



**UNIVERSIDAD DE LAMBAYEQUE
FACULTAD DE CIENCIAS DE INGENIERÍA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

TESIS

**BIODEGRADACIÓN DE POLIESTIRENO UTILIZANDO
MICROORGANISMOS PRESENTES EN EL HUMUS DE LOMBRIZ
DURANTE LOS MESES, OCTUBRE – DICIEMBRE 2016.**

**PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR EL TITULO DE
INGENIERO AMBIENTAL**

AUTORES:

**CHUNGA CAMPOS, LOURDES DEL ROSARIO.
CIEZA MARTÍNEZ, CARLOS AARÓN.**

CHICLAYO, MAYO 2017

FIRMA DEL ASESOR Y MIEMBROS DEL JURADO:

**M.Sc. CESAR ALBERTO CABREJOS MONTALVO
ASESOR**

**.JORGE EUGENIO CABREJOS BARRIGA
PRESIDENTE**

**JAMES JENNER GUERRERO BRACO
SECRETARIO**

**MARCOS GUILLERMO GARCIA PAICO
VOCAL**

DEDICATORIA

*A **Dios** porque ha estado conmigo a cada paso que doy, cuidándome y dándome fortaleza para continuar y no declinar en momentos difíciles y de cansancio.*

*A mis queridos padres **Homero Chunga Taboada** y **Gladys Campos Sánchez** pilares fundamentales en mi vida, quienes me brindaron su apoyo incondicional en esta etapa de mi vida, porque sin ellos no hubiera logrado una de mis metas anheladas como la de ser una profesional, que gracias a su formación y sacrificios se encargaron de brindarme una buena educación. Ustedes son y seguirán siendo el principal motivo para llegar a cumplir todas mis metas deseadas.*

*A mis hermanos **Fátima** y **Marcos** por dedicarme su tiempo, compartir sus alegrías y experiencias, destacando de ellos su tenacidad y lucha insaciable, lo cual hace un ejemplo a seguir.*

*A mis abuelas **Antonia Sánchez Gonzales** y **Alida Taboada Vilchez**, A mis tías y mis primos, porque siempre pensaron que yo sería una buena profesional y me dieron fuerzas para seguir adelante.*

*Al **Dr. Julio Manuel Sifuentes Moreno**, por darme la oportunidad de laborar en CEDEEN, ser una buena persona y por haberme brindado facilidades para concluir con mis estudios.*

*A mis **amigos** que me acompañaron en esta travesía de la vida universitaria, viviendo experiencias, grandes emociones y siempre apoyándonos mutuamente. Uds. Son una parte esencial en mi vida.*

*A unos grandes amigos **M.Sc. Benhur Zambrano Chavarry** y **Lic. Gino Chanamé Díaz** por haberme brindado sus enseñanzas, conocimientos y experiencias durante el desarrollo de mis prácticas pre-profesionales, repercutiendo de manera positiva en mi vida profesional, Gracias por la confianza y por ser grandes amigos.*

Br. Lourdes del Rosario Chunga Campos

DEDICATORIA

A Dios

Por haberme ayudado siempre y en todo momento, llegando hasta este punto de mi vida con salud y poder lograr mis objetivos y además de su infinita bondad y amor.

A mis familiares

*A mis Padres **Ada Martínez Arrobas** y **Carlos Cieza Farro** por ser las personas que me han acompañado durante todo mi trayecto estudiantil y de vida, los únicos que han velado por mí durante este arduo camino para convertirme en un profesional.*

*A mi Hermana **Carla Cieza Martínez** por ser un ejemplo de una hermana mayor y de la cual aprendí experiencias y momentos difíciles en la vida, toda la ayuda que me ha dado se lo agradezco inmensamente.*

*A mi abuela **Elisa Arrobas Medina** quien con sus consejos y sabiduría ha sabido guiarme para ser una buena persona y anda en buen camino.*

Todas estas personas cercanas han sabido formarme con buenos sentimientos, hábitos y valores éticos-morales, los cuales me han ayudado a salir adelante en los momentos más difíciles de mi vida.

A mis mejores amigos

*Que siempre nos hemos apoyado mutuamente en nuestra formación profesional y que hasta la actualidad seguimos siendo unidos y siempre lo seremos, gracias **Lourdes Chunga**, **Carlos Bernabé**, **Juan Carlos Jiménez**, **Edín Irigoín** y **Oscar Tesen**.*

Br. Carlos Aarón Cieza Martínez

AGRADECIMIENTO

Esta investigación, si bien ha requerido de esfuerzo y mucha dedicación por parte de los autores y su asesor no hubiese sido posible su finalización sin la cooperación desinteresada de todas y cada una de las personas que a continuación citaremos y muchas de las cuales han sido un soporte muy fuerte en momentos de angustia y desesperación.

*Primero y antes que nada, dar gracias a Dios, **nuestro Señor, nuestro Guía, nuestro Proveedor**, por estar con nosotros en cada paso que hemos dado, por fortalecer nuestro corazón e iluminar nuestra mente y por haber puesto en el camino a aquellas personas que han sido soporte y compañía durante todo este periodo de estudios.*

*Debo agradecer de manera especial y sincera a mi asesor **M.Sc. Cesar Alberto Cabrejos Montalvo** docente de la Universidad de Lambayeque - UDL, por su apoyo y correcciones a lo largo del semestre; sus ideas propias, siempre enmarcadas en su orientación y rigurosidad, han sido la clave del buen trabajo que he realizado, el cual no se puede concebir sin su siempre oportuna participación.*

*Debo agradecer de manera especial y sincera a mi profesor **Dr. Eduardo Tejada Sánchez** docente y director de la Escuela de Ingeniería Ambiental de la Universidad de Lambayeque – UDL, por haber permitido realizar la presente investigación en el Laboratorio Multifuncional de la Universidad de Lambayeque.*

En general, agradecer a todas y a cada una de las personas que han vivido con nosotros la realización de este trabajo de investigación, con sus altos y bajos y que no necesitamos nombrar porque tanto ellas como nosotros saben que desde lo más profundo de nuestro corazón les agradecemos por habernos brindado todo el apoyo, colaboración, ánimos y sobre todo cariño y amistad.

CONTENIDO

| | Págs. |
|--|-------|
| INDICE DE TABLAS | ii |
| INDICE DE FIGURAS | iii |
| RESUMEN | iv |
| ABSTRACT | v |
| I.- INTRODUCCION | 1 |
| II.- MARCO TEÓRICO | 3 |
| 2.1 Antecedentes: | 3 |
| 2.2 Base Teórica – Científica | 8 |
| 2.2.1 Industria Del Plástico | 8 |
| 2.2.2 Humus | 10 |
| 2.3 Definición De Terminos Basicos | 12 |
| 2.4 Hipotesis | 13 |
| III.- MATERIALES Y METODOS | 14 |
| 3.1 Variables Y Operacionalización De Variables | 14 |
| 3.2 Tipo De Estudio Y Diseño De Investigación..... | 14 |
| 3.3 Población Y Muestra | 14 |
| 3.4 Métodos, Técnicas E Instrumentos De Recolección De Datos | 14 |
| 3.5 Procesamiento De Datos Y Análisis Estadístico. | 17 |
| IV.- RESULTADOS | 18 |
| 4.1. Aislamiento e Identificación de <i>Bacillus spp</i> y <i>Clostridium spp</i> presentes en el humus de lombriz..... | 18 |
| 4.2. Evaluación de la pérdida de peso del poliestireno cada 30 días durante 3 meses colocados sobre la superficie y enterradas a 2 profundidades diferentes en el humus de lombriz. | 18 |
| 4.2.1. Biodegradación del poliestireno colocado sobre la superficie de la maceta en el humus de lombriz. | 18 |
| 4.2.2. Biodegradación del poliestireno enterrado en la parte media de la maceta en el humus de lombriz. | 20 |
| 4.2.3. Biodegradación del poliestireno enterrado en fondo de la maceta en el humus de lombriz. | 22 |

| | |
|--|----|
| 4.3. Evaluación de la viabilidad de <i>Bacillus spp</i> y <i>Clostridium spp</i> presentes en el humus de lombriz. | 24 |
| V.- DISCUSIONES | 25 |
| VI.- CONCLUSIONES | 27 |
| VII.- RECOMENDACIONES..... | 28 |
| VIII.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS | 29 |
| IX.- ANEXOS..... | 32 |
| ANEXO 1 Aislamiento de <i>Bacillus spp</i> a partir de Agar Nutritivo | 33 |
| ANEXO 2 Aislamiento de <i>Clostridium Spp</i> a partir del caldo tioglicolato. | 34 |
| ANEXO 3 Muestras de Poliestireno (PS) en macetas, enterradas a diferentes profundidades: fondo, media y superficie en humus de lombriz. | 35 |
| ANEXO 4 Observación de <i>Clostridium Spp</i> a partir del caldo tioglicolato..... | 36 |
| ANEXO 5 Observación Microscópica del género <i>Clostridium Spp</i> | 37 |
| ANEXO 6 Observación Microscópica del género <i>Bacillus Spp</i> | 38 |
| ANEXO 7 Producción de Enzimas Amilasas por cepas de <i>Bacillus Spp</i> en medio Agar Almidón..... | 39 |
| ANEXO 8 Pruebas bioquímicas y replicas en Agar Tripticasa Soya (ATS)..... | 40 |
| ANEXO 9 Proceso metabólico microbiano al degradar poliestireno | 41 |

INDICE DE TABLAS

| TABLA N^a | Págs. |
|---|--------------|
| 1 Variación de peso de la muestra colocado sobre la superficie de la maceta cada 30 días durante los meses Octubre – Diciembre..... | 19 |
| 2 Variación de peso de la muestra poliestireno enterrado en la parte media de la maceta cada 30 días durante los meses Octubre – Diciembre | 20 |
| 3 Variación de peso de la muestra poliestireno enterrado en el fondo de la maceta cada 30 días durante los meses Octubre – Diciembre..... | 22 |

INDICE DE FIGURAS

| FIGURA N^a | Págs. |
|--|--------------|
| 1 Peso del poliestireno colocado sobre la superficie de la maceta durante los meses Octubre - Diciembre | 19 |
| 2 Porcentaje de biodegradación del poliestireno colocado sobre la superficie de la maceta cada 30 días durante 3 meses | 20 |
| 3 Peso del poliestireno enterrado en la parte media de la maceta durante los meses Octubre - Diciembre | 21 |
| 4 Porcentaje de biodegradación del poliestireno enterrado en la parte media de la maceta cada 30 días durante 3 meses | 22 |
| 5 Peso del poliestireno enterrado en el fondo de la maceta durante los meses Octubre - Diciembre | 23 |
| 6 Porcentaje de biodegradación del poliestireno enterrado en el fondo de la maceta cada 30 días durante 3 meses | 24 |

RESUMEN

BIODEGRADACION DE POLIESTIRENO UTILIZANDO MICROORGANISMOS PRESENTES EN EL HUMUS DE LOMBRIZ DURANTE LOS MESES, OCTUBRE – DICIEMBRE 2016.

En el presente estudio se trabajó con muestras de poliestireno (plásticos descartables) colocadas en macetas con humus de lombriz a diferentes profundidades y días, conteniendo géneros bacterianos *Bacillus spp* y *Clostridium spp*. Durante la biodegradación se evaluó el porcentaje de pérdida de peso de las muestras de poliestireno colocadas en Superficie, parte media y fondo, de la maceta cada 30 días por un periodo de 3 meses como corresponde: Octubre: 0%, 0.4% y 1.6%; Noviembre: 0.4%, 0.8% y 4,8%; y Diciembre: 0%, 0.8%, y 3%. En base a los datos obtenidos se concluye que la mayor biodegradación se observó en el fondo de la maceta durante los 90 días con un porcentaje de biodegradación total del 9.4%. Además se comprobó que los géneros bacterianos anteriormente mencionados, siguen prevaleciendo en el humus de lombriz, demostrando su capacidad degradativa.

ABSTRACT

BIODEGRADATION OF POLYSTYRENE USING MICROORGANISMS PRESENT IN THE HOLLOW HUMUS DURING THE MONTHS, OCTOBER - DECEMBER 2016.

