

## Efectividad de *Aspergillus* en la degradación de polietileno

### Effectiveness of *Aspergillus* in the degradation of polyethylene

DOI: 10.53499/sfjeasv2n3-002

Received in: May 3rd, 2022

Accepted in: June 30th, 2022

#### **Martha N. Mostajo-Zavaleta**

Doctora en Biología Ambiental en la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa-Perú

Escuela de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco-Perú. Av. De la Cultura 733, Cusco-Perú

E-mail: martha.mostajo@unsaac.edu.pe

#### **Ruth L. Ambur-Soncco**

Escuela de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco-Perú. Av. De la Cultura 733, Cusco-Perú

E-mail: ruthlucy.bio.mp@gmail.com

#### **RESUMEN**

Se evaluó la eficiencia de degradación de cepas de *Aspergillus*, de bolsas de polietileno de alta y baja densidad. Las cepas fueron aisladas de restos de bolsas plásticas de los botaderos de los Distritos de Calca y Sicuani, la identificación taxonómica se realizó utilizando el sistema de identificación para especies de *Aspergillus* y *Penicillium* propuesto por Pitt (2001). La concentración de esporas y la actividad degradadora de polietileno se determinó por el Método de Kavelman. & Kendrick (1978). La determinación de la efectividad degradadora de consorcios en suelo, se realizó por el método de Fontanella, S. et. al. (2010) y los cambios en los grupos funcionales superficiales mediante Espectrofotometría Infrarroja por Transformada de Fourier – FTIR (Gulmine 2002). Del botadero de Sicuani se aislaron 9 cepas, de las cuales 44 % degradaron bolsas de polietileno, que corresponden a *Aspergillus flavus* (3 cepas) y *A. orizae* (1 cepa). Del botadero de Calca se aisló 5 cepas, de las cuales el 40% degradaron polietileno, que corresponden a *Aspergillus fumigatus*, (1 cepa) y *Aspergillus orizae* (1 cepa). Las especies más eficientes en la degradación de bolsas de polietileno de alta y baja densidad fueron *Aspergillus orizae* (24,13 %) y *Aspergillus fumigatus* (23,15 %). Los consorcios de cepas eficientes potencian la degradación de bolsas de alta y baja densidad en suelo, en 12,8 % en relación al testigo (3,06 %). Las bolsas de baja densidad fueron degradadas con mayor eficiencia (11,6 %) en relación a las bolsas de alta densidad (7,45 %) por las cepas de *Aspergillus*.

**Palabras clave:** *Aspergillus*, degradación, bolsas, polietileno, consorcios.

#### **ABSTRACT**

In the present research work, the degradation efficiency of *Aspergillus* strains from high and low-density polyethylene bags was determined. The strains were isolated from remains of plastic bags from the dumps of the Calca and Sicuani Districts, the taxonomic identification was carried out using the identification system for *Aspergillus* and *Penicillium* species proposed by Pitt (2001). The spore concentration and the degrading activity of polyethylene was determined by the Kavelman Method. & Kendrick (1978).

The determination of the degradation effectiveness of consortia in soil was carried out by the method of Fontanella, S, et. al., (2010) and the changes in the surface functional groups by Fourier Transform Infrared Spectrophotometry - FTIR. From the Sicuani dump, 9 strains were isolated, of which 44% degraded polyethylene bags, corresponding to *Aspergillus flavus* (3 strains) and *A. orizae* (1 strain). From the Calca dump, 5 strains were isolated, of which 40% degraded polyethylene, corresponding to *Aspergillus fumigatus*, (1 strain) and *Aspergillus orizae* (1 strain). The most efficient species in the degradation of high and low density polyethylene bags were *Aspergillus orizae* (24,13%) and *Aspergillus fumigatus* (23,15%). Efficient strain consortia enhance the degradation of high and low density bags in soil by 12,8% in relation to the control (3,06%). The low-density bags were degraded with greater efficiency (11,6%) in relation to the high-density bags (7,45%) by the *Aspergillus* strains.

**Keywords:** *Aspergillus*, degradation, bags, polyethylene, consortium.

## 1 INTRODUCCIÓN

El polietileno es un material plástico usualmente presente en envases descartables, en la actualidad, los plásticos son muy utilizados y fabricados en grandes cantidades, los cuales son considerados como un problema ambiental debido a su difícil degradación (Allsopp et al. 2007), su uso extensivo genera desechos que se acumulan en el ambiente a una tasa de 25 millones de toneladas al año, 40 % de las cuales son dispuestas en rellenos sanitarios, mientras que cientos de miles de toneladas son arrojadas como contaminantes más importantes a cuerpos de agua, ríos y océanos, este hecho ocasiona graves problemas, entre los que destacan el requerimiento de grandes espacios para su disposición, contaminación visual y muerte de animales que los ingieren accidentalmente (Sudhakar M., et. al. 2008).

La ciudad del Cusco tiene una población de 490,615 habitantes (INEI, 2017), que genera 366.55TM/día de basura, aproximadamente un 10% de este, es polietileno proveniente del consumo creciente de múltiples productos de uso cotidiano, rural o industrial, cuyos residuos son llevados a diario a los botaderos (Organismo de Fiscalización y Organización Ambiental. 2016), a esto se suma la mala actividad de la población en cuanto a la quema de plásticos, durante el proceso de incineración se puede desprender ácido cianhídrico y ácido clorhídrico con potenciales daños para la salud (Khanna y Srivastava 2005).

Arancibia, C. (2014). Mencionan que la biodegradación de plásticos a partir de especies de hongos es una manera limpia de solucionar el problema ambiental. Los hongos son una opción ya que son organismos heterótrofos que sintetizan enzimas; estos tienen capacidad para transformar cualquier tipo de sustrato orgánico como el caso de los

plásticos y participación en la oxidación en algún compuesto energético (Bejar et al, 2007). Por lo que, en la presente investigación, se probó la efectividad de cepas de *Aspergillus* en la degradación de bolsas de polietileno de baja y alta densidad, aislados de restos de bolsas de plástico, de los botaderos de la Región de Cusco. Se aisló y determino especies de hongos que degradan bolsas de polietileno de restos de plástico de los botaderos de los distritos de Sicuani y Calca. Se determinó especies eficientes que degradan bolsas de polietileno de baja y alta densidad, y la eficiencia de degradación de consorcios (mezcla de cepas) en la degradación de bolsas de polietileno en suelo. Nos planteamos la hipótesis de que los consorcios de cepas de hongos aislados, potencian la degradación de bolsas de polietileno de baja y alta densidad en suelo.

## **2 MATERIALES Y MÉTODOS**

Se realizó el muestreo de restos de bolsas plásticas en el Botadero Municipal de Ccaytupampa – Calca. Que tiene una extensión de **6,24 ha**, donde se realiza el control periódico por medio de actividades de soterrado y fumigación de áreas, así mismo la reforestación y recuperación de espacios (Champi. V & Villalba. M, 2014). Y en el Botadero controlado Municipal del distrito de Sicuani de la Provincia de Canchis- Cusco, ubicado a 3,500 metros sobre el nivel del mar, a 5 km, a 17 min de la misma ciudad, se localiza en el sector de Chacuchayoc-Pata, comunidad de Pampa Phalla (Jihuallanca F. 2015). La población de estudio está constituida por las cepas de hongos aislados de restos de bolsas de plástico de ambos botaderos. El muestreo se realizó al azar, en cinco puntos, a criterio del investigador, se tomaron muestras de restos de bolsas de plástico, las mismas que fueron colocadas en frascos estériles y llevadas en material refrigerante al laboratorio de Ecología de la Escuela Profesional de Biología.

