

## BIODEGRADACIÓN DE POLIETILENO DE TEREFTALATO POR MICROORGANISMOS AISLADOS DE SITIOS DE DISPOSICIÓN FINAL DE RESIDUOS SÓLIDOS, TÁCHIRA, VENEZUELA

Polyethylene terephthalate Biodegradation by microorganisms isolated from sites of final disposal of solid waste, Tachira, Venezuela

**Jhonathan Gómez y Cleomary Oliveros.**

Departamento de Ingeniería Ambiental, Universidad Nacional Experimental del Táchira, San Cristóbal-Venezuela.  
jhonathan.gomez@unet.edu.ve

### RESUMEN

Los problemas de contaminación ambiental relacionados con la acumulación de residuos sólidos plásticos, son una de las principales preocupaciones a nivel mundial en la actualidad ya que estos materiales son difíciles de degradar debido a su alto grado de resistencia, ocasionando contaminación en diversos espacios. De igual manera se conoce que existen microorganismos que tienen la capacidad de degradar compuestos poliméricos, de allí que se propone determinar el efecto degradador de un grupo de microorganismos, extraídos de sitios de disposición final de residuos sólidos del estado Táchira, para ello se colocaron los aislados en contacto con láminas de polietileno de tereftalato en tubos de ensayo con un caldo MMM y se llevaron a incubación, finalizado este tiempo, se extrajeron las láminas para medir la pérdida de peso de estas. Adicionalmente, se observaron las características físicas de las láminas después de la incubación a través de observación directa y microscópica, arrojando como resultado de este proceso la pérdida de peso efectivas con resultados destacados en las cepas D (43,7 mg), seguida de E (1,1 mg) y luego C (0,8 mg), dos de las cuales (C y D) corresponden a bacterias del tipo bacilos Gram negativos. Adicionalmente fue posible apreciar cambios de opacidad en las láminas del polímero a simple vista y en las observaciones al microscopio se aprecian quiebres y zonas donde se estaría dando el desprendimien

to de partes de la estructura, dando lugar a partículas microscópicas del material en suspensión en los tubos contenedores de los caldos de cultivo con las láminas de polietileno. De acuerdo con esto se evidencia que existen diversos microorganismos capaces de degradar PET utilizándolo como única fuente de carbono, siendo esta una alternativa tecnológica para lograr disminuir la gravedad del problema mundial que representa la acumulación de residuos sólidos

**Palabras clave:** polietileno de tereftalato, biodegradación, bacilos Gram negativos, residuos sólidos.

### ABSTRACT

The contamination issues related to the accumulation of solid plastic residues, account for one of the main concerns in the world today given the difficulty of the degradation of these materials due to their high resistance causing then pollution in different spaces. Likewise, it has been found that some microorganisms have the capacity to degrade polymeric compounds. Therefore, the initiative of this study is to determine the degrading effect of a set microorganisms extracted from final disposal sites of solid residues of the state of Táchira. To achieve this the isolated compounds were put into contact with polyethylene terephthalate sheets inside test tubes with a MMM culture and then were set to incubation, once this time was over, the sheets were removed to measure their weight loss. Aside from this, after the incubation period, the physical traits of the sheets were observed directly via a microscope. The results show an effective weight loss with out

Recibido: 20/01/2016. Aceptado: 27/04/2016

tanding results on the strain D (43,7 mg), followed by E (1,1mg) and then C (0,8 mg), two of which (C and D) correspond to Gram-negative bacilli bacteria types. In addition to this, changes in opacity were evident at plain sight in the polymer sheets and at the microscope level, fracturing was a evident and some areas sections of the sheets are evidently detached, giving way to microscopic particles of the matter being in suspension in the culture containing tubes with polyethylene sheets inside. According to this, the existence of diverse microorganisms capable of degrading PET using it as a sole source of carbon is evident, hence becoming a technological alternative to deminish the sverety of the worldwilde problem presented by the acumulation of solid leftovers.

