



Evaluación de la degradación de pitillos oxo-biodegradables previamente tratados con fotólisis en un sistema de microcosmos, inoculado con *Phanerochaete* sp CMPUJH123.

Estudiante

María Paula Hernández Gómez

Director

Luis David Gómez Méndez, Microbiólogo M.Sc., Ph.D.

Laboratorio de Películas delgadas y nanofotónica

Laboratorio de Microbiología Ambiental y suelos

Pontificia Universidad Javeriana

Bogotá-Colombia

Codirector

Ivonne Gutiérrez Rojas, Bacterióloga M.Sc., Ph. D.

Laboratorio de Biotecnología Aplicada.

Pontificia Universidad Javeriana

Bogotá-Colombia

TRABAJO DE GRADO

PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA

FACULTAD DE CIENCIAS

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA

CARRERA DE MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL

BOGOTÁ D.C. 2021

Evaluación de la degradación de pitillos oxo-biodegradables previamente tratados con fotólisis en un sistema de microcosmos, inoculado con *Phanerochaete* sp CMPUJH123.

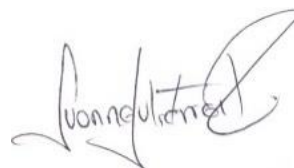
María Paula Hernández Gómez

APROBADO



Luis David Gómez Méndez.PhD.

Director



Ivonne Gutiérrez R. PhD.

Codirector



Aura Marina Pedroza R, PhD

Jurado

NOTA DE ADVERTENCIA

“La universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Solo velará porque no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y porqué las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vea en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia”

Artículo 23 de la Resolución No 13 de Julio de 1996

Agradecimientos

Agradezco inmensamente a mis padres y hermano por siempre darme todo su apoyo y cariño incondicional para lograr todos los objetivos que me planteo. A mi familia por siempre estar ahí en cada etapa que vivo brindándome ánimo y confianza para alcanzar cada meta.

Agradezco al profesor David Gómez Méndez y a la profesora Ivonne Gutiérrez Rojas por contribuir a mi formación académica, permitirme realizar este proyecto y brindarme toda su disposición y guía durante todo el proceso de realización de este.

Agradezco a Paloma Lemaitre, Sara Tibavija, María Belén Cabrera, Víctor Duarte y Alba Corredor por brindarme su amistad y apoyo, además de regalarme momentos increíbles a lo largo de esta etapa.

Agradezco a Christian Guerrero por motivarme a ser siempre una mejor persona, animarme y hacerme creer en mis capacidades.

Tabla de contenido

Resumen.....	6
1.Introducción	6
3. Marco Teórico y antecedentes	8
3.1 Pitillos oxobiodegradables	8
Justificar bien el párrafo	¡Error! Marcador no definido.
3.2.1 Fotodegradación	9
3.2.2 Biodegradación	10
3.3.1 Sustratos	13
3.3.1.2 Borra de café	13
3.3.2.2 Viruta de madera	14
4.Objetivos	14
4.1 Objetivo general	14
4.2 Objetivos específicos.....	14
5.Metodología	14
5.1 Caracterización inicial de los pitillos oxo-biodegradables.....	14
5.1.1 Grupos químicos funcionales	14
5.1.2 Prueba de hidrofobicidad.....	15
5.1.3 Prueba de rugosidad	15
5.2 Pretratamiento con fotólisis	15
5.3 Tratamiento Biológico.....	16
5.3.1Reactivación de la cepa y preparación de inóculos.....	16
5.3.2 Montaje de microcosmos.....	16
5.3.3Determinaciones.....	17
5.3.3.1 Muestreo.....	17
5.4 Evaluación del pitillo PEBD Oxo-biodegradable posterior al tratamiento biótico.....	18
5.5Análisis estadístico	18
6.Resultados	18
6.1 Caracterización fisicoquímica de los pitillos oxo-biodegradables	18
6.1.1 Grupos Químicos funcionales	18
6.1.3 Rugosidad.....	21
6.2 Caracterización e identificación de los microorganismos presentes en el sistema de microcosmos.	22
7.Discusión.....	25
8.Conclusiones	28

9.Recomendaciones.....	28
10.Bibliografía	28

Índice de Figuras

Figura 1. Estructura del polipropileno.....	3
Figura 2. Estructuras de de polietileno	4
Figura 3. Mecanismo de fotodegradación.....	5
Figura 4. Mecanismo de biodegradación	7
Figura 5. Unidad de fotólisis	10
Figura 6. Espectroscopía infrarroja de los fragmentos del pitillo.	13
Figura 7. Ángulo de contacto de los fragmentos de pitillo.	14
Figura 8. Microscopía de fuerza atómica (AFM) de los fragmentos de pitillo.	15
Figura 9. Valor promedio de rugosidad y el ángulo de contacto de los fragmentos de pitillo prístino, post fotólisis y post tratamiento biológico.....	16
Figura 10. Macroscopías y microscopías de los microorganismos presentes en los microcosmos...16	
Figura 11. Crecimiento de <i>Phanerochaete</i> sp, <i>Geotrichum</i> sp, <i>R. mucilaginosa</i> , <i>S. ficaria</i> , <i>Talaromyces</i> sp en los sistemas de microcosmos	18
Figura 12.Colonización de los fragmentos por micelio fúngico	19

Resumen

En los últimos años se ha incrementado el uso de plásticos debido a las mejoras del material para hacerlo altamente resistente a diferentes condiciones ambientales e incluso a la acción de los microorganismos. Lo anterior conduce a la difícil degradación de los plásticos ordinarios y como consecuencia una alta preocupación ambiental mundial frente al impacto negativo de estos desechos. Particularmente, uno de los elementos hecho de polímeros sintéticos, como el polipropileno (PP) y polietileno (PE) son los pitillos plásticos, dichos utensilios son desechados sin atravesar un proceso adecuado de reciclaje o reúso, por lo que a cambio el mercado rápidamente comenzó a ofrecer alternativas como los pitillos plásticos oxo-biodegradables que contienen pro-oxidantes en su composición, lo que lleva a establecer técnicas físico químicas como la degradación con luz UV y el estudio de microorganismos potencialmente degradadores de plástico, como es el caso de *Phanerochaete* sp, hongo de podredumbre blanca que cuenta con enzimas como la manganoso peroxidasa y la lignino peroxidasa. Es por esta razón que este estudio plantea como objetivo evaluar la degradación de pitillos oxobiodegradables (OB) pretratados con luz ultravioleta (UV) en un sistema de microcosmos inoculado con *Phanerochaete* sp. Para cumplir con lo mencionado se tomaron fragmentos de pitillos oxo-biodegradables que fueron expuestos por 300 horas a luz UV y posteriormente expuestos por 72 días, en sistema de microcosmos, para llevar a cabo un tratamiento biológico con *Phanerochaete* sp. La degradación fue medida empleando la técnica FTIR, AFM y técnica de ángulo de contacto, adicionalmente se realizó la caracterización de otros microorganismos que se encontraban en el sistema. Se determinó que el pretratamiento planteado de fotólisis no genero cambios importantes en la superficie de los fragmentos de pitillo oxo-biodegradable, se evidenció la colonización de micelio fúngico y la transformación particular de los fragmentos de pitillo oxo-biodegradables en la réplica TR4 que contó con la presencia de *Serratia ficaria*, *Phanerochaete* sp, *Talaromyces* sp, y en menor medida de *Rhodotorula mucilaginosa* y *Geotrichum* sp , evidenciándose una disminución del ángulo de contacto de $(65 \pm 5) \%$ respecto al fragmento de plástico prístino, además de la oxidación del material detectado por movimientos de tensión **O-H** a $(3300 \pm 10) \text{ cm}^{-1}$ y enlaces **C-OH** a $(1260 \pm 10) \text{ cm}^{-1}$ y a $(670 \pm 10) \text{ cm}^{-1}$ a demás de movimientos de tensión **C=O** $(1625 \pm 10) \text{ cm}^{-1}$. A partir de lo anterior se concluye que pretratamiento planteado de fotólisis no apporto a la degradación del material como se esperaba, sin embargo estos cambios del TR4 son atribuidos a un efecto sinérgico entre los microorganismos presentes en la réplica TR4.

1.Introducción

Más de medio siglo atrás los polímeros sintéticos empezaron a sustituir diferentes materiales naturales, hasta que el plástico se volvió indispensable en nuestra vida, siendo este el polímero sintético de mayor utilidad, compuesto por elementos extraídos de combustibles fósiles como el carbón, petróleo y gas natural [1]. En la actualidad el plástico tiene una amplia gama de aplicaciones en industrias como la de alimentos, transporte, construcción, farmacéutica, detergentes y dispositivos médicos, entre otros [2]. Su uso se ha incrementado ya que con el tiempo la estabilidad y durabilidad del material ha mejorado continuamente haciendo que este se vuelva altamente resistente a diferentes condiciones ambientales e incluso a la acción de los microorganismos. Lo anterior conduce a la difícil degradación de los plásticos ordinarios y como consecuencia una alta preocupación ambiental mundial frente al impacto negativo de estos desechos. Particularmente, uno de los elementos hecho de polímeros sintéticos, como el polipropileno (PP) y polietileno (PE), al que mayor atención se le ha prestado son los denominados pitillos plásticos. Según lo reportado en 2019 por la organización Ocean Conservancy, los pitillos son el quinto elemento que más se recolectó en las costas de todo el mundo con una cifra de 942,992 unidades, [3]. Particularmente, en Colombia para el 2019, mediante la encuesta anual manufacturera, el DANE registró que para ese mismo año se consumieron alrededor de 6 mil toneladas de pitillos [4], lo que da una idea del impacto que puede llegar a tener este utensilio, al ser desechado sin atravesar un proceso adecuado de reciclaje o reúso.

Frente a estas cifras y el impacto ambiental que tiene los pitillos plásticos, se han ido implementado varios enfoques para reducir y controlar las emisiones de residuos plásticos, especialmente en entornos marinos [2], lo que ha incidido en la disminución del uso de pitillos plásticos y a cambio el mercado rápidamente comenzó a ofrecer soluciones sostenibles como los pitillos plásticos biodegradables. Entre estos encontramos los pitillos oxo-biodegradables (OBD) que sufren depolimerización al incorporar iones metálicos u óxidos como óxido de titanio en su estructura, que catalizan la termo/fotooxidación del polímero [5]. Cuando en el ambiente el material se somete a altas temperaturas o radiación ultravioleta (UV), estos pro-oxidantes se degradan y producen radicales libres que reaccionan con el O₂ provocando así ruptura en la molécula con la formación de compuestos de bajo peso molecular [6]. Si bien estos plásticos se “degradan” más rápido que los convencionales no es posible considerarlos biodegradables ya que estos presentan el mismo problema de degradación que los tradicionales e incluso peor ya que cuentan con aditivos artificiales (plastificantes, tintes o rellenos) que tampoco se biodegradan por lo que estos plásticos simplemente se fragmentan en pequeños trozos, denominados microplásticos, que persisten en el ecosistema marino confundiendo con alimentos que son ingeridos por una variedad de especies marinas que incluye corales, fitoplancton, zooplancton, erizos de mar, langostas, peces, etc. Finalmente se transfieren a un nivel tropical superior, provocando lesiones y la ingestión de dichos fragmentos que pueden ser letales para la vida marina [1].

