

UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA" DE ICA

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**“BIODEGRADACIÓN DE POLIETILENO TEREFTALATO POR ACCIÓN DE  
CONSORCIOS BACTERIANOS PROCEDENTES DE DIFERENTES TIPOS DE HUMUS”**

**TESIS**

PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

**BIÓLOGO**

PRESENTADO POR:

**BACH. PALACIOS QUIJANDRIA, Camila Alexandra.**

**BACH. PRADO FLORES, Vladimir.**

**ICA – PERÚ**

**2018**

A Dios por darnos salud y bendición para alcanzar nuestras metas.

A nuestros padres por mostrarnos el camino hacia la superación, por su amor incondicional y sacrificio a lo largo de estos años de estudio.

## **AGRADECIMIENTOS**

Expresar el profundo agradecimiento a las personas e instituciones públicas y privadas por brindarnos su incondicional apoyo a lo largo de estos meses de investigación de tesis.

A nuestra asesora la BMBlg. Marianella Salinas Fuentes, por sus experiencias y conocimientos transmitidos, por su apoyo y motivación en los momentos difíciles de esta investigación, por su interés y entrega que ha sobrepasado por mucho todas las expectativas que como tesis depositamos en ella.

Al Dr. Walter Ramos Mayurí, por brindarnos su apoyo desde el primer momento y transmitirnos sus conocimientos en la parte estadística del presente trabajo de investigación.

A la Dirección Regional de Salud (DIRESA), por brindarnos sus instalaciones y materiales para la ejecución de la tesis, en especial a la encargada del laboratorio Blg. María Ofelia Fernández Rodríguez por su enorme apoyo en cada etapa del proyecto.

Al Hospital “Augusto Hernandez”, por brindarnos las instalaciones para realizar las pruebas bioquímicas, en especial al Blgo Juan Pérez, por ser un buen guía en el proceso de esta etapa.

Al Blgo Luis Cartagena Sigua, por apoyarnos con sus conocimientos y facilitarnos sus instalaciones.

A nuestros compañeros, por su apoyo moral y los consejos que nos daban a lo largo de la investigación de esta tesis.

## ÍNDICE

Dedicatoria.....	i
Agradecimientos.....	ii
Resumen.....	iii
Abstract.....	iv
I.    Introducción.....	1
II.   Antecedentes.....	3
III.  Materiales y métodos.....	6
- Material biológico.....	6
- Material plástico.....	6
IV.  Resultados.....	10
V.   Discusión.....	19
VI.  Conclusiones.....	26
VII. Recomendaciones.....	27
VIII. Referencias bibliográficas.....	28
IX.  Anexos.....	35

## RESUMEN

El polietileno tereftalato (PET) es uno de los polímeros que se encuentra cubriendo gran parte del mundo en distintos ambientes, como agua marinas, ríos, lagunas y suelos. Su difícil degradación hace que se busquen nuevas alternativas biológicas para que la degradación se vuelva más rápida y eficaz haciendo que los microorganismos lo utilicen como fuente de alimentación. El presente trabajo tuvo como objetivo demostrar la biodegradación del PET por acción de consorcios bacterianos procedentes de diferentes tipos de humus. La metodología empleada consistió en evaluar tres tipos diferentes de sustratos: humus como vegetal, de conejo y de caballo para determinar si las bacterias presentes en éstos degradaban el PET o no. La evaluación se realizó de manera cuantitativa por la pérdida de peso del plástico por un periodo de evaluación cada 15 días y evaluación cualitativa por la formación de biopelícula y porosidad. Así mismo, se aislaron bacterias con capacidad de degradar el PET e identificando con pruebas bioquímicas y MicroScan. Los promedios de la variación porcentual de degradación oscilaron entre 0% y 4.5%, donde se observó que el humus del vegetal tuvo una mayor degradación frente a los demás tipos de humus, pero no existió diferencia significativa entre los tratamientos pero sí frente al control. Además, se observó mayor porosidad y biopelícula en el humus de vegetal; se llegó a identificar 12 cepas degradadoras de PET del género *Bacillus*. Concluyéndose que hay presencia de microorganismos que tienen la capacidad de degradar el polietileno tereftalato.

**Palabras claves:** PET, humus, *Bacillus*, biopelícula, porosidad.

## ABSTRACT

PET is one of the polymers that is found covering a large part of the world in different environments, such as marine water, rivers, lagoons and soils, and its difficult degradation makes it look for new biological alternatives so that degradation becomes faster and more efficient. Causing these microorganisms to use this material as a source of food. The present work aims to demonstrate the biodegradation of polyethylene terephthalate by bacterial consortiums from different types of humus for which the methodology used was to evaluate three different types of substrates of humus as vegetable, rabbit and horse against if they degraded the PET or not, the plastic was evaluated quantitatively by weight loss in a 15-day evaluation period and quantitative evaluation by the formation of biofilm and porosity, likewise bacteria were isolated with ability to degrade the PET and identifying them with tests biochemicals and MicroScan. The averages of the percentage variation oscillated between 0% and 4.512%, where it was observed that the humus of the vegetable had a greater degradation compared to the other types of humus but it can be said that there is no significant difference between the treatments but it does exist between the control and the 3 substrates. In addition, greater porosity and biofilm were observed in vegetable humus; 12 strains degrading PET of the genus *Bacillus* were identified. Concluding that there is presence of microorganisms that have the capacity to degrade the polyethylene terephthalate.

Keywords: PET, humus, *Bacillus*, biofilm, porosity.

## I. INTRODUCCIÓN

Los plásticos son materiales poliméricos orgánicos, están conformados por largas cadenas macromoleculares que contienen en su estructura carbono e hidrógeno. Principalmente, se obtienen mediante reacciones químicas entre diferentes materias primas de origen sintético o natural. Dependiendo de la estructura que forma el carbono al asociarse con hidrógeno, oxígeno y nitrógeno, cambian las propiedades físicas y su estructura molecular. Se dividen en termoplásticos, materiales que se ablandan al ser calentados y se endurecen al enfriarse, y termoestables, que adoptan una forma permanente al aplicarles calor y presión (Mendez y col. 2007). En los últimos años se han investigado diferentes formas de plástico como el poliestireno (PS), cloruro de polivinilo (PVC), polipropileno (PP) y polietileno tereftalato (PET) (Meza 2013). Esta última forma de plástico es utilizada para diferentes tipos de envases, y su acumulación mundial se estima en aproximadamente 80 millones de toneladas métricas al año (Sowmya y col. 2014), provocando un impacto grande al medio ambiente tomando miles de años para su eficiente degradación. (Nanda y col. 2010).

En los últimos tiempos se han venido desarrollando estrategias para la reducción de éstos materiales entre los cuales tenemos la incineración que consiste en el quemado de plástico, lo que suele ser altamente contaminante, causando efectos negativos en el ambiente por el incremento de CO<sub>2</sub> en la atmósfera (Segura, 2007), por otro lado el reciclaje ha sido una estrategia muy efectiva, sin embargo se ha visto que solo el 35% se recupera y el otro 65% se pierde (Arciniega, 2008). Existen métodos que degradan este material que abarcan desde los relativos a las pruebas de propiedades, así como las empleadas en el campo de física de fases y química analítica, métodos bioquímicos y la microbiología. Este último método ha venido

siendo un área de interés por los investigadores, ya que no perjudica el medio ambiente y consiste en utilizar microorganismos que puedan alimentarse de éstos contaminantes.

La extracción de los microorganismos tiene que ser de una fuente rica en nutrientes y por ende de microorganismos tal y como es el caso del humus, un abono orgánico de residuos de origen animal y vegetal, que presentan macro y micronutrientes como nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, manganeso, hierro y sodio, etc, en cantidades suficientes para garantizar el perfecto desarrollo de las plantas, además de un alto contenido de microorganismos. (Silagro, 2015). Debido a los diferentes componentes utilizados en la preparación del humus, es un sustrato capaz de degradar diferentes materiales. En investigaciones anteriores se ha utilizado en la biorremediación de ambientes contaminados con hidrocarburos de petróleo y derivados del PET (Nilanjana y col, 2011). Además, se ha visto que las poblaciones microbianas de humus oxidan fácilmente sustratos disponibles como proteínas, azúcares y almidones (Zibilske, 1996). Así también, presentan una intensa actividad enzimática hidrolítica y por reacciones de oxidación rompen la estructura química de algunos materiales como el PET. (Deportes, 1995).

La demanda de la utilización de plástico que hoy en día afronta nuestro país hace que se abran nuevas técnicas de investigación para la degradación de este material y junto con esta pueda ser armoniosa con el medio ambiente. Es por ello que, la importancia en la cual radica esta investigación es la utilización de bacterias extraídas de diferentes tipos de humus que puedan utilizar el polietileno tereftalato como única fuente de carbono, y en un futuro poder utilizar estas cepas a escala industrial.



## II. ANTECEDENTES

**Ariba y col. (2015)**, en la India, aislaron bacterias de suelo contaminado con plástico para degradar bolsas de polietileno en un periodo de 30 días. Identificaron las especies *Desulfotomaculatum nigrificans* y *Pseudomona alcaligenes* que degradaron 10.2, 13.2 y 16.2%; 10.5, 14.7, y 16.2% en 10, 20 y 30 días respectivamente.

**Sowmya y col. (2014)**, en la India, evaluaron la biodegradación de polietileno con *Bacillus cereus* y concluyeron que éste es capaz de degradar el polietileno previamente tratado con luz UV y autoclavado. El porcentaje de degradación fue de 14% y 7.2% respectivamente.

**Meza (2013)**, en Ecuador, evaluó la biodegradación de polietileno tereftalato y oxopolietileno con humus de caballo, gallina y lombriz. Al finalizar los 35 días de tiempo experimental, concluyó que la mayor efectividad de biodegradación de PET con bacterias nativas fue con el humus de caballo, con un 10.89%, seguida de el humus de gallina con 7.87% y del humus de lombriz con 6.64%. Identificó microorganismos Gram negativos, como *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, etc.

**Alonso y col. (2010)**, en Argentina, utilizaron microorganismos del vermicompost para degradar poliestireno y polipropileno a diferentes profundidades. Concluyeron que la actividad microbiana mejora con la profundidad del enterramiento; entre los microorganismos del vermicompost que podrían haber ocasionado la biodegradación, se identificó el género

Pseudomonas, tanto en las muestras superficiales de polipropileno como de poliestireno.

**Sonil y col. (2010)** en la India, aislaron de un relleno sanitario microorganismos degradadores de polietileno como Pseudomonas, Brevibacillus y Rhodococcus. Concluyeron que Pseudomonas degradó 40.5% de polietileno, seguida de Brevibacillus con 37.5% y Rhodococcus con 33%.

**Arciniega (2008)**, en México, aisló microorganismos degradadores de teraftalato de polietileno de estómagos de rumiantes y heces de animales. Concluyó que los hongos consumen más los precursores del PET en comparación con las bacterias; también que la degradación del ácido teraftálico aumenta en un pH ácido, alcanzando un porcentaje de degradación del 90% en un período de 20 días.

**Chunga y Cieza (2016)**, en Chiclayo, Perú, evaluaron la biodegradación de poliestireno utilizando microorganismos procedentes del humus de lombriz a diferentes profundidades. Concluyeron que el poliestireno perdió mayor peso al estar en el fondo de la maceta en comparación con la muestra de la parte media y de la superficie; observaron biodegradación total de 9.4%; e identificaron los géneros Bacillus y Clostridium se encontraron presentes en el humus de lombriz.

**Uribe y col. (2010)**, en Lima, Perú, aislaron e identificaron microorganismos degradadores de polietileno de baja densidad de un relleno sanitario, entre ellos: Pseudomonas, Penicillium y Hyalodendron. Concluyeron que hubo una reducción del 5.4% del peso total de polietileno bajo la acción de un

consorcio formado solo por bacterias. El porcentaje de peso perdido obtenido mediante el empleo de las levaduras y los hongos aislados fue de 4.8%.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. MATERIAL:**

##### **3.1.1. Material biológico**

El material de estudio estuvo constituido por humus de caballo, humus de vegetales y humus de conejo.