### **Aislamiento de cepas de Deuteromycetos degradadores de plástico, por el método de incrustamiento**

Las muestras de plástico se lavaron con agua destilada estéril, seguidamente se colocaron en una solución de cloranfenicol al 0.5mg/ml por 60 minutos, luego fueron enjuagadas con agua destilada estéril durante 30 minutos, se fraccionaron en trozos más pequeños, y se procedió a la siembra en placas Petri por incrustamiento en agar PDA, se incubaron a 25°C por 5 días. Una vez desarrolladas las colonias de hongos, se realizó la purificación de las cepas, con el propósito de obtener cultivos puros, las cepas fueron conservadas a 4°C en refrigeración correctamente codificadas.

## **Identificación Taxonómica de los hongos aislados**

Para la identificación taxonómica se realizó un estudio macroscópico describiendo las características de las colonias y el estudio microscópico se hizo observando los conidios y estructuras reproductivas de los hongos. Para la determinación de género de micromycetos se consultó la guía de Watanabe T. (2002).

## **Características utilizadas en la identificación de especies de *Aspergillus***

Para clasificar las especies del género *Aspergillus* y sus teleomorfos se utilizó el sistema de identificación propuesto por Pitt, J. (2001), utilizando tres medios de cultivo y dos temperaturas de incubación. Cada cepa se sembró en tres puntos equidistantes por placa conteniendo medio CYA (Czapek Yeast extract agar), CYA con 20% de sacarosa (CY20S), y MEA (agar extracto de malta). Una de las placas de CYA se incubó a 37° C y las restantes a 25° C. Tras siete días de incubación se procedió a la observación de las características morfológicas macroscópicas y microscópicas de los cultivos.

### Principales características macroscópicas:

- diámetro de las colonias
- coloración del anverso y del reverso de las colonias
- presencia de esclerocios
- presencia de gotas de exudado
- presencia de pigmento difusible
- textura de las colonias

### Principales características microscópicas:

- disposición de las méticas o fiálides sobre la vesícula
- longitud y anchura de los estipes
- forma y diámetro de las vesículas
- longitud y anchura de las méticas y fiálides
- forma, diámetro, ornamentación y color de los conidios
- forma, tamaño y color de las células de Hülle
- forma, tamaño y color de las ascosporas. Pitt, J. (2001).

### **Preparación de láminas de bolsas de plástico**

Se utilizaron como sustratos dos tipos de bolsas de plástico de un solo uso, codificadas de la siguiente manera:

A: Bolsa de polietileno de baja densidad, transparente de 15 ug de espesor

B: Bolsa de polietileno de alta densidad para basura de color blanco de 18,8 ug de espesor

La preparación de las láminas de bolsas de plástico se llevó a cabo cortando el material en cuadrados de 10 x 10 mm. Antes de su empleo en los estudios de biodegradación, las láminas fueron pesadas y esterilizadas. La esterilización se llevó a cabo sumergiendo las láminas en 20 ml de alcohol 96% durante 30 minutos, dándoles la vuelta cada 10 minutos. A continuación, las láminas fueron sumergidas en 20 ml de alcohol 70% durante otros 30 minutos. Finalmente, las láminas fueron lavadas con agua destilada estéril para eliminar el exceso de alcohol, se secaron con la ayuda de papel de filtro estéril y se añadieron a cada uno de los matraces de cultivo y sus respectivos controles (Martín-Peraza 2017).

### **Determinación de la concentración de esporas, por el Método del recuento en cámara de Neubauer**

Obtenida la esporada en placas Petri, se transfirió 10 ml de agua destilada estéril a la superficie de la colonia en cada placa. Luego este inóculo fue transferido a un matraz conteniendo 50 ml de agua destilada estéril con 1% de Twenn, se homogenizó y se procedió al recuento de esporas en una cámara Newbauer, se realizó diluciones hasta obtener una concentración de  $10^5$  esporas por ml.

### **Actividad degradadora de polietileno descritos por Kavelman R. & Kendrick B. 1978**

Una vez obtenida la concentración de esporas de cada cepa se procedió a evaluar la eficiencia degradadora de polietileno, para lo cual se prepararon láminas de bolsas de plástico de baja densidad de 1x1 cm. Se transfirió 3 láminas de plástico de un mismo peso a un erlen meyer conteniendo 250 ml de medio líquido carente de fuente de carbono

más 1% de tween, al cual se inoculo 10 ml de una concentración de  $10^5$  esporas y se incubo a temperatura de 25°C durante 45 días. Este procedimiento se realizó para cada una de las cepas aisladas.

Al final de la incubación se desinfecto con una solución de hipoclorito de sodio al 5% las láminas de plástico, para eliminar el biofilm generado en la superficie, luego estas laminas fueron sometidas a secado hasta obtener peso constante; posteriormente se pesaron en una balanza de precisión analítica gravimétrica, modelo S 2000 ( $\pm 0,0001g$ ), con el propósito de determinar el peso perdido por la degradación de los hongos, finalmente se determinó el porcentaje de degradación de cada cepa evaluada.

Se evaluó la pérdida de peso con respecto a su peso inicial (Hadad S. Geresh A. Sivan. 2005)., mediante la **fórmula:**

$$\frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100$$

### **Selección de consorcios eficientes en la degradación de PEBD en medio sólido (Fontanella, S et. al., 2010) modificado**

Los sustratos plásticos utilizados fueron preparados con el mismo método que se describe en el apartado de Preparación de láminas de bolsas de plástico

#### **Preparación del medio sólido**

Se utilizó una mezcla de suelo de cultivo (70 %) y arena (30%), que fue esterilizada en Autoclave, Marca: JP SELECTA, Modelo: Med 20. para simular las condiciones naturales a las que puede ser sometido el plástico con los consorcios.

#### **Preparación del inóculo de esporas de los consorcios**

Obtenida la esporada en placas Petri, se transfirió 10 ml de agua destilada estéril a la superficie de la colonia en cada placa. Luego este inóculo fue trasferido a un matraz conteniendo 40 ml de agua destilada estéril con 1% de Twenn, 80, se homogenizo en un sheyker, y se transfirió a un matraz 10 ml de inóculo de cada cepa seleccionada para formar el consorcio, se homogenizo, y se procedió al recuento de esporas en una cámara

Newbauer, realizando diluciones hasta obtener una concentración de  $10^5$  esporas por ml.

### **Determinación de la eficiencia de consorcios degradadores de PEBD (Fontanella, S et. al. 2010)**

El cultivo se realizó en una bandeja de plástico donde se puso 600gr de suelo estéril en la primera capa, luego se colocó 6 láminas de PEBD de cada tipo (A, C) por filas y se agregó 100 ul de inóculo del consorcio por lámina, se cubrió con 200gr de suelo, se procedió a humedecer el suelo con 100 ml de agua destilada estéril. Lo mismo se hizo para cada consorcio evaluado. Como control se utilizó el mismo medio de cultivo sin inocular, para cada tipo de PEBD evaluado, y luego se incubaron en condiciones de invernadero por 120 días; cada tres días se adiciona a cada cultivo 100 ml de agua destilada. Al final de la incubación se desinfecta las láminas de PEBD para eliminar el biofilm generado en la superficie, con una solución de hipoclorito de sodio al 5%, luego estas láminas fueron sometidas a secado hasta obtener peso constante; posteriormente se pesaron en una balanza de precisión analítica gravimétrica, modelo S 2000 ( $\pm 0,0001$ g), con el propósito de determinar el peso perdido por la degradación de los hongos, finalmente se determinó el porcentaje de degradación de cada cepa evaluada.

