

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE CUENCA

CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

*Trabajo de titulación previo
a la obtención del título de
Ingeniero Ambiental*

TRABAJO EXPERIMENTAL:

**“VALORACIÓN *IN VITRO* DE LA BIODEGRADACIÓN DE
POLIETILENO DE BAJA DENSIDAD MEDIANTE HONGOS
FILAMENTOSOS AISLADOS DEL RELLENO SANITARIO DE
PICHACAY”**

AUTORES:

JUAN CARLOS CEDEÑO DOMÍNGUEZ

JHONNY GABRIEL MERINO CORDERO

TUTOR:

MANUEL ERNESTO DELGADO FERNÁNDEZ, PhD.

CUENCA – ECUADOR

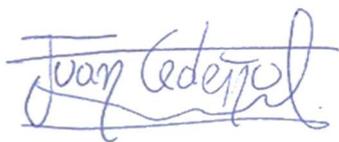
2020

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Nosotros, Juan Carlos Cedeño Domínguez con documento de identificación N° 1104081680 y Jhonny Gabriel Merino Cordero con documento de identificación N° 1900784016, manifestamos nuestra voluntad y cedemos a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales, en virtud de que somos autores del trabajo de titulación: **“VALORACIÓN *IN VITRO* DE LA BIODEGRADACIÓN DE POLIETILENO DE BAJA DENSIDAD MEDIANTE HONGOS FILAMENTOSOS AISLADOS DEL RELLENO SANITARIO DE PICHACAY”**, mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: *Ingeniero Ambiental* en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en nuestra condición de autores nos reservamos los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribimos este documento en el momento que hacemos entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, junio del 2020.



Juan Carlos Cedeño Domínguez

C.I. 1104081680



Jhonny Gabriel Merino Cordero

C.I. 1900784016

CERTIFICACIÓN

Yo, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: **“VALORACIÓN *IN VITRO* DE LA BIODEGRADACIÓN DE POLIETILENO DE BAJA DENSIDAD MEDIANTE HONGOS FILAMENTOSOS AISLADOS DEL RELLENO SANITARIO DE PICHACAY”**, realizado por Juan Carlos Cedeño Domínguez y Jhonny Gabriel Merino Cordero, obteniendo el *Trabajo Experimental*, que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, junio del 2020.

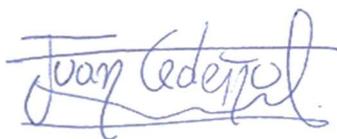
A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Manuel Ernesto Delgado Fernández', is written over a light blue circular stamp.

Manuel Ernesto Delgado Fernández, PhD.
C.I. 0102073780

DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD

Nosotros, Juan Carlos Cedeño Domínguez con documento de identificación N° 1104081680 y Jhonny Gabriel Merino Cordero con documento de identificación N° 1900784016, autores del trabajo de titulación: **“VALORACIÓN *IN VITRO* DE LA BIODEGRADACIÓN DE POLIETILENO DE BAJA DENSIDAD MEDIANTE HONGOS FILAMENTOSOS AISLADOS DEL RELLENO SANITARIO DE PICHACAY”**, certificamos que el total contenido del *Trabajo Experimental* es de nuestra responsabilidad y autoría.

Cuenca, junio del 2020.



Juan Carlos Cedeño Domínguez

C.I. 1104081680



Jhonny Gabriel Merino Cordero

C.I. 1900784016

Dedicatoria

A Dios, pilar fundamental en mi vida, quien me inspiró a estudiar esta hermosa carrera, por darme salud y bienestar para alcanzar mis metas como profesional y motivarme a ser mejor persona cada día.

A mis tías-abuelas Rosa Chiriboga e Isabel Chiriboga que me han apoyado en todo momento, que han sido padre y madre a la vez, por sus sacrificios y esfuerzos, por haberme forjado desde niño con sus valores, paciencia, optimismo y amor, estaré eternamente agradecido por vuestra ayuda. Gracias por su confianza incondicional, por convertirme en el hombre que soy y en el profesional que siempre quisieron, sin su ayuda nada de esto sería posible.

A mis padres Eduardo Cedeño e Isabel Domínguez y a mi hermana Isabella Cedeño por su ayuda en mis estudios, en mi vida y por el cariño que siempre les tendré.

A mí tía la Dra. Rori Cedeño y su esposo mi querido tío Miguel Vásquez, por su apoyo incondicional en este proyecto y en cada etapa de mi vida, a mi abuelita María Jaury, a mi tío José Cedeño, a mis primos Alejandro Cedeño, Anita Cedeño, María José Vásquez, Miguel Vásquez, gracias por estar siempre ahí en cada momento de mi vida.

A mi hermano Arq. Darío López que siempre ha estado a mi lado apoyándome y aconsejándome y me ha demostrado lo afortunado que soy de tenerte en mi vida. Gracias por tantos años de amistad y por todo lo que nos queda por vivir.

Juan Cedeño.

Dedicatoria

Dedico este logro tan importante a toda mi familia, en especial a mi madre Mariana de Jesús Cordero Cordero y mi padre José Antonio Merino Jiménez, que, con paciencia, tenacidad y lucha constante, supieron darme a mí y todos mis hermanos las herramientas necesarias para poder cumplir muchas metas.

En este camino recorrido muchos fueron los obstáculos para llegar a la meta final, pero, siempre estuvieron ahí apoyándome en cada una de mis decisiones. La confianza, enseñanza y tenacidad brindada por parte de ustedes, me dieron la fuerza necesaria para soportar la lucha y poder decirles, Padres amados, lo hemos logrado.

Jhonny Merino Cordero.

Agradecimientos

Agradezco a Dios, por permitirme cumplir con una etapa más en mi vida y darme la sabiduría para cumplir con el presente proyecto de investigación.

A mis padres, hermana y amigos/as, por la motivación y el apoyo brindado.

Al Dr. Ernesto Delgado Fernández, por aceptar ser nuestro tutor en la presente investigación y brindarnos su apoyo y conocimiento en el área.

Al Dr. Jorge Amaya por su apoyo al presente trabajo.

A todos los docentes, por impartirnos sus conocimientos y experiencias en busca de la formación de profesionales con excelencia académica.

A la Dra. Mónica Espadero e Ing. Sandy Gavilanes por la paciencia y apoyo que nos brindaron en el desarrollo de nuestra investigación.

A la EMAC EP, y su gerente Ing. César Arévalo por la disposición para realizar el presente proyecto de titulación, a los técnicos y empleados que de una u otra manera nos brindaron su apoyo.

Juan Cedeño

Agradecimientos

En primer lugar, agradecer a Dios por haberme guiado en el buen camino de la vida.

Agradezco a mis padres Mariana de Jesús Cordero Cordero y José Antonio Merino Jiménez por haberme dado la vida e irme cultivando todos los días con ética y honradez, por enseñarme el valor del trabajo arduo y sobre todo a nunca darme por vencido hasta alcanzar mis metas.

Agradezco a mis hermanos Diego Merino, Cristina Merino, Lady Merino, Ana Ordoñez y Andrés Ordoñez por formar parte de mi vida y apoyarme en todo momento de mi carrera Universitaria.

Agradezco de manera especial a Geomaira, por ser mi compañera, amiga y mucho más, has luchado conmigo en todo momento y siempre creíste en mí sin temor. Ella siempre fue un pilar fundamental en esta etapa de mi vida.

En la última etapa de mi carrera Universitaria llego una personita muy especial a mi vida, mi hijo Juan Antonio Merino Obregón a quien le dedico este logro, aún estás muy pequeño para leer estas palabras, pero estoy seguro que tendré el placer inmenso de verte crecer y puedas leerlas junto a mí.

Agradezco a todos mis profesores que me formaron en el ámbito profesional, con sus enseñanzas han dejado en mí una huella imborrable, por lo que siempre estaré agradecido.

Finalmente agradezco de manera especial al Dr. Ernesto Delgado Fernández por haber dirigido el presente trabajo.

Jhonny Merino Cordero.

Resumen

En este estudio se evaluó la biodegradación de polietileno de baja densidad (LDPE) a través de hongos filamentosos que se aislaron del relleno sanitario de Pichacay (Cuenca) y hongos que pertenecen al cepario institucional. Los aislados fúngicos pertenecen a los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Trichoderma*, y *Mucor*. El estudio se hizo *in vitro* y para la valoración, las perlas de LDPE se sometieron a un proceso de desinfección con una solución de Tween 80, e NaOH, posteriormente las muestras del polietileno se colocaron en cajas Petri de 9 cm con medio Sabouraud, PDA y agar extracto de Malta, sobre este material se colocaron inóculos de los aislados fúngicos, el período de valoración fue de 90 días. La pérdida de peso en el polietileno fue un indicador de la capacidad biodegradadora de los aislados fúngicos, además del análisis mediante espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR). Los espectros FTIR evidencian cambios en la naturaleza química del polímero, por lo que nos sugiere que esta particularidad sea el efecto de los aislados fúngicos (biodegradación). Los porcentajes de biodegradación de los aislados fúngicos fueron: *Fusarium*-RSZ1M13 (5.94%) *Aspergillus*-RSZ4M6 (5.16%) y *Trichoderma* J1 (4.98%).

Palabras Clave: LDPE, actividad enzimática, hongos filamentosos, relleno sanitario, plásticos, FTIR.

Abstract

This study evaluated the biodegradation of low-density polyethylene (LDPE) through filamentous fungi that were isolated from the Pichacay landfill (Cuenca) and fungi that belong to the institutional cepario. The fungal isolates belong to the genera *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Trichoderma*, and *Mucor*. The study was done in vitro and for the evaluation, the LDPE beads were subjected to a disinfection process with a Tween 80 solution and NaOH, later the polyethylene samples were placed in 9 cm Petri dishes with Sabouraud's medium, PDA and Agar extract from Malta, on this material inoculums of fungal isolates were placed, the titration period was 90 days. Weight loss in polyethylene was an indicator of the biodegradable capacity of fungal isolates, in addition to analysis by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). The FTIR spectra show changes in the chemical nature of the polymer, so it suggests that this particularity is the effect of fungal isolates (biodegradation). The biodegradation percentages of the fungal isolates were: *Fusarium*-RSZ1M13 (5.94%), *Aspergillus*-RSZ4M6 (5.16%) and *Trichoderma* J1 (4.98%).

Keywords: LDPE, enzymatic activity, filamentous fungi, landfill, plastics, FTIR.

ÍNDICE GENERAL.

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR	II
CERTIFICACIÓN	III
DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD	IV
DEDICATORIA	V
DEDICATORIA	VI
AGRADECIMIENTOS	VII
AGRADECIMIENTOS	VIII
RESUMEN	IX
ABSTRACT	X
CAPÍTULO 1.	1
INTRODUCCIÓN.	1
1.1 Antecedentes	1
1.2 La problemática	3
1.3 Justificación	4
1.4 Objetivos	4
1.4.1 General.	4
1.4.2 Específicos.	5
1.5 Los polímeros sintetizados	5
1.5.1 Polietileno de baja densidad (LDPE).	6
1.5.2 El polietileno y la contaminación ambiental.	6
1.6 Importancia de la degradación de plásticos	7
1.7 El impacto ambiental de los bioplásticos frente a los polímeros convencionales	7
1.8 Cepas fúngicas con capacidad de degradar plásticos	8
1.8.1 Estructuras somáticas de los hongos.	9
1.8.2 Estructuras reproductivas de los hongos filamentosos.	9
1.8.3 Clasificación de los hongos filamentosos.	11
1.8.3.1 Clase Deuteromicetos.	11
1.8.3.2 Clase Basidiomicetos.	11
1.8.3.3 Clase Zigomicetos.	11
1.8.3.4 Clase Ascomicetos.	12
1.8.4 Caracterización morfo-molecular de aislados fúngicos	12
1.8.5 Géneros de hongos con capacidad biodegradadora de polietileno	12
1.8.5.1 Aspergillus sp.	12
1.8.5.2 Trichoderma sp.	13
1.8.5.3 Fusarium sp.	15
1.8.5.4 Penicillium sp.	16
1.8.5.5 Mucor sp.	17

1.9	Degradación de polímeros.	18
1.9.1	Degradación térmica.	19
1.9.2	Degradación por radiaciones.	19
1.9.3	Fotodegradación.	19
1.9.4	Degradación mecánica.	20
1.9.5	Degradación química.	20
1.9.6	Biodegradación.	20
1.10	Degradación de polímeros mediante hongos filamentosos.	21
1.11	Efecto de la actividad fúngica en LDPE.	22
1.12	Espectroscopia infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR) como método para valorar la biodegradación de polietileno de baja densidad LDPE.	-- 24
1.12.1	El espectro de absorción como método para identificar los cambios en la estructura del polietileno sometido a biodegradación.	25
CAPÍTULO 2		27
METODOLOGÍA		27
2.1	Muestreo	27
2.1.1	Muestreo estratificado aleatorio.	27
2.1.2	Tamaño de la muestra.	27
2.1.2.1	Muestreo sistemático (en rejilla).	27
2.1.3	Procesamiento de las muestras.	28
2.2	Aislamiento y formación de colonias	28
2.2.1	Aislamiento mediante la técnica de dilución de suelo en placa.	28
2.2.2	Aislamiento de hongos mediante placas Warcup.	29
2.3	Identificación taxonómica	30
2.4	Cepas de hongos filamentosos con potencial biodegradador de LDPE	30
2.4.1	Réplica y aislamiento de hongos filamentosos.	30
2.5	Desinfección de polietileno de baja densidad previo al tratamiento	31
2.5.1	Presentación y forma del polímero para la experimentación.	31
2.5.2	Tratamiento de desinfección de las perlas de LDPE, previo a la inoculación de hongos filamentosos en cajas Petri.	31
2.6	Métodos de análisis de las muestras resultantes del experimento	32
2.6.1	Determinación del peso seco de polietileno residual (polietileno biodegradado).	32
2.6.2	Análisis por FTIR de las muestras de polietileno degradadas.	33
2.6.3	Planteamiento estadístico para el procesamiento de datos finales.	34
CAPÍTULO 3		35
RESULTADOS.		35
3.1	Área de estudio. - muestreo de suelo relleno sanitario	35

3.2	Muestreo	36
3.2.1	Resultados del Muestreo sistemático en rejilla.	36
3.2.2	Procesamiento de las muestras.	37
3.3	Aislamiento y formación de cultivos puros	37
3.3.1	Ilustración de los aislados fúngicos.	38
3.4	Resultados de la biodegradación	42
3.4.1	Análisis FTIR.	42
3.4.1.1	LDPE previo al tratamiento de desinfección química.	42
3.4.1.2	LDPE posterior al tratamiento de desinfección química.	42
3.4.1.3	Comparación de los espectros de LDPE antes y después del tratamiento químico de desinfección.	43
3.4.2	Análisis de espectros de las muestras de LDPE degradadas con hongos filamentosos.	44
3.4.2.1	Análisis del espectro IR de la cepa RSZ1M13- <i>Fusarium</i> sp.	44
3.4.2.2	Análisis del espectro IR de la cepa RSZ4M6- <i>Aspergillus</i> sp.	45
3.4.2.3	Análisis del espectro IR de la cepa J1- <i>Trichoderma</i> sp.	47
3.4.2.4	Análisis del espectro IR de la cepa RSZ3M10- <i>Trichoderma</i> sp.	48
3.4.2.5	Análisis del espectro IR de la cepa RSZ2M5- <i>Mucor</i> sp.	49
3.4.2.6	Análisis del espectro IR de la cepa Y1- <i>Trichoderma</i> sp.	50
3.4.2.7	Análisis del espectro IR de la cepa RSZ4M3- <i>Fusarium</i> sp.	51
3.4.2.8	Análisis del espectro IR de la cepa RSZ4M8- <i>Trichoderma</i> sp.	52
3.4.2.9	Análisis del espectro IR de la cepa RSZ4M7- <i>Aspergillus</i> sp.	53
3.4.3	Análisis estadístico.	54
3.4.4	Cuantificación de la biomasa de las cepas sobre el LDPE.	56
3.4.5	Análisis y comparación de las muestras de LDPE residual (polietileno biodegradado) después de 3 meses.	58
3.4.6	Observación de la biopelícula formada sobre el polietileno mediante un microscopio electrónico.	60
3.4.7	Valoración de la capacidad biodegradadora de los hongos filamentosos.	61
	DISCUSIÓN	63
	CONCLUSIONES	65
	RECOMENDACIONES	67
	BIBLIOGRAFÍA	68
	ANEXOS	79

Índice de tablas.

Tabla 1:	Cepas fúngicas asociadas con la biodegradación del polietileno y otros polímeros.	22
Tabla 2:	Enzimas fúngicas y bacterianas útiles para la biodegradación de plásticos....	23
Tabla 3:	Señales de absorbancia en espectros FTIR.	25
Tabla 4:	Puntos determinados para el área de muestreo.....	35
Tabla 5:	Identificación taxonómica de hongos.....	38
Tabla 6:	Comparación de LDPE antes y después del tratamiento químico de desinfección.	43
Tabla 7:	Comparación de LDPE con tratamiento y la cepa RSZ1M13- <i>Fusarium</i> sp. .	44

Tabla 8: Comparación de LDPE con tratamiento y la cepa RSZ4M6- <i>Aspergillus</i> sp.	45
Tabla 9: Comparación de LDPE con tratamiento y la cepa J1- <i>Trichoderma</i> sp.	47
Tabla 10: Comparación de LDPE con tratamiento y la cepa RSZ3M10- <i>Trichoderma</i> sp.	48
Tabla 11: Comparación de LDPE con tratamiento y la cepa RSZ2M5- <i>Mucor</i> sp.	49
Tabla 12: Comparación de LDPE con tratamiento y la cepa Y1- <i>Trichoderma</i> sp.	50
Tabla 13: Comparación de LDPE con tratamiento y la cepa RSZ4M3- <i>Fusarium</i> sp. ..	51
Tabla 14: Comparación de LDPE con tratamiento y la cepa RSZ4M8- <i>Trichoderma</i> sp.	52
Tabla 15: Comparación de LDPE con tratamiento y la cepa RSZ4M7- <i>Aspergillus</i> sp.	53
Tabla 16: Estadística descriptiva.	54
Tabla 17: Hongos que mejor biodegradan polietileno de baja densidad LDPE.	54
Tabla 18: Estimación de la diferencia pareada.	55
Tabla 19: Prueba t-Student Pareada.	55
Tabla 20: Resultados del primer mes de tratamiento.	56
Tabla 21: Resultados segundo mes de tratamiento.	56
Tabla 22: Resultados tercer mes de tratamiento.	57
Tabla 23: Formación de biopelícula sobre la superficie de las perlas de polietileno.	60
Tabla 24: Resumen de las cepas que presentaron mayores porcentajes de biodegradación.	62

Índice de figuras.

Figura 1: Formulación del polietileno de baja densidad.	6
Figura 2: Estructuras Somáticas que presentan los hongos filamentosos.	9
Figura 3: Tipos de esporas que presentan os hongos filamentosos dependiendo del género.	10
Figura 4: Estructura reproductiva y sus partes	13
Figura 5: Estructuras características de <i>Trichoderma harzianum</i> (A) y <i>Trichoderma</i> sp. (B).	15
Figura 6: Macroconidias y microconidias de <i>Fusarium oxysporum</i> (A) y estructuras características de <i>Fusarium</i> sp (B).	16
Figura 7: Estructura esquemática de <i>Penicillium</i> sp.	17
Figura 8: Estructuras representativas de <i>Mucor</i> sp.	18
Figura 9: Ilustración muestreo sistemático mediante rejilla rectangular.	27

Índice de fotografías.

Fotografía 1: Barreno para extracción de muestras del relleno sanitario.	28
Fotografía 2: Diluciones seriadas de las muestras de suelo-Relleno sanitario-Pichacay.	29
Fotografía 3: Cultivo con muestra de suelo en caja Petri.	29
Fotografía 4: Polietileno de baja densidad de la empresa OVIPLAX S.A.(A), y perlas de polietileno puro (B).	31
Fotografía 5: Desinfección de polietileno.	32
Fotografía 6: Lavado final de polietileno.	32
Fotografía 7: Extracción de muestras de polietileno.	33

Fotografía 8: Pesado de muestras de polietileno.....	33
Fotografía 9: Muestreo en rejilla a partir de la determinación del área de estudio.....	36
Fotografía 10: Extracción de muestras con barreno.....	36
Fotografía 11: Tamizado de las muestras de suelo	37
Fotografía 12: Conservación de las muestras de suelo.	37
Fotografía 13: Réplica de Trichoderma sp.....	38
Fotografía 14: Aislamientos de cepas Penicillium (A), y cepa desconocida (B).....	38

Índice de mapas.

Mapa 1: Ubicación de los puntos de muestreo.	35
--	----

Índice de gráficos.

Gráfico 1: Espectro de LDPE puro, sin tratamiento de desinfección química.	42
Gráfico 2: Espectro de LDPE con tratamiento químico de desinfección.	43
Gráfico 3: Comparación de los espectros IR de LDPE antes y después del tratamiento químico de desinfección.	44
Gráfico 4: Espectro IR de la cepa RSZ1M13- Fusarium sp.....	45
Gráfico 5: Espectro IR de la cepa RSZ4M6- Aspergillus sp.	46
Gráfico 6: Espectro IR de la cepa J1- Trichoderma sp.....	47
Gráfico 7: Espectro IR de la cepa RSZ3M10-Trichoderma sp.	48
Gráfico 8: Espectro IR de la cepa RSZ2M5-Mucor sp.	49
Gráfico 9: Espectro IR de la cepa Y1-Trichoderma sp.	50
Gráfico 10: Espectro IR de la cepa RSZ4M3-Fusarium sp.....	51
Gráfico 11: Espectro IR de la cepa RSZ4M8-Trichoderma sp.	52
Gráfico 12: Espectro IR de la cepa RSZ4M7-Aspergillus sp.....	53
Gráfico 13: Peso inicial del polietileno de baja densidad y peso con biomasa desde el primer mes hasta el tercer mes de tratamiento.	57
Gráfico 14: Resultados de Biodegradación al tercer mes de tratamiento.....	59
Gráfico 15: Comparación del peso inicial del polietileno y el peso final con biodegradación.....	59
Gráfico 16: Porcentaje de biodegradación en los 90 días de tratamiento.....	62

Capítulo 1.

Introducción.

1.1 Antecedentes

El medio ambiente sano garantiza el goce pleno de la vida y la salud, que según la Organización Mundial de la Salud (OMS) es el estado completo de bienestar físico y social que tiene una persona. Si se considera esta afirmación, es válido preguntarse cómo influye el deterioro del medio ambiente en la salud. El bienestar depende de la capacidad de una sociedad para mejorar la interrelación entre las actividades humanas y los factores ambientales que nos rodean (Estrada Paneque, Gallo González, & Nuñez Arroyo, 2016; Morales, Alfonso, & Jean-Claude, 2011).

El desarrollo y la industrialización aun en incremento en el siglo XXI propicia el uso y explotación de combustibles fósiles, produciendo un desnivel creciente de la calidad del medio ambiente y su capacidad para mantener la vida (Morales et al., 2011). La industria del plástico abarca un amplio espectro del mundo manufacturero, tanto geográficamente como en términos de bienes producidos. A medida que se descubren e implementan nuevas aplicaciones, las empresas continúan expandiéndose, generando un alto impacto económico en la producción de innumerables productos manufacturados y por ende, en el consumo de las personas (INEGI, 2017; Kutz, 2011).

Los plásticos aparecieron en la década de 1950, cumplen muchos propósitos y actualmente se utilizan en todos los sectores industriales. Una aplicación notable es el embalaje de productos, que actualmente utiliza alrededor del 30-40% de la producción mundial anual de plástico (Galgani, Pham, & Reisser, 2017). En este sentido, el polietileno de baja densidad (LDPE) es el material de embalaje más utilizado en todo el mundo debido a sus excelentes propiedades: mecánicas, hidrofobicidad, peso ligero, bajo costo y su alta eficiencia energética (Kyaw, Champakalakshmi, Sakharkar, Lim, & Sakharkar, 2012). Aproximadamente el 35% de

los plásticos producidos en los países desarrollados se utilizan para el empaquetado, de este porcentaje entre el 8 y 10 % se utiliza para el envasado de alimentos (Veethahavya, Rajath, Noobia, & Kumar, 2016), en los países en vías de desarrollo desde el año 2007 al 2011 la generación de residuos se incrementó en un 37.3%, con un equivalente a un 8% por año (Kunlere, Fagade, & Nwadike, 2019). Las industrias agrícolas, hortícolas y áreas relacionadas están emergiendo como grandes consumidores de plásticos, consumiendo 2'250.000 toneladas al año de plásticos en forma de películas, láminas, tuberías y productos moldeados para la agricultura (A. L. Andrady, 2003).

En promedio, cada tonelada de plástico elaborado produce 2.5 toneladas de emisiones de CO_2 . Además, el carbono incrustado en el material corresponde a otras 2.7 toneladas de CO_2 (Material Economics Sverige AB, 2016). No obstante, los biopolímeros o bioplásticos y los plásticos biodegradables representan una alternativa para el futuro, en particular a los productos de vida útil corta (Virginie, 2011). Sin embargo, continúan perpetuando el problema real: el modelo actual de consumo de usar y tirar. Y, por otro lado, la propia etiqueta biodegradable incita a consumir igual o incluso más, creando un gran impacto (González Castro, 2019).

Uno de los grandes problemas es la ineficiencia en el manejo de desechos plásticos, siendo los principales: los rellenos sanitarios, la incineración y el vertimiento (Advisors, de Wit, Hamilton, Scheer, & Stakes, 2019). Entre 1950 y 2015 la acumulación de residuos plásticos primarios y secundarios (reciclados) ascendió a 6300 millones de toneladas métricas (Mt). De esto, aproximadamente el (12%) de plásticos han sido incinerados y el (9%) reciclados, de los cuales, solo el 10% han sido reciclados más de una vez (Geyer, Jambeck, & Law, 2017).

Basados en proyecciones del desarrollo de la población humana, el nivel de industrialización, y el desarrollo de los sistemas de gestión de residuos, se estima que entre 100 a 250 millones de toneladas de basura plástica ingresarán a los océanos entre 2010 y 2025 (Gutow & Bergmann, 2018). A nivel terrestre el problema se agrava notablemente, porque para

la producción anual actual de alrededor de 400 millones de toneladas de plásticos, se requerirían 150 millones de hectáreas de tierra cultivable o el 11% del total disponible en la Tierra, mientras que para alcanzar un crecimiento proyectado a 1900 millones de toneladas, para el año 2050, se necesitaría alrededor del 52% disponible en la Tierra (Rhodes, 2019).

1.2 La problemática

Los plásticos, representan una de las mayores amenazas para el medio ambiente, existen plásticos que resisten la degradación, algunos que se degradan hasta cierto punto y otros que permanecen como contaminantes orgánicos persistentes (COPs) (Gnanavel, Mohana, Valli, & Kannadasan, 2012). El plástico es un polímero naturalmente recalcitrante, una vez acumulado en el medio ambiente permanecerá allí durante muchos años, inclusive un tiempo mayor a los 1000 años (Koshti, Mehta, & Samarth, 2018; Munir, Harefa, Priyani, & Suryanto, 2018).

En las últimas 3 a 4 décadas, el polietileno representa hasta el 64% de los plásticos sintéticos que se desechan en un corto período de tiempo después de su uso (Harshvardhan & Jha, 2013; Koshti et al., 2018), además representa el 60% de la producción total de plástico a nivel mundial (Kunlere et al., 2019). Los mercados de América del Norte, Europa occidental y Asia consumen aproximadamente del 25 al 30% de polietileno producido a nivel mundial (Anthony L. Andrady & Neal, 2009). En este sentido, la gestión de estos residuos va más allá de su tratamiento físico, químico, biológico, mecánico o su disposición final en rellenos sanitarios (Gaggino, 2008).

En nuestro país la importación de maquinaria para procesamiento de plástico se incrementó en un 52% desde el 2007, la mayoría de los productos fabricados fueron destinados a los sectores: agrícola, pesquero, florícola y en el envasado de alimentos (CS, 2012). De igual manera, la industria de materiales plásticos y resinas creció a un promedio del 10% anual entre 2005 y 2008. La mayoría de las materias primas plásticas que se importaron, eran especialmente el polietileno (PE) y el polipropileno (PP) (IBP, 2015).

