UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE GUAYAQUIL

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

TENEBRIO MOLITOR COMO BIODEGRADADOR DEL POLIETILENO DE BAJA DENSIDAD Y REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DEL POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE SUS ENZIMAS DIGESTIVAS

Trabajo de titulación previo a la obtención

del título de Ingeniera en Biotecnología

AUTORES:

KATHERINE LILIBETH SILVA RAMIREZ

BIANKA MILENA MORAN TERRANOVA

TUTOR:

MSc. JOHANNA SOLORZANO MUÑOZ

GUAYAQUIL - ECUADOR

2025

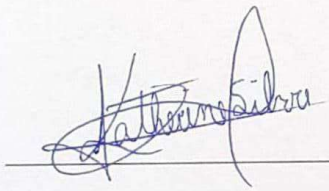
CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Nosotras, Katherine Lilibeth Silva Ramírez con documento de identificación N° 0941470841 y Bianka Milena Morán Terranova con documento de identificación N° 0932248537; manifestamos que:

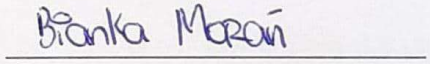
Somos las autoras y responsables del presente trabajo; y, autorizamos a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Guayaquil, 06 de febrero del año 2025

Atentamente,



Katherine Lilibeth Silva Ramírez
CI: 0941470841



Bianka Milena Morán Terranova
CI: 0932248537

CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

Nosotras, Katherine Lilibeth Silva Ramírez con documento de identificación N° 0941470841 y Bianka Milena Morán Terranova con documento de identificación N° 0932248537, expresamos nuestra voluntad y por medio del presente documento cedemos a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que somos autoras del trabajo experimental: *TENEBRIO MOLITOR* COMO BIODEGRADADOR DEL POLIETILENO DE BAJA DENSIDAD Y REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DEL POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE SUS ENZIMAS DIGESTIVAS, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: *Ingeniera en Biotecnología*, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribimos este documento en el momento que hacemos la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Guayaquil, 06 de febrero del año 2025

Atentamente,

Katherine Lilibeth Silva Ramírez
CI: 0941470841

Bianka Milena Morán Terranova
CI: 0932248537

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Johanna Alexandra Solórzano Muñoz con documento de identificación N° 0917391534, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: *TENEBRIO MOLITOR* COMO BIODEGRADADOR DEL POLIETILENO DE BAJA DENSIDAD Y REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DEL POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE SUS ENZIMAS DIGESTIVAS, realizado por Katherine Lilibeth Silva Ramírez con documento de identificación N° 0941470841 y Bianka Milena Morán Terranova con documento de identificación N° 0932248537, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo Experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Guayaquil, 06 de febrero del año 2025

Atentamente,

Blga. Johanna Alexandra Solórzano Muñoz, Msc

CI: 0917391534

DEDICATORIA

Al universo, por siempre conspirar a mi favor, abrirme las puertas hacia la abundancia y mi prosperidad, darme la fuerza y fortaleza en cada paso de este camino. Gracias a ello: "Soy perfecta, alegre y fuerte; tengo amor y mucha suerte. Soy feliz e inteligente, vivo positivamente. Tengo paz y soy un éxito; tengo todo lo que pido. Creo firmemente en el poder de mi mente, porque está Dios en el subconsciente".

A mi madre Gina, por su amor incondicional, su fortaleza y su guía en cada paso de mi vida. Es el pilar que me inspira a ser fuerte y seguir adelante.

A mi padre Jorge, quien, aunque ya no está físicamente con nosotros, vive en mi corazón y en cada uno de mis logros. Gracias por tus enseñanzas, amor y complicidad, que me acompañan siempre (Nunca dejare de ser la niña de sus ojos).

A mis seis hermanos Anthony, Laura, Valentina, Aurora, Francisco, por ser mi red de apoyo, mis compañeros de vida y mi mayor motivación para ser su ejemplo por ser mayor. Cada uno de ustedes ha sido fundamental en este camino.

A mis suegros Grace y Cristóbal, por su cariño, comprensión y apoyo constante. Gracias por ser una extensión de mi familia y por creer en mí.

A mi pareja Paulo Marcelo, mi mayor amor, compañero de vida y cómplice, quien, con su amor, apoyo incondicional me impulsa a soñar y a crecer cada día. Y a mis futuros hijos, Paula Elizabeth Franco Silva, Christian Andrés Franco Silva, Daniel Sebastián Franco Silva que aún no están aquí, pero cuyo amor imagino y cuyas vidas espero con ilusión. Este esfuerzo también es para ustedes, para que vean que con dedicación y perseverancia los sueños se hacen realidad. Katherine Silva R.

AGRADECIMIENTOS

- A mi familia:

Agradezco profundamente a mi familia, especialmente a mis padres, Gina Ramirez y Jorge Silva, por su amor incondicional y apoyo constante. Su fe en mí ha sido mi mayor motivación. Gracias por siempre creer en mis sueños y por brindarme un hogar lleno de cariño.

- A mi compañera de tesis:

Quiero agradecer especialmente a Bianka Morán por su indispensable apoyo durante la realización de esta tesis. Su conocimiento, habilidad, apoyo y trabajo en equipo. Además, su capacidad para mantener un ambiente de trabajo positivo hizo que cada día fuera más llevadero. Gracias por ser una amiga y una compañera excepcional.

- A mi tutora de tesis:

Expreso mi más sincero agradecimiento a la Msc. Johanna Solorzano Muñoz por su guía y orientación a lo largo de este proceso de investigación. Su desenvolvimiento como tutora me han permitido desarrollar este trabajo con éxito.

- A los laboratorios y colaboradores:

Expreso mi más sincero agradecimiento a la coordinadora de los laboratorios María Alejandra De la Cruz, por su guía, orientación y su disposición que al compartirlo fueron fundamentales para este proyecto. Asimismo, agradezco a los laboratoristas, Paulo Franco y Emilio González, por su paciencia, colaboración y apoyo que fueron indispensables para este trabajo. Katherine Silva R.

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mis padres, Yadira Terranova y Sócrates Morán, por su amor incondicional, su sacrificio y su constante apoyo. Gracias por enseñarme que, a través de la perseverancia y el esfuerzo, los sueños se hacen realidad. Este logro es tan suyo como mío, pues sin su confianza y dedicación, no habría sido posible llegar hasta aquí.

A mi enamorado, Jorge León, por tu amor, paciencia y por ser mi refugio emocional cuando las cosas se ponían difíciles. Tu apoyo incondicional ha sido esencial para llegar hasta aquí, y te agradezco por estar siempre a mi lado y por siempre recordarme que incluso en los días más difíciles, vale la pena seguir adelante.

A mi familia, por su comprensión y aliento, por ser mi mayor fuente de motivación y por estar siempre presentes en los momentos de alegría y dificultad.

A mi mejor amiga María Cristiana Álava, por ser mi compañera de sueños, risas y momentos difíciles, a pesar de la distancia. Gracias por estar siempre a mi lado, Gracias por ser esa persona que siempre me recuerda que no estoy sola.

A mi compañera de tesis, Katherine Silva, por ser una gran amiga y colaboradora. Tu esfuerzo, dedicación y apoyo me han permitido avanzar y completar este proyecto. Gracias por compartir este proceso tan importante conmigo.

Bianka Moran T.

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a mi tutora de tesis, Johanna Alexandra Solórzano, por su apoyo incondicional, sus valiosos consejos y su paciencia a lo largo de todo el proceso. Gracias por compartir su conocimiento y por brindarme las herramientas necesarias para llevar a cabo esta investigación.

A mi director de carrera, José Luis Ballesteros, por su apoyo y orientación a lo largo de toda mi formación académica. Agradezco profundamente su dedicación y compromiso con mi desarrollo profesional, así como su disposición para guiarme en los momentos más cruciales de este proceso.

Agradezco a mis padres, Yadira Terranova y Sócrates Morán, por su amor y sacrificios. Cada paso que he dado en este proceso ha sido gracias a ustedes, que me han enseñado a luchar por mis sueños y a no rendirme ante las dificultades. Su confianza en mí me ha dado la fuerza para superar los momentos más difíciles.

A mi enamorado, Jorge León, por ser mi apoyo emocional, por darme ánimo en los días más difíciles y por compartir conmigo este viaje.

Mi reconocimiento a los laboratoristas, Paulo Franco y Emilio González, por su tiempo, paciencia y apoyo técnico, esenciales para el desarrollo de este trabajo. Finalmente, agradezco a la coordinadora de laboratorios, Alejandra de la Cruz, por su excelente coordinación y por siempre estar disponible para ayudarme con cualquier duda o inquietud que surgiera.

Bianka Morán T.

RESUMEN

La creciente preocupación por la acumulación de residuos plásticos en los ecosistemas ha motivado la exploración de alternativas biológicas para su descomposición. En este contexto, el insecto *Tenebrio molitor*, comúnmente conocido como gusano de la harina, ha sido identificado como un posible agente biodegradador del polietileno de baja densidad (PEBD), un polímero plástico de uso masivo. El propósito principal de este estudio es evaluar la capacidad de *T. molitor* para desintegrar el PEBD, a través de un análisis exhaustivo de la literatura científica disponible sobre su metabolismo y los mecanismos implicados en la biodegradación de este material sintético.

En primer lugar, se lleva a cabo una revisión detallada del comportamiento de *T. molitor* frente al PEBD, incluyendo su fisiología digestiva y las enzimas involucradas en la degradación de este polímero. A través de la recopilación de investigaciones previas, se analizan las características enzimáticas de las secreciones digestivas del insecto, identificando aquellas enzimas que podrían ser responsables del proceso de descomposición del plástico. Además, se discuten las implicaciones ecológicas y biotecnológicas del uso de este insecto como una alternativa sostenible y ecológica ante la problemática global de la contaminación por plásticos.

El estudio concluye que *T. molitor* presenta un significativo potencial para la degradación del polietileno de baja densidad, aunque se señala que es necesario realizar investigaciones adicionales para comprender de manera más profunda los procesos bioquímicos involucrados y optimizar su aplicación en la biodegradación de plásticos a gran escala. Asimismo, se resalta el potencial biotecnológico de las enzimas digestivas del insecto, lo cual abre nuevas posibilidades para el desarrollo de soluciones innovadoras en la gestión de residuos plásticos.

ABSTRACT

The growing concern over the accumulation of plastic waste in ecosystems has driven the exploration of biological alternatives for its decomposition. In this context, the insect *Tenebrio molitor*, commonly known as the mealworm, has been identified as a potential biodegrader of low-density polyethylene (LDPE), a widely used plastic polymer. The main objective of this study is to evaluate the ability of *T. molitor* to break down LDPE, through a comprehensive analysis of the available scientific literature on its metabolism and the mechanisms involved in the biodegradation of this synthetic material.

Firstly, a detailed review of *T. molitor* behavior in relation to LDPE is conducted, including its digestive physiology and the enzymes involved in the degradation of this polymer. By gathering previous research, the enzymatic properties of the insect's digestive secretions are analyzed, identifying those enzymes that could be responsible for the plastic decomposition process. Furthermore, the ecological and biotechnological implications of using this insect as a sustainable and ecological alternative to the global plastic pollution problem are discussed.

The study concludes that *T. molitor* demonstrates significant potential for the degradation of low-density polyethylene, although it is noted that further research is needed to gain a deeper understanding of the biochemical processes involved and to optimize its application in large-scale plastic biodegradation. Additionally, the biotechnological potential of the insect's digestive enzymes is highlighted, which opens new possibilities for the development of innovative solutions in plastic waste management.