Los consorcios de cepas de micromycetos que son los tratamientos se conformaron de la siguiente manera:

Tratamiento I. Conformado por cuatro cepas aisladas del botadero de residuos sólidos del Distrito de Sicuani. Se mezclaron una cepa de *A. orizae* y 3 cepas de *A. flavus*

Tratamiento II. Conformado por todas las cepas aisladas de del botadero de residuos sólidos del Distrito de Calca. El consorcio estuvo conformado por la mezcla de una cepa de *A. orizae* y la cepa de *A. fumigatus*

### **Determinación de la degradación de Láminas de polietileno de baja y alta densidad por la técnica de Espectroscopia Infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) (Gulmine 2002)**

La espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR) utiliza el hecho de que las moléculas orgánicas absorben determinadas frecuencias en el infrarrojo que son características de su estructura. Dichas absorciones son frecuencias de resonancia, es decir, la frecuencia de la radiación absorbida coincide con la frecuencia del enlace o del

grupo que vibra. La técnica de FIRT denota cuantitativamente la reducción de los índices de carbonilo (C=O) y de las terminaciones con doble enlace (C=C) de una molécula cuando ésta sufre algún cambio. El espectro infrarojo (IR) se analiza separando dos zonas referenciales; la primera es llamada la región de los grupos funcionales que va de 1200 a 3600  $\text{cm}^{-1}$  y la segunda denominada región de huella digital que se despliega desde 600 a 1200  $\text{cm}^{-1}$ ; esta última es una zona muy específica, donde los picos no varían para un polímero, a menos que este haya sufrido el efecto de algún agente químico, físico o biológico (Gulmine 2002).

### 3 RESULTADOS

En el botadero de Sicuani se aislaron 5 cepas que degradaron bolsas PEBD, la cepa S2csic corresponden a la especie *Aspergillus orizae*, las cepas S3asic, S3bsic y la cepa C2bsic a *Aspergillus flavus*. En el botadero de Calca se aisló 2 cepas, S1bcal corresponde a *Aspergillus fumigatus*, y la cepa S1acal a la especie *Aspergillus orizae*. (Tabla 1). En las figuras 1,2,3 se observan las características de las colonias en medio MEA , CIA y la estrucrua reproductora de las especies de *Aspergillus*.

Tabla 1. Especies degradadoras de bolsas de polietileno de baja densidad aisladas de los botaderos de Sicuani y Calca

Botadero de Sicuani		Botadero de Calca	
Cepa	Especie	Cepa	Especie
S2csic	<i>Aspergillus orizae</i>	S1bcal	<i>Aspergillus fumigatus</i>
S3asic	<i>Aspergillus flavus</i>	S1acal	<i>Aspergillus orizae</i>
S3bsic	<i>Aspergillus flavus</i>		
C2bsic	<i>Aspergillus flavus</i>		



Fig. 1. Estructuras de la colonia de *Aspergillus flavus*: a, colonia en medio MEA. b, colonia en medio CIA. c, estructura reproductora (aumento 640 x).

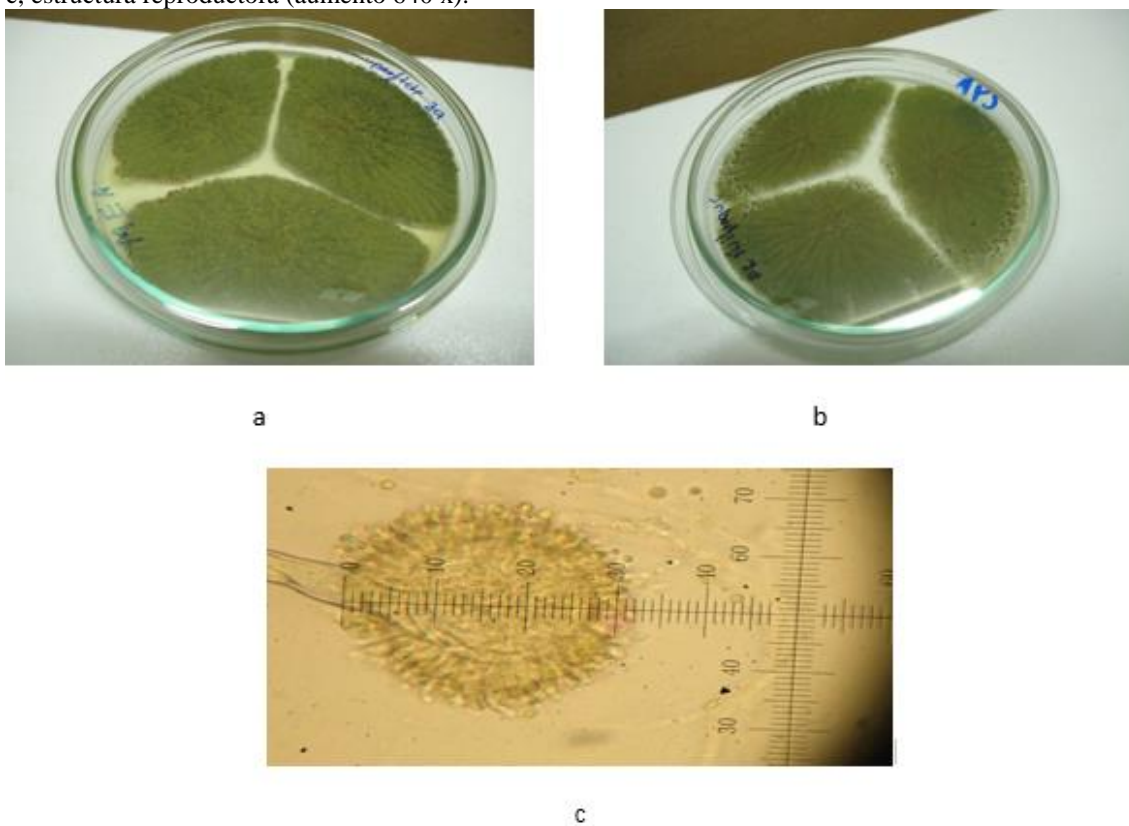


Fig. 2. Estructuras de la colonia de *Aspergillus orizae*: a, colonia en medio MEA. b, colonia en medio CIA. c, estructura reproductora (aumento 640 x).