En el cantón Cuenca, desde el 2006 se implementó el Sistema Integral de Reciclaje, que tiene por objetivos ampliar la vida útil del relleno sanitario de Pichacay y apoyar a los recicladores del cantón (EMAC, 2014), proyectándose a nivel nacional como una de las ciudades pioneras en materia de reciclaje. En el año 2012, la estimación de plástico reciclado fue de 79,81%, este valor se incrementó en el año 2016 a 91.02% (EMAC, 2017). La cantidad de plástico generado en el año 2012 fue de 13.32 toneladas, donde los plásticos blandos y rígidos representaban el 10.18% y 3.15% respectivamente (López, 2015). En la ciudad de Cuenca, se recuperan cada mes 176 toneladas de plásticos entre todos los desechos que llegan al relleno sanitario de Pichacay, esto representa apenas el 1% de toda la basura que ingresa, donde los plásticos blandos constituyen un 6.67% y los plásticos rígidos un 4.67%, que corresponden al porcentaje en peso físico de todos los desechos finalmente dispuestos en el relleno (Cobos Maldonado, 2011; Párraga, 2019).

1.3 Justificación

En base a lo expuesto, la biodegradación se presenta como una alternativa viable y amigable con el medio ambiente y que tiene como propósito reducir el tiempo de degradación. Este estudio busca hacer una valoración *in vitro* para luego proyectar a una valoración en campo a futuro. Los resultados que se encuentren en esta investigación aportarán seguramente a nuevos conocimientos sobre el uso de hongos filamentosos en procesos de biodegradación de polietilenos.

1.4 Objetivos

1.4.1 General.

- Valorar la capacidad de biodegradación *in vitro* de polietileno de baja densidad a través de hongos filamentosos aislados del relleno sanitario de Pichacay.

1.4.2 Específicos.

- Aislar cepas de hongos filamentosos presentes en el suelo del relleno sanitario de Pichacay que se utilizarán en la biodegradación de polietileno de baja densidad (LDPE).
- Determinar el potencial biodegradador del polietileno de baja densidad de las cepas aisladas y las cepas de la Universidad Politécnica Salesiana, en términos de porcentaje de degradación.
- Comparación de la capacidad biodegradadora mediante correlaciones de pérdida de peso y porcentaje de transmitancia-absorción FTIR.

1.5 Los polímeros sintetizados

Son compuestos de elevado peso molecular formados por combinación de un gran número de moléculas de uno o varios compuestos de bajo peso molecular (Geissman, 1973). Son moléculas muy grandes constituidas por la repetición de unidades moleculares llamadas monómeros y cuya reacción de unión entre sí se denomina polimerización (Allinger et al., 1988). Esta es una característica de distinción de la mayor parte de otros compuestos químicos orgánicos, donde su tamaño y forma dependen de la manera en que están organizados para formar una estructura (Kalpakjian & Schmid, 2002a). Existen muchos tipos diferentes de materiales poliméricos que tienen gran número de aplicaciones, entre las que se incluyen: plásticos, elastómeros (o cauchos), fibras, recubrimientos, adhesivos, espumas y películas. Dependiendo de sus propiedades, un polímero puede utilizarse en dos o más de estas aplicaciones (Callister, Molera Solà, & Anglada Gomila, 2007). Su degradación implica dos aspectos. Por un lado, se busca que el material sea estable para las condiciones de uso. Por el otro, el descarte, la eliminación y degradación plantea problemas con relación a su incorporación a los ciclos químicos del planeta en períodos de tiempo razonables (Aldabe et al., 2004).

1.5.1 Polietileno de baja densidad (LDPE).

Es un hidrocarburo de alto peso molecular obtenido por la polimerización a altas presiones del gas etileno. El etileno (punto de ebullición 104 °C) puede obtenerse por deshidratación del etanol o por hidrogenación del acetileno (Billmeyer, 1975). Posee una estructura molecular ramificada (figura 1), y pertenece a la familia de los termoplásticos. (Trujillo Mejía, 2012). La densidad del polietileno está comprendida entre 0,92 y 0,94 g/cm³ y su peso molecular entre 500 y 50000 unidades (Vian Ortuño, 1999). Es un sólido más o menos flexible y ligero según el grosor, que por sus características y bajo precio se utiliza mucho en envasado, en la elaboración de tuberías y el revestimiento de cables (Franquet Bernis, 2005).

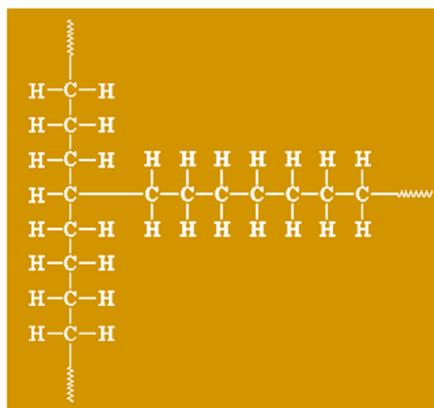


Figura 1: Formulación del polietileno de baja densidad.

Fuente: (Franquet Bernis, 2005).

1.5.2 El polietileno y la contaminación ambiental.

El polietileno (PE), es un plástico compuesto por monómeros de olefinas y a su vez los plásticos son materiales poliméricos orgánicos; la mayoría elaborados con derivados del petróleo. Los productos elaborados con polietileno presentan dos tipos de problemas: el deterioro cuando están siendo utilizados y la contaminación ambiental posterior a su uso (Méndez, Vergaray, Béjar, & Cárdenas, 2007). En este último caso, debido a sus características de resistencia no son degradados por los microorganismos del suelo y permanecen visibles en el medio ambiente por tiempo indefinido (Mangiarotti, Caretta, Nelli, & Piontelli, 1994).

El polietileno es químicamente muy inerte, no se disuelve en ningún disolvente a temperatura ambiente, son solubles con solventes líquidos como el benceno y el tetracloruro de carbono a temperaturas superiores (Billmeyer & Guerra, 1975).

1.6 Importancia de la degradación de plásticos

De la biodegradación de polímeros se sabe muy poco, especialmente sobre la biodegradación en el medio ambiente acuático, pero muchos estudios hacen referencia a la biodegradación en suelos o compost (Eubeler, 2010). Es así, que se han iniciado e implementado una serie de estrategias para reducir la acumulación de desechos plásticos (Ameen, Moslem, Hadi, & Al-Sabri, 2015; Munir et al., 2018) Si bien los plásticos no se degradan con facilidad como es el caso de los metales a través de la corrosión (degradación superficial). Para el caso de los plásticos la degradación se produce o se da a nivel interno, lo que dificulta su descomposición (Pancorbo Floristán, 2010).

La biodegradación se fundamenta en la capacidad que tienen ciertos microorganismos para degradar o descomponer polietileno en este caso, pero esta particularidad se presenta debido a que estos microorganismos toman el carbono e hidrógeno como fuente de energía (Dela Torre, Delos Santos, Reyes, & Baculi, 2018; Gnanavel et al., 2012).

1.7 El impacto ambiental de los bioplásticos frente a los polímeros convencionales

Para resolver el problema, a nivel global se busca hacer uso del plástico biodegradable o fotodegradables (Hill & Kolb, 1999). Es un nuevo tipo de material considerado un reemplazo del plástico convencional y que tiene múltiples ventajas. Sin embargo, todavía hay algunos obstáculos para su uso de forma masiva, como es su alto costo de producción, la falta de tecnología, y la gestión específica para su recolección y tratamiento (Liu, Li, & Zhang, 2019).

La mayoría de los plásticos biodegradables son considerados materiales compuestos, fabricados con derivados de recursos naturales no renovables. (Lopez Martínez, Gómez Galán, Sánchez Salinas, & Martinez Lao, 2019).

Al igual que los plásticos convencionales como el polietileno o polipropileno, los bioplásticos tienen un impacto durante su ciclo final de vida. Cuando se eliminan, de manera incontrolada en el medio ambiente pueden llegar a acumularse y fragmentarse en microplásticos y nanoplásticos (Shen et al., 2020). Cuando sucede este tipo de fragmentación se extiende la contaminación por todos los rincones de los océanos, hasta llegar a mezclarse con el plancton, el primer peldaño de la cadena alimenticia marina (Sepúlveda, 2012).

1.8 Cepas fúngicas con capacidad de degradar plásticos

Avances en temas biotecnológicos indican que la biodegradación de plásticos es el método más efectivo, podrían ser el método más seguro y económico para la sociedad (Boerger, Lattin, Moore, & Moore, 2010). En la actualidad las investigaciones se centran en microorganismos y enzimas extracelulares capaces de alterar las propiedades físicas y químicas del polietileno, incluso utilizándolo como única fuente de carbono, facilitando los procesos de degradación de los desechos plásticos presentes en la naturaleza (Uribe, Giraldo, & Gutiérrez, 2010).

El reino de los hongos está compuesto por organismos eucariotas que se distinguen por la presencia de paredes celulares quitinosas, estos organismos cumplen una función vital como recicladores de material orgánico y con una estimación de más de 1 millón de especies diferentes (Troiano, Orsat, & Dumont, 2020). Los hongos pueden ser unicelulares o multicelulares y, dependiendo del organismo, pueden adoptar múltiples formas morfológicas basadas en el modo de división y crecimiento celular (Powers-fletcher, Kendall, Griffin, & Hanson, 2016). Son organismos heterotróficos que sintetizan enzimas intra y extracelulares, estas tienen capacidad para transformar prácticamente cualquier tipo de sustrato orgánico y participan en la oxidación en algunos compuestos inorgánicos (Méndez et al., 2007). Poseen, además, una pared gruesa, semejante en grosor y en composición química a la pared de las células vegetales, sin embargo, los hongos no son fotosintéticos y aunque algunos, como las setas, que se asemejan a plantas, estas no poseen hojas, tallos ni raíces (García Cortés, 2004).

1.8.1 Estructuras somáticas de los hongos.

El tallo (cuerpo) de los hongos filamentosos está formado por filamentos largos de células unidas; estos filamentos que se denominan hifas, pueden crecer hasta proporciones inmensas. Las hifas de casi todos los hongos filamentosos contienen tabiques que las dividen en unidades separadas similares a una célula (un núcleo). Las hifas crecen alargándose desde sus extremos, cada parte de una hifa puede crecer y cuando se desprende un fragmento puede alargarse para formar una hifa nueva (Carrillo, 2003; Paucay Ortiz, 2016; Tortora, Funke, & Case, 2007). Las hifas pueden presentar septos, entonces el micelio está tabicado, el micelio es un conjunto de filamentos, y un trozo del mismo se denomina hifa, si los tabiques están ausentes se habla de micelio continuo, (figura 2) (Carrillo, 2003). En función de las hifas de un hongo y pueden clasificarse en (vegetativas) que son siempre sumergidas, además, son las encargadas de absorber los nutrientes para el crecimiento, o hifas de tipo reproductor que crecen sobre la superficie del medio denominadas (aéreas) (Carrillo, 2003; Paucay Ortiz, 2016).

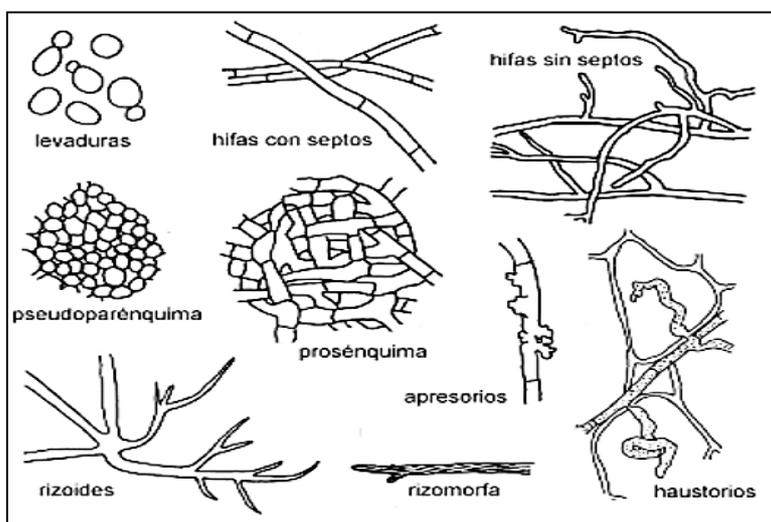


Figura 2: Estructuras Somáticas que presentan los hongos filamentosos.

Fuente: (Carrillo, 2003; Paucay Ortiz, 2016)

1.8.2 Estructuras reproductivas de los hongos filamentosos.

Los hongos pueden producir estructuras sexuales y asexuales, los conidióforos o esporangióforos son estructuras asexuales que producen propágulos por división o

redistribución de núcleos sin fusión nuclear. Dependiendo del género, estos propágulos asexuales pueden llamarse conidios o esporas. Por otro lado, las estructuras sexuales como la cleistotecia, peritecia, basidios o cigosporangia producen propágulos después de la unión de dos núcleos haploides compatibles. Dependiendo del filo, estas esporas sexuales están contenidas dentro de los sacos, llamados ascas (phylum Ascomycota), o son externas (phyla Basidiomycota o Zygomycota) (Powers-fletcher et al., 2016). Las esporas permiten la perpetuación de la especie y pueden estar encerradas en un esporangio o ser externas (conidios), (figura 3) (Carrillo, 2003). Su reproducción se fundamenta principalmente mediante esporas asexuales; mientras que otros lo hacen formando esporas sexuales (Pascual, 2005). Las esporas son cuerpos resistentes que forman los hongos en estado latente o de reposo, estas se producen de dos maneras diferentes, sexual y asexualmente, las sexuales tienen núcleo derivado de dos células progenitoras, y sus esporas haploides; dos núcleos de sus células antecesoras se funden para formar un núcleo diploide (zigoto), las esporas asexuales se producen por simple diferenciación en la hifa de crecimiento (Arias & Piñeros, 2008).

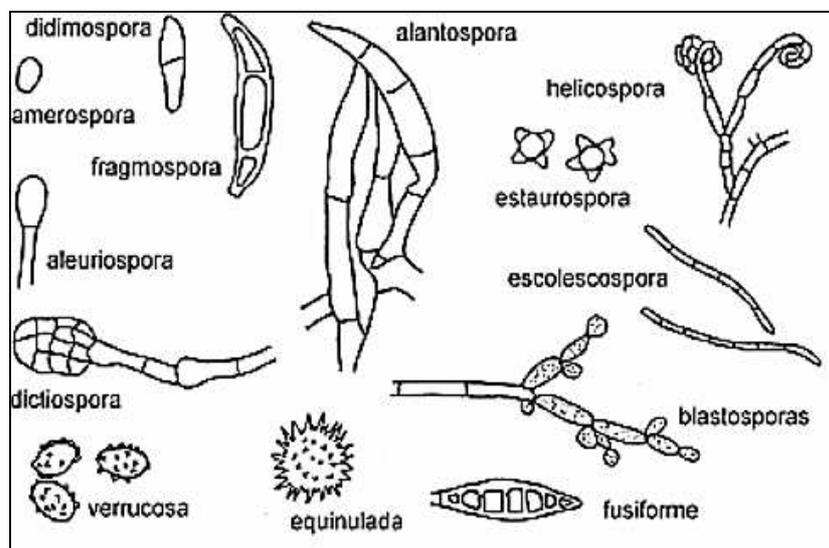


Figura 3: Tipos de esporas que presentan os hongos filamentosos dependiendo del género.

Fuente: (Carrillo, 2003; Paucay Ortiz, 2016).

1.8.3 Clasificación de los hongos filamentosos.

Se basa en los mecanismos de reproducción sexual y las esporas que resultan en la mayor parte de los casos, además, cepas que pueden aparearse, que presentan fusión nuclear, meiosis e intercambio de información genética (Toromorenó & Miranda, 2012).

1.8.3.1 Clase *Deuteromicetos*.

En este grupo presentan hifas tabicadas y producen conidias a partir de conidióforos y células conidiógenas, la reproducción de las levaduras es por gemación, mientras que las formas miceliales forman conidias por un proceso de gemación, en el cual algunos segmentos de las hifas se dividen en células individuales o arthroconidias (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2006).

1.8.3.2 Clase *Basidiomicetos*.

Los basidiomicetos poseen un micelio bien desarrollado constituido por hifas septadas, cuyas células tienen uno o dos núcleos según la fase de desarrollo en que se encuentre el hongo (Roaro, 1975). Las hifas de diferentes tipos de cepa forman filamentos en los que cada célula contiene dos núcleos uno de cada progenitor, los cuales no se fusionan hasta que se han formado células diploides especializadas llamadas basidios (Audesirk, Audesirk, & Byers, 2003).

1.8.3.3 Clase *Zigomicetos*.

Hongos sin zooides (esporas siempre inertes tunicadas), con talo frecuentemente sifonado con esporas formadas en esporocistos, y en las cuales el acto sexual es una cistogamia, es decir la unión de los dos gametocistos (Des Abbayes et al., 1989). Sus hifas carecen de tabiques cruzados, se reproducen de forma asexual por esporangiosporas formadas en el esporangio, o de forma sexual por medio de zigosporas (Vázquez et al., 2000).

1.8.3.4 Clase *Ascomycetos*.

Forman el grupo más grande de los hongos de los cuales pueden ser saprófitos o parasíticos. De los últimos, muchos causan enfermedades en las plantas cultivadas (Lasser, 1959). Las hifas se encuentran separadas por septos, además, el ciclo de vida comprende tanto la reproducción asexual como la sexual. Las esporas asexuales se caracterizan por ser muy pequeñas y numerosas y se denominan conidios (del griego *konis*, polvo). La reproducción sexual implica la formación de un asco (“pequeño saco o bolsa”), estructura que caracteriza a este grupo (Curtis & Schnek, 2008).

1.8.4 Caracterización morfo-molecular de aislados fúngicos

Las cepas fúngicas que se utilizaron en este estudio se hicieron en base a un análisis macroscópico, considerando ciertas características como el color y forma del crecimiento miceliar sobre medio de cultivo sólido Sabouraud, PDA y agar extracto de Malta con incubado a 26°C. En cuanto a las características microscópicas, se buscó diferentes estructuras de desarrollo como por ejemplo la forma y tamaño de conidios, fiálides y tipo de conidiogénesis, adicionalmente la forma y el diámetro de las hifas. La identificación de las diferentes morfo-especies se efectuaron acorde a las claves provistas por (Seifert et al. 2011).

1.8.5 Géneros de hongos con capacidad biodegradadora de polietileno

1.8.5.1 *Aspergillus sp.*

Hongos filamentosos que se reproducen mediante esporas asexuales llamadas conidios, en los inicios del crecimiento fúngico, ciertas células del micelio vegetativo se agrandan y forman una pared gruesa (M.K. Rai, 2017). El lugar donde las esporas o conidios se producen, denominado esporangio o conidióforo, tiene una morfología similar al abanico que forman los dispositivos de riego por aspersión (Carrascosa, 2011).

Clasificación y morfología.

La clasificación de las especies del género *Aspergillus* ha sido dividido en 18 grupos, con 132 especies. (Moreno Martínez & Benavides Ocampo, 1988). División: *Ascomycota*, subdivisión: *Deuteromycota*, clase: *Eurotiomycetes*, orden: *Eurotiales*, familia: *Trichocomaceae*, género: *Aspergillus* (Forbes, 2009).

Características macroscópicas de los aislados fúngicos:

Las colonias se desarrollan de forma rápida entre 3-5 días con un margen exterior distintivo, con una zona blanca de crecimiento nuevo y presentan diversas tonalidades: blanquecinas, amarillentas, marrón-amarillentas, negruzcas, marrón-negruzcas o verdosas. A medida que se producen los conidios durante la maduración, la superficie de las colonias adquieren una consistencia azucarada o granular (Soriano del Castillo, 2007; Winn & Koneman, 2008).

Características microscópicas

Presentan hifas septadas de las cuales surgen conidióforos que terminan en vesículas de forma tubular o globular. De la vesícula, brotan proyecciones en forma de dedos de las células productoras de conidios llamadas fiálides o esterigmas (Sankar Sastry & Sandhya K, 2017).

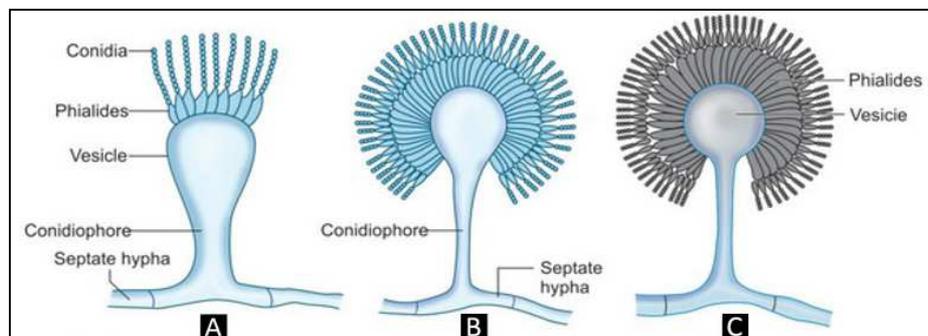


Figura 4: Estructura reproductiva y sus partes
Fuente: (Sankar Sastry & Sandhya K, 2017).

1.8.5.2 *Trichoderma sp.*

Género *Deuteromicetos* que viven en asociación con numerosas plantas, entran en contacto con las raíces y las cubren con su micelio formando una barrera que las protege de la actividad de algunos hongos patógenos (Liñán Carral, 2015).

Es cosmopolita en suelos, madera en descomposición y materia vegetal, las especies de *Trichoderma* son frecuentemente componentes dominantes de la microflora del suelo, capacidad atribuida a su diversa actividad metabólica y a su naturaleza agresivamente competitiva (Harman & Kubicek, 1998).

Clasificación y morfología

Comprende un conjunto de especies sin fase sexual evidente ubicados en la Sub-división: *Deuteromycota*, Clase: *Hypomycetes*, Orden: *Hifales* (Moniliales) y Género: *Trichoderma* (Chavez, 2006; Martínez et al, 2015).

Características macroscópicas

Este género crece formando colonias blancas que simulan una película sobre el medio según lo indicado por (Arias & Piñeros, 2008). En cepas diferentes se observa en el medio una pigmentación de colonias verdes después de la incubación durante 5 días (Afiya & 1., 2019). Las colonias presentan un crecimiento de 5 a 8 cm en el medio de cultivo Agar papa-dextrosa en 5 días de crecimiento a 26°C, se puede observar la formación de pústulas algodonosas de un color blanco, algunas cepas no presentan el olor característico a coco (Acurio Ramiro et al., 2017).

Características microscópicas

Las hifas que llevan las esporas o conidióforos son ramificadas (González, 2019). Los conidióforos muestran ramas laterales pareadas las mismas que forman un ángulo de casi 90° con respecto al eje de donde surgen, las fiálides presentan una forma alargada, algo anchas en el centro y con un cuello alargado de color hialino en forma de botella, en algunas observaciones las conidias se presentan incrustadas en las fiálides a manera de un racimo globoso bien definido, algo que se puede comparar con mayor exactitud son las ramas o brazos, las ramas o brazos que se encuentran más cercanas al eje principal son más largas que las

ramificaciones secundarias (Acurio Ramiro et al., 2017; Chavez, 2006). En otros análisis las conidias se muestran muy derramadas al observarlas al microscopio (Afiya & 1., 2019).

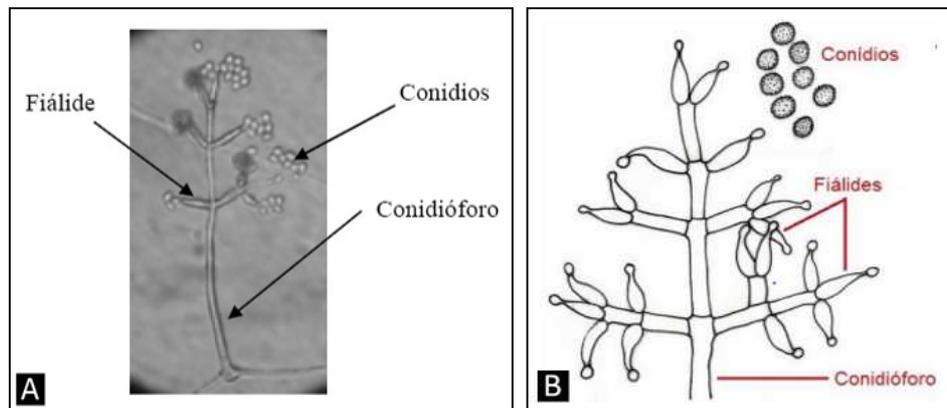


Figura 5: Estructuras características de *Trichoderma harzianum* (A) y *Trichoderma sp.* (B).

Fuente: (Barros, 2016; Infante, Martínez, González, & Reyes, 2009).

1.8.5.3 *Fusarium sp.*

Es un género fúngico incluido dentro de la Clase: *Hyphomycetes* (subdivisión: *Deuteromycota*) que produce macroconidios, microconidios y clamidosporas, considerándose estas últimas como las esporas más resistentes. Las especies de *Fusarium sp* comprenden especies patógenas, parásitas y saprófitas y pueden estar presentes en todas las partes vegetativas y reproductivas de las plantas (Suárez Estrella, 2002).

Clasificación y morfología

El género pertenece al filo: *Ascomycota*, clase: *Ascomycetes*, orden: *Hypocreales*, mientras que los teleomorfos de las especies *Fusarium sp*, se clasifican principalmente en el género *Gibberella*, y para un número menor de especies, los géneros *Hemanectria* y *Albonectria* (Moretti, 2009).

Características macroscópicas

Las colonias se muestran con una variedad de colores basados en la pigmentación de conidios, siendo los tonos de rojo los más frecuentemente observados en el cultivo para identificar *F. solani* (Powers-fletcher et al., 2015). El crecimiento de colonias es de apariencia algodonosa y de color blanquecino-rosado en los primeros estados de desarrollo para *F.*

oxysporum, en forma que avanza el crecimiento el micelio desarrolla un color púrpura en el centro de la caja Petri y por el reverso de la caja se observa un color morado oscuro y menos claro a los costados (Kenneth et al., 2018). El crecimiento algodonoso y el tamaño de la colonia está dentro de los 3 a 5 cm de diámetro (Paucay Ortiz, 2016).

Características microscópicas

En este género presentan la forma típica de los macroconidios, aunque con algunas diferencias entre ellos, puesto que unos son un poco más cortos y otros menos curvos (Kenneth et al., 2018). El rasgo principal es la aparición de esporas asexuales, los distintivos macroconidios en forma de plátano, las especies de *Fusarium sp* producen tres tipos de esporas: macroconidios, microconidios y clamidosporas (Moretti, 2009).

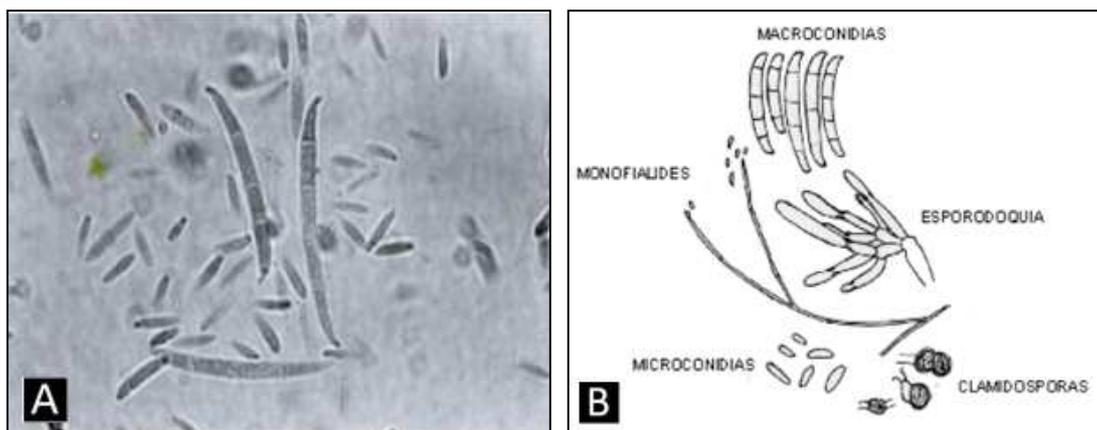


Figura 6: Macroconidias y microconidias de *Fusarium oxysporum* (A) y estructuras características de *Fusarium sp* (B).

Fuente: (FEITOSA, 2000; Icochea, 1997).

1.8.5.4 *Penicillium sp.*

Son considerados como contaminantes habituales de diferentes sustratos y pueden presentar la capacidad de producir diversas micotoxinas. La mayoría de las especies se las considera saprofitas, existiendo pocas que se aíslan rutinariamente como patógenas oportunistas (Soriano del Castillo, 2007).

Clasificación y morfología.

División: *Eumycota*, Subdivisión: *Ascomycota*, Clase: *Plectomicetos*, Orden: *Eurotiales*, Familia: *Aspergillaceae*, Género: *Penicillium* (Margaret & Angela, 2008).

Características macroscópicas

Las colonias se desarrollan rápidamente y en su mayoría son de color verde, azul verdoso, gris verde, blanco, amarillo o rosa. El reverso es amarillo, marrón claro o rojo y la superficie es pulverulenta (Sciortino Jr., 2017).