Tabla de contenido

Capítulo 1 1

Antecedentes 1

1.1. Introducción 1

1.2. Planteamiento del problema 3

1.3. Factores ambientales que afectan a la biodegradación del PEBD por *T. molitor* 3

1.4. Justificación 4

1.5 Objetivos 5

1.5.1. Objetivo General 5

1.5.2. Objetivos Específicos 5

1.6. Hipótesis 6

1.6.1. Hipótesis alternativa 6

1.6.2. Hipótesis nula 6

Capítulo 2 7

Marco Teórico 7

2.1. Ciclo de vida del *Tenebrio molitor* 7

2.2. Características biológicas del *Tenebrio molitor* 8

2.3. Taxonomía 9

2.4 Enzimas involucradas 10

2.5. Aplicación de la Espectroscopia FTIR 11

2.6. Fundas Biflex 12

2.7. Mecanismos del *Tenebrio molitor* para manejar toxinas 13

Capítulo 3 14

Materiales y Métodos 14

3.1. Fase experimental 14

3.1.1. Nivel de investigación 14

3.1.2. Limpieza y secado de fundas biflex 15

3.1.3. Contabilización y pesado de larvas de Tenebrio molitor 15

3.1.4. Preparación de sustrato y contaminante 16

3.1.5. Distribución de larvas en los respectivos recipientes 16

3.1.6 Revisión periódica de los bioensayos 17

3.1.7 Tasa de muerte de acuerdo con los bioensayos y controles 17

3.1.8 Tasa de degradación del polímero plástico PEBD 18

3.1.9 Análisis de residuos de los bioensayos por medio de FTIR 18

3.1.10 Análisis estadístico 19

3.2 Fase bibliográfica 19

3.2.1. Formulación de la pregunta PICOS 19

3.2.2. Selección de fuentes de información 20

3.2.3. Sistematización de la búsqueda 21

3.2.4. Análisis crítico de las fuentes 21

3.2.5. Síntesis de la información 21

Capítulo 4 22

Resultados y Discusiones 22

4.1 Ubicación geográfica de los puntos de muestreo de fundas biflex. 22

4.3 Peso y distribución del sustrato y contaminante 23

4.4 Tasa de mortalidad por semana de acuerdo con el control y bioensayo 23

4.5 Determinación del porcentaje de consumo y degradación de avena y PEBD 25

4.6 Análisis de residuos a partir de bioensayos por FTIR-ATR 29

4.7 Análisis estadístico por medio de prueba de Friedman 31

4.8 Gráfico de dispersión con las muertes de acuerdo con los bioensayos y controles 33

4.9 Diagrama de flujo por metodología Prisma 34

Capítulo 5 36

Conclusiones y recomendaciones 36

5.1 Conclusiones 36

5.2 Recomendaciones 37

Referencias bibliográficas 38

Anexos 44

Índice de imágenes

Imagen 1. Ciclo de vida del Tenebrio molitor 8

Imagen 2. Larvas de Tenebrio molitor 10

Imagen 3. Espectroscopia FTIR elaborado en Biorrender 12

Imagen 4. Fundas Biflex 13

Imagen 5 Fase experimental 14

Imagen 6 Espectro IR del PEBD sin tratamiento de degradación. 29

Imagen 7 **(A)** Espectro obtenido de Bioensayo 1 **(B)** Espectro obtenido de Bioensayo 2 **(C)** Espectro obtenido de Bioensayo **3** 30

Imagen 8 Prueba no paramétrica de Friedman elaborada en Minitab 31

Imagen 9 Gráfica de medianas 32

Imagen 10 Promedio de muertes de larvas por semana 33

Imagen 11 Flujograma Prisma 35

Índice de tablas

Tabla 1. Taxonomía de Tenebrio molitor. *10*

Tabla 3. Cantidad de individuos por cada recipiente *17*

Tabla 4. Criterios de inclusión y exclusión *20*

Tabla 5. Coordenadas de puntos de muestreo *22*

Tabla 6. Promedio de pesos de las 161 larvas en cada bioensayo *22*

Tabla 7. Distribución de comida y contaminante..... *23*

Tabla 8. Tasa mortalidad del Control Plástico 23

Tabla 9. Tasa mortalidad del Bioensayo 1 24

Tabla 10. Tasa de mortalidad del Bioensayo 2 24

Tabla 11. Tasa de mortalidad del Bioensayo 3 24

Tabla 12. Tasa de consumo-degradación del control comida y plástico 25

Tabla 13. Tasa de consumo y degradación del Bioensayo 1 26

Tabla 14. Tasa de consumo y degradación del Bioensayo 2 26

Tabla 15. Tasa de consumo y degradación del Bioensayo 3 27

Tabla 16. Mediana y limites *32*

Tabla 17. Registro de muertes por 4 semanas *33*

Índice de anexos

Anexo 1. 44

Anexo 2. 44

Anexo 3. 45

Anexo 4. 45

Anexo 5. 45

Anexo 6. 46

Anexo 7**.** 46

Anexo 8. 46

Anexo 9. 47

Anexo 10. 47

Anexo 11. 47

Anexo 12. 48

Anexo 13. 48

Anexo 14. 48

Anexo 15 49

Anexo 16. 49

Anexo 17. 50

Anexo 18. 50

Capítulo 1

Antecedentes

1.1. Introducción

Amplias investigaciones, especialmente en las últimas dos décadas, han puesto en manifiesto la gravedad de la contaminación por plásticos a nivel mundial (George et al., 2023), con una producción anual superior a los 400 millones de toneladas, los plásticos se han convertido en un componente esencial de la economía global, debido a su bajo costo, durabilidad y amplia versatilidad (Lv et al., 2024). Entre los diversos tipos de plásticos, el polietileno de baja densidad (PEBD) destaca como un polímero termoplástico caracterizado por su estructura de cadenas de hidrocarburos altamente flexibles, lo que permite resistir grandes tensiones sin romperse (Palansooriya et al., 2023).

A nivel mundial, se producen aproximadamente 64 millones de toneladas de PEBD cada año, principalmente para aplicaciones de un solo uso, como bolsas de supermercado, empaques de alimentos y películas protectoras (Khan et al., 2019). Sin embargo, a diferencia de otros polímeros más comunes usados, el PEBD presenta propiedades que dificultan su degradación, tales como su baja polaridad y su alto peso molecular (Ken & Balangao, 2023).

El impacto ambiental de los residuos plásticos es motivo de creciente preocupación, eso da a lugar a que la acumulación de plásticos en los océanos, ríos y suelos representen una amenaza para la flora y la fauna, ya que muchas especies pueden llegar a confundir estos desechos con alimentos, lo que conlleva a la muerte de estos. Además, la fragmentación de plásticos genera micro plásticos, partículas diminutas que ingresan a las cadenas alimenticias y pueden llegar a representar problemas para la salud humana y animal. A pesar de los esfuerzos

por fomentar el reciclaje y reducir el consumo de plásticos, solo una pequeña fracción del PEBD se recicla de manera efectiva, mientras que el resto se desecha en vertederos o se abandonan en el medio ambiente (Ojeda & Mercante, 2021).

La biodegradación de plásticos ha sido un campo de investigación activo en la biotecnología desde principios del siglo XXI. El proceso de la biodegradación se refiere a la descomposición de materiales complejos, a través de la acción de microorganismos, enzimas o incluso organismos multicelulares, sin embargo, el deterioro en el ambiente de estos polímeros es un desafío, ya que su estructura química y molecular es muy resistente a la acción de organismos naturales. Entre las estrategias emergentes, el uso de organismos vivos, como insectos, bacterias, entre otros, ha ganado atención debido a su capacidad para descomponer polímeros plásticos (Y. Yang et al., 2015).

Los científicos están explorando los sistemas naturales de degradación que exhiben ciertos organismos, lo que ha llevado a descubrimientos prometedores (Del Pilar Casas-Martínez et al., 2022) (Sandoval-Herrera & Bermúdez-Morera, 2021). Un ejemplo notable es el *Tenebrio molitor*. Este organismo ha demostrado un potencial sobresaliente para la degradación de diferentes contaminantes plásticos ya que es capaz de consumirlos, transformarlos en biomasa y otros compuestos fácilmente degradables (Bulak et al., 2021).

Varias investigaciones recientes han demostrado e indicado que los gusanos de harina pueden metabolizar el PEBD y convertirlo en productos no tóxicos, lo que presenta una alternativa natural y efectiva (X. Wang & Tang, 2022). Además, el estudio en la capacidad de esta larva para metabolizar el plástico abre nuevas posibilidades para el desarrollo de procesos biotecnológicos que puedan integrarse en la gestión de residuos a nivel global. Al fomentar el uso de organismos como este coleóptero en su fase de larva, se podría no solo mitigar el

problema de los desechos plásticos, si no también transformar estos residuos o recursos valiosos, promoviendo un enfoque más sostenible en la economía circular (Kuan et al., 2022).

1.2. Planteamiento del problema

La biotecnología aplicada al reciclaje de plásticos ha demostrado ser una herramienta innovadora para la biodegradación de materiales sintéticos, siendo los insectos uno de los organismos que han demostrado una sorprendente capacidad para descompones plásticos. *T. molitor,* conocido como gusano de harina, es capaz de consumir y descomponer el polietileno, un material tradicionalmente resistente a la biodegradación. Este hallazgo fue innovador por que hasta ese momento se pensaba que ese insecto solo podía consumir materiales orgánicos, como los restos de alimentos, pero no se sabía que el insecto podía también consumir plástico. A través de la acción de enzimas secretadas en su sistema digestivo. Esta capacidad sugiere que los insectos podrían desempeñar un papel crucial a la posible solución a la contaminación plástica (Peng et al., 2020).

1.3. Factores ambientales que afectan a la biodegradación del PEBD por *T. molitor*

La degradación del PEBD por las larvas de *Tenebrio molitor* puede llegar a estar influenciada por varios factores ambientales que pueden afectar la eficiencia y velocidad de este proceso. La humedad, temperatura y como estará compuesta la dieta del insecto son algunos de los factores más importantes que van a influir en la capacidad que tendrá al descomponer el PEBD. Por ejemplo, se ha observado que una temperatura más alta puede acelerar el metabolismo del insecto y, por lo tanto, aumentar la tasa de biodegradación del plástico, pero también puede aumentar el riesgo de estrés térmico para los insectos. La humedad es otro factor, ya que en un ambiente demasiado seco o húmedo puede afectar negativamente a

la actividad metabólica del insecto, reduciendo la capacidad de biodegradar el plástico (Biswas et al., 2022).

1.4. Justificación

El polietileno de baja densidad es uno de los plásticos que es más solicitado en la industria para la fabricación de diversos productos y es por varias razones: como su ligereza, resistencia, sobre todo, su muy bajo costo de producción. Sin embargo, su composición química le otorga una característica de 'no biodegradable' lo que lo vuelve un material altamente nocivo para el medio ambiente, y es uno de los grandes culpables de la contaminación por plásticos en el mundo.

Los métodos convencionales de manejo de residuos plásticos como el reciclaje, o la incineración poseen fallas y debilidades en alto grado de gestión y sostenibilidad. Por ello, se hace imperativa la búsqueda de soluciones alternativas para la biodegradación de plásticos que sean de mayor impacto ambiental. En este sentido, el *T. molitor*, ha sido una de las opciones biotecnológicas más prometedoras.

Estudios sugieren que las larvas de este escarabajo tienen la capacidad de biodegradar polímeros plásticos a través de procesos digestivos enzimáticos. Sin embargo, se debe tomar en cuenta que la efectividad de esta biodegradación puede estar sujeta a diversas condiciones tales como la proporción de dieta con que son alimentadas las larvas. El estudiar la influencia de distintas proporciones de dieta sobre el grado de biodegradación del PEBD por *T. molitor* ayudará a conocer más sobre los mecanismos que intervienen en esta interacción biológica.

1.5 Objetivos

1.5.1. Objetivo General

Evaluar la capacidad de las larvas de *Tenebrio molitor* para biodegradar fundas de polietileno de baja densidad (PEBD) usadas en el recubrimiento de bananos y el análisis bibliográfico del potencial biotecnológico de tres enzimas claves en la digestión de este organismo.

1.5.2. Objetivos Específicos

- Determinar la tasa de degradación de fundas de PEBD por *Tenebrio molitor* y la tasa de mortalidad en condiciones controladas de laboratorio.
- Evaluar los productos de degradación generados a partir del PEBD tras la acción de las larvas utilizando espectroscopía FTIR-ATR, enfocándose en los cambios de los grupos funcionales y la estructura química del polímero.
- Realizar un análisis bibliográfico sobre el uso de tres enzimas claves en el proceso digestivo del *Tenebrio molitor* con sus aplicaciones biotecnológicas por medio del método de revisión sistemática de literatura.

1.6. Hipótesis

1.6.1. Hipótesis alternativa

Las larvas de *Tenebrio molitor* tienen un efecto significativo en la biodegradación del polietileno de baja densidad (PEBD), promoviendo su descomposición de manera efectiva.

1.6.2. Hipótesis nula

No existe un efecto significativo de las larvas de *Tenebrio molitor* sobre la biodegradación del polietileno de baja densidad (PEBD), es decir, las larvas no son capaces de degradar de manera efectiva este material.

Capítulo 2

Marco Teórico

El *Tenebrio molitor,* o gusano de la harina, ha despertado un gran interés en la biotecnología debido a la capacidad que tiene para biodegradar plásticos. Este insecto es un detritívoro natural. Lo que significa que se alimenta de materia orgánica en descomposición. Su capacidad para metabolizar plásticos se debe en gran parte a la simbiosis entre el insecto y la microbiota en su intestino e incluye diversas bacterias y hongos capaces de producir enzimas específicas para descomponer compuestos complejos (Machona et al., 2022).