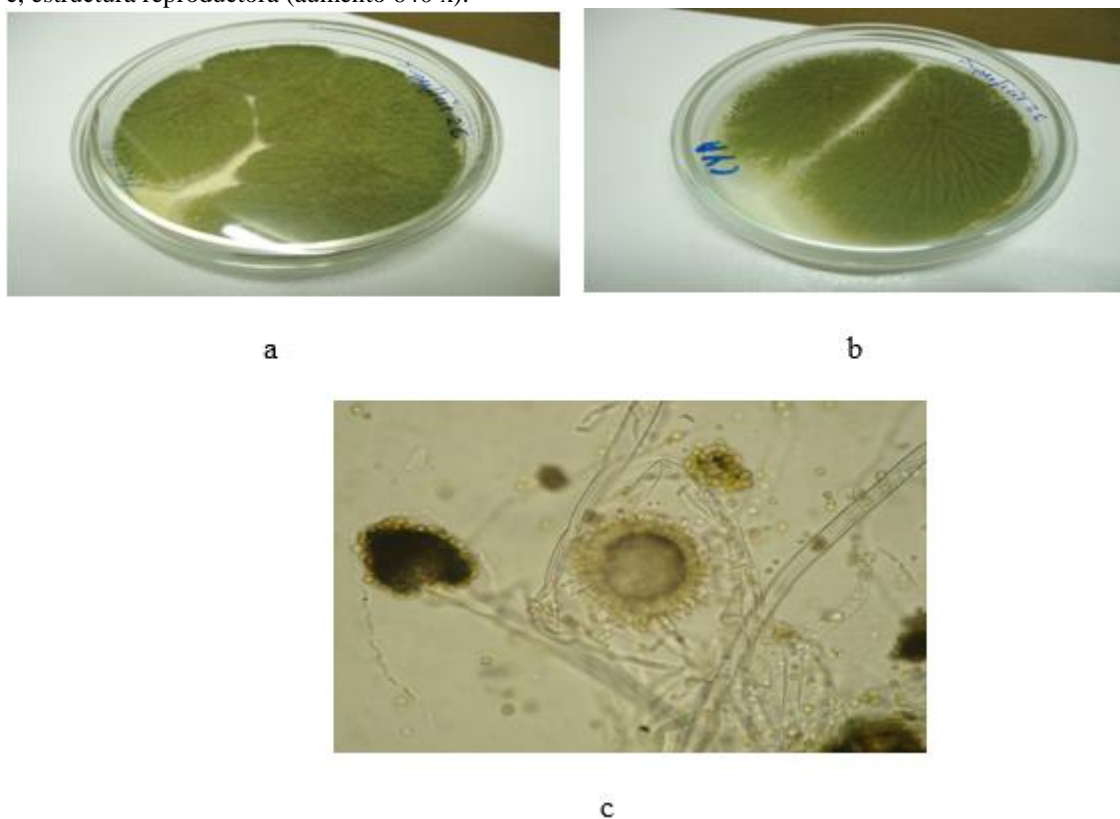
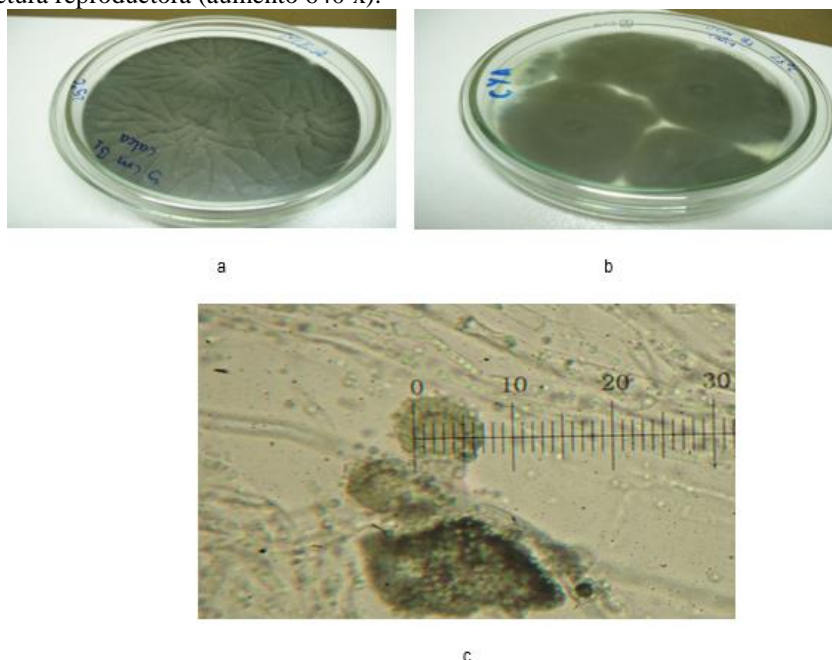


Fig. 3. Estructuras de la colonia de *Aspergillus fumigatus*: a, colonia en medio MEA. b. colonia en medio CIA. c, estructura reproductora (aumento 640 x).



Se observa la lectura del análisis de medias del factor independiente Cepa, donde se formó un primer grupo por la cepa II (*Aspergillus orizae*) y I (*Aspergillus fumigatus*), son las que tienen mejor rendimiento con 24.13% y 23.1 5% de degradación. Se ha formado un segundo grupo, por las cepas III (16.79 %) y IV (15.69 %) identificadas como *Arpergillus orizae* y *Aspergillus flavus* respectivamente; y un tercer grupo por las cepas V (10.43 %) y VI (10.24 %), ambas pertenecen a la especie de *Aspergillus flavus*., el testigo (0 %) estadísticamente es diferente a todos los tratamientos (Fig.4).

Figura 4. Efecto de las Cepas en la degradación de bolsas de baja y alta densidad, se observó que independientemente, los factores principales Cepa (p-valor = 1.16e-13 \*\*\*) y densidad (p-valor =3.52e-14 \*\*\*) tuvieron un efecto altamente significativo en la degradación de bolsas de polietileno de baja y alta densidad, al igual que la interacción densidad – cepa (p-valor = 1.03e-15 \*\*\*)).

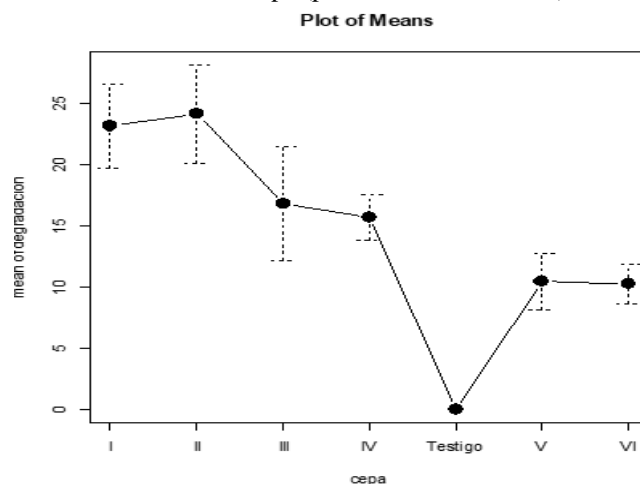
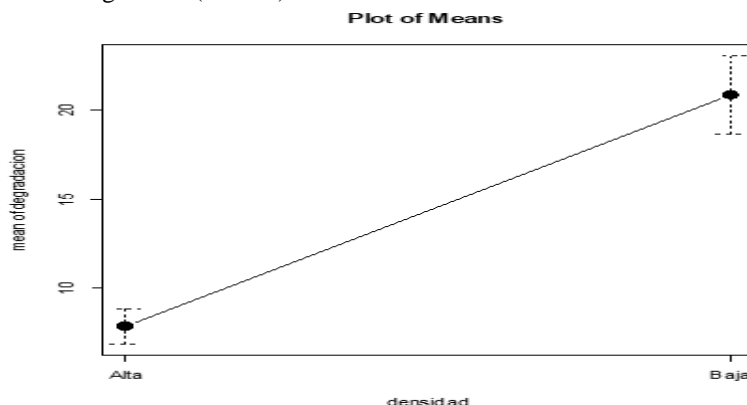


Figura 5. El factor independiente densidad tiene efecto en la degradación de bolsas, donde la bolsa de baja densidad fue mejor degradada por todas las cepas en estudio, con un promedio de 20.86 % y la bolsa de alta densidad fue menos degradada (7.84 %).



Se observa la lectura de análisis de medias de la interacción entre cepas y densidad de bolsas de polietileno, donde se formó un primer grupo por las cepas I (14,3 y 32 %) y II (13.8 y 34.4 %), las cuales tienen el mejor rendimiento en la degradación de bolsas de alta y baja densidad, con promedios estadísticamente iguales. Un segundo grupo formado por la cepa IV que degradó un 11% de polietileno de alta densidad y la cepa III con 29 % de degradación de bolsa de polietileno de baja densidad. Un tercer grupo formado por las cepas VI (6.6 %), V y III (4.6 %) que degradan bolsas de polietileno de alta densidad, y la cepa IV que degradó un 20.3 % de bolsas de polietileno de baja densidad, además también se formó un cuarto grupo por las cepas V y VI que degradaron un 16.3 % y 13.9 % de bolsas de polietileno de baja densidad, el último grupo formado por el testigo para ambas densidades de polietileno (Fig.6)

Figura 6. Efecto de la interacción entre cepa- densidad de bolsa en la eficiencia de degradación.