Características microscópicas

El tipo de micelio es macrosifonado, es decir el micelio presenta un diámetro mayor a $1\ \mu\text{m}$ y varía entre los $2\text{-}4\ \mu\text{m}$, además, es septado y hialino. La mayoría de las especies son mitospóricas; sin embargo, hay reportes de algunas formas ascosporadas (Bonifaz, 2012).

Las colonias revelan hifas septadas delgadas hialinas, las vesículas están ausentes y el conidióforo se divide directamente en métulas alargadas, de las cuales se originan los fiálides que llevan una cadena de conidios (Sankar Sastry & Sandhya K, 2017).

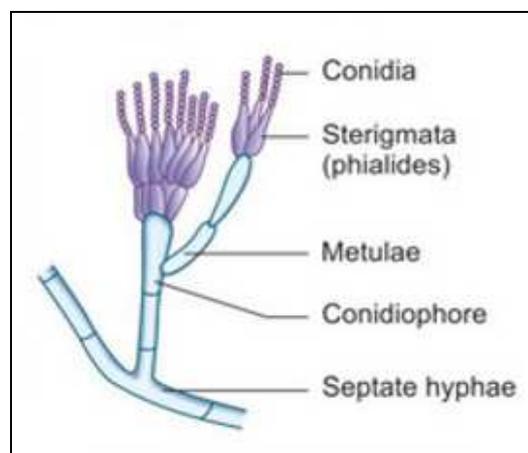


Figura 7: Estructura esquemática de *Penicillium sp.*

Fuente: (Sankar Sastry & Sandhya K, 2017)

1.8.5.5 *Mucor sp.*

Características macroscópicas

Posee un tamaño ilimitado que tiende a llenar las cajas Petri; el color en un inicio presenta una tonalidad blanca para posteriormente tomar una tonalidad blanco-grisácea; la forma y el

aspecto varía entre una textura vellosa, algodonosa, y seca; y así mismo no presenta pigmentos (Bonifaz, 2012).

Clasificación y morfología.

División: *Eumycota*, Subdivisión: *Zygomycotina*, Clase: *Zygomycetes*, Orden: *Mucorales*, Familia: *Mucoraceae*, Género: *Mucor* (Margaret & Angela, 2008)

Características microscópicas

Las diferentes especies de hongos en este grupo se distinguen entre sí por los esporangióforos, esporangios y esporangiosporas, así como por la presencia o ausencia de rizoides que anclan los esporangióforos al sustrato (figura 8). Además, estos organismos tienen hifas grandes, aseptadas o casi septadas (Warnock, Campbell, & Johnson, 2013).

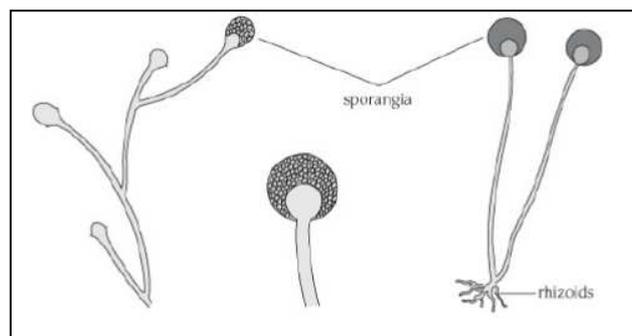


Figura 8: Estructuras representativas de *Mucor sp.*
Fuente: (Warnock et al., 2013).

1.9 Degradación de polímeros.

Se reporta en la literatura varios ejemplos cotidianos a cerca de la degradación de polímeros como es la degradación de la celulosa en la madera, el caucho en los neumáticos de los automóviles y el agrietamiento de las películas de pintura (Allen & Edge, 1992). Sin excepción, todos los polímeros se degradan eventualmente dentro del ambiente al que están expuestos durante su ciclo de vida (Hawkins, 2012).

En general, los polímeros especialmente los poliésteres, las poliamidas y los poliuretanos, son más susceptibles a la biodegradación y a la degradación hidrolítica que los polímeros cuya cadena principal está compuesta de carbono-carbono, lo cual presenta en estos últimos un

problema en su uso a corto plazo (Grassie & Scott, 1988). A medida que aumentan las preocupaciones medioambientales, se plantean nuevas demandas en la predicción de las propiedades a largo plazo de los polímeros sintéticos y naturales (Scott, 2002).

En este contexto, existen varios métodos ya sean térmicos, químicos, mecánicos, degradación enzimática o mediante radiación que contribuyen a la degradación de los polímeros (Kulicke & Clasen, 2004), algunos de los cuales se describen a continuación:

1.9.1 Degradación térmica.

La rotura de enlaces en las cadenas moleculares (escisión), produce una disminución del peso molecular del polímero, que disminuye perceptiblemente sus cualidades físicas y químicas (Hijes & Lorente, 2004). Durante la degradación térmica ocurren 3 procesos simultáneos: se producen roturas en cualquier punto de la cadena polimérica, que generan cadenas más cortas, rotura de los bordes de la cadena obteniéndose el monómero de partida, y la abstracción de grupos funcionales (Miranda et al., 2008). En consecuencia, algunos polímeros experimentan reacciones químicas que producen especies gaseosas, que se evidencian por la pérdida de peso del material (William & Callister, 1995).

1.9.2 Degradación por radiaciones.

La radiación de alta energía interactúa con los polímeros, produciendo procesos físicos y químicos rápidos, que conducen a la generación de radicales libres y otros productos (Hamid, 2000). La susceptibilidad a un proceso de degradación u otro se establece por la química intrínseca del esqueleto del polímero. Muchos polímeros sufren escisión y reticulación, pero a menudo prevalece un mecanismo (Kausch & Anjum, 2003).

1.9.3 Fotodegradación.

Decimos que un plástico es fotodegradable cuando la degradación se produce como resultado de la acción de la luz natural (Pancorbo, 2011). La fotooxidación resulta en cambios químicos y, la mayoría de las veces, una reducción en el peso molecular (Oosten, Béringuer,

& Lorne, 2011) debido a una transformación fotoquímica de una molécula en fragmentos de masa molecular más baja, habitualmente por un proceso de oxidación (Costa, 2005). Las consecuencias de la fotodegradación envuelven: la fragmentación, la decoloración, la pérdida de brillo o transparencia y la acumulación de productos de reacción de oxidación (Wright & Limited, 2006).

1.9.4 Degradación mecánica.

La degradación del polímero se manifiesta por una disminución en el peso molecular. En los polímeros a granel puede ocurrir durante el procesamiento, la molienda, el fresado o el aserrado, o cuando se somete a tensión o cizallamiento (Grassie & Scott, 1988). De igual manera, provoca la degradación oxidativa de los polímeros, y también afecta la resistencia mecánica y el rendimiento de los materiales de construcción poliméricos y los artículos hechos de ellos (Emanuel, 1987).

1.9.5 Degradación química.

La degradación química incluye la erosión por el viento y la lluvia, la oxidación, la fotodegradación, la degradación con ácidos, bases o agua, y la degradación térmica (Seymour & Carraher, 1995).

La degradación química en polímeros es de doble importancia. Por un lado, los polímeros pueden sufrir cambios al contacto con medios agresivos que los artículos de polímero no sean aptos para el servicio y por otro lado, se usan ventajosamente para mejorar las propiedades particulares de servicio de los artículos poliméricos (Moiseev & Zaikov, 1987).

1.9.6 Biodegradación.

Los microorganismos son fundamentales en la descomposición de material orgánico, las bacterias, hongos y actinomicetos, están distribuidos en la tierra y en entornos especiales pueden atacar los poliésteres alifáticos, los poliuretanos y las poliamidas (Posada Bustamante, 2012). En consecuencia, estos microorganismos son capaces de degradar una porción o incluso

la totalidad del material polimérico bajo las condiciones ambientales adecuadas, con subproductos finales de la porción biodegradable del material, el C_2O y H_2O (Kalpakjian & Schmid, 2002b). Tal es el caso de los hongos, que se utilizan más a menudo que las bacterias en ensayos de degradación, donde generalmente se observa el crecimiento de las colonias de microorganismos, el consumo de oxígeno, el aumento en el recuento de células o la producción de CO_2 (Seymour & Carraher, 1995).

1.10 Degradación de polímeros mediante hongos filamentosos.

Existe un creciente interés en la biodegradación de polímeros sintéticos utilizando microorganismos efectivos; los desarrollos de comunidades microbianas unidas a los desechos sintéticos son poderosos agentes degradantes en la naturaleza (Sangeetha Devi et al., 2015). Tal es el caso de la incuestionable información que existe al respecto (tabla 1), que evidencia la actividad efectiva de los hongos para degradar polímeros.

Para el caso del LDPE, los microbios que crecen utilizando el polímero, llevan a cabo un aumento de peso debido a la adherencia de sus hifas a la superficie del mismo, mientras que una pérdida de integridad del polímero conduce a la pérdida de peso (Gajendiran, Krishnamoorthy, & Abraham, 2016). En consecuencia, el aumento de peso se relaciona a que los hongos utilizan el LDPE como fuente de carbono durante su período de crecimiento (R. Pramila, 2012).

Los hongos son capaces de adherirse a la superficie del polímero para posteriormente llevar a cabo la biodegradación y a diferencia de las bacterias, presentan mayores tasas de biodegradación (Muhonja, Makonde, Magoma, & Imbuga, 2018). Estos análisis son corroborados por la observación microscópica que revelan penetraciones y degradaciones de las hifas de los hongos en la superficie del polietileno, lo que provocaba un aumento de la rugosidad y una atribución a su alta hidrofobicidad de la superficie celular (Awasthi, Srivastava, Singh, Tiwary, & Mishra, 2017; Mathur, Mathur, & Prasad, 2011). Así mismo,

mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) se revela que la adherencia de los hongos a la superficie del polímero y su abundante acumulación de biomasa contribuye a la producción de más enzimas ligninolíticas capaces de descomponer y consumir el LDPE (Ameen et al., 2015); resultados que proporciona una solución viable a la amenaza ambiental que plantean los polímeros para el medio ambiente (Sangeetha Devi et al., 2015).

Tabla 1: Cepas fúngicas asociadas con la biodegradación del polietileno y otros polímeros.

Género	Especie	% Degradado	Polímero	Referencia
Penicillium.	<i>roqueforti</i> ,	4.004	LDPE	(Tsegaye, 2016).
	<i>simplicissimum</i>	7.7	LDPE	(Sowmya, Ramalingappa, Nayanashree, Thippeswamy, & Krishnappa, 2015).
Aspergillus	<i>carneus</i>	0.629	LDPE	(Tsegaye, 2016).
	<i>ochraceus</i>	0.1124	LDPE	(Tsegaye, 2016).
	<i>niger</i>	5.8	LDPE	(Raaman, Rajitha, Jayshree, & Jegadeesh, 2012).
	<i>japonicus</i>	11.11	LDPE	(Raaman et al., 2012).
	<i>nomius</i>	6.63	LDPE	(Munir et al., 2018).
	<i>terreus</i>	58	Poliéster-poliuretano.	(Ibrahim, Maraqa, Hameed, Saadoun, & Maswadeh, 2011).
	<i>flavus</i>	60.6	Poliéster-poliuretano.	(Mathur & Prasad, 2012).
	<i>fumigatus</i>	39.5	Poliéster-poliuretano.	(Ibrahim et al., 2011).
	<i>foetidus</i>	26.1	LDPE	(S.K. Mohan, 2015).
Trichoderma	<i>viride</i>	5.13	LDPE	(Munir et al., 2018).
Fusarium	<i>solani</i>	72.5	Poliéster-poliuretano.	(Ibrahim et al., 2011).
	<i>sp</i>	0.7	LDPE	(Sowmya et al., 2015).
Mucor sp	<i>sp</i>	20	LDPE	(Iparraguirre Quispe & Vivanco López, 2015)

Géneros y especies de hongos asociados a la degradación de polímeros. Los consorcios asociados a LDPE presentan menores porcentajes de degradación respecto a los polímeros (poliéster-poliuretano), debido a la diferencia de estructuras entre los dos polímeros que evidencian la capacidad de los hongos para efectuar la degradación en diferentes medios.

Elaborado por: Los autores.

1.11 Efecto de la actividad fúngica en LDPE.

Los sistemas enzimáticos que los microorganismos poseen les confieren la capacidad de hidrolizar macromoléculas y polímeros carbonados mediante la producción de enzimas extracelulares, durante la hidrólisis se originan compuestos más sencillos que pueden ser transportados a través de sus membranas celulares, estableciendo así su principal fuente de carbono (Moreno et al., 2015). Durante la degradación, el polímero se convierte primero en sus

monómeros, luego estos monómeros se mineralizan (Shah, Hasan, Hameed, & Ahmed, 2008). Este proceso se lleva a cabo por una variedad de enzimas extracelulares que degradan los polímeros insolubles hasta unidades monoméricas solubles (Cepero, Restrepo, & Franco, 2012). La degradación se debe a la enzima extracelular secretada por el organismo (tabla 2). Algunos estudios han investigado el proceso de biodegradación de polietileno utilizando aislamientos fúngicos, como *Penicillium simplicissimum* (Sowmya et al., 2015), *Penicillium roqueforti*, (Tsegaye, 2016), *Trichoderma viride* (Munir et al., 2018), *Aspergillus flavus* (Ibrahim et al., 2011), (Mathur & Prasad, 2012), (Sangeetha Devi et al., 2015), *Aspergillus niger* (Mathur et al., 2011; Raaman et al., 2012) y otras especies del género *Aspergillus* incluidas *Aspergillus oryzae* (Muhonja et al., 2018).

Para establecer el grado de biodegradación del polímero se consideran: grupos funcionales en la superficie, hidrofobicidad/hidrofilia, cristalinidad, topografía de la superficie, propiedades mecánicas, pesos moleculares, distribución y consumo del polímero (Shah et al., 2008).

Tabla 2: Enzimas fúngicas y bacterianas útiles para la biodegradación de plásticos.

Fuente	Enzima	Microorganismo	Plástico	Referencia
Hongos	lacasa, manganeso peroxidasa y lignina peroxidasa.	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Polietileno oxodegradable de baja densidad (LDPEoxo)	(Gómez-Méndez et al., 2018)
	lacasa y peroxidasa de manganeso.	<i>Penicillium simplicissimum</i>	LDPE	(Sowmya, Ramalingappa, Krishnappa, & Thippeswamy, 2014)
	lacasa y peroxidasa de manganeso.	<i>Curvularia lunata</i> , <i>Alternaria alternata</i> , <i>Penicillium</i>	LDPE	(Sowmya et al., 2015)

	<i>simplicissimum</i> y <i>Fusarium sp.</i>		
lacasa y peroxidasa de manganeso.	<i>Trichoderma harzianum</i>	LDPE	(Sowmya et al., 2014)
peroxidasa de lignina, peroxidasa de manganeso.	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	LDPE	(Mukherjee & Kundu, 2014)
Lacasa.	<i>Pleurotus ostreatus</i>	LDPE	(Rodrigues da Luz, Paes, Nunes, da Silva, & Kasuya, 2013)
lignina peroxidasa y Mn (II) peroxidasa.	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	polietileno y el polipropileno	(Mikulášová, Košíková, Alexy, Kačík, & Urgelová, 2001)
Bacterias	lacasa y peroxidasa de manganeso.	<i>Bacillus subtilis</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	LDPE (Prabhawathi, Thirunavukarasu, & Doble, 2014)

Nota: Se resumen las diferentes enzimas implicadas en la degradación de polietileno, de acuerdo a análisis realizados a las muestras de polietileno después de evidenciar degradación por los diferentes consorcios microbianos.

Elaborado por: Los autores.

1.12 Espectroscopia infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR) como método para valorar la biodegradación de polietileno de baja densidad LDPE.

La espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) es una técnica analítica disponible para sondear materiales poliméricos, con la unión de un interferómetro infrarrojo a un microscopio equipado con detectores especializados, la espectroscopía FTIR se ha empleado ampliamente para examinar áreas microscópicas en polímeros durante los últimos veinte años (Bhargava, Wang, & Koenig, 2003). En los últimos 20 años, los avances en el campo de la espectrometría infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR) han sido notorios, de manera que en la actualidad los FTIR se instalan en casi todos los laboratorios de química analítica del mundo desarrollado (“FTIR,” 2011). El desarrollo de la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) ha introducido un método popular para el análisis

cuantitativo de mezclas complejas, así como para la investigación de fenómenos superficiales e interfaciales (Dutta, 2017).

Al exponer muestras de moléculas a la radiación infrarroja estas absorben selectivamente la radiación de longitudes de onda específicas, provocando el cambio del momento dipolar de las moléculas de las muestras. Como resultado, los niveles de energía vibracional de las moléculas de muestra se transfieren del estado fundamental al estado excitado (Birkner & Wang, 2014). El espectro de la muestra se calcula a partir del interferograma que es el resultado de la detección de la señal y contiene toda la información de la muestra en todas las longitudes de onda a partir de técnicas rápidas de transformación de Fourier con algoritmos matemáticos elaborados (Schmitt & Flemming, 1998).

1.12.1 El espectro de absorción como método para identificar los cambios en la estructura del polietileno sometido a biodegradación.

Es una representación de alguna función de la atenuación del haz de radiación al que una muestra ha sido expuesta, frente a la longitud de onda, la frecuencia o el número de onda. La ordenada puede ser el porcentaje de absorción (la transmitancia T, la absorbancia A o el logaritmo de la absorbancia) (Buceta Fernández & Koroutcheva, 2000).

El análisis espectral se fundamenta en el estudio de los espectros para identificar los elementos que componen una determinada sustancia. El espectro es característico del átomo o molécula que lo ha producido (Fernández Ferrer & Pujol Cerrera, 1992). Los resultados analíticos se asocian a una base de datos de longitudes de onda de absorción, de modo que el espectro resultante se puede analizar con la ayuda de tablas (tabla 3) que correlacionan las frecuencias de las bandas de vibración con grupos funcionales (Moore, 2016).

Tabla 3: Señales de absorbancia en espectros FTIR.

Frecuencia (cm^{-1})	Descripción
3300-3400	Grupos OH unidos a H de alcoholes, fenoles y ácidos orgánicos, como, así como grupos N-H unidos por H

2920-2930	C-H estiramiento de estructuras de alquilo
1660-1600	Aromático y olefínico C-C, C-O en carboxilo; amida (I), cetona y grupos de quinonas
1550	Amidas II, aromáticas C-C
1450 y 1380	OH de fenoles, COO-, -CH ₃ , amida II
1260-1200	Amida III o éteres aromáticos C-O-C
1070-1030	-C-O-C de carbohidratos, éteres aromáticos, agrupaciones Si-O-C

Nota: Principales absorciones de polietileno en la región IR y sus asignaciones a grupos funcionales de interés.

Fuente: (Amir et al., 2010).

Capítulo 2

Metodología

El presente estudio se desarrolló en dos partes, un trabajo en campo para la toma de muestras en el Relleno Sanitario de Pichacay, ubicado en la parroquia Santa Ana, a 21 Km de la ciudad de Cuenca. Geográficamente se encuentra en las coordenadas: ESTE 730030 y NORTE 9672002 (Pintado, 2011). El trabajo *in vitro* se desarrolló en los laboratorios ciencias de la vida-Universidad Politécnica Salesiana.

2.1 Muestreo

2.1.1 Muestreo estratificado aleatorio.

Método que busca reducir errores muestréales en la población y semejanza en los componentes (Abascal & Grande Esteban, 2005) (Namakforoosh, 2000).

2.1.2 Tamaño de la muestra.

2.1.2.1 Muestreo sistemático (en rejilla).

Este método nos permitió establecer distancias uniformes a partir de un punto determinado, mediante rejilla rectangular (figura 9), se reduce la variabilidad de las muestras (Mason, 1992).

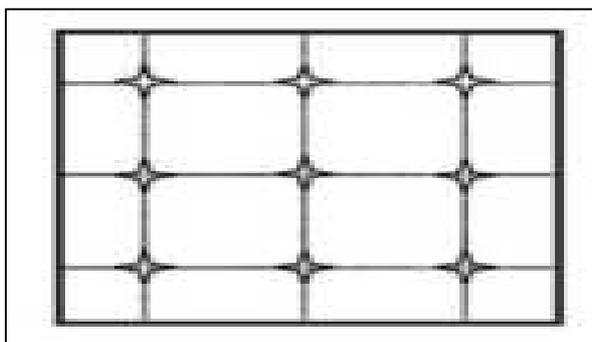


Figura 9: Ilustración muestreo sistemático mediante rejilla rectangular.

Fuente: (Mason, 1992).

A partir del área de muestreo, del nivel de representatividad y precisión que se pretendió conseguir; se estableció el tamaño de la malla (Acosta Avilés & Jiménez Ballesta, 2017). Trazando líneas paralelas y perpendiculares sobre el terreno se forman intersecciones donde se toman las muestras (Bautista Zúñiga, 2004).

En la toma de muestras, se utilizó un barreno (fotografía 1), desinfectado con solución de NaClO al 2% durante 20 minutos, antes de ser transportado al área de estudio (García, Araluce, Rubio, & Milanes, 2004).



Fotografía 1: Barreno para extracción de muestras del relleno sanitario.

Fuente: Los autores.

2.1.3 Procesamiento de las muestras.

El suelo húmedo sin tratar se mezcló y mantuvo frío; evitando la compactación del suelo durante el transporte al laboratorio, posteriormente se tamizó hasta obtener una muestra homogénea de suelo, para ello, la muestra atravesó una serie de tamices; cada muestra pesó 500 g de suelo húmedo (Sagardoy & Mandolesi, 2004).

2.2 Aislamiento y formación de colonias

Se utilizaron los siguientes medios de cultivos: agar Sabouraud que contiene glucosa y peptona modificada, pH ácido, que permite el crecimiento de la totalidad de los hongos filamentosos (Montoya Villafane, 2008; Rijal, 2015), agar de papa dextrosa cuya base rica en nutrientes estimulan el crecimiento exuberante de los hongos (Aryal, 2018) y agar de malta que se usa para el aislamiento de levaduras y mohos (Condalab, 2019).

2.2.1 Aislamiento mediante la técnica de dilución de suelo en placa.

Una pequeña cantidad de muestra de suelo tamizado (0.5-1gr), se diluyó en 10 ml de agua estéril, una vez agitado y disuelto se procedió a tomar con una pipeta 1 ml de del primer tubo

de ensayo y agregarlo en el segundo tubo hasta obtener diluciones seriadas de 10^{-1} hasta 10^{-5} (fotografía 2). Después se vertieron las muestras de los tubos de ensayo en las cajas de Petri con medio PDA, luego se procedió a incubar de 3 a 5 días a 26°C , para posteriormente verificar las colonias desarrolladas que se desarrollaron (Dhingra & Sinclair, 1985).



Fotografía 2: Diluciones seriadas de las muestras de suelo-Relleno sanitario-Pichacay.

Fuente: Los autores.

2.2.2 Aislamiento de hongos mediante placas Warcup.

En cajas Petri estériles se vertió 20 ml de medio PDA, antes de que enfríe y solidifique se agregó con un asa de platino 0.005-0.015 g de muestra de suelo, agitando levemente para dispersar las partículas (fotografía 3); posteriormente se incubó entre 3-5 días a 28°C (Mier, Toriello, & Ulloa, 2002). Este procedimiento se hizo por triplicado (Quéro et al., 2020).



Fotografía 3: Cultivo con muestra de suelo en caja Petri.

Fuente: Los autores.

2.3 Identificación taxonómica

En el análisis microscópico, se identificaron el tipo de estructuras y se descartaron los posibles elementos que den lugar a confusiones como fibras de hisopo, calcificaciones, gotas de grasa etc. En el análisis macroscópico, se analizó la textura de la superficie de la colonia, la forma y el grosor, la pigmentación, los bordes, el tamaño y la tasa de crecimiento (Porres Osante & Ruiz Ruiz, 2018).

2.4 Cepas de hongos filamentosos con potencial biodegradador de LDPE

En base a la revisión del estado del arte, varios autores reportan que estos hongos pueden degradar LDPE, entre ellos *Penicillium roqueforti*, (Tsegaye, 2016), *Trichoderma viride* (Munir et al., 2018), *Aspergillus flavus* (Ibrahim et al., 2011) y *Mucor sp.* (Iparraguirre Quispe & Vivanco López, 2015). Los mismos se aislaron en muestras de suelo obtenidas del relleno sanitario de Pichacay; mientras que el polímero sintético elegido para la realización del experimento fue el polietileno de baja densidad (LDPE) en forma de perlas (Bardají, Furlan, & Stehling, 2019).

Para los ensayos de biodegradación de polietileno de baja densidad, se eligió 2 especies de hongos dada su disponibilidad y corresponden a los códigos Y1 y J1. Se trabajó igualmente con 13 especies de aislados fúngicos.

2.4.1 Réplica y aislamiento de hongos filamentosos.

Se replicaron las cepas de *Aspergillus sp*, *Fusarium sp*, *Penicillium sp*, *Trichoderma sp* mediante el método de crecimientos sucesivos para la obtención de cepas puras (Domínguez Romero et al., 2013). Este proceso se realizó hasta obtener muestras puras de cada microorganismo, libres de contaminación de otros hongos o bacterias.

2.5 Desinfección de polietileno de baja densidad previo al tratamiento

2.5.1 Presentación y forma del polímero para la experimentación.

El polímero sintético elegido fue el polietileno de baja densidad (LDPE) TX7003 BRASKEM, en forma de perlas (BRASKEM, 2015), obtenido de la empresa OVIPLAX S.A Cuenca-Ecuador (fotografía 4).



Fotografía 4: Polietileno de baja densidad de la empresa OVIPLAX S.A.(A), y perlas de polietileno puro (B).

Fuente: Los autores.

2.5.2 Tratamiento de desinfección de las perlas de LDPE, previo a la inoculación de hongos filamentosos en cajas Petri.

Con el fin de eliminar rastros de contaminación que puedan afectar a los cultivos puros, se realizó un tratamiento previo, que consistió en sumergir las perlas de LDPE en una solución que contenía 70 ml de Tween 80, 10 ml de NaOH puro y 983 ml de agua destilada agitando durante 30 min (fotografía 5). Posteriormente, se lavaron con agua destilada durante 1 hora y se las trasladó una solución de etanol al 70% durante 30 minutos (fotografía 6); finalmente se las incubó a 50°C durante la noche (Bardají et al., 2019).



Fotografía 5: Desinfección de polietileno.

Fuente: Los autores.



Fotografía 6: Lavado final de polietileno.

Fuente: Los autores.

2.6 Métodos de análisis de las muestras resultantes del experimento

2.6.1 Determinación del peso seco de polietileno residual (polietileno biodegradado).

Para facilitar la medición del peso del polietileno residual, la biopelícula formada se lavó de la superficie de polietileno con dodecilsulfato sódico (SDS) al 2% durante 4 h, seguido de lavado con agua destilada (Orr, Hadar, & Sivan, 2004).

Para obtener la diferencia de peso se procedió a retirar las perlas cuidadosamente con una pinza de disección sin dientes (fotografía 7) y se pesó en una balanza analítica Mettler Toledo, modelo ML204 serie 8u, con 4 cifras de precisión (fotografía 8).



Fotografía 7: Extracción de muestras de polietileno.

Fuente: Los autores.



Fotografía 8: Pesado de muestras de polietileno.

Fuente: Los autores.

Las perlas, se secaron durante la noche a 60°C antes de pesar. El porcentaje de pérdida de peso se determinó utilizando la fórmula de (Kyaw et al., 2012; Montazer, Habibi Najafi, & Levin, 2018): Pérdida de peso (%)=(peso inicial-peso final)/peso inicial x 100.

2.6.2 Análisis por FTIR de las muestras de polietileno degradadas.

Los cambios en la estructura del polietileno, y la formación o desaparición de grupos funcionales durante el proceso de degradación, se comprobaron mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier, basada en la absorción molecular de energía en la región infrarroja del espectro electromagnético (Valcárcel Cases & Gómez Hens, 1988).

Los análisis se realizaron en un equipo marca THERMO SCIENTIFIC, modelo NICOLET i510 serie 912A0607, en el rango de números de onda $500\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$, con una resolución de 2 cm^{-1} , en el laboratorio de cromatografía de la UPS.

El espectro infra-rojo (IR) se analizó separando la región de los grupos funcionales que va de $1200\text{ a }3600\text{ cm}^{-1}$ y la región de huella digital desplegada de $600\text{ a }1200\text{ cm}^{-1}$ donde los picos no varían para un polímero, a menos que este haya sufrido el efecto de algún agente químico, físico o biológico (Gulmine, Janissek, Heise, & Akcelrud, 2002; Uribe et al., 2010).

