la irradiación ultravioleta a los 33 cultivos bacterianos que se encontraban dentro del contenido intestinal de la larva *Galleria mellonella*, teniendo en cuenta los diferentes tiempos de irradiación de 30, 60 y 90 segundos, con una distancia de 45 cm y una longitud de onda de 260 nm, previamente se le aplicó 1 gramo de plástico pet molido a cada cultivo irradiado.
4. Se comparó la eficiencia de biodegradación de plástico utilizando la fórmula de la eficiencia de degradación donde de los 33 cultivos puros irradiados, 3 cultivos bacterianos fueron de especie *Bacillus* sp. y 1 de *Enterobacter* sp. Donde se demostró la biodegradación de plástico de baja densidad de tipo PET, siendo la más eficiente la cepa N°20_ *Bacillus* sp. con una eficiencia de degradación de 25% del plástico de baja densidad, donde el grupo control no se mostró ningún cambio de biodegradación.

VII. RECOMENDACIONES

- 1.** En relación a la ejecución del proyecto se tomaron algunas medidas de seguridad en laboratorio ya que cuando se trabaja con bacterias que serán aisladas de algún insecto, larva, etc. Estos microorganismos pueden contaminarse con el ambiente y crecerán otros géneros bacterianos no deseados.
- 2.** En la etapa irradiación se debe tener cuidado y contar con un ambiente apropiado con sus medidas de seguridad, tratando de no expandir estas radiaciones, por ello se debe ventilar adecuadamente el área donde se ha trabajado con el UV.
- 3.** Es recomendable realizar análisis genético a las bacterias para poder observar cuál es su estructura molecular para ver cuál es gen que produce estas enzimas y poder así generar una recombinación genética.
- 4.** Utilizar un pretratamiento físico o químico que favorezca la oxidación y ruptura de las cadenas poliméricas del plástico de baja densidad así facilitara que la degradación bacteriana sea más efectiva.
- 5.** Se debe determinar o aislar las enzimas de estos microorganismos que permiten degradar el polietileno de baja densidad.
- 6.** Seguir esta investigación con los otros 29 cultivos puros que también pueden generar degradación de plástico o unirlos mediante consorcios para así potenciar su capacidad biodegradadora.

REFERENCIAS

ARISTIZÁBAL Javier. Improved cook stoves and fuelwood lots: an alternative of fuel self-supply for small farmers dependent of oak forests in the Colombia eastern cordillera [en línea]. Diciembre del 2010 [fecha de consulta: 10 de abril de 2020].

Disponible en:

<http://www.scielo.org.co/pdf/cofo/v13n2/v13n2a06.pdf>

ALSHEHREI Fatimah. Biodegradation of Synthetic and Natural Plastic by Microorganisms, [en línea]. 2017, Vol. 5 No. 1, 8-19, [fecha de consulta: 11 de abril de 2020].

Disponible en: <http://www.sciepub.com/reference/189521>

AMBIDES y ORGANIZACIÓN PARA EL DESARROLLO SOSTENIBLE. Plan Integral de Gestión Ambiental de Residuos Sólidos de la Provincia de Chiclayo, Departamento de Lambayeque – 2012 [en línea]. Chiclayo 2012 [fecha de consulta: 10 de abril de 2020].

Disponible en:

<https://www.munichiclayo.gob.pe/Documentos/PIGARSchiclayo.pdf>

AMPARO Gloria. Conflictos ambientales amenazan la salud de la población y la biodiversidad del planeta [en línea]. Diciembre 2007 [fecha de consulta: 10 de abril de 2020].

Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/851/85102813.pdf>

ISSN: 0121-8697

BANCO MUNDIAL. Los desechos a nivel mundial crecerán un 70 % para 2050, a menos que se adopten medidas urgentes [en línea]. Washington: 2018 [fecha de consulta: 12 de abril de 2020].

Disponible en:

<https://www.bancomundial.org/es/news/press-release/2018/09/20/global-waste-to-grow-by-70-percent-by-2050-unless-urgent-action-is-taken-world-bank-report>

BORREGO Alonso y GARCÍA Miniet. Comportamiento de la concentración microbiana aérea en la Fototeca del Archivo Nacional de Cuba [en línea]. Agosto 2011 no.2 [fecha de consulta: 10 de abril de 2020].

Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1812/181222256001.pdf>

ISSN: 0253-5688

BOMBELLI Paolo, HOWE Christopher y BEROCCHIN Federica. Polyethylene biodegradation by caterpillars of the wax moth *Galleria mellonella*, [en línea]. Abril 2017 [fecha de consulta: 11 de abril de 2020].

Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960982217302312>

[Journal of Applied & Environmental Microbiology. Biodegradation of Synthetic and Natural Plastic by Microorganisms](#)

BUTRON Sandra. Capacidad de biodegradación de *Pseudomonas aeruginosa* frente al polietileno de baja densidad. [en línea]. 2020, Universidad Nacional del Altiplano. [fecha de consulta: 01 de noviembre de 2020].

Disponible en:

http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/13475/Sandra_Beatriz_Butron_Pinazo.pdf?sequence=1&isAllowed=y

CRUZ Blanca. Actividad para reflexionar sobre los desechos sólidos. Envases plásticos (PET) [en línea]. Abril 2011 [fecha de consulta: 12 de abril de 2020].

Disponible en:

<https://www.eventos.cch.unam.mx/congresosimposioestrategias/memorias/13Simposio/archivos/2011%20comp%20sim%2064.pdf>

DÍAZ Ivonne, SIERRA César y PEREZ León. Desarrollo de vectores génicos basados en polímeros sintéticos: PEI y PDMAEMA [en línea]. Enero 2018 no. 3 [fecha de consulta: 10 de abril de 2020].

