



**FACULTAD DE INGENIERÍA GEOGRÁFICA, AMBIENTAL Y ECOTURISMO**

**EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS  
OXOBIODEGRADABLES POR ACCIÓN BACTERIANA DE Pseudomona  
aeruginosa, A NIVEL DE LABORATORIO - 2023**

**Línea de investigación:**

**Tecnología para Residuos y Pasivos Ambientales. Biorremediación.**

Tesis para optar el Título Profesional de Ingeniero Ambiental

**Autor:**

Quinto Castillo, Peter Albert

**Asesor:**

Vásquez Aranda, Ahuber Omar  
(ORCID: 0000-0002-2873-6752)

**Jurado:**

Gómez Escriba, Benigno Paulo  
Paricoto Simón, María Mercedes  
Valdivia Orihuela, Braulio Armando

**Lima - Perú**

**2024**



# EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS OXOBiodegradables POR ACCIÓN BACTERIANA DE *Pseudomona aeruginosa*, A NIVEL DE LABORATORIO - 2023

## INFORME DE ORIGINALIDAD

8%

INDICE DE SIMILITUD

8%

FUENTES DE INTERNET

1%

PUBLICACIONES

1%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="https://repositorio.unfv.edu.pe">repositorio.unfv.edu.pe</a> Fuente de Internet	2%
2	<a href="https://repositorio.ucv.edu.pe">repositorio.ucv.edu.pe</a> Fuente de Internet	1%
3	<a href="https://repositorio.unsa.edu.pe">repositorio.unsa.edu.pe</a> Fuente de Internet	1%
4	<a href="https://hdl.handle.net">hdl.handle.net</a> Fuente de Internet	1%
5	<a href="https://dokumen.pub">dokumen.pub</a> Fuente de Internet	<1%
6	<a href="https://pt.scribd.com">pt.scribd.com</a> Fuente de Internet	<1%
7	<a href="https://www.researchgate.net">www.researchgate.net</a> Fuente de Internet	<1%
8	<a href="https://www.coursehero.com">www.coursehero.com</a> Fuente de Internet	<1%



**FACULTAD DE INGENIERÍA GEOGRÁFICA, AMBIENTAL Y ECOTURISMO**

**EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE BIODEGRADACIÓN DE  
PLÁSTICOS OXOBIODEGRADABLES POR ACCIÓN BACTERIANA DE  
*Pseudomona aeruginosa*, A NIVEL DE LABORATORIO - 2023**

**Línea de investigación:**

Tecnología para Residuos y Pasivos Ambientales. Biorremediación.

Tesis para optar el Título Profesional de Ingeniero Ambiental

**Autor:**

Quinto Castillo, Peter Albert

**Asesor:**

Vásquez Aranda, Ahuber Omar

(ORCID: 0000-0002-2873-6752)

**Jurado:**

Gómez Escriba, Benigno Paulo

Paricoto Simón, María Mercedes

Valdivia Orihuela, Braulio Armando

**Lima - Perú**

**2024**

### **Dedicatoria**

A mis padres Roy Quinto Chamorro y María Castillo Sánchez, por darme siempre su apoyo incondicional, por inspirarme a lograr grandes cosas y a superar cualquier obstáculo que la vida presenta.

A mis hermanos Roy y Liz, por su cariño, apoyo constante y por ser grandes profesionales considerados como un ejemplo a seguir y superar.

### **Agradecimientos**

A mi alma mater, la Universidad Nacional Federico Villarreal, por haberme formado profesionalmente y enriquecerme de conocimientos.

A mi asesor Mg. Omar Vásquez Aranda, por su gran apoyo y asesoramiento. Asimismo, a la Mg. Maribel Riveros Ramirez y al Mg. Braulio Valdivia Orihuela, por validar los datos recolectados en laboratorio.

Al Técn. Francisco Valdez Becerra, por su incondicional apoyo en el análisis y tratamiento experimental en laboratorio para la elaboración de la presente investigación.

A la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática de la Universidad Nacional Federico Villarreal, por facilitarme el acceso y uso del laboratorio de microbiología para el tratamiento y análisis de la presente investigación.