2.6.3 Planteamiento estadístico para el procesamiento de datos finales.

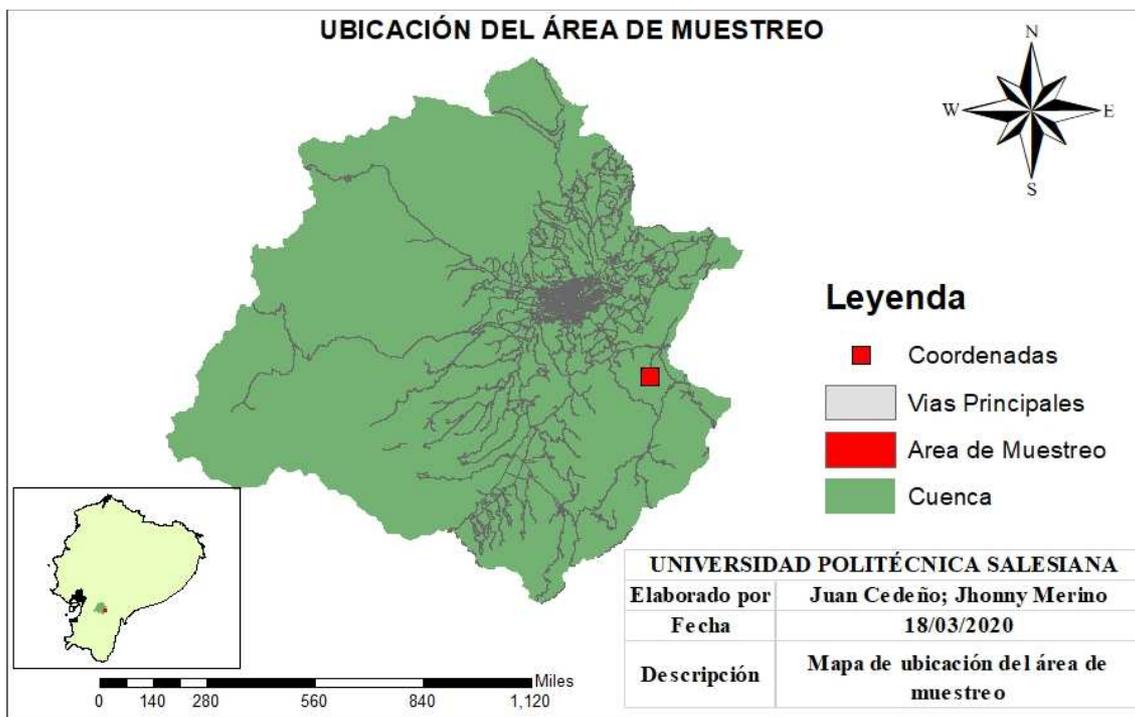
En la determinación de la degradación de las muestras, se empleó la prueba de t de Student, para comparar diferencias entre los promedios de las 2 observaciones realizadas a la misma muestra (Moncada Jiménez, 2005). En este estudio, se cotejaron los pesos iniciales sin biodegradación y los pesos posteriores a la degradación y se calculó la diferencia entre tales mediciones para verificar si entre ambos hay diferencia estadística significativa o no, considerando un intervalo de confianza (IC) del 95% y un nivel de significación $\alpha=0,05$. De manera, los valor p-valor $<0,05$ permitieron rechazar la hipótesis (H_0) (López Fernández & Expósito Gázquez, 2016). Para el procesamiento de los resultados se utilizó el paquete estadístico *Minitab* Statistical Software no. 19.

Capítulo 3

Resultados.

3.1 Área de estudio. - muestreo de suelo relleno sanitario

Los puntos del área de muestreo se pueden identificar en la tabla 4 y en el mapa 1.



Mapa 1: Ubicación de los puntos de muestreo.

Nota: En el mapa del cantón Cuenca, el color rojo muestra las coordenadas y el área establecida para el muestreo.

Fuente: Los autores.

Tabla 4: Puntos determinados para el área de muestreo.

Punto	Coordenada X	Coordenada Y	Altura m.s.n.m.
1	0730153	9672149	2664
2	0730139	9672146	2664
3	0730142	9672151	2664
4	0730142	9672157	2666
5	0730139	9672154	2665
6	0730142	9672150	2664

Coordenadas de los puntos de muestreo.

Elaborado por: Los autores

3.2 Muestreo

3.2.1 Resultados del Muestreo sistemático en rejilla.

Se trazó un área de 60 metros cuadrados (fotografía 9), y se tomaron 25 muestras de 500 gramos cada una, tomando cada intersección como un punto de muestreo (fotografía 10).



Fotografía 9: Muestreo en rejilla a partir de la determinación del área de estudio.

Fuente: Los autores.



Fotografía 10: Extracción de muestras con barreno.

Fuente: Los autores.

3.2.2 Procesamiento de las muestras.

Luego de pasar las muestras de suelo por un tamiz 2.35 mm-2 mm hasta 0.165 μ m, se obtuvieron 9 muestras homogéneas de 500 gramos cada una (fotografía 11), las muestras se etiquetaron y se conservaron en fundas de polietileno herméticamente cerradas (fotografía 12).



Fotografía 11: Tamizado de las muestras de suelo .

Fuente: Los autores.

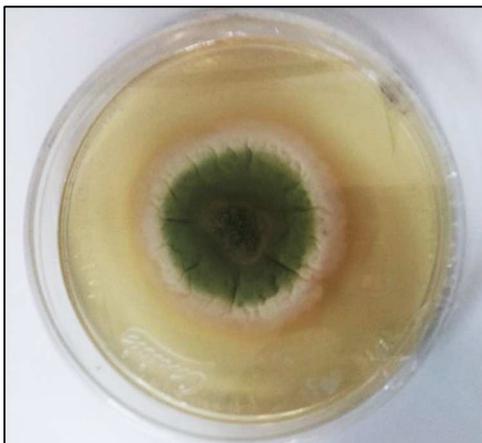


Fotografía 12: Conservación de las muestras de suelo.

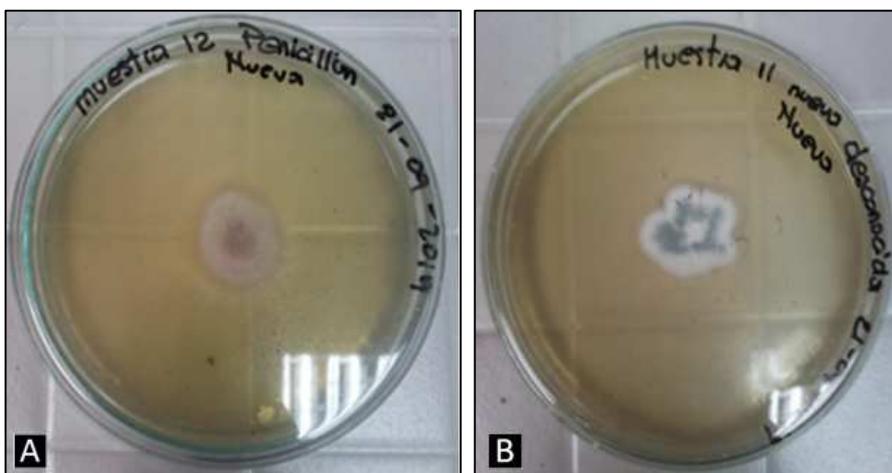
Fuente: Los autores.

3.3 Aislamiento y formación de cultivos puros

Las colonias formadas en el primer aislamiento se replicaron (fotografía 13) y además se les adicionó 0,5 gr/L de cloranfenicol para evitar el crecimiento de bacterias, con este procedimiento se obtuvieron hogos puros (fotografía 14).



Fotografía 13: Réplica de *Trichoderma* sp.
Fuente: Los autores.

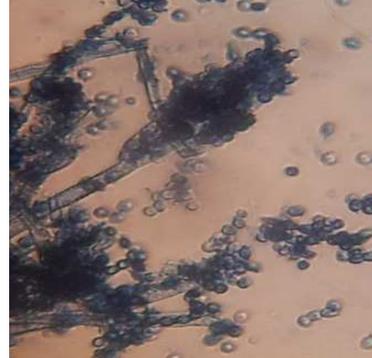


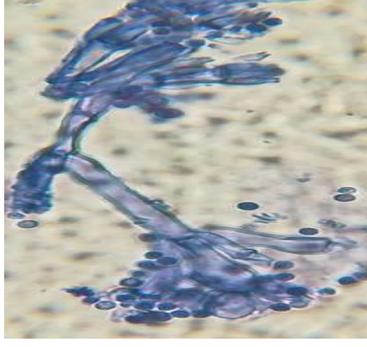
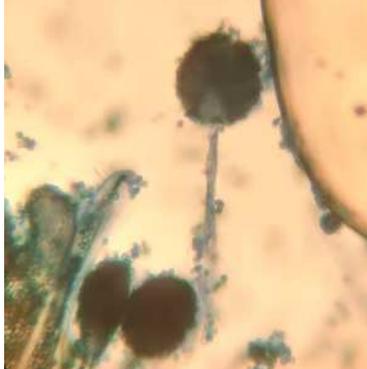
Fotografía 14: Aislamientos de cepas *Penicillium* (A), y cepa desconocida (B).
Fuente: Los autores.

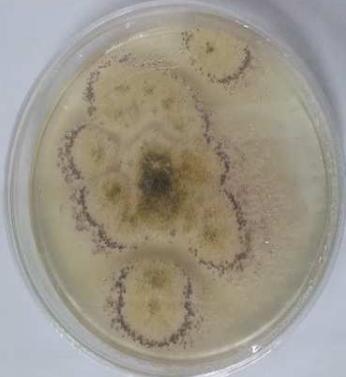
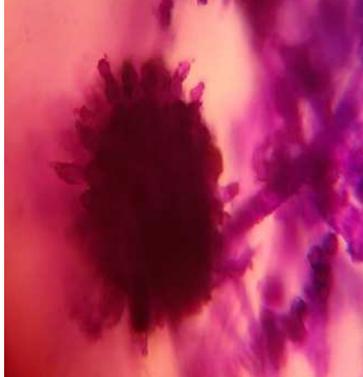
3.3.1 Ilustración de los aislados fúngicos.

Tabla 5: Identificación taxonómica de hongos.

CÓDIGO	CAJA PETRI	FOTOS VISTAS AL MISCROSCOPIO	GÉNERO
RSZ2M5			División: <i>Eumycota</i> Subdivisión: <i>Zygomycotina</i> Clase: <i>Zygomycetes</i> Orden: <i>Mucorales</i> Familia: <i>Mucoraceae</i> Género: <i>Mucor</i> Especie: <i>Mucor</i> sp.

RSZ2M1			<p>División: <i>Amastigomycota</i> Subdivisión: <i>Deuteromycota</i> Clase: <i>Deuteromycetes</i> Orden: <i>Moniliales</i> Familia: <i>Tuberculariaceae</i> Género: <i>Fusarium</i> Especie: <i>Fusarium sp.</i></p>
RSZ4M3			<p>División: <i>Amastigomycota</i> Subdivisión: <i>Deuteromycota</i> Clase: <i>Deuteromycetes</i> Orden: <i>Moniliales</i> Familia: <i>Tuberculariaceae</i> Género: <i>Fusarium</i> Especie: <i>Fusarium sp.</i></p>
RSZ1M13			<p>División: <i>Amastigomycota</i> Subdivisión: <i>Deuteromycota</i> Clase: <i>Deuteromycetes</i> Orden: <i>Moniliales</i> Familia: <i>Tuberculariaceae</i> Género: <i>Fusarium</i> Especie: <i>Fusarium sp.</i></p>
RSZ1M14			<p>División: <i>Amastigomycota</i> Subdivisión: <i>Deuteromycota</i> Clase: <i>Deuteromycetes</i> Orden: <i>Moniliales</i> Familia: <i>Tuberculariaceae</i> Género: <i>Fusarium</i> Especie: <i>Fusarium sp.</i></p>
RSZ1M3			<p>División: <i>Eumycota</i> Subdivisión: <i>Ascomycota</i> Clase: <i>Plectomicetos</i> Orden: <i>Eurotiales</i> Familia: <i>Aspergillaceae.</i> Género: <i>Penicillium</i> Especie: <i>Penicillium sp.</i></p>

RSZ3M15			<p>División: <i>Eumycota</i> Subdivisión: <i>Ascomycota</i> Clase: <i>Plectomicetos</i> Orden: <i>Eurotiales</i> Familia: <i>Aspergillaceae</i>. Género: <i>Penicillium</i> Especie: <i>Penicillium</i> <i>sp.</i></p>
RSZ3M3			<p>División: <i>Eumycota</i> Subdivisión: <i>Ascomycota</i> Clase: <i>Plectomicetos</i> Orden: <i>Eurotiales</i> Familia: <i>Aspergillaceae</i>. Género: <i>Penicillium</i> Especie: <i>Penicillium</i> <i>sp.</i></p>
RSZ4M5			<p>División: <i>Ascomycota</i> Subdivisión: <i>Deuteromycota</i> Clase: <i>Eurotiomycetes</i> Orden: <i>Eurotiales</i> Familia: <i>Trichomaceae</i> Género: <i>Aspergillus</i> Especie: <i>Aspergillus</i> <i>sp.</i></p>
RSZ4M7			<p>División: <i>Ascomycota</i> Subdivisión: <i>Deuteromycota</i> Clase: <i>Eurotiomycetes</i> Orden: <i>Eurotiales</i> Familia: <i>Trichomaceae</i> Género: <i>Aspergillus</i> Especie: <i>Aspergillus</i> <i>sp.</i></p>

RSZ4M6			<p>División: <i>Ascomycota</i> Subdivisión: <i>Deuteromycota</i> Clase: <i>Eurotiomycetes</i> Orden: <i>Eurotiales</i> Familia: <i>Trichocomaceae</i> Género: <i>Aspergillus</i> Especie: <i>Aspergillus</i> <i>sp.</i></p>
RSZ3M10			<p>División: <i>Ascomycota</i> Subdivisión: <i>Pezizomycotina</i> Clase: <i>Soradoriomycetes</i> Orden: <i>Hypocreales</i> Familia: <i>Hypocreaceae</i> Género: <i>Trichoderma</i> Especie: <i>Trichoderma</i> <i>sp.</i></p>
RSZ4M8			<p>División: <i>Ascomycota</i> Subdivisión: <i>Pezizomycotina</i> Clase: <i>Soradoriomycetes</i> Orden: <i>Hypocreales</i> Familia: <i>Hypocreaceae</i> Género: <i>Trichoderma</i> Especie: <i>Trichoderma</i> <i>sp.</i></p>
Trichoderma Y1			<p>División: <i>Ascomycota</i> Subdivisión: <i>Pezizomycotina</i> Clase: <i>Soradoriomycetes</i> Orden: <i>Hypocreales</i> Familia: <i>Hypocreaceae</i> Género: <i>Trichoderma</i> Especie: <i>Trichoderma</i> <i>sp.</i></p>

Trichoderma J1			División: <i>Ascomycota</i> Subdivisión: <i>Pezizomycotina</i> Clase: <i>Soradoriomycetes</i> Orden: <i>Hypocreales</i> Familia: <i>Hypocreaceae</i> Género: <i>Trichoderma</i> Especie: <i>Trichoderma sp.</i>
----------------	---	--	---

Nota: En la tabla 5 se muestran todos los hongos aislados del relleno sanitario Pichacay del cantón Cuenca y los dos hongos finales J1 y Y1 que son del cepario de la Universidad Politécnica Salesiana,

Fuente: Los autores.

Elaborado por: Los autores.

3.4 Resultados de la biodegradación

3.4.1 Análisis FTIR.

3.4.1.1 LDPE previo al tratamiento de desinfección química.

En el espectro de absorción (gráfico 1), se distinguen grupos de bandas correspondientes a movimientos de tensión de los enlaces C-H a 2850 cm^{-1} , tensión C-C a 1500 cm^{-1} , flexión de $-\text{CH}_2$ en 700 cm^{-1} (Velandia Cabra, 2017) y la formación de grupos OH a 3400 cm^{-1} (Amir et al., 2010), característicos del polietileno de baja densidad (LDPE).

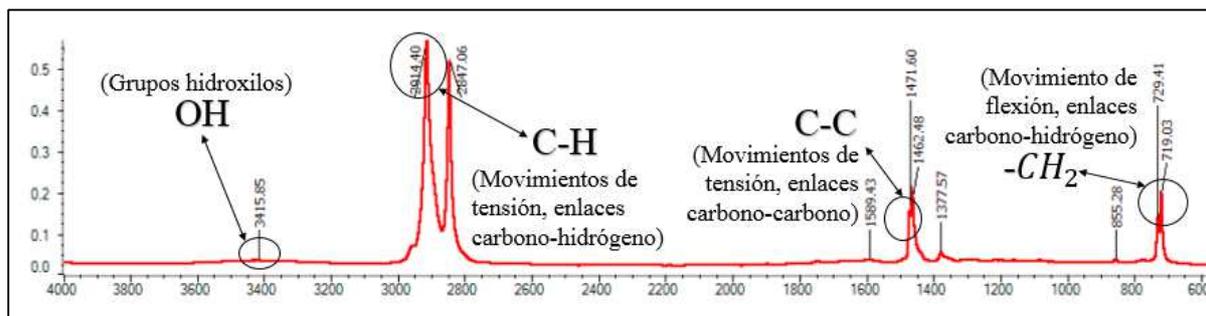


Gráfico 1: Espectro de LDPE puro, sin tratamiento de desinfección química.

Nota: En la gráfica se puede observar las diferentes bandas de absorción del espectro IR correspondientes al polietileno de baja densidad.

Fuente: Los autores.

Elaborado por: Los autores.

3.4.1.2 LDPE posterior al tratamiento de desinfección química.

La aparición de 4 grupos funcionales nuevos (gráfico 2), en las longitudes de onda: 775.73 cm^{-1} , 1082.12 cm^{-1} , 1195.46 cm^{-1} , 3469.00 cm^{-1} , que corresponden a la región de la huella

digital, demostraron que el tratamiento químico de limpieza, influyó significativamente en la degradación de polietileno, lo que es respaldado por (Gulmine et al., 2002), (Uribe et al., 2010).

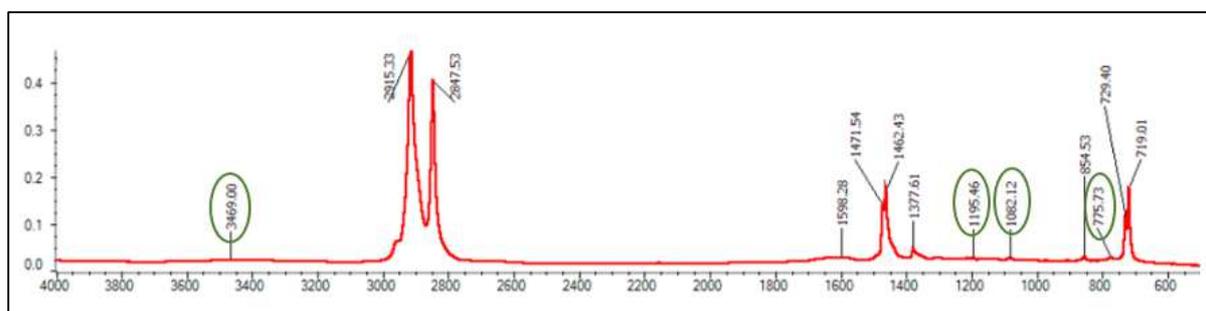


Gráfico 2: Espectro de LDPE con tratamiento químico de desinfección.

Nota: En la gráfica se puede observar las diferentes bandas de absorción del espectro IR correspondientes al polietileno de baja densidad con tratamiento químico de desinfección y la aparición de nuevos grupos funcionales señalados en color verde.

Fuente: Los autores.

Elaborado por: Los autores.

3.4.1.3 Comparación de los espectros de LDPE antes y después del tratamiento químico de desinfección.

La comparación de los dos espectros, no evidenció cambios notables de la muestra de polietileno con tratamiento desinfección química previa, en comparación con el espectro característico del polietileno de baja densidad (gráfico 3), a excepción de la aparición de los nuevos grupos funcionales anteriormente mencionados.

Tabla 6: Comparación de LDPE antes y después del tratamiento químico de desinfección.

LDPE SIN TRATAMIENTO		LDPE CON TRATAMIENTO	
Pico (cm^{-1})	Absorbancia	Pico (cm^{-1})	Absorbancia
719.03	0.20	719.01	0.18
729.41	0.13	729.40	0.11
-	-	775.73	0.03
855.28	0.03	854.53	0.03
-	-	1082.12	0.03
-	-	1195.46	0.03
1377.57	0.05	1377.61	0.05
1462.48	0.19	1462.43	0.17
1471.60	0.15	1471.54	0.14
1589.43	0.03	1598.28	0.03
2847.06	0.52	2847.53	0.40
2914.40	0.57	2915.33	0.46
3415.85	0.03	-	-
-	-	3469.00	0.02

Nota: En la tabla se puede apreciar la reducción de la absorbancia en los picos de LDPE con tratamiento respecto del LDPE sin tratamiento, estos picos corresponden a las longitudes de onda en (cm^{-1}) de 719.0, 729.40, 1462.43, 1471.54, 2847.53 y 2915.33, mientras que para los picos

ubicados entre 855.28 y 854.53 la absorbancia se mantiene en 0.03, y para 1377.57 y 1377.61 la absorbancia se mantiene en 0,05.

Fuente: Los autores.

Elaborado por: Los autores

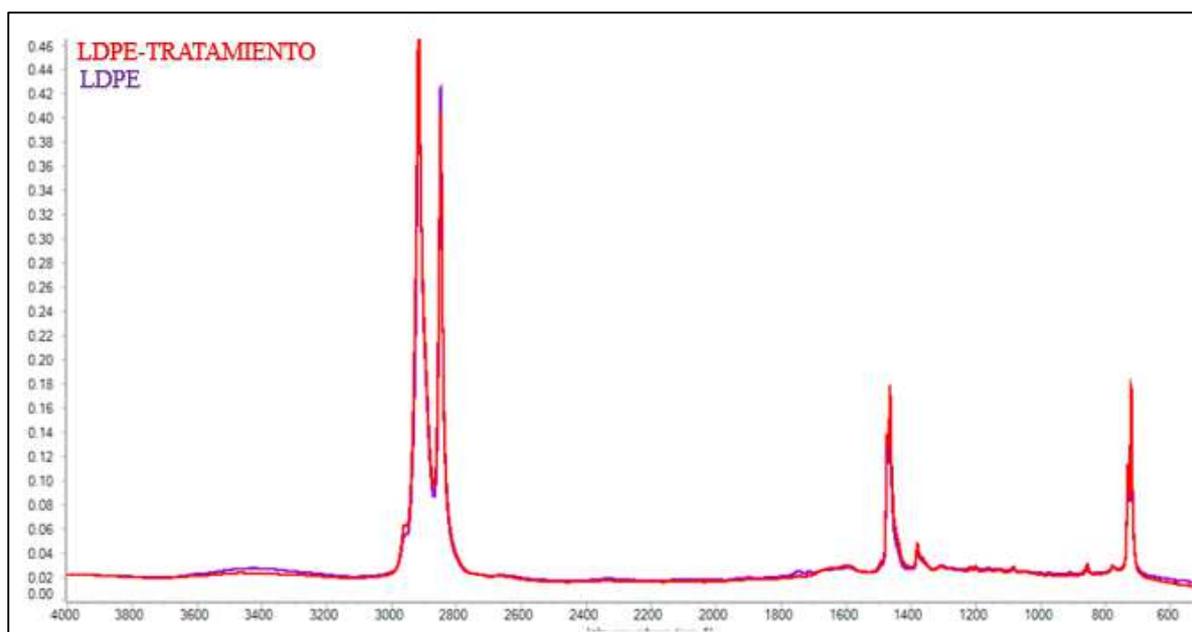


Gráfico 3: Comparación de los espectros IR de LDPE antes y después del tratamiento químico de desinfección.

Nota: Al comparar los dos espectros, no se observan cambios notables en la composición del LDPE, lo que demuestra que el tratamiento químico de desinfección es químicamente inerte con respecto al polietileno de baja densidad sin tratamiento, por ende, los indicadores de formación de nuevos picos que se evidencian en las muestras experimentales posteriores corresponden únicamente a la actividad biológica de los microorganismos aislados en el relleno sanitario de Pichacay.

Fuente: Los autores.

Elaborado por: Los autores.

3.4.2 Análisis de espectros de las muestras de LDPE degradadas con hongos filamentosos.

La biodegradación se comprobó por los cambios morfológicos observados en los espectros FTIR que brindaron mejor apoyo a los resultados, con la aparición de nuevos picos junto con la reducción de los picos antiguos y la disminución del pico intensidades (Shabbir et al., 2020).

3.4.2.1 Análisis del espectro IR de la cepa RSZ1M13- *Fusarium sp.*

Tabla 7: Comparación de LDPE con tratamiento y la cepa RSZ1M13- *Fusarium sp.*

LDPE con tratamiento		RSZ1M13- <i>Fusarium sp.</i>	
Pico (cm^{-1})	Absorbancia	Pico (cm^{-1})	Absorbancia
719.01	0.18	719.02	0.17
729.40	0.11	729.46	0.12
775.73	0.03	-	-
854.53	0.03	-	-
1082.12	0.03	-	-
-	-	1123.42	0.03

1195.46	0.03	-	-
-	-	1305.33	0.03
1377.61	0.05	1377.51	0.05
1462.43	0.17	1462.38	0.16
1471.54	0.14	1471.53	0.13
-	-	1591.26	0.04
1598.28	0.03	-	-
-	-	1741.14	0.03
2847.53	0.40	2847.68	0.36
2915.33	0.46	2915.69	0.41
-	-	3413.79	0.05
3469.00	0.02	-	-

Nota: En la tabla se puede apreciar que existe la desaparición de los picos de las longitudes de onda en (cm^{-1}) de: 775.73, 854.53, 1082.12, 1195.46, 1598.28 y 3469.00, lo que corrobora la degradación de la muestra de polietileno inicial, después de su incubación con el aislado fúngico. Por otro lado, los picos en: 1377.61 a 1377.51 mantienen su absorbancia en 0.05.

Fuente: Los autores.

Elaborado por: Los autores.

El espectro (gráfico 4), señaló la formación de nuevos grupos funcionales en las longitudes de onda: 1123.42 cm^{-1} , 1305.33 cm^{-1} , 1591.26 cm^{-1} , 1741.14 cm^{-1} y 3413.79 cm^{-1} ; unido a los aumentos en los espectros de absorbancia, confirmaron la degradación de 5,94% en pérdida de peso por RSZ1M13- *Fusarium sp.*

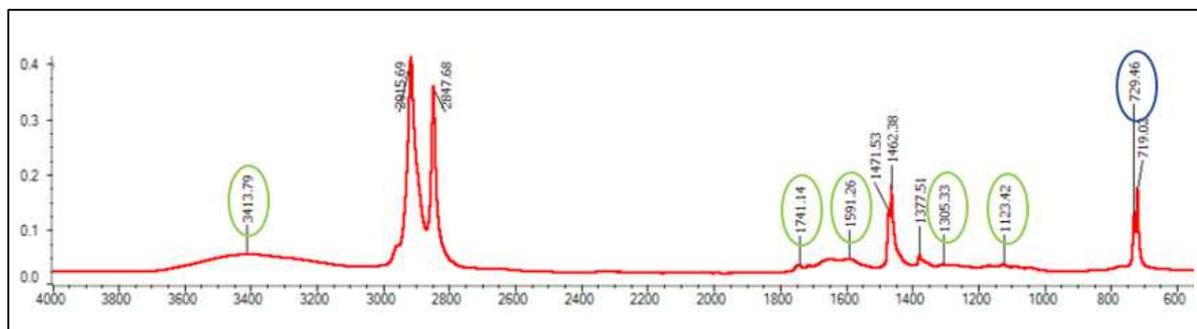


Gráfico 4: Espectro IR de la cepa RSZ1M13- *Fusarium sp.*

Nota: En el espectro IR la cepa RSZ1M13-*Fusarium sp.* se puede observar la aparición de 5 grupos funcionales nuevos señalados en color verde, mientras que se evidencia un aumento en la absorbancia en uno de los picos existentes señalados en color azul.

Fuente: Los autores.

Elaborado por: Los autores.

3.4.2.2 Análisis del espectro IR de la cepa RSZ4M6- *Aspergillus sp.*

Tabla 8: Comparación de LDPE con tratamiento y la cepa RSZ4M6- *Aspergillus sp.*

LDPE con tratamiento		RSZ4M6- <i>Aspergillus sp.</i>	
Pico (cm^{-1})	Absorbancia	Pico (cm^{-1})	Absorbancia
719.01	0.18	719.01	0.17
729.40	0.11	729.38	0.12

775.73	0.03	-	-
854.53	0.03	854.91	0.03
1082.12	0.03	-	-
-	-	1166.83	0.03
1195.46	0.03	-	-
-	-	1304.25	0.03
1377.61	0.05	1377.56	0.05
1462.43	0.17	1462.49	0.16
1471.54	0.14	1471.45	0.13
-	-	1590.73	0.04
1598.28	0.03	-	-
-	-	1711.47	0.03
-	-	1744.44	0.04
2847.53	0.40	2847.52	0.39
2915.33	0.46	2915.23	0.44
-	-	3408.44	0.04
3469.00	0.02	-	-

Nota: Se puede observar que existe la desaparición de los picos de las longitudes de onda en (cm^{-1}) de: 775.73, 1082.12, 1195.46 1598.28 y 3469.00, lo que evidencia la degradación de la muestra de polietileno inicial, después de su incubación con el aislado fúngico. Por otra parte, los picos en 854.53 a 854.91 y 1377.61 a 1377.56 mantienen su absorbancia constante a 0.03 y 0.05 respectivamente.