Disponible en:

<https://revistas.unal.edu.co/index.php/rccquifa/article/view/77370>

ISSN: 1909-6356

DOMÍNGUEZ María. La contaminación ambiental, un tema con compromiso social [en línea]. Junio 2015 no.1 [fecha de consulta: 10 de abril de 2020].

Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/pml/v10n1/v10n1a01.pdf>

ISSN: 1909-0455

RODOLFO Elías. Mar del plástico: una revisión de los problemas del plástico en el mar [en línea]. Enero 2015 [fecha de consulta: 10 de abril de 2020].

Disponible en:

https://www.researchgate.net/profile/Rodolfo_Elias/publication/313468624_Mar_d_el_plastico_una_revision_de_los_problemas_del_plastico_en_el_mar/links/589b3328458515e5f4546a7e/Mar-del-plastico-una-revision-de-los-problemas-del-plastico-en-el-mar.pdf

RODRIGUEZ Luis, Ciclo biológico de *Galleria mellonella* Linnaeus (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) Trujillo: Universidad Nacional Agraria la Molina, 2015

Disponible en: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/2107>

Evaluación y Gestión Ambiental - Evagam S. A. C. Sexto informe nacional de residuos sólidos de la gestión del ámbito municipal y no municipal 2013 [en línea]. Lima 2014 [fecha de consulta: 12 de abril de 2020].

Disponible en: <https://redrrss.minam.gob.pe/material/20160328155703.pdf>

GALVIS Juan, QUIÑONES Roberto y JIMÉNEZ Pedro. Aislamiento de microorganismos del tracto digestivo de larvas de coleópteros y lepidópteros detritívoros y evaluación in vitro, de su efecto antagónico en una cepa de *Fusarium oxysporum*. [en línea]. Octubre 2009 no.1 [fecha de consulta: 10 de abril de 2020].

Disponible en:

<https://revistas.unimilitar.edu.co/index.php/rfcb/article/view/2124/1663>

ISSN: 1900-4699

GARRIDO Nicolas. Manual básico del uso de autoclaves [en línea]. Abril 2015 [fecha de consulta: 10 de abril de 2020].

Disponible en:

<http://sb.uta.cl/libros/Apuntes%20ba%CC%81sico%20de%20uso%20de%20autoclave.pdf>

GUTIERREZ Evelin. Efecto de la radiación ultravioleta sobre el crecimiento de *Bacillus* sp. Productor de celulosa Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo, 2014

Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/4095>

HERNÁNDEZ César. La oruga 'comeplástico' que ayudará a salvar el medioambiente [en línea]. Abril 2017 [fecha de consulta: 10 de abril de 2020].

Disponible en:

<http://ayp.cinvestav.mx/Publicaciones/ArtMID/4126/ArticleID/1113/La-oruga-%E2%80%98comepl225stico%E2%80%99-que-ayudar225-a-salvar-el-medioambiente>

INCYTU. Plásticos en los océanos [en línea]. Chiclayo 2019 [fecha de consulta: 10 de abril de 2020].

Disponible en:

https://foroconsultivo.org.mx/INCYTU/documentos/Completa/INCYTU_19-034.pdf

KYAW Bhone, CHAMPAKALAKSHMI Ravi, SAKHARKAR Meena, LIM Sing y SAKHARKAR Kishore R. Biodegradation of Low Density Polythene (LDPE) by

Pseudomonas Species, [en línea]. 2012, Indian J Microbiol, 411–419, [fecha de consulta: 30 de noviembre de 2020].

Disponible en:

https://www.researchgate.net/publication/256333834_Biodegradation_of_Low_Density_Polythene_LDPE_by_Pseudomonas_Species

MARQUINA Robert, Efecto de la temperatura en el ciclo de desarrollo de *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera. Pyralidae) Tesis (Título profesional) Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo, 2016

Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/8841>

OTZEN Tamara y MANTEROLA Carlos. Técnicas de muestreo sobre una población a estudio. [En línea]. Marzo 2017 vol.35 no.1 Temuco [fecha de consulta: 10 de julio de 2020].

Disponible en https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95022017000100037

ISSN: 0717-9502

PARRA Jeniree y LA MADRIZ Jenniz. Budget as an instrument of control in small family businesses financial [en línea]. Abril 2017 [fecha de consulta: 10 de abril de 2020].

Disponible en:

<http://www.revistanegotium.org/pdf/38/art3.pdf>

ISSN: 1856-1810

RABELL María; VÁZQUEZ Alethia; ESPINOSA Rosa María; BELTRÁN Margarita; OSADA Miriam y GONZÁLEZ Jorge. Propuesta metodológica para la evaluación de la degradabilidad de plásticos mediante composteo [en línea]. Enero 2013 no. 3 [fecha de consulta: 10 de abril de 2020].

Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/370/37029665015.pdf>

ISSN: 0188-4999

REVILLA Sandra, Eficiencia del homogenizado proveniente del tracto digestivo de la *Galleria mellonella* en la biodegradación de dos tipos de polietileno de baja densidad, Lima - 2018 Tesis (Título profesional) Lima: Universidad César Vallejo, 2018

Disponible en:

<http://repositorio.ucv.edu.pe/handle/UCV/20217?locale-attribute=es>

SANCHEZ Rita y OLIVA Ninfa. History of the microscope and its repercussion on Microbiology [en línea]. Agosto 2015 vol.15 no.2 [fecha de consulta: 10 de abril de 2020].

Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-81202015000200010

ISSN 1727-8120

SENASA. Producción de Insectos Beneficios [en línea]. 2015. [fecha de consulta: 10 de octubre de 2020].

Disponible en:

<https://www.senasa.gob.pe/senasa/descargasarchivos/2017/09/Gu%C3%ADa-Pr%C3%A1ctica-producci%C3%B3n-Insectos-Ben%C3%A9ficos.pdf>

TOLEDO, Claudia. Un gusano como alternativa para el manejo de desechos plásticos Revista Análisis de la Realidad Nacional, 7(150), 97-104 (2018) [en línea]. Octubre 2018 [fecha de consulta: 10 de abril de 2020].

Disponible en:

https://www.researchgate.net/publication/340223392_Un_gusano_como_alternativa_para_el_manejo_de_desechos_plasticos_Revista_Analisis_de_la_Realidad_Nacional_7150_97-104_2018

URIBE Diego; GERALDO Daniel; GUTIÉRREZ Susana y MERINO Fernando. Biodegradation of low-density polyethylene by the action of a microbial consortium isolated from a landfill, Lima, Peru [en línea]. Abril 2010 no.1 [fecha de consulta: 10 de abril de 2020].

Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1727-9932010000100017&script=sci_arttext&tlng=en

ISSN: 1727-9933

VÁZQUEZ Covadonga, MARTÍN Ana, SILONIZ Isabel y SERRANO Susana. Técnicas básicas de Microbiología. Observación de bacterias. [en línea]. 2011, Universidad Complutense, Reduca (Biología), Vol. 3, Núm. 5. 15-38, [fecha de consulta: 30 de noviembre de 2020].

Disponible en:

<http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/view/819/834>

ISSN: 1989-3620

VELASCO Miguel, Biodegradación del polietileno de baja densidad, mediante el uso del lepidóptero *Gallería mellonella* bajo condiciones térmicas controladas en el 2017 Tesis (Título profesional) Lima: Universidad César Vallejo, 2017

Disponible en: <http://repositorio.ucv.edu.pe/handle/UCV/12614>

YANG Jun, YANG Yu, WU Wei-Min, ZHAO Jiao y JIANG Lei. Evidence of Polyethylene Biodegradation by Bacterial Strains from the Guts of Plastic-Eating Waxworms, [en línea]. 2014, Environ. Sci. Technol, 48, 13776–13784, [fecha de consulta: 30 de noviembre de 2020].

Disponible en:

<https://doi.org/10.1021/es504038a>

ANEXOS

Anexo 01. Matriz de operacionalización de variables

Eficiencia en la biodegradación de plástico con radiación ultravioleta (UV) en bacterias *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. aisladas de la larva *Galleria mellonella*.

Variables	Definición Conceptual	Definición Operacional	Dimensiones	Indicador	Unidades	Fuente de Verificación
Biodegradación de plástico de baja densidad.	La biodegradación es una clase de degradación relacionada con un ataque microbiano ya que ellos originan una diversidad de enzimas que pueden degradar plástico de baja densidad. (FRÍAS, [ét al], 2003, p.79)	La biodegradación de plástico se da mediante pruebas gravimétricas para estimar el peso del plástico antes y después del tratamiento.	Tiempo	Tiempo de Biodegradación	Días	Cronómetro
			Cantidad	Cantidad de plástico	Gramos	Balanza
Bacterias <i>Enterobacter</i> sp. y <i>Bacillus</i> sp. sometidas a radiación ultravioleta (UV)	Trabajar con rayos ultravioleta (UV) genera una máxima eficiencia en la creación de mutaciones. La mutación de los insectos opera ablandando los tejidos se dice que es su medio favorito. Se comprobó que a una longitud de onda de 260 nanómetros tiene mayor eficiencia ya que en ese proceso los ácidos nucleicos tienen mayor absorción. (Enríquez y Plaza ,2012, p.38)	La modificación genética de las bacterias aisladas de larvas <i>Galleria mellonella</i> por radiación ultravioleta se dará a una longitud de onda de 260 nanómetros con tres con un tiempo de 30, 60 y 90 segundos.	Bacterias irradiadas Bacterias no irradiadas	Intensidad de radiación	Rad	Lámpara de UV

Fuente: Elaboración propia

Anexo 02. Instrumento de recolección de datos

Estimaciones de los pesos iniciales y finales de las muestras de PEBD biodegradadas por *Bacillus* sp sometidas a radiación ultravioleta

Nombre:		N° Registro:			Fecha de inicio: 26/10/2020	
Lugar: Laboratorio de investigación biotecnología microbiana_UNPRG					Fecha de fin: 28/11/2020	
Cepa bacteriana: <i>Bacillus</i> sp. Cepa N°5						
Tiempo de exposición a la radiación ultravioleta	T1= 0 seg	T2= 30 seg	T3= 60 seg	T4= 90 seg	Tipo de PEBD:	Bolsas Plásticas/Film
Cálculo de Eficiencia						
Tiempo de exposición a la radiación ultravioleta (uv)	Peso Inicial			Peso Final		
T1	1 gr.			1 gr.		
T2	1 gr.			1 gr.		
T3	1 gr.			0.98 gr.		
T4	1 gr.			0.84 gr.		

Fuente: Elaboración propia.