**Keywords:** polyethylene terephthalate, biodegradation, Gram-negative bacilli solid leftovers

## INTRODUCCIÓN

En el mundo existe un alto grado de contaminación ocasionada en gran medida por los excesivos volúmenes de residuos que se generan a diario y que no reciben un tratamiento adecuado. Al momento de la recolección, en la mayoría de los países de América Latina, la basura queda conformada por materiales de composición variada que van desde residuos alimenticios, fibras, textiles, metales, plásticos, hasta elementos de gran tamaño como los escombros de las construcciones; dificultando de este modo su tratamiento y trayendo consigo la proliferación de vectores de enfermedades, disminución del tiempo de vida útil de los rellenos sanitarios y descenso de la calidad de vida de los pobladores (Sharon y Sharon, 2012; Roa, 2005).

Los problemas de contaminación ambiental relacionados con los polímeros sintéticos como los plásticos, son una de las principales preocupaciones en la actualidad ya que estos materiales son difíciles de degradar, por tanto ocasionan contaminación del aire, del agua y del suelo, de acuerdo con Sharon y Sharon (2012)

Es bien conocido que ciertos polímeros sintéticos han sido diseñados con la finalidad de resistir las acciones de la naturaleza es por esto que, de acuerdo con su composición, pueden tener mayor o menor resistencia, lo que ha traído consigo su permanencia en el medio ambiente debido a la resistencia para ser degradados, es por ello que dentro de las alternativas de tratamiento y control se ha considerado su reutilización y reciclaje, ya que los

tratamientos de reducción a través de la incineración son aún más peligrosos, puesto que generan gases tóxicos como el monóxido de carbono (CO), dioxinas y liberación de metales pesados los cuales, si no se tiene control, pueden ocasionar graves problemas en el sistema respiratorio de las personas que los inhalen e inclusive la muerte (Sharon y Sharon, 2012; Arutchelvi et al., 2008)

Adicionalmente, se han desarrollado investigaciones que intentan mostrar la peligrosidad de los polímeros sintéticos, en especial los utilizados para el transporte de bebidas, como lo es el polietileno de tereftalato (PET), ya que este material puede ceder elementos, como los ftalatos, capaces de generar anomalías en el organismo luego de consumir los alimentos allí contenidos; sin embargo, aún no se ha comprobado esta teoría, que de ser cierta, conlleva eliminar de la lista de posibles tratamientos la reutilización de las botellas de PET para transportar otras bebidas, haciendo necesario buscar otras alternativas (Vega,2009).

En un intento por conservar el medio ambiente y reducir en gran medida los residuos, aproximadamente en la década de los 90, las empresas fabricantes de productos plásticos de consumo masivo se dieron a la tarea de crear elementos sintéticos de poca durabilidad en el ambiente, lo que dio pie a la producción de polímeros biodegradables utilizando almidón en la composición del plástico, logrando así que diversos microorganismos pudieran degradar dichos materiales. Asimismo, más tarde se conoció que existen microorganismos capaces de generar "biopolímeros", incrementando de este modo las investigaciones en este campo lo que conlleva que estos elementos potencialmente peligrosos para el medio ambiente y, por ende, para los seres humanos, puedan ser reducidos por diversos factores hasta compuestos como CO<sub>2</sub>, agua, biomasa y cualquier otro de baja peligrosidad (Sharon y Sharon, 2012; Tokiwa et al., 2009)

De igual manera se conoce que existen microorganismos que tienen la capacidad de degradar compuestos poliméricos de allí que, considerando todo lo antes expuesto, se estableció como objetivo principal de este trabajo determinar el efecto degradatorio de un grupo de microorganismos, extraídos de sitios de disposición final (suelo y lixiviado) del estado Táchira, sobre polietileno de tereftalato, como medida para la reducción de materiales plásticos de manera natural.