Fuente: Los autores.

Elaborado por: Los autores.

El espectro (gráfico 5), indicó la formación de nuevos grupos funcionales en las longitudes de onda: 1166.83 cm^{-1} , 1304.25 cm^{-1} , 1590.73 cm^{-1} , 1711.47 cm^{-1} , 1744.44 cm^{-1} , 3408.44 cm^{-1} ; incorporado a los aumentos en los espectros de absorbancia confirmaron la degradación de 5,16% en pérdida de peso por RSZ4M6- *Aspergillus sp.*

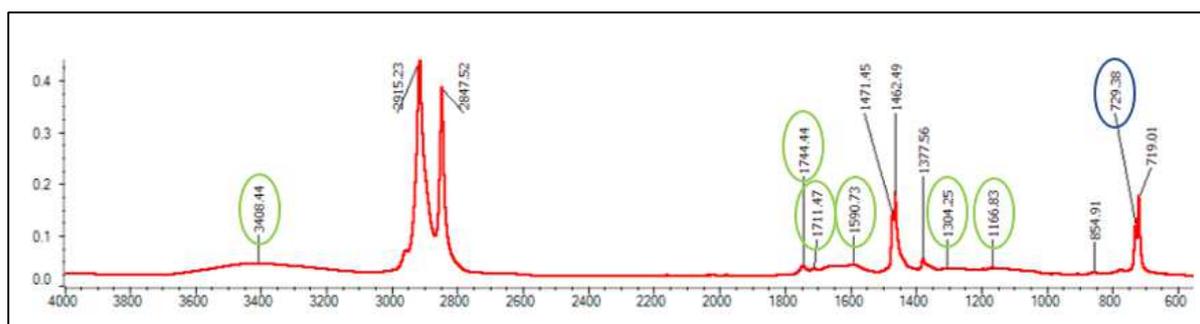


Gráfico 5: Espectro IR de la cepa RSZ4M6- *Aspergillus sp.*

Nota: En el espectro IR la cepa RSZ4M6- *Aspergillus sp.* se puede observar la aparición de 6 grupos funcionales nuevos señalados en color verde, mientras que se evidencia un aumento en la absorbancia en uno de los picos existentes señalados en color azul.

Fuente: Los autores.

Elaborado por: Los autores.

3.4.2.3 Análisis del espectro IR de la cepa J1- *Trichoderma sp.*

Tabla 9: Comparación de LDPE con tratamiento y la cepa J1- *Trichoderma sp.*

LDPE con tratamiento		J1- <i>Trichoderma sp.</i>	
Pico (cm^{-1})	Absorbancia	Pico (cm^{-1})	Absorbancia
719.01	0.18	718.97	0.20
729.40	0.11	729.34	0.13
775.73	0.03	-	-
854.53	0.03	-	-
1082.12	0.03	-	-
-	-	1122.32	0.05
1195.46	0.03	-	-
1377.61	0.05	1377.60	0.06
1462.43	0.17	1462.49	0.18
1471.54	0.14	1471.38	0.16
1598.28	0.03	1589.42	0.05
-	-	1711.33	0.05
-	-	1742.98	0.05
2847.53	0.40	2847.02	0.45
2915.33	0.46	2914.44	0.49
-	-	3399.64	0.05
3469.00	0.02	-	-

Nota: En la tabla se puede observar, que existe la desaparición de los picos de las longitudes de onda en (cm^{-1}) de: 775.73, 854.53, 1082.12, 1195.46 y 3469.00, lo que confirma la degradación de la muestra de polietileno inicial, después de su incubación con el aislado fúngico.

Fuente: Los autores.

Elaborado por: Los autores.

El espectro (gráfico 6), señaló la formación de nuevos grupos funcionales en las longitudes de onda: 1122.32 cm^{-1} , 1711.33 cm^{-1} , 1742.98 cm^{-1} y 3399.64 cm^{-1} ; asociado a los aumentos en los espectros de absorbancia, confirmaron la degradación de 4,98% en pérdida de peso por J1- *Trichoderma sp.*

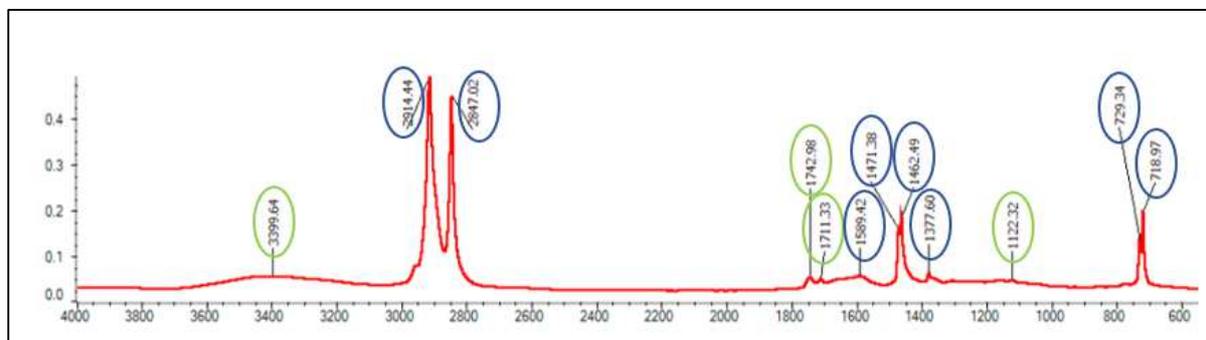


Gráfico 6: Espectro IR de la cepa J1- *Trichoderma sp.*

Nota: En el espectro IR la cepa J1- *Trichoderma sp.* se puede observar la aparición de 4 grupos funcionales nuevos señalados en color verde, mientras que se evidencia un aumento en la absorbancia en 9 de los picos existentes señalados en color azul.

Fuente: Los autores.

Elaborado por: Los autores.

3.4.2.4 Análisis del espectro IR de la cepa RSZ3M10-*Trichoderma sp.*

Tabla 10: Comparación de LDPE con tratamiento y la cepa RSZ3M10-*Trichoderma sp.*

LDPE con tratamiento		RSZ3M10- <i>Aspergillus sp.</i>	
Pico (cm^{-1})	Absorbancia	Pico (cm^{-1})	Absorbancia
719.01	0.18	719.06	0.20
729.40	0.11	729.40	0.14
775.73	0.03	-	-
854.53	0.03	-	-
1082.12	0.03	-	-
-	-	1167.21	0.05
1195.46	0.03	-	-
1377.61	0.05	1377.58	0.07
1462.43	0.17	1462.64	0.19
1471.54	0.14	1471.44	0.16
-	-	1588.42	0.05
1598.28	0.03	-	-
-	-	1711.47	0.05
-	-	1742.58	0.05
2847.53	0.40	2847.38	0.45
2915.33	0.46	2914.98	0.51
-	-	3436.32	0.05
3469.00	0.02	-	-

Nota: En la tabla se puede distinguir, que existe la desaparición de los picos de las longitudes de onda en (cm^{-1}) de: 775.73, 854.53, 1082.12, 1195.46, 1598.28 y 3469.00 lo que ratifica, la degradación de la muestra de polietileno inicial, después de su incubación con el aislado fúngico.

Fuente: Los autores.

Elaborado por: Los autores.

El espectro (gráfico 7), indicó la formación unido de nuevos grupos funcionales en las longitudes de onda: 1167.21 cm^{-1} , 1588.42 cm^{-1} , 1711.47 cm^{-1} , 1742.58 cm^{-1} , y 3436.32 cm^{-1} ; coligado a los aumentos en los espectros de absorbancia, confirmaron la degradación de $2,69\%$ en pérdida de peso por RSZ3M10- *Trichoderma sp.*

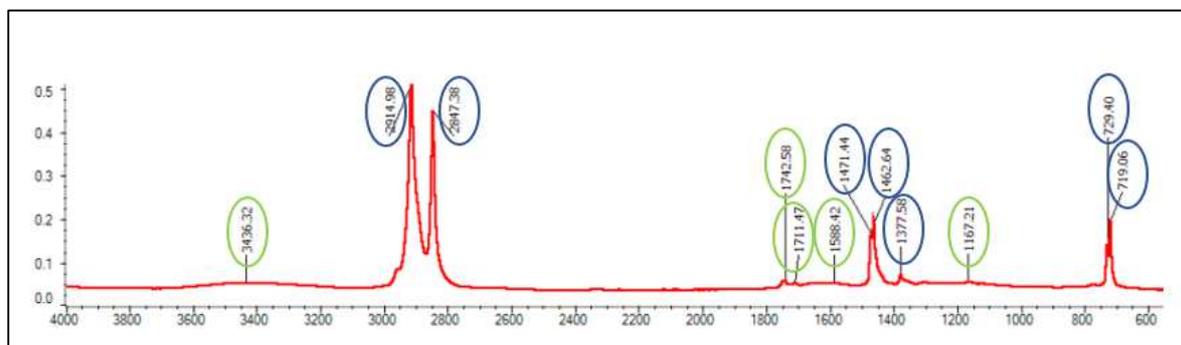


Gráfico 7: Espectro IR de la cepa RSZ3M10-*Trichoderma sp.*

Nota: En el espectro IR la cepa RSZ3M10-*Trichoderma sp.* se puede observar la aparición de 5 grupos funcionales nuevos señalados en color verde, mientras que se evidencia un aumento en la absorbancia en 7 de los picos existentes señalados en color azul.

Fuente: Los autores.

Elaborado por: Los autores.

3.4.2.5 Análisis del espectro IR de la cepa RSZ2M5-*Mucor sp.*

Tabla 11: Comparación de LDPE con tratamiento y la cepa RSZ2M5-*Mucor sp.*

LDPE con tratamiento		RSZ2M5- <i>Mucor sp.</i>	
Pico (cm^{-1})	Absorbancia	Pico (cm^{-1})	Absorbancia
719.01	0.18	719.04	0.17
729.40	0.11	729.42	0.11
775.73	0.03	775.98	0.02
854.53	0.03	854.38	0.03
1082.12	0.03	1082.23	0.02
-	-	1125.97	0.02
1195.46	0.03	-	-
-	-	1212.70	0.02
1377.61	0.05	1377.68	0.04
1462.43	0.17	1462.47	0.17
1471.54	0.14	1471.54	0.14
-	-	1593.50	0.03
1598.28	0.03	-	-
2847.53	0.40	2847.20	0.44
2915.33	0.46	2914.66	0.50
-	-	3400.92	0.02
3469.00	0.02	-	-

Nota: Se puede observar en la tabla que existe la desaparición de los picos de las longitudes de onda en (cm^{-1}) de: 1195.46, 1598.28 y 3469.00 lo que confirma la degradación de la muestra de polietileno inicial, después de su incubación con el aislado fúngico. Por otra parte, los picos en: 729.40 a 729.42, 854.53 a 854.38, 1462.43 a 1462.47 y 1471.54 a 1471.54, mantienen su absorbancia constante a 0.11, 0.03, 0.17 y 0.14 respectivamente.

Fuente: Los autores.

Elaborado por: Los autores.

El espectro (gráfico 8), señaló la formación de nuevos grupos funcionales en las longitudes de onda: 1125.97 cm^{-1} , 1212.70 cm^{-1} , 1593.50 cm^{-1} y 3400.92 cm^{-1} ; vinculado a los aumentos en los espectros de absorbancia, confirmaron la degradación de 2,41% en pérdida de peso por RSZ2M5- *Mucor sp.*

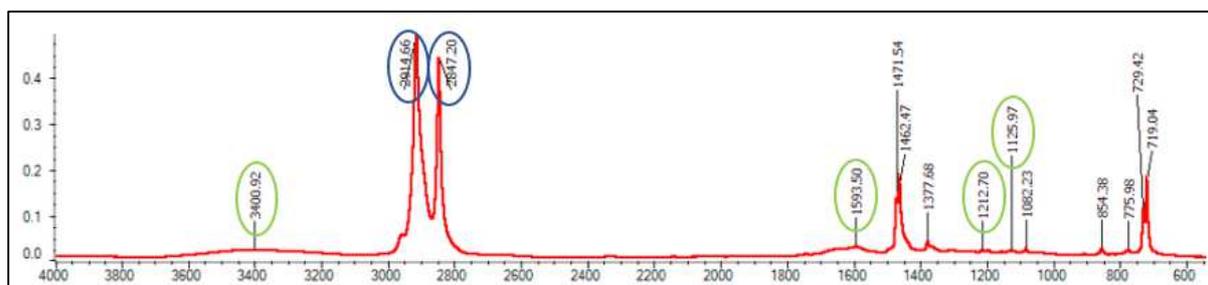


Gráfico 8: Espectro IR de la cepa RSZ2M5-*Mucor sp.*

Nota: En el espectro IR la cepa RSZ2M5-*Mucor sp.* se puede observar la aparición de 4 grupos funcionales nuevos señalados en color verde, mientras que se evidencia un aumento en la absorbancia en dos de los picos existentes señalados en color azul.

Fuente: Los autores.

Elaborado por: Los autores.

3.4.2.6 Análisis del espectro IR de la cepa Y1- *Trichoderma sp.*

Tabla 12: Comparación de LDPE con tratamiento y la cepa Y1-*Trichoderma sp.*

LDPE con tratamiento		Y1- <i>Trichoderma sp.</i>	
Pico (cm^{-1})	Absorbancia	Pico (cm^{-1})	Absorbancia
719.01	0.18	719.10	0.17
729.40	0.11	729.43	0.12
775.73	0.03	775.79	0.04
854.53	0.03	854.15	0.04
-	-	905.68	0.03
1082.12	0.03	1082.10	0.04
1195.46	0.03	1195.25	0.04
-	-	1212.30	0.04
1377.61	0.05	1377.67	0.05
1462.43	0.17	1462.52	0.16
1471.54	0.14	1471.47	0.13
1598.28	0.03	1596.86	0.04
-	-	1744.55	0.04
2847.53	0.40	2847.67	0.37
2915.33	0.46	2915.45	0.42
-	-	3421.18	0.04
3469.00	0.02	-	-

Nota: Se puede observar en la tabla que existe la desaparición de los picos de las longitudes de onda en (cm^{-1}) de 3469.00; mientras que los picos en: 1377.61 a 1377.67 mantienen su absorbancia constante a 0.05.

Fuente: Los autores.

Elaborado por: Los autores.

El espectro (gráfico 9), reveló la formación de nuevos grupos funcionales en las longitudes de onda: 905.68 cm^{-1} , 1212.30 cm^{-1} , 1744.55 cm^{-1} y 3421.18 cm^{-1} ; emparentado a los aumentos en los espectros de absorbancia, confirmaron la degradación de 1,51% en pérdida de peso por Y1- *Trichoderma sp.*

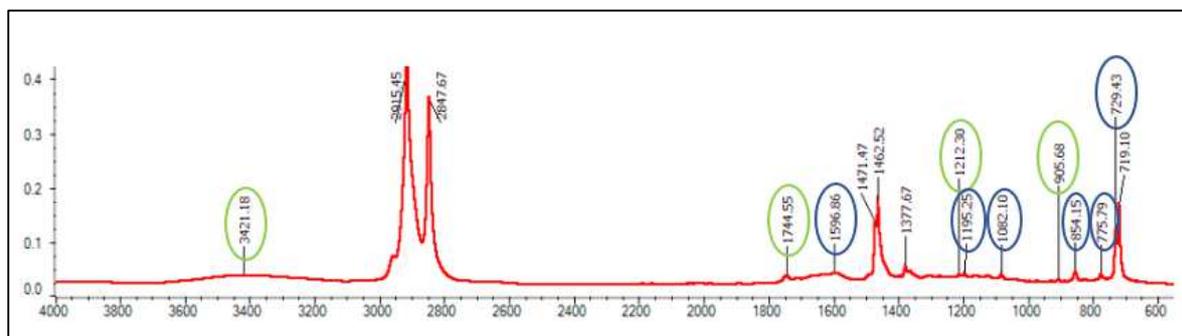


Gráfico 9: Espectro IR de la cepa Y1-*Trichoderma sp.*

Nota: En el espectro IR la cepa Y1-*Trichoderma sp.* se puede observar la aparición de 4 grupos funcionales nuevos señalados en color verde, mientras que se evidencia un aumento en la absorbancia en 6 de los picos existentes señalados en color azul.

Fuente: Los autores.

Elaborado por: Los autores.

3.4.2.7 Análisis del espectro IR de la cepa RSZ4M3-*Fusarium sp.*

Tabla 13: Comparación de LDPE con tratamiento y la cepa RSZ4M3-*Fusarium sp.*

LDPE con tratamiento		RSZ4M3- <i>Fusarium sp.</i>	
Pico (cm^{-1})	Absorbancia	Pico (cm^{-1})	Absorbancia
719.01	0.18	718.99	0.20
729.40	0.11	729.34	0.14
775.73	0.03	-	-
854.53	0.03	-	-
1082.12	0.03	-	-
-	-	1167.01	0.05
1195.46	0.03	-	-
1377.61	0.05	1377.56	0.06
1462.43	0.17	1462.51	0.18
1471.54	0.14	1471.41	0.16
1598.28	0.03	-	-
-	-	1632.97	0.05
-	-	1740.38	0.05
2847.53	0.40	2847.01	0.43
2915.33	0.46	2914.47	0.47
-	-	3403.87	0.05
3469.00	0.02	-	-

Nota: En la tabla se puede confirmar, la desaparición de los picos de las longitudes de onda en (cm^{-1}) en: 775.73, 854.53, 1082.12, 1195.46, 1598.28 y 3469.00, que corrobora la degradación de la muestra de polietileno inicial, después de su incubación con el aislado fúngico.

Fuente: Los autores.

Elaborado por: Los autores.

El espectro (gráfico 10), indicó la formación de nuevos grupos funcionales en las longitudes de onda: 1167.01 cm^{-1} , 1632.97 cm^{-1} , 1740.38 cm^{-1} y 3403.87 cm^{-1} ; asociado a los aumentos en la absorbancia de los espectros, confirmaron la degradación de 0,74% por RSZ4M3-*Fusarium sp.*

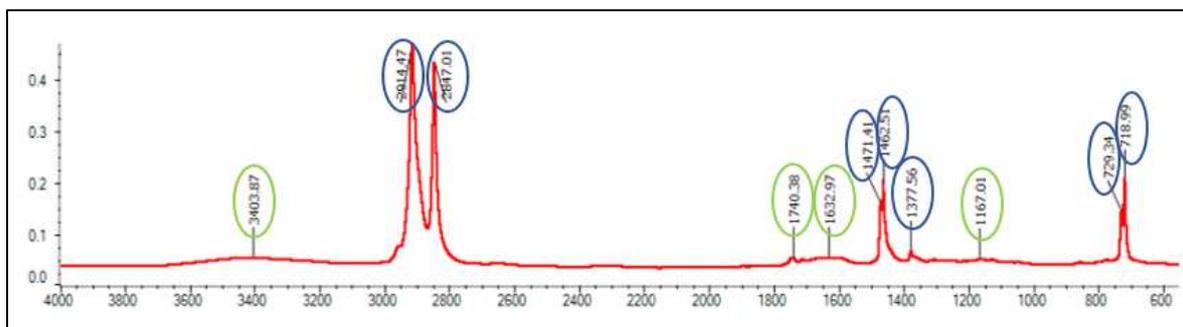


Gráfico 10: Espectro IR de la cepa RSZ4M3-*Fusarium sp.*

Nota: En el espectro IR la cepa RSZ4M3-*Fusarium sp.* se puede observar la aparición de 4 grupos funcionales nuevos señalados en color verde, mientras que se evidencia un aumento en la absorbancia en 7 de los picos existentes señalados en color azul.

Fuente: Los autores.

Elaborado por: Los autores.

3.4.2.8 Análisis del espectro IR de la cepa RSZ4M8-*Trichoderma sp.*

Tabla 14: Comparación de LDPE con tratamiento y la cepa RSZ4M8-*Trichoderma sp.*

LDPE con tratamiento		RSZ4M8- <i>Trichoderma sp.</i>	
Pico (cm^{-1})	Absorbancia	Pico (cm^{-1})	Absorbancia
719.01	0.18	719.01	0.19
729.40	0.11	729.45	0.12
775.73	0.03	-	-
854.53	0.03	-	-
1082.12	0.03	-	-
1195.46	0.03	-	-
1377.61	0.05	1377.61	0.05
1462.43	0.17	1462.44	0.18
1471.54	0.14	1471.60	0.15
1598.28	0.03	1600.91	0.03
2847.53	0.40	2847.23	0.47
2915.33	0.46	2914.73	0.53
-	-	3417.15	0.03
3469.00	0.02	-	-

Nota: En la tabla se puede observar, que existe la desaparición de los picos de las longitudes de onda en (cm^{-1}) de: 775.73, 854.53, 1082.12, 1195.46 y 3469.00 del polietileno inicial, lo que corrobora la degradación de la muestra de polietileno inicial, después de su incubación con el aislado fúngico.

Fuente: Los autores.

Elaborado por: Los autores.

El espectro (gráfico 11), ilustró la formación de un nuevo grupo funcional en la longitud de onda correspondiente a 3419.10 cm^{-1} . De igual importancia, los aumentos en los espectros de absorbancia confirmaron la degradación de 0,40% de la cepa fúngica RSZ4M8- *Trichoderma sp.*

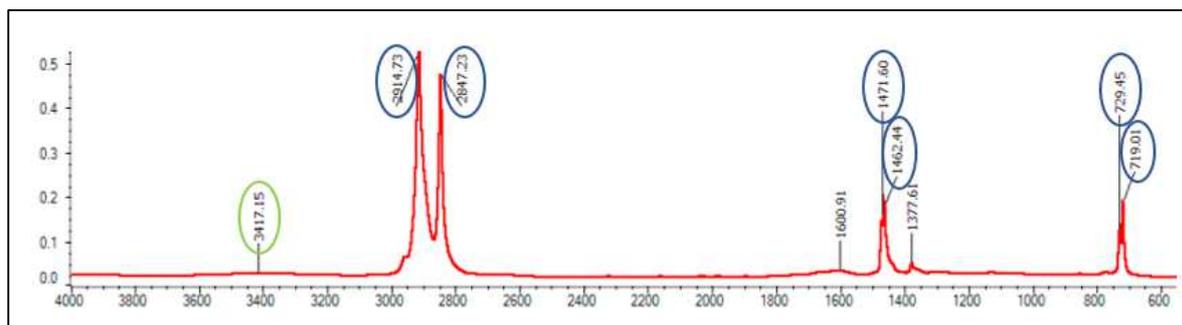


Gráfico 11: Espectro IR de la cepa RSZ4M8-*Trichoderma sp.*

Nota: En el espectro IR la cepa RSZ4M8-*Trichoderma sp.* se puede observar la aparición de un grupo funcional nuevo señalado en color verde, mientras que se evidencia un aumento en la absorbancia en 6 de los picos existentes señalados en color azul.

Fuente: Los autores.

Elaborado por: Los autores.

3.4.2.9 Análisis del espectro IR de la cepa RSZ4M7-*Aspergillus sp.*

Tabla 15: Comparación de LDPE con tratamiento y la cepa RSZ4M7-*Aspergillus sp.*

LDPE con tratamiento		RSZ4M7- <i>Aspergillus sp.</i>	
Pico (cm^{-1})	Absorbancia	Pico (cm^{-1})	Absorbancia
719.01	0.18	718.97	0.18
729.40	0.11	729.43	0.12
775.73	0.03	-	-
854.53	0.03	-	-
1082.12	0.03	-	-
1195.46	0.03	-	-
1377.61	0.05	1377.58	0.05
1462.43	0.17	1462.45	0.17
1471.54	0.14	1471.58	0.15
1598.28	0.03	1598.12	0.03
-	-	1745.67	0.03
2847.53	0.40	2847.08	0.47
2915.33	0.46	2914.56	0.51
-	-	3419.10	0.03
3469.00	0.02	-	-

Nota: Se puede observar en la tabla, existe la desaparición de los picos de las longitudes de onda en (cm^{-1}) en 775.73, 854.53, 1082.12, 1195.46 y 3469.00 lo que coincide con la degradación de la muestra de polietileno inicial, después de su incubación con el aislado fúngico. De la misma forma, los picos en 719.01 a 718.97, 1377.61 a 1377.58, 1462.43 a 1462.45, 1598.28 a 1598.12 mantienen su absorbancia en 0.18, 0.05, 0.17 y 0.03 respectivamente.

Fuente: Los autores.

Elaborado por: Los autores.

El espectro (gráfico 12), señaló la formación de nuevos grupos funcionales en las longitudes de onda: 1745.67 cm^{-1} y 3417.15 cm^{-1} , que demostraron cambios en la estructura de LDPE. Igualmente, los aumentos de las absorbancias confirmaron la degradación de 0,37% en pérdida de peso del polietileno seco de RSZ4M7-*Aspergillus sp.*

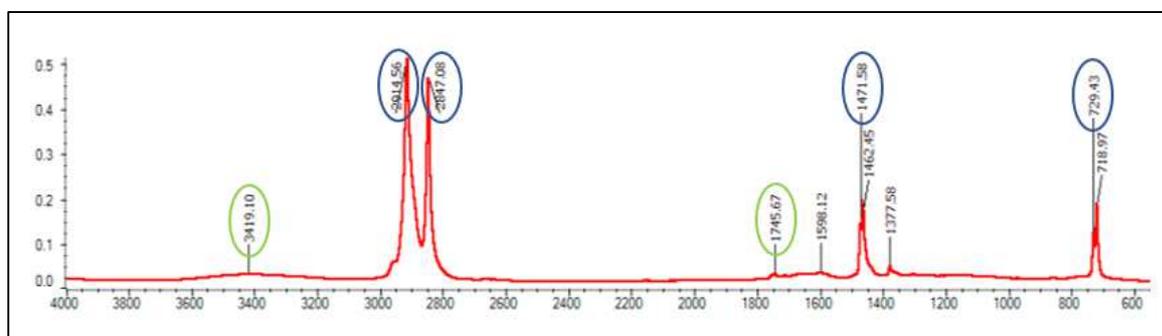


Gráfico 12: Espectro IR de la cepa RSZ4M7-*Aspergillus sp.*

Nota: En el espectro IR la cepa RSZ4M7-*Aspergillus sp.* se puede observar la aparición de 2 grupos funcionales nuevos señalados en color verde, mientras que se evidencia un aumento en la absorbancia en 4 de los picos existentes señalados en color azul.

Fuente: Los autores.

Elaborado por: Los autores.

3.4.3 Análisis estadístico.

En relación con el porcentaje de biodegradación de polietileno de baja densidad (LDPE), el valor promedio fue de 2,688 % conseguido a 26 °C de incubación en 90 días de tratamiento, con un valor mínimo y máximo de biodegradación de 0,368% y 5,94 % respectivamente, estos análisis evidencian el posible ataque microbiano sobre las perlas de polietileno utilizadas (tabla 16).

Tabla 16: Estadística descriptiva.

Variable	Media	Error estándar de la media	Desviación Estándar	Mínimo	Mediana	Máximo
Pesos iniciales (gramos)	1,0141	0,0035	0,0105	1,001	1,0135	1,0296
Pesos con biomasa acumulada (gramos)	1,0513	0,028	0,084	0,9657	1,0231	1,247
Peso limpio con biodegradación	0,9867	0,00586	0,01758	0,9533	0,9915	1,0113
Porcentaje de biodegradación (%)	2,688	0,725	2,175	0,368	2,409	5,94

Nota: En la tabla se ha desarrollado un estadístico descriptivo donde se resalta la diferencia en el valor medio del porcentaje de biodegradación y los valores mínimos y máximos, estos valores nos hacen presumir que existe una reducción del peso en las perlas por la acción biodegradadora de las cepas utilizadas.

Elaborado por: Los autores.

Tabla 17: Hongos que mejor biodegradan polietileno de baja densidad LDPE.