In the present study, samples of polystyrene (disposable plastics) were placed in pots with worm humus at different depths and days, containing bacterial genera *Bacillus spp* and *Clostridium spp*. During the biodegradation the percentage of weight loss of the polystyrene samples placed on the surface, middle and bottom of the pot every 30 days for a period of 3 months was evaluated: October: 0%, 0.4% and 1.6% ; November: 0.4%, 0.8% and 4.8%; And December: 0%, 0.8%, and 3%. Based on the data obtained it is concluded that the highest biodegradation was observed in the bottom of the pot during the 90 days with a total biodegradation percentage of 9.4%. It was also verified that the above mentioned bacterial genera continue to prevail in the worm humus, demonstrating its degradative capacity.

I.- INTRODUCCION

A nivel mundial uno de los países que más genera residuos sólidos es Estados Unidos de una totalidad de 2 515 millones de toneladas al año provenientes de actividades económicas y hogares con una representación del 9% (213 millones de toneladas) en plásticos, actualmente existe una gestión inadecuada de estos residuos incinerándolos, con un alto costo de inversión y deterioro directamente al medio ambiente. **(EUROSTAT, 2012)**. En el Perú los residuos se dividen de la siguiente manera: restos orgánicos de cocina y de alimentos, que representan el 47,0% del total de residuos generados, seguido de los plásticos con un 9,5%, entre ellos los plásticos no reciclables como el Poliestireno (PS). **(MINAM, 2013)**. En la caracterización de residuos sólidos de Chiclayo el poliestireno espumado tiene un 0.23% que es acumulado en botaderos. **(SIGERSOL, 2015)**

El PS es un producto químico peligroso y nocivo compuesto por el benceno y estireno, que por sus características ligeras, económicas y fáciles de transportar se ha convertido en uno de los principales plásticos más utilizados por el ser humano tanto en actividades sociales (vasos, platos, cubiertos descartables de tecnopor) y también por las industrias como protectores de artefactos, debido a sus excelentes cualidades para la protección contra impactos y aislamiento térmico. Estos plásticos son vertidos en los botaderos sin ningún tratamiento previo y por consecuencia se dispersan y perduran con el tiempo generando impactos ambientales por su difícil degradación. **(Téllez, 2012)**

Estudios recientes han demostrado que el humus de lombriz es un fertilizante orgánico proveniente de la descomposición de materia orgánica; que es aplicado con el suelo, plantas y que ayuda asimilar los cationes, macro y micro nutrientes, gracias a su carga eléctrica negativa, al mismo tiempo evita la concentración de sales y estabiliza el pH de sustrato. Crea un medio ideal para la proliferación de microorganismos (bacterias, hongos, etc.) benéficos que se encargan de romper la estructura molecular del PS reduciéndolo en su peso a través del tiempo utilizando procesos metabólicos y enzimáticos. Los microorganismos que han sido

utilizados por su acción biodegradante y que utilizan como fuente de carbono al poliestireno son: *Micrococcus spp*, *Corynebacterium spp*, *Acinetobacter spp*, *Nocardia spp*, *Pseudomonas spp*, *Vibrio spp*, *Candida spp*, *Bacillus spp*, *Aspergillus niger*, *Clostridium spp.*, entre otros, han sido utilizados y aislados 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. **(Meza, 2013)**

Ante la problemática expuesta se formuló el siguiente **problema** de investigación ¿Cuál es el efecto de los microorganismos presentes en el humus de lombriz en el proceso de biodegradación del poliestireno?; para lo cual se propuso el siguiente **Objetivo General:** Determinar la biodegradación del poliestireno por microorganismos presentes en el humus de lombriz durante los meses Octubre – Diciembre del 2016, teniendo como **Objetivos Específicos:** Aislar e Identificar *Bacillus spp* y *Clostridium spp* presentes en el humus de lombriz, Evaluar la pérdida de peso del poliestireno cada 30 días durante 3 meses colocados sobre la superficie y enterradas a 2 profundidades diferentes en el humus de lombriz, y Evaluar la viabilidad de *Bacillus spp* y *Clostridium spp* presentes en el humus de lombriz.

II.- MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes:

Ideonella sakaiensis, se alimenta de PET, (tereftalato de polietileno), uno de los plásticos más utilizados a nivel mundial. Prácticamente todas las botellas y envases de plástico de uso común utilizan este compuesto, debido a sus propiedades, las bacterias que comen plástico, son capaces de alimentarse de este polímero. Para ello cuentan con un juego de enzimas jamás visto hasta la naturaleza. Las enzimas son proteínas encargadas de degradar un producto. La primera de ellas se encarga de convertir el plástico en un producto llamado monotereftalato. Una vez que se ha digerido, es capturado por *Ideonella* y vuelto a "digerir" mediante otra enzima, pero esta vez dentro de la bacteria. Así, este organismo convierte al PET en su fuente principal de carbono. **(Torres, 2016)**

Los géneros *Pseudomonas spp*, que son capaces de ejercer actividad degradativa sobre polímeros como el poliuretano y el cloruro de polivinilo, también las diferentes especies de *Bacillus spp* son capaces de producir una exoenzima que afecta al acetato de celulosa, material empleado para los revelados de Rayos X en medicina. El géneros de *Penicilliums pp* muestran su actividad degradativa sobre polietileno en asociación con *Bacillus spp*. También han sido reportados biodeterioro ejercido por algas, y otras especies de microorganismos. **(Gutiérrez, 2013)**

Las bacterias del género *Bacillus* son universales, debido a su capacidad para formar esporas, pueden vivir en el ambiente por varios años, y tienen la capacidad de degradar el plástico a un ritmo lento en la que su biodegradación puede demorar meses en donde es un proceso a modificar su estructura del plástico para hacerlo vulnerable y que desaparezca como residuo. En el proceso de degradación de un plástico se observa variaciones tanto físicas como químicas en el mismo, las modificaciones más palpables se encuentra en la pérdida del brillo, color, formación de grietas. **(AccessMedicina, 2010)**

Las *Pseudomonas* son un grupo grande e importante de bacterias Gram-negativo. Son encontradas como saprofitas de vida independiente en suelos, ecosistemas marinos, otros materiales naturales, y relacionados con plantas y animales como agentes desintegradores. También sobreviven y se multiplican en ambientes húmedos, en agua destilada, drenajes de lavabos, superficies mojadas, charcos y nebulizadores; agua estancada en general. La mayor parte de las especies de *Pseudomonas* tienen una gran versatilidad nutricional, por lo que son capaces de degradar una gran cantidad de compuestos orgánicos simples y complejos. Y siendo bacterias, las *Pseudomonas* basan gran parte de su alimentación en carbono, volviéndolas microorganismos capaces de degradar rápidamente derivados de este material, como plástico, al someterse a un medio donde éste último sea la fuente principal de carbón. **(UNAM, 2010)**

Un gran número de microorganismos han sido aislados a lo largo de todo el planeta a partir de distintos suelos contaminados con estireno. Los microorganismos capaces de utilizar estireno como única fuente de carbono y energía incluyen especies de *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Nocardia*, *Xanthobacter* y *Enterobacter*, así como la levadura negra *Exophiala jeanselmei* **(Peso, 2008)**

A pesar de que la descomposición es un proceso que llevan a cabo todos los organismos, a los que se les da propiamente el nombre de descomponedores son a las bacterias, algunos protozoarios y a la mayoría de los hongos que absorben los nutrientes, los descomponedores se caracterizan principalmente por digerir alimento afuera de su cuerpo mediante la secreción de enzimas de digestivas en el medio, logrando obtener así los nutrimentos necesarios para subsistir, mientras liberan aquello que no requieren, las bacterias que forman parte de la descomposición pueden ser anaerobias o aerobias si requirieran oxígeno para su metabolismo o no. Por ello degradan la materia que formaba al compuesto en moléculas simples, que son utilizadas como medio de alimentación.” **(Audesirk, 2008)**

La mayor parte de la degradación de los plásticos se podría llevar a cabo en un compostaje. También se han realizado estudios donde microorganismos presentes en el rumen como bacterias, hongos y protozoarios, con una concentración de oxígeno, humedad, una temperatura y un pH neutro, para que el microorganismo empiece a degradar el plástico. En diferentes condiciones favorece a la acción degradativa de los microorganismos y en donde la mayor parte de la degradación de plásticos podría llevarse a cabo en un compostaje, también se han realizado estudios donde microorganismos presentes en el rumen como bacterias son capaces de degradar polímeros como celulosa, , almidón, proteínas y ácidos nucleicos **(Carreon, 2008)**

El polietileno de baja densidad (considerando como inerte) puede ser degradado por el microorganismo *Brevibacillus borstelensis* como fuente de carbono a las temperaturas 37°C, 46°C y 55°C durante 1 mes de incubación. También es capaz de utilizar PS como fuente de carbono a las temperaturas de 46 y 55°C en el mismo tiempo de incubación. **(Villa et. al.,2008)**

“Los microorganismos juegan un papel principal en la descomposición del material orgánico. Hay gran cantidad de ellos como los hongos, bacterias y actinomicetos que están distribuidos en la tierra y en condiciones especiales pueden atacar los poliésteres alifáticos, los poliuretanos y las poliamidas. La presencia de bacterias anaeróbicas en suelos poco aireados también contribuye significativamente al aceleramiento de la degradación. La mayoría de las bacterias existen en los 30 cm superiores del suelo”. **(Posada, 2006)**

La actividad microbiana sobre los plásticos está dada por una acción enzimática, muchos autores proponen que la misma enzima iniciadora de la degradación de hidrocarburos (alcano monoxigenasa) es la responsable del ataque microbiano sobre la superficie de los polímeros sintéticos **(Seneviratne 2006)**.

Los compuestos tensoactivos producidos por los *Bacillus* en el medio de degradación, tienen como objetivo facilitar procesos de oxidación de hidrocarburos hasta formas atóxicas y no contaminantes y favorecer las emulsiones de este. Modula la hidrofobicidad, permitiendo la incorporación del hidrocarburo a la célula, acelerando el transporte a través de la membrana para llevar a cabo los procesos metabólicos que produzcan la multiplicación celular, a partir de los hidrocarburos como única fuente de carbono y energía. **(Cabranes et al. 2006)**

Plastivida (2006) describe los métodos de ensayo que determinan la biodegradabilidad total, que fue realizado bajo condiciones de simulación de un proceso de compostaje aeróbico intensivo. El inóculo utilizado consiste en un derivado maduro de compost estabilizado de ser posible derivado del compostaje de la fracción orgánica de la basura sólida municipal. El material de ensayo se mezcla con el inóculo en una proporción entre 5 – 10 % y se introduce en un recipiente estático donde se composte intensivamente bajo condiciones de oxígeno, temperatura y humedad óptimas durante un período de ensayo de no más de 6 meses. Este método está diseñado para simular las condiciones de compostaje aeróbico para abono de la fracción orgánica las basuras sólidas mixtas municipales.