##### **3.1.2. Material plástico**

El polietileno tereftalato (PET) estuvo constituido por botellas de plástico de agua mineral de primer uso.

#### **3.2. MÉTODOS:**

##### **3.2.1. Preenriquecimiento de las bacterias degradadores de polietileno tereftalato.**

###### **3.2.1.1. Preparación del polietileno tereftalato.**

Las botellas de primer uso de agua mineral fueron cortadas en pequeños fragmento, de los cuales se pesaron 6 gr para ser licuados con 100mL de agua aproximadamente por 20 min hasta obtener finas partículas. Luego, se filtró en papel de filtro y se secó las partículas de plástico en la estufa a 140°C por 10 minutos; las partículas obtenidas de plástico se llevaron a un medio base constituido por macro y micronutrientes donde la única fuente de carbono fue el PET.

Para el preenriquecimiento se trasvasó 400 mL de medio base en un frasco schott para cada sustrato (Conejo, caballo, vegetales y blanco), donde se añadió 0.8 g de los fragmentos de PET y 4 g del

humus a ensayar en cada frasco, se incubó 27° C por un periodo de 30 días (Ver anexo, Flujograma 01).

### **3.2.2. Degradación del polietileno tereftalato (PET)**

Pasado el tiempo de incubación se tomó una alícuota de 10mL del medio preenriquecido de los diferentes tipos de sustrato y se comparó con el nefelómetro de Mc Farland del tubo N° 1 ( $3 \times 10^8$  cel/mL); se inoculó 10mL de medio preenriquecido a 90 mL de medio base en frascos schott (Ver anexo 01), y se agregó fragmentos de botella de plástico de 2x4 cm previamente pesados (los pedazos de plástico fueron lavados con etanol y enjuagados con agua destilada estéril, que fueron secados en la estufa a 30°C por 15 minutos), este procedimiento se realizó en 30 frascos por cada tipo de humus y 30 frascos para el control (Tabla 05).

#### **3.2.2.1. Determinación cuantitativa de la biodegradación del polietileno tereftalato.** (Mostafa y col. 2010)

Después de la incubación de los frascos schott con los diferentes tipos de humus y el control se procedió a retirar 5 piezas de plástico de humus y el control cada 15 días por un periodo de 3 meses, limpiándose con alcohol de 96° y secándolas en la estufa por 5 minutos 80 °C.

Para la determinación del porcentaje de la pérdida de peso de los plásticos se utilizó la siguiente fórmula.

$$\%perdida = \frac{W_{inicial} - W_{final}}{W_{inicial}}$$

$W_{inicial}$ : Peso inicial del plástico (mg)

$W_{final}$ : Peso final del plástico en función del tiempo

### **3.2.2.2. Determinación cualitativa de la biodegradación del polietileno tereftalato**

#### **- Formación de biopelícula:**

Transcurrido 90 días de incubación se retiraron 5 piezas de plásticos de los frascos Schott de cada tratamiento de humus y el blanco. Éstos fueron colocados en láminas porta objeto y se observaron en un microscopio a un aumento de 400X. La observación de masas irregulares sobre la superficie del PET indica la formación de biopelícula.

#### **- Porosidad:**

Esta evaluación se realizó a los 90 días retirando 5 piezas de plástico las cuales se limpiaron con alcohol de 96° (por cada tratamiento y el control). La observación se realizó en un microscopio a un aumento de 400X, donde se observó pequeños poros que indican la degradación de PET por bacterias.

### **3.2.3. Aislamiento e identificación de las bacterias degradadoras de polietileno tereftalato.**

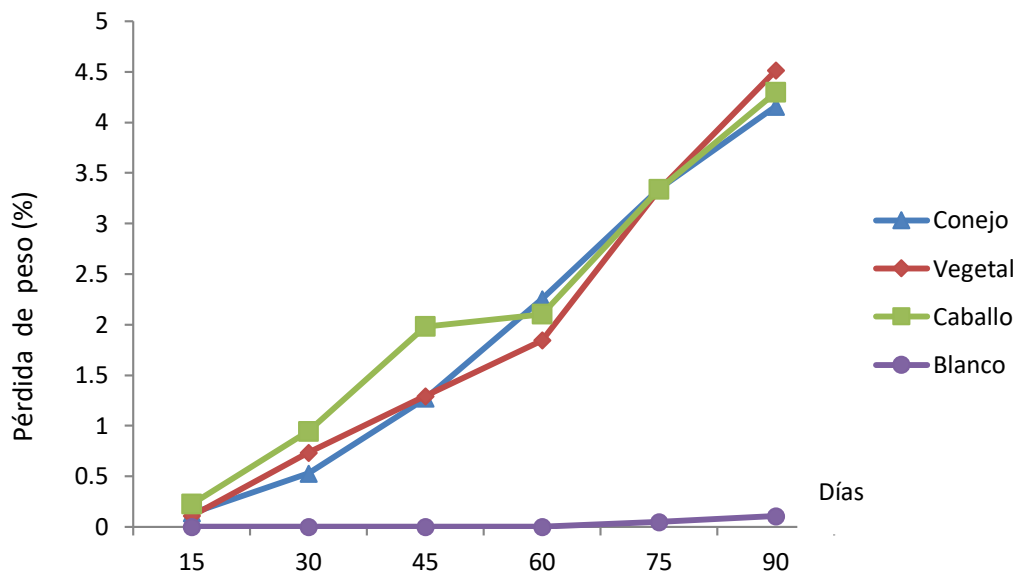
Para el aislamiento de las bacterias degradadoras de PET, se tomó una asada del medio base con PET que fueron incubados a los 90 días, la cual se sembró en agar nutritivo por la técnica de agotamiento y estría. Las placas se incubaron a 37°C por 24 horas; transcurrido el tiempo se estudiaron las características macroscópicas de las colonias diferenciadas considerando: forma, borde, elevación, superficie, color y consistencia; luego se realizó la tinción Gram teniendo en consideración el tipo de pared celular y la forma. Una vez realizados estos

procedimientos se realizó el mantenimiento de las cepas con un medio base más glicerina al 30%.

Para la identificación bioquímica de las colonias aisladas se utilizó los paneles MicroScan que consiste en un sistema de pocillos con sustratos liofilizados que permiten realizar las pruebas bioquímicas como lactosa, cloruro de sodio, urea, nitrato, manosa y arabinosa; así también se realizó las pruebas convencionales como, prueba de catalasa, hemólisis y resistencia a temperatura. Se utilizó el Manual de Bergey para la identificación de los géneros (Ver anexo Flujograma 03).

#### IV. RESULTADOS

Los promedios de la variación porcentual de la biodegradación polietileno tereftalato oscilaron entre 0% y 4.512% a lo largo del tiempo. En el primer control a los 15 días los promedios de la variación porcentual fueron 0,136%; 0,110%; 0,226% para el humus de conejo, vegetal y caballo, respectivamente, estos promedios aumentaron al finalizar los 90 días (3 meses) a 4,158%; 4,512% y 4,298%, respectivamente.



**Figura 01:** Variación porcentual de la biodegradación del polietileno tereftalato con los tratamientos de humus de conejo, de vegetal y de caballo. Los valores corresponden al promedio de 5 repeticiones.

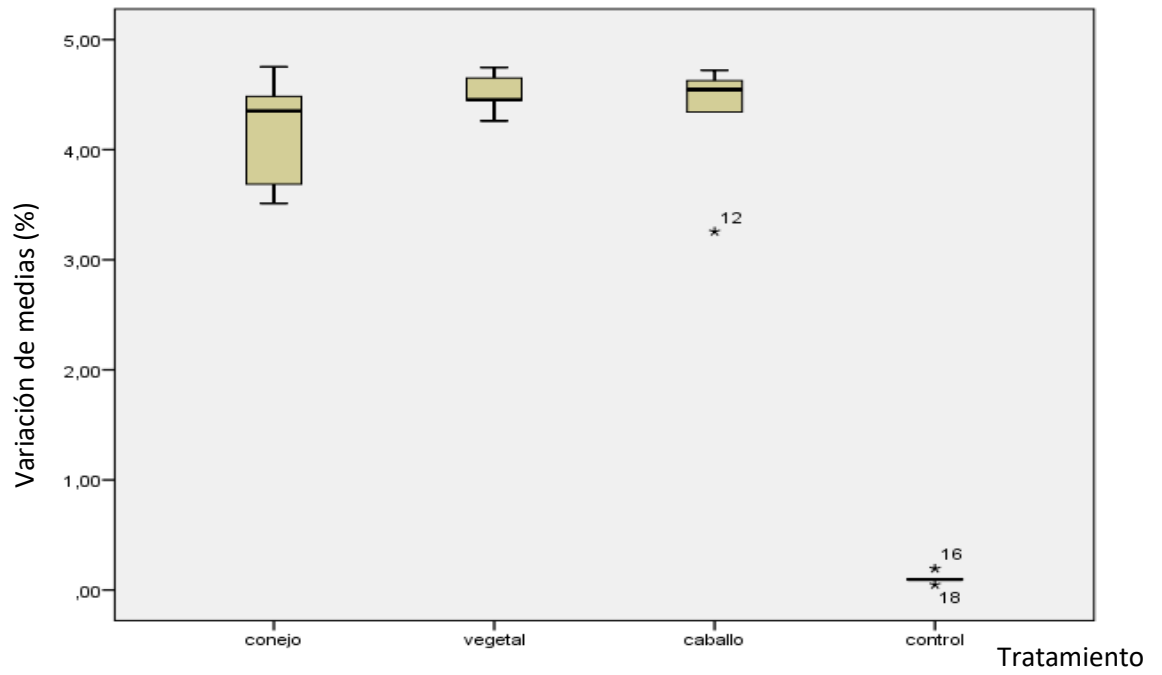


En la Tabla 01 se comparó cada tratamiento con el grupo control donde se determina que si existe diferencia estadísticamente significativa entre las variaciones porcentuales de los promedios de cada tratamiento de humus (de conejo, de caballo, y de vegetales) con el grupo control. Así mismo, se determinó que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos.