Estimaciones de los pesos iniciales y finales de las muestras de PEBD biodegradadas por *Bacillus* sp. sometidas a radiación ultravioleta

Nombre:		N° Registro:			Fecha de inicio: 26/10/2020	
Lugar: Laboratorio de investigación biotecnología microbiana_UNPRG					Fecha de fin: 28/11/2020	
Cepa bacteriana: <i>Bacillus</i> sp. Cepa N°16						
Tiempo de exposición a la radiación ultravioleta	T1= 0 seg	T2= 30 seg	T3= 60 seg	T4= 90 seg	Tipo de PEBD:	Bolsas Plásticas/Film
Cálculo de Eficiencia						
Tiempo de exposición a la radiación ultravioleta (uv)	Peso Inicial			Peso Final		
T1	1 gr.			1 gr.		
T2	1 gr.			1 gr.		
T3	1 gr.			0.96 gr.		
T4	1 gr.			0.83 gr.		

Fuente: Elaboración propia.

Estimaciones de los pesos iniciales y finales de las muestras de PEBD biodegradadas por *Bacillus* sp. sometidas a radiación ultravioleta

Nombre:		N° Registro:			Fecha de inicio: 26/10/2020	
Lugar: Laboratorio de investigación biotecnología microbiana_UNPRG					Fecha de fin: 28/11/2020	
Cepa bacteriana: <i>Bacillus</i> sp. Cepa N°20						
Tiempo de exposición a la radiación ultravioleta	T1= 0 seg	T2= 30 seg	T3= 60 seg	T4= 90 seg	Tipo de PEBD:	Bolsas Plásticas/Film
Cálculo de Eficiencia						
Tiempo de exposición a la radiación ultravioleta (uv)	Peso Inicial			Peso Final		
T1	1 gr.			1 gr.		
T2	1 gr.			0.98 gr.		
T3	1 gr.			0.81 gr.		
T4	1 gr.			0.75 gr		

Fuente: Elaboración propia.

Estimaciones de los pesos iniciales y finales de las muestras de PEBD biodegradadas por *Enterobacter* sp. sometidas a radiación ultravioleta

Nombre:		N° Registro:			Fecha de inicio: 26/10/2020	
Lugar: Laboratorio de investigación biotecnología microbiana_UNPRG					Fecha de fin: 28/11/2020	
Cepa bacteriana: <i>Enterobacter</i> sp. Cepa N°30						
Tiempo de exposición a la radiación ultravioleta	T1= 0 seg.	T2= 30 seg.	T3= 60 seg.	T4= 90 seg.	Tipo de PEBD:	Bolsas Plásticas/Film
Cálculo de Eficiencia						
Tiempo de exposición a la radiación ultravioleta (uv)	Peso Inicial			Peso Final		
T1	1 gr.			1 gr.		
T2	1 gr.			0.86 gr.		
T3	1 gr.			0.92 gr.		
T4	1 gr.			1 gr.		

Fuente: Elaboración propia.

Eficiencia de la biodegradación del PEBD por Bacillus sp.

Nombre:		N° Registro:			Fecha de inicio: 26/10/2020	
Lugar: Laboratorio de investigación biotecnología microbiana_UNPRG					Fecha de fin: 28/11/2020	
Cepa bacteriana: <i>Bacillus</i> sp. Cepa N° 5						
Tiempo de exposición a la radiación ultravioleta	T1= 0 seg	T2= 30 seg	T3= 60 seg	T4= 90 seg	Tipo de PEBD:	Bolsas Plásticas/Film
Cálculo de Eficiencia						
Tiempo de exposición a la radiación ultravioleta (uv)	$\%p\acute{e}rdida = (W_{inicial} - W_{final}) / W_{inicial} \times 100$					
T1	0%					
T2	0%					
T3	2%					
T4	16%					

Fuente: Elaboración propia.

Eficiencia de la biodegradación del PEBD por *Bacillus sp*

Nombre:		N° Registro:			Fecha de inicio: 26/10/2020	
Lugar: Laboratorio de investigación biotecnología microbiana_UNPRG					Fecha de fin: 28/11/2020	
Cepa bacteriana: <i>Bacillus sp.</i> Cepa N° 16						
Tiempo de exposición a la radiación ultravioleta	T1= 0 seg	T2= 30 seg	T3= 60 seg	T4= 90 seg	Tipo de PEBD:	Bolsas Plásticas/Film
Cálculo de Eficiencia						
Tiempo de exposición a la radiación ultravioleta (uv)	$\%p\acute{e}rdida = (W_{inicial} - W_{final}) / W_{inicial} \times 100$					
T1	0%					
T2	0%					
T3	4%					
T4	17%					

Fuente: Elaboración propia.

Eficiencia de la biodegradación del PEBD por *Bacillus sp*

Nombre:		N° Registro:			Fecha de inicio: 26/10/2020	
Lugar: Laboratorio de investigación biotecnología microbiana_UNPRG					Fecha de fin: 28/11/2020	
Cepa bacteriana: <i>Bacillus sp.</i> Cepa N° 20						
Tiempo de exposición a la radiación ultravioleta	T1= 0 seg	T2= 30 seg	T3= 60 seg	T4= 90 seg	Tipo de PEBD:	Bolsas Plásticas/Film
Cálculo de Eficiencia						
Tiempo de exposición a la radiación ultravioleta (uv)	$\%p\acute{e}rdida = (W_{inicial} - W_{final}) / W_{inicial} \times 100$					
T1	0%					
T2	2%					
T3	19%					
T4	25%					

Fuente: Elaboración propia.