En consecuencia, es indispensable encontrar estrategias que permitan un tratamiento adecuado de los pitillos oxobiodegradables de tal forma que se generen cambios en las propiedades físicas y químicas de estos que faciliten su degradación bajo procesos físicos, químicos y biológicos. De esta forma a largo plazo se ofrecería una solución para reducir los

efectos contaminantes en el medio ambiente y el daño que causa los pitillos oxobiodegradables y los micro plásticos que se derivan de los mismos, a los organismos que la ingieren.

En este contexto, el presente trabajo pretendió evaluar el efecto del hongo de podredumbre *Phanerochaete sp.* CMPUJH123 y otros microorganismos presentes en un microcosmos no estéril, sobre pitillos oxo-biodegradables pretratados con fotólisis.

3. Marco Teórico y antecedentes

3.1 Pitillos oxobiodegradables

Los plásticos son materiales poliméricos que se componen de moléculas químicas de gran tamaño en las que se repiten unidades de un compuesto denominado monómero. Dependiendo del método de polimerización y del monómero, los plásticos tienen estructuras químicas variadas que hacen que, en general, se clasifiquen en dos grandes grupos: los termoplásticos y los termoestables [7]. Particularmente los termoplásticos son empleados para la elaboración de diferentes elementos, incluidos los pitillos plásticos los cuales se elaboran a partir del polipropileno (PP) y el polietileno (PE) principalmente [8].

El PP es un termoplástico que es obtenido por la polimerización del propileno, subproducto gaseoso de la refinación del petróleo. Todo esto desarrollado en presencia de un catalizador, bajo un cuidadoso control de temperatura y presión. Este polímero se puede clasificar en tres tipos (homopolímero, copolímero *random* y copolímero de alto impacto), los cuales pueden ser modificados y adaptados para determinados usos [9].

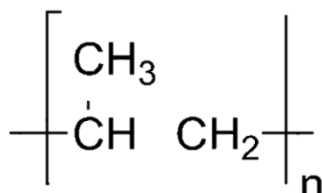


Figura 1. Estructura de polipropileno[9]

Por otro lado, el PE de baja densidad (PEBD) es un polímero sintético derivado del petróleo; entre sus propiedades se destacan la tenacidad, ductilidad, excelente resistencia química y baja permeabilidad al vapor de agua (naturaleza hidrofóbica). Por consiguiente, este material es uno de los más usados para la elaboración de diferentes utensilios de uso común como son pitillos, bolsas, platos desechables, entre otros, sin embargo, este polímero no es biodegradable debido a que, al estar compuesto por una cadena larga de átomos de carbono (enlaces C-C y C-H) le dan la propiedad de ser una molécula apolar y así mismo, es difícil que estos átomos reaccionen con otros compuestos permitiendo su degradación [7].

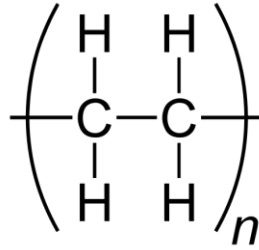


Figura 2. Estructura de polietileno[7].

Por su parte, los polímeros oxobiodegradables son aquellos que contienen aditivos que causan su degradación como resultado de una oxidación química de las cadenas de polímeros de los plásticos producida bajo ciertas condiciones tales como la radiación de rayos ultravioleta (UV) o la exposición al calor. Así, se argumenta que, en una segunda fase, los fragmentos de bajo peso molecular resultantes experimentan, eventualmente, la biodegradación y permiten que la descomposición del plástico que llevaría 400 años tenga una duración de solo 18 meses [10]. Sin embargo, existen investigadores que afirman que, cuando se degradan no desaparecen de la naturaleza, sino que se fragmentan, ya que los aditivos debilitan las propiedades térmicas y mecánicas del plástico favoreciendo el rompimiento y la sensibilidad en la foto y termo oxidación del polímero. Los aditivos prooxidantes no mineralizan el polímero, sólo favorecen la fragmentación y posterior liberación de algunos compuestos que, bajo condiciones específicas, pueden contribuir a la degradación del plástico a compuestos asimilables por microorganismos [10].

3.2 Métodos de degradación de plásticos oxobiodegradables

La degradación de los plásticos oxobiodegradables puede clasificarse en abiótica o biótica; la primera considera el deterioro causado por factores ambientales como temperatura, humedad, radiación UV y daños mecánicos [11] mientras que la degradación biótica, se define como la capacidad de un microorganismo para causar deterioro en el material potenciando la degradación abiótica de manera química, física o enzimáticamente [12]. La degradación causada por ambos métodos se analiza por alteraciones en las características mecánicas, ópticas o eléctricas, agrietamiento, fisión, corrosión, decoloración, fase separación, transformaciones químicas y formación de nuevos grupos funcionales [13].

3.2.1 Fotodegradación

La exposición a la radiación (UV) o visible, puede causar una degradación significativa de muchos materiales. Dicha radiación provoca una degradación fotooxidativa que da como resultado la rotura de las cadenas poliméricas, produciendo radicales y disminuyendo el peso molecular del material [14], de tal forma que se producen entrecruzamientos, grupos no saturados y separación de grupos laterales para generar, al final, compuestos volátiles. Este proceso ocurre mediante la absorción de luz, proporcionando fotones con cierta cantidad de energía, que varía según la longitud de onda, causando la disociación de enlaces que conllevan a la ruptura del polímero. Tan pronto ocurre el proceso fotolítico, se forman

radicales libres que reaccionan en presencia de oxígeno atmosférico llevando a cabo reacciones de autooxidación [15].

De esta oxidación se obtienen pequeños fragmentos de polímeros más hidrofílicos que el original y que a su vez, puedan ser metabolizados por los microorganismos mediante la ruta de β -oxidación. El daño por radiación UV es comúnmente la razón principal de la decoloración de tintes y pigmentos, intemperismo, coloración amarillenta de los plásticos, pérdida de brillo y propiedades mecánicas (agrietamiento) del material [15].

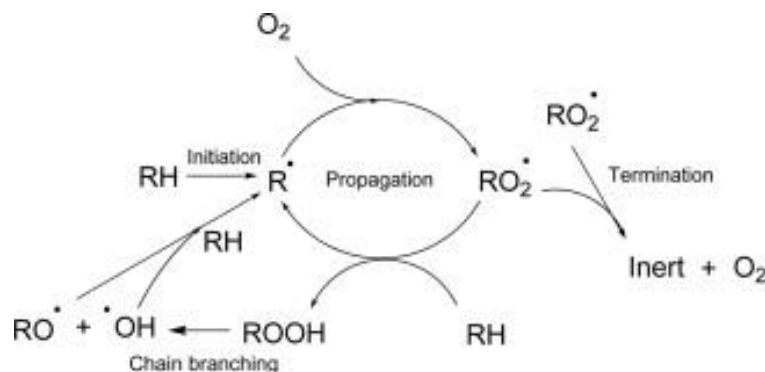


Figura 3. Mecanismo de la fotodegradación [6]

3.2.2 Biodegradación

Las alternativas biológicas para degradar el plástico involucran tratamientos con microorganismos ya que estos tienen la capacidad de producir enzimas que catalizan reacciones de oxidación-reducción promoviendo la degradación del polímero. Sin embargo, se sabe que, en el caso de los polímeros sintéticos, estos son resistentes a dichas enzimas a causa de su hidrofobicidad, evitando que se lleve a cabo una hidrólisis. Además, su alto peso molecular impide que el microorganismo sea capaz de asimilarlo [16][17]. Sin embargo, como se ha mencionado anteriormente, se plantea que la adición de prooxidantes favorece el fraccionamiento de los polímeros, permitiendo así que el material sufra un cambio en su estructura, especialmente en la superficie expuesta, pudiendo facilitar los procesos de metabolización de estos fragmentos por parte de los microorganismos [17].

Las bacterias y los hongos están implicados en la degradación de plásticos sintéticos. En cuanto a los hongos, estos llaman la atención debido a su naturaleza robusta y por ser una gran fuente de diversas enzimas como celulasas, lacasas, quitinasas, ligninasas, xilinasas, entre otras [18]. Se destacan en la literatura bacterias de los géneros *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Comamonas*, *Delftia*, y *Stenotrophomonas* con capacidad para degradar polímeros sintéticos [19], debido a su capacidad natural para degradar los ácidos grasos de cadena larga y en la formación de biopelículas, claves en la descomposición de los plásticos,

ya que promueve la adherencia de las colonias a la superficie del plástico y su persistencia sobre el material[19]. Se resalta el género de *Serratia* sp, por ser una enterobacteria oportunista que se reconoce por la producción de enzimas como DNAsas, lipasas, gelatinasas y quitinasas, además de su uso para la biorremediación de lugares contaminados por su capacidad de crecer en presencia diferentes compuestos xenobióticos, especialmente el petróleo y así contribuir a su degradación [20][21].

Igualmente, se reportan en la literatura hongos filamentosos de los géneros: *Aspergillus* sp, y *Fusarium* sp que han demostrado ser capaces de contribuir a la despolimerización del PE después de haber realizado un pretratamiento tanto de luz UV como térmico, permitiendo que polímero fuera más sensible a la biodegradación [19]. Destacando adicionalmente los hongos *Geotrichum* sp y *Talaromyces* sp como acompañantes de *Phanerochaete* sp en este estudio, ambos identificados como hongos ambientales. Por su parte *Geotrichum* sp reconocido por ser un patógeno oportunista de distribución cosmopolita, hallado en suelos, aguas, aire, detritos, plantas, etc. Recientemente también se ha mencionado su capacidad para degradar CDs y producir enzimas como la aril, alcohol oxidasa que actúa sobre las moléculas derivadas de la lignina, así como sobre los metabolitos fúngicos aromáticos [22][23]. Por su parte *Talaromyces* sp, un hongo anteriormente clasificado como *Penicillium* sp, es un microorganismo de amplia distribución y con una alta actividad enzimática de enzimas como xilanasas y celulasas, estudiadas para la degradación de residuos lignocelulósicos de los derivados de arroz y maíz [24]. Por otra parte, también se destaca en este estudio la levadura *Rhodotorula* sp, esta se caracteriza por ser un microorganismo ubicuo de amplia distribución tanto en ambientes terrestres como acuáticos, razón por la cual también se ha estudiado su uso en degradación de metales pesados e hidrocarburos aromáticos [25][26].