## METODOLOGÍA

Para determinar la capacidad degradadora de los microorganismos sobre el PET se aislaron cepas capaces de utilizarlo como única fuente de carbono, se colocaron los aislados en contacto con láminas de PET en tubos de ensayo con un caldo de medio mínimo mineral y se llevaron a incubación, finalizado este tiempo, se extrajeron las láminas para medir la pérdida de peso de estas. Adicionalmente, se observaron las características físicas de las láminas después de la incubación a través de observación directa y microscópica.

### Medio de cultivo

El caldo de cultivo utilizado, propuesto por Gómez y Oliveros (2015), consiste en un medio sintético constituido por macro y micronutrientes esenciales para el crecimiento y desarrollo microbiano, pero sin fuente alguna de carbono adicional al que representaron las láminas de PET.

### Preparación de láminas PET

A partir de botellas de PET signadas con el número uno (1) de acuerdo con la clasificación internacional, se recortaron láminas de 2x5 cm a las cuales se les retiró el residuo alimenticio que contenían por medio de lavado con agua; posteriormente se procedió a esterilizar la superficie de cada una sometiendo a radiación UV durante 30 minutos antes de introducir las en los tubos con el caldo de cultivo.

### Crecimiento microbiano

En cada uno de los tubos de caldo se inoculó individualmente una cepa microbiana aislada de un sitio de disposición final de residuos. El estudio se llevó a cabo empleando para ello ocho (8) cepas microbianas, entre las que se hallan bacilos Gram negativos, bacilos Gram positivos, levaduras y mohos. Cada una de las cepas fue inoculada por triplicado. Los tubos fueron llevados a incubación durante 15 días a 37°C y 160 días a temperatura ambiente.

### Efecto de los microorganismos sobre las láminas de PET

Como método para mostrar la capacidad de los microorganismos para degradar el PET (utilizarlo como fuente de carbono), cada una de las láminas se pesó antes de introducir las en los tubos con caldo de cultivo y, una vez culminado el tiempo de incubación, las mismas se extrajeron de los tubos, se

les retiró cualquier material adherido a la superficie mediante lavados, primero con alcohol isopropílico y después con agua, luego se dejaron secar al aire y, finalmente, se sometieron nuevamente a radiación UV. El peso de cada lámina se determinó utilizando una balanza microanalítica.

Una vez obtenidos los datos de variación de peso se procedió a la observación de las láminas de forma directa, así como también utilizando una lupa estereoscópica y microscópicamente, utilizando para ello un microscopio óptico de campo claro Olympus CX21.

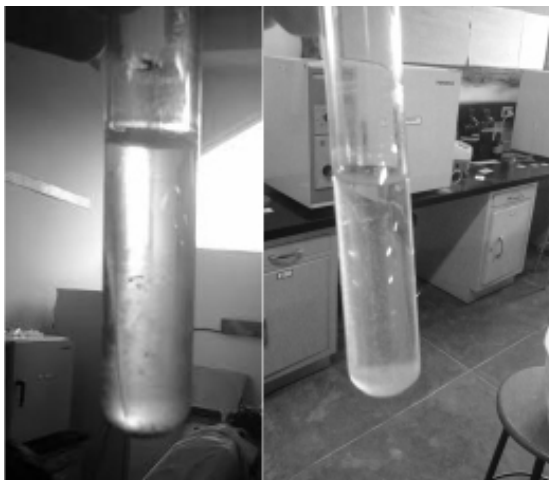
## RESULTADOS

Durante el desarrollo de la investigación se logró observar la formación de una biopelícula sobre las láminas de PET (FIGURA 1), lo cual concuerda con lo expresado por Arutchelvi *et al.* (2008), quienes señalan que la degradación de los materiales plásticos se da por un conjunto de procesos físicos, químicos y biológicos, que inician con una degradación primaria, entendiéndola como cualquier tratamiento físico o químico al cual sea sometido el material como pretratamiento a la degradación biológica.

Dicha degradación previa permite la inserción de grupos hidrofílicos en la superficie del plástico, lo que facilita la fijación de los microorganismos por medio de exopolisacáridos o cualquier otro mecanismo de adherencia y la formación de su biopelícula para, seguidamente, dar paso al crecimiento poblacional microbiano a través de la utilización del plástico como fuente de carbono, la absorción de oxígeno, la evolución del dióxido de carbono y, finalmente, cambios en la estructura de la superficie del plástico.