Eficiencia de la biodegradación del PEBD por *Enterobacter sp.*

Nombre:		N° Registro:			Fecha de inicio: 26/10/2020	
Lugar: Laboratorio de investigación biotecnología microbiana_UNPRG					Fecha de fin: 28/11/2020	
Cepa bacteriana: <i>Enterobacter sp.</i> Cepa N° 30						
Tiempo de exposición a la radiación ultravioleta	T1= 0 seg	T2= 30 seg	T3= 60 seg	T4= 90 seg	Tipo de PEBD:	Bolsas Plásticas/Film
Cálculo de Eficiencia						
Tiempo de exposición a la radiación ultravioleta (uv)	$\%p\acute{e}rdida = (W_{inicial} - W_{final}) / W_{inicial} \times 100$					
T1	0%					
T2	14%					
T3	8%					
T4	0%					

Fuente: Elaboración propia.

Anexo 03. Constancia de resultados



UNIVERSIDAD NACIONAL
PEDRO RUIZ GALLO

“AÑO DE LA UNIVERSALIZACIÓN DE LA SALUD”

CONSTANCIA

EL QUE SUSCRIBE, LIC. GABRIEL ESTEBAN ZUÑIGA VALDERA, ASISTENTE DEL LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN BIOTECNOLOGÍA MICROBIANA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO, DEL DEPARTAMENTO DE LAMBAYEQUE.

HACE CONSTAR:

Que las señoritas KAREN ANTONELLA PRADA VELIZ, identificada con DNI N° 74160285 y DEYSI NATALIC ROJAS LLAMO, identificada con DNI N° 76002533; alumnas de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental/Escuela de pregrado del X ciclo de la UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO filial Chiclayo, ha ejecutado la parte experimental de su proyecto de tesis titulado **“Eficiencia en la biodegradación de plástico de baja densidad por *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. aisladas de la larva *Galleria mellonella* sometidas a radiación ultravioleta (UV)”**, desde el 20 de Septiembre hasta 1 de Diciembre del presente año, cumpliendo eficientemente su proceso de experimento según su cronograma presentado, así mismo debo constatar que los resultados de su proyecto de investigación fueron positivos y efectivos.

Se expide el presente documento para fines por conveniente, a solicitud escrita de las interesadas para corroborar sus resultados y cumpliendo que su proyecto de investigación es efectivo.

Lambayeque 04 de Diciembre del 2020.

Lic. Zuñiga Valdera, Gabriel Esteban

Biólogo Microbiólogo – Parasitólogo

CBP:15305

Anexo 04. Registro fotográfico



Recolección de larvas.

Fuente: Elaboración propia



Alimentación de larvas.

Fuente: Elaboración propia



Selección de larvas a trabajar

Fuente: Elaboración propia



Medición y peso de las larvas.

Fuente: Elaboración propia



Esterilización de materiales.

Fuente: Elaboración propia



Preparación de Agar Mac Conkey y Agar Nutritivo.

Fuente: Elaboración propia



Medición de pH de Agar Mac Conkey y Agar Nutritivo.

Fuente: Elaboración propia



Disección de Larvas.

Fuente: Elaboración propia



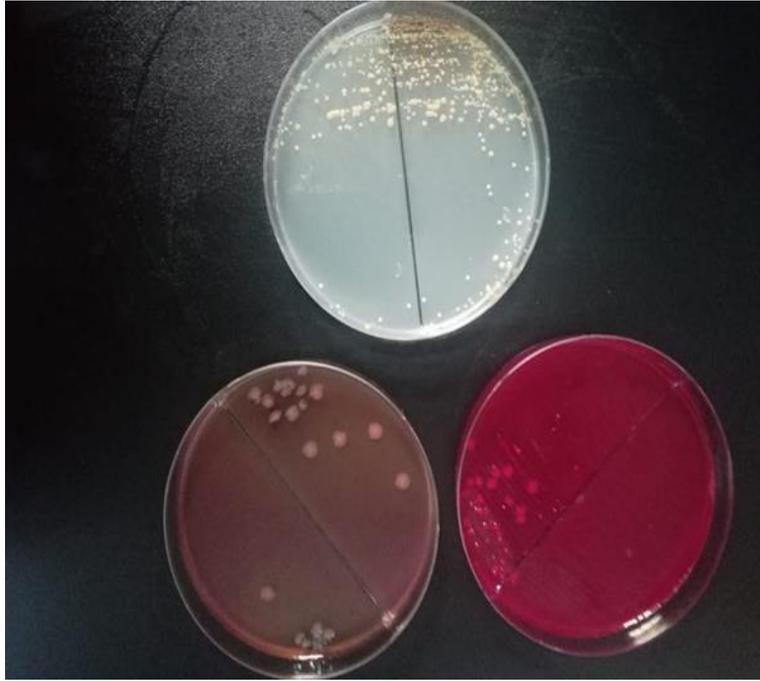
Homogenización del contenido intestinal.

Fuente: Elaboración propia



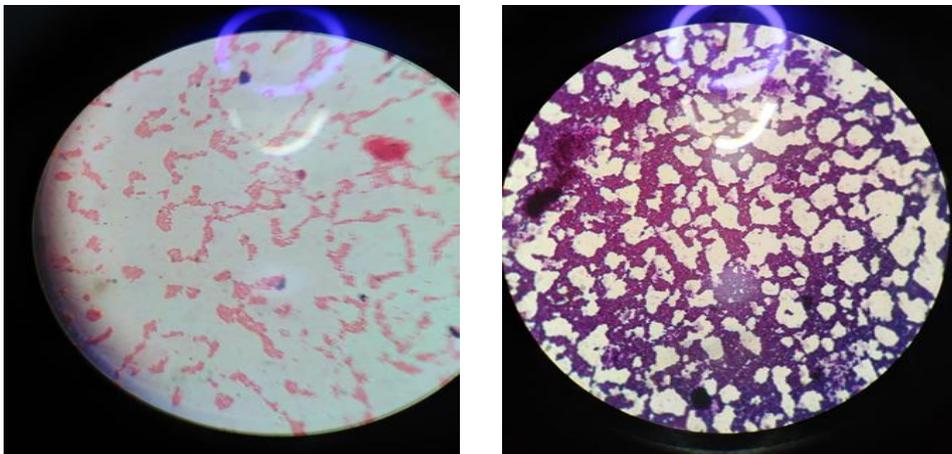
Siembra del contenido intestinal.