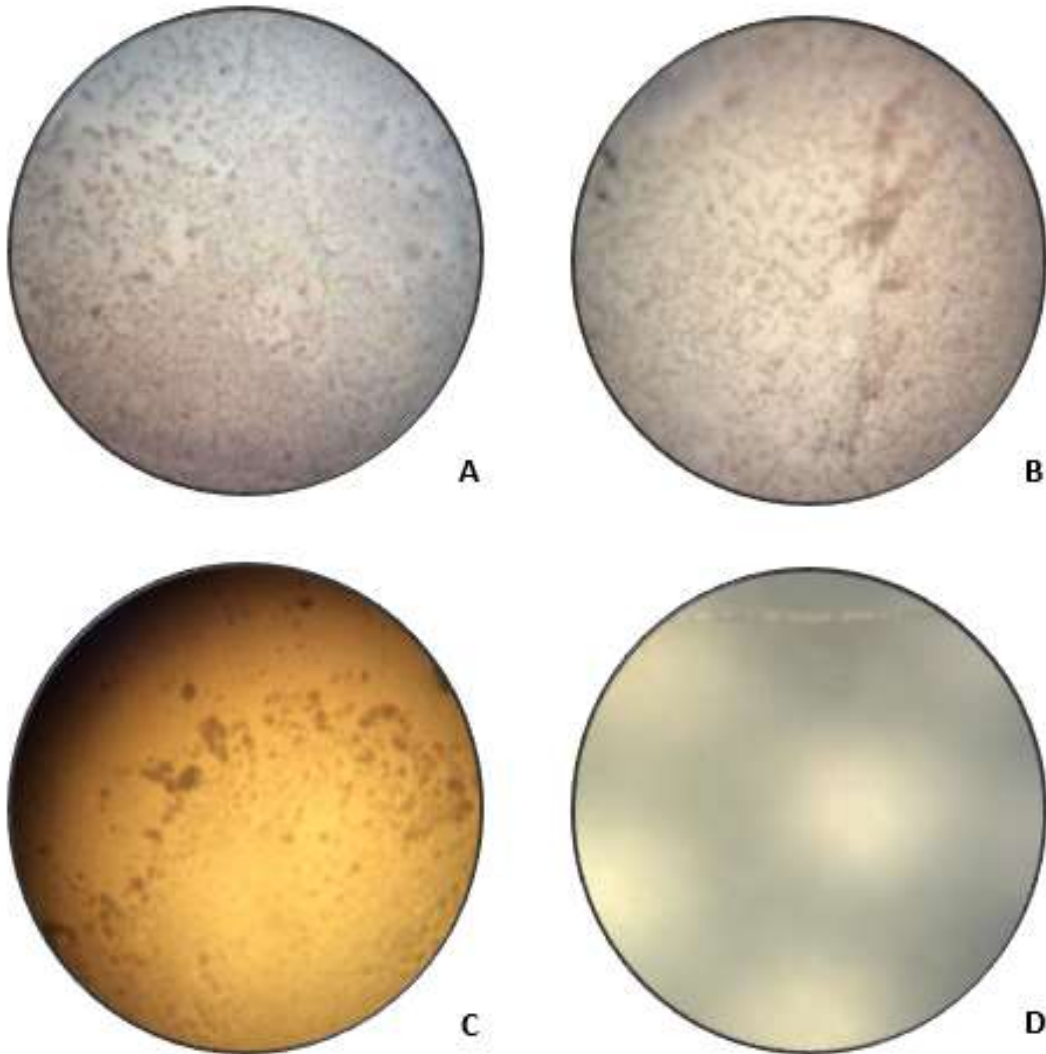
**Tabla 01:** Comparación de la biodegradación de PET entre los tratamientos y el control

Tratamiento	Media de degradación (%)
Conejo	4,16 a
Vegetal	4,51 a
Caballo	4,30 a
Control	0,11 b

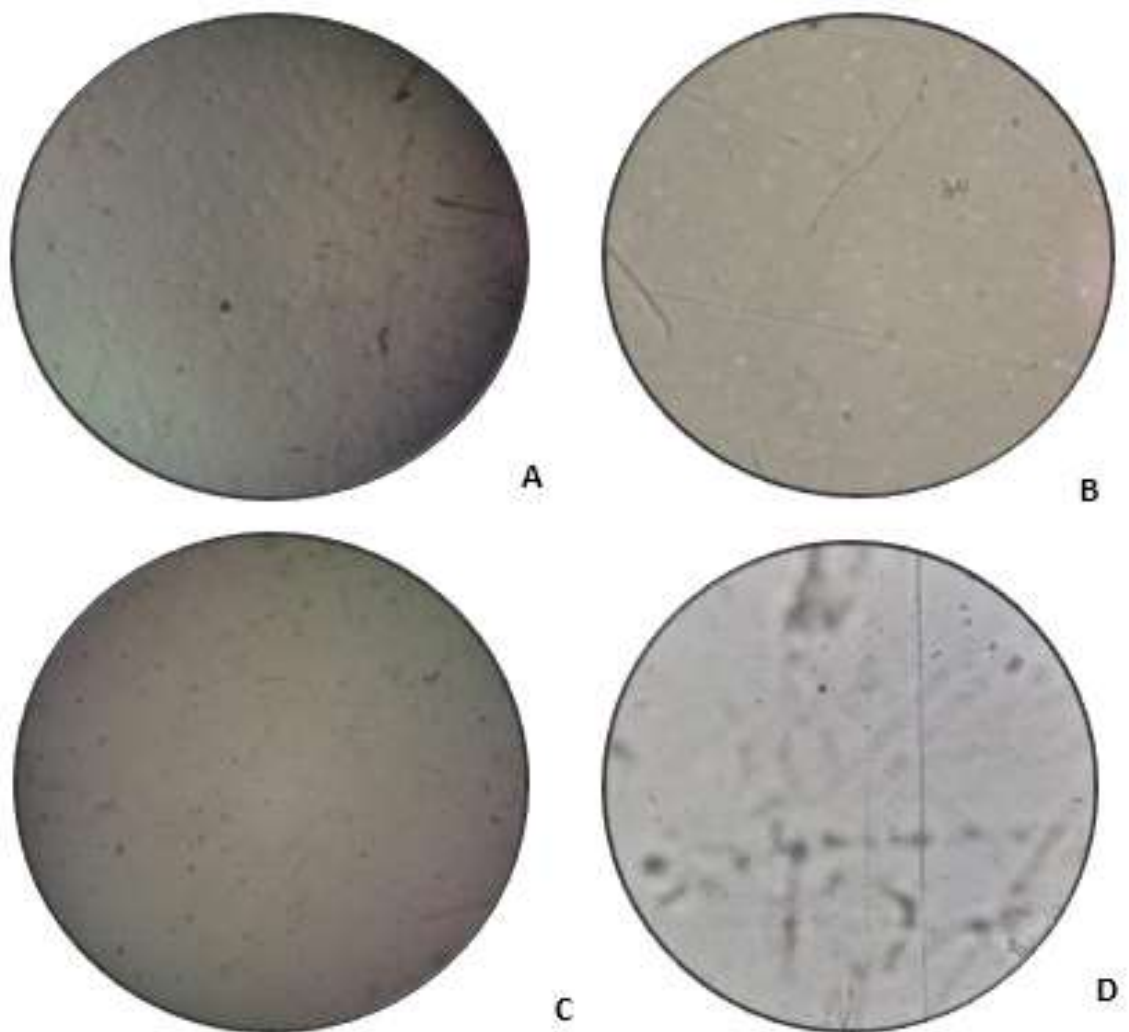
a y b: Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )



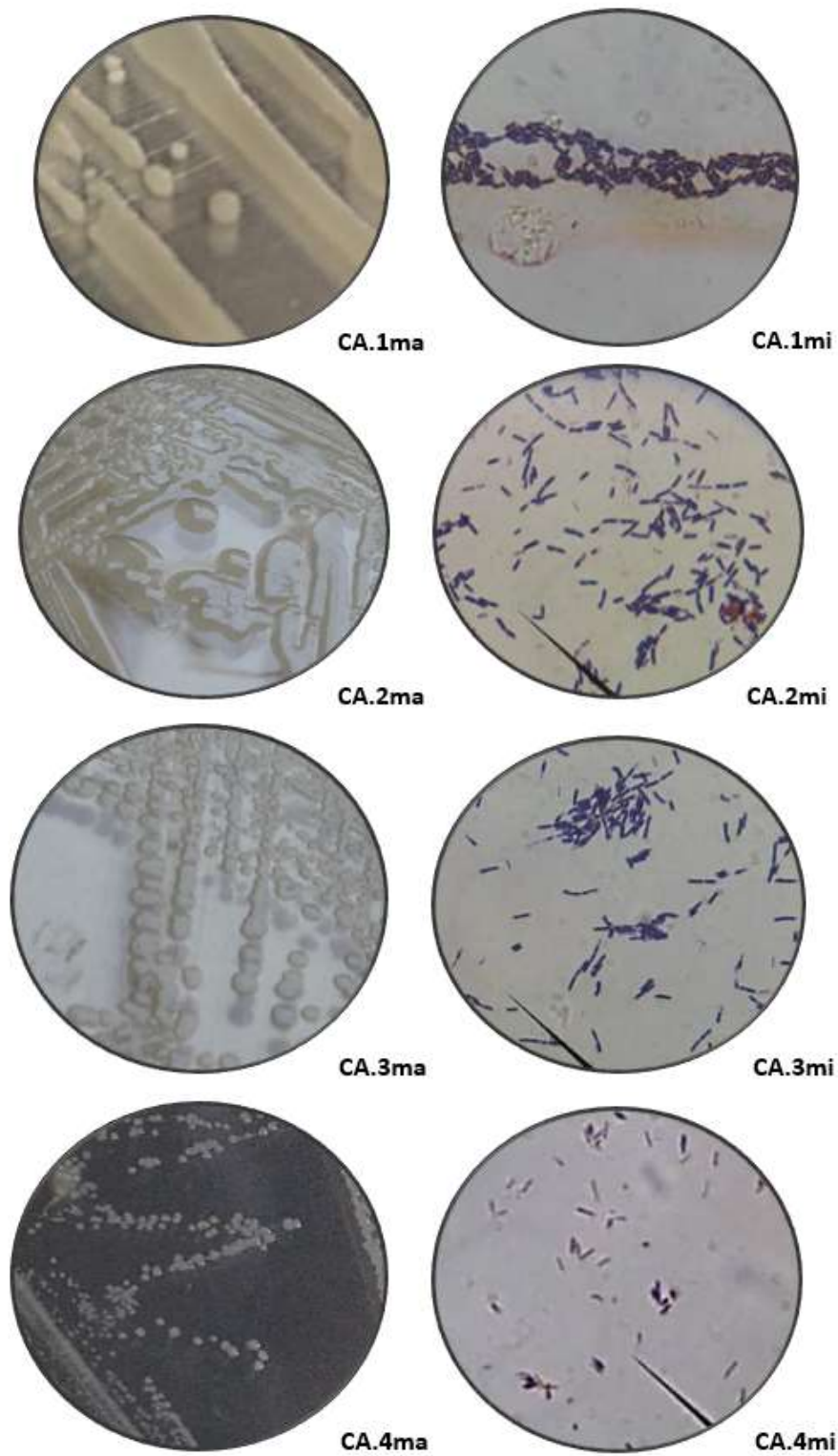
**Figura 02:** Variaciones porcentuales de los tratamientos de polietileno tereftalato con humus de conejo, caballo y vegetal.



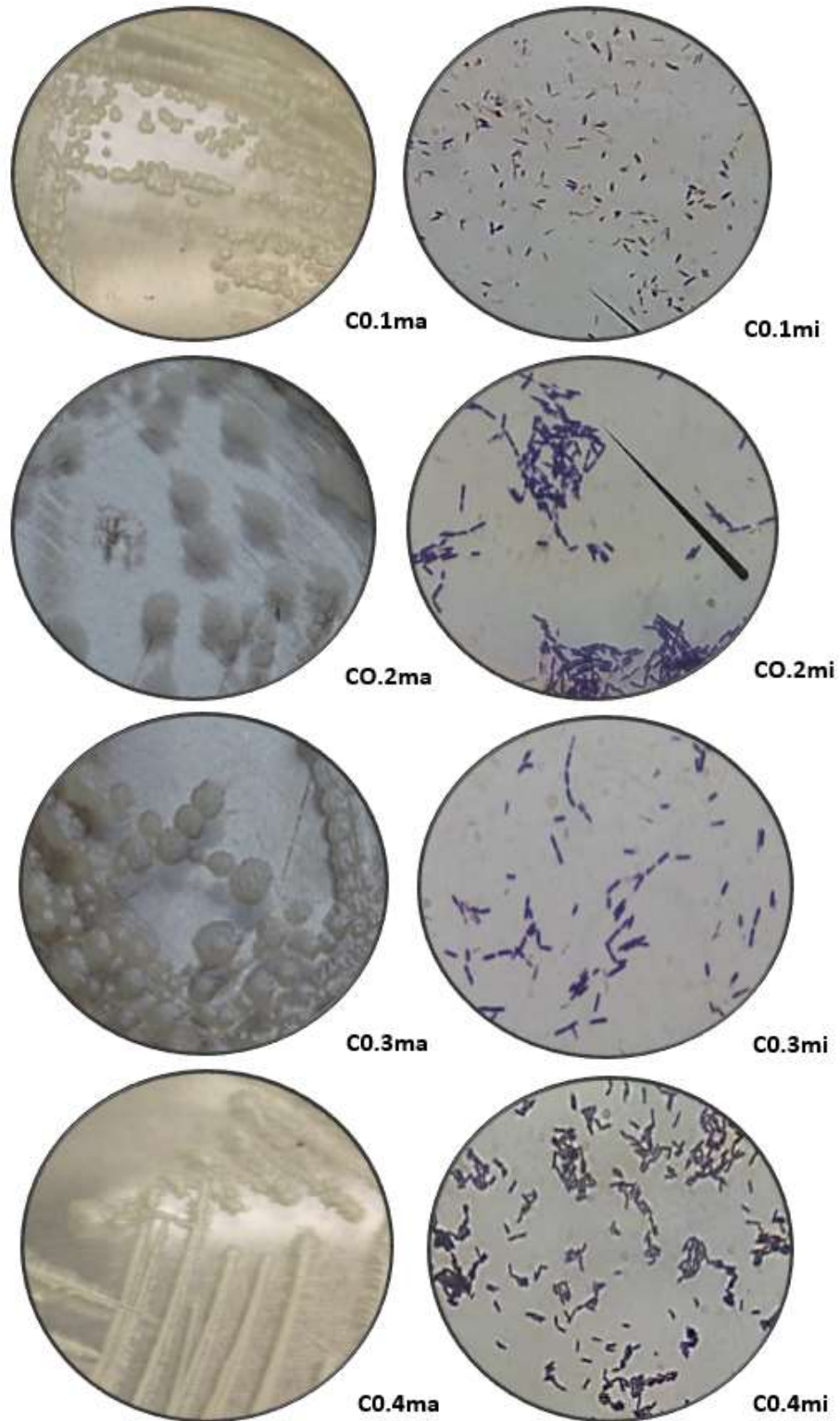
**Figura 03:** Biopelículas sobre el PET presentes en los diferentes tipos de humus durante 90 días. **A:** Humus de vegetal. **B:** Humus de caballo. **C:** Humus de conejo. **D:** Control. Observado a un aumento a 400X.