Código de hongo	Pesos iniciales	Pesos con biomasa acumulada	Diferencia	% Acumulado	Peso con biodegradación	Porcentaje de biodegradación (%)
<i>Y1</i> <i>Trichoderma sp.</i>	1,0067	0,9938	-0,0129	-1,28	0,9915	1,51
<i>J1</i> <i>Trichoderma sp.</i>	1,0296	1,0885	0,0589	5,72	0,9783	4,98
<i>RSZ4M7</i> <i>Aspergillus sp.</i>	1,0041	1,0088	0,0047	0,47	1,0004	0,37
<i>RSZ4M6</i> <i>Aspergillus sp.</i>	1,0244	1,2470	0,2226	21,73	0,9715	5,16
<i>RSZ3M10</i> <i>Trichoderma sp.</i>	1,0240	1,0231	-0,0009	-0,09	0,9965	2,69
<i>RSZ1M13</i> <i>Fusarium sp.</i>	1,0135	0,9657	-0,0478	-4,72	0,9533	5,94

<i>RSZ2M5</i> <i>Mucor sp.</i>	1,0047	1,0926	0,0879	8,75	0,9805	2,41
<i>RSZ4M3</i> <i>Fusarium</i> <i>sp.</i>	1,0188	1,0232	0,0044	0,43	1,0113	0,74
<i>RSZ4M8</i> <i>Trichoderma</i> <i>sp.</i>	1,0010	1,0186	0,0176	1,76	0,9970	0,40

Nota: En la tabla se han elegido y resaltado las cepas de hongos que en el tratamiento representan porcentajes mayores y positivos de biodegradación.

Elaborado por: Los autores.

Con los resultados del grupo de datos de la tabla 17 se realizó una prueba t-Student pareada entre los pesos iniciales y los pesos con biodegradación con el fin de determinar si existe una diferencia significativa en sus medias, utilizando el software Minitab se obtuvo lo siguiente:

Estimación de la diferencia pareada

Tabla 18: Estimación de la diferencia pareada.

Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95% para la diferencia μ
0,02739	0,02225	0,00742	(0,01028, 0,04449)

Nota: diferencia μ : media de (Pesos iniciales – Peso final con biodegradación).

Elaborado por: Los autores.

Prueba:

Tabla 19: Prueba t-Student Pareada.

Hipótesis nula	H_0 : diferencia $\mu = 0$
Hipótesis alterna	H_1 : diferencia $\mu \neq 0$
Valor t	Valor p
3,69	0,006

Nota: El valor 0,006 representa un valor menor al intervalo de confianza de $p=0,05$ por lo que inferimos que durante el tratamiento existe una pérdida de biomasa, producida por la acción microbiana en las perlas de LDPE utilizadas.

Elaborado por: Los autores.

Al ser el valor p de nuestra prueba menor al intervalo de confianza $p=0,05$ elegido se rechaza la hipótesis nula, con lo que se acepta que la diferencia entre las medias de los pesos iniciales y pesos con biodegradación es positiva. Con ello se dedujo que el tratamiento de biodegradación de polietileno utilizando microorganismos (hongos) redujeron significativamente el peso en las perlas de polietileno en lapsos de tiempo prolongados, en nuestro caso la prueba de significancia se la realizó con los resultados a los 90 días de tratamiento.

3.4.4 Cuantificación de la biomasa de las cepas sobre el LDPE.

En el gráfico 13 y la tabla (20, 21 y 22), se puede observar que todos los hongos tienen un crecimiento positivo sobre la perla de polietileno, se puede identificar que desde el primer mes *Mucor sp* tiene un aumento considerable de 1,0229 a 1,2623 gramos que representa el 23,40% de aumento en biomasa, en el segundo y tercer mes el porcentaje se reduce a 20,06% y 8,75% respectivamente, la cepa RSZ4M6-*Aspergillus sp* presenta un aumento de 1,0244 a 1,247 gramos, este valor representa el 21,73% de aumento en biomasa en los 90 días de tratamiento.

Tabla 20: Resultados del primer mes de tratamiento.

Código de la cepa	Pesos iniciales (gramos)	Pesos con biomasa (gramos)	Diferencia entre pesos iniciales y con biomasa	%Acumulado	Peso limpio con biodegradación	% Biodegradación
<i>RSZ4M5-Aspergillus sp</i>	1,0263	1,0264	1,00E-04	0,01	1,0262	0,01
<i>RSZ1M14-Fusarium sp</i>	1,0037	1,0302	0,0265	2,64	1,0038	-0,01
<i>RSZ3M3-Penicillium sp</i>	1,0038	1,0050	0,0012	0,12	1,0037	0,01
<i>RSZ3M10-Trichoderma sp</i>	1,0177	1,0331	0,0154	1,51	1,0176	0,01
<i>RSZ2M1-Fusarium sp</i>	1,0034	1,0091	0,0057	0,57	1,0037	-0,03
<i>RSZ1M13-Fusarium sp</i>	1,0079	1,0442	0,0363	3,60	1,0071	0,08
<i>Y1-Trichoderma sp</i>	1,0124	1,0201	0,0077	0,76	1,0023	1,00
<i>RSZ4M7-Aspergillus sp</i>	1,0119	1,0142	0,0023	0,23	1,0113	0,06
<i>J1-Trichoderma sp</i>	1,0127	1,0641	0,0514	5,08	1,0127	0,00
<i>RSZ1M3-Penicillium sp</i>	1,0011	1,0136	0,0125	1,25	1,0002	0,09
<i>RSZ2M5-Mucor sp</i>	1,0229	1,2623	0,2394	23,40	1,0229	0,00
<i>RSZ4M8-Trichoderma sp</i>	1,0217	1,0336	0,0119	1,16	1,0215	0,02
<i>RSZ4M3-Fusarium sp</i>	1,0247	1,0663	0,0416	4,06	1,0243	0,04
<i>RSZ3M15-Penicillium sp</i>	1,0249	1,0329	0,0080	0,78	1,0255	-0,06
<i>RSZ4M6-Aspergillus sp</i>	1,0261	1,0647	0,0386	3,76	1,0260	0,01

Nota: Se muestran los resultados obtenidos en el primer mes de tratamiento con cada una de las cepas, 13 cepas aisladas del relleno sanitario de Pichacay y 2 del cepario de la Universidad Politécnica Salesiana (*J1-Trichoderma sp* y *J1-Trichoderma sp*).

Elaborado por: Los autores.

Tabla 21: Resultados segundo mes de tratamiento.

Código de la cepa	Pesos iniciales (gramos)	Pesos con biomasa (gramos)	Diferencia entre pesos iniciales y con biomasa	%Acumulado	Peso limpio con biodegradación	% Biodegradación
<i>RSZ4M5-Aspergillus sp</i>	1,0054	1,0058	0,0004	0,04	1,0056	-0,02
<i>RSZ1M14-Fusarium sp</i>	1,0191	1,0453	0,0262	2,57	1,0192	-0,01
<i>RSZ3M3-Penicillium sp</i>	1,0134	1,0182	0,0048	0,47	1,0134	0,00
<i>RSZ3M10-Trichoderma sp</i>	1,0293	1,0319	0,0026	0,25	1,0039	2,47
<i>RSZ2M1-Fusarium sp</i>	1,0122	1,0185	0,0063	0,62	1,0123	-0,01
<i>RSZ1M13-Fusarium sp</i>	1,0235	1,0289	0,0054	0,53	1,0230	0,05
<i>Y1-Trichoderma sp</i>	1,0221	1,0120	-0,0101	-0,99	1,0073	1,45
<i>RSZ4M7-Aspergillus sp</i>	1,0257	1,0309	0,0052	0,51	1,0224	0,32
<i>J1-Trichoderma sp</i>	1,0051	1,0745	0,0694	6,90	1,0047	0,04
<i>RSZ1M3-Penicillium sp</i>	1,0143	1,0200	0,0057	0,56	1,0144	-0,01
<i>RSZ2M5-Mucor sp</i>	1,0174	1,2215	0,2041	20,06	1,0171	0,03
<i>RSZ4M8-Trichoderma sp</i>	1,0218	1,0178	-0,0040	-0,39	1,0178	0,39
<i>RSZ4M3-Fusarium sp</i>	1,0067	1,0149	0,0082	0,81	1,0061	0,06

<i>RSZ3M15-Penicillium sp</i>	1,0227	1,0617	0,0390	3,81	1,0229	-0,02
<i>RSZ4M6-Aspergillus sp</i>	1,0121	1,0498	0,0377	3,72	0,9866	2,52

Nota: Se muestran los resultados del segundo mes, donde la cepa que biodegradó mayor porcentaje es de 2,52 % para *RSZ4M6-Aspergillus sp*.

Elaborado por: Los autores.

Tabla 22: Resultados tercer mes de tratamiento.

Código de la cepa	Pesos iniciales (gramos)	Pesos con biomasa (gramos)	Diferencia entre pesos iniciales y con biomasa	%Acumulado	Peso limpio con biodegradación	% Biodegradación
<i>RSZ4M5-Aspergillus sp</i>	1,0209	1,0219	0,0010	0,10	1,0213	-0,04
<i>RSZ1M14-Fusarium sp</i>	1,0055	1,0529	0,0474	4,71	1,0060	-0,05
<i>RSZ3M3-Penicillium sp</i>	1,0106	1,0143	0,0037	0,37	1,0101	0,05
<i>RSZ3M10-Trichoderma sp</i>	1,0240	1,0231	-0,0009	-0,09	0,9965	2,69
<i>RSZ2M1-Fusarium sp</i>	1,0097	1,0293	0,0196	1,94	1,0077	0,20
<i>RSZ1M13-Fusarium sp</i>	1,0135	0,9657	-0,0478	-4,72	0,9533	5,94
<i>Y1-Trichoderma sp</i>	1,0067	0,9938	-0,0129	-1,28	0,9915	1,51
<i>RSZ4M7-Aspergillus sp</i>	1,0041	1,0088	0,0047	0,47	1,0004	0,37
<i>J1-Trichoderma sp</i>	1,0296	1,0885	0,0589	5,72	0,9783	4,98
<i>RSZ1M3-Penicillium sp</i>	1,0003	1,0116	0,0113	1,13	1,0009	-0,06
<i>RSZ2M5-Mucor sp</i>	1,0047	1,0926	0,0879	8,75	0,9805	2,41
<i>RSZ4M8-Trichoderma sp</i>	1,0010	1,0186	0,0176	1,76	0,9970	0,40
<i>RSZ4M3-Fusarium sp</i>	1,0188	1,0232	0,0044	0,43	1,0113	0,74
<i>RSZ3M15-Penicillium sp</i>	1,0188	1,1101	0,0913	8,96	1,0190	-0,02
<i>RSZ4M6-Aspergillus sp</i>	1,0244	1,2470	0,2226	21,73	0,9715	5,16

Nota: En el tercer mes los porcentajes más altos son 5,94% para *RSZ1M13-Fusarium sp* y 5,16% para *RSZ4M6-Aspergillus sp* del grupo de hongos aislados del relleno sanitario Pichacay y 4,98% para *J1 Trichoderma sp* del cepario de la Universidad Politécnica Salesiana.

Elaborado por: Los autores.

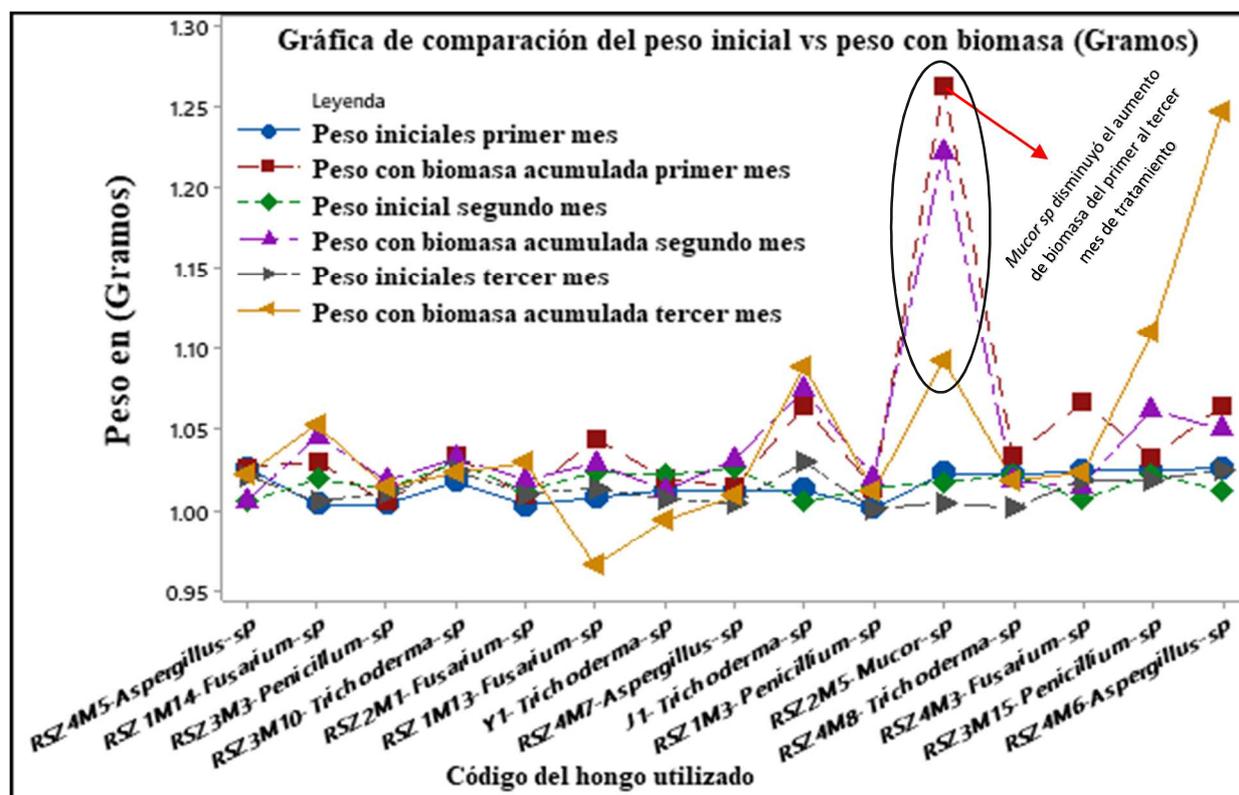


Gráfico 13: Peso inicial del polietileno de baja densidad y peso con biomasa desde el primer mes hasta el tercer mes de tratamiento.

Nota: los colores rojos, morados y amarillos representan el incremento de biomasa sobre la perla de polietileno, en cada uno de los meses, *Mucor sp* tiene un aumento considerable en el primer mes y disminuye el tiempo que dura el experimento, mientras que *RSZ4M6-Aspergillus sp* aumenta su biomasa en el tercer mes de tratamiento.

Fuente: Los autores.

3.4.5 Análisis y comparación de las muestras de LDPE residual (polietileno biodegradado) después de 3 meses.

En el gráfico 14, el color verde representa el peso final luego de tres meses de tratamiento, comparados con los colores azules que representan los pesos del primer mes y los colores rojos el segundo mes. Los hongos aislados que presentan mayor biodegradación en función del peso seco son: *RSZ1M13-Fusarium sp*, reduce el peso de las perlas de 1,0135 a 0,9533 gramos, y *RSZ4M6-Aspergillus sp*, reduce el peso de las perlas de 1,0244 a 0,9715 gramos. La cepa *J1-Trichoderma sp*, del cepario de la Universidad Politécnica Salesiana reduce el peso de las perlas de 1,0296 a 0,9783 gramos en los 90 días de tratamiento. La cepa *RSZ2M5-Mucor sp*, aunque presenta mayor crecimiento en biomasa sobre el polietileno en el primer mes (gráfico 13), al momento de la limpieza y pesado del LDPE, presenta una reducción de 1,0047 a 0,9805 gramos. Adicional, en el gráfico 15 se comparan el peso inicial y el peso final con biodegradación.

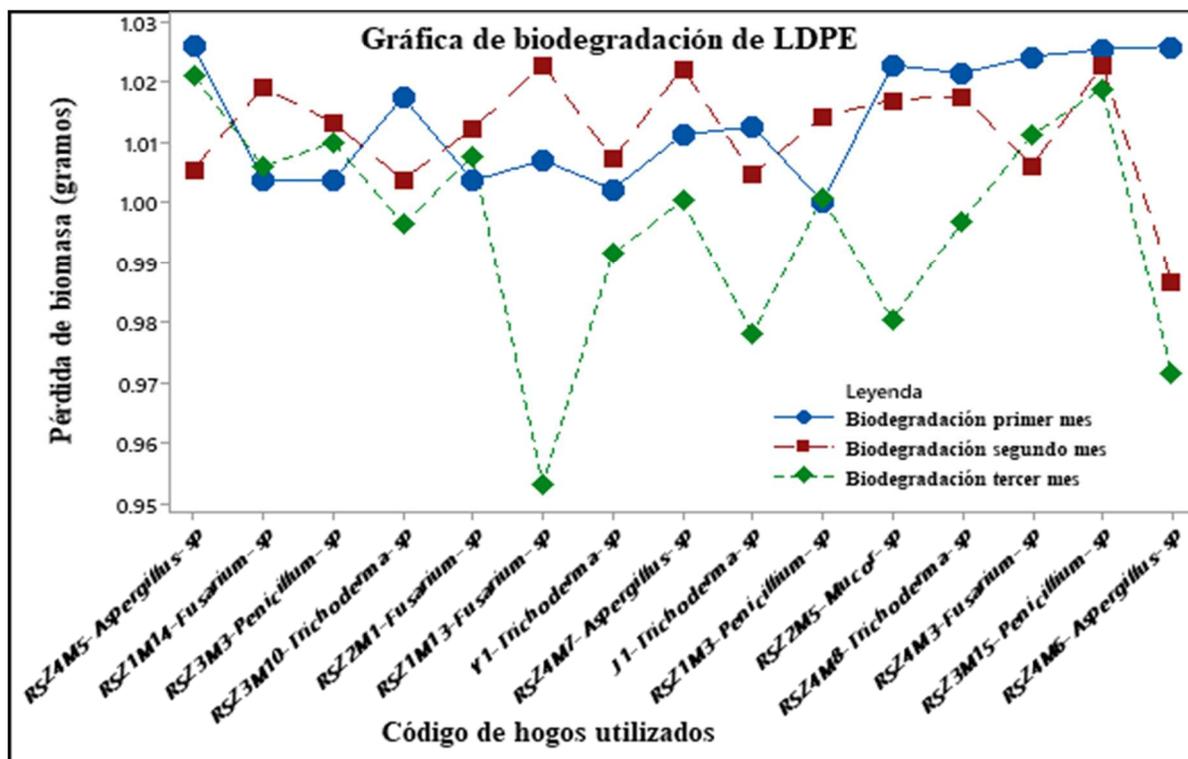


Gráfico 14: Resultados de Biodegradación al tercer mes de tratamiento.

Nota: Se representa la reducción de peso del polietileno en cada uno de los meses, de color azul se representa el primer mes de tratamiento, el color rojo el segundo mes y el color verde el tercer mes de tratamiento.

Fuente: Los autores

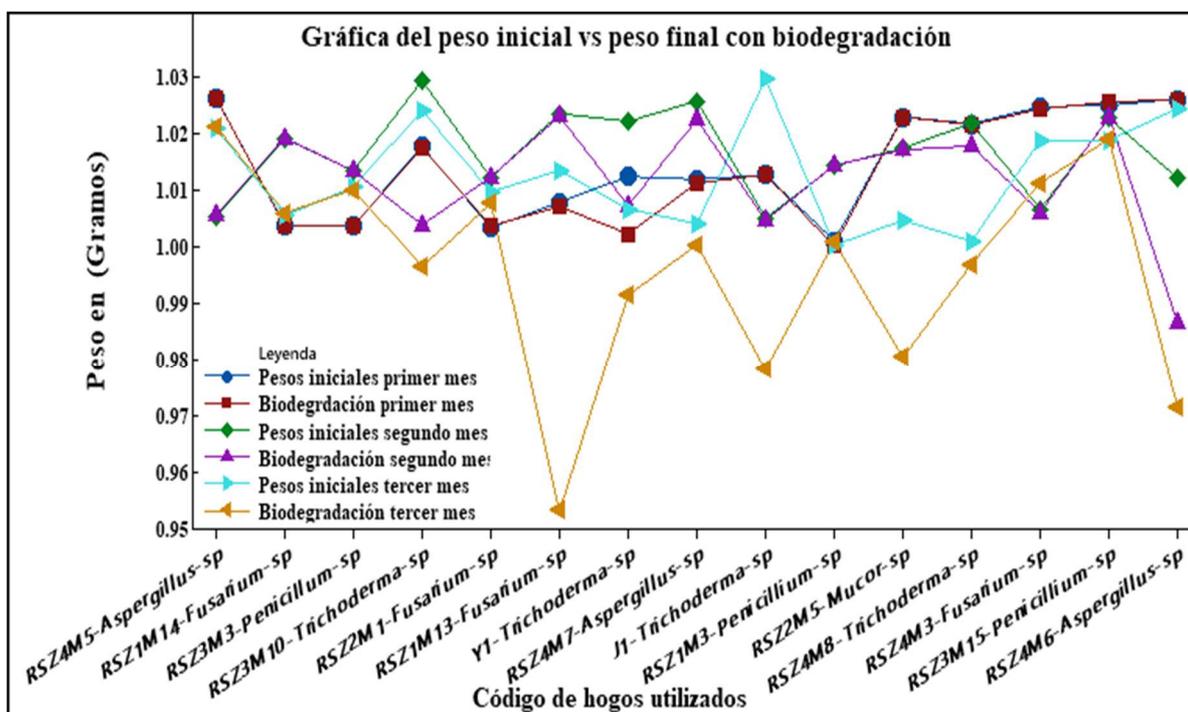


Gráfico 15: Comparación del peso inicial del polietileno y el peso final con biodegradación.

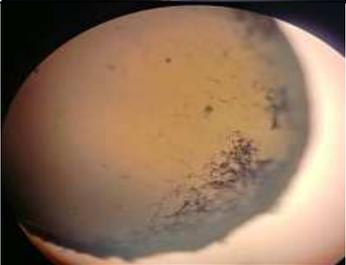
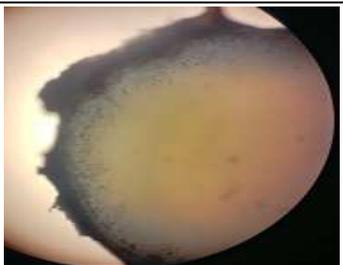
Nota: El color amarillo representa los resultados del tercer mes de tratamiento, se observa una importante reducción en el peso inicial (color azul) de las perlas de polietileno.

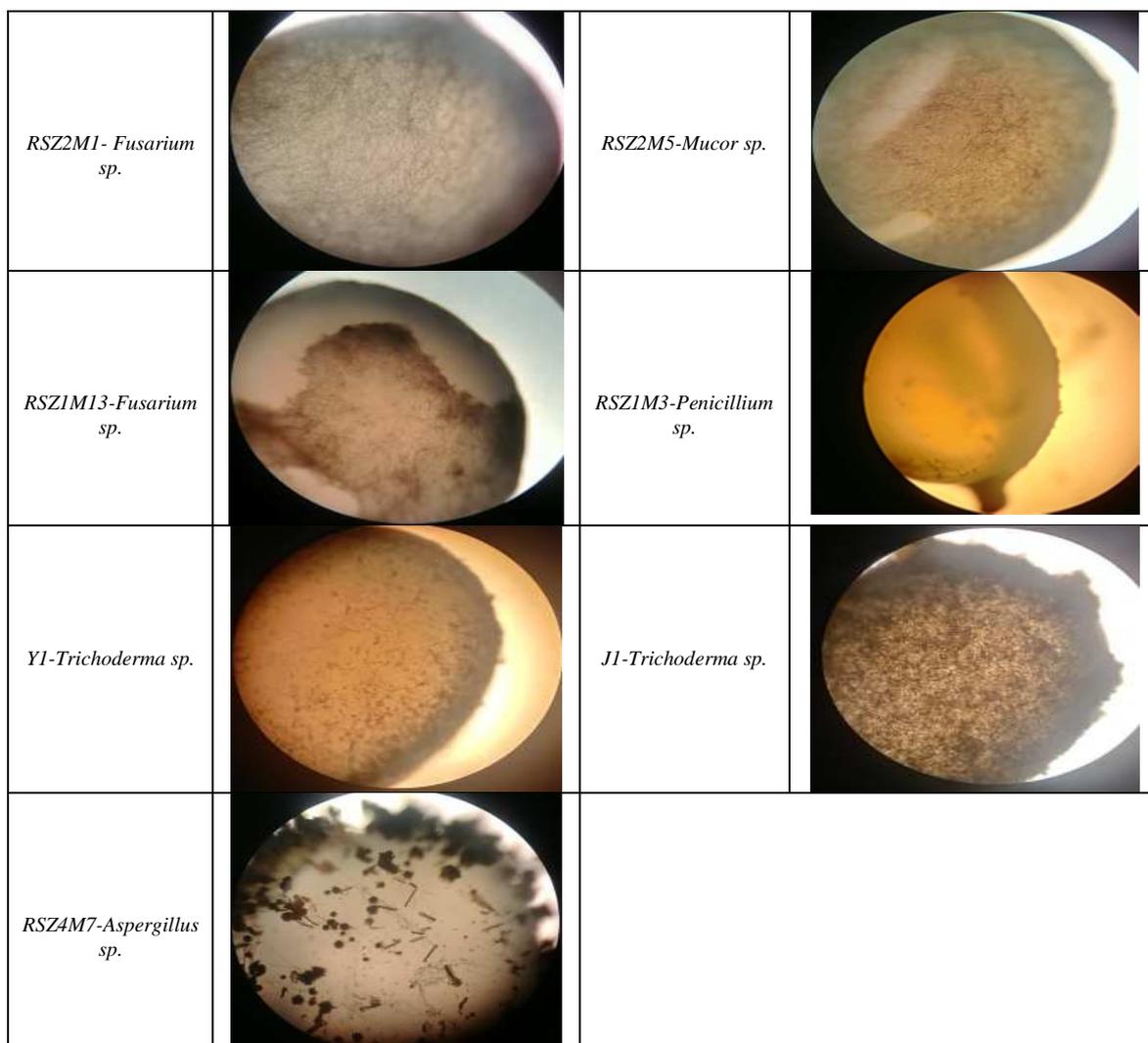
Fuente: Los autores.

3.4.6 Observación de la biopelícula formada sobre el polietileno mediante un microscopio electrónico.

Durante el proceso de tratamiento, las micrografías obtenidas en el microscopio revelaron la adhesión de las hifas de los hongos a la superficie de la perla, acumulando biomasa, para dar paso al crecimiento poblacional utilizando el polímero como única fuente de carbono, induciendo finalmente cambios en la estructura y peso inicial de la perla de polietileno (LDPE), lo mencionado anteriormente concuerda con lo descrito por (Gómez & Oliveros, 2016) (tabla 23).

Tabla 23: Formación de biopelícula sobre la superficie de las perlas de polietileno.

Código y nombre del hongo	Imagen de Película formada sobre la perla	Código y nombre del hongo	Imagen de Película formada sobre la perla
RSZ4M5- <i>Apergillus</i> sp.		RSZ4M6- <i>Aspergillus</i> sp.	
RSZ1M14- <i>Fusarium</i> sp.		RSZ3M15- <i>Penicillium</i> sp.	
RSZ3M3- <i>Penicillium</i> sp.		RSZ4M3- <i>Fusarium</i> sp.	
RSZ3M10- <i>Trichoderma</i> sp.		RSZ4M8- <i>Trichoderma</i> sp.	



Nota: La tabla muestra las micrografías, tomadas al tercer mes de tratamiento en un microscopio electrónico marca Micros Austria modelo MCX50 a una resolución 10x (aumento de 10 veces). Las micrografías, se muestran como elipses dada la forma de las perlas; de acuerdo a lo antes mencionado, se pretende mostrar una evidencia de que existe la formación de una biopelícula sobre la superficie del polietileno, donde las cepas seleccionan el polímero como fuente de carbono, para sus procesos celulares.

Elaborado por: Los autores.

3.4.7 Valoración de la capacidad biodegradadora de los hongos filamentosos.

En el tercer mes de tratamiento, los hongos que mejores resultados presentaron en función del porcentaje se mencionan a continuación: *RSZ1M13-Fusarium sp* 5,94%, *RSZ4M6-Aspergillus sp* 5,16%, *RSZ2M5-Mucor sp.* 2,41%, *RSZ3M10-Trichoderma sp* 2,69%, *RSZ4M3-Fusarium sp* 0,74%, que son hongos aislados del relleno sanitario de Pichacay del cantón Cuenca. Para el código *J1-Trichoderma sp* del cepario de la Universidad Politécnica Salesiana, se logró un porcentaje de biodegradación de 4,98%, todos estos resultados se alcanzaron, después de 90 días de tratamiento a 26°C de temperatura (gráfico 16) y (tabla 24).

Tabla 24: Resumen de las cepas que presentaron mayores porcentajes de biodegradación.