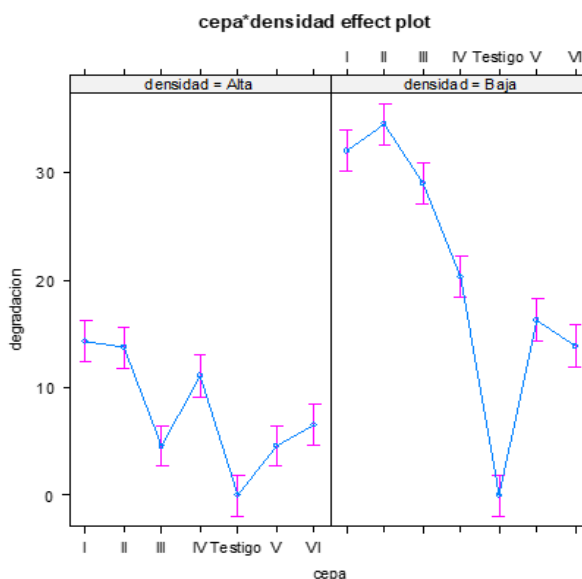


Figura 7. Efecto de consorcios (cepas\_ tratamiento) en la eficiencia de degradación. De acuerdo a los resultados del análisis estadístico Anova para un arreglo de parcelas divididas completamente aleatorizado, el factor principal cepas aplicadas a las parcelas tienen un efecto altamente significativo al 95 %, en la degradación de bolsas de polietileno de alta y baja densidad con un p-valor de  $8.71e-06$  \*\*\*; el factor secundario bolsas aplicadas en las sub parcelas tienen un p-valor de  $0.0163$  \* tienen efecto en menor grado en la degradación. De acuerdo a la Tabla 6. y Fig. 4, se observa el análisis de medias del factor principal cepas (consorcios), donde el consorcio II (14.78 %) y el consorcio I (10.91 %) presentan medias estadísticamente iguales, teniendo el mismo efecto en la degradación de bolsas de polietileno de alta y baja densidad, y se formó un grupo estadísticamente diferente que es el testigo. Fig.8

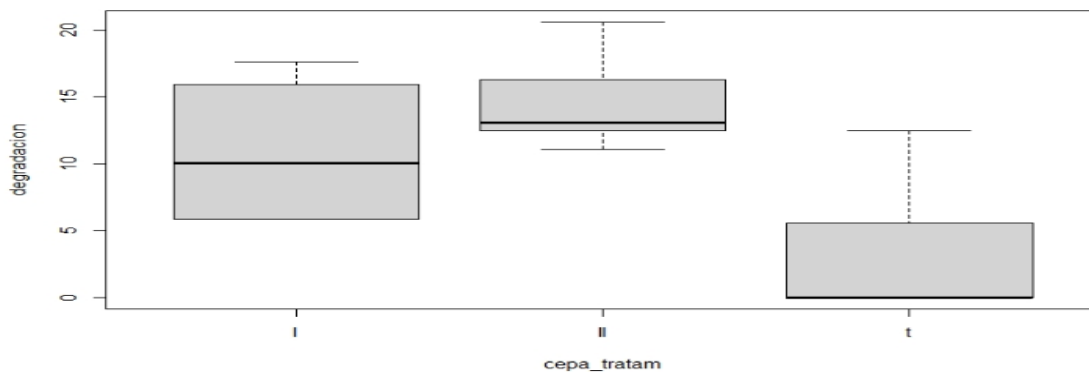
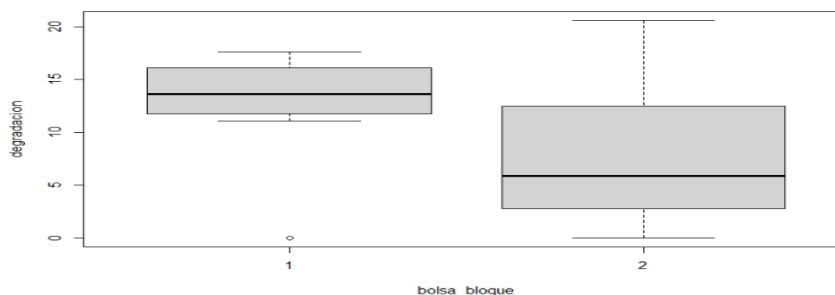


Figura 8. Efecto del factor secundario densidad de bolsas. Las bolsas de baja densidad son las que mejor se degradaron con un 11.62 % de eficiencia, y las bolsas de alta densidad tuvieron una menor degradación con 7.54 % formando un segundo grupo



Las imágenes de FTIR permiten encontrar una diferencia entre las muestras de láminas de bolsa de alta densidad inoculadas con el consorcio I y Control (sin inoculo), comparando el espectro FTIR control con el espectro FTIR del consorcio I se observó la aparición una banda  $2352\text{ cm}^{-1}$  que corresponde al enlace O-H de los ácidos carboxílicos, una banda  $1369\text{ cm}^{-1}$ , que corresponde al enlace C-O del grupo de los ácidos carboxílicos, la banda  $453\text{ cm}^{-1}$  que corresponde al enlace de los bromoalcanos. (Fig. 9) (Fig. 10)

Figura 9. Espectro FTIR de láminas de bolsa de polietileno de baja densidad sin inoculo (control)