**Figura 04:** Formación de poros sobre el PET por acción de las bacterias presentes los diferentes tipos de humus durante 90 días. **A:** Humus de vegetal **B:** Humus de caballo. **C:** Humus de conejo **D:** Control. Observado a un aumento de 400X.

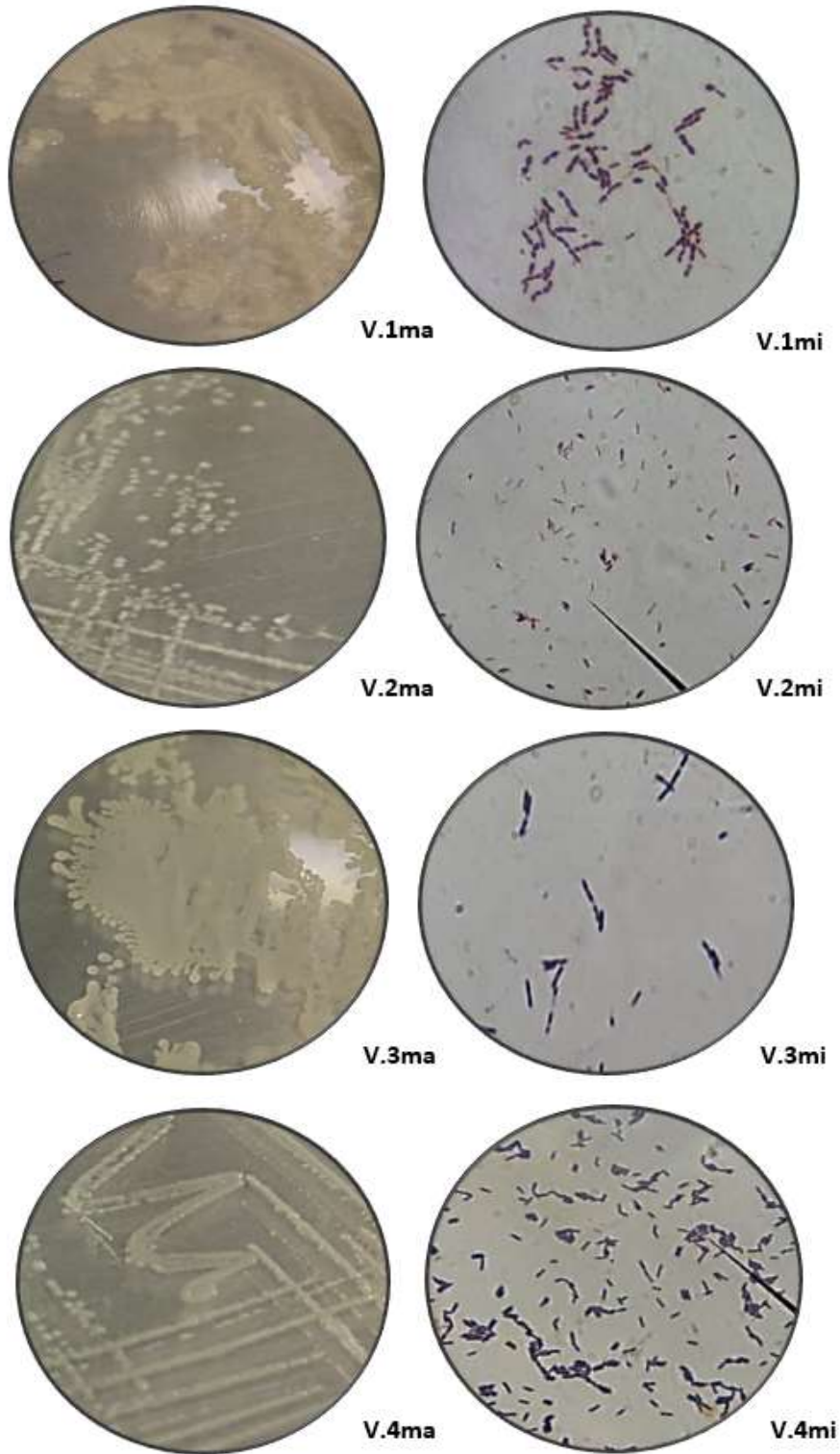


**Figura 05.** Características macroscópicas (ma) y microscópicas (mi), observado a un aumento de 1000X, de las bacterias aisladas de humus de caballo: CA.1, CA.2, CA.3, CA.4



**Figura 06.** Características macroscópicas (ma) y microscópicas (mi), observado a un aumento de 1000X, de las bacterias aisladas de humus de conejo: CO.1, CO.2, CO.3, CO.4





**Figura 07.** Características macroscópicas (ma) y microscópicas (mi), observado a un aumento de 1000X, de las bacterias aisladas de humus de vegetal: V.1, V.2, V.3, V.4

**Tabla 02:** Caracterización parcial de las cepas aisladas de diferentes tipos de humus seleccionadas en polietileno tereftalato – PET

CEPAS	CARACTERISTICAS MACROSCOPICAS						CARACTERISTICAS MICROSCOPICAS		BIOQUIMICA								Temperatura a 70°C	CARACTERIZACION PARCIAL
	FOR.	BOR.	ELEV.	SUPER.	COLOR	CONSIST.	GRAM	FORMA	LAC	NaCl	URE	NIT	MAN	ARA	Catalasa	Hemólisis		
CA-1	C	E	PL	LI	CR	CRE	+	Bacilo	-	+	-	+	-	-	+	β	+	Bacillus
CA-2	C	E	EL	LI	CR	V	+	Bacilo	-	+	-	+	-	-	+	β	+	Bacillus
CA-3	C	E	PL	LI	CR	CRE	+	Bacilo	-	+	-	+	-	-	+	β	+	Bacillus
CA-4	P	E	PL	LI	CR	CRE	+	Bacilo	-	+	-	+	-	-	+	β	+	Bacillus
CO-1	C	E	PL	LI	CR	CRE	+	Bacilo	-	+	-	+	-	-	+	β	+	Bacillus
CO-2	I	I	PL	LI	B	CRE	+	Bacilo	-	+	+	-	-	-	+	β	+	Bacillus
CO-3	C	E	PL	LI	B	CRE	+	Bacilo	-	+	+	+	-	-	+	β	+	Bacillus
CO-4	C	E	PL	LI	CR	CRE	+	Bacilo	-	+	-	+	-	-	+	β	+	Bacillus
V-1	R	L	EL	RU	CR	V	+	Bacilo	-	+	+	+	-	-	+	β	+	Bacillus
V-2	P	E	PL	LI	CR	CRE	+	Bacilo	-	+	+	+	-	-	+	γ	+	Bacillus
V-3	C	E	PL	LI	CR	CRE	+	Bacilo	-	+	-	+	-	-	+	α	+	Bacillus
V-4	I	L	PL	LI	CR	CRE	+	Bacilo	-	+	-	+	-	-	+	γ	+	Bacillus

**LEYENDA:**

**FOR:** Forma; **BOR:** Borde; **ELEV:** Elevación; **SUPER:** Superficie; **CONSIST:** Consistencia; **C:** Circular; **P:** Puntiforme; **I:** Irregular; **R:** Rizoide; **E:** Entero; **L:** Lobulado; **PL:** Plana, **EL:** Elevada; **LI:** Lisa; **RU:** Rugosa; **CR:** Crema; **B:** Blanco; **CRE:** Cremosa; **V:** Viscosa; **+** : Utiliza/metaboliza; **-** : No utiliza/no metaboliza; **β:** Beta; **γ:** Gamma; **α:** Alfa



## V. DISCUSIÓN

En la presente investigación se observó la biodegradación de polietileno tereftalato por parte de los microorganismos presentes en los sustratos utilizados (humus de caballo, vegetales y conejo), (Fig. 01 y Fig. 02). Esto se debe a los procesos metabólicos y enzimáticos realizados por las bacterias presentes en el humus, las cuales secretan enzimas que se encargan de romper la estructura molecular del plástico reduciéndolo en su peso a través del tiempo, (Tokiwa, 2009 y Nowak y col, 2011). Así mismo, Arciniega (2008) indica que los microorganismos digieren el PET, ocasionando biodegradación cuando existe en la molécula un grupo carbonilo vecino al átomo de carbono secundario o terciario para que pueda ser transformado por el microorganismo en grupos carbonilos, siendo este punto donde ocurrirá la fragmentación, una vez se haya transformado el grupo carbonilo, el ataque continua por la acción de enzimas mediante un proceso que irá reduciendo las cadenas más grandes a fragmentos de peso molecular más bajos lo que se corrobora con investigaciones de Palsamino y Pettigrew (1992).

El porcentaje de biodegradación con los tres sustratos a los 90 días fue: humus de caballo, 4.298%; humus de conejo, 4.158% y humus de vegetal, 4.512%.

El comportamiento de cada uno de los sustratos es diferente a lo largo del tiempo, en el humus de conejo se observó que se mantuvo una degradación ascendente; para el humus de caballo el comportamiento de los microorganismos que degradaban el PET fue diferente, en el día 45 la degradación se mantuvo constante hasta el día 60 donde hubo incremento de la degradación y en el humus del vegetal en el día 60

ocurrió el incremento de la degradación. Sin embargo, en estos 3 sustratos existe un punto de unión que fue a los 75 días y estas tienden a aumentar en el tiempo, similar a la investigación realizada por Meza, (2013) que con el tiempo se incrementó la biodegradación. Sin embargo, Alonso y col. (2015) indica que la velocidad de biodegradación es más rápida en los primeros meses para luego disminuir; esto pudo deberse a que los tratamientos fueron diferentes a los realizados en esta investigación; además también se confirma que a los 90 días en el grupo control no hubo degradación.

En cuanto a la biodegradación del humus de caballo fue de 4.298% en 3 meses de incubación difiriendo de estudios realizado por Meza y col. (2013) que indica que la biodegradabilidad de humus de caballo fue de 10.89% en un periodo de un mes y 5 días; esta diferencia podría haber sido por la especie de lombriz utilizada en la elaboración del humus tal como lo indica Mulet (2008) quién dice que la calidad del humus va a depender de los microorganismos del tracto digestivo de la especie de lombriz utilizada. Así mismo, Meza (2013), utilizó parámetros como disponibilidad de luz, temperatura constante y oxigenación, lo que ayuda a los microorganismos que se encuentren en constante reproducción, adaptación y posterior degradación.