Por otro lado, entre los microorganismos más estudiados se encuentran los hongos de podredumbre blanca (HPB), los cuales se destacan por tener la habilidad de producir enzimas oxidativas que actúan sobre diversos sustratos que tienen en su estructura compuestos aromáticos, alifáticos y fenólico. Dentro de las enzimas que sintetizan dichos hongos se encuentran las lacasas, manganeso-peroxidasa y lignina-peroxidasa que degradan la molécula de lignina a compuestos químicos simples que se introducen en su metabolismo como fuente de carbono. Las enzimas mencionadas tienen un mecanismo catalítico de baja especificidad, por lo que pueden mineralizar una amplia gama de moléculas orgánicas, que rompen los enlaces éter y carbono-carbono que retienen el tipo de monómero básico de lignina mediante procesos oxidativos [27]. Como resultado de esta oxidación se obtienen pequeños fragmentos del polímero más hidrofílico que el original y que en seguida, puedan ser metabolizados por los microorganismos mediante una ruta de β -oxidación. Por lo a que, a partir de dicha reacción, resultan dos carbonos acetyl CoA que posteriormente entran al ciclo de los ácidos tricarbónicos para, finalmente, obtener dióxido de carbono y agua [16].

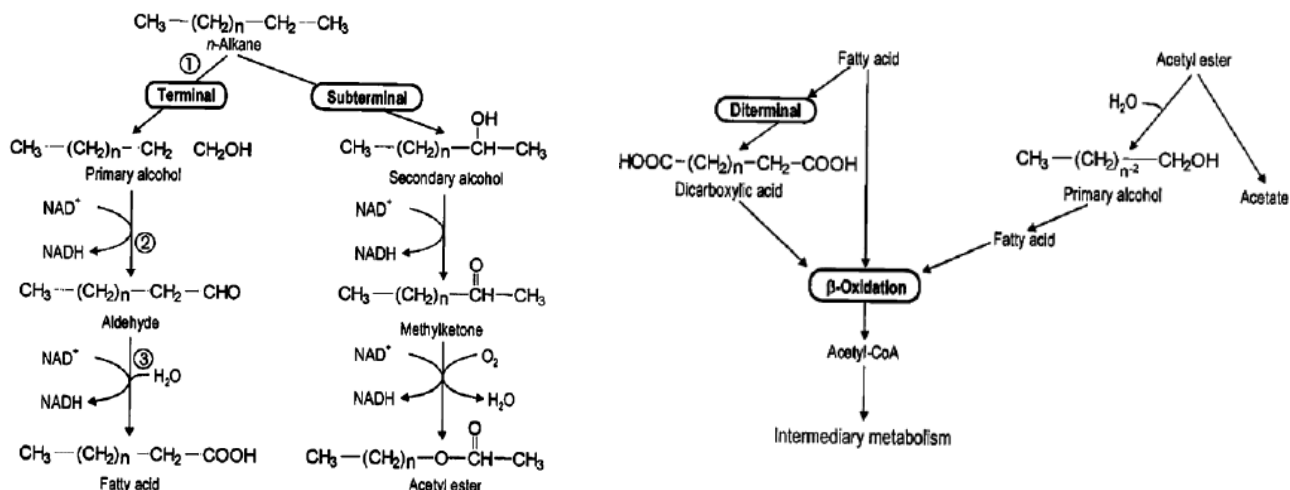


Figura 3. Mecanismo de biodegradación [14].

La biodegradación del PEBD ha sido investigado por varios autores [28][29][30], encontrando diversos métodos potenciales que contribuyen en la degradación del polímero, especialmente, con el uso de hongos de podredumbre blanca como *Pleurotus ostreatus* y *Phanerochaete chrysosporium* en conjunto con tratamientos fisicoquímicos que potencien al tratamiento biológico. Mukherjee-Kundu *et. al.* (2014) realizaron un estudio usando *P. chrysosporium* para la degradación de bolsas de PE oxidadas químicamente con dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$), este primer tratamiento resultó en un aumento de la producción de compuestos carbonilo lo que sugiere que se da la introducción de grupos polares en la columna vertebral de polietileno que conduce a un cambio en la naturaleza hidrofóbica en una hidrofílica [28]. Adicionalmente, en este mismo estudio se determinó la presencia de iones carboxilato mediante espectroscopía infrarroja, observando así el surgimiento de un pico a los 1543 cm^{-1} , lo que indica que la molécula se está oxidó y su hidrofobicidad disminuyó con el tratamiento planteado. Además de esto, se evidenció la presencia de grietas en el material, las cuales aumentaban tanto en tamaño como en número con el aumento en la concentración de $K_2Cr_2O_7$ [28]. Además, se realizó una microscopía electrónica de barrido mediante la cual determinaron que el hongo logró colonizar la superficie del PE al observarse hifas sobre la lámina, lo que lo llevo a concluir que *P. chrysosporium* puede degradar láminas de polietileno oxidadas [28].

Por otra parte, Gómez, L *et. al.* (2018) evaluaron la biodegradación de láminas de PEBD pretratado con plasma de oxígeno, empleando el hongo *Pleurotus ostreatus*, en el que obtuvieron como resultado que este hongo de podredumbre blanca fue capaz de colonizar la superficie del polímero pretratado por lo que permitió un cambio en la rugosidad de la superficie; adicionalmente, disminuyó la hidrofobicidad del polímero y permitió la formación de grupos carbonilo y carboxilo [29].

Por su parte, Rodriguez, E (2021) evaluó la biotransformación de pitillos PEBD oxobiodegradables pretratado con luz UV y empleando el hongo *Phanerochaete sp.*,

observando que el tratamiento abiótico permitió la formación de enlaces O-H y que el hongo fue capaz de colonizar y transformar los fragmentos de pitillo. Adicionalmente, se evidenció que *Phanerochaete sp.* tuvo un mejor crecimiento en los tratamientos que incluían tanto borra como corteza de pino (15 g corteza y 5 g borra de café, 10 g corteza y 10 g borra de café, 5 g corteza y 15 g borra de café) debido a la complementación nutricional que le proporcionaba estos sustratos [30].

A partir de los resultados obtenidos por los estudios mencionados, se conoce que la combinación de un tratamiento abiótico como lo es la fotólisis y la biodegradación mediada por *Phanerochaete sp.*, pueden favorecer la degradación de pitillos OB.

Igualmente, se contempla como un factor de gran importancia el sistema en cual se lleve a cabo la transformación del material. Una forma particular de monitorear, controlar y evaluar la degradación del plástico OB son los sistemas de microcosmos, el cual se considera un tipo de fermentación en solida modificado que facilita el crecimiento de microorganismos sobre sustratos sólidos y bajo condiciones controladas de humedad, pH, temperatura y aireación [31]. Dentro del sistema de microcosmos se puede llevar a cabo la biotransformación de materiales sólidos orgánicos e inorgánicos, con diferentes grados de complejidad y estructura química, proponiendo una estrategia para la transformación de biomasa lignocelulósica y a su vez la co-transformación de plásticos [32] y el crecimiento del microorganismo, de tal forma que se logre aumentar la biodegradación del material [33]. Por lo que en estudios previos ya se ha visto que el diseño de sistema SSF a nivel de microcosmos favorece el crecimiento de HPB como *P. ostreatus*, al proporcionarle una composición rica en materia lignocelulósica, sustrato de las enzimas lignolíticas, estas permiten la biotransformación de ambos residuos por co-metabolismo del hongo [34]. Por lo anterior, es importante conocer las condiciones que favorecen el metabolismo de los hongos, entre ellos el sustrato adecuado para propiciar su crecimiento.

3.3.1 Sustratos

3.3.1.2 Borra de café

La borra de café es un subproducto derivado de la comercialización del grano tostado que se obtiene durante la preparación de la bebida [35]. En Colombia se producen aproximadamente 22.000 toneladas por año de borra y del cual, solo el 23 % es aprovechado como combustible para las calderas en la generación de vapor de agua y el otro 60 % finaliza en los rellenos sanitarios [36]. Debido a que la borra de café puede llegar a obtener una concentración significativa de compuestos polifenólicos, es un residuo clasificado como material lignocelulósico constituido principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina acompañado, en menor cantidad, por proteínas, nitrógeno orgánico, aceites y lípidos [37].

Adicionalmente, se conoce que la borra de café contiene 16.21 % de lignina y 28.05 % de celulosa [38], lo que indica que este sustrato favorece el crecimiento del hongo *Phanerochaete sp.*, proporcionando así los nutrientes y microelementos para su metabolismo y así contribuir la degradación del polímero contaminante [30].

3.3.2.2 Viruta de madera

Como parte de los residuos que genera la producción de madera a partir de pino, se encuentra el aserrín, la viruta y corteza. Además del polvo, en el proceso de aserrado se genera la viruta, que es un fragmento de material residual con forma de lámina curvada o espiral [39] Se caracteriza por tener bajo contenido de nitrógeno y alto contenido de carbono por la presencia de compuestos como celulosa (32.09%), hemicelulosa (14.22 %) y lignina (30.9 %) los cuales representan una gran porción de la composición química de la viruta e indica que este sustrato es apto para el desarrollo de hongos de podredumbre blanca como *Phanerochaete* sp.

4.Objetivos

4.1 Objetivo general

Evaluar la degradación de pitillos oxobiodegradables pretratados con luz ultravioleta en un sistema de microcosmos inoculado con *Phanerochaete* sp CMPUJH123.

4.2 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto del pretratamiento con fotólisis UV sobre pitillos oxobiodegradables
- Evaluar el efecto del tratamiento biológico sobre los pitillos oxo-biodegradables pretratados.

5.Metodología

5.1 Caracterización inicial de los pitillos oxo-biodegradables

A partir de 60 pitillos plásticos oxo-biodegradables, donados por una empresa productora de pitillos en la ciudad de Bogotá, se hicieron cortes longitudinales y transversales para obtener fragmentos de $(3.0 \pm 0.1 \times 1.5 \pm 0.1)$ cm, posteriormente estos fueron alisados mediante la aplicación de calor indirecto y se les realizaron las siguientes caracterizaciones:

5.1.1 Grupos químicos funcionales

Se determinó mediante espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) acoplado a reflectancia total atenuada (ATR) haciendo uso de un espectrofotómetro Shimadzu™ MIRacle 10. Los parámetros utilizados en este estudio fueron: Measurement mode: % transmittance, Apodization: Happ-Genzel, No. of scans:20, Resolution: 4.0, Range: 500-4000 cm^{-1} [25].