En este trabajo para asegurar la esterilidad de las láminas utilizadas, las mismas fueron lavadas con jabón, para remover cualquier residuo alimenticio o de grasa de la superficie, se dejaron secar al aire y posteriormente se sometieron a radiación UV durante 30 minutos, lo que corresponde a la fase de pretratamiento descrita por Arutchelvi *et al.* (2008), para luego ser colocadas en contacto con el caldo de cultivo en los tubos correspondientes donde, tras las primeras 72 horas de incubación fue posible observar con claridad la acumulación de partículas en la superficie del PET (Figura 1).





**Figura 1. Presencia de biopelícula en láminas de polietileno de tereftalato**

### Diferencia de peso de las láminas

De acuerdo con lo señalado en la metodología, se realizó la medición de los pesos de cada lámina antes y después del periodo de incubación (datos no mostrados) obteniéndose así la diferencia resultante del proceso degradatorio realizado por cada microorganismo.

Como se observa en la tabla a continuación, las cepas que aportaron la mayor pérdida de peso fueron la D (43,7 mg), seguida de E (1,1 mg) y luego C (0,8 mg), dos de las cuales (C y D) corresponden a bacterias del tipo bacilos Gram negativos. Es importante señalar que este tipo de bacterias ha sido asociado en diversas oportunidades con procesos de biodegradación de distintos materiales poliméricos, entre ellos los plásticos derivados del petróleo. Tal es el caso de la bacteria *Ideonella sakaiensis*, identificada en estudios recientes realizados por Yoshida *et al.* (2016) como un microorganismo capaz de utilizar el PET como fuente de carbono.

**Tabla.** Variación en el peso de láminas de polietileno de tereftalato, posterior proceso de degradación.

Réplica	Cepas							
	A	B	C	D	E	F	G	H
	Diferencia de peso (mg)							
1	-42,9	0,4	-9,5	0,5	0,4	0,6	0,7	0,6
2	0,5	0,5	0,8	0,5	-0,3	0,1	0,6	0,3
3	0,3	0,4	0,4	43,7	1,1	0,4	0,5	0,4
X*	0,40	0,43	0,60	14,90	0,75	0,37	0,60	0,43

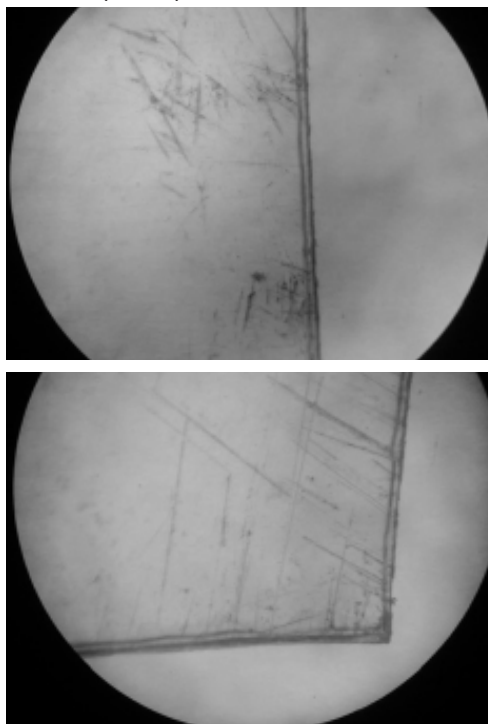
\*Los promedios aritméticos fueron calculados sin considerar los valores negativos.

Los valores promedio obtenidos de las tres réplicas de láminas PET hacen hincapié en la utilidad de la cepa D como microorganismo potencialmente biodegradador de dicho contaminante, puesto que mostró una reducción promedio en el peso de la lámina, equivalente a 14,90 mg, superando enormemente a la cepa que le sigue, que fue la E con un promedio de 0,75 mg, lo que de nuevo demuestra la capacidad de los bacilos Gram negativos como importantes biodegradadores de ciertos materiales y residuos poliméricos como el PET.