2.1. Ciclo de vida del *Tenebrio molitor*

El ciclo de vida del coleóptero atraviesa las siguientes fases descritas por (X. Wang & Tang, 2022):

• Huevo: esta es la primera fase, en la cual los embriones se desarrollan en un cascarón que los protege de condiciones externas, la cual suele durar entre 4 y 19 días, dependiendo de las condiciones ambientales como la temperatura y humedad.

• Larva: es la etapa de mayor crecimiento y actividad metabólica en el ciclo de vida del *T. molitor*. Durante esta fase, que puede extenderse por varios meses (hasta un año en algunos casos), las larvas son altamente activas y tienen una dieta variada que puede incluir materiales como: papel, cartón, restos vegetales y ciertos plásticos. Esta capacidad está respaldada por bacterias presentes en el intestino como *Parabacteroides* y *Clostridium* que participan en la descomposición de los polímeros plásticos. Las larvas no solo ingieren los polímeros, también aprovechan las bacterias en su tracto digestivo para descomponerlos en componentes más simples.

• Pupa: esta fase es un periodo de transformación en el cual el gusano de harina se convierte en adulto. El *T. molitor* en esta etapa detiene su alimentación y permanece inactivo, lo cual imposibilita la degradación del plástico. Esta fase tiene un periodo de 6 a 30 días, lo cual se prepara para la reconfigurar su estructura interna para la vida de adulto.

• Adulto: durante esta etapa, el insecto se dedica netamente a la reproducción, y su metabolismo y necesidades alimenticias disminuyen en comparación con la etapa larval y llega a durar entre 2 y 3 meses, tiempo en el cual los adultos se enfocan en la producción de la siguiente generación.

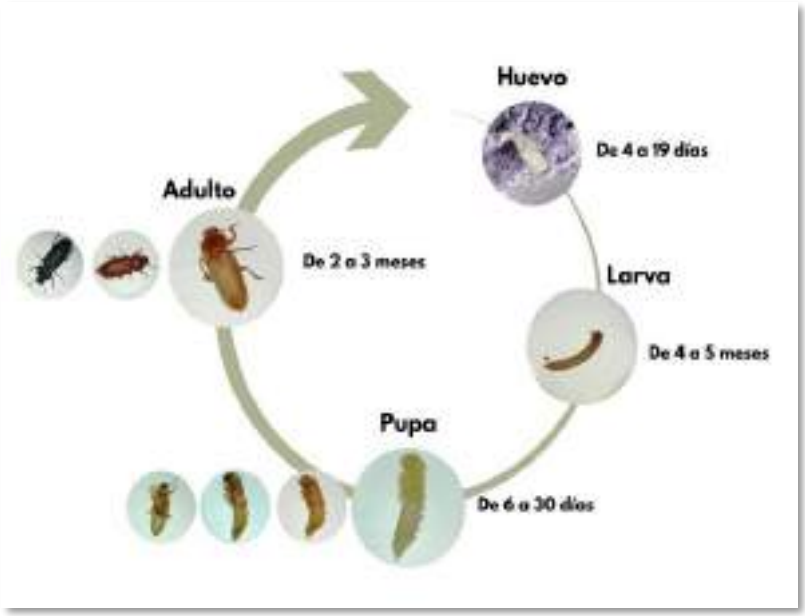


Imagen 1. Ciclo de vida del *Tenebrio molitor*

(Autoras, 2025)

2.2. Características biológicas del *Tenebrio molitor*

El *Tenebrio molitor* es un insecto con un ciclo de vida complejo y una gran importancia en diversos campos, ya sea en la alimentación animal o humana, hasta la biodegradación de plásticos y la investigación científica. La adaptabilidad y capacidad que tiene este insecto para

consumir una amplia variedad de materiales lo convierte en un organismo de gran interés biotecnológico para soluciones sostenibles (Brandon et al., 2019).

Durante sus primeros estadios se caracteriza por ser una larva limpia e inodora, que, gracias a su alimentación y métodos de producción, presenta un bajo riesgo de transmitir patógenos como los causantes del botulismo, la leptospirosis, la salmonelosis, la tuberculosis y la toxoplasmosis, a diferencia de otras fuentes proteicas animales (Albarracín Liendo & Clavijo Koc, 2021)

En nutrición animal, esta larva se aprovecha de diversas maneras: como insecto vivo, ofreciendo una fuente de alimento completa como harina, fertilizante natural (frass o excremento); y mediante el aprovechamiento de los restos de muda o exubia se utilizan para ser quitosano (Silva Vázquez, 2021).

2.3. Taxonomía

El *Tenebrio Molitor* es un coleóptero que pertenece a la familia Tenebrionidae, usado ampliamente para investigaciones científicas y como alimento para diversos animales debido a su reproducción masiva, suele poner de 250 a 1000 huevecillos a lo largo de su vida (Arias, 2018). En la tabla 1 se detalla la taxonomía de esta especie

Clase	Insecto
Orden	Coleóptero
Familia	Tenebrionidae
Genero	Tenebrio
Especie	molitor
Nombre cientifico	*Tenebrio molitor* (Linnaeus)

Tabla 1. Taxonomía de Tenebrio molitor.

Imagen 2. Larvas de *Tenebrio molitor*

(Autoras, 2025)

2.4 Enzimas involucradas

Las lacasas son enzimas oxidativas que desempeñan un rol importante en la biodegradación de polímeros plásticos, catalizando reacciones de oxidación que rompen los enlaces carbono-carbono en la estructura del polímero. La actividad de la lacasa en la microbiota intestinal del *T. molitor* indica que este insecto posee la capacidad de inducir la producción de esta enzima en respuesta a su dieta, posiblemente como una adaptación para procesar ciertos componentes presentes en su entorno, incluyendo potencialmente plásticos degradados (Orts et al., 2023).

Las peroxidasas son enzimas que utilizan peróxido de hidrogeno como sustrato para la oxidación de diversos compuestos, las peroxidasas desempeñan un rol importante en la degradación del PEBD, ya que estas enzimas generan radicales libres que atacan las largas cadenas de polietileno, facilitando su ruptura en fragmentos más pequeños así pudiendo ser metabolizados por insectos como el *T. molitor* (Przemieniecki et al., 2020).

Las lipasas extraídas del intestino del *T. molitor* pueden hidrolizar cadenas de polietileno, generando productos más accesibles para otras enzimas. Investigaciones sugieren que las lipasas podrían ser aplicadas en sectores industriales, para así mejorar la sostenibilidad de los procesos productivos (Bordiean et al., 2022).

En estudios realizados, se documentó que las larvas pueden lograr consumir hasta un 50% del Polietileno (PE) en un tiempo de 30 días, en este consumo no solo indica la capacidad que tiene el *T. molitor* para alimentarse, sino que también se lograron observar cambios morfológicos en el material plástico, con una reducción en el peso y volumen. Investigadores notaron que el consumo de PE no afectó negativamente la salud de las larvas, lo que sugirieron que este proceso de biodegradación en una adaptación natural del insecto (Bulak et al., 2021).

2.5. Aplicación de la Espectroscopia FTIR

La espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) es una técnica ampliamente utilizada para evaluar los cambios estructurales en polímeros plásticos durante procesos de biodegradación. Permite detectar alteraciones en la composición química del material a medida que se va descomponiendo.

Se utilizo FTIR para investigar la capacidad de biodegradación de *T. molitor* sobre diferentes polímeros plásticos como el PU y PVC (Peng et al., 2020) (Orts et al., 2023). Aquellos estudios fueron de los primeros en emplear FTIR para observar los cambios en la estructura química del plástico, identificando patrones específicos en el espectro que evidencia la transformación del polímero. Esta técnica es crucial en el estudio de la biodegradación del PEBD por *T. molitor* ya que no es destructiva y así permite identificar, rastrear y cuantificar los cambios químicos en el plástico durante su digestión. Esto ha sido importante para comprender

el proceso de degradación, evaluar su eficacia y considerar aplicaciones biotecnológicas que podrían reducir el impacto ambiental de los plásticos.

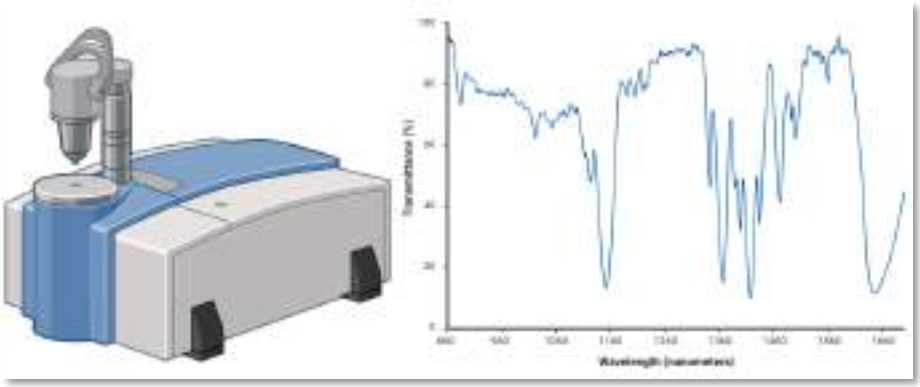


Imagen 3. Espectroscopia FTIR elaborado en Biorrender

(Autoras, 2025).

2.6. Fundas Biflex

Las fundas biflex suelen estar fabricadas con materiales plásticos como polipropileno o polietileno, su principal característica es la flexibilidad, durabilidad y capacidad para adaptarse a diferentes formas y tamaños, suelen ser transparentes o semitransparentes, permitiendo la visibilidad del contenido. Son fundas especialmente utilizadas en el cultivo de bananos. Se emplean para proteger la fruta durante el crecimiento, ya que ayudan a controlar plagas como el trip de la flor y la mancha roja, además de reducir las mermas y manchas en los racimos de banano.

Estas fundas pueden degradarse en el ambiente, aunque su resistencia inicial contribuye a una mayor durabilidad en el uso agrícola. Sin embargo, el proceso de degradación dependerá de factores como la exposición a la luz solar, humedad y temperatura. Generalmente, se busca minimizar el impacto ambiental mediante métodos que faciliten la adecuada disposición de desechos plásticos (Vargas et al., 2019).

Imagen 4. Fundas Biflex

(Autoras, 2025)

2.7. Mecanismos del *Tenebrio molitor* para manejar toxinas

Los plásticos no solo están compuestos por polímeros básicos, sino que también pueden llegar a contener toxinas derivadas de aditivos químicos y contaminantes acumulados. A pesar de todo, la larva del coleóptero ha demostrado cierta capacidad para procesar materiales contaminados, gracias a las adaptaciones biológicas que este presenta (Poveda Arias, 2018):

• Metabolización por bacterias simbióticas: el sistema digestivo del *T. molitor* contiene bacterias simbióticas especializadas en degradar polímeros plásticos en moléculas más simples, así mismo algunas de estas bacterias también pueden llegar a transformar toxinas complejas en compuestos menos dañinos, según el tipo de sustancia también va a variar la eficacia.

• Excreción de toxinas: algunas de las toxinas ingeridas serán eliminadas directamente a través de los desechos sólidos llamados frass, evitando que el insecto acumule ciertas sustancias en el cuerpo.

• Resiliencia fisiológica: El *T. molitor* posee mecanismos antioxidantes naturales que le permiten combatir los efectos del estrés oxidativos causado por la exposición que este tiene a las toxinas, así mismo estos mecanismos tienen límites y pueden verse abrumados por concentraciones elevadas de contaminante si ese fuera el caso.

Capítulo 3

Materiales y Métodos

3.1. Fase experimental

3.1.1. Nivel de investigación

El presente estudio, de carácter experimental y bibliográfico, constituyó una parte fundamental del proyecto de investigación titulado “Caracterización de cinco insectos de interés biotecnológico en el remanente boscoso seco tropical del campus María Auxiliadora de la Universidad Politécnica Salesiana sede Guayaquil (insectos)”. La metodología descrita a continuación fue implementada en los laboratorios de la Universidad Politécnica Salesiana (UPS), específicamente en el laboratorio de entomología y en los laboratorios de cómputo. (Imagen 5.)