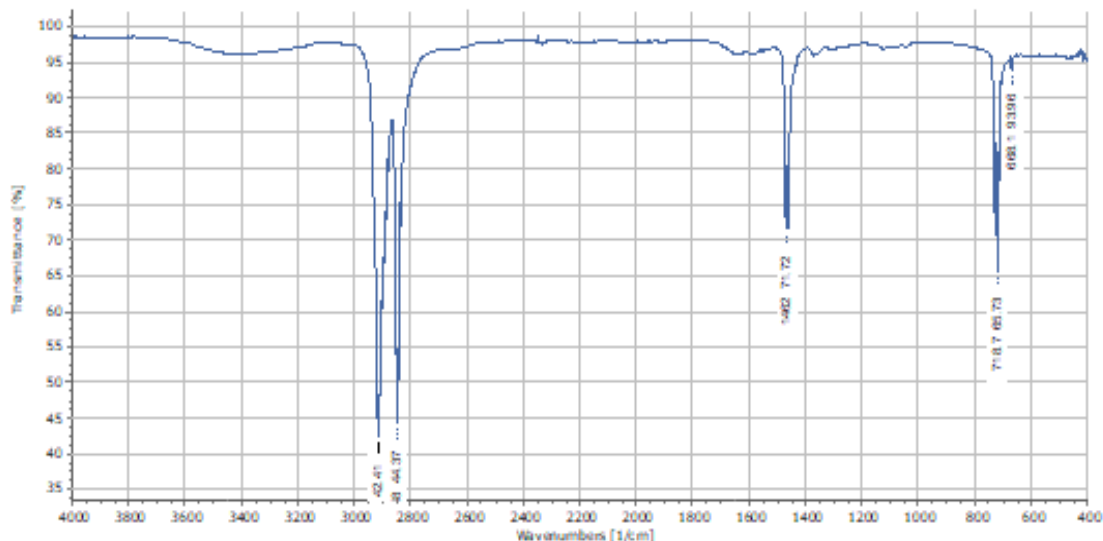
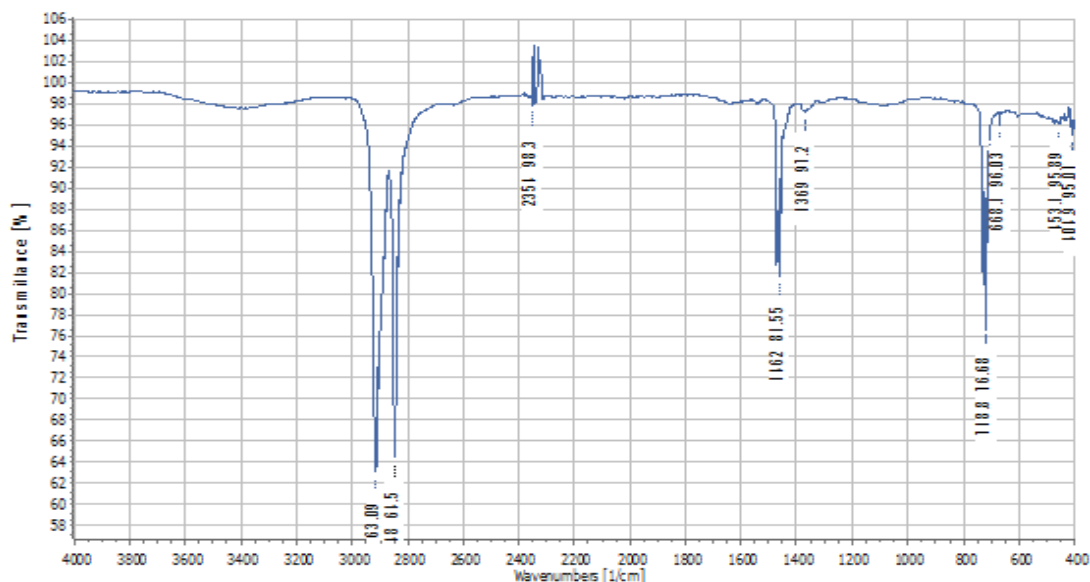


Figura 10. Espectro FTIR de laminas de bolsa de polietileno de baja densidad inoculada con el consorcio 5



Las imágenes de FTIR permiten encontrar una diferencia entre las muestras de láminas de bolsa de alta densidad inoculadas con el consorcio I y Control (sin inoculo), comparando el espectro FTIR control con el espectro FTIR del consorcio I se observó la aparición una banda 1034  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde al enlace de las aminas, una banda 470 y 427  $\text{cm}^{-1}$ , que corresponde al enlace de los bromoalcanos (Fig.11) (Fig. 12).

Figura 11. Espectro FTIR de láminas de bolsa de polietileno de alta densidad sin inoculo (control)

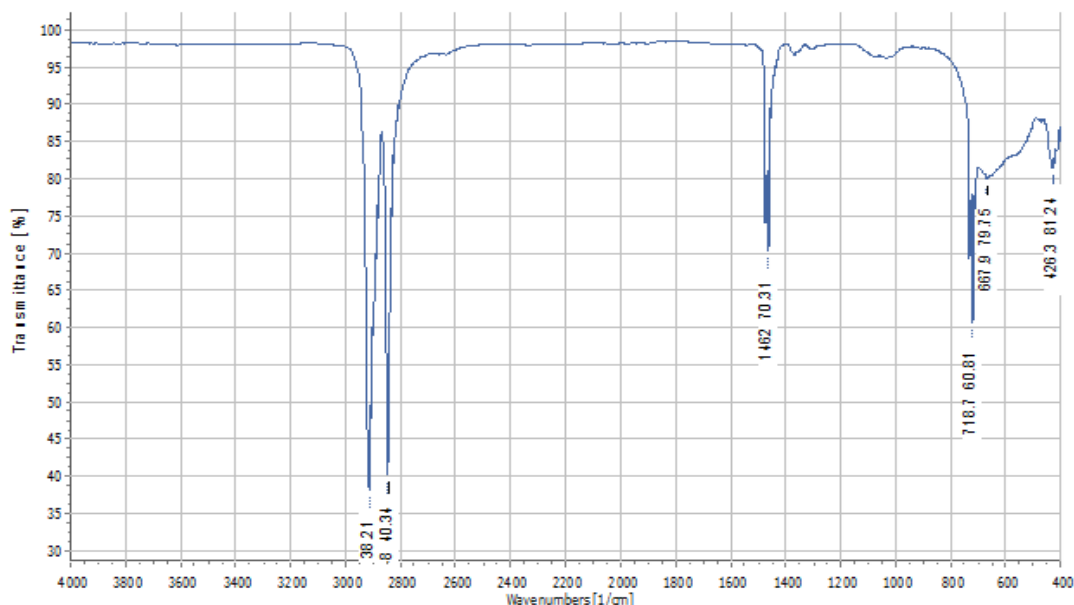
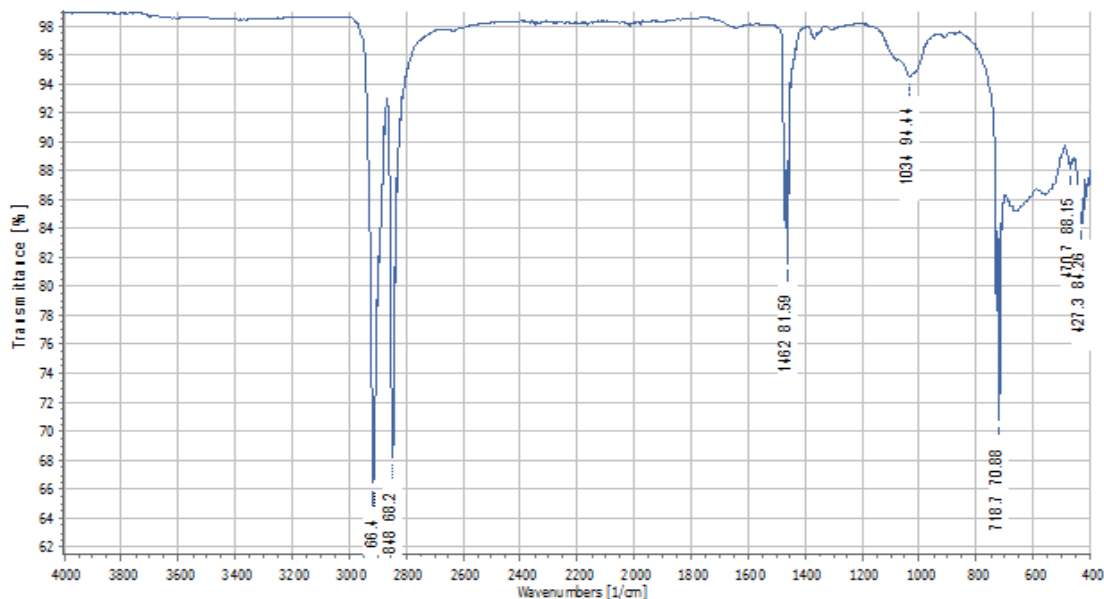


Figura 12. Espectro FTIR de laminas de bolsa de polietileno de alta densidad inoculada con el consorcio I



#### 4 DISCUSIÓN

En el botadero del Distrito de Sicuni se aisló 9 cepas de micromycetos, de los cuales el 44.4 % (4 cepas) degradaron polietileno de baja densidad, el 75% corresponden a la especie de *Aspergillus flavus* y el 25 % a *Aspergillus orizae*. En el botadero del Distrito de Calca se aislaron 5 cepas de las cuales el 40% (2 cepas) degradaron polietileno de baja densidad, el 50 % corresponden a *Aspergillus fumigatus* y 50% a *Aspergillus orizae*, coincidiendo con Méndez, et al (2007) quienes aislaron *Aspergillus flavus* de artículos de polietileno del relleno sanitario El Zapallal- Lima, demostrando que

*Aspergillus flavus* fue buena degradadora de polietileno en las condiciones de ensayo. Zahra et al (2010) reportaron a *Aspergillus fumigatus* como degradadora de polietileno, Ojeda et al. (2009) y Zahra et al (2010) coinciden que el género *Aspergillus* es capaz de degradar polietileno, en el presente trabajo, se aisló tres especies del *Aspergillus* que degradaron polietileno.