## ÍNDICE GENERAL

<b>ÍNDICE GENERAL .....</b>	<b>4</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS.....</b>	<b>7</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS.....</b>	<b>8</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>9</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>10</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>11</b>
1.1. Descripción y formulación del problema .....	12
<i>1.1.1. Descripción del problema.....</i>	<i>12</i>
<i>1.1.2. Formulación del problema .....</i>	<i>14</i>
1.2. Antecedentes .....	15
<i>1.2.1. Internacionales .....</i>	<i>15</i>
<i>1.2.2. Nacionales.....</i>	<i>18</i>
1.3. Objetivos .....	21
<i>1.3.1. Objetivo General.....</i>	<i>21</i>
<i>1.3.2. Objetivo Específicos.....</i>	<i>21</i>
1.4. Justificación.....	22
<i>1.4.1. Justificación Teórica.....</i>	<i>22</i>
<i>1.4.2. Justificación Práctica .....</i>	<i>22</i>
<i>1.4.3. Justificación Metodológica.....</i>	<i>23</i>
<i>1.4.4. Justificación Social.....</i>	<i>23</i>
1.5. Hipótesis.....	23
<i>1.5.1. Hipótesis General .....</i>	<i>23</i>
<i>1.5.2. Hipótesis Específicas .....</i>	<i>23</i>

<b>II. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>25</b>
2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación.....	25
2.1.1. <i>Polímeros</i> .....	25
2.1.2. <i>Plásticos</i> .....	25
2.1.3. <i>Contaminación por plásticos</i> .....	28
2.1.4. <i>Degradación de plásticos</i> .....	30
2.1.5. <i>Pseudomonas</i> .....	32
2.2. Marco conceptual .....	35
<b>III. MÉTODO.....</b>	<b>37</b>
3.1. Tipo de Investigación .....	37
3.2. Ámbito temporal y espacial.....	37
3.3. Variables.....	37
3.4. Población y muestra .....	39
3.4.1. <i>Población</i> .....	39
3.4.2. <i>Muestra</i> .....	39
3.4.3. <i>Diseño muestral</i> .....	39
3.4.4. <i>Unidad de análisis</i> .....	39
3.5. Instrumentos .....	39
3.5.1. <i>Materiales</i> .....	40
3.5.2. <i>Insumos</i> .....	40
3.5.3. <i>Equipos</i> .....	40
3.6. Procedimiento.....	41
3.6.1. <i>Etapa Preliminar</i> .....	41
3.6.2. <i>Etapa Laboratorio</i> .....	42
3.6.3. <i>Etapa Gabinete</i> .....	45

3.7. Análisis de datos.....	45
3.8. Consideraciones éticas .....	46
<b>IV. RESULTADOS .....</b>	<b>47</b>
4.1. Caracterización fenotípica de <i>P. aeruginosa</i> .....	47
4.1.1. Reacción bacteriana en medios de cultivo selectivos y no selectivos.....	47
4.1.2. Tinción de Gram .....	48
4.1.3. Pruebas bioquímicas.....	49
4.2. Incidencia del pH y temperatura en la biodegradación bacteriana.....	50
4.3. Eficiencia de biodegradación bacteriana por <i>P. aeruginosa</i> .....	54
4.4. Análisis Estadístico .....	58
4.4.1. Normalidad .....	58
4.4.2. Independencia.....	60
4.4.3. Homocedasticidad.....	60
4.4.4. Conclusión .....	61
<b>V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....</b>	<b>62</b>
<b>VI. CONCLUSIONES .....</b>	<b>65</b>
<b>VII. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>66</b>
<b>VIII. REFERENCIAS .....</b>	<b>67</b>
<b>IX. ANEXOS .....</b>	<b>78</b>



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b> <i>Principales tipos de plásticos</i> .....	25
<b>Tabla 2</b> <i>Pruebas bioquímicas para la identificación de P. aeruginosa</i> .....	35
<b>Tabla 3</b> <i>Operacionalización de variables</i> .....	38
<b>Tabla 4</b> <i>Condiciones de biodegradación de plásticos oxobiodegradables d2w</i> .....	44
<b>Tabla 5</b> <i>Pruebas bioquímicas para la identificación de P. aeruginosa</i> .....	49
<b>Tabla 6</b> <i>Análisis de varianza – ANOVA</i> .....	51
<b>Tabla 7</b> <i>Análisis de medias del factor pH en la eficiencia de biodegradación</i> .....	52
<b>Tabla 8</b> <i>Análisis de medias del factor temperatura en la eficiencia de biodegradación</i> ..	52
<b>Tabla 9</b> <i>Eficiencia de biodegradación del polímero en estudio</i> .....	55
<b>Tabla 10</b> <i>Prueba de Tukey – Subconjuntos homogéneos del factor muestra analizada</i> ...	56
<b>Tabla 11</b> <i>Persistencia ambiental in vitro estimada para el plástico d2w y LDPE</i> .....	57
<b>Tabla 12</b> <i>Prueba analítica de normalidad de los residuos</i> .....	59
<b>Tabla 13</b> <i>Prueba de Levene asociada al factor pH</i> .....	60
<b>Tabla 14</b> <i>Prueba de Levene asociada a la muestra empleada</i> .....	61