5.1.2 Prueba de hidrofobicidad

Se determinó la hidrofobicidad de los fragmentos mediante la técnica de ángulo de contacto estático, adicionando, sobre las láminas, tres gotas de agua destilada con un volumen de 30 μL y con ayuda de una cámara JVC full HD que se encontraba a una distancia focal de 10 cm y con un zoom de 6X, se tomaron las fotografías de los fragmentos para determinar el ángulo de contacto mediante la siguiente ecuación [25]:

$$\theta = \arcsin \frac{4bh}{4h^2 + b^2} \quad (1)$$

Donde:

- θ =El valor del ángulo de contacto
- b =la base del perfil de la gota
- h =altura (h) del perfil de la gota

5.1.3 Prueba de rugosidad

A un lote de 10 fragmentos pitillos oxo-biodegradables, se les determinaron la rugosidad mediante el uso de un microscopio de fuerza atómica Nanosurf™ easyScan en modo contacto con los siguientes parámetros: Size: 50 μm , Set point: 20 nN; P-Gain: 1000; I-Gain: 100; D-Gain: 0 [25].

5.2 Pretratamiento con fotólisis

Los fragmentos de pitillo fueron irradiados con dos lámparas de 15 W con luz U.V.C(200-280 nm) por 300 horas, a una distancia de 8 cm entre la lámpara y los fragmentos. Posterior al pretratamiento, se realizó de nuevo la caracterización según el numeral 5.2.

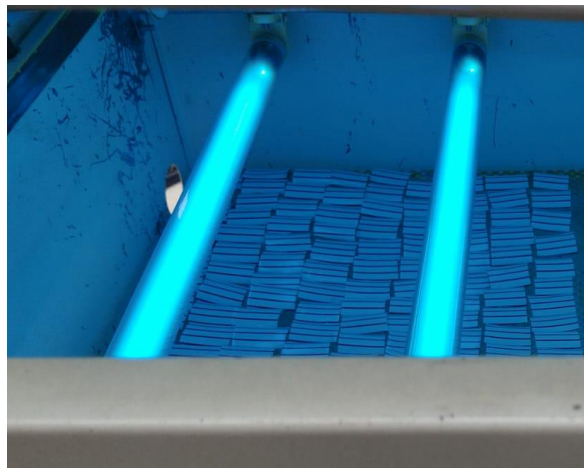


Figura 5. Unidad de fotólisis

5.3 Tratamiento Biológico

5.3.1 Reactivación de la cepa y preparación de inóculos

Se solicitó la cepa de *Phanerochaete* sp CMPUJH123 a la colección de microorganismos de la Pontificia Universidad Javeriana, la cual, se entregó en agar PDA. Posteriormente se realizaron siembras de la cepa en agar salvado de trigo [Composición para 1 L: 175 g de salvado de trigo, 10 g de glucosa, 2 g de extracto de levadura, 5 g de peptona, 0.05 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.076 g de $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0.1 g de KH_2PO_4 , 0,1 g de cloranfenicol, 20 g de agar], posteriormente las cajas se llevaron a incubación por 10 días a 28 °C [25]. Luego, se realizó el raspado del micelio de las cajas añadiendo 5 mL de solución salina, la cual fue dispuesta en un Erlenmeyer para obtener una suspensión de propágulos, seguidamente dicha suspensión se montó en cámara de Neubauer para ajustar el inóculo a una concentración de 10^6 conidios mL^{-1}

5.3.2 Montaje de microcosmos

El montaje de los microcosmos comprendió un sistema en botellas de vidrio de 750 ml de capacidad con un tampón de caucho para cierre hermético, previamente esterilizadas. Cada sistema contenía, como sustrato sólido, una mezcla de 70 ml de viruta y borra de café, medidos con una probeta y esterilizados en autoclave con dos ciclos (20 min 121°C 15 lb) de esterilización para disminuir la carga microbiana presente. Posteriormente a cada uno de los microcosmos se le adicionaron 25 fragmentos de pitillo pretratados, como co-sustrato, llenando así las botellas hasta $\frac{3}{4}$ de su capacidad. Se realizó un tratamiento el cual consistió en 10 ml de inóculo del hongo a una concentración de 10^6 conidios mL^{-1} y 10 ml de una solución de sales (SS) (en $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ fosfato de potasio 0.3, sulfato de magnesio 0.83, cloruro de calcio 0.3, sulfato de hierro 0.005, sulfato de manganeso 1.56 mg, sulfato de zinc 1.4 mg), el sustrato sólido mencionado y 25 fragmentos de pitillos, así mismo también se planteó un control *Phanerochaete* sp que contó con la mezcla de sustratos, 20 mL de SS y 25 fragmentos de pitillos. Igualmente se manejó un control sustrato que a excepción del tratamiento no contenía los fragmentos de pitillos (**Tabla 1**).

Tanto el tratamiento como los controles sustrato planteados se realizaron por cuadruplicado, a excepción del control sin *Phanerochaete* sp que se realizó por duplicado, para un total de 10 sistemas de microcosmos que se evaluaron por 72 días y se realizaron cuatro muestreos a lo largo del montaje, a los días 7, 14, 40 y 72.

Tabla 1. Tratamientos y controles planteados para el montaje de microcosmos

Tratamiento	25 fragmentos de pitillos tratados con fotólisis UV + sustrato (1:1) + <i>Phanerochaete</i> sp
Control sin <i>Phanerochaete</i> sp (CSP)	25 fragmentos pitillos tratados con fotólisis + sustrato (1:1)
Control sustrato (CS)	Sustrato (1:1) + <i>Phanerochaete</i> sp

5.3.3 Determinaciones

5.3.3.1 Muestreo

Se realizaron cuatro muestreos de los microcosmos a los días 7, 14, 40 y 72 (al finalizar el montaje), tomando 1 g de muestra compuesta (viruta y borra) de cada microcosmos, y realizando diluciones no seriadas en tubos de ensayo con 9.0 y 9.9 mL de solución salina, las cuales seguidamente se sembraron en agar PDA y agar nutritivo, de tal forma que fuera posible identificar que microorganismos se encontraban en el sistema de microcosmos.

5.3.3.2 Identificación y caracterización de microorganismos presentes en el microcosmos

Se realizó una caracterización macroscópica y microscópica de las colonias observadas en los muestreos realizados, a través de estereomicroscopio y microscopio óptico.

5.3.3.3 Identificación de hongos filamentosos y levadura

Una vez confirmadas las estructuras microscópicas, con el fin de identificar los géneros de los hongos filamentosos se emplearon las claves taxonómicas Barnett y Hunter (1998), y para hongos levaduriformes, se emplearon las claves dicotómicas para la determinación de géneros de levaduras. Posteriormente, con el fin de establecer la especie de levadura hallada, se procedió a realizar una batería API20C AUX, siguiendo el protocolo establecido por la casa comercial Biomerieux™.

5.3.3.4 Identificación de bacterias

Se realizó descripción macroscópica y microscopía de las colonias obtenidas, a través de coloración de Gram. Una vez se confirmó la morfología de las bacterias encontradas en el

muestreo, con el propósito de identificar la especie de cada bacteria, se procedió a realizar una batería API20 E para bacterias Gram negativas, siguiendo el protocolo establecido por la casa comercial Biomerieux™.

5.4 Evaluación del pitillo PEBD Oxo-biodegradable posterior al tratamiento biótico

Al finalizar los 75 días del tratamiento biótico, se extrajeron los fragmentos de pitillos para realizar una nueva caracterización haciendo uso de la metodología expuesta en el numeral 5.1. Este procedimiento se llevó a cabo para determinar si ocurrió un proceso de biodegradación del material por parte de *Phanerochate* sp y/o de los demás microorganismos presentes en el sistema.

5.5 Análisis estadístico

Para los datos cuantitativos se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para determinar la diferencia entre los resultados el cual fue complementado con la prueba de comparaciones múltiples de post-hoc prueba de Tukey. En todos los casos se trabajó con un nivel de significancia de 0.05.

6.Resultados

6.1 Caracterización fisicoquímica de los pitillos oxo-biodegradables

Tanto los resultados de grupos funcionales, como los resultados de hidrofobicidad y rugosidad, se presentan por réplicas de tratamiento y CSP.

6.1.1 Grupos Químicos funcionales

Al evaluar los fragmentos de pitillo mediante espectroscopía infrarroja, se logró observar que el espectro de los pitillos presenta tres grupos de bandas correspondientes a movimientos de tensión de los enlaces **C-H** a $(2900 \pm 10) \text{ cm}^{-1}$, de **CH₃** a $(1490 \pm 10) \text{ cm}^{-1}$, además de **CH₂** acoplados, propios de la estructura del polipropileno [40] (**figura 6 A**), lo cual se reafirma con la base de datos del equipo Shimadzu™ MIRacle 10. el cual arroja un score 928 sobre 1000 para PP. Después de realizar la fotólisis, se observaron los mismos movimientos de tensión de los enlaces mencionados anteriormente, sin embargo, se observó una disminución en el porcentaje de transmitancia, pasando de un 92 % a un 76 %. Adicionalmente, se observó la aparición de enlaces **CH₂=CH₂** a $(1740 \pm 10) \text{ cm}^{-1}$ y a $(970 \pm 10) \text{ cm}^{-1}$ (**Figura 6B**) Posterior al tratamiento biológico, se pudo ver una diferencia entre las diferentes réplicas del tratamiento y las respectivas réplicas del control sin *Phanerochaete* sp (CSPR1 y CSPR2) respecto a la profundidad de la señal. Adicionalmente se pudo ver en la réplica 4 del tratamiento (TR4) cambios importantes en la estructura química de las láminas de pitillo, evidenciándose movimientos de tensión **O-H** a $(3300 \pm 10) \text{ cm}^{-1}$ y enlaces **C-OH** a $(1260 \pm$

10) cm^{-1} y a $(670 \pm 10) \text{ cm}^{-1}$ a demás de movimientos de tensión $\text{C}=\text{O}$ $(1625 \pm 10) \text{ cm}^{-1}$ (Figura 6C).