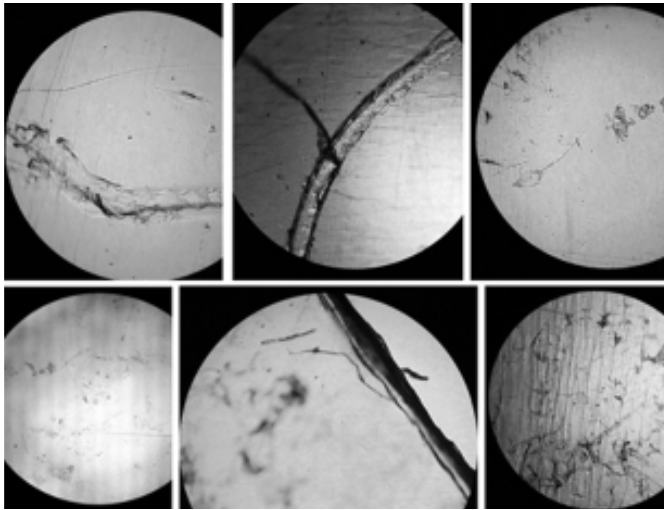
Otro aspecto importante de resaltar es que algunas láminas muestran ganancia de peso, como las inoculadas con las cepas A (-42,9 mg) y C (-9,5 mg) y E (-0,3 mg), asociado a la posible retención de moléculas de agua y biopelículas contenidas en los surcos realizados por los microorganismos sobre la lámina de PET (FIGURA 2).

### Cambios en el aspecto físico de las láminas y en los cultivos

A simple vista fue posible apreciar cambios de opacidad en las láminas de PET, en las observaciones microscópicas se evidencian quiebres y zonas donde se estaría dando el desprendimiento de partes de la estructura tal como se puede notar en la FIGURA 3, lo que corresponde al último paso mencionado por Arutchelvi *et al.* (2008), secundado por Yoshida *et al.* (2016).



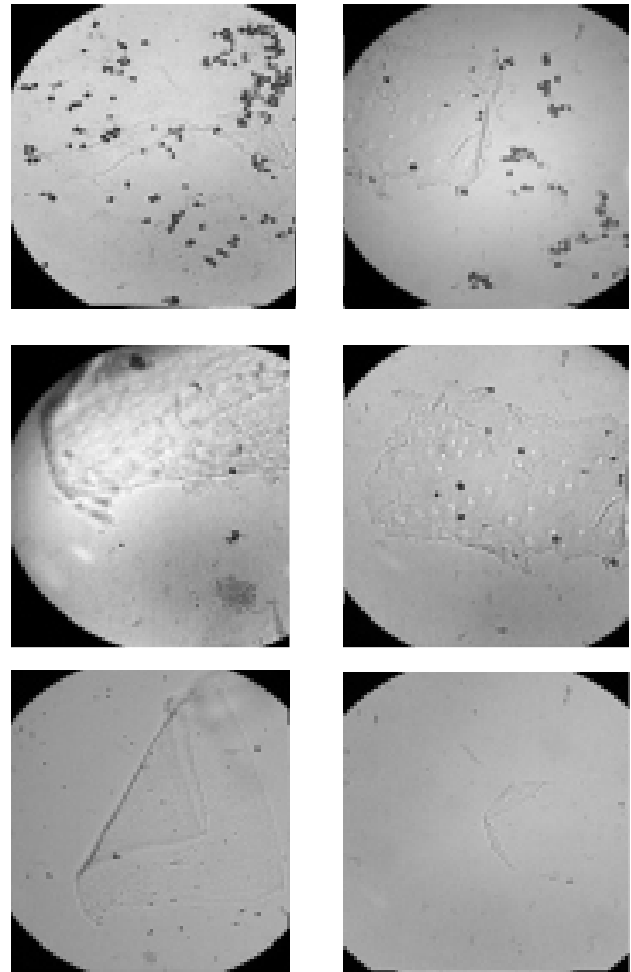
**Figura 2. Láminas de polietileno de tereftalato degradadas por acción microbiana.**