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> <i>Identidad visual: El logo de plásticos d2w u oxobiodegradables .....</i>	27
<b>Figura 2</b> <i>Proyecciones en la producción y acumulación de plásticos al 2050, a nivel mundial.....</i>	28
<b>Figura 3</b> <i>Impactos y riesgos directos de los plásticos en el medio marino.....</i>	30
<b>Figura 4</b> <i>Proceso de biodegradación de polímeros .....</i>	31
<b>Figura 5</b> <i>Proceso de crioconservación de P. aeruginosa en glicerol .....</i>	41
<b>Figura 6</b> <i>Cepa comercial P. aeruginosa ATCC W-875 en placa Petri.....</i>	43
<b>Figura 7</b> <i>Esquema del experimento de biodegradación de plásticos d2w .....</i>	44
<b>Figura 8</b> <i>Crecimiento de P. aeruginosa en Agar Cetrimide tras 24 horas de incubación a 37°C.....</i>	47
<b>Figura 9</b> <i>Crecimiento de P. aeruginosa en el medio no selectivo – Caldo Nutritivo.....</i>	48
<b>Figura 10</b> <i>Aplicación de la tinción de Gram en la identificación microscópica de P. aeruginosa.....</i>	48
<b>Figura 11</b> <i>Resultados de las pruebas bioquímicas para P. aeruginosa .....</i>	50
<b>Figura 12</b> <i>Gráfico de medias estimadas de biodegradación – Muestra vs temperatura ..</i>	53
<b>Figura 13</b> <i>Gráfico de medias estimadas de biodegradación – pH vs muestra .....</i>	53
<b>Figura 14</b> <i>Gráfico de medias estimadas de biodegradación – Temperatura vs pH .....</i>	54
<b>Figura 15</b> <i>Bioincrustación y efectos microbiológicos en fragmentos d2w y LDPE.....</i>	55
<b>Figura 16</b> <i>Modelo de la persistencia ambiental del plástico d2w.....</i>	57
<b>Figura 17</b> <i>Modelo de la persistencia ambiental del plástico LDPE .....</i>	58
<b>Figura 18</b> <i>Gráfico de la normalidad de los residuos en la eficiencia de biodegradación ..</i>	58
<b>Figura 19</b> <i>Gráfico Q-Q Normal de los residuos en la eficiencia de biodegradación .....</i>	59
<b>Figura 20</b> <i>Gráfico de los residuos estándar vs pronosticado .....</i>	60

## RESUMEN

Los plásticos son ampliamente demandados, y su impacto ambiental se intensifica en los océanos, generando perturbaciones en los ecosistemas y cambios sustanciales en las cadenas alimentarias marinas. Esta investigación se centró en evaluar el comportamiento de biodegradación de los plásticos oxobiodegradables en respuesta a la acción de la bacteria *Pseudomonas aeruginosa*, en comparación con el polietileno de baja densidad (LDPE), en un entorno de laboratorio. Para ello, se consideraron dos variables de efectos fijos: la temperatura, a 20°C y 37°C, y el pH, a 5 y 7. Para validar las características de la cepa, se emplearon medios de cultivo no selectivos, selectivos y diferenciales. Además, se implementó una ficha de recolección de datos para medir el peso de las muestras. Los resultados obtenidos revelaron reacciones metabólicas características de *P. aeruginosa*. Asimismo, el factor pH fue el único que tuvo efectos significativos en la biodegradación de los polímeros oxobiodegradables y del LDPE. Durante un período de 42 días, se observó que los plásticos oxobiodegradables lograron su máxima eficiencia de biodegradación a 20°C con un pH de 7, alcanzando un valor del 29.4%. Por otro lado, el plástico LDPE obtuvo su máxima eficiencia de biodegradación a 37°C con un pH de 5, alcanzando un valor del 60%. Por tanto, a pesar de que la tasa de biodegradación fue menor en los plásticos oxobiodegradables, *P. aeruginosa* mostró una preferencia por estos polímeros. Esto sugiere que los plásticos oxobiodegradables requieren un pretratamiento para permitir que los prooxidantes actúen y mejoren el proceso de biodegradación.