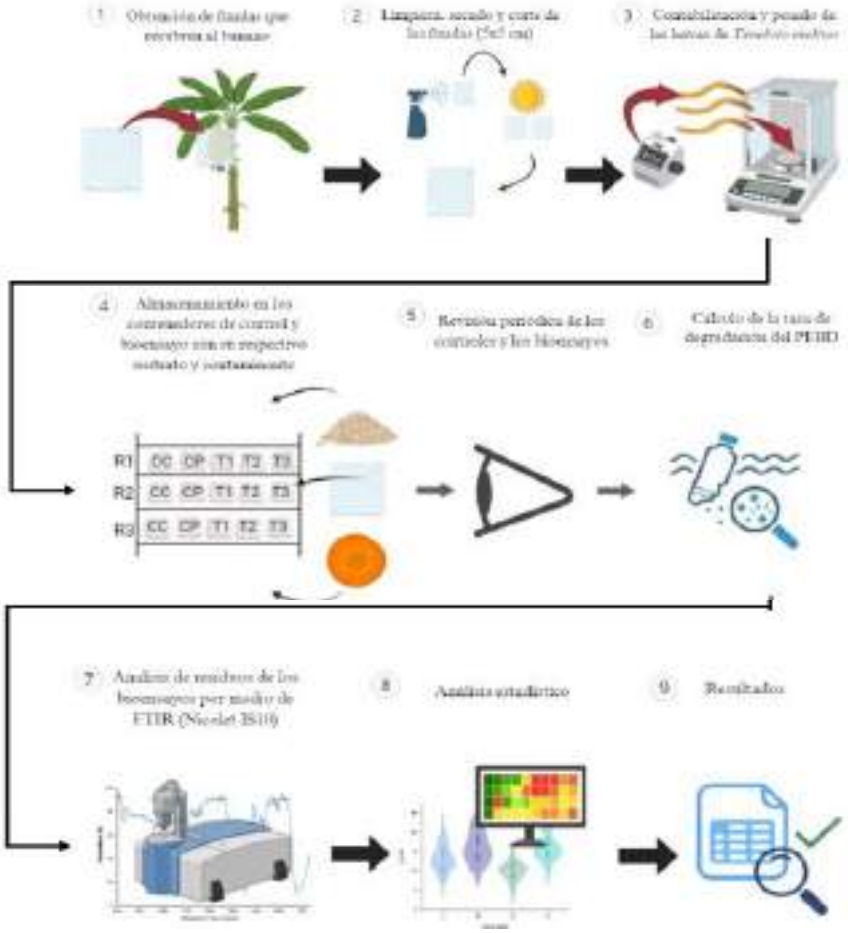


Imagen 5 Fase experimental

(Autoras, 2025)

3.1.2. Limpieza y secado de fundas biflex

Siguiendo las recomendaciones de la norma ISO 15161, el procedimiento de limpieza se inició con un enjuague inicial en agua potable a temperatura ambiente. Posteriormente, las fundas se sumergieron en una solución de detergente neutro al 5% durante 15 minutos, y se frotaron enérgicamente con cepillos de cerdas suaves. Tras un enjuague intermedio, se procedió a la desinfección mediante inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 0.1% durante 10 minutos. Finalmente, las fundas se enjuagaron exhaustivamente con agua potable y se secaron al aire libre en un área designada para tal fin. Finalmente, se realizó la inspección visual que permitió verificar la eficacia del proceso y la integridad de las fundas.

3.1.3. Contabilización y pesado de larvas de Tenebrio molitor

A continuación, se detalla los procedimientos para el pesado y contabilización precisa de las larvas de *Tenebrio molitor* utilizadas en el estudio de biodegradación de fundas PEBD.

1. **Preparación de envase**

    a) Rotular cada vidrio reloj con un código en siglas que identifique el tratamiento y la réplica.

2. **Extracción de las larvas:**

    a) Transferir cuidadosamente las larvas de su contenedor original a un vidrio reloj utilizando pinzas.

3. **Pesado grupal:**
    a) Colocar el grupo de larvas en una balanza analítica previamente calibrada.
    b) Registrar el peso de cada larva en una hoja de cálculo, indicando el código del vidrio reloj y el número de larvas.
4. **Conteo:**
    a) Contar el número total de larvas en cada vidrio reloj.

b) Registrar el número total de larvas en la hoja de cálculo.
c) Registro del peso total de las larvas de cada contenedor.

5. Almacenamiento:

a) Después de pesar y contar, devolver las larvas al nuevo contenedor, de acuerdo con los controles y bioensayos.
b) Almacenar los contenedores en un lugar con poca claridad y fresco, evitando cambios bruscos de temperatura.

3.1.4. Preparación de sustrato y contaminante

De acuerdo con (Lienhard et al., 2023) el alimento ideal para las larvas de *Tenebrio molitor* es el salvado de trigo o avena molida, puesto que aporta los nutrientes necesarios para su crecimiento. Así mismo, se le añadió trozos de zanahoria a fin de aportar humedad dentro del ambiente.

Para la preparación del sustrato y contaminante, se dividieron previamente los envases en 3 bioensayos y 2 controles; control comida, control plástico de los cuales se realizaron por triplicado a fin de obtener datos para el análisis biométrico. Posterior a aquello se procedió a pesar la avena, luego cortar las fundas biflex en cuadros de 5 x 5 mm, finalmente pesarlos en una balanza analítica. (Tabla 7)

3.1.5. Distribución de larvas en los respectivos recipientes

Se adquirieron aproximadamente 2500 larvas del escarabajo *Tenebrio molitor* en un centro de cría comercial situado en Quito – Ecuador. Los análisis del experimento se llevaron a cabo en el laboratorio de entomología localizado en la Universidad Politécnica Salesiana.

Las larvas *Tenebrio molitor* se conservaron y dividieron en 15 recipientes de plástico rígido de 5 litros de volumen cada uno, en donde se distribuirán equitativamente 161 larvas para llevar a cabo los bioensayos de degradación. (Tabla 3)

	Control comida	Control plástico	Bioensayo #1	Bioensayo #2	Bioensayo #3
Recipiente	I	II	III	IV	V
Individuos	161	161	161	161	161

Tabla 2. Cantidad de individuos por cada recipiente

Fuente: Autoras, 2025

3.1.6 Revisión periódica de los bioensayos

Se llevará a cabo una revisión semanal de los bioensayos, durante la cual se pesarán las muestras de PEBD y las larvas. Se documentarán visualmente cualquier cambio en la morfología de las larvas incluyendo la superficie del plástico utilizando un estereomicroscopio. Estos datos permitirán calcular la tasa de degradación del PEBD de modo que se relacionen los cambios en el plástico con el crecimiento y desarrollo de las larvas. El experimento se dará por finalizado cuando se observe una estabilización en la pérdida de masa del plástico o cuando la mayoría de las larvas hayan alcanzado el estadio adulto.

3.1.7 Tasa de muerte de acuerdo con los bioensayos y controles

Se realizó la contabilización semanal de las muertes ocurridas durante el desarrollo de la fase experimental posterior a ello se calculó la tasa de muerte. Se considerará como muerta cualquier larva que no responda a estímulos mecánicos suaves. Los datos se registrarán en una tabla y se plasmarán en una gráfica de dispersión, donde el eje X representará el tiempo (semana) y el eje Y el número acumulado de larvas muertas por tratamiento, permitiendo visualizar la tendencia de mortalidad a lo largo del experimento (Paico-Marín et al., 2023).

$$\%\ de\ mortalidad\ por\ semana = \left(\frac{N°\ de\ muertes\ en\ la\ semana}{N°\ al\ inicia\ de\ la\ semana}\right) x100$$

3.1.8 Tasa de degradación del polímero plástico PEBD

Para determinar la tasa de degradación en los respectivos bioensayos durante la fase experimental. Se utilizó la siguiente fórmula. (Godínez-Juárez et al., 2017)

$$\%\ de\ degradación = \left(\frac{Peso\ inicial - Peso\ final}{Peso\ inicial}\right) x100$$

3.1.9 Análisis de residuos de los bioensayos por medio de FTIR

Con el fin de obtener información detallada sobre los mecanismos de degradación del PEBD, se llevará a cabo un análisis espectroscópico mediante FTIR-ATR. Esta técnica permitirá identificar cambios en la estructura molecular del plástico, como la oxidación de las cadenas poliméricas y la formación de nuevos compuestos. Al comparar los espectros de las muestras degradadas con los de las muestras control, se podrá determinar los cambios observados con la actividad de las larvas de *Tenebrio molitor*. (J. Wang et al., 2022)

1. Preparación de la muestra: Limpia la superficie del diamante ATR con papel seda y alcohol al 70% para eliminar cualquier residuo. Coloca una pequeña porción de los residuos sobre el cristal y aplica una presión suave para asegurar un buen contacto.
2. Adquisición del espectro: Luego de colocar la muestra de residuo a analizar en el FTIR, se obtiene la gráfica de espectro de la muestra a fin de observar cambios en los grupos funcionales.
3. Análisis de datos: Utiliza un software especializado para analizar los espectros obtenidos. Compara los espectros de los residuos con los de las muestras iniciales para identificar cambios en la estructura molecular.

3.1.10 Análisis estadístico

Para evaluar el porcentaje de degradación del PEBD de acuerdo con el tipo de bioensayo que se llevó a cabo, se realizó una prueba no paramétrica de Friedman. Esta prueba le permitirá evaluar de manera rigurosa si existen diferencias significativas en el porcentaje de degradación del polietileno de baja densidad (PEBD) cuando se expone a distintos tipos de bioensayos. Al comparar los rangos de degradación asignados a cada muestra bajo las diferentes condiciones experimentales, la prueba de Friedman permite identificar si el tipo de bioensayo ejerce una influencia significativa en la tasa de degradación del material, proporcionando así evidencia empírica sólida para respaldar sus conclusiones.

3.2 Fase bibliográfica

Una revisión de la literatura consiste en un análisis crítico y metódico de los estudios previos sobre un tema específico. Su propósito es ofrecer un panorama general del conocimiento actual en un área determinada, convirtiéndose en un elemento fundamental dentro del trabajo académico y de investigación. En particular, la revisión sistemática implica examinar y resumir la literatura especializada con el objetivo de identificar, valorar, seleccionar y combinar toda la evidencia científica de alta calidad que sea pertinente para una pregunta de investigación. Para realizar la respectiva revisión bibliográfica se empleará la metodología PRISMA.

3.2.1. Formulación de la pregunta PICOS

La presente revisión sistemática tiene como objetivo principal identificar las enzimas digestivas del *Tenebrio molitor* con potencial para la degradación biotecnológica de polímeros plásticos (Rodríguez-Carreón et al., 2021). Con este fin, se llevó a cabo una planificación rigurosa que incluyó la formulación de una pregunta PICO específica, delimitando la población

de estudio (larvas de *Tenebrio molitor*), la intervención (enzimas digestivas), la comparación (con otros métodos de degradación) y el resultado principal (degradación de polímeros plásticos). Además, se establecieron criterios de inclusión y exclusión claros para garantizar la calidad y relevancia de los estudios seleccionados. Esta fase inicial sentó las bases para una revisión exhaustiva y objetiva, permitiendo identificar las enzimas clave involucradas en el proceso de biodegradación y explorar su potencial para aplicaciones biotecnológicas en la gestión de residuos plásticos (Sánchez-Martín et al., 2023).

3.2.2. Selección de fuentes de información

En este estudio, se realizó una búsqueda exhaustiva en bases de datos científicas reconocidas, como PubMed, Web of Science y Scopus, utilizando palabras clave específicas como "*Tenebrio molitor*", "enzimas digestivas" y "biodegradación". Se establecerán criterios de inclusión, como artículos publicados en los últimos cinco años, investigaciones revisadas por pares, además documentos relacionados directamente con aplicaciones biotecnológicas. Adicional a aquello, se establecieron criterios de exclusión detallados en la Tabla 4.

Criterio de inclusión	**Criterio de Exclusión**
- Artículos con tan solo 5 años de antigüedad desde su publicación	- Artículos que no cumplan con el rango de tiempo de publicación
- Artículos que mencionen acerca de enzimas digestivas	- Artículos que menciones métodos convencionales de degradación
- Artículos relacionados al potencial biotecnológico para biodegradación	- Artículos relacionados a la alimentación animal

Tabla 3. Criterios de inclusión y exclusión

Fuente: Autoras, 2025

3.2.3. Sistematización de la búsqueda

Se llevó a cabo mediante un enfoque estructurado que garantiza la exhaustividad y calidad de las fuentes. Aquellos artículos que cumplían con los criterios de inclusión, se los organizó por medio de un gestor bibliográfico como Mendeley, permitiendo clasificar las fuentes por temas específicos evitando duplicados. Este proceso fue documentado detalladamente asegurando la reproducibilidad y la relevancia de los resultados obtenidos en la revisión.

3.2.4. Análisis crítico de las fuentes

Para cada fuente fue examinada considerando aspectos como el rigor metodológico, la claridad en la presentación de resultados, la originalidad del enfoque, incluyendo las revistas donde fueron publicados. Se priorizaron artículos revisados por pares, estudios que proporcionaran datos concretos sobre las enzimas digestivas del *Tenebrio molitor* y su potencial biotecnológico. Además, se contrastaron diferentes perspectivas identificando posibles sesgos o limitaciones en los estudios, lo que permitió construir una visión integral y fundamentada del tema. Este enfoque crítico asegura que las conclusiones de la revisión estén respaldadas por evidencia confiable, destacando su relevancia.