Fuente: Elaboración propia



Identificación macroscópica del crecimiento de los medios de cultivo.

Fuente: Elaboración propia



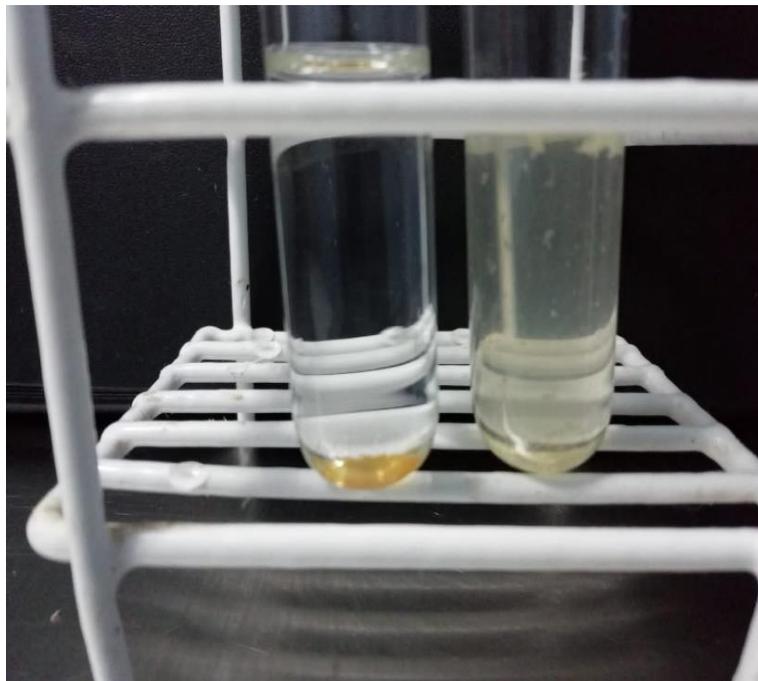
Identificación microscópica de las bacterias *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp.

Fuente: Elaboración propia



Pruebas bioquímicas de las bacterias identificadas.