**Palabras claves:** LDPE, oxobiodegradable, eficiencia, biodegradación, persistencia ambiental.

## ABSTRACT

Plastics are in high demand, and their environmental impact intensifies in the oceans, causing disruptions to ecosystems and significant alterations in marine food chains. This research focused on evaluating the biodegradation behavior of oxobiodegradable plastics in response to the activity of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria, comparing it with low-density polyethylene (LDPE), in a laboratory setting. To achieve this, two fixed-effect variables were taken into account: temperature, at 20°C and 37°C, and pH, at 5 and 7. To validate the characteristics of the strain, non-selective, selective, and differential culture media were employed. Additionally, a data collection form was implemented for the measurement of sample weights. The obtained results revealed metabolic reactions characteristic of *P. aeruginosa*. Furthermore, the pH factor was the sole variable that showed significant effects on the biodegradation of oxobiodegradable polymers and LDPE. Over a 42-day period, it was observed that oxobiodegradable plastics achieved their highest biodegradation efficiency at 20°C with a pH of 7, reaching a value of 29.4%. Conversely, LDPE reached its maximum biodegradation efficiency at 37°C with a pH of 5, reaching a value of 60%. Hence, despite the lower biodegradation rate in oxobiodegradable plastics, *P. aeruginosa* exhibited a preference for these polymers. This suggests that oxobiodegradable plastics require pre-treatment to enable pro-oxidants to act and enhance the biodegradation process.

**Keywords:** LDPE, oxobiodegradable, efficiency, biodegradation, environmental persistence.

## I. INTRODUCCIÓN

Durante las últimas décadas, los plásticos han emergido como un desafío ambiental crucial, impulsados por su asequibilidad, versatilidad y capacidad para resistir las condiciones ambientales (Greenpeace, 2016; Parker, 2019). Esto se ha traducido en un consumo excesivo de bolsas de plástico en numerosos países a nivel mundial, mientras que las tasas de reciclaje siguen siendo insuficientes. Como resultado, se desperdician enormes cantidades de residuos plásticos, sumando millones de toneladas, y estos tienen un impacto perjudicial en diversos componentes del entorno, particularmente en los sistemas acuáticos y la vida silvestre que habita en ellos, incluyendo a la población humana. Además, la formación y liberación de microplásticos en aguas y sedimentos marinos ejerce un impacto negativo en la economía, el clima, la salud y la biodiversidad (Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente [PNUD], 2021)

En esa línea, el Perú no está exento a este tipo de contaminación, principalmente en el litoral peruano, debido al incremento de la zona costera (Purca y Henostroza, 2017). Esto se debe a una inadecuada gestión de residuos, incluyendo los plásticos biodegradables o de origen biológico, que pueden subsistir durante muchos años en el ambiente al no recibir el tratamiento industriales necesario.

Por ende, la presente tesis evalúa el comportamiento de biodegradación de plásticos oxobiodegradables ante la acción bacteriana de *P. aeruginosa*, para estimar la persistencia ambiental de dicho polímero frente al plástico LDPE, a nivel de laboratorio, 2023; puesto que el impacto de estos polímeros que se biodegradan no es muy conocido y desarrollado en el Perú, pese a las normativas nacionales o internacionales que controlan la fabricación de plásticos de tipo “biodegradable”.

## **1.1. Descripción y formulación del problema**

### **1.1.1. Descripción del problema**

Los plásticos son los bienes más asequibles en el mercado, de mayor flexibilidad, de alta persistencia en el ambiente y los más demandados por el hombre, es decir, en tan solo unas décadas se ha hecho ubicuo en todo tipo de objetos y materiales (Greenpeace, 2016). Estas propiedades han hecho posible que este sea considerado uno de los problemas ambientales más apremiantes (Parker, 2019).

A nivel mundial, la Organización de las Naciones Unidas afirma que la adquisición de botellas de plástico se da en todo momento (1 millón/minuto) y, al año, se emplea medio billón de bolsas. Esto trae consigo que los sistemas de alcantarillado reciban casi la tercera parte de los envases plásticos y, por ende, terminen en los océanos (8 millones de toneladas/año) amenazando la vida marina (ONU, 2019, párr. 6).

En ese sentido, el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUD, 2021) afirma que la contaminación plástica aumenta rápidamente transfiriéndose microplásticos al agua y sedimentos marinos, por lo cual, se pronostica que los vertidos de plástico en los océanos se tripliquen para el 2040 si no se toman medidas notables, afectando así a la economía, el clima, la salud y la diversidad biológica.

A nivel de América Latina, Santillán afirmó que el reciclaje en México equivale solo al 3% en comparación a los 300 millones de toneladas de plástico anuales que se producen (2018, párr. 6). Asimismo, en Brasil se producen 11.3 millones de toneladas anuales, cuyas prácticas de reciclaje asciende al 1.28% (Mora, 2019). Por lo tanto, el PNUD (2021) revela que dichos índices de reciclaje, al ser bajos, conlleva a una pérdida cuantiosa de toneladas (> 1 millón) de residuos plásticos y a la afectación de ecosistemas.