Las muestras a base de polietileno no se biodegradaron a 60°C, pero se degradaron oxidativamente cuando se expusieron al aire por 60 días. Arrojo pruebas concluyentes en lo que respecta a oxidación con grupos carbonilos adicionales en el espectro. Los resultados de compostaje coincidieron con los datos oxidativos. Por último, el crecimiento de *P. aeruginosa* en todas las placas inoculadas donde el plástico era la única fuente de carbono demostró la capacidad de biodegradabilidad de compostaje y utilizarse para prevenir de manera segura, los numerosos problemas relacionados con los residuos plásticos no degradables en los rellenos sanitarios. **(Nadzrul, 2005)**

Se observa que, tal como se encontró en condiciones similares para polietileno de alta y de baja densidad, al comienzo la velocidad de biodegradación fue más rápida en un 0.25%, para luego disminuir (en este caso, a partir de los 2 meses de incubación). La baja pérdida porcentual de peso indica que los microorganismos que actuaron deberían estar presentes en una concentración considerablemente mayor que se encuentran en el humus de lombriz empleado para poder lograr un proceso de biodegradación microbiana en un tiempo aceptable. En efecto, con los valores obtenidos aquí se calcula, suponiendo una biodegradación que progrese idealmente hasta la casi totalidad del material estudiado, que se necesitarían 100 años o más para concretar este objetivo, lo cual no sería un emprendimiento atractivo de realizar en escala real para desechos del plástico estudiado. **(Alonso et al., 2001)**

La biodegradación es un proceso metabólico y enzimático realizado por los microorganismos como bacterias y algunos hongos, los cuales secretan enzimas que se encargan de romper la estructura molecular del plástico reduciéndolo en su peso a través del tiempo, aceptada por la comunidad científica por su eficiencia ya que los microorganismos atacan la superficie del plástico y lo utilizan como fuente de carbono para su crecimiento comiéndolo y a su vez degradándolo tanto de forma aeróbica como anaeróbica. **(Arutchelvi, et. al., 2000)**

En el vermicompost existe una población microbiana capaz de degradar todos los plásticos estudiados, aunque a velocidades diferentes. Los microorganismos contenidos en el vermicompost pudieron, en su conjunto y en las condiciones aplicadas, degradar a una velocidad absoluta mucho mayor las muestras de poliestireno expandido, con respecto a las demás muestras, de poliestireno y de polipropileno. Sin embargo, al expresar la velocidad con respecto al peso inicial de cada muestra (velocidad "específica"), se encuentran valores más próximos entre las muestras de poliestireno expandido y las de polipropileno; esto se debe a que esta forma de expresar la velocidad (que permite tener una idea del tiempo necesario para la degradación de cada muestra) tiene en cuenta tanto el espesor como el peso específico de cada muestra, los que fueron diferentes para las diferentes muestras ensayadas. Excepto para las muestras de bandejas de polipropileno, se encontró que la actividad de la población microbiana del compost

mejora con la profundidad del enterramiento, lo que podría estar relacionado con microorganismos que actúan solo en las condiciones (por ejemplo, concentración de oxígeno). **(Alonso et al., 2000)**

El humus es una herramienta biotecnológica donde se desarrollan varias especies de bacterias, hongos y actinomicetos que actúa en complejos procesos biológicos. Las bacterias descomponen los substratos de fácil uso, los compuestos de carbono simple tales como las exudaciones de las raíces y los residuos frescos de las plantas. Los desechos producidos por las bacterias se convierten en materia orgánica. Este desecho es menos descomponible que el material original de plantas y animales, pero puede ser usado por un gran número de organismos. Algunos de estos «descomponedores» pueden descomponer incluso pesticidas y agentes contaminantes en el suelo. Son especialmente importantes en la inmovilización y retención de nutrientes en sus células y, por lo tanto, previenen la pérdida de nutrientes de la zona de las raíces. **(Finstein, 1975).**

2.2 Base Teórica – Científica:

2.2.1 Industria del Plástico:

La industria del plástico se ha insertado en el mercado mundial cubriendo gran diversidad de necesidades del consumidor, tanto en la construcción, como en el consumo de necesidades personales como es el calzado, la industria eléctrica, bienes del hogar, empaques y envases todo esto de acuerdo con las características de la elaboración de productos que cubran las necesidades del consumidor. **(Ministerio del Comercio Exterior, 2007)**

Los plásticos hacen parte de un grupo de compuestos orgánicos denominados polímeros. 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. **(Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial, 2004)**

China es el principal productor de plásticos seguido de Europa, Norte América y Asia (excluyendo china), la mayor parte de los plásticos se emplean en la fabricación de envases, es decir, en productos de un solo uso. **(Greenpeace, 2001)**

- **Poliestireno:**

Es un plástico versátil usado para fabricar una amplia variedad de productos de consumo, dado que es muy resistente, duro y sólido. Cuando se combina con varios colorantes y aditivos el poliestireno se usa para hacer electrodomésticos, juguetes, macetas, etc. **(Chemical Safety Facts, 2017)**

El estireno (C_8H_8) es el más simple de los alqueniilbencenos y es un compuesto aromático, hidrofóbico y extremadamente volátil que se emplea en las industrias petroquímicas y de procesamiento de polímeros, liberándose al medio ambiente importantes cantidades de este compuesto como consecuencia, tanto en forma líquida como gaseosa. Se emplea en la industria química, bien como material de partida en la fabricación de plásticos, tipos de gomas, resinas sintéticas. **(Peso, 2008)**

El poliestireno estructuralmente es una cadena larga de carbono e hidrogeno, con un grupo fenilo unido cada dos átomos de carbono **(QUIMINET, 2005).**

- **Impactos Ambientales:**

Téllez (2012) indica que existe una alta posibilidad que el poliestireno pueda transportar y liberar contaminantes al ambiente y la vida animal por ser un material muy peligroso y nocivo para cualquier ser vivo cuando este se presenta en forma de residuo. Siendo el principal impacto ambiental de los residuos plásticos la contaminación de hábitats marinos donde han encontrado cantidades substanciales desde los desde los polos hasta el

ecuador, representando una amenaza para la biodiversidad marina. Los animales se enredan con estos, y pueden resultar heridos, inmóviles o muertos. Se sospecha que al ingerir los residuos se podrían transferir químicos tóxicos a los organismos. En el caso de los rellenos sanitarios, los aditivos y elementos constitutivos pueden ser liberados e introducidos al ambiente.

Alrededor de 8 millones de residuos llegan al océano cada día , siendo uno de los principales factores para la destrucción de la fauna y flora marina ya que los residuos que se encuentran en su totalidad ahí son objetos hechos a base de plásticos como botellas, fundas, tapas, etc. **(ECOMUNDO, 2011)**

La mayoría de los plásticos sintéticos no pueden ser degradados por el entorno; al contrario que la madera, el papel, las fibras naturales, o incluso el metal o el vidrio, no se oxidan ni se descomponen con el tiempo **(Villalba, 2010)**

2.2.2 Humus

La alimentación que necesita la lombriz para transformar eficientemente en humus es cualquier tipo de materia orgánica como el estiércol de animales o los residuos orgánicos vegetales, o los de origen urbano muchas de los cuales son contaminantes, que afectan al medio ambiente. Al hacer uso de los residuos orgánicos en forma ordenada, el mecanismo de transformación de la materia orgánica por medio de la lombriz de tierra, inhibe la liberación de productos contaminantes de suelo, agua y aire, que son generados por la descomposición de dicha materia. Las lombrices utilizan dos ingredientes básicos, cuya proporción es fundamental para la velocidad del proceso, estos son nitrógeno y carbono. El carbono o fibra (celulosa), se emplea para acondicionar el material haciéndolo más esponjoso y aireado. Además, una vez finalizado el proceso, dejan finas partículas de fibra que mejora las cualidades del humus. **(Tenecela, 2012)**

El humus es una mezcla compuesta por moléculas orgánicas, de naturaleza coloidal, proveniente de la descomposición de la materia orgánica. Ayuda a la retención de agua por hidratación, retiene iones y facilita el intercambio iónico con las raíces, mejora la nutrición vegetal, evita la compactación del suelo, incrementa la porosidad, es soporte de microorganismos que realizan el reciclado de la materia orgánica y cierra los ciclos de materia en el suelo. La respiración y fermentación por parte de los microorganismos genera calor, aumentando la temperatura del suelo. Tiene un carácter ácido (genera acidez en el suelo). **(Ortega, 2012)**

“El humus de lombriz es un fertilizante orgánico 100% natural, que se obtiene de la transformación de residuos orgánicos por medio de la Lombriz Roja de California (*Eiseniafoetida*). Tiene este producto unas propiedades específicas que lo convierten en un fertilizante extraordinario”. **(Totcompost, 2011)**

El humus tiene unas propiedades específicas que lo convierten en un complemento extraordinario para mejorar los suelos de cultivo de cualquier vegetal. La primera y más importante, es su riqueza en Microorganismos (flora microbiana: 1gr. de Humus contiene aproximadamente 2 billones de microorganismos vivos), que al ponerse en contacto con el suelo, aumentan la capacidad biológica de éste y como consecuencia su capacidad de producción vegetal. Sirve para restablecer el equilibrio biológico del suelo, roto generalmente por contaminantes químicos y monocultivos. En su composición están presentes Macro y Micronutrientes: Nitrógeno, Fósforo, Potasio, Calcio, Magnesio, Manganeso, Hierro, Sodio, etc. en cantidad suficiente para garantizar el perfecto desarrollo de las plantas, además de un alto contenido de Microorganismos. **(Silagro, 2015)**

2.3 Definición De Términos Básicos

- **Aislamiento:** Fenómeno que se presenta cuando existen factores que no hacen posible el intercambio entre los organismos. O sea es cuando el individuo se queda solo, sin ninguna perspectiva para desarrollarse y evolucionar. **(Barla, 2000)**

- **Biodegradación del plástico:** Proceso de descomposición de polímeros mediante la acción de organismos vivos. **(MINAM, 2012)**

- **Biodegradabilidad:** Susceptibilidad de una sustancia o material a ser degradado por microorganismos, especialmente es referida a la tasa de descomposición química de detergentes y plaguicidas por bacterias o factores ambientales naturales. **(Barla, 2000)**

- **Biotecnología:** Aplicación del conocimiento y principios científicos y/o ingeniería en la investigación científica, técnicas o procesos industriales que utilice entes biológicos, para la creación o modificación de organismos, productos o procesos para usos específicos. **(MINAM, 2012)**

- **Contaminación Ambiental:** Se denomina contaminación ambiental a la presencia en el ambiente de cualquier agente (físico, químico o biológico) o bien de una combinación de varios agentes en lugares, formas y concentraciones tales que sean o puedan ser nocivos para la salud, la seguridad o para el bienestar de la población, o bien, que puedan ser perjudiciales para la vida vegetal o animal, o impidan el uso normal de las propiedades y lugares de recreación y goce de los mismos. La contaminación ambiental es también la incorporación a los cuerpos receptores de sustancias sólidas, líquidas o gaseosas, o mezclas de ellas, siempre que alteren desfavorablemente las condiciones naturales del mismo, o que puedan afectar la salud, la higiene o el bienestar del público. (Glosario MINAM)

- **Humus de lombriz:** El humus de lombriz es el producto resultante de la transformación digestiva en forma de excretas que ejerce este pequeño anélido sobre la materia orgánica que consume. **(INFOJARDIN, 2002)**

- **Microorganismos:** Son plantas y animales microscópicos que habitan el suelo y cumplen la función de descomponer la materia orgánica y liberar los minerales .Entre estos están los hongos, bacterias, actinomicetes, algas, protozoarios, levaduras, nematodos, etc. **(INFOJARDIN, 2002)**
- **Sustancias Peligrosas:** Son compuestos que tienen diferentes presentaciones (líquidos, polvos, pastillas, etc.), los cuales son utilizados para diversos propósitos tales como: venenos para el control de plagas domésticas o plagas de los cultivos (plaguicidas), detergentes, combustibles y otros. Estos compuestos son peligrosos porque pueden dañar la salud de las personas, animales, plantas y el medio ambiente en general; si no son empleados de una manera consciente y prudente. Por esto es que se les llama comúnmente venenos o sustancias tóxicas. **(MINAM, 2012)**

2.4 Hipótesis:

Bacillus spp y *Clostridium spp* presentes en el humus de lombriz tienen efectos biodegradables sobre el poliestireno.

III.- MATERIALES Y METODOS

3.1 Variables y Operacionalización de variables

- **Variable Dependiente** : Biodegradación de Poliestireno (PS)
- **Variable Independiente**: Microorganismos presentes en el humus de lombriz.

3.2 Tipo de estudio y diseño de investigación

La investigación es experimental, pretende establecer las causas de los eventos sucesos, para probar la hipótesis. El diseño experimental es el de prueba - posprueba con un solo grupo, utilizando como tratamiento el humus de lombriz.