Fuente: Elaboración propia



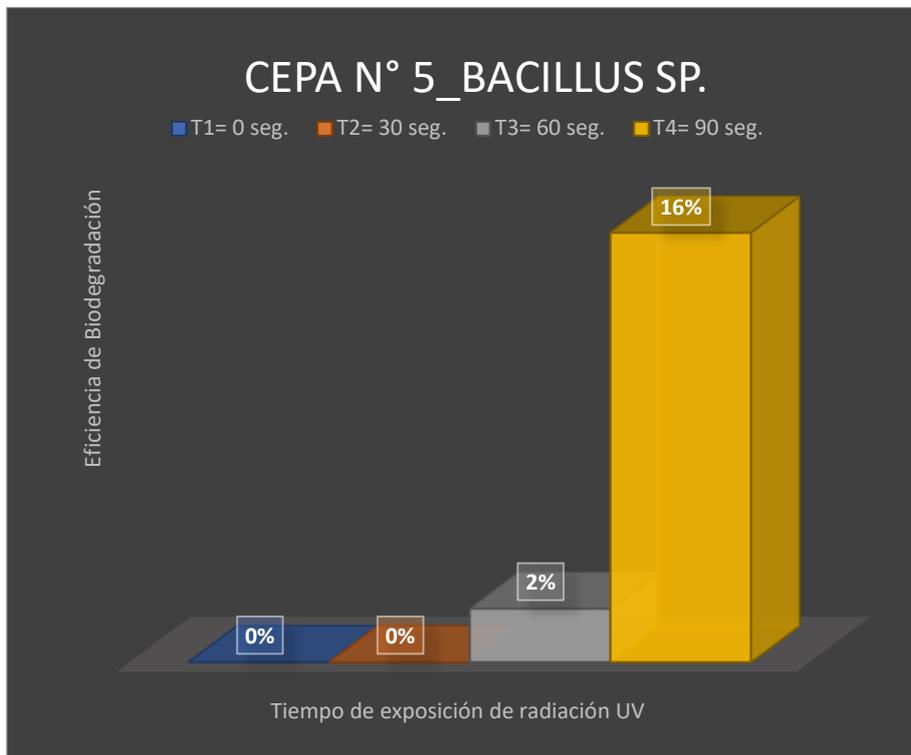
Tratamiento de biodegradación

Fuente: Elaboración propia



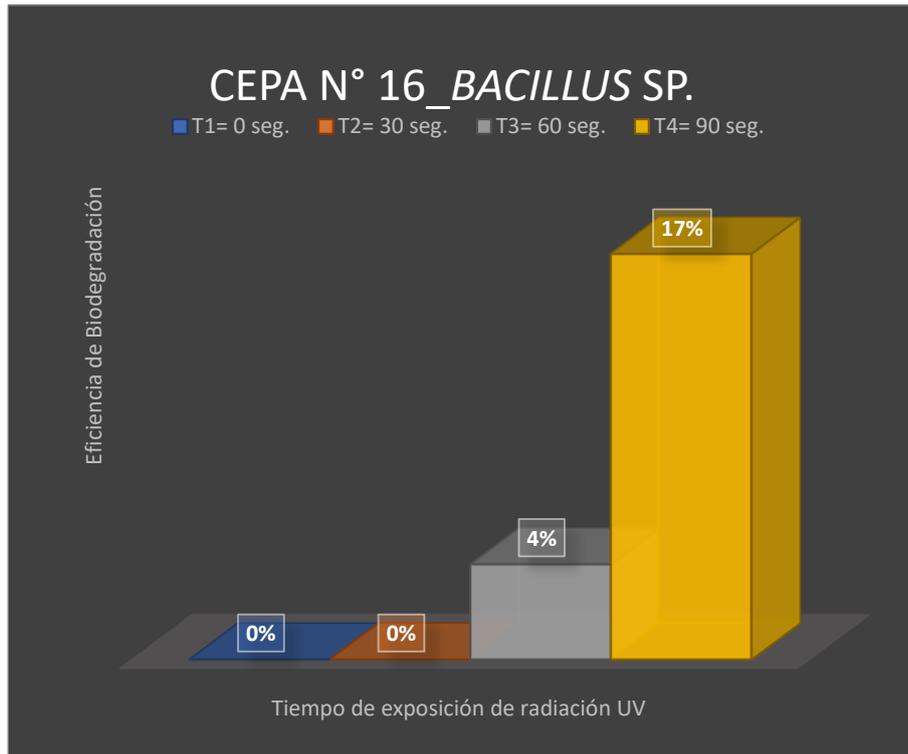
Pesaje del plástico en polvo después del tratamiento

Fuente: Elaboración propia



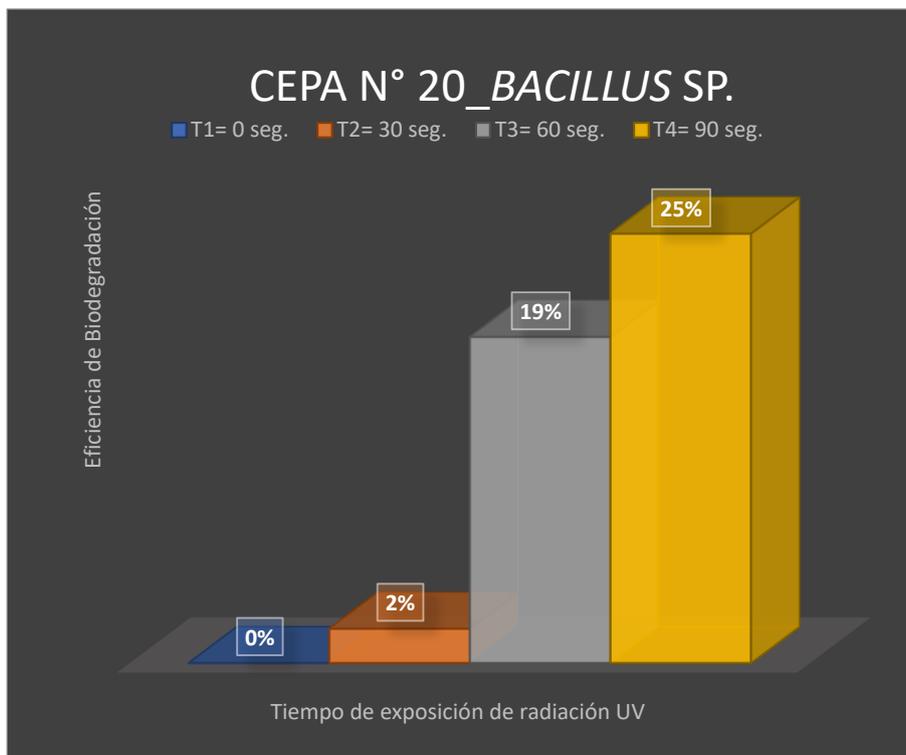
Eficiencia de biodegradación de la cepa N°5_ *Bacillus* sp.

Fuente: Elaboración propia



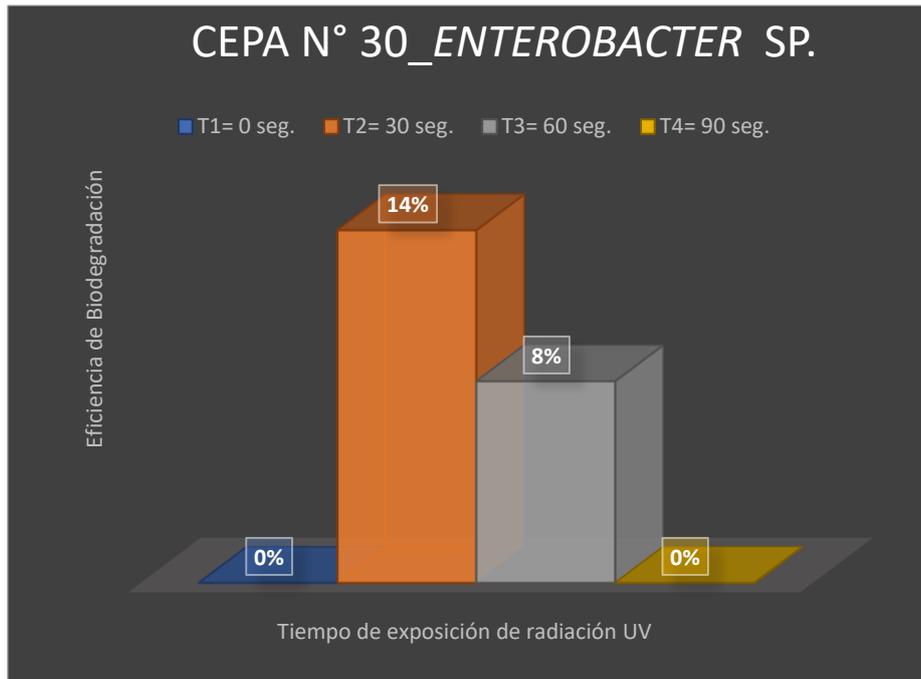
Eficiencia de biodegradación. N°16_ *Bacillus sp.*