3.2.5. Síntesis de la información

Los datos obtenidos sobre las enzimas digestivas del *Tenebrio molitor* y su potencial biotecnológico fueron clasificados según temáticas clave, como sus características bioquímicas, aplicaciones industriales, además beneficios en sectores como la alimentación y la bioconservación. Se compararon resultados, identificando puntos de convergencia, divergencia entre estudios, y se destacaron los avances más significativos. A través de este proceso, se resalta áreas de oportunidad para futuras investigaciones, asegurando una narrativa clara que contribuye al entendimiento del tema.

Capítulo 4

Resultados y Discusiones

4.1 Ubicación geográfica de los puntos de muestreo de fundas biflex.

N° de muestreo	Lugar de referencia	Coordenadas
1	Hacienda “La Floresta”	17S 619478E 9814155N

Tabla 4. Coordenadas de puntos de muestreo

Imagen 6 Visualización del punto de muestreo de fundas biflex en Google Maps (A) vista panorámica lejana (B) vista panorámica cercana

(Autoras, 2025)

4.2 Datos de pesos de las larvas divididas de acuerdo con el bioensayo

N° de replicas	CC (g)	CP (g)	B1 (g)	B2 (g)	B3 (g)
1	10,8424	15,4399	17,6953	16,5538	16,8431
2	18,1430	16,7570	18,0963	16,0836	16,1336
3	17,4573	15,7764	16,3547	16,8688	17,6080
PROMEDIO	15,4809	15,9911	17,3821	16,5020	16,8615

Tabla 5. Promedio de pesos de las 161 larvas en cada bioensayo

Fuente: Autoras, 2025

En la presente tabla, se expresan los pesos promedios obtenidos de las 161 larvas presentes en cada control y bioensayo a fin de mantener una homogeneidad relativa entre los mismos.

4.3 Peso y distribución del sustrato y contaminante

N° de replicas	Control (avena)	Control (PEBD)	Bioensayo #1		Bioensayo #2		Bioensayo #3	
1	100,04	6,0127	75,0413	1,5621	50,1342	3,0311	25,0126	4,5050
2	100,12	6,1490	75,0583	1,5145	50,5110	3,1450	25,2234	4,5102
3	100,63	6,1139	75,0923	1,5392	50,3471	3,0192	25,0819	4,5129

Tabla 6. Distribución de comida y contaminante

Fuente: Autoras, 2025

En la tabla se expresan los valores del sustrato/polímero de los controles y bioensayo con la finalidad de llevar una estadística inicial de modo que se compare con los valores finales posterior a la fase experimental.

4.4 Tasa de mortalidad por semana de acuerdo con el control y bioensayo

Al culmino de cada semana de la fase experimental, se realizó el cálculo de la tasa de mortalidad por semana obteniendo los siguientes resultados:

Control Plástico				
N° de replicas	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
1	77,02	81,08	71,43	100,00
2	70,19	83,33	75,00	100,00
3	69,57	87,76	83,33	100,00
Promedio	72,26	84,06	76,59	100,00

Tabla 7. Tasa mortalidad del Control Plástico

Fuente: Autoras, 2025

Observando los datos registrados, se puede evidenciar como la tasa de mortalidad al culmino de la semana 1 fue de un promedio del 72,26% alcanzando al 100% al final de la experimentación. Esto se debe a la falta de nutrientes proveniente de la avena usada como sustrato alimenticio y a los posibles compuestos presentes en la funda biflex.

Bioensayo 1				
N° de replicas	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
1	36,02	34,95	35,82	30,23
2	34,78	40,95	43,55	57,14
3	33,54	46,73	15,79	31,25
Promedio	34,78	40,88	31,72	39,54

Tabla 8. Tasa mortalidad del Bioensayo 1

Fuente: Autoras, 2025

Con respecto al Bioensayo 1, fue el que menor tasa de mortalidad presento puesto que contaba con la cantidad suficiente de sustrato por ende las larvas obtenían nutrientes suficientes como para sobrevivir.

Bioensayo 2				
N° de replicas	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
1	44,10	55,56	60,00	43,75
2	49,69	39,51	53,06	47,83
3	57,76	64,71	37,50	33,33
Promedio	50,52	53,26	50,19	41,64

Tabla 9. Tasa de mortalidad del Bioensayo 2

Fuente: Autoras, 2025

En el bioensayo 2, observamos que al comienzo de la fase experimental presenta una tasa de mortalidad alta, posterior a aquello decrece indicando así una aclimatación al ambiente por ende las larvas más fuertes son aquellas que sobrevivieron hasta el final de la experimentación.

Bioensayo 3				
N° de replicas	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
1	73,29	86,05	66,67	100,00
2	70,81	85,11	42,86	100,00
3	78,26	82,86	83,33	100,00
Promedio	74,12	84,67	64,29	100,00

Tabla 10. Tasa de mortalidad del Bioensayo 3

En el bioensayo 3, se observó que tiene una tasa de mortalidad alta que asciende al 100%. Este bioensayo es el que presento mayor tasa de mortalidad luego del control plástico, indicando que la falta de sustrato influye en el desarrollo óptimo, metabolización del PEBD y supervivencia de las larvas.

4.5 Determinación del porcentaje de consumo y degradación de avena y PEBD

Se llevo a cabo la determinación al culmino de 30 días de la experimentación de modo que utilizando la fórmula de degradación previamente mencionada se obtuvieron los siguientes datos:

Control Comida			
N° de replicas	Gramos de avena inicial (g)	Gramos de avena final (g)	Porcentaje de Consumo (%)
1	100,04	77,1310	22,89
2	100,12	78,6531	21,44
3	100,63	76,8993	23,58

Control Plástico (100% P)			
N° de replicas	Gramos de PEBD inicial	Gramos de PEBD final	Porcentaje de degradación
1	6,0127	5,0939	15,28
2	6,1490	5,0118	18,49
3	6,1139	5,0546	17,32

Tabla 11. Tasa de consumo-degradación del control comida y plástico
Fuente: Autoras, 2025

La presente tabla representa la cantidad de avena y PEBD consumidas/degradadas por parte de las larvas de *Tenebrio molitor* en relación con la masa inicial de cada uno de los controles.

Bioensayo # 1				
N° de replicas	Gramos de PEBD inicial (g)	Gramos de PEBD final (g)	Valor en gramos degradado	Porcentaje de degradación "PEBD"
1	1,56	1,08	0,49	31,15
2	1,51	1,19	0,32	21,32
3	1,54	1,01	0,52	34,09
		Promedio	0,44	28,85

N° de replicas	Gramos de avena inicial (g)	Gramos de avena final (g)	Valor en gramos consumidos	Porcentaje de consumo "Avena"
1	75,04	66,83	8,21	10,93
2	75,06	70,54	4,52	6,02
3	75,09	66,46	8,63	11,49
		Promedio	7,12	9,48

Tabla 12. Tasa de consumo y degradación del Bioensayo 1

Fuente: Autoras, 2025

El bioensayo 1 mostró que las larvas de *Tenebrio molitor* lograron degradar aproximadamente 28,85% del PEBD y consumieron 9,48% de la avena suministrada. La combinación de estos dos sustratos permitió una degradación efectiva del plástico, lo que refuerza la hipótesis de que la suplementación con materia orgánica favorece la biotransformación del PEBD por estos organismos.

Bioensayo # 2				
N° de replicas	Gramos de PEBD inicial (g)	Gramos de PEBD final (g)	Valor en gramos degradados	Porcentaje de degradación "PEBD"
1	3,03	2,35	0,68	22,35
2	3,15	2,34	0,80	25,48
3	3,02	2,04	0,98	32,40
		Promedio	0,82	26,74
N° de replicas	Gramos de avena inicial (g)	Gramos de avena final (g)	Valor en gramos consumidos	Porcentaje de consumo "Avena"
1	50,13	38,23	11,90	23,74
2	50,51	36,27	14,24	28,20
3	50,35	37,64	12,71	25,24
		Promedio	12,95	25,73

Tabla 13. Tasa de consumo y degradación del Bioensayo 2

Fuente: Autoras, 2025

El bioensayo 2 mostró que las larvas de *Tenebrio molitor* lograron una degradación promedio del 26,74% del PEBD, consumiendo un promedio de 0,82 g de plástico. Al mismo tiempo, consumieron 12,95 g de avena, con un porcentaje de consumo del 25,73%.

Bioensayo # 3				
N° de replicas	Gramos de PEBD inicial (g)	Gramos de PEBD final (g)	Valor en gramos degradado	Porcentaje de degradación "PEBD"
1	4,505	4,1335	0,37	8,25
2	4,5102	4,0017	0,51	11,27
3	4,5229	4,145	0,38	8,36
		Promedio	0,42	9,29
N° de replicas	Gramos de avena inicial (g)	Gramos de avena final (g)	Valor en gramos consumidos	Porcentaje de consumo "Avena"
1	25,0126	21,9048	3,11	12,42
2	25,2234	21,4805	3,74	14,84
3	25,0819	22,1394	2,94	11,73
		Promedio	3,26	13,00

Tabla 14. Tasa de consumo y degradación del Bioensayo 3
Fuente: Autoras, 2025

En el bioensayo 3, las larvas de *Tenebrio molitor* lograron una degradación promedio del 9,29% del PEBD, consumiendo un promedio de 0,42 g de plástico. En cuanto a la avena, el consumo promedio fue de 3,26 g, con un porcentaje de consumo del 13,00%. Estos resultados indican que, a pesar de que el PEBD representó mayor cantidad en la dieta, la baja cantidad de sustrato influyó en la degradación puesto que las larvas no obtenían la cantidad suficiente de nutrientes necesarios para realizar la metabolización del polímero.

Los resultados indican que las larvas de *Tenebrio molitor* pueden consumir PEBD en todas las proporciones evaluadas, pero hay diferencias significativas en la tasa de degradación según la cantidad de alimento suplementario. El bioensayo 1 mostró la mayor tasa de degradación, mientras que el bioensayo 3 fue el menos eficiente. Esto sugiere que una dieta mixta mejora la actividad degradativa de las larvas, posiblemente debido a un mejor equilibrio nutricional que facilita su metabolismo.

Un posible mecanismo detrás de este fenómeno es la relación entre la microbiota intestinal y la degradación del PEBD. Investigaciones anteriores han demostrado que las

bacterias simbióticas en el intestino de *T. molitor* juegan un papel crucial en la biodegradación de plásticos, ya que producen enzimas capaces de descomponer los polímeros. Es probable que una dieta con más alimento convencional favorezca la proliferación de estas bacterias, aumentando su eficiencia en la degradación del plástico.

Además, se observó una reducción en la mortalidad larval en los grupos con mayores proporciones de comida, lo que sugiere que una dieta equilibrada es esencial para la supervivencia y el desarrollo de las larvas. La menor supervivencia en el grupo con 75% de PEBD podría estar relacionada con la falta de nutrientes esenciales o la toxicidad de ciertos subproductos de la degradación del plástico.

Nuestros resultados coinciden con lo encontrado por (L. Yang et al., 2021) y (Brandon et al., 2019), quienes descubrieron que *T. molitor* degrada plásticos de manera más eficiente cuando tiene una dieta mixta. Estos estudios sugieren que consumir otros nutrientes promueve el crecimiento de las bacterias intestinales responsables de la degradación del PEBD. Sin embargo, a diferencia de lo reportado por (Peng et al., 2020), quienes hallaron una alta degradación incluso con una dieta exclusivamente plástica, en nuestro estudio la eficiencia fue significativamente menor en estos grupos. Esta diferencia podría deberse a variaciones en la cepa del coleóptero utilizada, la cantidad de larvas por ensayo, la composición química del PEBD empleado o la duración del experimento.

La menor tasa de degradación en los grupos con alta proporción de PEBD podría deberse a una reducción en la actividad enzimática de la microbiota intestinal. Se ha sugerido que ciertos microorganismos simbiontes, como *Exiguobacterium* y *Pseudomonas*, están involucrados en la degradación de polímeros y necesitan ciertos nutrientes para mantener su actividad. Una dieta

con poco alimento convencional podría afectar su metabolismo, disminuyendo la producción de enzimas como oxidorreductasas e hidrolasas, necesarias para descomponer el PEBD.

4.6 Análisis de residuos a partir de bioensayos por FTIR-ATR

La aplicación de espectroscopía infrarroja reveló la presencia de dos regiones espectrales de gran interés en el análisis del PEBD. La región comprendida entre 1200 y 3600 cm-1, asociada a las vibraciones de estiramiento de los enlaces químicos, permitió identificar los grupos funcionales característicos del polímero. Por otro lado, la región de huella digital (600-1200 cm-1) mostró una sensibilidad a posibles modificaciones estructurales inducidas por tratamientos externos. Los resultados obtenidos evidencian la presencia de bandas específicas en la región de grupos funcionales del PEBD, las cuales no fueron detectadas en el espectro de referencia, lo que confirma la presencia de nuevos grupos funcionales producto de un proceso de biodegradación los cuales se hallan en la zona de 2300 a 1900 cm-1.