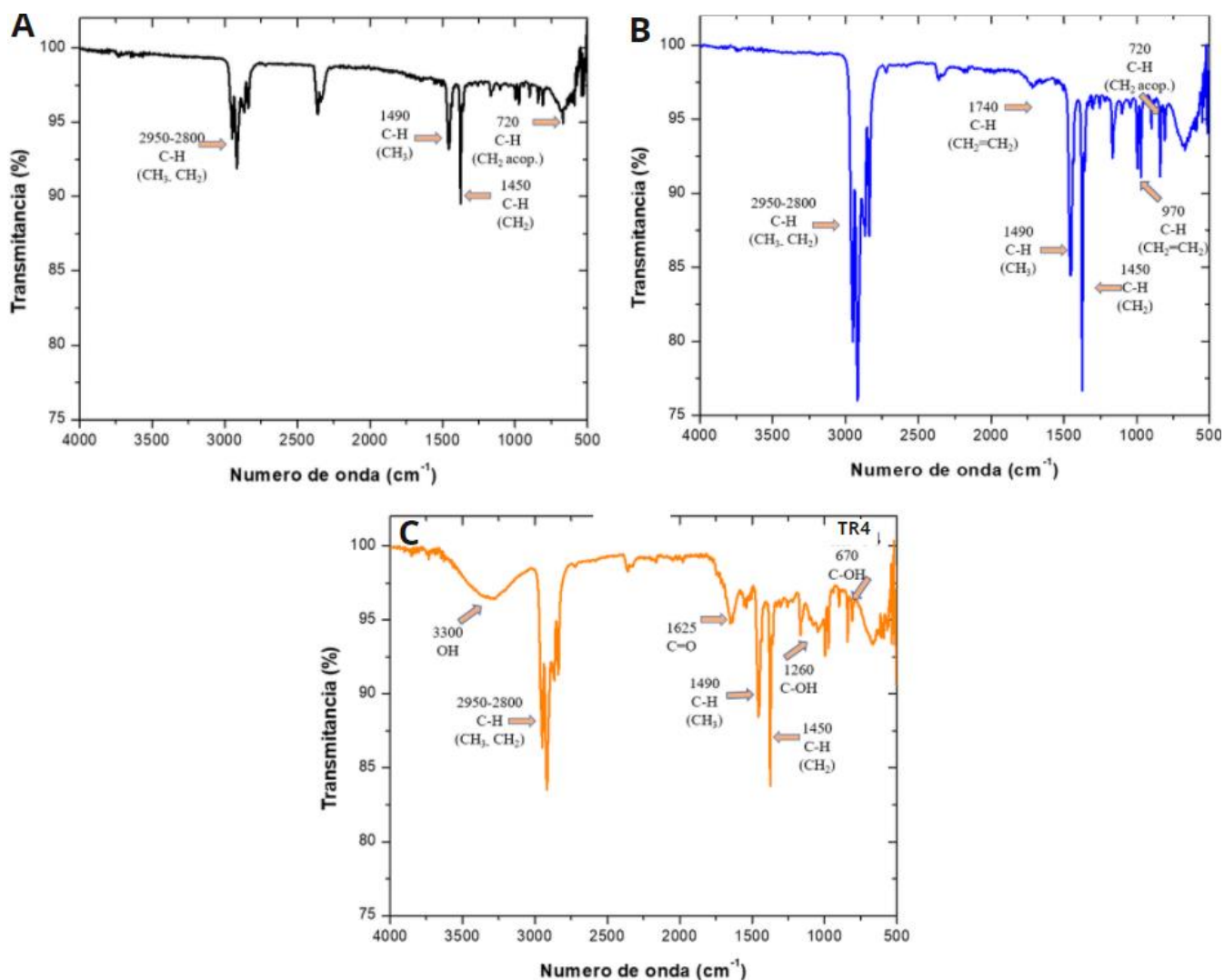


Figura 6. Espectroscopía infrarroja de los fragmentos del pitillo **A.** Fragmentos de pitillo prístino **B.** Fragmentos de pitillo post fotólisis **C.** Fragmentos de pitillo post tratamiento 4 (TR4).

6.1.2 Hidrofobicidad

Respecto a la hidrofobicidad se observó que los fragmentos de pitillos presentan un ángulo de contacto promedio de $(79 \pm 6)^\circ$, lo que indica que el material es altamente hidrofóbico. Una vez realizado el pretratamiento con fotólisis, no se observaron cambios, obteniéndose un ángulo de contacto de $(80 \pm 4)^\circ$. Posterior al tratamiento biológico, se identificó una disminución del ángulo de contacto en los fragmentos de pitillos post tratamiento biológico

(**Tabla 2**), la cual a su vez se puede observar en la figura 2, donde se observan los cambios del ángulo de contacto respecto al fragmento de pitillo prístino, lo cual se confirma mediante la **figura 9**, que indica el valor promedio del ángulo de contacto del fragmento, prístino, post UV y las diferentes réplicas del tratamiento y CSP, se observa particularmente la disminución significativa ($p < 0.05$) del valor promedio del ángulo de contacto del TR4, alcanzando un valor de $48 \pm 4^\circ$, equivalente a un % de disminución del 65 %.

Tabla 2. % de disminución del ángulo de contacto de las réplicas del tratamiento (T) y del control *sin Phanerochaete* sp (CSP).

Réplica	% Disminución
TR1	10
TR2	26
TR3	35
TR4	65
CSPR1	20
CSPR2	9

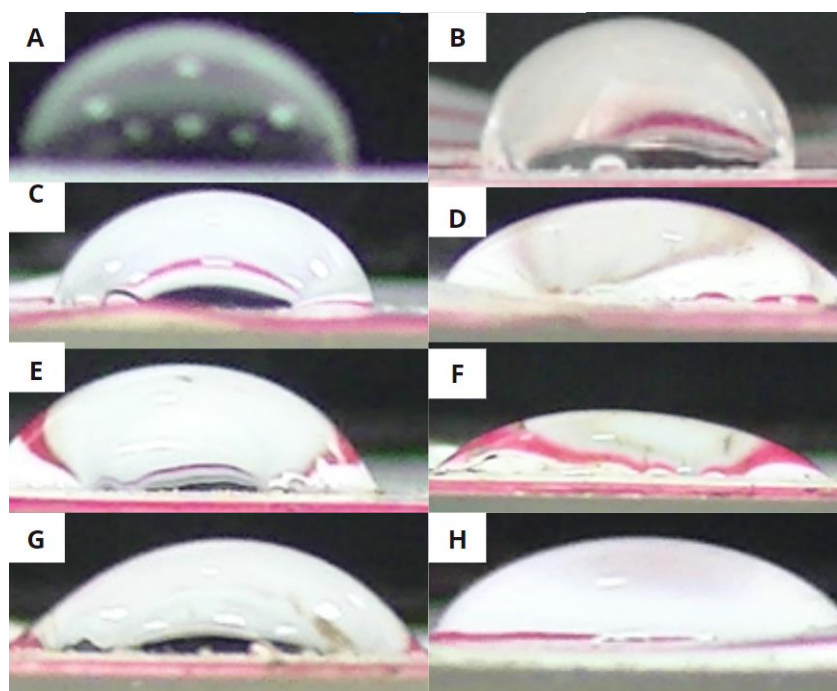


Figura 7. Ángulo de contacto de los fragmentos de pitillo. **A** ángulo de contacto de los fragmentos de pitillo prístinos **B.** Ángulo de contacto de los fragmentos post fotólisis **C.** Ángulo de contacto post tratamiento biológico TR1 **D.** Ángulo de contacto post tratamiento biológico TR2 **E.** Ángulo de contacto post tratamiento biológico TR3 **F.** Ángulo de contacto post tratamiento biológico TR4 **G** Ángulo de contacto post tratamiento biológico CSPR1. **H.** Ángulo de contacto post tratamiento biológico CSPR2

6.1.3 Rugosidad

Adicionalmente, al evaluar los fragmentos de pitillos mediante microscopía de fuerza atómica se logró observar que no se presentaron cambios en la topografía del material. Los pitillos prístinos, que presentaron una rugosidad de (16.60 ± 0.41) nm, obtuvieron una rugosidad post fotólisis de (17.38 ± 7.10) nm y post tratamiento biológico de (22.32 ± 3.09) nm para TR1, (13.84 ± 1.77) MPT2, (22.55 ± 8.17) nm para TR3, $22.83 \pm 7.52)$ nm para TR4, (18.84 ± 2.62) nm para CSPR1 y (14.37 ± 3.37) nm para CSPR2 (**figura 8**), indicando que no hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) para este parámetro (**figura 9**).

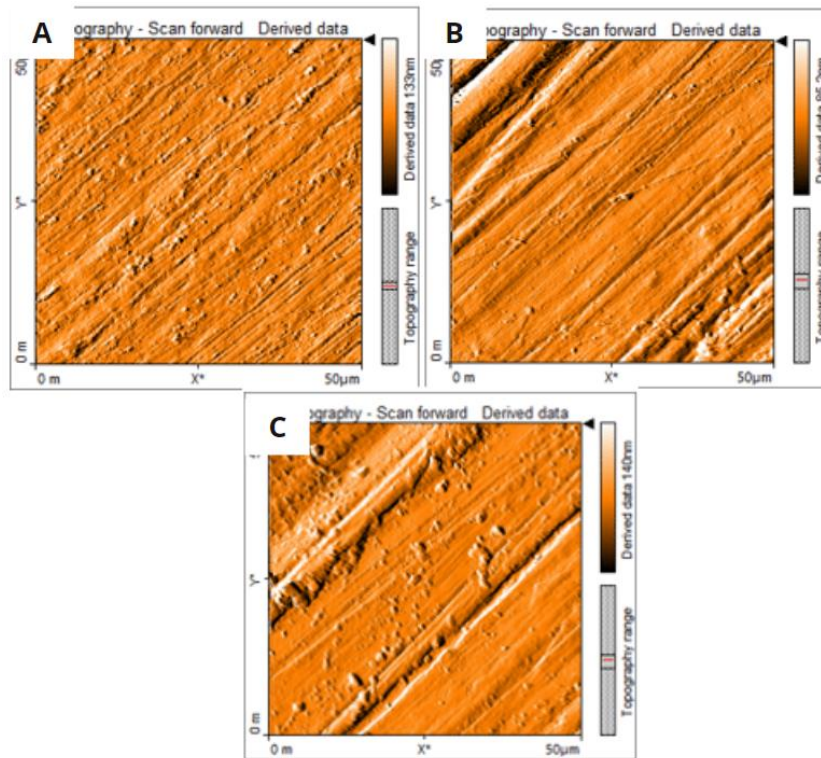


Figura 8. Microscopía de fuerza atómica (AFM) **A.** AFM pitillos prístinos **B.**AFM pitillos post fotólisis **C.** AFM pitillos post tratamiento biológico

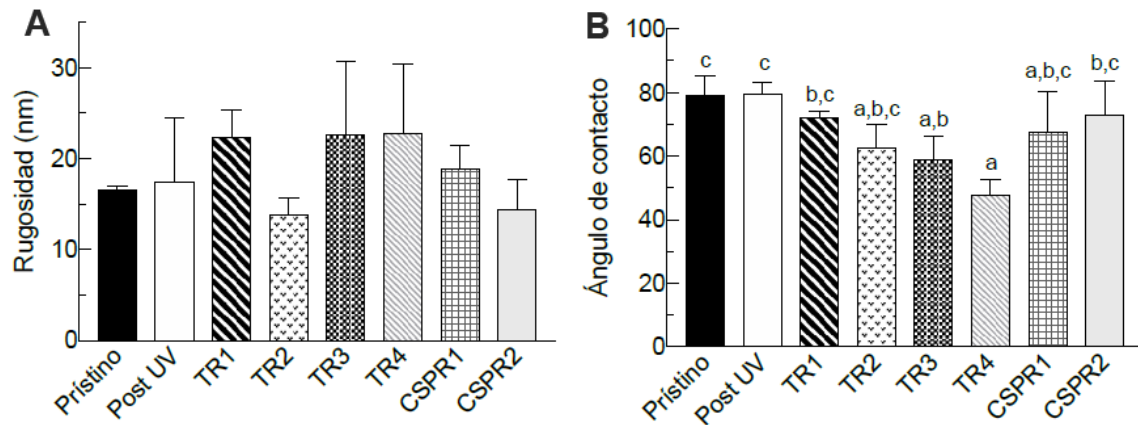


Figura 9. Valor promedio de rugosidad y el ángulo de contacto de los fragmentos de pitillo prístino, post fotolisis y post tratamiento biológico. a: $p < 0.05$. las letras representan los subgrupos homogéneos de Tukey, siendo “a” el menor resultado. **A.** Valor promedio de rugosidad de los fragmentos de plástico prístino, post fotolisis y post tratamiento biológico.