Fuente: Elaboración propia



Eficiencia de biodegradación de la cepa N°20_ *Bacillus sp.*

Fuente: Elaboración propia



Eficiencia de biodegradación. N°30_ *Enterobacter* sp.

Fuente: Elaboración propia

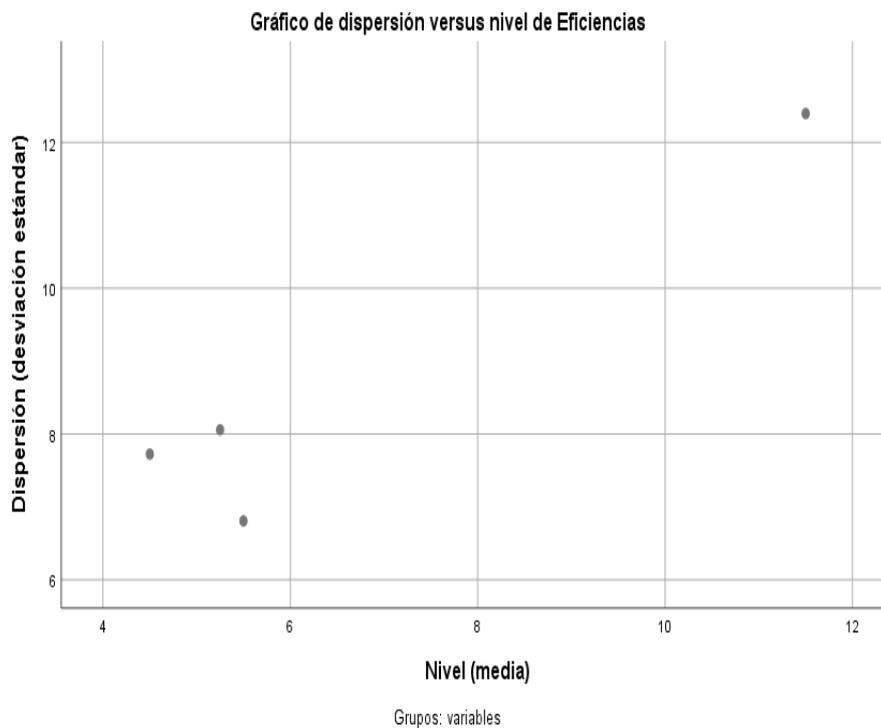


Gráfico de dispersión versus niveles de eficiencias.

Fuente: Elaboración propia

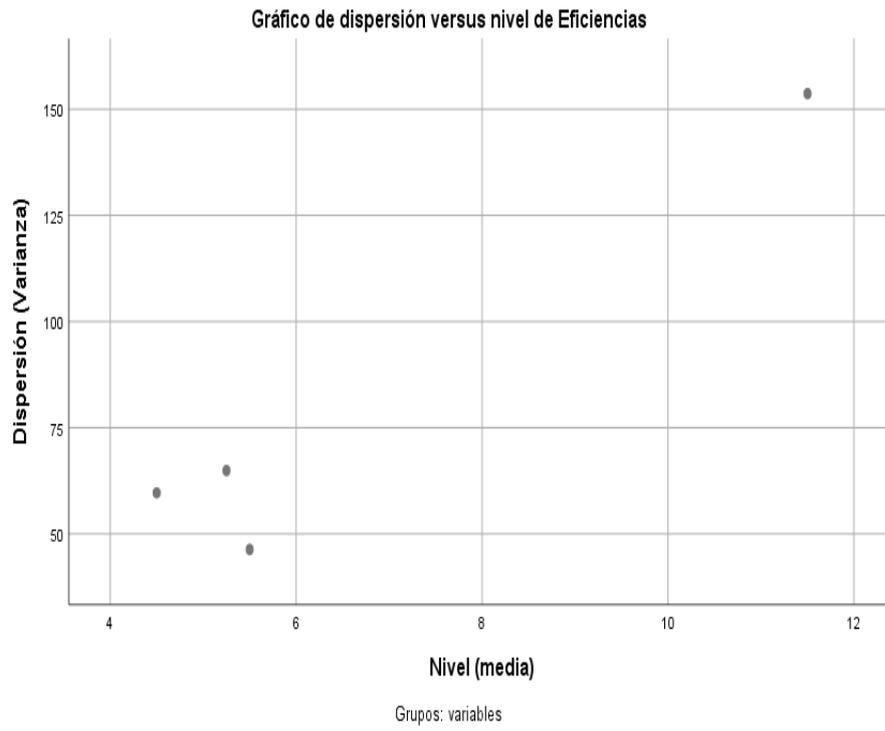


Gráfico de dispersión versus niveles de eficiencias.

Fuente: Elaboración propia