Al evaluar el porcentaje de la pérdida de peso del plástico entre los diferentes tipos de humus, se aplicó la fórmula del promedio de la variación porcentual para saber cuál es el tipo de sustrato que degrada mejor el polietileno tereftalato – PET, además para saber si los tratamientos se encontraban distribuidos según una normal se utilizó el estadístico de Shapiro Wilk con una significancia de 0.05, lo cual resultó

que los tratamientos si se encontraban distribuidos por una normal (Ver anexo tabla 06), por lo cual se aplicó el estadístico de Análisis de varianza ANOVA (Ver anexo tabla 07) que indica que existía diferencia significativa entre las variaciones porcentuales rechazando la hipótesis nula ya que  $F_c$  calculado era mayor que  $F_1$  estándar 3.24. Para saber si existía diferencia significativa entre los tratamientos y el blanco se utilizó el estadístico de Dunnet (Tabla 08) donde se afirmó que existía diferencia significativa entre los grupos de estudio y el blanco cuando es  $p < 0.05$ ; lo que se confirma que en los diferentes tipos de humus existen bacterias capaces de degradar al polietileno tereftalato, ya que en el blanco no se pudo observar degradación.

Para comparar entre los tratamientos de los diferentes sustratos se utilizó la prueba de comparación de pares de Tukey (Tabla 09) donde se observó que los tres tratamientos presentan promedios de las variaciones porcentuales similares, pero difieren del blanco, es decir que en una biodegradación se podría utilizar cualquier tipo de humus, ya que los humus presentan bacterias posiblemente muy similares.

Al comprobar cualitativamente la biodegradación del PET por los diferentes sustratos (Fig. 03), se confirmó mediante la formación de biopelículas, que consiste en el desarrollo de comunidades microbianas multicelulares adheridas a los plásticos por las superficies hidrofílicas de las bacterias, además indican que las actividades metabólicas de estas poblaciones sobre los plásticos son superiores a los microorganismos individuales.

En la evaluación del trabajo se pudo observar biopelículas en los tres tipos de sustrato a lo largo de los 90 días de evaluación mas no en el

blanco, esto se corrobora con las investigaciones de Debroas y col. (2017), Yoshida y col. (2016), Uribe y col. (2010), que observaron la aparición de biopelículas como evidencia de un posible ataque microbiano. Se observó que el plástico aplicado con el sustrato con humus de vegetal presenta la mayor cantidad de biopelícula acumulada en toda su superficie además que fue el sustrato quien degradó ligeramente más el polietileno tereftalato. Asimismo, también se pudo observar con el humus de caballo y en conejo pero en menor cantidad.

La degradación del PET es un proceso dirigido a modificar la estructura del polímero para hacerlo vulnerable y que desaparezca como residuo, lo que quiere decir que cuando se forma biopelículas va dar paso al crecimiento poblacional microbiano a través de la utilización del plástico como fuente de carbono, la absorción de oxígeno, la evolución del dióxido de carbono y, finalmente, cambios en la estructura de la superficie del plástico. Arutchelvi et al. (2008). Así mismo las bacterias pueden atacar el grupo carbonilo para degradar los segmentos más cortos de las cadenas de polietileno, produciendo cambios en el polímero relacionado con la pérdida de su estructura química, de tal forma que las propiedades físicas del material se deterioran, y se observan variaciones tanto físicas como químicas en el mismo. Carhuayo (2012).

Al aplicar los diferentes humus sobre el PET se logró observar porosidad en todos los tratamientos a excepción del blanco (Fig. 04), esto se confirma con la investigación realizada por Janczak y col. (2018) que señalaron que la porosidad indica que hubo biodegradación del plástico que tienen forma de golpes, agujeros y grietas, lo que sustenta la

investigación realizada por Vimala y Lea (2016) y Gómez y Oliveros, (2018), quienes evidenciaron quiebres y zonas donde se estaría dando el desprendimiento de parte de la estructura, esta rotura del polietileno sería la degradación. Según Aradilla y col. (2007); las modificaciones más palpables se encuentran en la pérdida de brillo, color y formación de grietas, ocasionando desgaste en las superficies de las láminas según Gómez y Oliveros (2018); el cual fue observado en la investigación.

Para la identificación parcial de las bacterias biodegradadoras de PET se tuvo en consideración las características morfológicas de las colonias, se realizó la coloración Gram y se utilizaron los paneles de microscan (Ver Anexo Figura 09, 10, 11) permitiendo realizar diferentes pruebas como: lactosa, NaCl, urea, nitrato, manosa, arabinosa; paralelo a ello se realizaron pruebas convencionales como: catalasa, hemolisis y calentamiento a 70 °C.

En la presente investigación se logró aislar 12 cepas de bacterias Gram positivas (Fig. 05, 06 y 07, Tabla 02) que corresponden al género *Bacillus*.

Desai y col. (2008) indicaron que existen microorganismos entre ellos el género *Bacillus* que son utilizados por su acción biodegradante liberando enzimas para la ruptura de la compleja estructura química (oligómeros) del plástico en moléculas más simples (monómeros) para su asimilación. Además Pan y col. (2007), lograron aislar bacterias del género *Bacillus* capaces de degradar estructuras a base de hidrocarburos esto se debe a que estas bacterias son capaces de producir enzimas hidrolíticas, tales como: amilasa, celulasa y lipasas y los formadores de biopelículas son

efectivos en la biodegradación de plástico aislado de diversos sustratos. Así mismo Vimala y Lea (2016) sustentan que estas bacterias son capaces de producir compuestos tensioactivos (Biosurfactantes) que mejoran el proceso de degradación.

Al inicio de la investigación se presume que existió grupos bacterianos diferentes, sin embargo, al finalizar la investigación solo se aisló y seleccionó el género *Bacillus* con varias especies por sus diferentes morfologías macroscópicas, esto pudo ser ocasionado porque durante el proceso se produce energías, temperaturas y compuestos finales que pudo incentivar a la inhibición de las demás bacterias. Sin embargo, pudieron ayudar a la degradación en cierto punto del proceso.

## VI. CONCLUSIONES

Al término del estudio se llegó a las siguientes conclusiones:

1. Existe biodegradación de polietileno tereftalato por acción de consorcios bacterianos procedentes de diferentes tipos de humus.
2. El porcentaje de pérdida de polietileno tereftalato fue de 4.158%, 4.298% y 4,512% causado por las bacterias de humus de conejo, de caballo y de vegetal respectivamente, no existió diferencia significativa entre los tratamientos.
3. Se aisló de los diferentes tipos de humus la bacteria del género *Bacillus*.

## VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar pre tratamientos físicos como: temperatura, tratamientos térmicos, rayos UV, etc, al material de plástico que se va a degradar con la finalidad de hacer más susceptible al material antes de exponerlo al consorcio bacteriano.
2. Utilizar otros sustratos para la biodegradación de PET; por ejemplo, aislar consorcios bacterianos de rellenos sanitarios que se encuentren degradando el PET.
3. Extender el tiempo proceso de biodegradación.
4. Realizar la identificación de las bacterias al inicio, a la mitad y al final de la investigación para conocer los géneros que inician la degradación y como es la dinámica bacteriana en el tiempo.



## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abdullahi, M., y Saidu, B. T. (2013). Biodegradation of polythene and plastic using fadama soil Amended with organic and inorganic fertilizer. *Indian Journal Scientific .Research*,4(1): 17-25.
2. Acuña Molina, N. R., (2017). Revisión Bibliográfica sobre los Microorganismos Biodegradadores de Polietileno de Baja Densidad LDPE y sus Efectos en el Material (Tesis de pregrado). Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Bogotá.
3. Alonso, M. S., Lozano, A. R., Madregal, S. O., Vilte, E. D., Apaza, A. M., y Saravia, J. I. AIDIS Argentina. En: In Congreso Argentino de Saneamiento y Medio Ambiente. (12: 07-09 de mayo del 2002, Buenos Aires – Argentina). Degradación de poliestireno y polipropileno con microorganismos de vermicompost.
4. Alonso, M. S., Viturro, C. I., Sueldo, M. G., Lozano, A. R., y Madregal, S. O. AIDIS Argentina, Desafíos ambientales y del Saneamiento en el Siglo XXI. En: Congreso Argentino de Saneamiento y Medio Ambiente. (14: 17-19 noviembre del 2004, Buenos Aires – Argentina). Biodegradación de polipropileno: evaluación gravimétrica y por espectroscopía infrarroja.
5. Aradilla D., Estrany F., y Oliver R., (2007). Degradación de residuos de materiales plásticos. *Dialnet*. 448, 186 – 190.
6. Arciniega Carreón, I. Y., (2008). Aislamiento de microorganismos degradadores de tereftalato de polietileno (PET) en medio ambiente combinado. (Tesis de pregrado). Universidad Profesional de Interdisciplinaria de Biotecnología, México.

7. Ariba B., Varalakshmi, B., y Umamageswari, K. (2015). Biodegradation of polythene bag using bacteria isolated from soil. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 4(11), 674-680.
8. Arredondo, C. (1997). Parcelas de maíz y frijól en los valles centrales de Oaxaca. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigaciones Regionales del Pacífico Sur. Campo experimental Valles Centrales de Oaxaca 26p.
9. Arutchelvi, J., Sudhakar, M., Arkatkar, A., Doble, M., Bhaduri, S., y Uppara, P. V. (2008). Biodegradation of polyethylene and polypropylene. *Indian Journal of Biotechnology*, 7, 9- 22
10. Audesirk, T., (2008). Evaluación de la bacteria *Pseudomonas* como degradador del polietileno. (Tesis pregrado). Universidad Nacional Autónoma de México, México.
11. Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A., y Mietzner, T. A., (2014). *Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg-26*. Madrid: España. Editora McGraw – Hill.
12. Burd, D. (2008). Plastic not fantastic. Canadá. Science Fair, 1-5.
13. Calvo, P., y Zúñiga, D., (2010). Caracterización fisiológica de cepas de *Bacillus spp.* aisladas de la rizósfera de papa (*Solanum tuberosum*). *Ecología aplicada*, 9(1), 31-39.
14. Carhuayo V., 2012. Degradación térmica del PVC. (Tesis de post grado). Universidad Nacional de Trujillo, Perú.
15. Chunga, C., Martínez, C., Aarón, C., y Rosario, L. D. (2017). Biodegradación de poliestireno utilizando microorganismos presentes en el humus de

lombriz durante los meses, Octubre–Diciembre 2016. Tesis de grado. Universidad Nacional de Lambayeque, Perú.