3.3 Población y muestra:

Población: Diferentes tipos de Plástico

Muestra : Poliestireno (PS)

3.4 Métodos, técnicas e instrumentos de recolección de datos.

3.4.1. Métodos:

Aislamiento e identificación de los géneros *Bacillus spp* y *Clostridium spp* presentes en el humus de lombriz:

Aislamiento e identificación del Género *Bacillus spp*:

Para el aislamiento de *Bacillus spp* se procedió primero a pesar 10 g. de muestra de humus, adicionando 90 ml de agua destilada estéril o solución salina fisiológica, agitando fuertemente. Luego se dejó reposar para separar el sobrenadante en un tubo estéril, para llevarlo a una solución de 10^{-9} utilizando 9 ml de agua destilada y 1 ml de la solución anterior.

Se procedió a sembrar en Agar nutritivo empleando la técnica del estriado, por un periodo de incubación a 37° durante 24 horas. (Anexo 1)

Con las cepas seleccionadas, se efectuaron pruebas bioquímicas en agar TSI, LIA, SIM, Citrato y Almidón, prueba de catalasa y tinción Gram donde se observó la reacción y morfología de la célula en el microscopio.

Aislamiento e identificación del Género *Clostridium spp*:

Para el aislamiento de *Clostridium spp* se procedió primero a pesar 10 gr. de muestra de humus, adicionando 90 ml de agua destilada estéril o solución salina fisiológica, agitando fuertemente. Luego se dejó reposar para separar el sobrenadante en un tubo estéril, para llevarlo a una solución de 10^{-9} utilizando 9 ml de agua destilada y 1 ml de la solución anterior.

Se enriqueció el caldo tioglicolato, tomando 1 ml de agua en el tubo y colocando 2 trozos de carne, se colocó hervir hasta que se evapore el agua, luego se tomó 2 ml de caldo tioglicolato y se añadió al tubo que contenía la carne. Para posteriormente sellar el medio con parafina líquida, periodo de incubación a 37°C por 72 horas. (Anexo 2)

Transcurrido el tiempo se evaluó el crecimiento de *Clostridium spp*, observando el estado de la carne, color, turbidez, gas. Con las cepas seleccionadas, se realizó tinción Gram donde se observó la reacción y morfología de la célula en el microscopio.

Evaluación de la pérdida de peso del poliestireno cada 30 días durante 3 meses colocados sobre la superficie y enterradas a 2 profundidades diferentes en el humus de lombriz. (Alonso et al.2000).

La biodegradación de los plásticos se realizó siguiendo el diseño experimental de prueba y posprueba con un solo grupo.

Las muestras se pesaron antes de ser ubicadas en los maceteros respectivos en una balanza digital en rectángulos de 3,3 cm y 7,0 cm de lados, posteriormente se colocaron en macetas en contacto con el humus de lombriz, como fuente de microorganismos para su biodegradación, durante 3 meses y una temperatura promedio de 25°C.

La primera muestra se colocó en una profundidad de 5 cm de la maceta, la segunda muestra en 2,5 cm de profundidad y la tercera en la superficie.

Posteriormente, se determinó la biodegradabilidad del poliestireno por durante los meses Octubre, Noviembre y Diciembre, por acción de los microorganismos del humus de lombriz. (Anexo 3)

3.4.2. Técnicas:

- **Volumen degradado del Poliestireno (PS):**

Peso biodegradado del Poliestireno (PS) en gramos

Se determinó la biodegradabilidad por el peso residual en gramos cada 30 días durante 3 meses, estimando la pérdida de peso por acción de los microorganismos del humus de lombriz, utilizando la siguiente formula (**Ángel, 2007**):

$$\text{Peso biodegradado PS} = W_{\text{inicial}} - W_{\text{final}}$$

Porcentaje del Poliestireno (PS) biodegradado

Se obtuvo el peso biodegradado de la diferencia del peso inicial menos el peso final, y luego se convirtió a porcentajes utilizando la siguiente formula (**Ángel, 2007**):

$$\% \text{Perdido} = \frac{w_{\text{inicial}} - w_{\text{final}}}{w_{\text{inicial}}}$$

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

W_{final} : Peso final del plástico después de los 30,60 y 90 días.

3.4.3. Instrumentos:

Se utilizó fichas y cuaderno de campo como Instrumentos para la recolección y procesamiento de los datos en el laboratorio.

Para la observación de microorganismos se utilizó el microscopio y cámara fotográfica, para el registro de imágenes en el tiempo.

3.5 Procesamiento de datos y análisis estadístico.

Para la comprobación de datos se utilizó el análisis descriptivo, como su nombre lo indica describen y resumen las observaciones obtenidas sobre un fenómeno un suceso o un hecho. Además se utilizó el programa de computación "Excel" para la elaboración de base de datos, tablas y figuras.

IV.- RESULTADOS

4.1. Aislamiento e Identificación de *Bacillus spp* y *Clostridium spp* presentes en el humus de lombriz.

Para el aislamiento de *Bacillus spp* y *Clostridium spp*, se utilizó muestras del humus de lombriz donde se cultivaron en Agar Nutritivo y Caldo Tioglicolato e incubadas a 37°C por 24 horas y el otro por 72 horas. Las colonias fueron replicadas en Agar Tripticasa Soya (ATS) para la obtención de cultivos puros. Para la identificación se realizaron pruebas bioquímicas convencionales y tinción Gram, las cuales están señaladas en el **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9ª Edición (1994)**. (Anexo 4-8)

4.2. Evaluación de la pérdida de peso del poliestireno cada 30 días durante 3 meses colocados sobre la superficie y enterradas a 2 profundidades diferentes en el humus de lombriz.

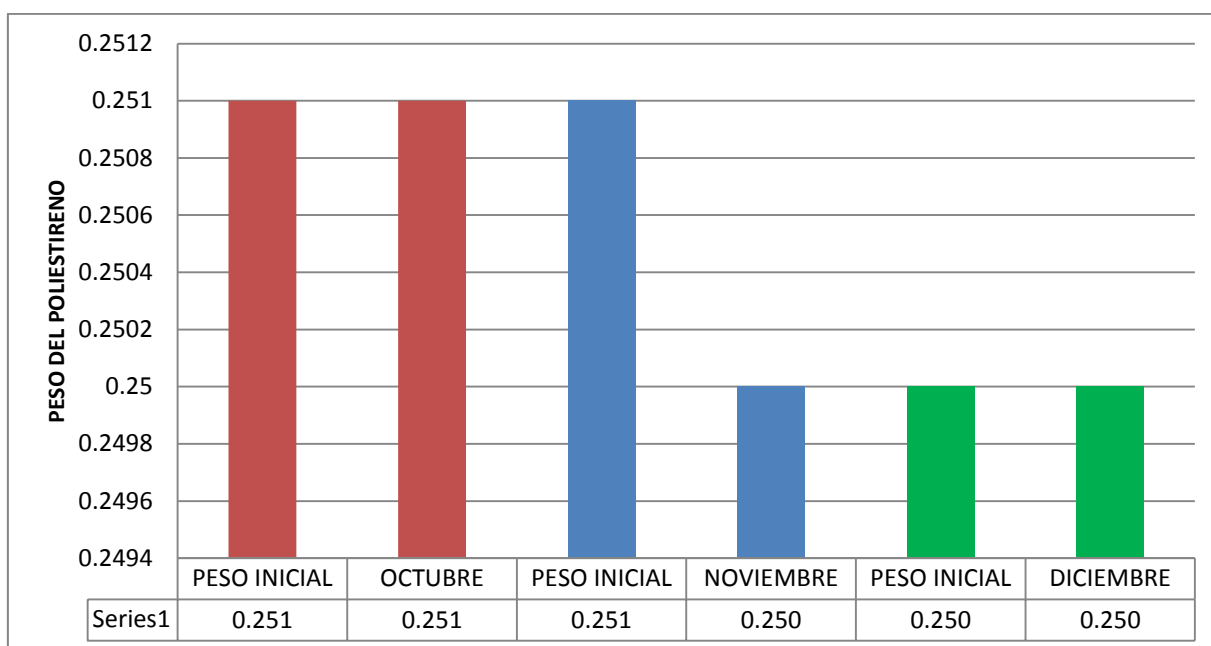
4.2.1. Biodegradación del poliestireno colocado sobre la superficie de la maceta en el humus de lombriz.

Los promedios de biodegradación del poliestireno durante el periodo de 3 meses colocado sobre la superficie de la maceta, se presenta en la Tabla 1, Fig. 1, en la cual se aprecia que al tener contacto con el humus de lombriz cada 30 días se obtuvo una biodegradación en el mes de: Octubre 0.000 mg; Noviembre 0.001 mg y Diciembre 0.000 mg. Obteniéndose al finalizar los 90 días una biodegradación de 0.001 mg como resultado la diferencia de peso inicial y final .

Tabla 1 Variación de peso de la muestra colocado sobre la superficie de la maceta cada 30 días durante los meses Octubre – Diciembre

| PESO INICIAL | OCTUBRE | BIODEGRADACION OCTUBRE | PESO INICIAL | NOVIEMBRE | BIODEGRADACION NOVIEMBRE | PESO INICIAL | DICIEMBRE | BIODEGRADACION DICIEMBRE |
|--------------|---------|------------------------|--------------|-----------|--------------------------|--------------|-----------|--------------------------|
| 0.251 | 0.251 | 0 | 0.251 | 0.250 | 0.001 | 0.250 | 0.250 | 0.000 |

Figura 1 Peso del poliestireno colocado sobre la superficie de la maceta durante los meses Octubre - Diciembre



Luego de tabular la diferencia de pesos se procedió a hallar los el porcentaje Biodegradado como se muestra en la Fig. 2, obteniéndose como resultado al aplicar la fórmula:

- Porcentaje de biodegradación mes de Octubre:

$$\% \text{ de perdida} = \frac{0.251 - 0.251}{0.251} \times 100 = 0\%$$

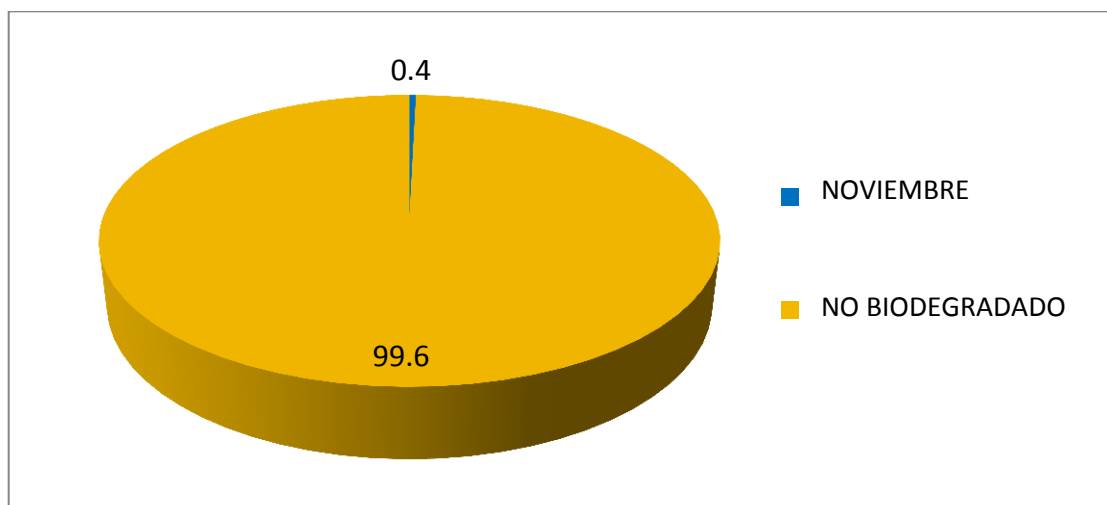
- Porcentaje de biodegradación mes de Noviembre:

$$\% \text{ de perdida} = \frac{0.251 - 0.250}{0.2250} \times 100 = 0.4\%$$

- Porcentaje de biodegradación mes de Diciembre:

$$\% \text{ de perdida} = \frac{0.250 - 0.250}{0.250} \times 100 = 0\%$$

Figura 2 Porcentaje de biodegradación del poliestireno colocado sobre la superficie de la maceta durante 3 meses



Nota: En la Fig. 2 se muestra que en el mes de noviembre se obtuvo una biodegradación total de 0.4%, la diferencia del 96.6% no logro disminuir su peso después de los 3 meses de haber estado sobre la superficie de la maceta con el humus de lombriz.