**Figura 3. Desgaste y modificación de la estructura de las láminas de polietileno de tereftalato en contacto con las cepas microbianas, vistas al microscopio óptico de campo claro, magnificación 100X.**

Además del desgaste sobre las superficies de las láminas, se observó partículas microscópicas de PET en suspensión en los tubos contenedores de los caldos de cultivo con las láminas de polietileno así como también algunos microorganismos (FIGURA 4). Esto concuerda con lo señalado por Tokiwa *et al.* (2009) quienes expresan que durante el proceso de colonización del material a través de reacciones de hidrólisis, los microorganismos secretan una serie de enzimas que les permiten adherirse a este y a su vez causar el deterioro del polímero, generan estructuras de bajo peso molecular y finalmente son mineralizados a dióxido de carbono y agua.

Por su parte, Yoshida *et al.* (2016) reportaron que la bacteria *Ideonella sakaiensis* es capaz de desintegrar el polietileno de tereftalato hasta sus componentes originales, es decir ácido tereftálico y etilenglicol; lo que permite inferir que los microorganismos utilizan distintas rutas metabólicas para desintegrar los materiales tóxicos en el ambiente.



**Figura 4. Trozos microscópicos de polietileno de tereftalato (PET) observados a través de microscopía óptica.**

## CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos se evidencia que existe variedad de cepas microbianas capaces de utilizar el polietileno de tereftalato como única fuente de carbono, demostrando un mayor potencial de acción la codificada con la letra D, correspondiente a un bacilo Gram negativo, seguida del bacilo Gram positivo, marcado con la letra E.

La aplicabilidad de la biorremediación para el tratamiento de residuos sólidos plásticos, específicamente para el polietileno de tereftalato, representa una alternativa ecológica y viable para, al menos, disminuir la gravedad del problema mundial que representa la acumulación de residuos sólidos.

Los resultados obtenidos demuestran que debe fomentarse la continuación de este tipo de estudios y extenderlo a una amplia variedad de contaminantes poliméricos sintéticos muy difíciles de bio-

degradar, así como también estudiar los posibles resultados del trabajo combinado de distintos microorganismos.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arutchelvi J., Sudhakar M., Ambika Arkatkar., Doble M., Bhaduri S., Uppara PV. (2008). Biodegradation of polyethylene and polypropylene. *Indian J Biotechnol* 7: 9-22.
- Gómez J. y Oliveros C. (2015). Propuesta de medio de cultivo para aislamiento de cepas capaces de degradar plástico. IV Congreso Venezolano, V Jornadas Nacionales de Investigación Estudiantil y I Exporedieluz "Dr. Clímaco Cano Ponce". Maracaibo-Venezuela.
- Roa J. (2005). *Fundamentos Básicos de los Procesos Ambientales para Ingenieros*. FEUNET. San Cristóbal, Venezuela. 332p.
- Sharon C. y Sharon M. (2012). Studies on Biodegradation of Polyethylene terephthalate: A synthetic polymer. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*. 2(2): 248-257.
- Tokiwa T., Calabia BP., Ugwu CU. y Aiba S. (2009). Biodegradability of Plastics. *Int. J. Mol. Sci.* 10:3722-3742.
- Vega Franco L. (2011). Ftalatos: ¿Son éstos duendes ocultos en PET nocivos para la salud? Cuento aún inconcluso. *Revista Mexicana de Pediatría*. 78(2): 53-55.
- Yoshida S., Hiraga K., Takehana T., Taniguchi I., Yamaji H., Maeda Y., Toyohara K., Mijamoto K., Kimura Y. y Oda K. (2016). A bacterium that degrades and assimilates poly(ethylene terephthalate) *Science*. 351(6278): 1196-1199.