B Valor promedio del ángulo de contacto de los fragmentos de plástico prístino, post fotolisis y post tratamiento biológico.

6.2 Caracterización e identificación de los microorganismos presentes en el sistema de microcosmos.

Una vez realizada la caracterización de los microorganismos más predominantes en el tratamiento, control sustrato y control sin *Phanerochaete* sp, se identificaron los siguientes microorganismos: *Geotrichum* sp, *Talaromyces* sp *Rhodotorula mucilaginosa*, *Serratia ficaria*, además de *Phanerochaete* sp, microorganismo inoculado (**figura 10**).

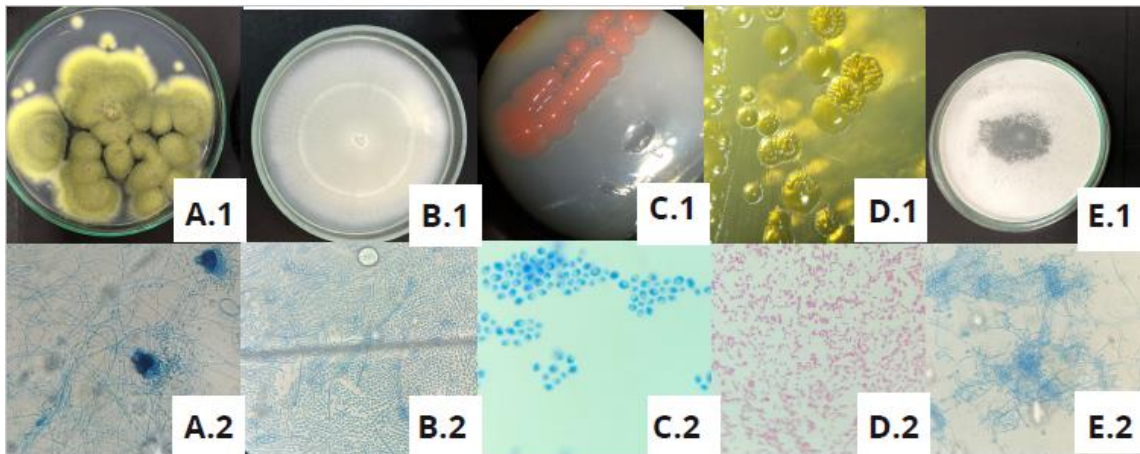


Figura 10. Macroscopías y microscopías de los microorganismos presentes en los microcosmos. **A** 1-2. *Talaromyces* sp **B** 1-2. *Geotrichum* sp. **C** 1-2. *Rhodotorula mucilaginosa*. **D** 1-2. *Serratia ficaria* **E** 1-2. *Phanerochaete* sp.

La población de cada uno de estos microorganismos fue presentando cambios en su presencia y abundancia a lo largo del tratamiento biológico y los respectivos controles, por lo que se generaron gráficos de tendencia en unidades arbitrarias referentes a la ausencia y presencia de los microorganismos del sistema de microcosmos (**Figura 11**). Se observa que al día 7 de muestreo en los tratamientos se encontraba únicamente *Serratia ficaria*, la cual se mantuvo abundante hasta el día 72 que se realizó el último muestreo. En el día 40 se presentó crecimiento abundante de *Phanerochaete* sp, una baja presencia de *R. mucilaginosa* y una presencia moderada de *Talaromyces* sp, al final del tratamiento se mantuvo este comportamiento a excepción de la presencia de *Phanerochaete* sp. que disminuyó. (**Figura 11A**)

Por su parte, en los CSP, se observó que no hubo presencia de *Phanerochaete* sp. a lo largo del montaje, al día 7 de muestreo se evidenció que había una baja presencia de *R. mucilaginosa*, para el día 14 de muestreo no hubo presencia de ningún microorganismo, nuevamente al día 40 se observó una presencia abundante de la levadura la cual disminuyó al finalizar el tratamiento al día 72. En este muestreo se evidenció presencia moderada de *Geotrichum* sp y *Talaromyces* sp (**figura 11B**).

Por último, en el control sustrato, *S. ficaria* se mantuvo abundante hasta el final del montaje. *R. mucilaginosa* estuvo abundante en el muestreo al día 7 y al día 14, disminuyendo su presencia en el muestreo día 40 y mostrando una baja presencia al día 72. Por su parte *Phanerochaete* sp, tuvo una presencia abundante al día 40 y moderada al día 72 de muestreo; igualmente se observó una presencia moderada de *Talaromyces* sp en este control (**figura 11 C**).

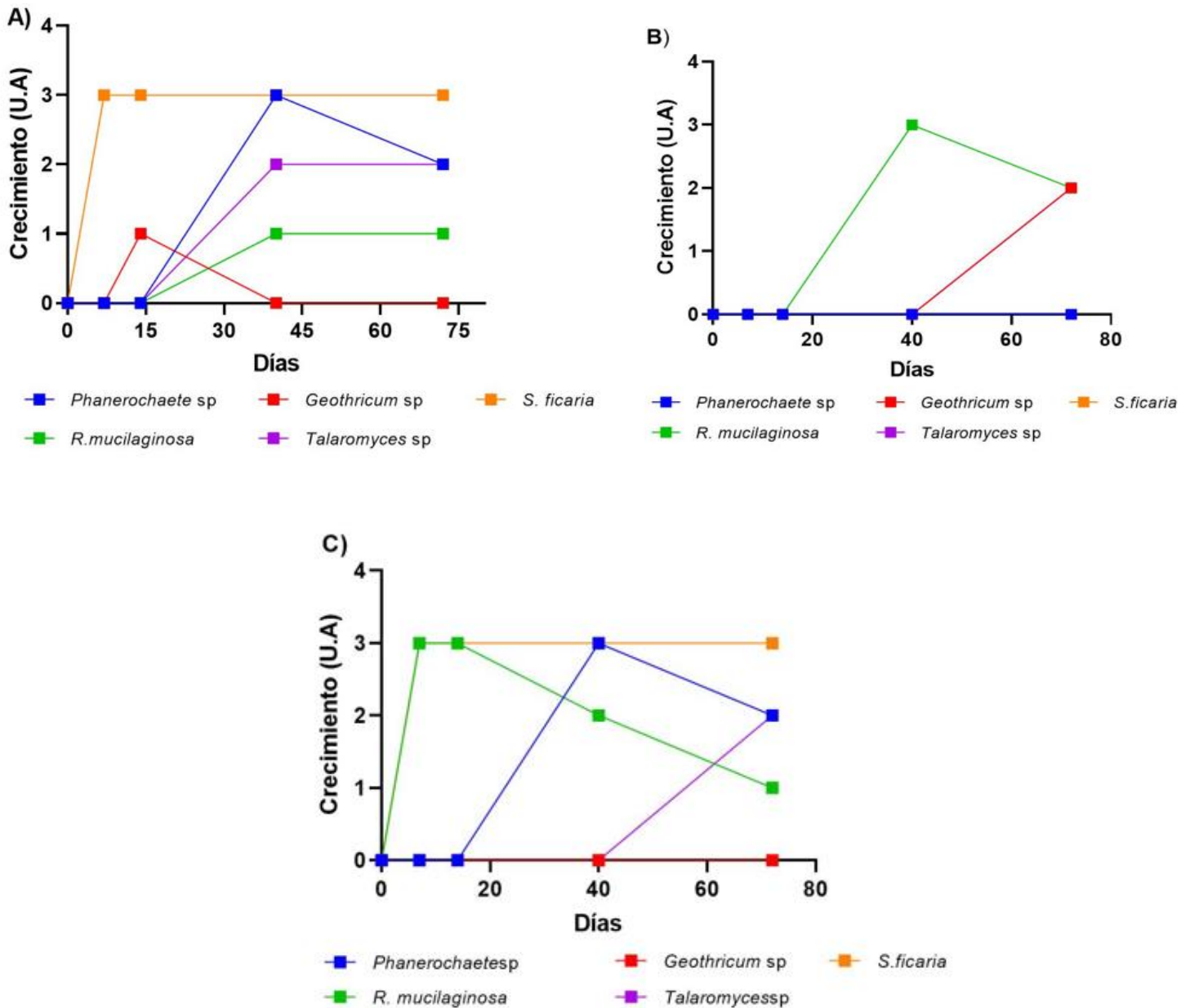


Figura 11. Crecimiento de *Phanerochaete* sp, *Geothricum* sp, *R. mucilaginoso*, *S. ficiaria*, *Talaromyces* sp en los sistemas de microcosmos. Se presenta escala en unidades arbitrarias (U.A).0: Microorganismo ausente 1: Baja presencia 2: Presencia moderada 3: Abundante. **A.** Crecimiento (U.A) en los tratamientos post biológico **B** Crecimiento (U.A) en los controles sin *Phanerochaete* sp **C.** Crecimiento (U.A) en los controles sustrato.



Al finalizar el tratamiento biológico se observó crecimiento de micelio fúngico, comprobando una colonización por parte de alguno de los hongos (**figura7**) presentes en los sistemas de microcosmos.

Figura 12. Colonización de los fragmentos de pitillo por micelio fúngico. Imagen tomada con estereomicroscopio a 20X.

7.Discusión

Respecto al pretratamiento y según el FTIR, al evidenciarse únicamente la aparición de grupos alquenos ($\text{CH}_2=\text{CH}_2$) y la presencia de los mismos grupos observados en el material prístino (**figura 6B**), pero con mayor intensidad, se considera que esto se debe a que el polímero al ser expuesto a luz UV se generan radicales libres, los a su vez causan la ruptura y reorganización de enlaces en la estructura del polímero generando otro tipo de uniones C-H, de tal manera que la intensidad de las señales correspondiente a estos grupos se ve aumentada [41]. Igualmente, la aparición de otro tipo de enlaces como se presenta en este caso de grupos alqueno sucede por la ruptura de enlaces alcanos, lo que causa que la molécula queda inestable, y deba reorganizar su estructura mediante dobles enlaces que garanticen la estabilidad de esta, a lo cual se le denomina un proceso de deshidrogenación de alcanos [42].