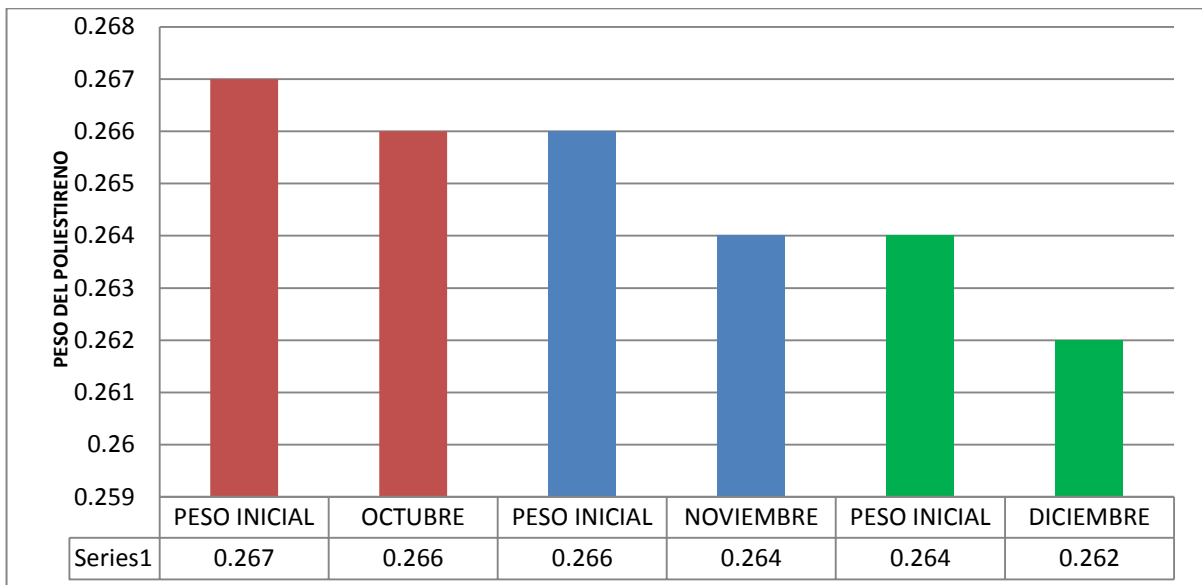
4.2.2. Biodegradación del poliestireno enterrado en la parte media de la maceta en el humus de lombriz.

Los promedios de biodegradación del poliestireno durante el periodo de 3 meses enterrado la parte media de la maceta, se presenta en la Tabla 2, Fig. 3, en la cual se aprecia que al tener contacto con el humus de lombriz cada 30 días se obtuvo una biodegradación en el mes de: Octubre 0.001 mg; Noviembre 0.002 mg y Diciembre 0.002 mg. Obteniéndose al finalizar los 90 días una biodegradación de 0.005 mg como resultado la diferencia de peso inicial y final .

Tabla 2 Variación de peso de la muestra poliestireno enterrado en la parte media de la maceta cada 30 días durante los meses Octubre – Diciembre

| PESO INICIAL | OCTUBRE | BIODEGRADACION OCTUBRE | PESO INICIAL | NOVIEMBRE | BIODEGRADACION NOVIEMBRE | PESO INICIAL | DICIEMBRE | BIODEGRADACION DICIEMBRE |
|--------------|---------|------------------------|--------------|-----------|--------------------------|--------------|-----------|--------------------------|
| 0.267 | 0.266 | 0.001 | 0.266 | 0.264 | 0.002 | 0.264 | 0.262 | 0.002 |

Figura 3 Peso del poliestireno enterrado en la parte media de la maceta durante los meses Octubre - Diciembre



Luego de tabular la diferencia de pesos se procedió a hallar los el porcentaje degradado como se muestra en la Fig. 4, obteniéndose como resultado al aplicar la fórmula:

- Porcentaje de biodegradación mes de Octubre:

$$\% \text{ de perdida} = \frac{0.267 - 0.266}{0.267} \times 100 = 0.4\%$$

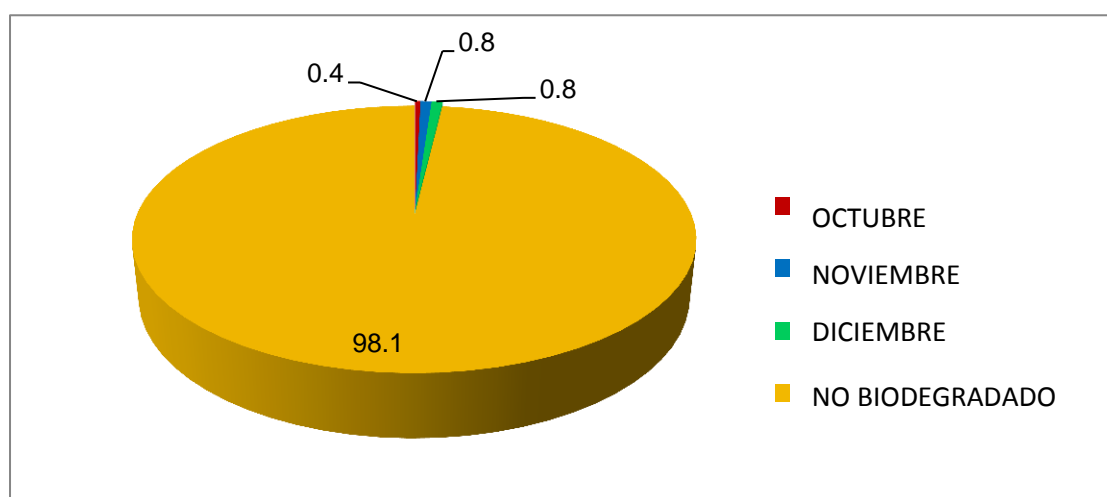
- Porcentaje de biodegradación mes de Noviembre:

$$\% \text{ de perdida} = \frac{0.266 - 0.264}{0.266} \times 100 = 0.8\%$$

- Porcentaje de biodegradación mes de Diciembre:

$$\% \text{ de perdida} = \frac{0.264 - 0.262}{0.264} \times 100 = 0.8\%$$

Figura 4 Porcentaje de biodegradación del poliestireno enterrado en la parte media de la maceta cada 30 días durante 3 meses



Nota: En la Fig. 4 se muestra que durante los 3 meses se obtuvo una biodegradación total de 2%, la diferencia del 98. % no logro disminuir su peso después de haber estado enterrado en la parte media de la maceta con el humus de lombriz.

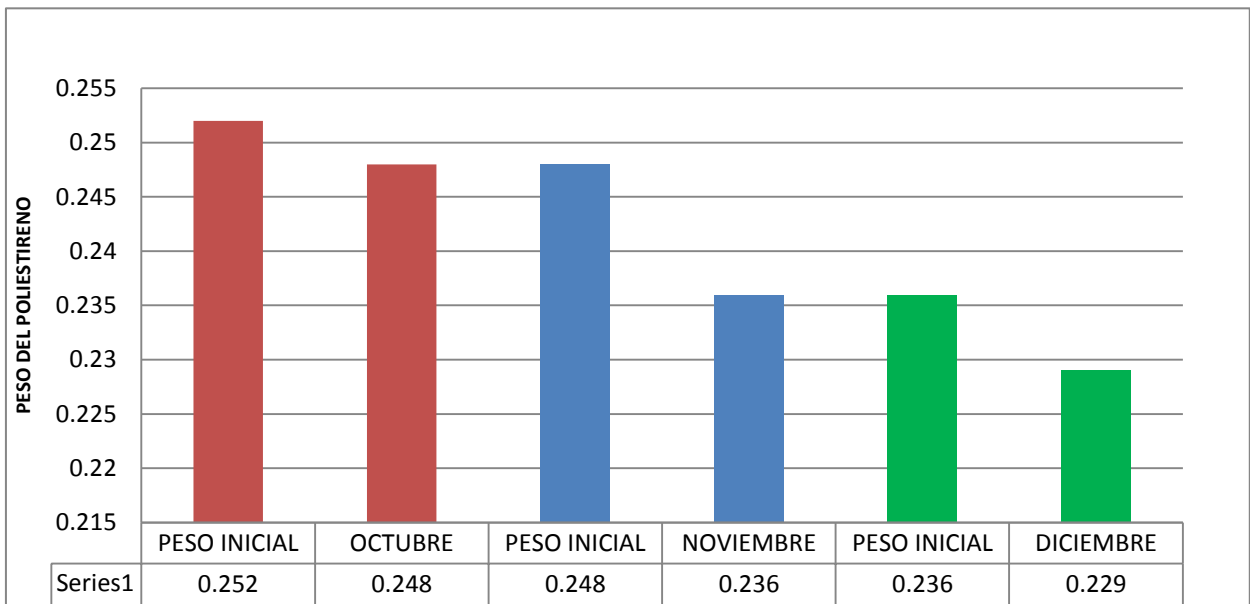
4.2.3. Biodegradación del poliestireno enterrado en fondo de la maceta en el humus de lombriz.

Los promedios de biodegradación del poliestireno durante el periodo de 3 meses enterrado en el fondo de la maceta, se presenta en la Tabla 3, Fig. 5, en la cual se aprecia que al tener contacto con el humus de lombriz cada 30 días se obtuvo una biodegradación en el mes de: Octubre 0.004 mg; Noviembre 0.012 mg y Diciembre 0.007 mg. Obteniéndose al finalizar los 90 días una biodegradación de 0.023 mg como resultado la diferencia de peso inicial y final .

Tabla 3 Variación de peso de la muestra poliestireno enterrado en el fondo de la maceta cada 30 días durante los meses Octubre – Diciembre

| PESO INICIAL | OCTUBRE | BIODEGRADACION OCTUBRE | PESO INICIAL | NOVIEMBRE | BIODEGRADACION NOVIEMBRE | PESO INICIAL | DICIEMBRE | BIODEGRADACION DICIEMBRE |
|--------------|---------|------------------------|--------------|-----------|--------------------------|--------------|-----------|--------------------------|
| 0.252 | 0.248 | 0.004 | 0.248 | 0.236 | 0.012 | 0.236 | 0.229 | 0.007 |

Figura 5 Peso del poliestireno enterrado en el fondo de la maceta durante los meses Octubre - Diciembre



Luego de tabular la diferencia de pesos se procedió a hallar los el porcentaje degradado como se muestra en la Fig. 6, obteniéndose como resultado al aplicar la fórmula:

- Porcentaje de biodegradación mes de Octubre:

$$\% \text{ de perdida} = \frac{0.252 - 0.248}{0.252} \times 100 = 1.6\%$$

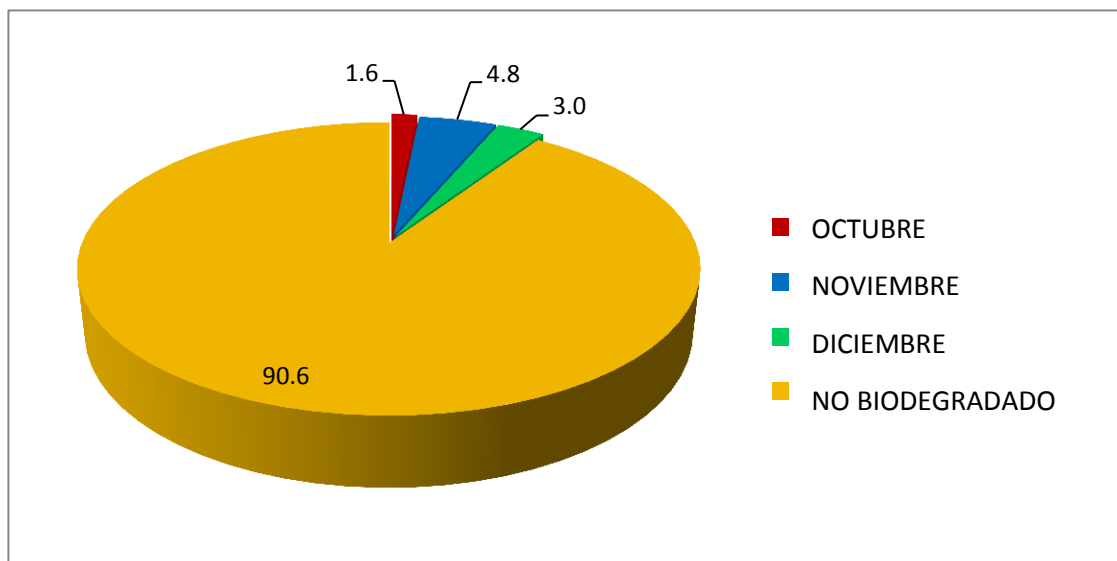
- Porcentaje de biodegradación mes de Noviembre:

$$\% \text{ de perdida} = \frac{0.248 - 0.236}{0.248} \times 100 = 4.8\%$$

- Porcentaje de biodegradación mes de Diciembre:

$$\% \text{ de perdida} = \frac{0.236 - 0.229}{0.236} \times 100 = 3\%$$

Figura 6 Porcentaje de biodegradación del poliestireno enterrado en el fondo de la maceta cada 30 días durante 3 meses



Nota: En la Fig. 4 se muestra que durante los 3 meses se obtuvo una biodegradación total de 9.4%, la diferencia del 90.6 % no logro disminuir su peso después de haber estado enterrado en fondo de la maceta con el humus de lombriz.