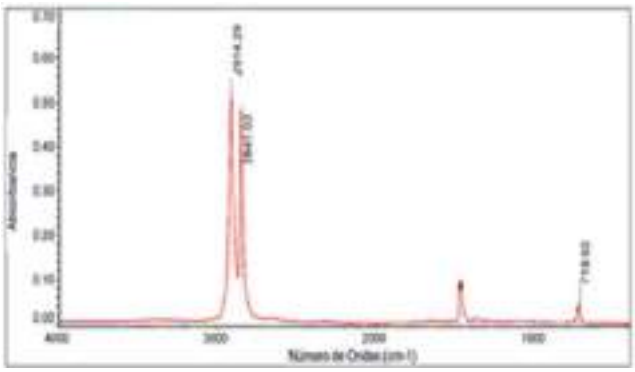


Imagen 6 Espectro IR del PEBD sin tratamiento de degradación.
Fuente: Autoras, 2025

Este espectro FTIR es del PEBD puro, y muestra picos distintivos en 2914 y 2847 cm^{-1}, que corresponden al estiramiento C-H de los grupos metilo y metileno, y en 718 cm^{-1}, que se asocia con la flexión C-H. Esto confirma su estructura polimérica.

Una vez realizado los respectivos bioensayos y obtenido los residuos de cada uno de ellos, se procedió a realizar el análisis a fin de obtener los espectros correspondientes a los bioensayos implementados.

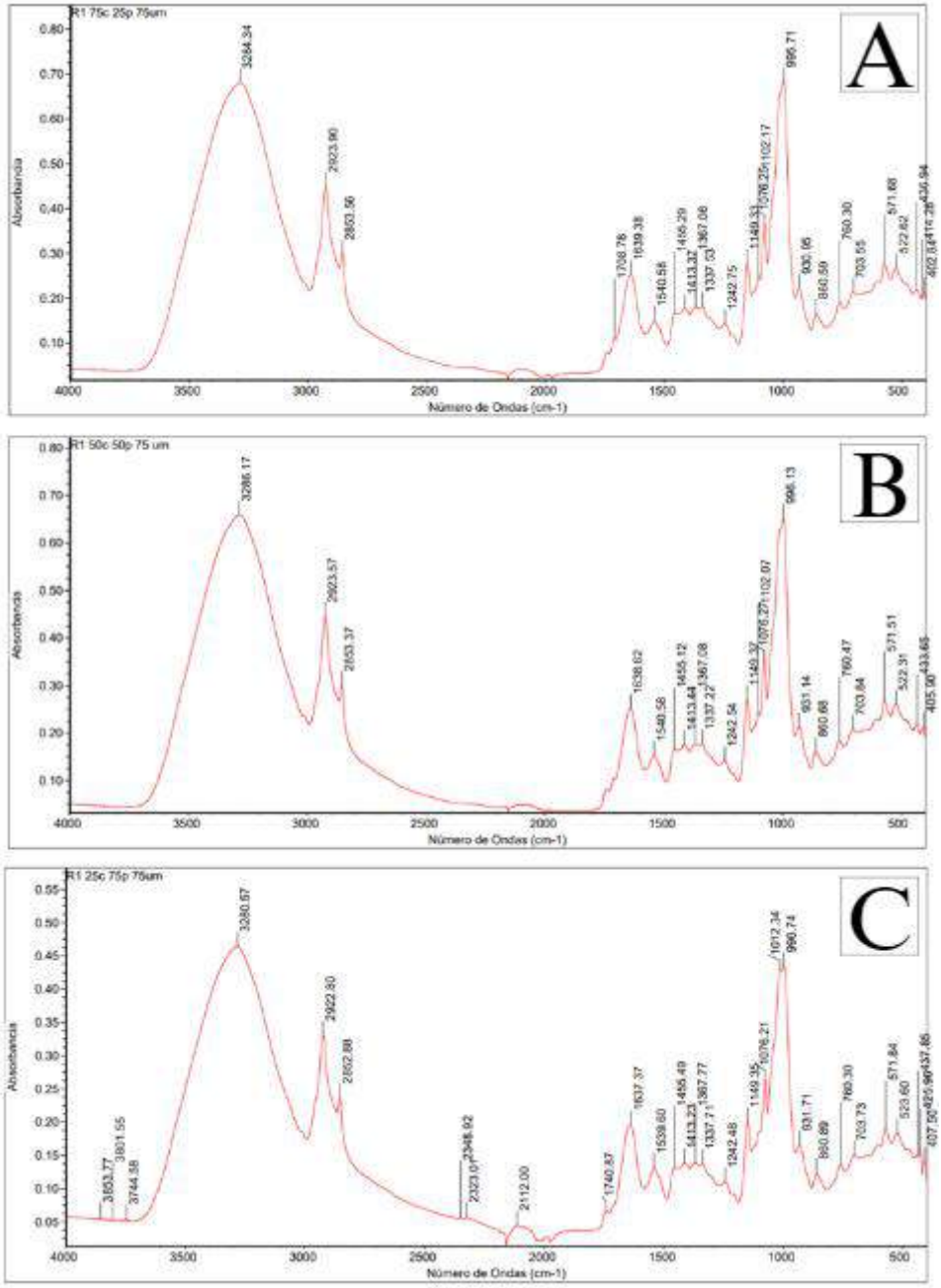


Imagen 7 **(A)** Espectro obtenido de Bioensayo 1 **(B)** Espectro obtenido de Bioensayo 2 **(C)** Espectro obtenido de Bioensayo **3**

Tras el análisis FTIR de los tres bioensayos en la Replicación 1, se observó que no surgieron picos significativos correspondientes a nuevos grupos funcionales. Sin embargo, se detectó un notable ensanchamiento y desplazamiento hacia números de onda menores de la banda correspondiente al C=O en la región de 1700 cm-1, lo cual podría indicar la formación de enlaces de hidrógeno o interacciones con componentes del bioensayo, alterando el entorno químico de los grupos carbonilo del PEBD. Así mismo, con la ayuda del software OMNIC del FTIR-ATR se llevó a cabo una comparación de los espectros generados con la biblioteca perteneciente al mismo equipo a fin de evaluar si existe o no la presencia polímeros plásticos o microplásticos en los residuos, dando como resultado negativo puesto que no se evidenció presencia de estos de modo que se confirma la eficacia de las larvas de *Tenebrio molitor* en la degradación de polietileno de baja densidad.

4.7 Análisis estadístico por medio de prueba de Friedman

Al obtener los datos, se pudo evidenciar que los valores no son normales, por lo que se decidió realizar un análisis de la varianza no paramétrica específicamente la prueba de Friedman.

Prueba de Friedman

Control C	Control P	B1	B2	B3	T*	p
3,50	2,00	4,50	4,00	1,00	12,75	0,0015

Mínima diferencia significativa entre suma de rangos = 3,994

Tratamiento	Suma(Ranks)	Media(Ranks)	n			
B3	3,00	1,00	3	A		
Control P	6,00	2,00	3	A	B	
Control C	10,50	3,50	3		B	C
B2	12,00	4,00	3			C
B1	13,50	4,50	3			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,050)

Imagen 8 Prueba no paramétrica de Friedman elaborada en Minitab

Fuente: Autoras, 2025

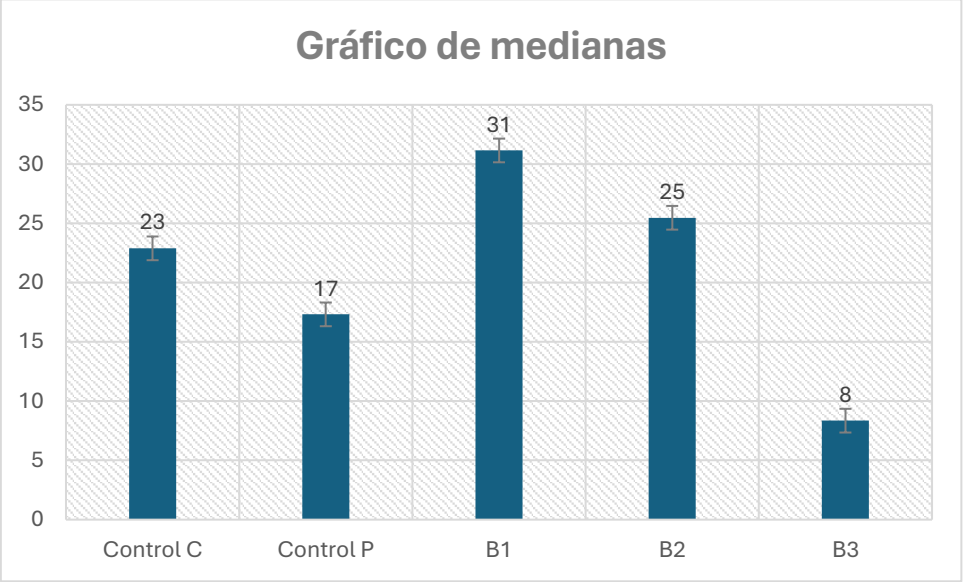


Imagen 9 Gráfica de medianas

Control Comida	23 C (Inferior 21; Superior 24)
Control Plástico	17 AB (Inferior 15; Superior 18)
B1	31 C (Inferior 21; Superior 34)
B2	25 C (Inferior 22; Superior 32)
B3	8 A (Inferior 8; Superior 11)

Tabla 15. Mediana y limites

Fuente: Autoras, 2025

1. Estadístico de prueba (T^t) = 12.75, con p = 0.0015
    - Como **p < 0.05**, significa que existe diferencias significativas entre los tratamientos.
2. Mínima diferencia significativa entre suma de rangos = 3.994
    - Esto indica qué diferencia en los rangos se considera significativa.

Interpretación

- **B3** es el tratamiento con el **rango más bajo** y se diferencia significativamente de los demás.
- **B1, B2 y Control C** tienen los rangos más altos y no son significativamente diferentes entre sí.

- **Control P** se encuentra en un punto intermedio.

4.8 Gráfico de dispersión con las muertes de acuerdo con los bioensayos y controles

	Muerte de larvas				
Semanas	Promedio B1	Promedio B2	Promedio B3	Promedio Control C	Promedio Control P
0	0	0	0	0	0
1	56	81	119	0	116
2	99	123	155	0	154
3	116	143	160	0	159
4	129	150	161	0	161