No obstante, se considera que el pretratamiento fotolítico no fue lo suficientemente efectivo, ya que, al contrario de lo esperado, la luz UV no causó la aparición de grupos asociados a una oxidación en el material, como se había reportado anteriormente por E, Rodríguez (2021) donde, al realizar el pre-tratamiento de fotólisis se observó un cambio en la estructura química del polímero(PEBD oxo-biodegradable) al presentarse una banda correspondiente a

los enlaces O-H entre los 3200 cm^{-1} y 3400 cm^{-1} con movimientos de tensión y, de igual forma, bandas de menor tamaño a los 690 cm^{-1} que corresponde a enlaces O-H. Al igual que bandas pequeñas correspondientes a enlaces de C=O (1750 cm^{-1}) y C-O (1000 cm^{-1} y 1100 cm^{-1}) [31]. Se cree que para este estudio principalmente al tiempo de exposición del material a la luz UV, siendo 300 h no suficientes para genera cambio en las láminas de pitillos. Lo anterior tiene relación a la tecnología d2w, ya que esta permite que el plástico tenga una vida controlada (entre 6 meses y 5 años) [42], para el caso particular de los pitillos empleados en este estudio, estos tienen un tiempo de biodegradación de 12 a 18 meses [43], lo que significa que solo una vez su tiempo de vida se agote se espera que el aditivo prooxidante añadido al plástico comiencen a hacer su efecto, generando susceptibilidad tanto a luz UV como demás condiciones ambientales que posteriormente facilitarán el proceso de biodegradación [37], lo cual explicaría lo presentado en las diferentes réplicas del tratamiento y del control post biológico, ya que la mayoría no presentó cambios importantes en la estructura química, a excepción de TR4, que sugieren que, si es posible llevar a cabo un proceso de biodegradación, sin embargo, para que este sea óptimo debe cumplirse el plazo de vida útil que contemplan los pitillos OB.

La viruta y la borra de café permitieron no solo el crecimiento de *Phanerochaete* sp, si no de otros microorganismos como *S. ficaria*, *R. mucilaginoso* y *Talaromyces* sp debido a que los sustratos empleados no estaban estériles (**figura 11**). Al estar *Phanerochaete* sp en el sistema, este hongo es capaz de realizar las etapas iniciales del proceso de biodeterioro y biofragmentación ya que los materiales poliméricos comparten características similares con la lignina en cuanto a ciertas propiedades físicas, como la hidrofobicidad, pero también por su estructura química (esqueleto de carbonado), que se oxidan en el curso de la degradación, causando la ruptura de cadenas poliméricas proporcionando productos intermedios carbonados de menor tamaño como alcoholes, aldehídos y ácidos carboxílicos, de fácil asimilación por parte de los demás microorganismos presentes en el sistema [44][45]. Dicha transformación del material puede ser llevada a cabo por la colonización y producción de enzimas como la lignina peroxidasa y manganoso peroxidasa, esta última, se encarga de romper los enlaces C-C o enlaces C-O-C de las cadenas arilpropano, formado monolignoles como son el ácido ferúlico, lo que se ve reflejado en aparición de grupos OH, en la estructura del material, como es el caso del TR4 (**figura 6 C**) [46]. En cuanto a la lignina peroxidasa, esta enzima además de oxidar la lignina, tiene la capacidad de oxidar otros compuestos recalcitrantes aromáticos presentes en su entorno [47]. Debido a su baja especificidad, puede ayudar a la oxidación de polímeros plásticos y facilitar el aumento de hidrofiliidad del material, lo que se evidencia mediante la disminución del ángulo de contacto de este, tal como se observó en la **figura 7**, **figura 9**.

Sin embargo, se observó que tanto *S. ficaria* como *R. mucilaginoso*, fueron capaces de crecer aun sin la presencia de *Phanerochaete* sp, e incluso pudieron retrasar el crecimiento del hongo ya que se ha reportado que específicamente el crecimiento de *Phanerochaete chrysosporium* se ve inhibido por otros microorganismos del suelo [48], lo que sugiere que este hongo puede ser un mal competidor en un ambiente natural. El TR4 al contar con la presencia de *S. ficaria*, *Phanerochaete* sp, *Talaromyces* sp, y en menor medida de *R. mucilaginoso* y *Geotrichum* sp, demostró que las láminas de plástico pasaban un proceso de

biodegradación el cual, se contempla mediante la oxidación del material donde se evidencia la presencia de enlaces O-H, que pueden corresponder a alcoholes, además de la presencia de enlaces C=O (**figura 6C**), los cuales se pueden asociar a la presencia tanto a ácidos carboxílicos como a cetonas [49], lo anterior coincide con la disminución significativa del ángulo de contacto de este tratamiento. Aunque las demás réplicas del tratamiento contaron con los mismos microorganismos, se presume que en esta réplica pudo haber una abundancia relativa de uno de los tres microorganismos predominantes a lo largo del montaje que no pudo ser medida por el tipo metodología que se empleó.

No obstante, se cree que la aplicación de diferentes microorganismos en forma de consorcio puede llegar a una mayor eficiencia en la degradación del plástico debido al sinergismo entre los microorganismos y sus enzimas [50] ya que además de la importante actividad enzimática de *Phanerochaete* sp se reporta en la literatura la capacidad de *Serratia* sp, para la degradación de plásticos mediante la reducción de la transmitancia de los grupo carbonilo presentes en la estructura del PEBD y la aparición de enlaces C-OH y C=O [51]. Así mismo, un estudio con *S. plymuntica*, indica que, mediante la formación de biopelículas sobre materiales poliméricos, esta bacteria es capaz de biodegradar no sólo el ácido poli láctico sino también, en menor medida, el tereftalato de polietileno (PET), poco biodegradable [52]. Por su parte, cabe resaltar que *Talaromyces* sp pudo también contribuir a la degradación del material, por lo que es un hongo reconocido por su alta actividad celulolítica y xilanolítica, ya que se conoce que mediante su actividad enzimática *Talaromyces* sp genera modificaciones sobre la estructura del tamo de arroz, un residuo lignocelulósico [53]. En menor medida, tanto *Geothricum* sp como *R. mucilaginosa*, pudieron aportar a la degradación del material, ya que a pesar de que su crecimiento fue bajo-moderado, se ha reportado que *Geotrichum link* (anamorfo de *Bjerkandera*) es capaz de degradar y colonizar *in vitro* diferentes CD, deteriorando los principales componentes de los discos ópticos como el policarbonato y el colorante de estos [54]. Recientemente se han dirigido investigaciones a la capacidad de biodegradación de distintos grupos de levaduras entre ellos *Rhodotorula aurantiaca* aislada de suelo en India demostró poder biodegradar el polietileno presente en los plásticos [55]. En relación a lo observado en el control CSP, se evidenció que los fragmentos de plástico de dicho control presentaron una menor disminución de su hidrofobicidad a comparación de los fragmentos del TR3 y TR4(**Tabla 2**) e igualmente no se registró ningún cambio importante a nivel estructural Aunque tanto *R. mucilaginosa* como *Geotrichum* sp también estuvieron presentes en el control CSP, los datos obtenidos se pueden asociar a la presencia moderada de estos microorganismos hacia el final del tratamiento(**figura 11 B**) y que no existiera una asociación metabólica entre ellos para realizar transformaciones notorias en el material [56], adicionalmente la ausencia de *Phanerochaete* sp pudo limitar la disponibilidad de nutrientes de menor complejidad que dicho hongo pudo garantizar tanto en el tratamiento como en el control sustrato (**figura 11**).

8. Conclusiones

- El pretratamiento planteado de fotólisis no generó cambios importantes en la superficie de los fragmentos de pitillo oxo-biodegradable, esto debido a que el tiempo de exposición no fue suficiente para generar cambios químicos en el material.
- Se evidenció la colonización de micelio fúngico y la transformación particular de los fragmentos de pitillo oxo-biodegradables en la réplica TR4, por medio de cambios significativos en la hidrofobicidad del material, disminuyendo el ángulo de contacto en 65%, además de la formación de grupos OH, ligados a oxidaciones.
- La degradación de los fragmentos de pitillo oxo-biodegradable se le atribuye a un efecto sinérgico entre los microorganismos presentes en la réplica TR4.

9. Recomendaciones

Se sugiere realizar un pretratamiento de fotólisis más extenso y de ser posible realizar en su lugar el proceso de fotocátalisis, para intensificar el efecto de degradación del material. Por otro lado, se recomienda continuar el estudio de biodegradación de pitillos oxobiodegradables particularmente con *Serratia ficaria*, *Talaromyces* sp y *Phanerochaete* sp, por separado y en consorcio, y realizar una cinética enzimática y de crecimiento para conocer tanto la producción de enzimas como tener una medida de crecimiento del mismo microorganismo a través del tiempo.

10. Bibliografía

1. Chatterjee S, Sharma S. Microplastics in our oceans and marine health. *The journal of field actions*;1(19):54-71, 2019.
2. Viera JSC, Marques MRC, Nazareth MC, Jimenez PC, Castro ÍB. On replacing single-use plastic with so-called biodegradable ones: The case with straws. *Environ Sci Policy* [Internet]; 177–81, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.envsci.2020.02.007>
3. Ocean Conservancy. International Cleanup Report. Team ocean, 2020; [Citado 13 ago 2021] Disponible en: https://oceanconservancy.org/wpcontent/uploads/2020/10/FINAL_2020ICC_Report.pdf
4. Anual E, Eam M. Boletín Técnico Boletín Técnico, 2020; [Citado 13 ago 2021] Disponible en: https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/boletines/eam/boletin_eam_2019.pdf
5. Ali SS, Qazi IA, Arshad M, Khan Z, Voice TC, Mehmood CT. Photocatalytic degradation of low density polyethylene (LDPE) films using titania nanotubes Nanotechnology, Monitoring & Management. 2016 may ;5:44–53.