4.3. Evaluación de la viabilidad de *Bacillus spp* y *Clostridium spp* presentes en el humus de lombriz.

Se comprobó que durante los 3 meses los géneros bacterianos *Bacillus spp* y *Clostridium spp* se encuentran presentes en el humus de lombriz.

V.- DISCUSIONES

Las bacterias pertenecientes al género *Bacillus spp* tienen la capacidad de degradar el plástico paulatinamente, modificando su estructura y utilizándolo como fuente de carbono, a diferencia de lo reportado por un estudio de la **UNAM (2010)** donde manifestaron que el género *Pseudomonas spp* basan gran parte de su alimentación en carbono, volviéndolas microorganismos capaces de degradar rápidamente derivados de este material, como plástico, la diferencia es que el género *Pseudomonas spp* posiblemente tiene mayor capacidad de degradación por multiplicarse rápidamente y consumir compuestos derivados del petróleo.

En estudios realizados por **Posada (2006)** reporta gran cantidad de hongos, bacterias y actinomicetos en condiciones especiales pueden atacar los poliésteres alifáticos, así como las bacterias anaeróbicas en suelos poco aireados también contribuye significativamente al aceleramiento de la degradación, resultados que concuerdan con la investigación realizada, donde se comprobó que los géneros bacterianos *Bacillus spp* y *Clostridium spp* contribuyen a la degradación del poliestireno. Esta similitud probablemente se debe a que estos microorganismos son capaces de degradar polímeros complejos e hidrocarburos, favoreciendo significativamente el aceleramiento de la degradación.

Según **Alonso et al. (2001)** la velocidad de biodegradación del polietileno en el primer mes es más rápida, y luego disminuye a partir de los 2 meses teniendo una pérdida porcentual de peso de 0.25, lo que indica que los microorganismos tienen un proceso de biodegradación en un tiempo aceptable, mientras que en nuestros resultados de biodegradación de poliestireno hubo una pérdida porcentual es de 9.4%, esta diferencia posiblemente se debe a las muestras diferentes de plástico, así como el material biológico biodegradable. Los géneros bacterianos *Bacillus spp* y *Clostridium spp* fueron aislados del humus de lombriz, estos resultados varían a lo reportado por **Nadzrul (2005)**, quien aisló la especie

P. aeruginosa, del compostaje. Estas diferencias posiblemente dependen de los distintos medios de cultivo que se utilizaron para aislar las bacterias, así como también al material biológico biodegradable.

Los *Bacillus spp* aislados en la investigación, son generadores de enzimas amilasas, las cuales concuerdan con **Cabrantes et al. (2006)** quien comprobó que los compuestos tensoactivos producidos por los *Bacillus* en el medio de degradación, tienen como objetivo reducir el contaminante en formas atóxicas. Esta similitud probablemente se debe a que la cepa aislada *Bacillus spp* puede producir esta enzima al ser aislada de sustrato o suelo de cultivo.

El poliestireno perdió mayor peso al estar en el fondo de la maceta en contacto con el humus de lombriz, a comparación de la muestra de la parte media y de la superficie, coincidiendo con los resultados de **Alonzo et al. (2000)** quien recalca que la actividad de la población microbiana del compost mejora con la profundidad del enterramiento, lo que está relacionado con microorganismos que actúan solo en las condiciones de concentración de oxígeno lo hace un mejor proceso de biodegradación en ese nivel. Esta semejanza probablemente se debe a que los microorganismos consumen carbono del plástico produciendo oxígeno, acelerando la biodegradación. (Anexo 9)

VI.- CONCLUSIONES

1. Se aislaron e Identificaron los géneros *Bacillus spp* y *Clostridium spp* en el humus de lombriz.
2. Se evaluó la pérdida de peso del poliestireno a los cada 30 días durante 3 meses, dando como resultado el porcentaje de biodegradación: En la superficie 0.4%, parte media 2% , y fondo de la maceta 9.4%, colocado en el humus de lombriz respectivamente, teniendo efectos biodegradables sobre el poliestireno
3. Se evaluó la viabilidad de los microorganismos presentes en el humus de lombriz y se observaron los géneros *Bacillus spp* y *Clostridium spp*.

VII.- RECOMENDACIONES

1. Obtener las enzimas amilasas de *Bacillus spp* para obtener detergentes biodegradables.
2. Aislar e identificar otros microorganismos productores de enzimas,
3. Reemplazar el humus de lombriz por suelo de botadero para experimentar la biodegradación.
4. Utilizar otros tipos de plásticos para el proceso de biodegradación.
5. Utilizar otros medios de cultivo para el aislamiento de microorganismos.

VIII.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Alonso, S., Lozano R., Madregal O., Vilte D., Apaza M. y Savaria I. (2001). Degradación de poliestireno y polipropileno con microorganismos de vermicompost. San Salvador de Jujuy.
- Alonso, S., Viturro, I., Sueldo, G., (2000). Biodegradación de polipropileno. Buenos Aires.
- Angel, J. (2007). Problemas sobre porcentajes (p.102). Revisado 22 Marzo 2017. Recuperado de http://www.math.com.mx/docs/sec/sec_0005_Problemas_Porcentaje Mexico: Mathcon
- Audesirk, T. (2008). Evaluación de la bacteria *Pseudomona* como degradador del polietileno. (p. 22). Mexico.
- Arutchelvi, J., Sudhakar M., Arkakar A., y Doble, M. (2000). Biodegradation of polyethylene and polypropylene. India.
- Barla, F. (2000). Un diccionario para la educación ambiental. Revisado 1 Marzo 2017, Recuperado de http://www.elcastellano.org/glosario_ambiental.pdf.Uruguay:Maldonado.
- Cabranes, Y., Nuñez, R., Martínez, J., & Ortiz, E. (2006). Bacterias del genero *Bacillus* degradadoras de N-Hexadecano aisladas del sedimento marino: parámetros cinéticos (p. 183). Cuba: Universidad de La Habana.
- Carreón, A. (2008). Aislamiento de microorganismos degradadores de tereftalato de polietileno (PET) en medio ambiente combinado. México
- Chemical Safety Facts (2017). ¿Qué es el poliestireno?. Revisado 22 Marzo 2017, Recuperado de <https://.chemicalsafetyfacts.org/es/poliestireno/>
- Ecomundo. (2011) Espacio de comunicación sobre el medio ambiente y desarrollo sostenible a nivel nacional e internacional. Revisado 11 Diciembre 2016, Recuperado de <http://www.revistaecomundo.com/>
- EUROSTAT. (2012). Ec.europa.eu. Revisado 3 Marzo 2017, Recuperado de http://ec.europa.eu/eurostat/statisticsexplained/index.php/Waste_statistics/es
- Finstein, M. (1975). Microbiology of Municipal Solid Waste Composting. (9th ed.) Paris, Francia.

- Greenpeace. (2001). Datos sobre la producción de plásticos. Revisado 15 Diciembre 2016. Recuperado de <http://greenpeace.org/espana/es/Trabajamos-en/Parar-la-contaminacion/Plasticos/Datos-sobre-la-produccion-de-plasticos/>. Canadá: Vancouver.
- Gutiérrez, S. (2013). 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). Recuperado de <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v17i1.62>
- Holt, J., Krieg, N., Sneath, P., Staley, J., & Williams, S. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (9th ed., pp. 300-307). USA: William R. Hensyl.
- Meza, M. (2013). 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. Carrera de Ingeniería en Biotecnología. Escuela politécnica del ejército (EPSE). Sede Sangolquí.
- Microbiología Médica*. (2017) (27th ed., pp. 50-53). California. Retrieved from <http://accessmedicina.mhmedical.com/Book.aspx?bookid=1837>
- MINAM. (2012). *Glosario de Términos Ambientales*. Lima: SM Perú
- MINAM. (2013). *Sexto informe nacional de residuos sólidos de la gestión del ámbito municipal y no municipal* (p. 137). Lima: SM Perú.
- Ministerio del Comercio Exterior (2007). *Asociación Nacional de la Industria del Plástico A.C "Perspectivas de la Industria del Plástico en México* (p. 50). México: Estado de México
- Nadzrul, F. (2005). *Biodegradabilidad de los residuos plásticos degradables*. Gran Bretaña
- Ortega, P. (2012). *El suelo edafología (Documento de estudio N°10)*. España: Autor.
- Peso, M. (2008). *Estudio de la regulación de la expresión de los genes catabólicos en "Pseudomonas"* (Doctorado para optar el grado de título de Biología). Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Complutense de Madrid.
- Posada, B. (2006). *La degradación de los plásticos*. *Revista Universidad Eafit*. Recuperado 15 Enero 2017 de <http://publicaciones.eafit.edu.co/index.php/revistauniversidadeafit/article/view/1408>
- Plastivida. (2006). *Degradación de los materiales plásticos* (p.9). Argentina: Entidad Técnica Profesional Especializada en Plásticos y Medio Ambiente

- Quiminet. (2017). Todo sobre el Poliestireno . Revisado 22 Noviembre 2016, Recuperado de <https://www.quiminet.com/articulos/todo-sobre-el-poliestireno-3337.htm>
- SIGERSOL. (2015). Sistema de información para la gestión de residuos sólidos. Recuperado de <http://sigersol.minam.gob.pe/2015/verInforme.php?id=1211>). Perú: Chiclayo
- Silagro. (2015). Ficha técnica vermicomposta . 2016, de Servicio agropecuario.
- Téllez, A. (2012). La complejidad de la problemática ambiental de los residuos plásticos: Una aproximación al análisis narrativo de política pública en Bogotá (Magister). Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ciencias Económicas.
- Tencela, X. (2012). Producción de humus de lombriz mediante el aprovechamiento y manejo de los residuos orgánicos (Tesis para optar el grado de título de Biólogo). Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Cuenca.
- Totcompost (2011). Aplicaciones vermicompost. Revisado 21 Octubre 2016, Recuperado <http://totcompost.com/descargas/aplicaciones%20vermicompost.pdf>
- Torres. (2016). Las bacterias que comen plástico, nueva forma de reciclar. Recuperado 20 Febrero 2017 de <https://hipertextual.com/2016/03/bacterias-que-comen-plastico>
- UNAM. Universitario feria de las ciencias (2010) Evaluación de la bacteria pseudomona como degradador del polietileno. Mexico. Autor
- Villa, C., Rivera, D., Capilla, V. y Gardé A. (2008) Degradación biológica de polímeros mediante la selección y producción de potenciales cultivos iniciadores. España. CIMNE.
- Villalba, H. (2010) Peligros ambientales del uso masivo de los plásticos. Tecnología Industrial I. Revisado 10 Enero 2017, Recuperado de <https://iesvillalbahervastecnologia.files.wordpress.com/2010/02/medioambiente-plasticos.pdf>

IX.- ANEXOS

Anexo 1 Aislamiento de *Bacillus spp* en Agar Nutritivo.