Tabla 16. Registro de muertes por 4 semanas

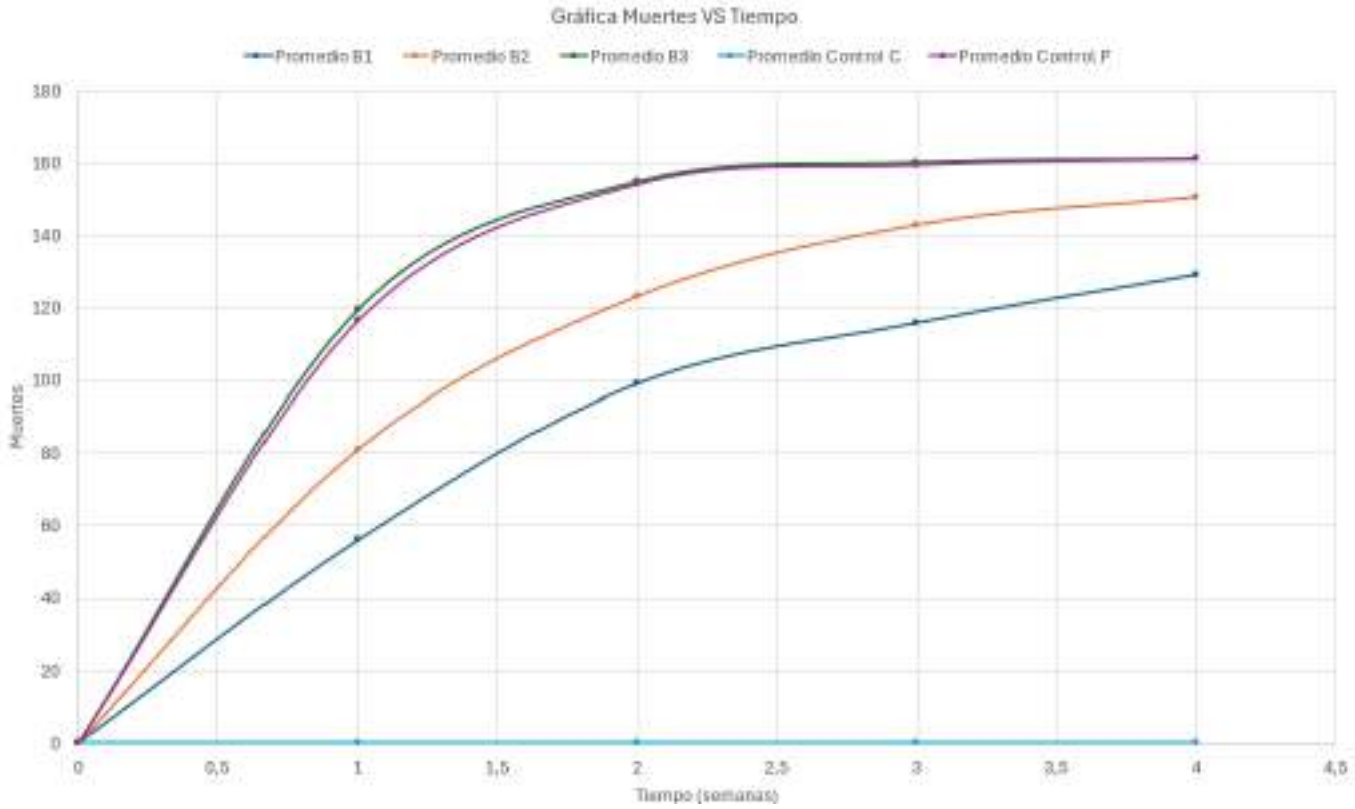


Imagen 10 Promedio de muertes de larvas por semana
Fuente: Autoras, 2025

Interpretación del gráfico

1. Control C: No hubo muertes, lo que indica condiciones óptimas para las larvas.

2. Control P y B3: Presentan la mayor mortalidad, alcanzando 161 muertes al final del experimento. Esto indica que estas condiciones fueron las más letales para las larvas.
3. B2: Presenta una mortalidad intermedia con 150 muertes, menor que B3, pero aun considerablemente alta.
4. B1: Exhibe la menor mortalidad entre los tratamientos con plástico, con 129 muertes al final del experimento.

4.9 Diagrama de flujo por metodología Prisma

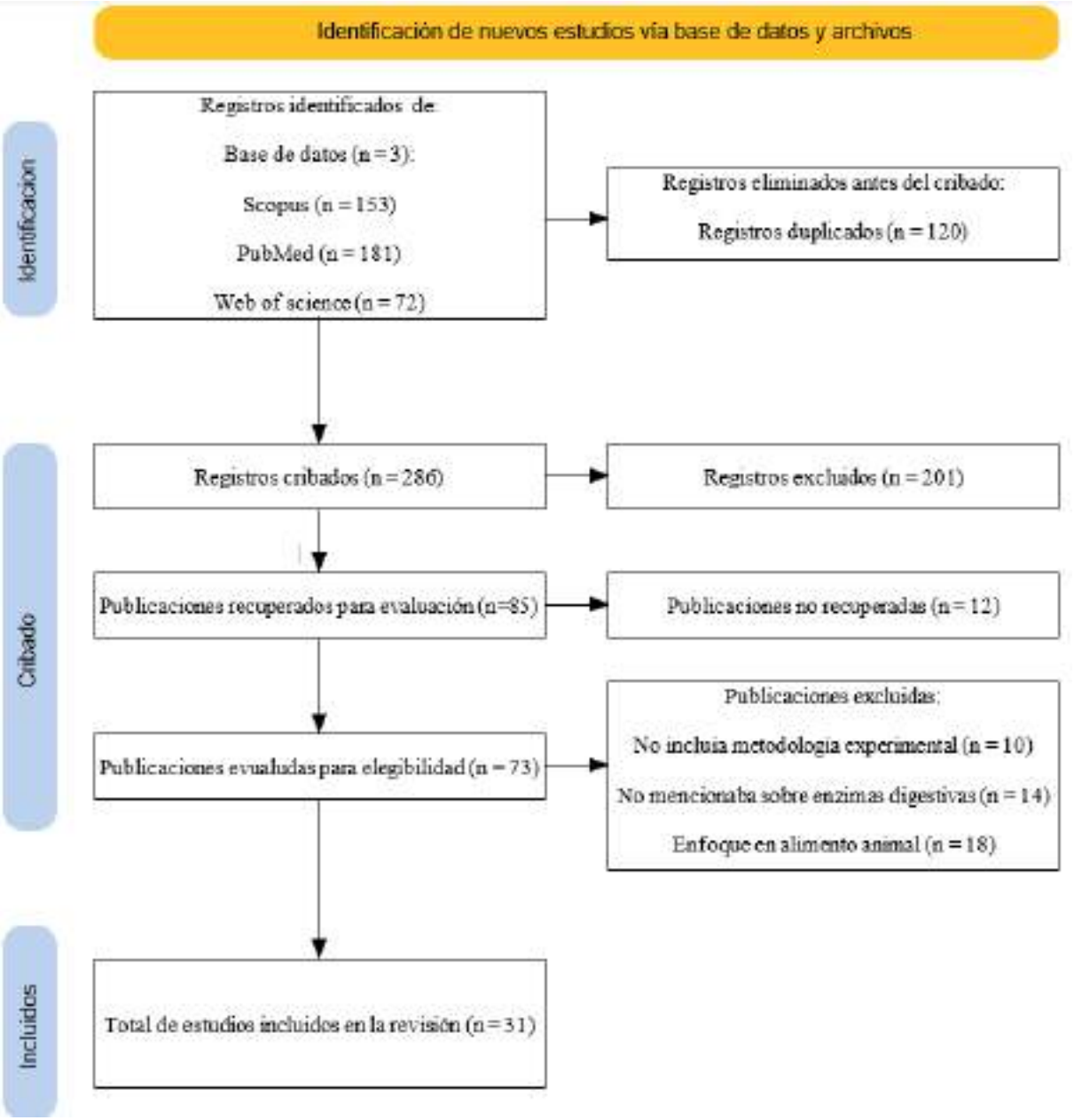


Imagen 11 Flujograma Prisma

Luego de realizar la búsqueda sistemática en las bases de datos PubMed, Scopus y Web of Science utilizando los operadores booleanos AND, OR y NOT. Los resultados sin realizar un filtrado con los criterios de inclusión y exclusión fueron los siguientes:

- **PubMed**: 181 artículos
- **Scopus**: 153 artículos
- **Web of Science**: 72 artículos

Tras la aplicación de estos filtros, se seleccionaron un total de 31 artículos para el análisis final. Entre los cuales destacaban:

- **Biodegradación**: 21 estudios analizaron la acción de microorganismos y larvas en la degradación de plásticos.
- **Degradación química**: 10 estudios se enfocaron en procesos catalíticos para la descomposición de polímeros.

Capítulo 5

Conclusiones y recomendaciones

5.1 Conclusiones

A partir de los resultados obtenidos al finalizar la fase experimental y la revisión bibliográfica, se pueden establecer las siguientes conclusiones:

1. Se confirmó que las larvas de *T. molitor* pueden consumir y degradar el PEBD en distintas proporciones de alimentación combinada con dieta convencional. Se observó que la degradación es mayor en tratamientos de igual proporción de plástico en la dieta, lo que sugiere que la presencia de alimento favorece la actividad metabólica y digestiva de las larvas.

2. La supervivencia y el desarrollo de las larvas variaron en función de la proporción de PEBD en la alimentación. Un mayor contenido de plástico redujo la tasa de crecimiento y la actividad larval, indicando que, aunque *T. molitor* puede procesar el PEBD, este no es un alimento óptimo para su desarrollo de modo que afecto en su ciclo de vida y en un aumento del porcentaje de muerte larvaria.

3. A través de los espectros generados por el FTIR-ATR se pudo evidenciar que en los residuos generados en los bioensayos no existe la presencia de polímeros plásticos, es decir que existió la degradación de estos sin generar derivados como los microplásticos.

4. A partir de la revisión bibliográfica, se identificaron diversas enzimas digestivas implicadas en la degradación de plásticos que pertenecen a las hidrolasas (proteasas, lipasas y esterasa-lipasas) y oxidorreductasas (lacasas y peroxidasas), que desempeñan un papel clave en la fragmentación y metabolismo del PEBD.

5.2 Recomendaciones

1. Los resultados obtenidos en el laboratorio son alentadores, pero es fundamental implementar investigaciones a nivel industrial para evaluar la eficacia del *Tenebrio molitor* en condiciones controladas y reales, considerando aspectos como tiempos de degradación, la cantidad y el tipo de plástico procesado.
2. Los residuos generados tras la digestión del plástico deben ser analizados exhaustivamente para determinar si son seguros para el medio ambiente o si pueden tener aplicaciones prácticas, como fertilizantes o biomasa utilizable, cerrando así el ciclo de sostenibilidad.
3. Realizar un análisis detallado de costos para determinar la rentabilidad de utilizar *Tenebrio molitor* a gran escala como solución para la gestión de residuos plásticos, considerando posibles incentivos gubernamentales o empresariales.
4. Investigar cómo se puede mantener la salud y productividad del *Tenebrio molitor* durante el proceso de biodegradación para garantizar resultados sostenibles y consistentes.
5. Evaluar si el *Tenebrio molitor* puede trabajar en sinergia con otras especies de insectos, bacterias u hongos para maximizar la degradación del polietileno de baja densidad.
6. Aislar la microbiota y caracterizar las enzimas digestivas responsables de la biodegradación para evaluar si es posible producirlas de manera artificial y aplicarlas directamente a los residuos plásticos.
7. Proponer estándares éticos que garanticen el manejo responsable de las larvas durante el proceso de biodegradación, minimizando su sufrimiento y cumpliendo con normativas de bienestar animal.

Referencias bibliográficas

Albarracín Liendo, R. L., & Clavijo Koc, C. V. (2021). Condiciones ambientales y biológicas del Tenebrio Molitor en la degradación del Poliestireno. *INGENIERÍA INVESTIGA*, *3*(2), 53–61. https://doi.org/10.47796/ing.v3i2.531

Arias, J. P. (2018). Nuevos abonos a partir de excrementos de insecto: el caso del gusano de la harina (Tenebrio molitor) New fertilizers from insect's excreta: the mealworm (Tenebrio molitor) case. In *Rev. Ingeniería y Región* (Vol. 19).

Biswas, S., Das, A., Paul, J., Bhadra, T., & Saha, A. (2022). Impact of the non-biodegradable plastics and role of microbes in biotic degradation. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, *10*(1), 171–189. https://doi.org/10.18006/2022.10(1).171.189

Bordiean, A., Krzyżaniak, M., & Stolarski, M. J. (2022). Bioconversion Potential of Agro-Industrial Byproducts by Tenebrio molitor—Long-Term Results. *Insects*, *13*(9). https://doi.org/10.3390/insects13090810

Brandon, A. M., Gao, S.-H., Tian, R., Ning, D., Yang, S.-S., Zhou, J., Wu, W.-M., & Criddle, C. S. (2019). *Biodegradation of polyethylene and plastic mixtures 1 in mealworms (larvae of Tenebrio molitor) and 2 effects on the gut microbiome 3*.

Bulak, P., Proc, K., Pytlak, A., Puszka, A., Gawdzik, B., & Bieganowski, A. (2021). Biodegradation of different types of plastics by tenebrio molitor insect. *Polymers*, *13*(20). https://doi.org/10.3390/polym13203508

Del Pilar Casas-Martínez, Y., Tatiana Fuquen-fúquene, L., Lorena Ramírez-torres, D., & Marcela Gómez-rodríguez, A. (2022). *ADVANCES IN ENVIRONMENTAL BIOTECHNOLOGY: BIOREEMEDIATION OF PLASTICS*.