Código de la cepa	% de biodegradación del primer mes	% de biodegradación del segundo mes	% de biodegradación del tercer mes
<i>RSZ1M13-Fusarium sp</i>	0,08	0,05	5,94
<i>RSZ4M6-Aspergillus sp</i>	0,01	2,52	5,16
<i>J1-Trichoderma sp</i>	0	0,04	4,98
<i>RSZ3M10-Trichoderma sp</i>	0,01	2,47	2,69
<i>RSZ2M5-Mucor sp</i>	0	0,03	2,41
<i>Y1-Trichoderma sp</i>	1	1,45	1,51
<i>RSZ4M3-Fusarium sp</i>	0,04	0,06	0,74
<i>RSZ4M8-Trichoderma sp</i>	0,02	0,39	0,4
<i>RSZ4M7-Aspergillus sp</i>	0,06	0,32	0,37

Nota: La tabla muestra las principales cepas de hongos que presentan mayores porcentajes de biodegradación.
Elaborado por: Los autores.

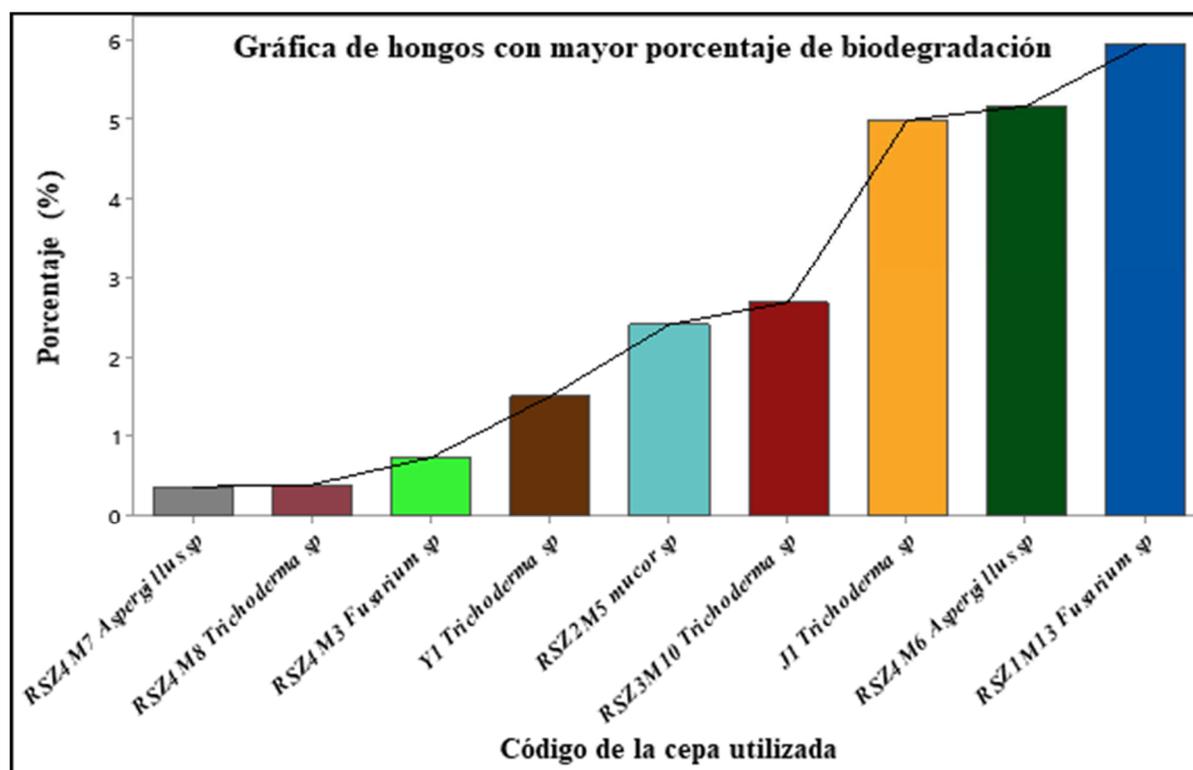


Gráfico 16: Porcentaje de biodegradación en los 90 días de tratamiento.

Nota: La gráfica representa los hongos que tienen mayor porcentaje de biodegradación, el diagrama de barras está en orden creciente donde *RSZ1M13-Fusarium sp* tiene mayor porcentaje de biodegradación (barra de color azul) seguidos por *RSZ4M6-Aspergillus sp* (barra de color verde) y *J1 Trichoderma sp* (barra de color naranja).

Fuente: Los autores.

Discusión

- Las especies RSZ1M13-*Fusarium sp* y RSZ4M3-*Fusarium sp*; degradan respectivamente 5,94% y 0,74%, estos resultados son importantes, cotejados a los realizados en el mismo período de tiempo, pero con láminas de polietileno y cultivos en medio de sales minerales, donde la biodegradación de LDPE mediante *Fusarium sp* solo obtuvo un 0,7% del polietileno inicial (Sowmya et al., 2015).
- Los resultados obtenidos en el presente estudio indican que, J1-*Trichoderma sp* del cepario de la UPS presenta una degradación del 4,98%, que es semejante al realizado por la cepa de *Trichoderma viride*, que se incubó utilizando medio de sales minerales y como única fuente de carbono partículas de LDPE, durante 45 días de cultivo, logrando una degradación del 5,13% del peso inicial (Munir et al., 2018).
- La cepa RSZ4M6-*Aspergillus sp*, alcanza a degradar 5,16% del LDPE, el resultado es comparable con la cepa *Aspergillus nomius* que degradó 6,63% de polietileno en 45 días de incubación en medio mineral y como fuente de carbono LDPE en polvo (Munir et al., 2018).
- La especie RSZ2M5-*Mucor sp*, presenta biodegradación del 2,41% en peso seco de LDPE, un porcentaje menor comparado con la biodegradación del 20% presentada por la cepa *Mucor sp*, durante 2 meses (Iparraguirre Quispe & Vivanco López, 2015).
- Las cepas RSZ3M10-*Aspergillus sp* y RSZ4M7-*Aspergillus sp*; alcanzan porcentajes de degradación de 2,69% y 0,37%, estos resultados son notables, en comparación al estudio realizado en los rellenos sanitarios cercanos a la ciudad de Addis Abeba en Etiopía, donde en 80 días, las cepas aisladas *Aspergillus carneus* y *Aspergillus ochraceus*; presentaron porcentajes de biodegradación de 0,63% y 0,11% respectivamente (Tsegaye, 2016).

- El espectro FTIR, revela la posible formación de nuevos grupos funcionales: ácidos carboxílicos, aldehídos, cetonas, aromáticos, alcoholes, ésteres y éteres en diferentes frecuencias e indica la capacidad de degradación de las enzimas involucradas (Sowmya et al., 2014) probablemente enzimas de lacasa de manganeso, peroxidasa de manganeso y lignina peroxidasa descritas por (Gómez-Méndez et al., 2018), (Mukherjee & Kundu, 2014), (Rodrigues da Luz et al., 2013). En consecuencia, el metabolismo microbiano destruye la estructura original estable e hidrófoba del polímero al inducir enlaces inestables o grupos oxidados (Hou et al., 2019).
- Los análisis realizados a las muestras de LDPE en el FTIR demostraron que, las muestras incubadas con RSZ1M13-*Fusarium sp.*, RSZ4M6-*Aspergillus sp.*, RSZ2M5-*Mucor sp.* y Y1- *Trichoderma sp.*, cuyas absorbancias se redujeron significativamente, son indicativos de la biodegradación efectuada (Islami, Tazkiaturrizki, & Rinanti, 2019), lo que demuestra la capacidad de los microorganismos de degradar el plástico LDPE utilizándolo como fuente de carbono (Dwicania, Rinanti, & Fachrul, 2019).

Conclusiones

- En el presente estudio, se aislaron 13 cepas fúngicas como microorganismos potenciales degradadores de polietileno de baja densidad (LDPE). El resultado de biodegradación se confirmó por la colonización fúngica en la superficie de perlas de LDPE y la reducción en porcentaje de la masa, lo que manifiesta la gran posibilidad de encontrar microorganismos con la capacidad de degradar polietileno en condiciones *in vitro*.
- Los resultados utilizando los hongos aislados del relleno sanitario de Pichacay-Cuenca durante 90 días de tratamiento revelaron que RSZ1M13-*Fusarium sp* y RSZ4M6 *Aspergillus sp* son las cepas más aptas para degradar polietileno de baja densidad (LDPE), con un porcentaje de pérdida de peso de 5,94 y 5,16 % en el mismo orden, las cepas RSZ3M10-*Trichoderma sp*, RSZ2M5-*Mucor sp*, RSZ4M3-*Fusarium sp*, RSZ4M8-*Trichoderma sp* y RSZ4M7-*Aspergillus sp* presentan porcentajes de biodegradación de 2,69%, 2,41%, 0,74%, 0,40% y 0,37 % respectivamente, si bien estos porcentajes son menores, representan un indicativo de que los microorganismos pueden atacar los polímeros, alterando sus propiedades y transformando su integridad.
- Los hongos utilizados del cepario de la Universidad Politécnica Salesiana presentan porcentajes de biodegradación de 4,98% y 1,51 % para J1-*Trichoderma sp* y Y1-*Trichoderma sp* respectivamente, es evidente que algunas cepas presentan mayor afinidad a biodegradar polietileno, sin embargo, no se descarta que las otras cepas aisladas sean eficientes, se debería someter a más tiempo de tratamiento, además, analizar otro tipo de medio de cultivo, y sobre todo evaluar los parámetros físico químicos para su desarrollo.
- Mediante un microscopio electrónico se demostró la formación de una biopelícula formada por hifas que se fijaron a la superficie de la perla de polietileno, al momento

de limpiar dichas muestras, esta biopelícula disminuye el peso inicial de las perlas y en otras muestras el peso se mantiene. Según (Gajendiran et al., 2016) el incremento de biomasa sobre el polietileno produce una pérdida de integridad del polímero lo que conduce a la pérdida de peso, esta afirmación concuerda con los análisis realizados en este estudio.

- La degradación del polietileno, se corroboró mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), que se realizó para analizar el interferograma resultante del LDPE después de 90 días de incubación, y para confirmar la biodegradación en términos de cambios en las estructuras del polímero.
- Las comparaciones entre los espectros resultantes del análisis FTIR, evidenciaron la formación y desaparición de grupos funcionales, relacionado al porcentaje de degradación de cada aislado fúngico. Es decir, las cepas que mayor porcentaje de biodegradación presentan, son las que demuestran mayor formación y desaparición de grupos funcionales, a diferencia de las de menor porcentaje, donde los porcentajes de degradación se relacionan al aumento y disminución en las longitudes onda.
- La investigación y comprensión del sistema enzimático, involucrado en el proceso de biodegradación de las presentes cepas fúngicas, proporcionaría una idea de su rol en la biodegradación de polietileno (PE), y su potencial aplicación *in situ*. Como la acumulación de plásticos en el medio ambiente es una amenaza grave, estas enzimas facilitarían una solución para minimizar y reducir la presencia de polímeros en el medio ambiente.

Recomendaciones

- Para futuros estudios que se basen en este proyecto, se recomienda realizar análisis en laboratorios certificados de microscopía electrónica de barrido (SEM) para observar de forma más detallada el deterioro de la superficie del polímero en cuestión.
- Realizar la identificación molecular de los hongos aislados del relleno sanitario y con mayor capacidad de biodegradación con la finalidad de proyectar nuevos estudios basados en la degradación de polímeros.
- Enfocar este proyecto con ensayos a nivel de la actividad enzimática desarrollada por los hongos y mejorar el proceso de biodegradación.
- Trabajar con temperaturas más altas que, de acuerdo a la teoría, acelerarían los procesos de crecimiento de los hongos y por tanto el proceso de biodegradación.
- Realizar el proceso de biodegradación a partir de otros tipos de polímeros como el poliestireno (PS), polipropileno (PP), politereftalato de etileno (PET) o poliuretano (PU) con el fin de determinar la posibilidad de utilizar hongos filamentosos para procesos de biodegradación en otro tipo de polímeros.
- Repetir este estudio, con el objetivo de degradar microplásticos en diferentes ecosistemas como el acuático.
- Realizar ensayos con fundas plásticas utilizadas como empaques primarios y fundas biodegradables para comparar si los procesos de biodegradación son mayores, a diferencia de utilizar polímero puro.
- Establecer convenios entre instituciones públicas que permitan desarrollar nuevos proyectos investigativos, basados en los conocimientos y habilidades adquiridas por los estudiantes en la carrera.

Bibliografía

- Abascal, E., & Grande Esteban, I. (2005). *Análisis de encuestas*. ESIC Editorial.
- Acosta Avilés, J. A., & Jiménez Ballesta, R. (2017). *Introducción a la contaminación de suelos*. Mundi-Prensa.
- Acurio Ramiro et al. (2017). *AISLAMIENTO, CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE Trichoderma spp. COMO PROMOTOR DE CRECIMIENTO VEGETAL EN PASTURAS DE RAYGRASS (Lolium perenne) Y TRÉBOL BLANCO (Trifolium repens)*.
- Advisors, D., de Wit, W., Hamilton, A., Scheer, R., & Stakes, T. (2019). Solución al Plástico: Contaminación Asumiendo Responsabilidades. *WWF - World Wide Fund for Nature*.
- Afiya, M. M. S. and H., & I. (2019). Identification and Isolation of Trichoderma spp. - Their Significance in Agriculture, Human Health, Industrial and Environmental Application Identification and Isolation. *WEB OF SCIENCE*.
- Aldabe, Bonazzola, Aramendía, Lacreu, Aldabe, S., & Aramendia, P. (2004). *Química 2. Química en acción*. Ediciones Colihue SRL.
- Allen, N. S., & Edge, M. (1992). *Fundamentals of Polymer Degradation and Stabilization* (p. 201). p. 201.
- Allinger, N. L., Cava, M. P., De Jongh, D. C., Johnson, C. R., Lebel, N. A., & Stevens, C. L. (1988). *Química Orgánica*. Editorial Reverté, S.A.
- Ameen, F., Moslem, M., Hadi, S., & Al-Sabri, A. E. (2015). Biodegradation of low density polyethylene (LDPE) by mangrove fungi from the red sea coast. *Progress in Rubber, Plastics and Recycling Technology*, 31(2), 125–144.
- Amir, S., Jouraiphy, A., Meddich, A., El Gharous, M., Winterton, P., & Hafidi, M. (2010). Structural study of humic acids during composting of activated sludge-green waste: Elemental analysis, FTIR and ¹³C NMR. *Journal of Hazardous Materials*, 177(1–3), 524–529. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.12.064>
- Andrady, A. L. (2003). *Plastics and the Environment*. Wiley-Interscience.
- Andrady, A. L., & Neal, M. A. (2009). Applications and societal benefits of plastics. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 1977–1984. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0304>
- Arias, E., & Piñeros, P. (2008). *Aislamiento e identificación de hongos filamentosos de muestras de suelo de los paramos de Guasca y Cruz Verde*.
- Aryal, S. (2018). Potato Dextrose Agar (PDA)- Principle, Uses, Composition, Procedure and Colony Characteristics. *Microbiology Info.Com*.
- Audesirk, T., Audesirk, G., & Byers, B. E. (2003). *Biología: la vida en la tierra*. Pearson Educación.
- Awasthi, S., Srivastava, N., Singh, T., Tiwary, D., & Mishra, P. K. (2017). Biodegradation of thermally treated low density polyethylene by fungus Rhizopus oryzae NS 5. *3 Biotech*, 7(1). <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0699-4>
- Bardají, D. K. R., Furlan, J. P. R., & Stehling, E. G. (2019). Isolation of a polyethylene degrading Paenibacillus sp. from a landfill in Brazil. *Archives of Microbiology*, 0(0), 0.

<https://doi.org/10.1007/s00203-019-01637-9>

- Barros, Y. (2016). *AVALIAÇÃO DE FATORES BIÓTICOS E ABIÓTICOS NO CRESCIMENTO E ESPORULAÇÃO DE GENÓTIPOS TROPICAIS DE Trichoderma spp. YARA*.
- Bautista Zúñiga, F. (2004). *Técnicas de muestreo para manejadores de recursos naturales*. (U. N. A. de México, Ed.). México D.F.: Conacyt.
- Bhargava, R., Wang, S. Q., & Koenig, J. L. (2003). FTIR microspectroscopy of polymeric systems. *Advances in Polymer Science*. <https://doi.org/10.1007/b11052>
- Billmeyer, F. W. (1975). *Ciencia de los polímeros*. Barcelona: Reverté, S.A.
- Billmeyer, F. W., & Guerra, A. (1975). *Ciencia de los polímeros*. Reverté.
- Birkner, N., & Wang, Q. (2014). How an FTIR Spectrometer Operates. *UC Davis ChemWiki*.
- Boerger, C. M., Lattin, G. L., Moore, S. L., & Moore, C. J. (2010). Plastic ingestion by planktivorous fishes in the North Pacific Central Gyre. *Marine Pollution Bulletin*, 60(12), 2275–2278. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.08.007>
- Bonifaz, A. (2012). *Micología Médica Básica*. (4ta ed.; M. Hill, Ed.).
- BRASKEM. (2015). *Ficha técnica*. 7, 7–8.
- Buceta Fernández, J., & Koroutcheva, E. (2000). *Temas de biofísica*. UNED - Universidad Nacional de Educación a Distancia.
- Callister, W. D., Molera Solà, P., & Anglada Gomila, M. J. (2007). *Introducción a la ciencia e ingeniería de los materiales 2*. Barcelona: Reverté, S.A.
- Carrascosa, A. V. (2011). *Los microbios que comemos*. CSIC.
- Carrillo, L. (2003). *Microbiología Agrícola*. 1–6.
- Cepero, M. C., Restrepo, S., & Franco, A. E. (2012). *Biología de hongos*. Universidad de los Andes.
- Chavez, M. (2006). *Produccion de Trichoderma sp y evaluacion de su efecto en cultivo de crisantemo*. 1–9.
- Cobos Maldonado, C. M. (2011). *DISEÑO DE UN SISTEMA DE EXTRUSION-PELETIZADO PARA EL PROCESAMIENTO DE LOS RESIDUOS PLÁSTICOS PARA LA EMPRESA MUNICIPAL DE LA CIUDAD DE CUENCA EMAC*.
- Condalab. (2019). *Agar Extracto de Malta*. 1–2.
- Costa, J. M. (2005). *Diccionario de química física*. Ediciones Díaz de Santos.
- CS, U. S. C. S. (2012). Doing Business in Ecuador: 2012 Country Commercial Guide for U.S. Companies. In *Country Commercial Guide for U.S. Companies*.
- Curtis, H., & Schneek, A. (2008). Curtis. Biología. In *Editorial medica panamericana*.
- Dela Torre, D. Y., Delos Santos, L., Reyes, M. L., & Baculi, R. (2018). Biodegradation of low-density polyethylene by bacteria isolated from serpentinization-driven alkaline spring. *Philippine Science Letters*, 11, 1–12.

- Des Abbayes, H., Chadefaud, M., Feldmann, J., De Ferré, Y., Gausse, H., Grassé, P., & Prévot, A. (1989). *Botánica: vegetales inferiores*. Reverte.
- Dhingra, O. D., & Sinclair, J. B. (1985). Basic plant pathology methods. *Basic Plant Pathology Methods*.
- Domínguez Romero et al. (2013). Aislamiento y purificación del hongo ectomicorrízico *helvella lacunosa* en diferentes medios de cultivo. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 16(1), 51–59.
- Dutta, A. (2017). Fourier Transform Infrared Spectroscopy. In *Spectroscopic Methods for Nanomaterials Characterization*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46140-5.00004-2>
- Dwicania, E., Rinanti, A., & Fachrul, M. F. (2019). Biodegradation of LLDPE plastic by mixed bacteria culture of *Pseudomonas aeruginosa* and *Brevibacterium* sp. *Journal of Physics: Conference Series*, 1402(2), 0–6. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1402/2/022105>
- EMAC, E. P. M. de A. de C. (2014). Reciclaje | EMAC - EMPRESA PÚBLICA MUNICIPAL DE ASEO DE CUENCA.
- EMAC, E. P. M. de A. de C. (2017). Resumen 2006-2016.
- Emanuel, B. (1987). *Chemical Physics of Polymer Degradation and Stabilization (New Concepts in Polymer Science)*. CRC Press.
- Estrada Paneque, A., Gallo González, M., & Nuñez Arroyo, E. (2016). Contaminación Ambiental, Su Influencia En El Ser Humano, En Especial: El Sistema Reproductor Femenino. *Revista Universidad y Sociedad*, 8(3), 80–86.
- Eubeler, J. P. (2010). *Biodegradation of Synthetic Polymers in the Aquatic Environment*. Bremen.
- FEITOSA, Y. B. (2000). Infecciones Causadas por el Género *Fusarium*. *Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 6. Retrieved from <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/micologia/fusarium.pdf>
- Fernández Ferrer, J., & Pujol Cerrera, M. (1992). *Iniciación a la física*. Reverté.
- Forbes, B. A. (2009). *Diagnóstico Microbiológico*. (E. M. Panamericana, Ed.).
- Franquet Bernis, J. M. (2005). *Cálculo hidráulico de las conducciones libres y forzadas una aproximación de los métodos estadísticos*. 590.
- FTIR. (2011). In *Encyclopedia of Astrobiology*. https://doi.org/10.1007/978-3-642-11274-4_3256
- Gaggino, R. (2008). Ladrillos y placas prefabricadas con plásticos reciclados aptos para la autoconstrucción. *Revista INVI*, 23(63), 137–163.
- Gajendiran, A., Krishnamoorthy, S., & Abraham, J. (2016). Microbial degradation of low-density polyethylene (LDPE) by *Aspergillus clavatus* strain JASK1 isolated from landfill soil. *3 Biotech*, 6(1), 1–6. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0394-x>
- Galgani, F., Pham, C. K., & Reisser, J. (2017). *Plastic Pollution* (F. M. SA, Ed.). Frontiers Media SA.
- García Cortés, V. (2004). *INTRODUCCIÓN A LA MICROBIOLOGÍA (2a ed.)* (EUNED,

- Ed.). Costa Rica.
- García, M. B., Araluce, C. R., Rubio, Y. C., & Milanés, S. (2004). Efecto de diferentes métodos de desinfección en el establecimiento in vitro de *Guadua angustifolia* Kunth. *Biotecnología Vegetal*, 4(4), 237–242.
- Geissman, T. A. (1973). *Principios de química orgánica*. Reverte.
- Geyer, R., Jambeck, J. R., & Law, K. L. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances*, 3(7), 25–29. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1700782>
- Gnanavel, G., Mohana, V. P., Valli, J., & Kannadasan, T. (2012). Degradation of Plastics Using Microorganisms. *International Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences*, 1(3), 691–694. <https://doi.org/10.1002/hed.20938>
- Gómez-Méndez, L. D., Moreno-Bayona, D. A., Poutou-Piñales, R. A., Salcedo-Reyes, J. C., Pedroza-Rodríguez, A. M., Vargas, A., & Bogoya, J. M. (2018). Biodeterioration of plasma pretreated LDPE sheets by *Pleurotus ostreatus*. *PLoS ONE*, 13(9), 1–28. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203786>
- Gómez, J., & Oliveros, C. (2016). Biodegradación de polietileno de tereftalato por microorganismos aislados de sitios de disposición final de residuos sólidos, Táchira, Venezuela. *Redieluz*, 6(September), 57–62. Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/327944588_BIODEGRADACION_DE_POLIETILENO_DE_TEREFTALATO_POR_MICROORGANISMOS_AISLADOS_DE_SITIOS_DE_DISPOSICION_FINAL_DE_RESIDUOS_SOLIDOS_TACHIRA_VENEZUELA_Polyethylene_terephthalate_Biodegradation_by_microorganism%0Ah
- González, A. (2019). HONGOS ASOCIADOS A LA PUDRICIÓN DEL CACAO *Theobroma cacao* L. EN EL SOCONUSCO, CHIAPAS Y PATOGENICIDAD Y CONTROL IN VITRO DE *Nodulosporium*. Tesis. *Dam World 2015. Second International Dam World Conference*, 73(1), 5–10. <https://doi.org/10.1016/j.jag.2018.07.004>
- González Castro, Y. (2019). *Mejor sin plástico: Guía para llevar una vida sostenible* (P. Editorial, Ed.). Barcelona.
- Grassie, N., & Scott, G. (1988). *Polymer degradation & stabilisation*. Cambridge University Press.
- Gulmine, J. V., Janissek, P. R., Heise, H. M., & Akcelrud, L. (2002). Polyethylene characterization by FTIR. *Polymer Testing*, 21(5), 557–563. [https://doi.org/10.1016/S0142-9418\(01\)00124-6](https://doi.org/10.1016/S0142-9418(01)00124-6)
- Gutow, L., & Bergmann, M. (2018). Contamination of Our Oceans by Plastics, Encyclopedia of the Anthropocene. *Elsevier*, 43–49. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.09976-0>
- Hamid, S. H. (2000). *Handbook of Polymer Degradation, Second Edition*.
- Harman, G. E., & Kubicek, C. P. (1998). *Trichoderma and Gliocladium. Volume 1: Basic Biology, Taxonomy and Genetics*. London, UNITED KINGDOM: CRC Press LLC.
- Harshvardhan, K., & Jha, B. (2013). Biodegradation of low-density polyethylene by marine bacteria from pelagic waters, Arabian Sea, India. *Marine Pollution Bulletin*, 77(1–2), 100–106. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.10.025>

- Hawkins, W. L. (Walter L. (2012). *Polymer Degradation and Stabilization* (D. H. J. Harwood, Ed.). Springer Berlin Heidelberg.
- Hijes, F. C. G. de L., & Lorente, D. J. A. (2004). *Manual básico de corrosión para ingenieros*. EDITUM.
- Hill, J. W., & Kolb, D. K. (1999). *Química para el nuevo milenio* (8va ed.; P. HALL, Ed.). México.
- Hou, L., Xi, J., Chen, X., Li, X., Ma, W., Lu, J., ... Lin, Y. B. (2019). Biodegradability and ecological impacts of polyethylene-based mulching film at agricultural environment. *Journal of Hazardous Materials*, 378(December 2018), 120774. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.120774>
- IBP, I. B. P. (2015). *Ecuador company laws and regulations handbook: Volume 1. Strategic information and basic laws*. Intl Business Pubns Usa.
- Ibrahim, I. N., Maraqa, A., Hameed, K. M., Saadoun, I. M., & Maswadeh, H. M. (2011). Assessment of potential plastic degrading fungi in Jordanian habitats. *Turkish Journal of Biology*, 35(5), 551–557. <https://doi.org/10.3906/biy-0901-9>
- Icochea, T. A. de. (1997). *Enfermedades fungosas y bacterianas de raíces y tubérculos andinos*. Centro Internacional de la Papa.
- INEGI, I. N. de E. y G. (2017). Perfil de la fabricación de productos de plástico.
- Infante, D., Martínez, B., González, N., & Reyes, Y. (2009). MECANISMOS DE ACCIÓN DE Trichoderma FRENTE A HONGOS FITOPATÓGENOS. *Revista de Protección Vegetal.*, 24, 14–21.
- Iparraguirre Quispe, K. del R., & Vivanco López, M. (2015). Aislamiento y caracterización de hongos filamentosos biodegradadores de polietileno de tereftalato y polietileno de baja densidad - ICA. *Universidad Nacional San Luis Gozaga de Ica*.
- Islami, A. N., Tazkiaturrizki, T., & Rinanti, A. (2019). The effect of pH-temperature on plastic allowance for Low-Density Polyethylene (LDPE) by Thiobacillus sp. and Clostridium sp. *Journal of Physics: Conference Series*, 1402(3). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1402/3/033003>
- Kalpakjian, S., & Schmid, S. R. (2002a). *Manufactura, ingeniería y tecnología* (4a ed.; P. EDUCACIÓN., Ed.). Pearson Educación.
- Kalpakjian, S., & Schmid, S. R. (2002b). *Manufactura, ingeniería y tecnología*. Pearson Educación.
- Kausch, H. H., & Anjum, N. (Nishat). (2003). *Radiation effects on polymers for biological use*. Springer.
- Kenneth et al. (2018). CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE *Fusarium*. 42(1), 115–126.
- Koshti, R., Mehta, L., & Samarth, N. (2018). Biological Recycling of Polyethylene Terephthalate: A Mini-Review. *Journal of Polymers and the Environment*, 26(8), 3520–3529. <https://doi.org/10.1007/s10924-018-1214-7>
- Kulicke, W.-M., & Clasen, C. (2004). *Viscosimetry of Polymers and Polyelectrolytes (Springer Laboratory)*. Springer.