DILUCIÓN DE AGARES



SOLUCIÓN DE LA MUESTRA DE HUMUS



SIEMBRA EN AGAR NUTRITIVO



INCUBACIÓN A 37°



Para el aislamiento de *Bacillus spp* se procedió preparar el agar, luego la solución de humus de lombriz en agua destilada, para posteriormente sembrar en Agar nutritivo por un periodo de incubación a 37° durante 24 horas.

Anexo 2 Aislamiento de *Clostridium Spp* a partir del caldo tioglicolato.

**SIEMBRA EN CALDO
TIOGLICOLATO**



**CALDO TIOGLICOLATO
ENRIQUECIDO**



PROCESO ANAEROBICO



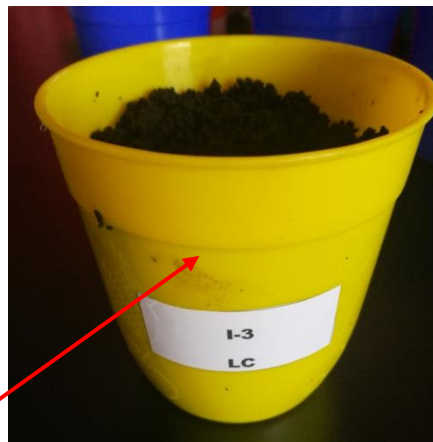
Aislamiento del género Clostridium spp en caldo tioglicolato enriquecido por 72 hrs en anaerobiosis.

Anexo 3 Muestras de Poliestireno (PS) en macetas, enterradas a diferentes profundidades: fondo, media y superficie en humus de lombriz.

PESADO DE MUESTRA DE PS

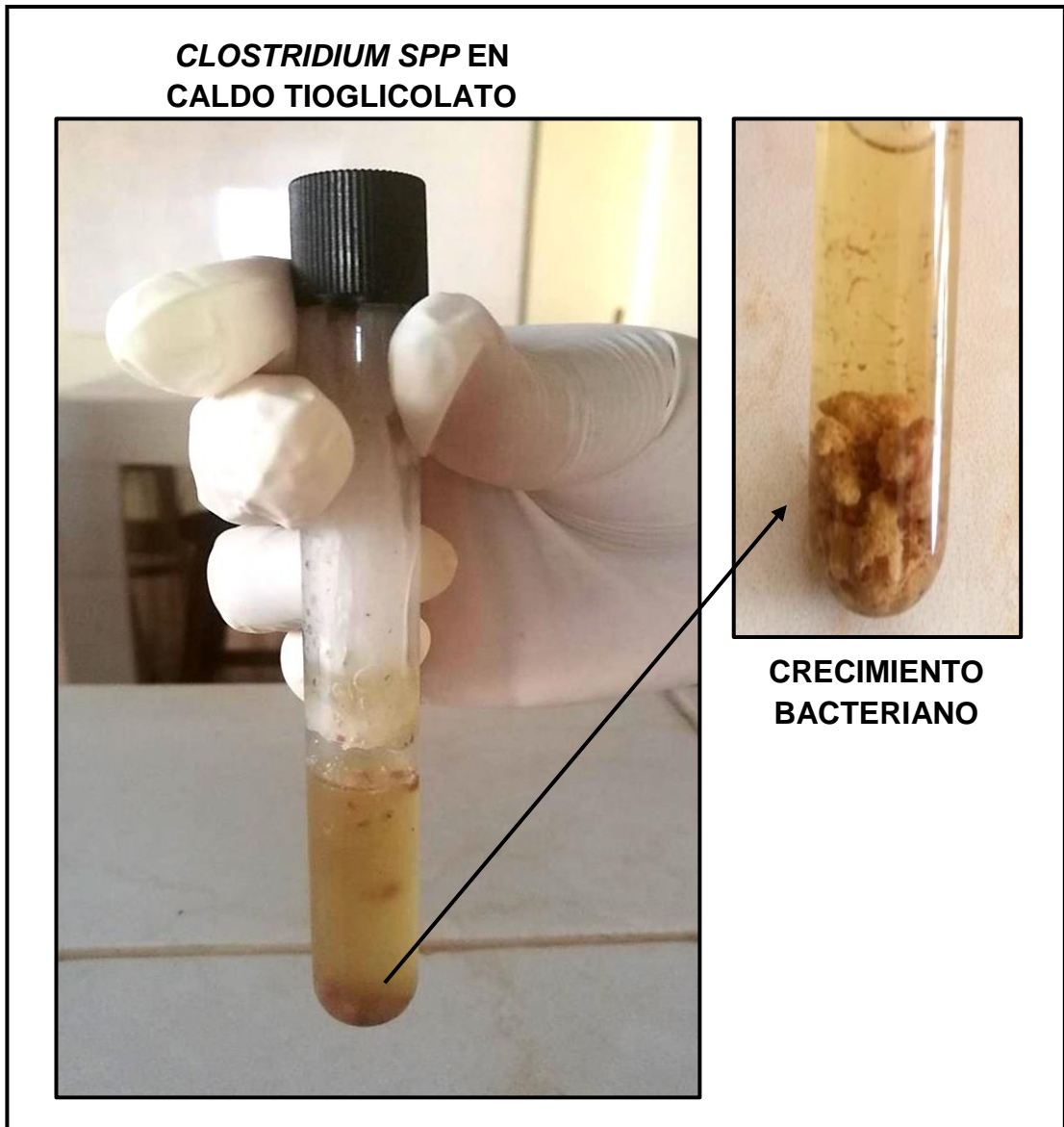


PS ENTERRADO A PROFUNDIDADES DIFERENTES



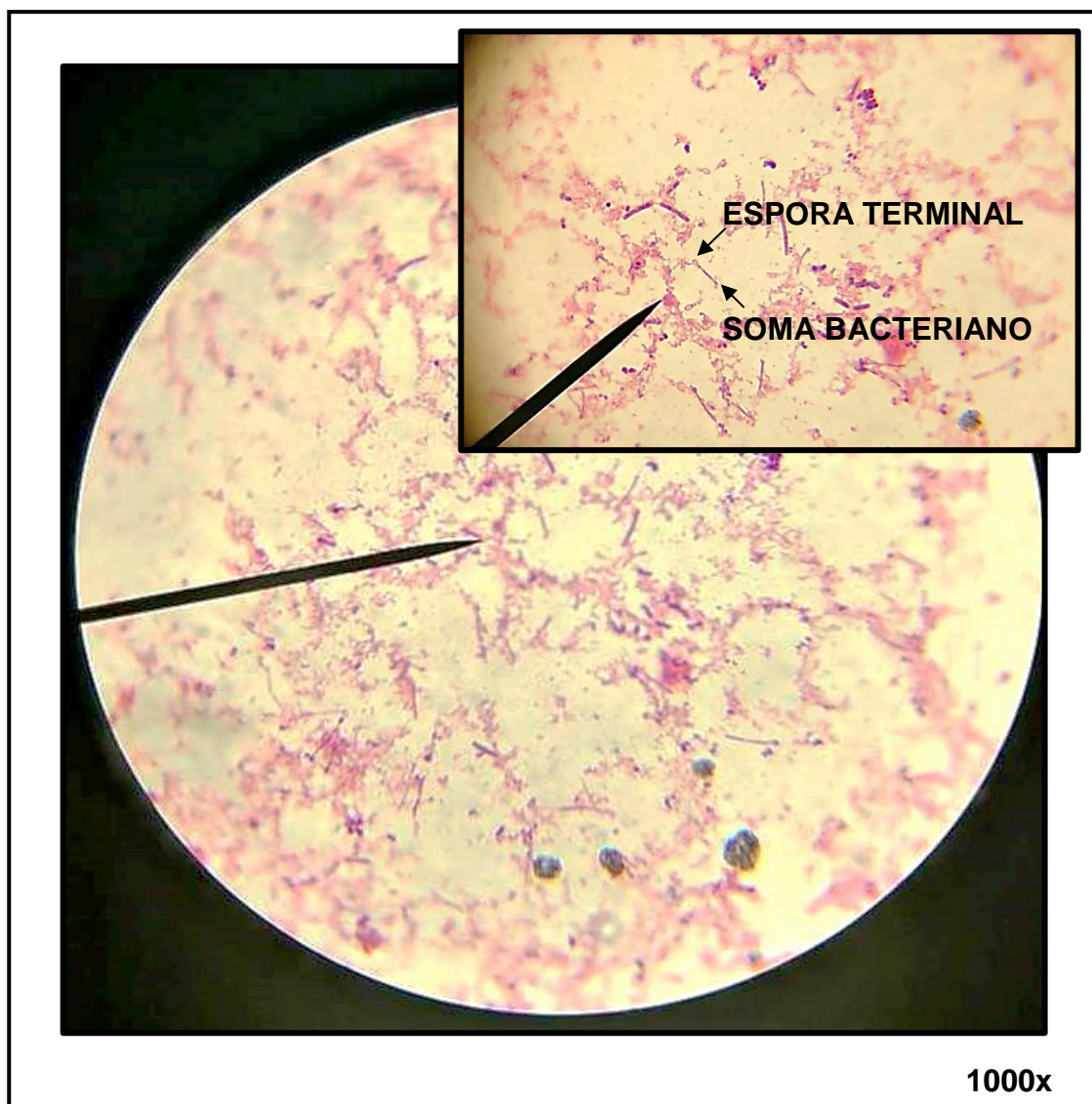
Las muestras se pesaron antes de ser ubicadas en los maceteros respectivos en una balanza digital, posteriormente se colocan en macetas en contacto con el humus de lombriz a 2 profundidades diferentes y una en la superficie, evaluando cada 30 días durante 3 meses, el porcentaje biodegradado.

Anexo 4 Observación de *Clostridium Spp* a partir del caldo tioglicolato.



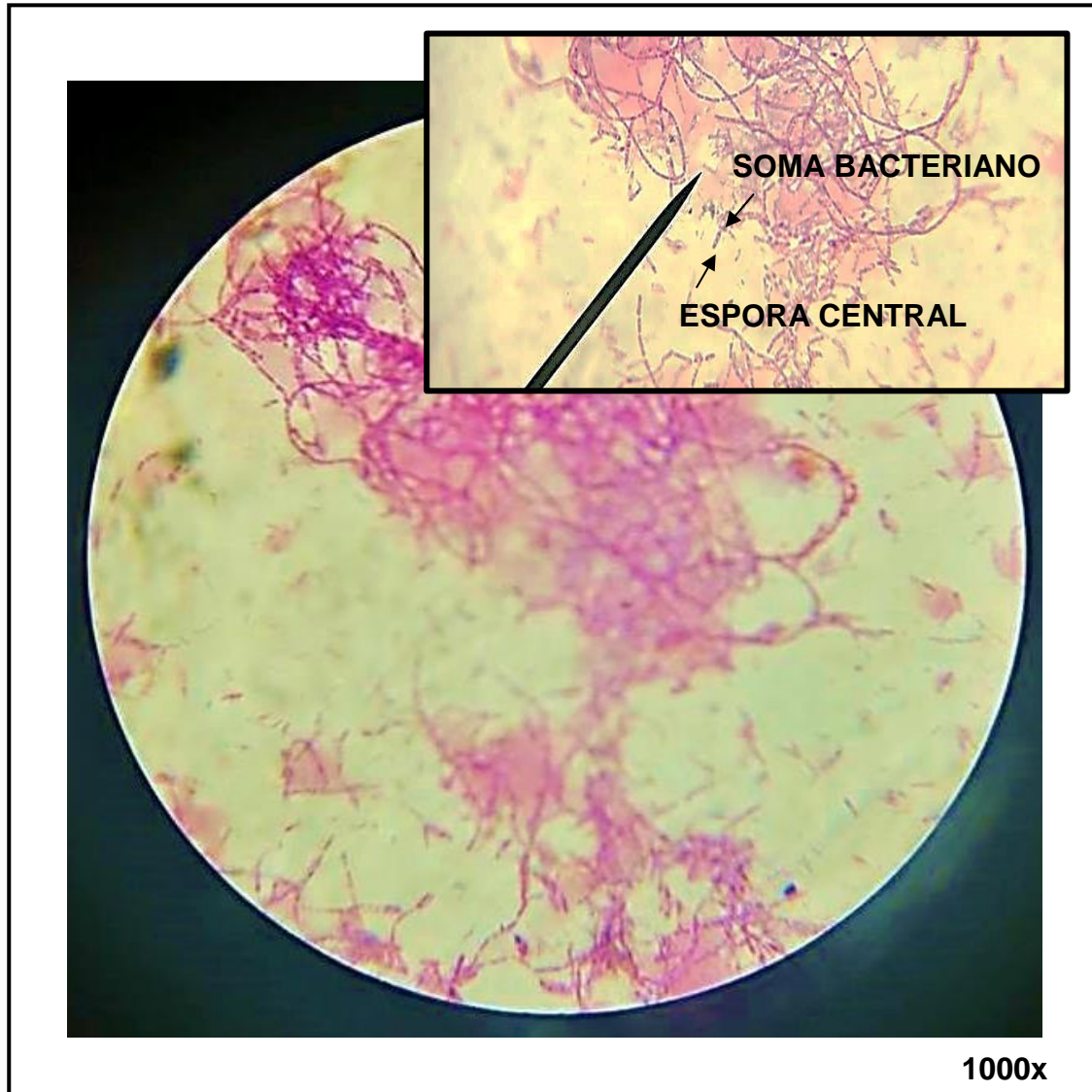
Observación del género Clostridium spp en caldo tioglicolato después de 72 hrs en anaerobiosis, obteniendo como resultado en la observación macroscópica el crecimiento bacteriano color negro, digestión de la carne, producción de gas y H₂S.