A nivel nacional, la Dirección General de Gestión de Residuos Sólidos del Ministerio del Ambiente (DGRS, 2020, como se citó en MINAM, 2021) señaló que el 10.7% de los residuos sólidos generados son plásticos, es decir, 878,936 toneladas (SINIA, 2021), de los cuales el 0.96% se recicla, mientras que más del 35% de los residuos plásticos no cuentan con una adecuada disposición.

En ese marco, en Lima Metropolitana y el Callao, se origina el 48.8% de residuos plásticos a nivel nacional, proporción equivalente a 1,191 toneladas diarias (MINAM, 2021). Cabe mencionar que, el incremento de usos del litoral ha sido el motivo primordial en la generación de impactos negativos en la costa peruana, de modo que el significativo incremento en la usanza de productos plásticos determinado por las malas prácticas en diversas actividades económicas, tales como: pesca, minería, hidrocarburos, construcción, turismo, actividades agrícolas y de riego tecnificado, transporte marítimo, etc.; fundamentan la generación de desperdicios marinos que podría afectar la trama trófica del mar peruano (Purca y Henostroza, 2017). Asimismo, el uso de plásticos biodegradables o de origen biológico que no siempre son tratados en condiciones industriales, suponen los mismos riesgos que los plásticos convencionales al persistir durante muchos años en medios marinos (PNUD, 2021).

En la misma línea, la acumulación de residuos sólidos en las franjas ribereñas costeras, entre ellos el plástico, y la presencia de microplásticos (< 5 mm) en playas como Carpayo, Chancay, Asia (Andina, 2022), entre otros; suponen acumulaciones constantes de estos microcontaminantes tras las fragmentaciones del material original, acrecentado por el uso de plásticos etiquetados como compostables, biodegradables u oxodegradables, que si bien es cierto se degradan en condiciones marinas, es mucho más lenta de lo que afirman los fabricantes de la industria del compostaje y en fluidos gastrointestinales de las tortugas estudiadas (Open-Bio, 2016). Sin embargo, este tipo de contaminación aún es baja a

comparación con otras latitudes del mundo donde su presencia es preocupante (Purca, como se citó en Gestión, 2018).

Por tanto, se deben proponer múltiples intervenciones sinérgicas en todas las fases de producción y uso del plástico (PNUD, 2021, p. 5), con el fin de disminuir sus impactos negativos, teniendo en cuenta que en el mercado peruano existe mucha desinformación acerca de la biodegradabilidad, pese a la incipiente aprobación del Reglamento Técnico sobre Bolsas de Plástico Biodegradable en el 2021, cuyo enfoque es aplicado solamente a nivel de laboratorio (Díaz, 2021).

Una manera de estimar los impactos más pronunciados de los plásticos biodegradables frente a los plásticos tradicionales en el medio marino es generando nuevas investigaciones cuyos datos puedan ser usados por organizaciones de estandarización que finalicen su biodegradación en condiciones marinas, lo cual, a su vez, contribuye a que el estado peruano pueda fortalecer sus instrumentos de educación, control y fiscalización ambiental con la participación activa de la población (Open-Bio, 2016). Por ello, el presente trabajo está enfocado en evaluar el comportamiento de biodegradación de plásticos oxobiodegradables ante la acción bacteriana de *P. aeruginosa*, para estimar la persistencia ambiental de dicho polímero frente al plástico LDPE, a nivel de laboratorio, 2023.

### **1.1.2. *Formulación del problema***

#### **1.1.2.1. Problema Principal.**

- ¿Cuál es el comportamiento de biodegradación de plásticos oxobiodegradables ante la acción de *P. aeruginosa* para estimar la persistencia ambiental de dicho polímero frente al plástico LDPE, a nivel de laboratorio, 2023?



### 1.1.2.2. Problemas Secundarios.

- ¿La bacteria *P. aeruginosa*, adquirida comercialmente, presentará características metabólicas propias de la especie que coadyuven a la estimación de la persistencia ambiental del plástico oxobiodegradable frente al plástico LDPE, a nivel de laboratorio?
- ¿Cómo inciden las condiciones de pH y temperatura en la eficiencia de biodegradación de plásticos oxobiodegradables por *P. aeruginosa* para estimar la persistencia ambiental de dicho polímero frente al plástico LDPE, a nivel de laboratorio?
- ¿Cuál es la eficiencia de biodegradación de plásticos oxobiodegradables bajo la acción de *P. aeruginosa* para estimar la persistencia ambiental de dicho polímero frente al plástico LDPE, a nivel de laboratorio?