16. Debroas, D., Mone, A., y Ter Halle, A., (2017). Plastics in the North Atlantic garbage patch: a boat-microbe for hitchhikers and plastic degraders. *Science of Total Environment*. 599–600, 1222–1232.
17. Deportes A., (1995). Tecnologías aplicadas al medio ambiente. [Mensaje en un blog]. Revisado en: <http://www.factorhumus.com/wpcontent/uploads/estudios/Humus%20de%20lombriz/humus%20naranja.pdf>
18. Desai A., & Pranav V., (2006). Petroleum and hydrocarbon microbiology. [Mensaje en un blog]. Revisado en: <https://es.scribd.com/doc/203708308/Petroleum-and-Hydrocarbon-Microbiology-pdf>
19. Farzi, A., Dehnad, A., y Fotouhi, A. F. (2019). Biodegradation of polyethylene terephthalate waste using *Streptomyces* species and kinetic modeling of the process. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 17, 25-31.
20. Gómez, J., y Oliveros, C., (2018). Biodegradación de polietileno de tereftalato por microorganismos aislados de sitios de disposición final de residuos sólidos. *Redieluz*, 6(2), 57-62.
21. Greenpeace. (2001). Datos sobre la producción de plásticos. [Mensaje en un blog]. Revisado en: <http://greenpeace.org/espana/es/Trabajamos-en/Parar-la-contaminacion/Plasticos/Datos-sobre-la-produccion-de-plasticos/>
22. Hachi Quintana, J. G., y Rodríguez Mejía, J. D., (2010). Estudio de factibilidad para reciclar envases plásticos de Polietileno Tereftalato (PET),

- en la ciudad de Guayaquil (Tesis de pregrado). Universidad Politecnica Salesiana, Ecuador.
23. Holt, J. G., Williams, S. T., y Holt, (1989). *Bergey's manual of systematic bacteriology*, Vol. 4. Lippincott Williams y Wilkins.
24. Janczak, K., Hryniewicz, K., Znajewska, Z., y Dąbrowska, G., (2018). Use of rhizosphere microorganisms in the biodegradation of PLA and PET polymers in compost soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 130, 65–75.
25. Lee I., Jang J., y Shin P., (1991). Glucose effects on the biodegradation of plastic by compost from food garbage. *Polymer degradation and stability* 76: 155-159.
26. Méndez, C. R., Vergaray, G., Béjar, V. R., y Cárdenas, K. J. (2007). Aislamiento y caracterización de micromicetos biodegradadores de polietileno. *Revista peruana de Biología*, 13(3), 203-206.
27. Meza Vargas, M. F., (2013). Artículo Científico-Biodegradabilidad de Polietileno Tereftalato y de Oxopolietileno, a nivel de laboratorio, por la acción de bacterias nativas presentes en humus de lombriz, caballo y gallina. (Tesis de pregrado). Universidad de las Fuerzas Armadas, Ecuador.
28. Mostafa, H. M., Sourell, H., y Bockisch, F. J., (2010). Mechanical properties of some bioplastics under different soil types used as biodegradable drip tubes. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal*, 12(1).
29. Muñoz S., (2014). Degradación de polímeros de interés industrial utilizando una mezcla de *Pseudomonas aeruginosa*, *Cladosporium sp* y *Alternaria sp*. (Tesis de pregrado). Universidad San Tomás, Chile.

30. Nanda, S., y Sahu, S. (2010). Biodegradability of polyethylene by *Brevibacillus*, *Pseudomonas*, and *Rhodococcus spp.* *New York Science Journal*, 3(7).
31. Nilanjana, R; y Ahmed, S; (2011). Biodegradable PVC product claim. *Bioplastic Magazine*, 4.
32. Nowak, B., Pająk, J., Drozd-Bratkowicz, M., y Rymarz, G., (2011). Microorganisms participating in the biodegradation of modified polyethylene films in different soils under laboratory conditions. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 65(6),757–767.
33. Orberá Ratón, T., Pérez Portuondo, I., Ferrer Salas, D., Cortés Ramos, N., y González Giro Z., (2005). Aislamiento de cepas del género *Bacillus sp.* Con potencialidades para la bioprotección y la estimulación del crecimiento vegetal. *Revista Cubana de Química*, 17(1)
34. Orhan, Y., Hrenovic, J., y Buyukgungor, H. (2004). Biodegradation of plastic compost bags under controlled soil conditions. *Acta Chimica Slovenica*, 51(3), 579-588.
35. Palsamino, A.C., y Pettigrew, C.A., (1992). Biodegradability of plastics. *Bioscience*, 42(9).
36. Pan, L., y Gu, J. D., (2007). Characterization of aerobic bacteria involved in degrading polyethylene glycol (PEG)-3400 obtained by plating and enrichment culture techniques. *Journal of Polymers and the Environment. Journal Of Polymers And The Environment*, 15(1), 57-65.
37. Pérez P. I., Orberá R. T., y Tamayo N. J. L., (2011). Aislamiento e identificación de *Bacillus cereus* a partir de dos variantes de arroz comercial (*Oryza sativa L.*). *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 42(3), 139-144.

38. Realpe, M. E., Hernández, C. A., y Agudelo, C. I., (2002). Especies del género *Bacillus*: morfología macroscópica y microscópica. *Biomédica*, 22(2), 106-9.
39. Reyes Carcaño, J. R., (2009). Estudio de factibilidad para la instalación de una planta recicladora de envases de PET. (Tesis de pregrado). Instituto Politécnico Nacional, México.
40. Segura, D., Noguez, R., y Espín, G., (2007). Contaminación ambiental y bacterias productoras de plásticos biodegradables. *Biotecnología*, 14(3), 361-372.
41. Seneviratne G., y Tennakoon N. (2006). Polyethylene biodegradation by a developed *Penicillium*–*Bacillus* biofilm. *Current Science*, 90(1), 20-21.
42. Shah, A. A., Hasan, F., Hameed, A., y Ahmed, S. (2008). Biological degradation of plastics: a comprehensive review. *Biotechnology advances*. 26(3), 246-265.
43. Silagro, (2015). Ficha técnica vermicomposta. [Mensaje en un blog]. Revisado en: <http://silagro.com.mx/wp-content/uploads/2015/10/Ficha-t%C3%A9cnica-del-Vermicompostade-SILagro.pdf>
44. Sonil N y Snigdha S., (2010). Biodegradability of polyethylene by *Brevibacillus*, *Pseudomonas*, and *Rhodococcus spp.* *New York Science Journal*, 3(7).
45. Sowmya, H. V., Ramalingappa, M. K., y Thippeswamy, B. (2014). Biodegradation of polyethylene by *Bacillus cereus*. *Advances in Polymer Science and Technology: An International Journal*, 4(2), 28-32.
46. Tokiwa, J.; (2009). "Biodegradability of Plastics". *National Institute of Advanced Industrial Science and Technology*, 367-377.

47. UNAM. Universitario feria de ciencias, (2010). Evaluación de la bacteria *Pseudomona* como degradador de polietileno. [Mensaje en un blog]. Revisado en: [https://www.feriadelasciencias.unam.mx/anteriores/feria18/B\\_L\\_IE%20Evaluacion\\_de\\_la\\_bacteria\\_Pseudo.pdf](https://www.feriadelasciencias.unam.mx/anteriores/feria18/B_L_IE%20Evaluacion_de_la_bacteria_Pseudo.pdf)
48. Uribe, D., Giraldo, D., Gutiérrez, S., y Merino, F. (2010). Biodegradación de polietileno de baja densidad por acción de un consorcio microbiano aislado de un relleno sanitario, Lima, Perú. *Revista peruana de biología*. 17(1), 133-136.
49. Villalba, H., (2017). Peligros ambientales del uso masivo de los plásticos. *Tecnología Industrial*. [Mensaje en un blog]. Revisado en: <https://iesvillalbahervastecnologia.files.wordpress.com/2010/02/mediomambiente-plasticos.pdf>
50. Vimala P, y Lea M. (2016). Biodegradación de polietileno con *Bacillus subtilis*. *Procedia Technology* 24, 232 - 239.
51. Webb, H., Arnott, J., Crawford, R., y Ivanova, E. (2013). Plastic degradation and its environmental implications with special reference to poly (ethylene terephthalate). *Polymers*, 5(1), 1-18.
52. Yoshida, S., Hiraga, K., Takehana, T., Taniguchi, I., Yamaji, H., Maeda, Y., y Oda, K. (2016). A bacterium that degrades and assimilates poly (ethylene terephthalate). *Science*, 351(6278), 1196-1199.
53. Zibilske, L. M., y Bradford, J. M. (2003). Tillage effects on phosphorus mineralization and microbial activity. *Soil Science*, 168(10), 677-685.

## IX. ANEXOS

**Anexo 1.** Componentes del medio base para las bacterias degradadoras de PET. (Uribe y col, 2010)

<b>Compuesto</b>	<b>Concentración (g/L)</b>
Sulfato de Amonio	1
Nitrato de Sodio	1
Fosfato acido de Potasio	1
Cloruro de Potasio	1
Sulfato de Magnesio Heptahidratado	0.2
Extracto de Levadura	0.1

**Tabla 03:** Escala de McFarland, para la concentración de cel/mL

<b>Nº</b>	<b>BaCl<sub>2</sub> 0,048M ml</b>	<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,36M ml</b>	<b>Vf ml</b>	<b>Nº Celulas</b>
0,5	0,05	9,95	10	1,5 * 10 <sup>8</sup>
1	0.1	9,9	10	3 * 10 <sup>8</sup>
2	0,2	9,8	10	6 * 10 <sup>8</sup>
3	0,3	9,7	10	9 * 10 <sup>8</sup>
4	0,4	9,6	10	12 * 10 <sup>8</sup>
5	0,5	9,5	10	15 * 10 <sup>8</sup>
6	0,6	9,4	10	18 * 10 <sup>8</sup>
7	0,7	9,3	10	21 * 10 <sup>8</sup>
8	0,8	9,2	10	24 * 10 <sup>8</sup>
9	0,9	9,1	10	27 * 10 <sup>8</sup>
10	1	9	10	30 * 10 <sup>8</sup>



**Tabla 04:** Promedios de la variación porcentual de la biodegradación del polietileno tereftalato en diferentes tipos de sustrato durante los 90 días.

TRATAMIENTO	CONTROLES (Días)					
	15	30	45	60	75	90
<b>Conejo</b>	0,136%	0,528%	1,268%	2,254%	3,342%	4,158%
<b>Vegetal</b>	0,110%	0,734%	1,292%	1,844%	3,332%	4,512%
<b>Caballo</b>	0,226%	0,944%	1,982%	2,102%	3,338%	4,298%

**Tabla 05:** Estadísticos de los valores de las variaciones porcentuales para cada tratamiento al finalizar el estudio, es decir después de los 3 meses.

TRATAMIENTO	N	Media	Desviación típica	Mínimo	Máximo
Conejo	5	4,158%	0,533%	3,51%	4,75%
Vegetal	5	4,512%	0,190%	4,26%	4,75%
Caballo	5	4,298%	0,599%	3,26%	4,72%
Blanco	5	0,106%	0,053%	0,05%	0,19%

Se observa que en la columna Sig. Todos los grupos son mayores a 0,05 a excepción del tratamiento humus de caballo que es 0,034. Por lo que las 5 variaciones porcentuales de los tratamientos con humus de conejo, vegetal y el blanco están distribuidas según una normal.

**Tabla 06:** Variaciones porcentuales entre tratamientos de los diferentes tipos de humus.

Grupo	Shapiro – Wilk	
	Estadístico	Rep Sig
<b>Conejo</b>	0.91	5 0.467
<b>Vegetal</b>	0.954	5 0.764
<b>Caballo</b>	0.757	5 0.034
<b>Blanco</b>	0.837	5 0.158

Como el  $F_c$  calculado 130,9 es mayor que el  $F_t$  estándar 3,24 para un 5% de nivel de significación, cae en la zona de rechazo la hipótesis nula, por lo que se concluye que si existe diferencia significativa entre las variaciones porcentuales promedios de los 4 tratamientos.

**Tabla 07:** Análisis de Varianza ANOVA para determinar si existe o no diferencia significativa entre los promedios de la variación porcentual

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	$F_c$	$F_t$	Sig
Tratamientos	3	66,979	22,326	130,90	3,24	0,000
Resíduos	16	2,729	0,171			
Total	19	69,708				

**Tabla 08:** Comparación en la degradación de PET entre los diferentes tipos de humus y el blanco.

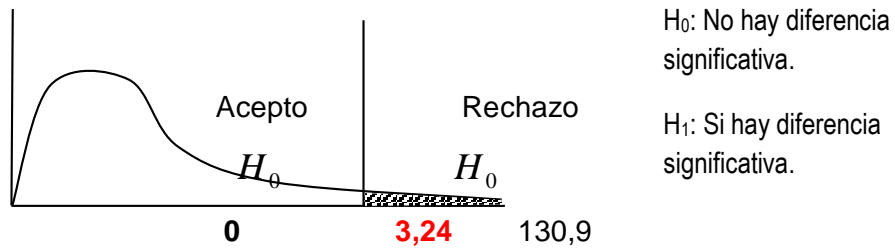
(I) grupo	(J) grupo	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Significancia
Tipos de humus				
Conejo	blanco	4,05122*	,26120	<b>0,000</b>
Vegetal	blanco	4,40565*	,26120	<b>0,000</b>
Caballo	blanco	4,19166*	,26120	<b>0,000</b>

Para determinar si existe diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos se utilizó la prueba de comparación de pares de Tukey con un nivel de significación de 5% donde se observa que en la columna 2 los promedios de las variaciones porcentuales obtenidas con los tres tratamientos conejo, caballo y vegetal son similares, es decir cualquiera de estos sustratos se puede utilizar como degradadoras de PET, sin embargo estos tres promedios son estadísticamente diferentes con el promedio del grupo control.