6. Shawaphun S, Manangan T, Wacharawichanant S. Thermo- and photo- degradation of LDPE and PP films using metal oxides as catalysts. *Advanced material research*. 2010 Jan;93,94:505-8.
7. Leja K, Lewandowicz G. Polymer biodegradation and biodegradable polymers. *Polish journal of environmental studies*. 2010 Nov;3:255-266.
8. Meneses J, Corrales C, Valencia M. Síntesis y caracterización de un polímero biodegradable a partir del almidón de yuca. 2007 Dec;4:57-67.
9. Alcaldía de Pereira, " Acuerdo 25: Plásticos de un solo uso, 2020; [Citado 13 ago 2021] Disponible en: http://www.pereira.gov.co/Transparencia/Normatividad/Acuerdos/2021/ACUERDO_25-2020.pdf
10. Schmidt PG. Polypropylene structure. *Journal of polymer of science*, 1963: 2317–2325.
11. Ávila MA. La argumentación desde el aprendizaje basado en proyectos: una estrategia para la enseñanza de los biopolímeros. [tesis maestría en Internet]. Bogotá: Universidad pedagógica nacional ; 2020 127 Disponible en: <http://repository.pedagogica.edu.co/bitstream/handle/20.500.12209/12594/La%20Argumentaci%3bn%20desde%20el%20ABP%20como%20estrategia%20para%20la%20ense%3b%20de%20los%20biopol%3admeros%20.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
12. Maria Rodrigues da Luz J, de Cássia Soares da Silva M, Ferreira dos Santos L, Catarina Megumi Kasuya M. *Plastics Polymers Degradation by Fungí* [Internet]. 1-13. 2019: Disponible en: 10.5772/intechopen.88608
13. Andrady AL. Microplastics in the marine environment, *Marine pollution bulletin*. 2011; 62: 1596-1605.
14. Eubeler JP, Bernhard, M; KneThomas P. Environmental biodegradation of synthetic polymers II. Biodegradation of different polymer groups. *Trends in Analytical Chemistry*. 2010;19: 84-100.
15. Posada B. La degradación de los plásticos. *Revista Universidad EAFIT*. 1994;30:67–86.
16. Arutchelvi J, Sudhakar M, Arkatkar A, Doble M, Bhaduri S, Uppara PV. Biodegradation of polyethylene and polypropylene, *Indian journal of biotechnology*. 7:9-22, 2018.
17. Al-salem SM, Al-hazza A, Karam HJ, Al-wadi MH, Al-dhafeeri AT, Al-rowaih AA, "Insights into the evaluation of the abiotic and biotic degradation rate of commercial pro-oxidant filled polyethylene (PE) *Journal of environmental management*. 250:2019.

18. Lons PM, Pacheco JS, Santana M, Guadalupe M, et al., "Ability Phanerochaete chrysosporium and Trametes versicolor to remove. "; 33:1-10,2015.
19. Mohanan N, Montazer Z, Sharma PK, Levin DB. Microbial and Enzymatic Degradation of Synthetic Plastics. *Front Microbiol.* 11:580709. 2020 doi:10.3389/fmicb.2020.580709
20. Puglisi, E., Romaniello, F., Galletti, S., Boccaleri, E., Frache, A., Cocconcelli, P.S., Selective bacterial colonization processes on polyethylene waste samples in an abandoned landfill site. *Sci. Rep.* 9, 1- 13.2019. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50740-w>
21. Borah D, Agarwal K, Khataniar A, Konwar D, Gogoi SB, Kallel M. A newly isolated strain of *Serratia* sp. from an oil spillage site of Assam shows excellent bioremediation potential. *3 Biotech [Internet];9(7):1–12,2019.* <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1820-7>
22. *Encyclopedia of food microbiology.* Elsevier Science 1 (2); 2014.
23. Viña-Gonzalez J, Alcalde M. Directed evolution of the aryl-alcohol oxidase: Beyond the lab bench. *Comput Struct Biotechnol J [Internet];18:1800–10,2020.* <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2020.06.037>
24. Orenco-Trejo M, Torres-Granados J, Rangel-Lara A, Beltrán-Guerrero E, García-Aguilar S, Moss-Acosta C, et al. Cellulase and Xylanase Production by the Mexican Strain *Talaromyces stollii* LV186 and Its Application in the Saccharification of Pretreated Corn and Sorghum Stover. *Bioenergy Res [Internet];9(4):1034–45,2016.* <http://dx.doi.org/10.1007/s12155-016-9791-6>.
25. Al-Dhabaan FA. Isolation and identification of crude oil-degrading yeast strains from Khafji oil field, Saudi Arabia. *Saudi J Biol Sci [Internet];28(10):5786–92,2021.* [ps://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.06.030](https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.06.030)
26. Aibeche C, Selami N, Zitouni-Haouar FEH, Oeunzar K, Addou A, Kaid-Harche M, et al. Bioremediation potential and lead removal capacity of heavy metal-tolerant yeasts isolated from Dayet Oum Ghellaz Lake water (northwest of Algeria). *Int Microbiol [Internet];2021.* <https://doi.org/10.1007/s10123-021-00191-z>
27. Wan C, Li Y. Fungal pretreatment of lignocellulosic biomass. *Biotechnology Advances.*;30:1447-1457,2012.
28. Mukherjee S, Kundu PP. Alkaline fungal degradation of oxidized polyethylene in black liquor: Studies on the effect of lignin peroxidases and manganese peroxidases. *Journal of apply polymer science.*131:8982–8990,2014.
29. Gómez LD, Moreno DA, Poutou RA, Salcedo JC, Pedroza AM, Vargas A, et al. Biodeterioration of plasma pretreated LDPE sheets by *Pleurotus ostreatus*. *PLOS One.*;13:1-28,2018.

30. Rodríguez-Claros, E. Evaluación de la biotransformación con *Phanerochaete chrysosporium* de polietileno de baja densidad Oxo-biodegradable pretratado con luz ultravioleta en presencia de sustrato celulósico. Pontificia Universidad Javeriana. 2021[Tesis de maestría] Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/40333>
31. Li W, Li X, Yang Y, Zhou F, Liu Y, Zhou S, Yu H. Effects of different carbon sources and C/N values on nonvolatile taste components of *Pleurotus eryngii*. *International Journal of Food Science & Technology* 50(11): 2360-2366,2015. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12901>.
32. Castillo Toro A. Evaluación de dos sistemas de microcosmos con material lignocelulolítico para la biotransformación con *Pleurotus Ostreatus* de polietileno de baja densidad Oxo-degradable (PEBD Oxo) pretartado con plasma de oxígeno. Pontificia Universidad Javeriana; 2019 Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/40333>
33. Puertas MA, Villegas P, Rojano B, Borra de café colombiano (*Coffea arabica*) como fuente potencial de sustancias con capacidad antirradicales libres in vitro, *Rev Cuba Plantas Med.* 18:469–478,2013
34. Agudelo R. Ethanol production from spent coffee ground hydrolysate. Universidad Nacional de Colombia. 2011. Disponible en: <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/76266/10283843.2002.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
35. Lazo MA. Estudio de la producción de pellets a partir de borra de café [Internet]. Universidad Nacional de Colombia; 2018. Disponible en: <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/68833>
36. Mazzarri A. Evaluación del potencial de la borra de café como materia prima para la producción de biodiesel. *Multiciencias*; 14(2):129–39,2014.
37. Rojas Higuera NS. Biotransformación y bioenriquecimiento de residuos de aserrio. Pontificia Universidad Javeriana [Tesis de maestría], 2014. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/40333>

38. Cotana F, Cavalaglio G, Gelosia M, Nicolini A, Coccia V, Petrozzi A. Production of bioethanol in a second generation prototype from pine wood chips. *Energy Procedia*.;45:42–51,2014
39. Velandia J. Identificación de polímeros por espectroscopia infrarroja. *Rev Ontare* [Internet].2017;5:115–40. Disponible en: <https://journal.universidadean.edu.co/index.php/Revistao/article/download/2005/1776/>
40. Yousif E, Haddad R. Photodegradation and photostabilization of polymers, especially polystyrene: review. *SpringerPlus* 23;2(1),2013.
41. Kumar A, Bhatti TM, Goldman AS. Dehydrogenation of Alkanes and Aliphatic Groups by Pincer-Ligated Metal Complexes. *Chemical Reviews*;117(19):12357–84,2017
42. D6954-04 AD. Standard Guide for Exposing and Testing Plastics that Degrade in the Environment by a Combination of Oxidation and. *ASTM Int.*;04(Reapproved 2013):1–6, 2013.
43. NUEVOS PRODUCTOS [Internet]. Promociones Fantásticas. Disponible en: https://promocionesfantasticas.com/?page_id=13
44. Zhang S, Xiao J, Wang G, Chen G. Enzymatic hydrolysis of lignin by ligninolytic enzymes and analysis of the hydrolyzed lignin products. *Bioresour Technol* [Internet]. 2020;doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122975
45. Ali SS, Elsamahy T, Al-Tohamy R, Zhu D, Mahmoud YAG, Koutra E, et al. Plastic wastes biodegradation: Mechanisms, challenges and future prospects. *Sci Total Environ* [Internet];1-18 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146590>
46. Mohanan N, Montazer Z, Sharma PK, Levin DB. Microbial and Enzymatic Degradation of Synthetic Plastics. *Front Microbiol*;11,2020.
47. Radtke C, Cook WS, Anderson A. Factors affecting antagonism of the growth of *Phanerochaete chrysosporium* by bacteria isolated from soils. *Appl Microbiol Biotechnol*;41(2):274–80, 1994.

48. Gutiérrez R V, Pedroza R. AM, Rivera H CM. MANUAL MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL. Second edi. Bogotá, Colombia; 2–14 p,2021.
49. Johan N, Camargo A. Expresión de manganeso peroxidasa en *Pichia pastoris* X-33 bajo el control del promotor constitutivo GAP;1–46, 2020 Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/52049>
50. Ghatge S, Yang Y, Ahn JH, Hur HG. Biodegradation of polyethylene: a brief review. Appl Biol Chem [Internet];63(1),2020: <https://doi.org/10.1186/s13765-020-00511-3>
51. Amobonye A, Bhagwat P, Singh S, Pillai S. Plastic biodegradation: Frontline microbes and their enzymes [Internet]. Vol. 759, Science of the Total Environment. Elsevier B.V; 143-536 p., 2020: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143536>
52. Nadeem H, Alia KB, Muneer F, Rasul I, Siddique MH, Azeem F, et al. Isolation and identification of low-density polyethylene degrading novel bacterial strains. Arch Microbiol [Internet]203(9):5417–23,2021 <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02521-1>
53. Dąbrowska GB, Tylman-Mojżeszek W, Mierek-Adamska A, Richert A, Hryniewicz K. Potential of *Serratia plymuthica* IV-11-34 strain for biodegradation of polylactide and poly(ethylene terephthalate). Int J Biol Macromol. ; 193:145–53,2021.
54. Bonilla D. Efecto de la incorporación de tamo de arroz degradado por *Talaromyces sayulitensis* HCl y el enriquecimiento con nitrógeno sobre la germinación y el crecimiento de arroz y tomate.1-51.;2020.Disponible en:<https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/50295/Trabajo de grado Duvan Bonilla FINAL.pdf?sequence=2&isAllowed=y>
55. Romero, E., Speranza, M., García-Guinea, J., Martínez, AT., & Martínez, M. J. An anamorph of the white-rot fungus *Bjerkandera adustacapable* of colonizing and degrading compact disc components. FEMS Microbiology Letters, 275(1), 122–129,2007. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00876.x>
56. Usha R, Sangeetha T, Palaniswamy M. Screening of polyethylene degrading microorganisms from garbage soil. Libyan Agric Res Cent J Int.;2(4):200–4, 2011.
57. Morris BEL, Henneberger R, Huber H, Moissl-Eichinger C. Microbial syntrophy: Interaction for the common good. FEMS Microbiol Rev.;37(3):384–406, 2013.