## 1.2. Antecedentes

### 1.2.1. Internacionales

**Abed et al., (2019)** en su artículo científico compararon la degradabilidad de OXO-PE, PE y tereftalato de polietileno (PET) en zonas planctónicas (2 m) y bentónicas (6 m) del Golfo Árabe, Omán, durante un periodo de 80 días; asimismo, identificaron las comunidades bacterianas incrustantes en las superficies de plástico averiguando su especificidad en OXO-PE. Su metodología consistió en adquirir muestras de plásticos de un supermercado local para someterse a un análisis de degradación física mediante SEM y DSC, análisis de degradación química mediante FTIR, y un análisis cualitativo-cuantitativo de microorganismos incrustantes. En ese marco, como resultado se evidenciaron mayores signos de degradación física y química de OXO-PE y PE en el tiempo, pero no en PET, sin mayor relevancia del hábitat. Además, la muestra OXO-PE mostró mayor cristalinidad debido a la susceptibilidad

de fotooxidación. Respecto a la abundancia de comunidades bacterianas, los géneros *Ruegeria*, *Roseobacter*, *Nautella* y *Pseudomonas* a 2 m después de 80 días fue mayor en OXO-PE y PE que, en PET, mientras que los géneros *Alteromonas* y *Zoogloea* resultaron ser específicas en OXO-PE. En conclusión, la biodegradabilidad de OXO-PE es superior a la del PE y PET, siendo más significativa en la zona béntica que en la planctónica. Además, las incrustaciones bacterianas asociadas al plástico están influenciadas por el tipo de plástico, la profundidad de exposición a la bioincrustación y la duración de la contaminación.

**Napper y Thompson, (2019)** en su artículo científico evaluaron el deterioro de bolsas de plásticos biodegradables, oxo-biodegradables, compostables y convencionales (HDPE) en el mar, suelo e intemperie. En ese aspecto, como metodología emplearon los plásticos por su prevalencia en tiendas minoristas del Reino Unido, las cuales fueron expuestas al suelo, intemperie, agua de mar y en laboratorio (control) para una posterior inspección visual de su deterioro. Como resultado, en el medio control, suelo y marino, en todas las muestra de plástico no hubo pérdida de superficie durante 27 meses y seguían siendo funcionales en un periodo de 3 años, a excepción de las bolsas compostables que solo permanecieron durante 27 meses en el suelo y durante 3 meses en el medio marino; en el medio intemperie, todos los tipos de plástico eran demasiado frágiles y se desintegraban a pedazos ( $< 5$  mm) a los 9 meses. En conclusión, se demostró que los plásticos biodegradables, oxo-biodegradables y convencionales persisten en el suelo y el medio marino por más de 3 años. En contraparte, los plásticos compostables desaparecieron en el medio marino en 3 meses; sin embargo, permaneció intacto en el suelo. Además, en un periodo de 3 años no se pudo asegurar que ninguno de los materiales examinados se deteriorara lo suficiente para reducir los impactos negativos en la biota y los tres entornos de estudio.

**Mouafo Tamnou et al., (2021)** en su artículo científico evaluaron la evolución del pH, la conductibilidad eléctrica y la abundancia de células vinculadas a la biodegradación del

polietileno de baja densidad bajo varias temperaturas controladas en un ambiente acuático ácido. En ese sentido, la metodología empleada fue utilizar fragmentos esterilizados de PEBD, de 4cm de lado de 0.08 g, sometidos a la acción bacteriana de *Pseudomona aeruginosa*, evaluando su biodegradación por pérdida de peso, por abundancia bacteriana y cambios químicos del medio. Por lo tanto, los porcentajes de pérdida de peso en un periodo de 30 días y a temperaturas de 7°C, 23°C, 37°C y 44°C fueron de 3.34%, 3.38%, 5.37% y 6.25% respectivamente. Además, la abundancia de células fue mayor bajo 23°C y menor bajo 44°C; los valores de conductibilidad eléctrica aumentaron bajo 44°C después de 30 días; mientras que los valores de pH disminuyeron hasta 4.11 bajo 7 °C después de 10 y 20 días. En definitiva, la biodegradación de PEBD por *P. aeruginosa* está fuertemente influenciada por las condiciones ambientales, donde los efectos de un pH ácido son contrarrestados por las bajas temperaturas, en tanto que, a temperaturas óptimas, el crecimiento bacteriano se ralentiza como consecuencia probable de la composición química del medio menos favorable.