George, M., Nallet, F., & Fabre, P. (2023). *A threshold model of plastic waste fragmentation: New insights into the distribution of microplastics in the ocean and its evolution over time*. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.116012

Godínez-Juárez, B., Vargas-Villamil, L., Gonzalez-Garduño, R., Saldivar-Cruz, J. M., Izquierdo-R, F., Hernández-Mendo, O., & Ramos-Juárez, J. A. (2017). Evaluación de la degradación, consumo voluntario y comportamiento productivo de ovinos alimentados con saccharina y maíz. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, *4*(12), 431. https://doi.org/10.19136/era.a4n12.1207

Ken, J., & Balangao, B. (2023). Degradation of Plastics-A Brief Review. In *Journal of Chemical Health Risks www.jchr.org JCHR* (Issue 6). https://www.researchgate.net/publication/377534296

Khan, F., Ahmed, W., Najmi, A., & Younus, M. (2019). Managing plastic waste disposal by assessing consumers' recycling behavior: the case of a densely populated developing country. *Environmental Science and Pollution Research*, *26*(32), 33054–33066. https://doi.org/10.1007/s11356-019-06411-4

Kuan, Z. J., Chan, B. K. N., & Gan, S. K. E. (2022). Worming the Circular Economy for Biowaste and Plastics: Hermetia illucens, Tenebrio molitor, and Zophobas

morio. In *Sustainability (Switzerland)* (Vol. 14, Issue 3). MDPI. https://doi.org/10.3390/su14031594

Lienhard, A., Rehorska, R., Pöllinger-Zierler, B., Mayer, C., Grasser, M., & Berner, S. (2023). Future Proteins: Sustainable Diets for Tenebrio molitor Rearing Composed of Food By-Products. *Foods*, *12*(22). https://doi.org/10.3390/foods12224092

Lv, S., Li, Y., Zhao, S., & Shao, Z. (2024). Biodegradation of Typical Plastics: From Microbial Diversity to Metabolic Mechanisms. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 25, Issue 1). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). https://doi.org/10.3390/ijms25010593

Machona, O., Chidzwondo, F., & Mangoyi, R. (2022). Tenebrio molitor: possible source of polystyrene-degrading bacteria. *BMC Biotechnology*, *22*(1). https://doi.org/10.1186/s12896-021-00733-3

Ojeda, J. P., & Mercante, I. T. (2021). Recycling plastic waste to produce lightweight aggregates. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, *37*, 489–499. https://doi.org/10.20937/RICA.54081

Orts, J. M., Parrado, J., Pascual, J. A., Orts, A., Cuartero, J., Tejada, M., & Ros, M. (2023). Polyurethane Foam Residue Biodegradation through the Tenebrio molitor Digestive Tract: Microbial Communities and Enzymatic Activity. *Polymers*, *15*(1). https://doi.org/10.3390/polym15010204

Paico-Marín, Stell R, Fernández-Gaitán, C. E., Iglesias-Osores, & Sebastian. (2023). Efecto de Beauveria bassianairradiada (UV-C) en el control de Spodoptera frugiperday Cosmopolites sordidus. *Rev. Agrotec. Amaz*, *3*(2), 451. https://doi.org/10.51252/raa.v3i2.451

Palansooriya, K. N., Sang, M. K., El-Naggar, A., Shi, L., Chang, S. X., Sung, J., Zhang, W., & Ok, Y. S. (2023). Low-density polyethylene microplastics alter chemical properties and microbial communities in agricultural soil. *Scientific Reports*, *13*(1). https://doi.org/10.1038/s41598-023-42285-w

Peng, B. Y., Chen, Z., Chen, J., Yu, H., Zhou, X., Criddle, C. S., Wu, W. M., & Zhang, Y. (2020). Biodegradation of Polyvinyl Chloride (PVC) in Tenebrio molitor (Coleoptera: Tenebrionidae) larvae. *Environment International*, *145*, 106106. https://doi.org/10.1016/J.ENVINT.2020.106106

Poveda Arias, J. (2018). Nuevos abonos a partir de excrementos de insecto: el caso del gusano de la harina (Tenebrio molitor). *Ingeniería y Región*, *19*, 1–10. https://doi.org/10.25054/22161325.1840

Przemieniecki, S. W., Kosewska, A., Ciesielski, S., & Kosewska, O. (2020). Changes in the gut microbiome and enzymatic profile of Tenebrio molitor larvae biodegrading cellulose, polyethylene and polystyrene waste. *Environmental Pollution*, *256*. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113265

Rodríguez-Carreón, A., Ortiz-Rivera, Y., Hernández-Peña, C. C., & Figueroa, C. (2021). Biodegradación de espumas plásticas por larvas de insectos: ¿una

estrategia sustentable? *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, *24*. https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2021.311

Sánchez-Martín, M., Pedreño Plana, M., Ponce Gea, A. I., & Navarro-Mateu, F. (2023). And, at first, it was the research question… The PICO, PECO, SPIDER and FINER formats [Y, al principio, fue la pregunta de investigación … Los formatos PICO, PECO, SPIDER y FINER] . *ESPIRAL. CUADERNOS DEL PROFESORADO*, *16*(32), 126–136. https://doi.org/10.25115/ecp.v16i32.9102

Sandoval-Herrera, J., & Bermúdez-Morera, D. (2021). Degradación del polietilentereftalato por medio de microorganismos. *Informador Técnico*, *85*(2). https://doi.org/10.23850/22565035.3592

Silva Vázquez, A. (2021). *Características de "Tenebrio molitor" como alimento (proyecto divulgativo)*. https://sede.udc.gal/services/validation/0ygl/0SuPk2gil0vM+ieCg==

Vargas, A., Valle, H., & González, M. (2019). *Nota técnica EFECTO DEL COLOR Y DE LA DENSIDAD DEL POLIETILENO DE FUNDAS PARA CUBRIR EL RACIMO SOBRE DIMENSIONES, PRESENTACIÓN Y CALIDAD POSCOSECHA DE FRUTOS DE BANANO Y PLÁTANO*. www.mag.go.cr/revagr/index.htmlwww.cia.ucr.ac.cr

Wang, J., Wang, Y., Li, X., Weng, Y., Dong, X., & Zhao, X. (2022). Comparison on the effectiveness of Fourier transform infrared (FT-IR) and attenuated total reflection Fourier transform infrared (ATR-FT-IR) in characterizing plastics

biodegradation by insect larvae. *Science of the Total Environment*, *839*. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156289

Wang, X., & Tang, T. (2022). Effects of Polystyrene Diet on the Growth and Development of Tenebrio molitor. *Toxics*, *10*(10). https://doi.org/10.3390/toxics10100608

Yang, L., Gao, J., Liu, Y., Zhuang, G., Peng, X., Wu, W. M., & Zhuang, X. (2021). Biodegradation of expanded polystyrene and low-density polyethylene foams in larvae of Tenebrio molitor Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae): Broad versus limited extent depolymerization and microbe-dependence versus independence. *Chemosphere*, *262*, 127818. https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2020.127818

Yang, Y., Yang, J., Wu, W. M., Zhao, J., Song, Y., Gao, L., Yang, R., & Jiang, L. (2015). Biodegradation and Mineralization of Polystyrene by Plastic-Eating Mealworms: Part 1. Chemical and Physical Characterization and Isotopic Tests. *Environmental Science and Technology*, *49*(20), 12080–12086. https://doi.org/10.1021/acs.est.5b02661

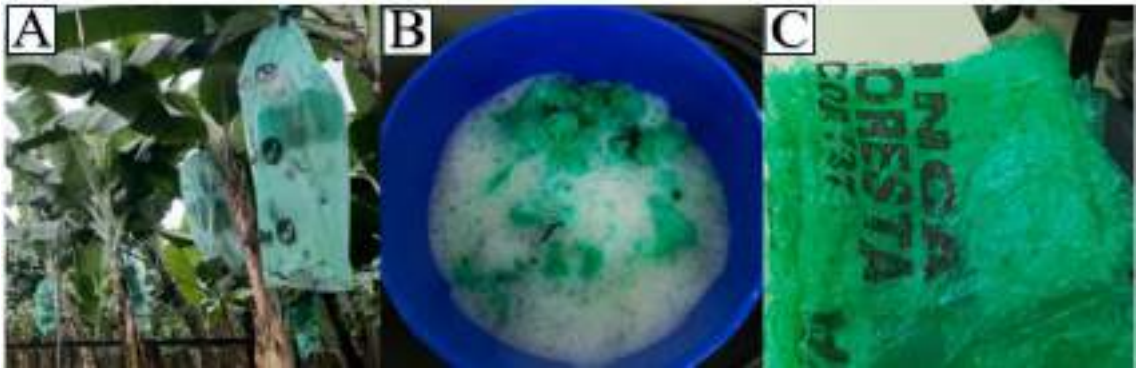
Anexos

Anexo 1. Adquisición de las larvas

Anexo 2. Pesado y distribución de larvas a los 15 respectivos

Anexo 3. Separación de 161 larvas en cada contenedor

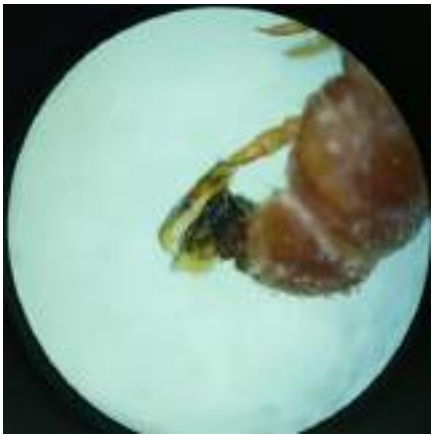
Anexo 4. Longitud de las larvas al inicio del experimento (2.25cm)



Anexo 5. (A) Obtención, (B) limpieza y (C) secado inicial de las fundas de PEBD

Anexo 6. Bioensayos posicionados para el inicio de la fase experimental (semana 1)

Anexo 7**.** Muda de piel de las larvas *T.molitor*



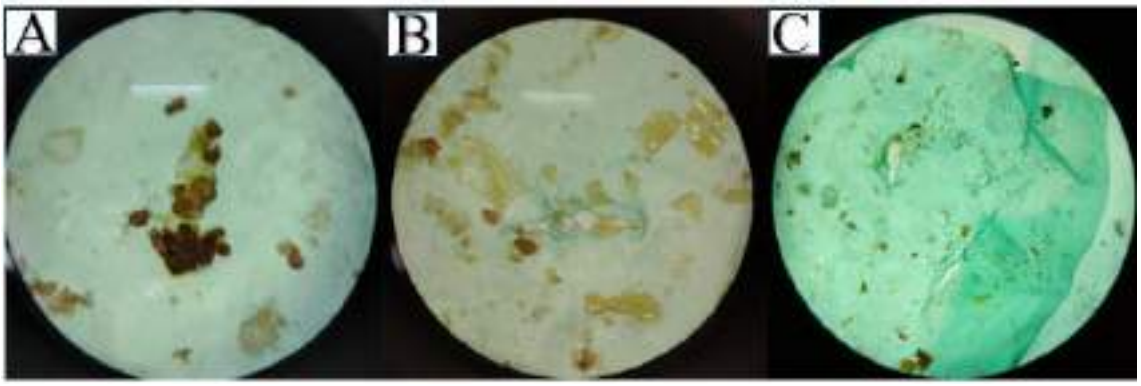
Anexo 8. Larvas del control P ingiriendo plástico (estereomicroscopio)

Anexo 9. Larva del bioensayo 2 (50%-50%) consumiendo plástico

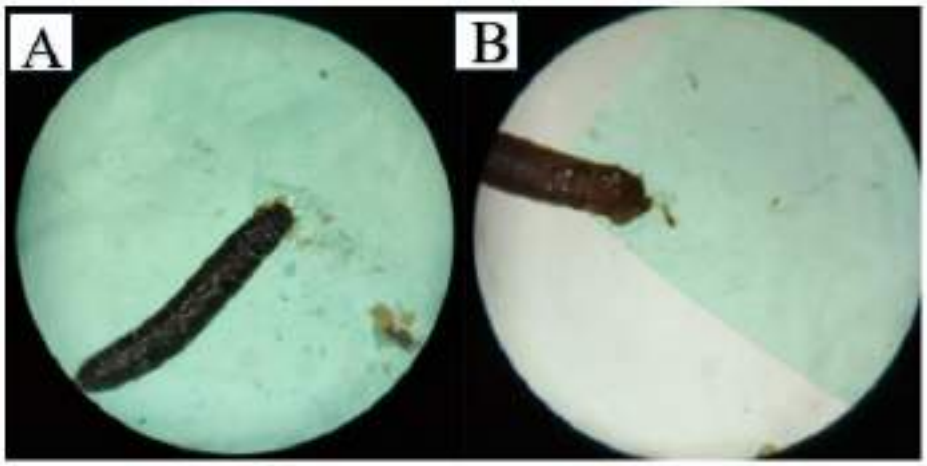
Anexo 10. Observación de 3 etapas del ciclo de vida del *T. molitor*

Anexo 11. Limpieza periódica 2da semana

Anexo 12. Intento de pupa encontrada en el Control Plástico (Estereoscopio)



Anexo 13. (A) Residuos de las larvas en control P, (B y C) Consumo de plásticos por parte de las larvas (Estereoscopio)



Anexo 14. (A y B) Larvas de control P consumiendo plástico

Anexo 15**.** (A) limpieza de los controles y bioensayos, (B y C) Medición de larvas

Anexo 16. (A) Separación del sustrato y del plástico final de los controles y bioensayos, (B) Pesado del sustrato y el plástico final

Anexo 17. (A) Equipo FTIR-ATR con acople diamante (Nicolet IS10) (B y C) Procesamiento de residuos finales de la larva

Anexo 18. Comparativa de tamaños de larvas (A) Control Comida vs B1 (B) Control Comida vs B2 (C) Control Comida vs B3