Las cepas que presentaron mayor eficiencia en la degradación de bolsas de polietileno de baja y alta densidad (tabla.2) corresponden a *A. orizae* (cepa II) y *A. fumigatus* (cepa I), con 24.13 % y 23.15 % de degradación respectivamente, aisladas del botadero de Calca. Se formó un segundo grupo conformado por *A. orizae* (cepa III) y *A. flavus* (IV) con 16.79 % y 15.69 % de degradación, y el tercer grupo formado por cepas de *A. flavus* (cepa V y VI) con un promedio de 10.33 % de degradación, aisladas del botadero de Sicuani.

Yépez, A. (2014). Reporto cepas fúngicas que degradan polietileno de baja densidad (PEBD), la cepa predominante fue el hongo de la familia Ascomycota del género *Aspergillus*, los cuales producen enzimas extracelulares para degradar el PEBD y utilizarlo como fuente de carbono y energía. Méndez et al (2007) reportaron que la cepa de mayor rendimiento pertenece a la especie de *Aspergillus flavus*. A temperatura de 30 °C, 6 (30%) cepas evidenciaron actividad degradadora. En los resultados del presente trabajo la cepa de *A. fumigatus* degradó un 23.15 %, siendo más eficiente que la que reportaron Abdullahi & Saidu (2013), las cepas de *A. flavus* degradaron un promedio 12.1 % de polietileno, mucho menor a lo que reporta Méndez et al (2007), es necesario indicar que en el presente trabajo se reporta por primera vez a la especie de *A. orizae* como degradadora de polietileno con una eficiencia de 24.13 %. Martin, C.F. (2012). encontró que los actinomicetes y los hongos filamentosos son los microorganismos con mejores rendimientos en la biodegradación del polietileno, este proceso es posible por acción de enzimas microbianas como las hidrolasas, peroxidasa, oxidasas y oxidoreductasas enzimas que se destacan en la degradación del polietileno. Las cepas aisladas de *Aspergillus* en el presente trabajo tuvieron mejor eficiencia en la degradación de bolsas de polietileno de baja densidad (20.86 %), presentando una menor eficiencia en la degradación de bolsas de polietileno de alta densidad (7.84 %), esto probablemente se deba a la estructura que presenta el polietileno de baja densidad, también llamado de alta presión, es un sólido parcialmente cristalino de estructura ramificada, de menor densidad, que hace lo que los micromicetos puedan degradarlo más fácilmente, en relación al polietileno de alta densidad que consiste básicamente en cadenas lineales de 200 átomos

de carbono. Este alineamiento de las moléculas permite una alta cristalinidad del producto final y una muy baja permeabilidad. La cristalinidad queda definida por la tasa de enfriamiento de la masa de material fundido.

([http://www.un.org/depts/los/consultative\\_process/ICP17\\_Presentations/Alfaro\\_Medina.pdf](http://www.un.org/depts/los/consultative_process/ICP17_Presentations/Alfaro_Medina.pdf)).

En la naturaleza, son consorcios enteros los que participan en la biodegradación, y la biodiversidad de éstos varía de acuerdo al tipo de ambiente. Algunos autores definen las comunidades microbianas o consorcios como asociaciones de múltiples especies que coexisten en un mismo nicho. En los consorcios microbianos los microorganismos trabajan en forma multidisciplinar sobre el polietileno degradándolo en sus monómeros. De aquí que la actividad de los consorcios permite incrementar la degradación del polietileno (Sowmya et al. 2015). La eficiencia de degradación de bolsas de alta y baja densidad fue la misma en los dos consorcios formados por un conjunto de cepas, es así que el consorcio I estuvo formado por cepas de las especies *A. orizae* ( 1 cepa) y *A. flavus* (3 cepas) que tuvo una eficiencia de (10.91 %) y el consorcio II formado por las especies *A. fumigatus* (1 cepa) y *A. Orizae* ( 1 cepa) con una eficiencia de (14.78 % ), la degradación de polietileno se hizo en suelo en un tiempo de 120 días, en condiciones de invernadero, para simular condiciones naturales, los consorcios de cepas eficientes potenciaron la degradación de bolsas de alta y baja densidad en suelo en 12.8 % en relación al testigo (3.06 %); Jakubowicz et. al. (2011) presento el único resultado de suelo que presentó un mayor porcentaje de biodegradación (91%) con respecto al compost que fue de 43%, en dos años de cultivo de láminas de polietileno suplementadas con sal de manganeso. Los resultados obtenidos en el presente trabajo en cuanto a la degradación de bolsas de polietileno de baja densidad son mayores (11.72 %) y de alta densidad (7.74 %) en un tiempo de incubación de 120 días, en relación a los resultados obtenidos por Fontanella, *et. al.* (2010) de degradación de polietileno de baja y alta densidad de 9 y 5 % respectivamente, y los resultados obtenidos por Orhan *et al.* (2004) donde la pérdida de peso de polietileno de alta densidad (PEAD) fue 3,68% y la de polietileno de baja densidad (PEBD) fue de 11,01% después de doce meses de incubación en presencia de residuos sólidos y lo atribuyó a sus diferencias en la composición química. Indicando que el efecto de degradación de polietileno con los consorcios evaluados en suelo es mucho mayor que los obtenidos por estos investigadores.

Las imágenes de FTIR permitieron encontrar una diferencia entre las muestras láminas de bolsas de baja densidad inoculadas con el consorcio I y Control (sin inoculo).



El espectro infrarojo (IR) se analiza separando dos zonas referenciales; la primera es llamada la región de los grupos funcionales que va de 1200 a 3600  $\text{cm}^{-1}$  y la segunda denominada región de huella digital que se despliega desde 600 a 1200  $\text{cm}^{-1}$ ; esta última es una zona muy específica, donde los picos no varían para un polímero, a menos que este haya sufrido el efecto de algún agente químico, físico o biológico (Gulmine 2002). En las Figuras 6 y 7 se observa la aparición en una banda 2352  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde al enlace O-H de los ácidos carboxílicos, una banda 1369  $\text{cm}^{-1}$ , que corresponde al enlace C-O del grupo de los ácidos carboxílicos, la banda 453  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde al enlace de los bromoalcanos. Los grupos carbonilo actúan como cromóforos que permiten una iniciación de más radicales debido a que absorben en el UV cercano, posteriormente ocurre una ruptura de las cadenas por medio de las reacciones tipo Norrish 1 y 2, finalmente terminan con la formación de fragmentos que contienen grupos funcionales como alquenos, alcoholes, ésteres y ácidos carboxílicos, estos son utilizados por enzimas microbianas para su metabolización y final mineralización (Singh & Sharma. 2008) y hay un incremento en la banda 718  $\text{cm}^{-1}$  por efecto de la acción de los micromycetos, que corresponde a la región de huella digital que se despliega desde 600 a 1200  $\text{cm}^{-1}$ ; esta última es una zona muy específica, donde los picos no varían para un polímero, a menos que este haya sufrido el efecto de algún agente químico, físico o biológico (Gulmine 2002), indicando este espectro, de que si hubo efecto de degradación de las bolsas de baja densidad por las cepas de *Aspergillus* en estudio. Comparando el espectro FTIR control (fig. 8) con el espectro FTIR del consorcio I (fig. 9) que corresponde a la degradación de láminas de bolsas de polietileno de alta densidad, se observó la aparición una banda 1034  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde al enlace -NH- de las aminas, una banda 470 y 427  $\text{cm}^{-1}$ , que corresponde al enlace de los bromoalcanos que corresponde a la a región de huella digital que se despliega desde 600 a 1200  $\text{cm}^{-1}$ ; esta última es una zona muy específica, donde los picos varían debido a que ha sufrido el efecto de las cepas de *Aspergillus*, indicándonos que el consorcio I, altera la estructura del polietileno de alta y baja densidad.