- Kunlere, I. O., Fagade, O. E., & Nwadike, B. I. (2019). Biodegradation of low density polyethylene (LDPE) by certain indigenous bacteria and fungi. *International Journal of Environmental Studies*, 76(3), 428–440. <https://doi.org/10.1080/00207233.2019.1579586>
- Kutz, M. (2011). *Applied Plastics Engineering Handbook: Processing and Materials*. Elsevier Science.
- Kyaw, B. M., Champakalakshmi, R., Sakharkar, M. K., Lim, C. S., & Sakharkar, K. R. (2012). Biodegradation of Low Density Polythene (LDPE) by Pseudomonas Species. *Indian Journal of Microbiology*, 52(3), 411–419. <https://doi.org/10.1007/s12088-012-0250-6>
- Lasser, T. (1959). *Botánica general: texto para la enseñanza secundaria y normal*.
- Liñán Carral, C. de. (2015). *Vademécum de productos fitosanitarios y nutricionales 2015*. Ediciones Agrotécnicas.
- Liu, F., Li, J., & Zhang, X. L. (2019). Bioplastic production from wastewater sludge and application. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 344(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/344/1/012071>
- López Fernández, F. J., & Expósito Gázquez, A. (2016). *Administración pública y nuevas tecnologías*. (ACCI (Asoc. Cultural y Científica Iberoameric.), Ed.).
- Lopez Martínez, A., Gómez Galán, M., Sánchez Salinas, S., & Martinez Lao, J. A. (2019). *Tecnología de la fabricación: Apuntes de teoría*. Editorial Universidad de Almería.
- López, N. J. O. R. M. Á. S. (2015). REUTILIZACIÓN DE POLÍMEROS COMO ALTERNATIVA SOCIO AMBIENTAL Y ECONÓMICA EN LA ELABORACIÓN DE ECO BLOQUES. *UNIVERSIDAD DE CUENCA*, 1–88.
- M.K. Rai, G. K. (2017). *Progress in Mycology*. Scientific Publishers.
- Mangiarotti, A., Caretta, G., Nelli, E., & Piontelli, E. (1994). Biodeterioro de materiales plásticos por microhongos. *Boletín Micológico*, 9, 39. <https://doi.org/10.22370/bolmicol.1994.9.0.1100>
- Margaret, E., & Angela, G. (2008). *Practical Manual for Botany: Volume-1*. Daryaganj, INDIA: New Age International Ltd.
- Martínez et al. (2015). Taxonomía polifásica y variabilidad en el género Trichoderma. *MRevista de Protección Vegetal*, 30(5), 11–22.
- Mason, B. J. (1992). Preparation of soil sampling protocols: Sampling techniques and strategies. *Other Information: See Also PB--83-206979*, (July), Medium: X; Size: Pages: (166 p). <https://doi.org/EPA/600/R-92/128>
- Material Economics Sverige AB. (2016). The circular economy - a powerful force for climate mitigation. *Nature*, 531(7595), 435–438. <https://doi.org/10.1038/531435a>
- Mathur, G., Mathur, A., & Prasad, R. (2011). Colonization and degradation of thermally oxidized high-density polyethylene by aspergillus niger (ITCC No. 6052) isolated from plastic waste dumpsite. *Bioremediation Journal*, 15(2), 69–76. <https://doi.org/10.1080/10889868.2011.570281>
- Mathur, G., & Prasad, R. (2012). Degradation of polyurethane by Aspergillus flavus (ITCC

- 6051) isolated from soil. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 167(6), 1595–1602. <https://doi.org/10.1007/s12010-012-9572-4>
- Méndez, C. R., Vergaray, G., Béjar, V. R., & Cárdenas, K. J. (2007). Aislamiento y caracterización de micromicetos biodegradadores de polietileno. *Revista Peruana de Biología*, 13(3), 203–205.
- Mier, T., Toriello, C., & Ulloa, M. (2002). *Hongos microscópicos saprobios y parásitos : métodos de laboratorio*. UAM, Unidad Xochimilco, División de Ciencias Biológicas y de la Salud.
- Mikulášová, M., Košíková, B., Alexy, P., Kačík, F., & Urgelová, E. (2001). Effect of blending lignin biopolymer on the biodegradability of polyolefin plastics. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17(6), 601–607. <https://doi.org/10.1023/A:1012415023385>
- Miranda, M. P. C., Vallespi, R. M. C., Ramírez, M. P. C., León, C. E., Santos, S. E., Morales, M. Á. F., ... Castillo, D. S. del. (2008). *Reciclado Y Tratamiento de Residuos* (UNED, Ed.). Madrid.
- Moiseev, Y. V., & Zaikov, G. E. (1987). *Chemical resistance of polymers in aggressive media*. Consultants Bureau.
- Moncada Jiménez, J. (2005). *Estadística Para Ciencias Del Movimiento Humano*. San José: Editorial de la Universidad de Costa Rica.
- Montazer, Z., Habibi Najafi, M. B., & Levin, D. B. (2018). Microbial degradation of low-density polyethylene and synthesis of polyhydroxyalkanoate polymers. *Canadian Journal of Microbiology*, 65(3), 224–234. <https://doi.org/10.1139/cjm-2018-0335>
- Montoya Villafane, H. H. (2008). *Microbiología basica para el area de la salud y afines*. Editorial Universidad de Antioquia.
- Moore, E. (2016). *Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) : Methods, Analysis, and Research Insights*. In *Chemical Engineering Methods and Technology*. Hauppauge, New York: Nova Science Publishers, Inc.
- Morales, V. R., Alfonso, L. M. B., & Jean-Claude, M. M. (2011). La protección del medio ambiente y la salud, un desafío social y ético actual. *Revista Cubana de Salud Publica*, 37(4), 510–518. <https://doi.org/10.1590/s0864-34662011000400015>
- Moreno et al. (2015). *Aspectos biológicos de la estabilización aeróbica II.1. RED ESPAÑOLA DE COMPOSTAJE* (Madrid, Ed.). S.A. MUNDI-PRENSA LIBROS.
- Moreno Martínez, E., & Benavides Ocampo, C. (1988). *Manual para la identificación de hongos en granos y sus derivados*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Moretti, A. (2009). *TAXONOMY OF FUSARIUM GENUS, A CONTINUOUS FIGHT BETWEEN LUMPERS AND SPLITTERS* (p. 7—13). p. 7—13. Institute of Sciences of Food Production, ISPA-CNR,.
- Muhonja, C. N., Makonde, H., Magoma, G., & Imbuga, M. (2018). Biodegradability of polyethylene by bacteria and fungi from Dandora dumpsite Nairobi-Kenya. *PLoS ONE*, 13(7), 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198446>
- Mukherjee, S., & Kundu, P. P. (2014). Alkaline fungal degradation of oxidized polyethylene

- in black liquor: Studies on the effect of lignin peroxidases and manganese peroxidases. *Journal of Applied Polymer Science*, 131(17), 8982–8990. <https://doi.org/10.1002/app.40738>
- Munir, E., Harefa, R. S. M., Priyani, N., & Suryanto, D. (2018). Plastic degrading fungi *Trichoderma viride* and *Aspergillus nomius* isolated from local landfill soil in Medan. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 126(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/126/1/012145>
- Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (2006). *Microbiología médica*. Mosby.
- Namakforoosh, M. N. (2000). *Metodología de la investigación*. Limusa/Noriega Editores.
- Oosten, T. van, Béringuer, O., & Lorne, A. (2011). *PUR Facts: Conservation of Polyurethane Foam in Art and Design*. In *Cultural Heritage Agency of the Netherlands*. [Amsterdam]: AUP Popular Science.
- Orr, I. G., Hadar, Y., & Sivan, A. (2004). Colonization, biofilm formation and biodegradation of polyethylene by a strain of *Rhodococcus ruber*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 65(1), 97–104. <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1584-8>
- Pancorbo, F. J. (2011). *Corrosión, degradación y envejecimiento de los materiales empleados en la edificación*. Marcombo.
- Pancorbo Floristán, F. J. (2010). *Corrosión, degradación y envejecimiento de los materiales empleados en la edificación* (Marcombo). Barcelona.
- Párraga, T. (2019, May). Unas 176 toneladas de plásticos recuperan en Pichacay. *Unas 176 Toneladas de Plásticos Recuperan En Pichacay. El tiempo*.
- Pascual, M. del R. (2005). *Enfermedades de origen alimentario: su prevención*. Ediciones Díaz de Santos.
- Paucay Ortiz, L. P. (2016). *Biodiversidad fúngica en el suelo del Bosque Protector Aguarongo, Provincia del Azuay-Ecuador*.
- Pintado, P. del R. (2011). *Tratamiento de los residuos sólidos orgánicos que realiza la Empresa Municipal de Aseo de Cuenca*.
- Porres Osante, N., & Ruiz Ruiz, E. (2018). *Microbiología clínica* (Primera Ed). Madrid: Ediciones Paraninfo.
- Posada Bustamante, B. (2012). La degradación de los plásticos. *Revista Universidad EAFIT*, Vol. 30, pp. 67–86.
- Powers-fletcher et al. (2015). *Filamentous Fungi*. 1–29. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.DMIH2-0002-2015>.Correspondence
- Powers-fletcher, M. V, Kendall, B. A., Griffin, A. T., & Hanson, K. E. (2016). Filamentous Fungi. *Microbiology Spectrum*., 1–29. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.DMIH2-0002-2015>.Correspondence
- Prabhawathi, V., Thirunavukarasu, K., & Doble, M. (2014). A study on the long term effect of biofilm produced by biosurfactant producing microbe on medical implant. *Materials Science and Engineering C*, 40, 212–218. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.03.050>
- Quéro, L., Courault, P., Cellière, B., Lorber, S., Jany, J., Puel, O., ... Mounier, J. (2020).

- Application of MALDI-TOF MS to species complex differentiation and strain typing of food related fungi : Case studies with *Aspergillus* section Flavi species and *Penicillium roqueforti* isolates. *Journal Of Food Microbiology*, 86(August 2019), 103311. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.103311>
- R. Pramila. (2012). Biodegradation of low density polyethylene (LDPE) by fungi isolated from marine water– a SEM analysis. *African Journal of Microbiology Research*, 5(28), 5013–5018. <https://doi.org/10.5897/ajmr11.670>
- Raaman, N., Rajitha, N., Jayshree, A., & Jegadeesh, R. (2012). Biodegradation of plastic by *Aspergillus* spp. isolated from polythene polluted sites around Chennai. *J. Acad. Indus. Res*, 1(6), 313.
- Rhodes, C. J. (2019). Solving the plastic problem: From cradle to grave, to reincarnation. *Science Progress*, 102(3), 218–248. <https://doi.org/10.1177/0036850419867204>
- Rijal, N. (2015). Sabouraud Dextrose Agar (SDA): Principle, composition, uses and colony morphology. *Microbeonline*.
- Roaro, D. N. (1975). *Tratado elemental de botánica*.
- Rodrigues da Luz, J. M., Paes, S. A., Nunes, M. D., da Silva, M. de C. S., & Kasuya, M. C. M. (2013). Degradation of Oxo-Biodegradable Plastic by *Pleurotus ostreatus*. *PLoS ONE*, 8(8), 1–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069386>
- S.K. Mohan, S. B. (2015). Studies on Biodegradation of Plastics by *Aspergillus* sp. Isolated from Dye Effluent Enriched Soil. *Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2(12), 1636–1639.
- Sagardoy, M. A., & Mandolesi, M. E. (2004). *Biología del Suelo* (Editorial de la universidad Nacional del Sur., Ed.). Bahía Blanca.
- Sangeetha Devi, R., Rajesh Kannan, V., Nivas, D., Kannan, K., Chandru, S., & Robert Antony, A. (2015). Biodegradation of HDPE by *Aspergillus* spp. from marine ecosystem of Gulf of Mannar, India. *Marine Pollution Bulletin*, 96(1–2), 32–40. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.05.050>
- Sankar Sastry, A., & Sandhya K, B. (2017). *Essentials of Practical Microbiology*. JAYPEE Brothers MEDICAL P.
- Schmitt, J., & Flemming, H. C. (1998). FTIR-spectroscopy in microbial and material analysis. *International Biodeterioration and Biodegradation*. [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(98\)80002-4](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(98)80002-4)
- Sciortino Jr., C. V. (2017). *Atlas of Clinically Important Fungi*. New York, UNITED STATES: John Wiley & Sons, Incorporated.
- Scott, G. (2002). *Degradable polymers: principles and applications*. Kluwer Academic Publishers.
- Seymour, R. B., & Carraher, C. E. (1995). *Introducción a la química de los polímeros*. Reverte.
- Shabbir, S., Faheem, M., Ali, N., Kerr, P. G., Wang, L. F., Kuppusamy, S., & Li, Y. (2020). Periphytic biofilm: An innovative approach for biodegradation of microplastics. *Science of the Total Environment*, 717. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137064>

- Shah, A. A., Hasan, F., Hameed, A., & Ahmed, S. (2008). Biological degradation of plastics: A comprehensive review. *Biotechnology Advances*, 26(3), 246–265. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.12.005>
- Shen, M., Song, B., Zeng, G., Zhang, Y., Huang, W., & Wen, X. (2020). Are biodegradable plastics a promising solution to solve the global plastic pollution? *Environmental Pollution*, 263, 114469. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114469>
- Soriano del Castillo, J. M. (2007). *Micotoxinas en alimentos*. Díaz de Santos.
- Sowmya, H. V., Ramalingappa, B., Nayanashree, G., Thippeswamy, B., & Krishnappa, M. (2015). Polyethylene degradation by fungal consortium. *International Journal of Environmental Research*, 9(3), 823–830.
- Sowmya, H. V., Ramalingappa, Krishnappa, M., & Thippeswamy, B. (2014). Degradation of polyethylene by *Trichoderma harzianum*—SEM, FTIR, and NMR analyses. *Environmental Monitoring and Assessment*, 186(10), 6577–6586. <https://doi.org/10.1007/s10661-014-3875-6>
- Suárez Estrella, F. (2002). *Persistencia y capacidad infectiva del hongo fitopatógeno "fusarium oxysporum f.sp. melonis" en residuos vegetales de melón*. Universidad de Almería, Servicio de Publicaciones.
- Toromoreno, M., & Miranda, F. (2012). *DETERMINACIÓN DE MOHOS Y LEVADURAS DEL SISTEMA DE AGUA DE LA JUNTA ADMINISTRADORA DE AGUA POTABLE DE LA PARROQUIA BAÑOS*. 1–178.
- Tortora, G., Funke, B. R., & Case, C. L. (2007). *Introducción a la microbiología* (P. Education, Ed.). Madrid: Médica Panamericana.
- Troiano, D., Orsat, V., & Dumont, M. J. (2020). Status of filamentous fungi in integrated biorefineries. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 117(February 2019), 109472. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.109472>
- Trujillo Mejía, R. F. (2012). *Hidrocarburos: manejo seguro (4a. ed.)* (E. Ediciones., Ed.).
- Tsegaye, Z. (2016). *International Journal of Modern Isolation , Identification and Characterization of Plastic degrader fungal Species*. 3(457), 457–464.
- Uribe, D., Giraldo, D., & Gutiérrez, S. (2010). Biodegradación de polietileno de baja densidad por acción de un consorcio microbiano aislado de un relleno sanitario , Lima , Perú Biodegradation of low density polyethylene by the action of a microbial consortium isolated from a landfill , Lima , Peru. *Online*, 17(1), 133–136.
- Valcárcel Cases, M., & Gómez Hens, A. (1988). *Técnicas analíticas de separación* (S. A. Reverté, Ed.). Barcelona: Reverté.
- Vázquez, D. de A., Sixto, A. I., Julián, I., Madariaga, J. M. L. de S., Martínez, S., & Sáez, R. (2000). *Diccionario de ciencias*. Madrid: Editorial Complutense.
- Veethahavya, K. S., Rajath, B. S., Noobia, S., & Kumar, B. M. (2016). Biodegradation of Low Density Polyethylene in Aqueous Media. *Procedia Environmental Sciences*, 35, 709–713. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2016.07.072>
- Velandia Cabra, J. R. (2017). Identificación de polímeros por espectroscopía infrarroja. *ONTARE- Facultad de Ingeniería-Universidad EAN*, 5.

- Vian Ortuño, A. (1999). *Introducción a la química industrial*. Barcelona: Reverté, S.A.
- Virginie, M. (2011). *Los caminos del reciclaje*. (1ra ed.). Barcelona: Nuevos Emprendimientos Editoriales S.L.
- Warnock, D. W., Campbell, C. K., & Johnson, E. M. (2013). *Identification of Pathogenic Fungi*. Chicester, UNITED KINGDOM: John Wiley & Sons, Incorporated.
- William, D., & Callister, J. (1995). *Introducción a la Ciencia e Ingeniería de los Materiales*. Reverté, p. 804.
- Winn, W. C., & Koneman, E. W. (2008). *Koneman diagnóstico microbiológico: texto y atlas en color*. Editorial Médica Panamericana.
- Wright, D. C., & Limited, R. T. (2006). *Failure of Plastics and Rubber Products : Causes, Effects and Case Studies Involving Degradation*. Shrewsbury: Rapra Technology Ltd.

Anexos

Anexo I: Glosario de términos.

Absorbancia: es la medida de la cantidad de luz absorbida por una sustancia.

Bifenilos: es un hidrocarburo aromático con una fórmula molecular $C_{12}H_{10}$, es medianamente tóxico.

Compost: Fertilizante compuesto de residuos orgánicos (todo tipo de desecho orgánico biodegradable).

Conidióforo: es una hifa que porta células conidiógenas productoras de conidios.

Corrosión: es el deterioro de un material a consecuencia de un ataque electroquímico por su entorno.

Dioxina: es un compuesto químico muy tóxico.

Enzima: Proteína soluble producida por las células de un organismo.

Espora: es una célula vegetal que no necesita ser fecundada.

Fialide: es una estructura en forma de botella, ubicada al extremo de un conidióforo, sobre el cual se producen esporas.

Furanos: es un compuesto orgánico heterocíclico aromático de cuatro miembros con un átomo de oxígeno.

Hidrocarburo: es un compuesto químico formado por carbono e hidrógeno.

Hifa: es un filamento que puede ser ramificado o no de tamaño microscópico, que reunido con otros filamentos forma el cuerpo vegetativo de los hongos, micelio.

Microrganismo: es un organismo que solo puede ser visto bajo un microscopio.

Polarización: es la teoría que explica la existencia de conflictos sociales como resultado de un problema central.

Polimerización: proceso mediante el cual las moléculas simples, iguales o diferentes reaccionan entre sí por adición o condensación y forman otras moléculas de peso mayor.

Polímero: es una sustancia química que resulta de la polimerización.

Transmitancia: es la cantidad de energía que atraviesa un cuerpo en un determinado tiempo.

Anexo 2: Información de los investigadores del presente estudio.

Nombres:	Juan Carlos	Apellidos	Cedeño Domínguez.
----------	--------------------	-----------	--------------------------

Instituto/ Facultad/	Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca Carrera Ingeniería		
Departamento:	Ambiental		
Dirección:	La República y Octavio Díaz, Cuenca		
C.I.	1104081680		
Nacionalidad:	Ecuatoriano		
Fecha de Nacimiento:	18 de Noviembre de 1991		
Teléfono Casa:	07-2943 419		
Celular:	0978750576		
E-mail:	jcedenod1st.ups.edu.ec		

Nombres:	Jhonny Gabriel	Apellidos	Merino Cordero.
----------	-----------------------	-----------	------------------------

Instituto/ Facultad/	Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca Carrera Ingeniería		
Departamento:	Ambiental		
Dirección:	Núñez de Bonilla y Av. España. Cuenca.		
C.I.	1900784016		
Nacionalidad:	Ecuatoriano		
Fecha de Nacimiento:	14 de junio de 1992		
Teléfono Casa:	07-2300 222		
Celular:	0995439224		
E-mail:	jmerinoc@est.ups.edu.ec		

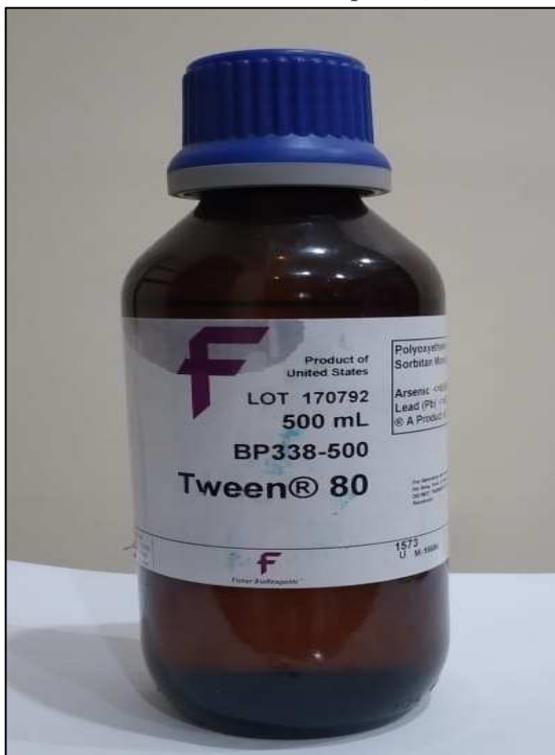
Anexo 3: Cepas de hongos cultivadas durante 3 meses.







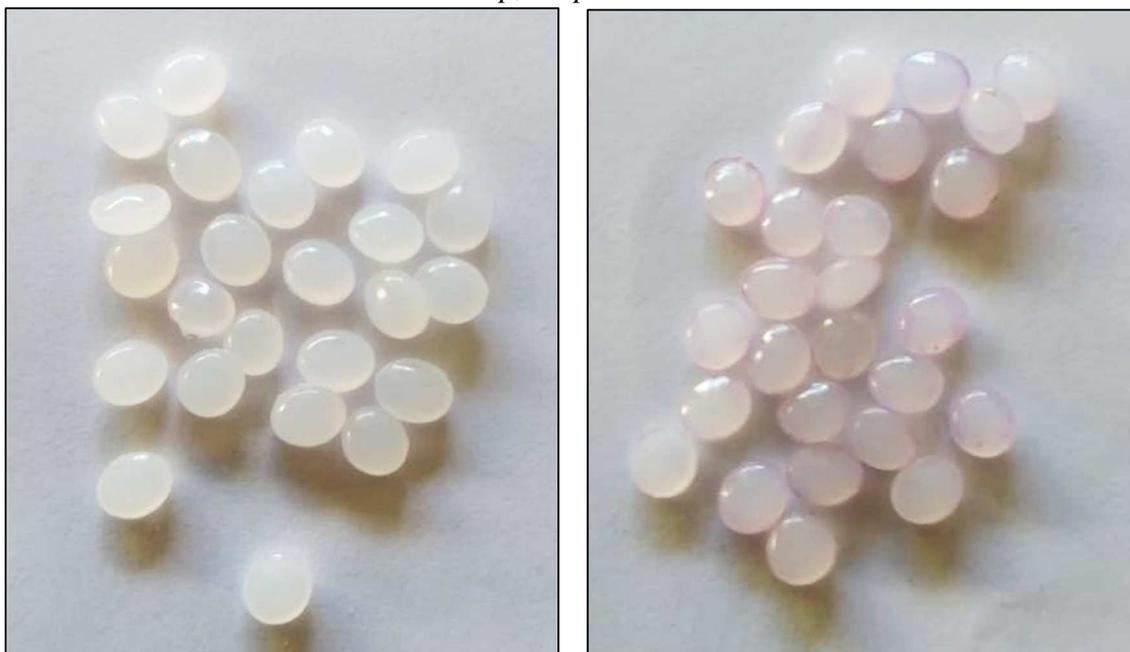
Anexo 4: Reactivos utilizados para la limpieza del polietileno antes (Tween 80) y después (Dodecilsulfato sódico).



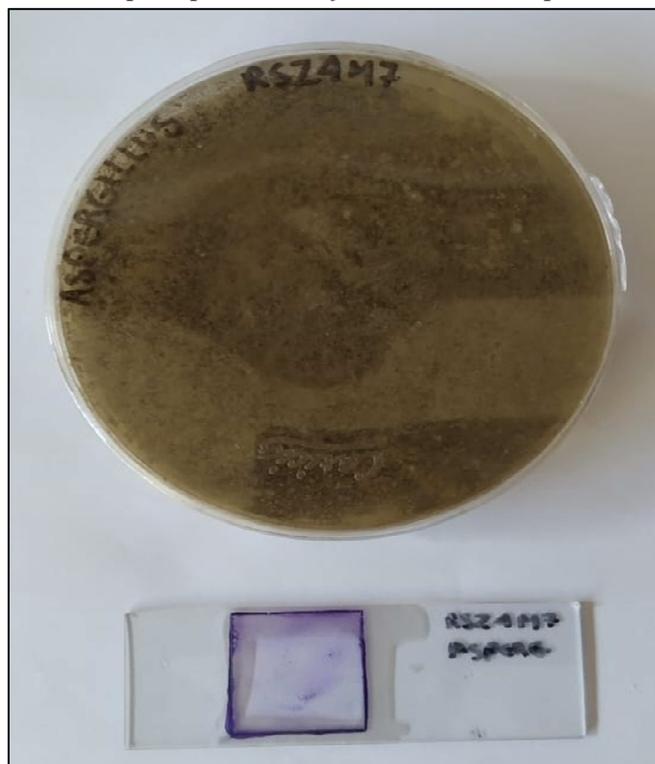
Anexo 5: Medios de cultivo para el aislamiento de hongos.



Anexo 6: Comparación entre LDPE sin incubación y LDPE incubado con la cepa RSZ1M13-*Fusarium sp*, después de 3 meses.



Anexo 7: Análisis microscópico para identificación de la cepa RSZ4M7-*Aspergillus sp*.



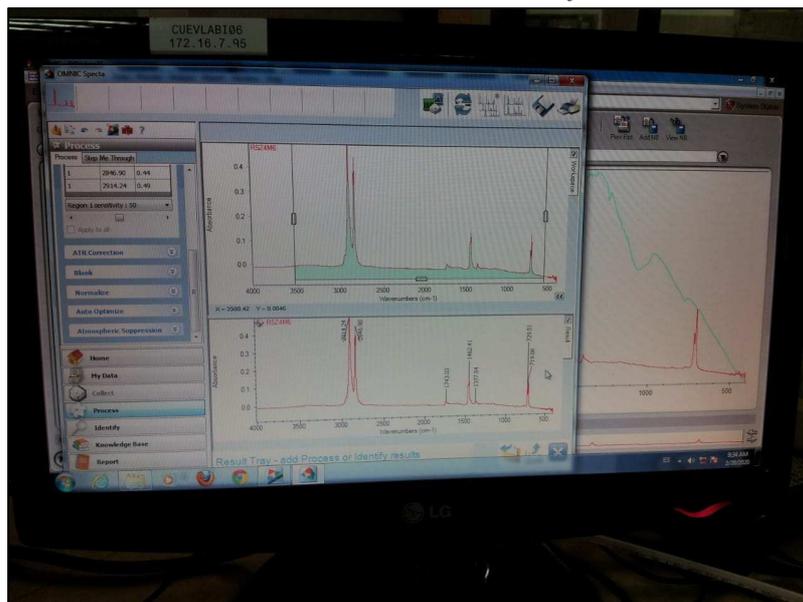
Anexo 8: Extracción de muestras de LDPE previo al lavado con dodecilsulfato sódico.



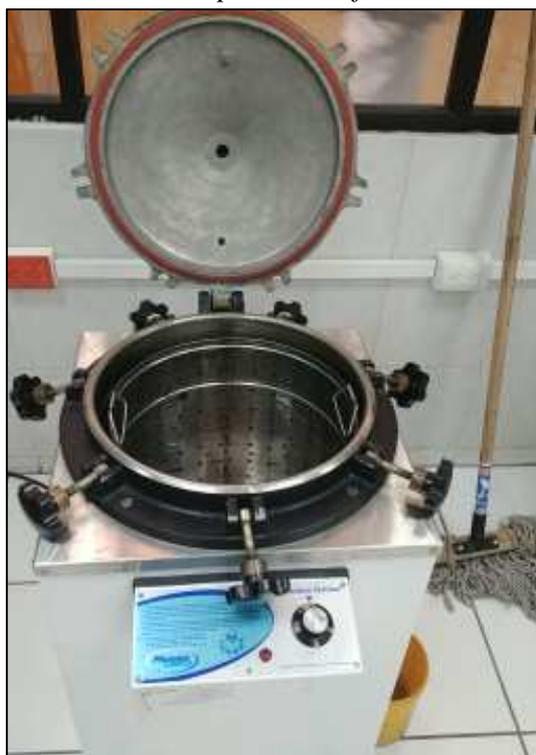
Anexo 9: Equipo FTIR THERMO SCIENTIFIC, modelo NICOLET i510 serie 912A0607.



Anexo 10: Análisis de muestras de LDPE en el Software OMNIC™ Spectra.



Anexo 11: Autoclave para desinfección de material.



Anexo 12: Estufa utilizada en el secado de las muestras de polietileno.



Anexo 13: Conservación de cepas de hongos aisladas.