**Lee et al., (2020)** en su artículo científico demostraron y compararon las eficiencias de biodegradación de una cepa de *P. aeruginosa* hacia cuatro tipos diferentes de plástico: PE, PS, PPS y polipropileno (PP). En ese marco, la metodología consistió en aislar *P. aeruginosa* del extracto intestinal de supergusanos (*Zophobas atratus L.*) para su crecimiento en películas de PS, analizando su biodegradabilidad por SEM, recuento de colonias, densidad óptica, reducción de masas de perlas de plástico (PS, PE, PP, PPS), espectroscopía EDX y FTIR. Por tanto, ante la acción de *P. aeruginosa*, las perlas de PS manifestaron una fuerte corrosión superficial y oxidación, los diámetros de las perlas de PE y PPS se redujeron significativa, y la biodegradación del PP no fue tan significativa. Además, en un periodo de 15 días, la pérdida promedio de peso fue de 0.64 %/día para el PE; 0.53 %/día para el PPS; 0.098 %/día para el PS; y 0.025 %/día para el PP. En conclusión, se demostró que una sola cepa bacteriana puede despolimerizar diferentes tipos de plásticos a diferentes velocidades de biodegradación, siendo

el PE el de mayor rapidez; asimismo, este proceso biológico varía según la formación de moléculas intermedias (variación de pH) que afectan en las diferentes combinaciones de enzimas biodegradantes secretadas por *P. aeruginosa* para cada tipo de plástico.

**Begum et al., (2015)** en su artículo científico evaluaron la eficacia de biodegradación de aislados bacterianos de suelo contaminado con plástico, para lo cual el proceso metodológico consistió en la colección de muestras plásticas, el aislamiento e identificación de la bacteria *Desulfotomaculum nigrificans* y *Pseudomona alcaligenes*, y la determinación de la degradación de bolsas de polietileno cortadas en pequeños trozos de 1 g (esterilizadas). Por consiguiente, en un periodo 10, 20 y 30 días y por acción de *D. nigrificans*, la pérdida de peso de los polímeros fragmentos fue de 10.2 %, 13.2 % y 16.2 %, respectivamente; mientras que, empleando *P. alcaligenes* en un periodo de 10, 20 y 30 días, se obtuvo una pérdida de pesos de 10.5 %, 14.7 % y 20.1 %, respectivamente. Por lo tanto, se llegó a la conclusión que, a mayor periodo de incubación, la pérdida de peso de la bolsa de polietileno aumenta dramáticamente. Además, se demuestra que la bacteria *P. alcaligenes* exhibe una significativa habilidad de degradación de polietileno frente a *D. nigrificans*, lo que conlleva a que pueda ser usada, en un futuro cercano, como un método económico, eco amigable y adecuado para mermar la cuantía de residuos plásticos que se incrementa en el ambiente velozmente.

### 1.2.2. Nacionales

**Barrionuevo, (2020)** en su tesis evaluó la degradación de materiales plásticos biodegradables y convencionales sometidos a los medios: agua, suelo e intemperie, distribuidos en las principales cadenas de supermercados de la Ciudad de Arequipa. Dicho estudio fue de tipo experimental, cuya metodología fue realizar pruebas de pérdida de masa en la muestra tipo A (plástico biodegradable/compostable - fécula de maíz), tipo B (plástico biodegradable) y tipo C (blanco - plástico convencional), expuestas a los 3 medios antes mencionados por un periodo

de 4 meses. En ese sentido, el porcentaje de pérdida de peso de la muestra tipo A fue de un 16% en agua, 18% en suelo y 10% a la intemperie; para el tipo B fue de un 5% en agua, 6% en suelo y 13% a la intemperie; por último, para el tipo C fue de un 4% en agua, 5% en suelo y 7% a la intemperie. Por lo tanto, se concluye que al degradar tanto plásticos biodegradables como convencionales, se obtiene una variación en las propiedades físicas, químicas y mecánicas, es así como la mayor pérdida de peso para la muestra tipo A fue en el medio suelo, mientras que para el tipo B y C fue en el medio intemperie; sin embargo, esta pérdida de masa está relacionada a sus propiedades de alta resistencia con el ambiente, lo cual hace que perduren a través de los años sin degradarse.