## 5 CONCLUSIONES

Del botadero de Sicuni y Calca se aislaron 6 cepas que degradaron polietileno de alta y baja densidad de las cuales el 50% corresponde a *Aspergillus flavus*, 33.3 % a *Aspergillus orizae* y 16.6 % a *Aspergillus fumigatus*. Las cepas más eficientes en la degradación de bolsas de polietileno de alta y baja densidad corresponden a *Aspergillus fumigatus* (24.13 %) y *Aspergillus orizae* (23.15 %) aisladas del botadero de Calca. Las

bolsas de baja densidad fueron degradadas con mayor eficiencia (20.86 %) en relación a las de alta densidad (7.84 %) por cepas de *Aspergillus*. Los consorcios I y II tuvieron el mismo efecto en la degradación de bolsas de polietileno de alta y baja densidad con un promedio de 12.85 %. Las bolsas de baja densidad fueron degradadas con mayor eficiencia (11.62 %) en relación a las de alta densidad (7.54 %). Los Espectros demostraron que los consorcios de cepas de *Aspergillus* si degradan polietileno, ya que alteraron la estructura molecular de las láminas del polietileno de baja densidad generando grupos de ácidos carboxílicos con los enlaces C-O y O-H, además de enlaces de bromoalcanos. El espectro de láminas de polietileno de alta densidad demostró que se alteraron la estructura de la zona de la huella digital del polietileno generando nuevos enlaces -NH- del grupo aminas y enlaces de bromoalcanos

## REFERENCIA

Abdullahi M, Saidu BT (2013) Biodegradation of polyethylene and plastic using fadama soil amended with organic and inorganic fertilizer. *Indian journal of scientific research* 4(1): 17-24.

Allsopp M., A. Walters, D. Santillo, et al. 2007. Contaminación por plásticos en los océanos del mundo. GreenPeace. <http://www.greenpeace.org/raw/content/espana/reports/contaminacion-por-plasticos-en.pdf> (access: 16/01/2018)

Arancibia, C. (2014). Caracterización de *Alternaria alternata* aislada de contenedores residuales urbanos y su potencial uso en la degradación de 6polímeros de importancia ambiental. Tesis. Universidad Santo Tomas Escuela de Tecnología Médica. Viña del mar-Chile.

Bejar, V. R., Cardenas, K. J., Mendez, C. R. y Vergaray G. (2007). Aislamiento de micromicetos biodegradadores de polietileno (tesis de licenciatura). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú lima.

Champi V, y Villalba M. (2014). Evaluación de la contaminación por disposición final de residuos sólidos en los centros poblados de Pisac, Coya, Lamay y Calca-región Cusco. Tesis de grado. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco-Peru.

Fontanella S; Bonhomme S, Kountny M, Husarova L, Brusson JM, Courdavault JP, Pitteri S, Samuel G, Pichon Gérard, Lemaire J, Delort AM. (2010). Comparison of the biodegradability of various polyethylene films containing pro-oxidant additives. *Polymer Degradation and Stability*; 95,1011-1021

Gulmine JV, Janissek PR, Heise HM, Akcelrud L (2002) Polyethylene characterization by FTIR. *Polymer Testing* 21: 557-563.

Hadad, D, Geresh S, Sivan A. . (2005). Biodegradation of polyethylene by the thermophilic bacterium *Brevibacillus borstelensis*. *Appl Microbiol*, 98 (5). Pp 1093-1100

Instituto Nacional de Estadística e Informática - Censos Nacionales de Población y Perú: Crecimiento y distribución de la población, 2017

Jakubowicz I, Yarahmadi N, Arthurson V. (2011). Kinetics of abiotic and biotic degradability of low-density polyethylene containing prodegradant additives and its effect on the growth of microbial communities. *Polymer Degradation and Stability*. 96 (5) 919-928.

Jihuallanca F. (2015). Impacto Ambiental del Botadero Controlado de Residuos Sólidos en el Distrito de Sicuani, Canchis – Cusco. Tesis de grado. Universidad Nacional Del Altiplano De Puno- Perú

Méndez, C., Vergaray, G., Béjar, V. & Cárdenas, K. (2007). Aislamiento y caracterización de micromicetos biodegradadores de polietileno. (tesis de licenciatura) Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Peru- Lima.

Martin, C. (2012). Bioprospección de la degradación del polietileno tesis. pontificia universidad Javeriana. Facultad de ciencias básicas. bogota- Colombia

Martín P A. (2017). Estudio preliminar de la biodegradación de plásticos por bacterias marinas. Tesis-Post grado. Univ . La laguna facul. De ciencias departamento de microbiología. España

Ojeda,T; Dalmolin, E., Forte,M., Jacques,R.,Bento, F.,Camargo, F.(2009). Abiotic and biotic degradation of oxo-biodegradable polyethylenes,» *Polymer Degradation and Stability*, 94 (6) pp. 965-970.

Organismo de Fiscalización y Organización Ambiental. (2016). Fiscalización Ambiental de Residuos sólidos de la gestión Municipal de la Provincia del Cusco.

Orhan, Y., Hrenović, J. & Büyükgüngör, H. (2004). Biodegradation of Plastic Compost bags under controlled soil conditions. *Acta Chim. Slov.* 51: 579–588.

Pitt, J. (2001). A Laboratory Guide to Common Aspergillus and Penicillium Species and Their Teleomorphs. United States Department of Agricultural Research Service. New Orleans, Louisiana USA.

Kavelman R. & Kendrick B. 1978. Degradation of a plastic Polyepsilon-caprolactone by hiphomycetes. *Micologia* 70: 867-103.

Khanna, S. & Srivastava, A.K. 2005, "Recent advances in microbial polyhydroxyalkanoates", *Process biochemistry*, vol. 40, no. 2, pp. 607-619

Sowmya, HR. (2015). Polyethylene Degradation by Fungal Consortium, *International Journal Environmental Research*, vol. 9, n° 3, pp. 823-830, 2015.

Sudhakar M, Doble M, Sriyutha Murthy P, Venkatesan R (2008) Marine microbe-mediated biodegradation of low- and high-density polyethylene. *International Biodeterioration & Biodegradation* 61: 203–213.

Yepes A L. (2014). Degradación de Polietileno de Baja Densidad Utilizando Hongos. Revisión Sistemática de la Literatura. Tesis. PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA. Bogotá- Colombia.

**Watanabe, T. (2002).** Pictorial Atlas of soil seed Fungy. Second Edition. CRC Press. Printed in the United States of America.

Zahra S, Abbas SS, Mahsa MT, Mohsen N (2010). Biodegradation of low-density polyethylene (LDPE) by isolated fungi in solid waste médium. *Waste management* 30 (3) .pp 396-401.