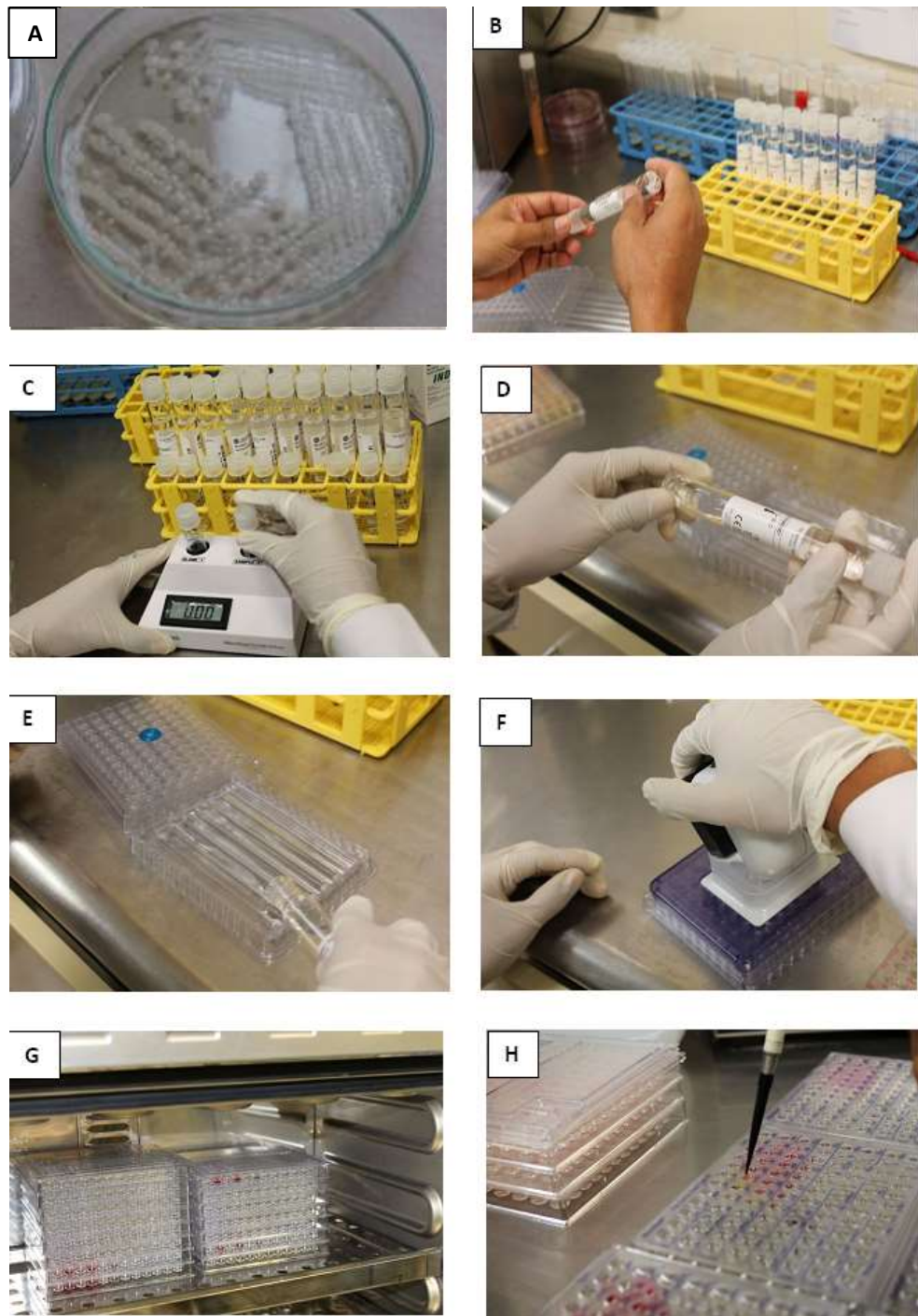
**Tabla 09:** Diferencia de degradación entre los diferentes tipos de humus y el blanco sobre el polietileno tereftalato – PET.

HSD de Tukey <sup>a</sup>			
Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
blanco	5	0,1%	
conejo	5		4,2%
caballo	5		4,3%
vegetal	5		4,5%
Sig.		1,000	0,5%

$F_c$  calculado es mayor que  $F_1$  estándar 3.24, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula; concluyéndose que si existe diferencia significativa entre las variaciones porcentuales promedios de los 4 tratamientos.



$F_c$  calculado para saber si existe o no diferencia significativa.



**Figura 08:** Procedimiento para la identificación de bacterias Gram positivas degradadoras de PET en paneles MicroScan. **A.-** Cepa bacteriana en agar nutritivo a identificar; **B.-** Cepa bacteriana en agua de inoculación; **C.-** Medición de turbidez; **D.-** Agitación de tubo; **E.-** Vertido del agua con la bacteria en la fuente; **F.-** Carga del inóculo y vaciado en los paneles **G.-** Incubación de los paneles a 37°C por 24 horas; **H.-** Adición de reactivos para las pruebas bioquímicas.



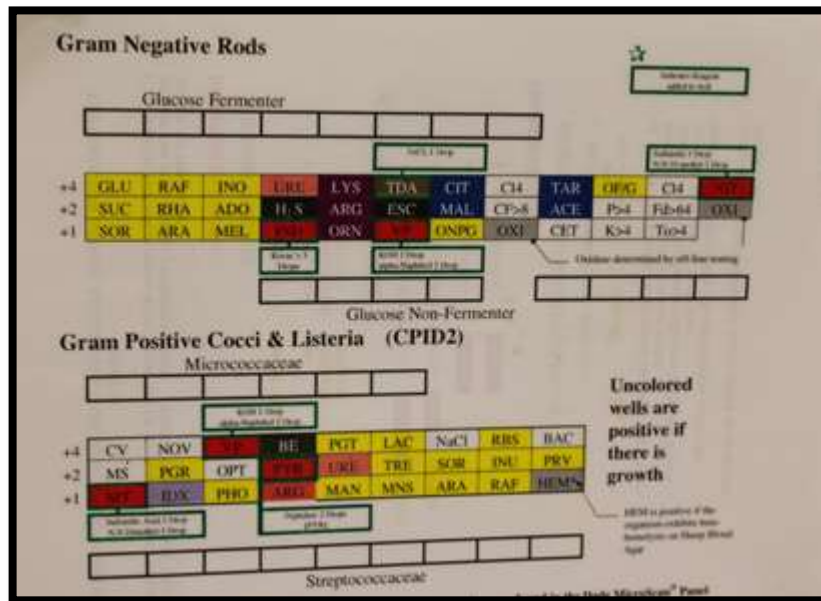
**Figura 09:** Paneles de MicroScan para prueba bioquímica de LAC, NaCl, urea, nitrato, manosa y arabinosa de las cepas del humus de conejo.



**Figura 10:** Paneles de MicroScan para prueba bioquímica de LAC, NaCl, urea, nitrato, manosa y arabinosa de las cepas del humus de caballo.

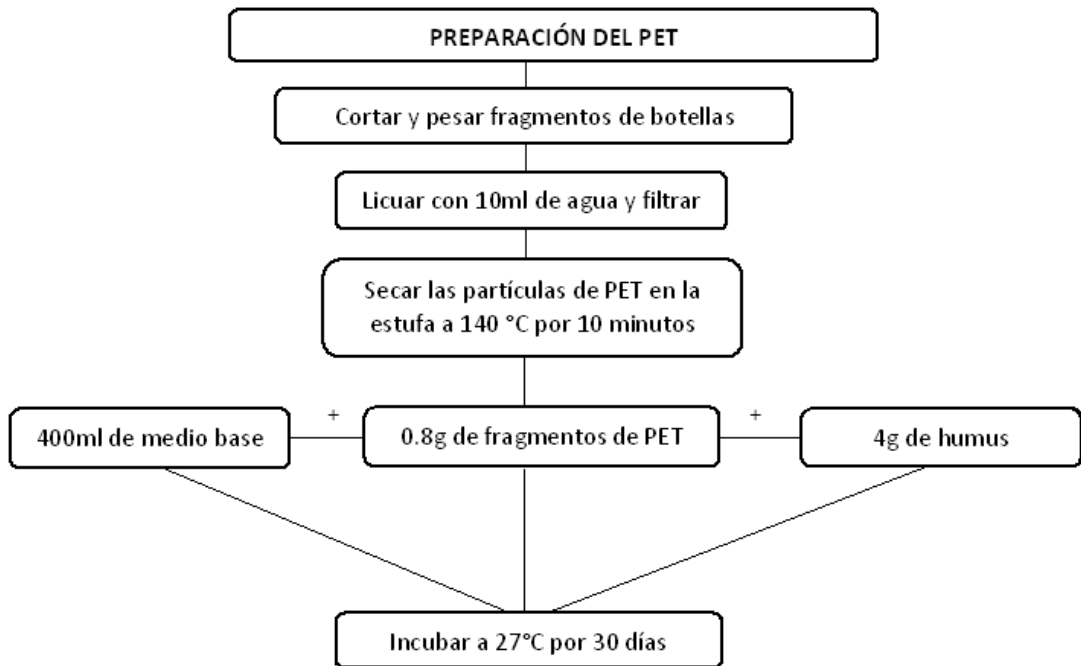


**Figura 11:** Paneles de MicroScan para prueba bioquímica de LAC, NaCl, urea, nitrato, manosa y arabinosa de las cepas del humus de vegetales.