Anexo 5 Observación Microscópica del género *Clostridium Spp.*



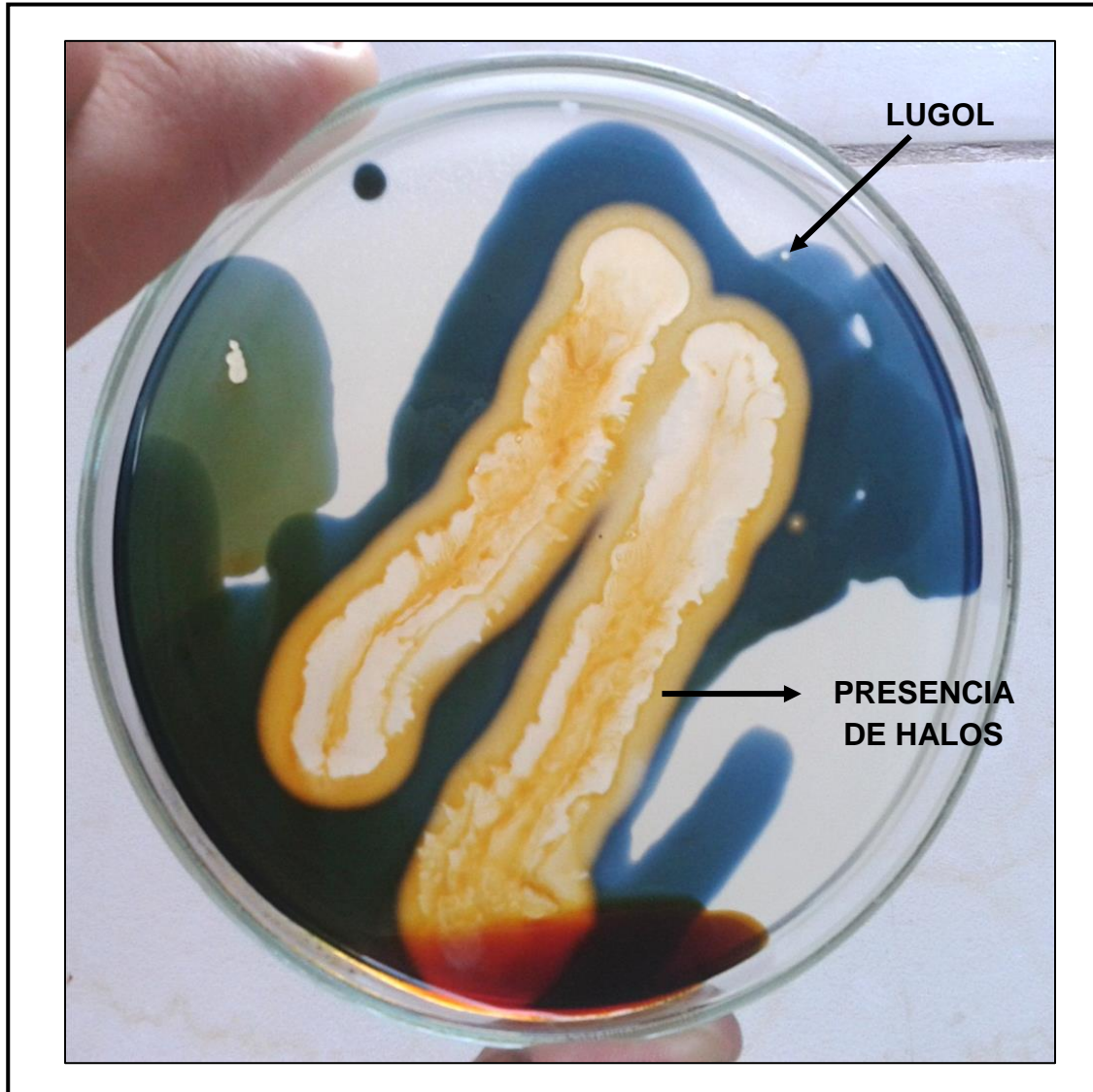
Género Clostridium Spp, Morfología bacilar forma de palillo de tambor, tinción Gram (+), presencia de espora terminal que deforma el soma bacteriano.

Anexo 6 Observación Microscópica del género *Bacillus Spp.*



Género Bacillus Spp, Morfología bacilos en cadenas, tinción Gram (+), presencia de espora central, no deforma el soma bacteriano.

Anexo 7 Producción de Enzimas Amilasas por cepas de *Bacillus Spp* en medio Agar Almidón.



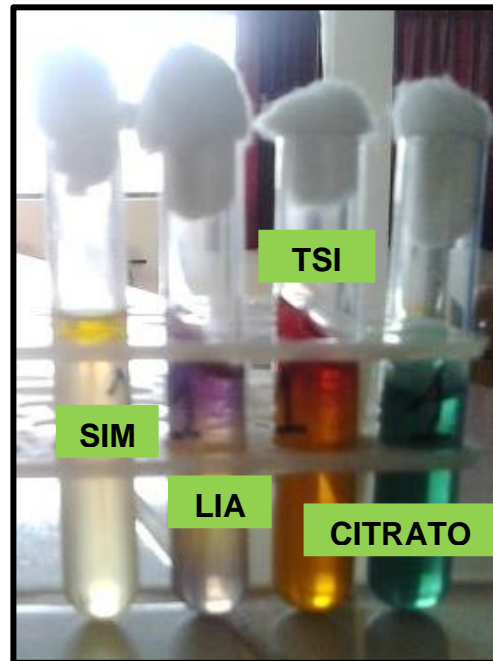
Observación macroscópica del genero Bacillus Spp y su producción de enzimas amilasas en el medio de cultivo Agar Almidón.

Anexo 8 Pruebas bioquímicas y replicas en Agar Tripticasa Soya (ATS).

REPLICAS DE CEPAS EN ATS

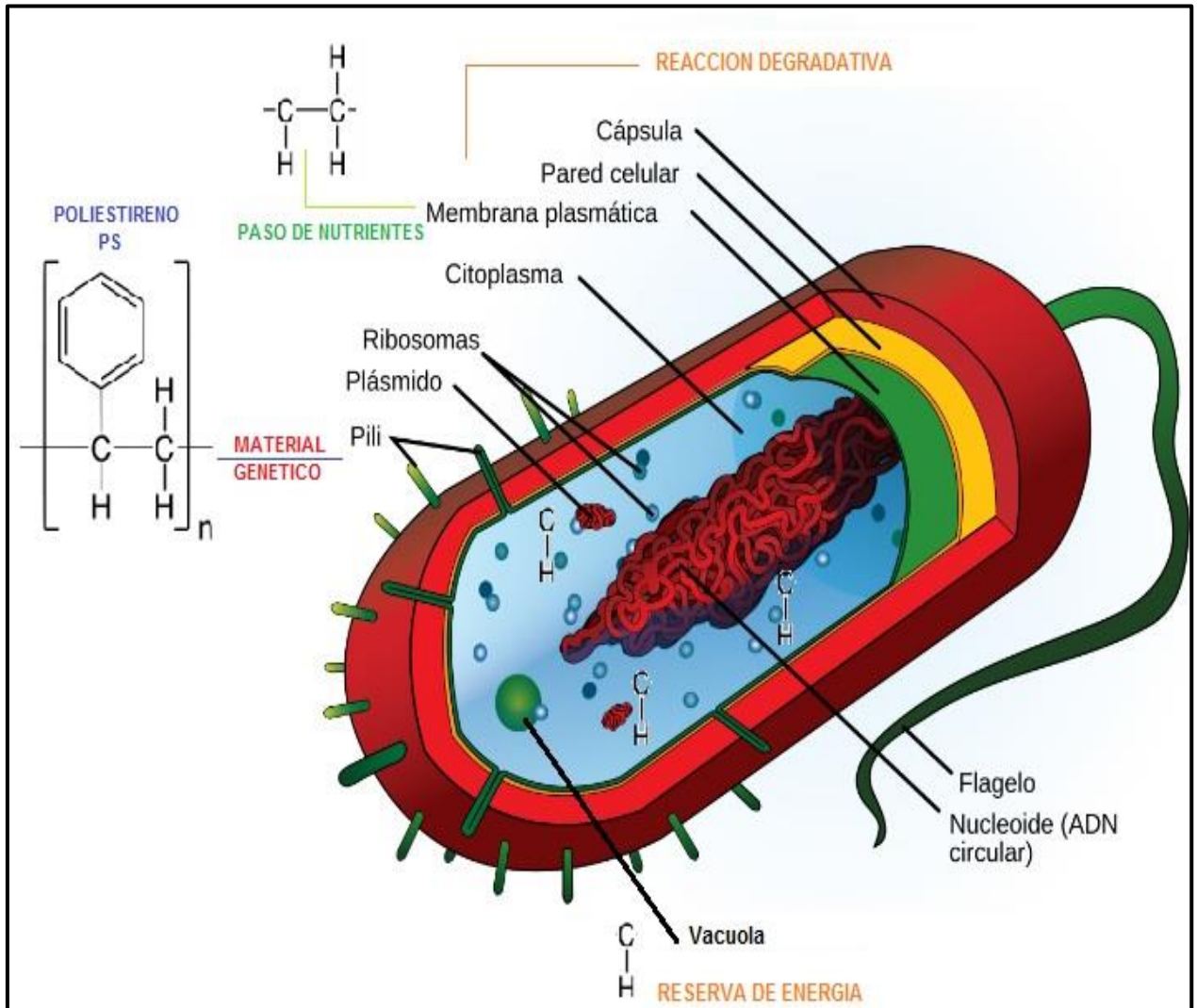


PRUEBAS BIOQUIMICAS



Las cepas fueron replicadas en ATS, para luego realizar las pruebas bioquímicas, obteniendo como resultado que las características del genero bacteriano Bacillus Spp

Anexo 9 Proceso metabólico microbiano al degradar poliestireno.



Ruta catabólica donde la bacteria toma el carbono e hidrogeno del compuesto del poliestireno para utilizarlo como energía. El cual al llegar a la membrana plasmática ocurre el paso de nutrientes el cual se codifica en el pili y se replica en el interior de la célula, para la producción de enzimas degradativas.