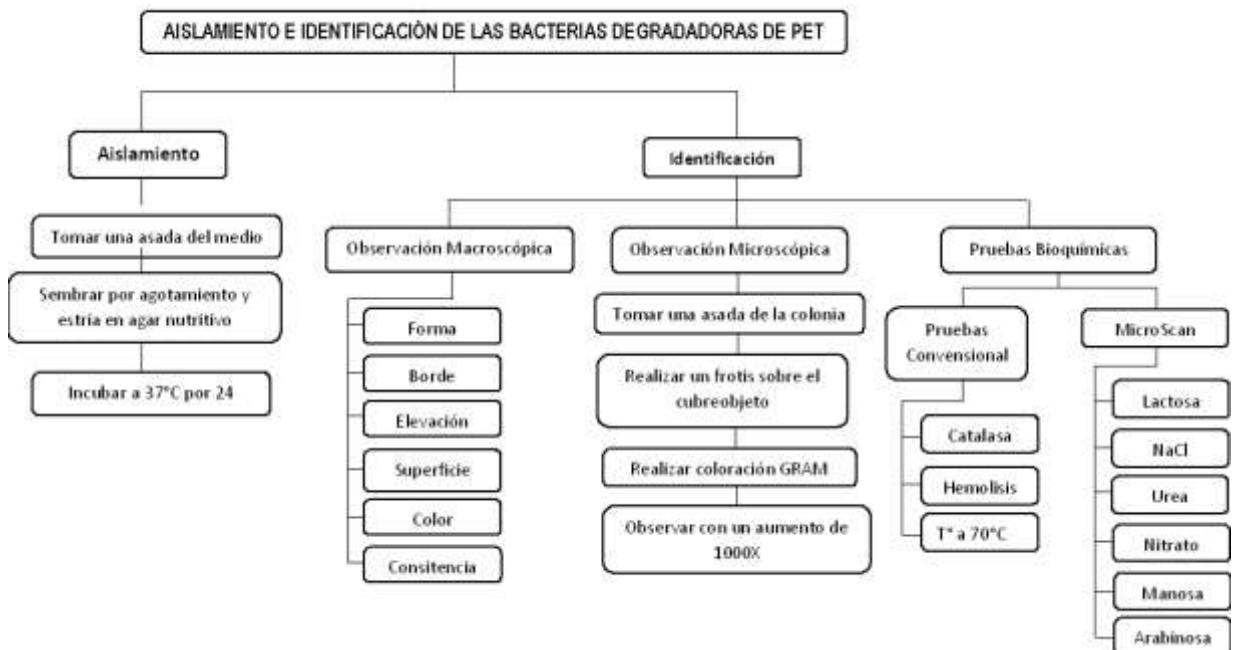


**Figura 12:** Tabla utilizada para la lectura de los resultados de los paneles de MicroScan.

**FLUJOGRAMA 01: Preenriquecimiento de las bacterias degradadoras de PET**

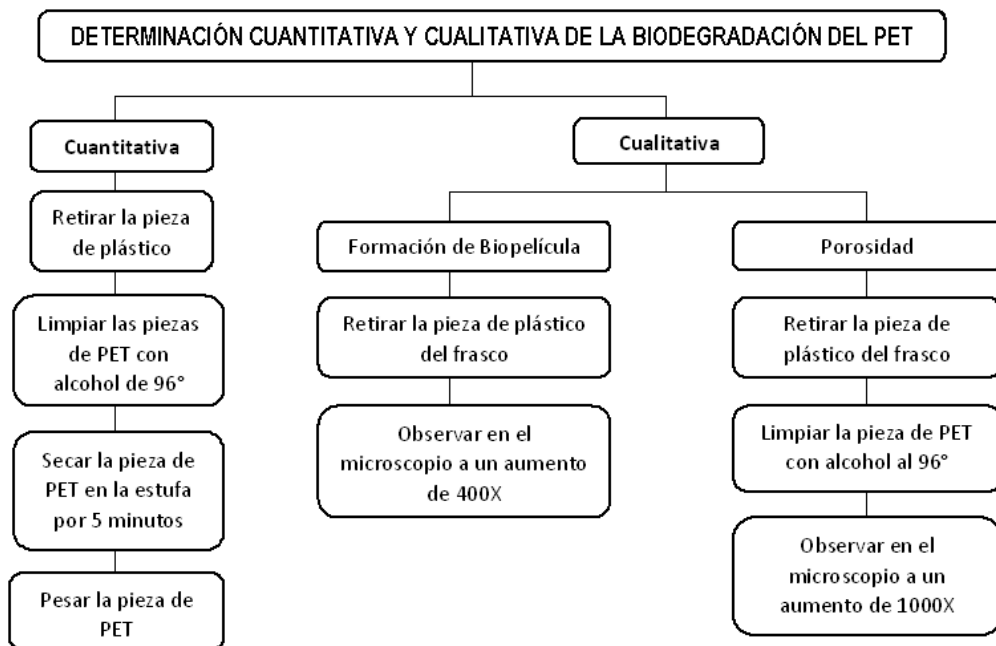


**FLUJOGRAMA 02: Aislamiento e identificación de las bacterias degradadoras de polietileno tereftalado – PET.**

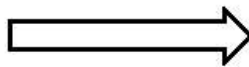




FLUJOGRAMA 03: Determinación cualitativa y Cuantitativa de la biodegradación del polietileno tereftalato - PET



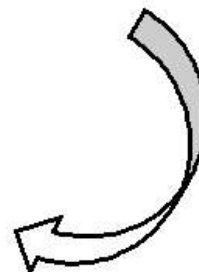
Tomar una asada del medio de cultivo



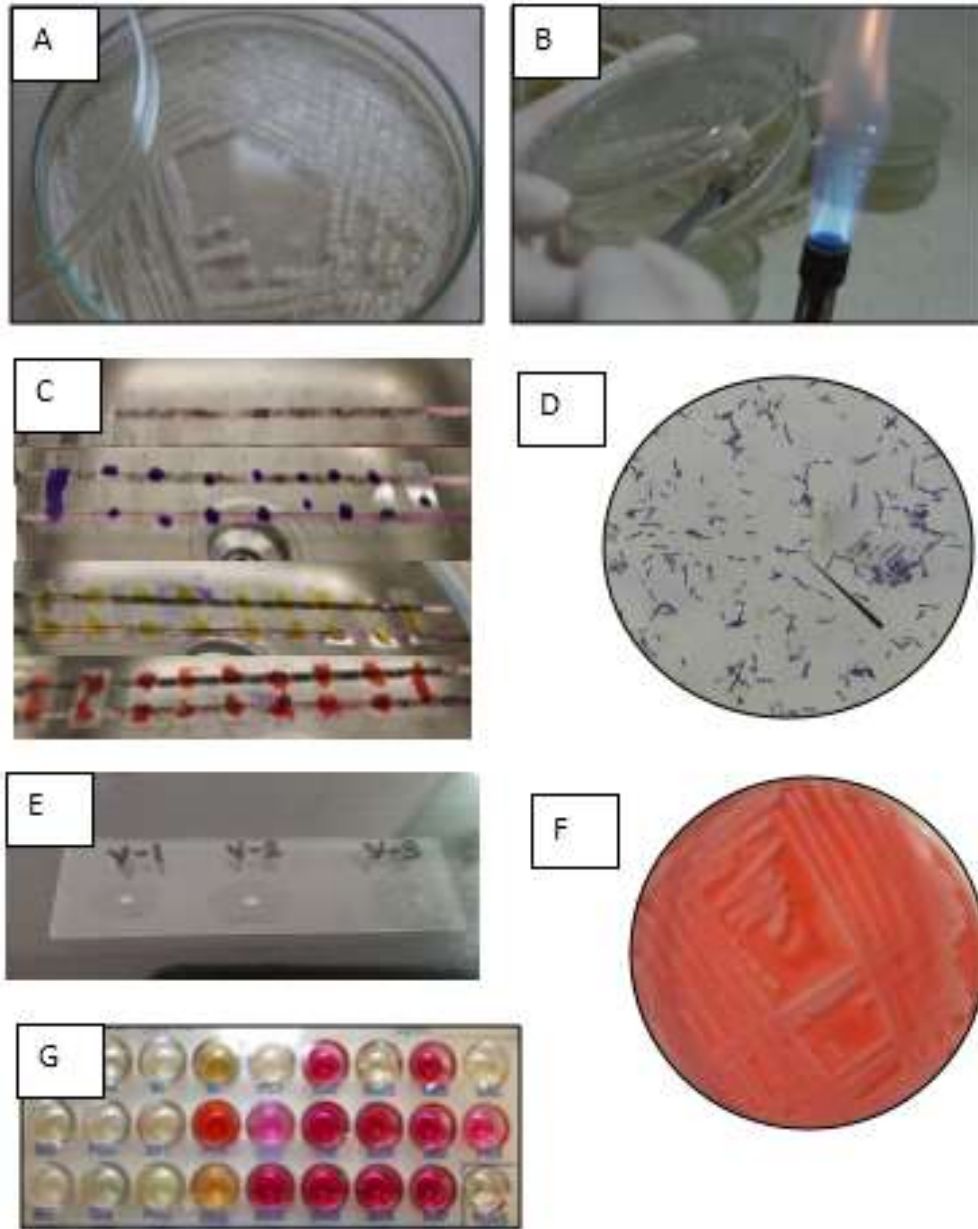
Sembrar por agotamiento y estria



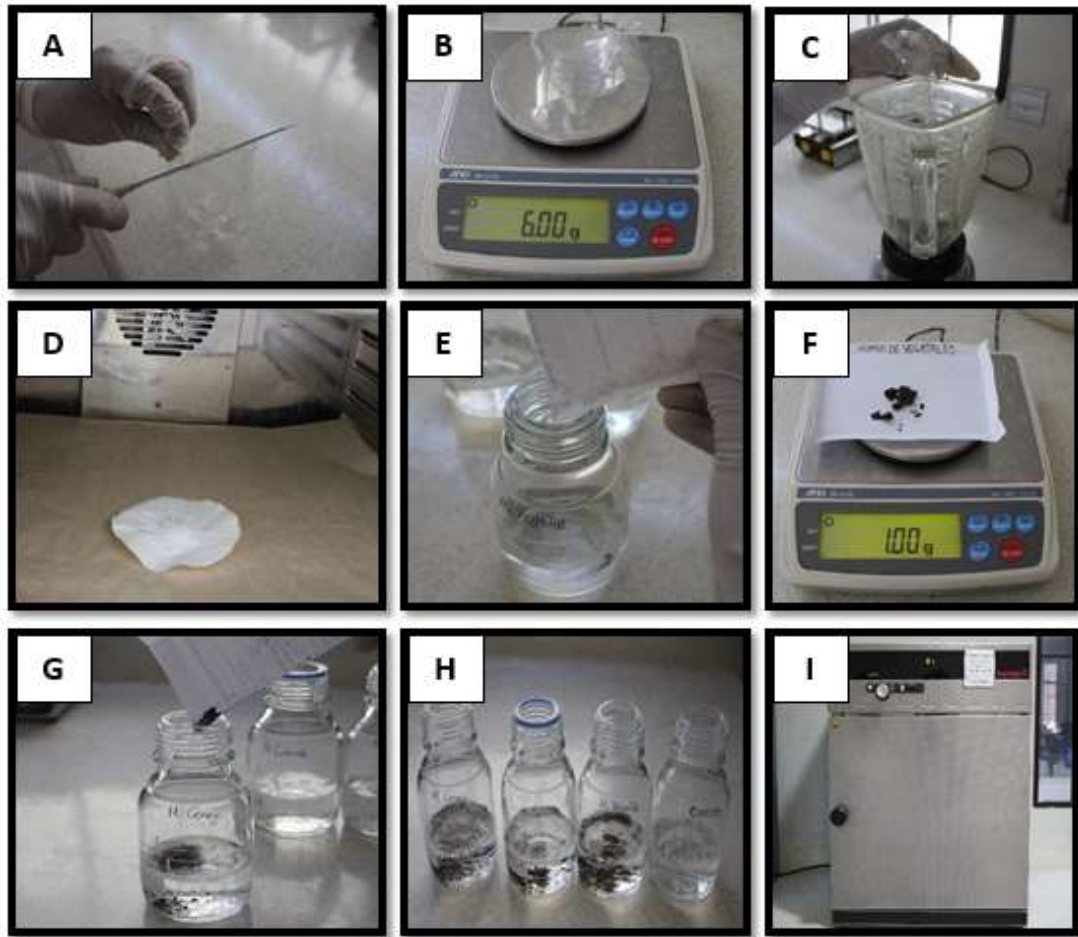
Incubar a 37°C por 24 horas



**Figura 13:** Aislamiento de las bacterias degradadoras de PET



**Figura 14:** Identificación de bacterias degradadoras de PET. **A:** Observación macroscópica. **B:** Toma de asada de colonias para realización de coloración Gram. **C:** Coloración Gram. **D:** Observación microscópica de las bacterias. **E:** Pruebas convencional de catalasa (+). **F:** Prueba convencional de hemólisis. **G:** Panel MicroScam con distintas pruebas liofilizadas.



**Figura 15:** Preenriquecimiento de las bacterias degradadoras de PET. **A.-** Cortado del PET. **B.-** Pesado del PET. **C.-** Licuado del PET. **D.-** Secado del PET. **E.-** Agregado del PET al medio base. **F.-** Pesado del humus. **G.-** Agregado del humus en el medio base. **H.-** Frascos inculados **I.-** Incubación de los frascos inoculados a 27 °C por 30 días.