**Butrón, (2020)** en su tesis evaluó la capacidad de biodegradación de la *Pseudomona aeruginosa* frente al polietileno de baja densidad (PEBD). Dicho estudio fue de carácter experimental, cuya metodología fue emplear quince (15) bolsas de plástico deterioradas (tipo chequera - PEBD), extraídas a una profundidad de 3 a 5 cm en diferentes puntos del botadero Cancharani – Puno para identificar y adaptar el metabolismo de la *P. aeruginosa* en medios sintéticos de PEBD (cuadrados de 2 cm x 2cm) con caldo nutritivo y medio mineral. En ese marco, en un periodo de 30 días y a una temperatura de 25°C, la *P. aeruginosa* degradó los fragmentos de PEBD en 4.5% y 21.7% a un pH de 5 y 7, respectivamente; mientras que, en un periodo de 30 días y una temperatura de 35°C, la degradación de PEBD fue de 8.7% y 27.3% a un pH de 5 y 7, respectivamente. En consecuencia, se concluye que la bacteria aislada del botadero de Cancharani – Puno, *P. aeruginosa*, tiene capacidad degradadora frente al polietileno de baja densidad, siendo una alternativa para potenciar la capacidad y actividad biodegradativa, la cual varía en función de las condiciones de temperatura y pH, es decir, su actividad biodegradadora se incrementa a un pH de 7 y temperaturas de 25 y 35°C, adhiriéndose al PEBD mediante biopelículas gruesas.

**Chugnas, (2019)** en su tesis buscó evaluar la eficiencia de las bacterias *Pseudomonas sp.* y *Dietziaceae* en la degradación del Tereftalato de Polietileno (PET). Dicha investigación fue de tipo aplicada empleando un diseño experimental y un enfoque cuantitativo para el análisis de 30 muestras de botellas de plástico PET “marca San Luis” desinfectadas de 2 x 4 cm. En ese sentido, como metodología se emplearon fichas de observación para la recopilación de datos sobre el comportamiento de degradación de *Pseudomona sp.* y *Dietziaceae* en contacto con las muestras PET en placas Petri y en agar McConkey, en 3 repeticiones. Por lo tanto, los resultados al término de 7 días y a una temperatura de 35°C arrojan una eficiencia promedio de degradación de 32.68% y 17.67 % para la bacteria *Dietziaceae* y *Pseudomona sp.*, respectivamente. En suma, se concluye que ambas bacterias lograron generar rupturas y modificaciones a la estructura del PET pese al corto periodo de 7 días, considerando a estos microorganismos dentro de las especies con mayor eficiencia en la degradación de plásticos y sus derivados por su rápida acción.

**Barbarán et al., (2018)** en su tesis determinaron el porcentaje de biodegradación del Polietileno Tereftalato (PET) empleando la bacteria *Pseudomona aeruginosa*, en condiciones de laboratorio. La investigación fue de tipo aplicada, empleando el nivel experimental, con un diseño de tipo factorial en una muestra conformada por 35 g de los envases PET de agua de mesa, marca “Cielo”. En ese sentido, como proceso metodológico se utilizó una ficha de observación para el registro de los porcentajes de biodegradación en tres (3) concentraciones diferentes de *P. aeruginosa* evaluadas en tres (3) periodos diferentes de prueba y en tres (3) repeticiones por cada concentración. Finalmente, los resultados de los nueve tratamientos demostraron que, una concentración bacteriana de  $9 \times 10^8$  UFC determina la mayor biodegradación promedio con 19.93% en un periodo de 35 días; por lo tanto, se concluye que la remoción de PET depende del tiempo de exposición del material al factor biodegradante,

comprobandose así, que el polietileno tereftalato requiere más tiempo para su degradación, y, que la influencia de la concentración bacteriana en la biodegradación del polímero es baja.

**Gutiérrez, (2019)** en su tesis planteó biodegradar polietileno de baja densidad (PEBD) mediante el uso de bacterias, hongos y consorcios microbianos aislados del botadero municipal de la ciudad de Tacna. El estudio fue de tipo cuantitativo y de nivel experimental, cuya metodología consistió en aislar consorcios microbianos que ataquen perlas de PEBD para la medición de su pérdida de peso en 70 días de prueba y la visualización mediante microscopía SEM. En consecuencia, se obtuvo como resultado una disminución de 1.28% para el consorcio 1; de 0.89% para el consorcio 2; de 6.54% para el consorcio 3; y 3.34% para el consorcio 4. En conclusión, se aislaron 9 bacterias y 4 cepas de hongos distribuidos en los 4 consorcios microbianos, cuyo porcentaje promedio de pérdida de peso de PEBD es 2.88%; asimismo, el consorcio 3 reportó el mayor porcentaje de biodegradación de PEBD, conformado por el hongo *Rhodotorula sp.*, diplococos y bacilos gramnegativos, los cuales pueden ser especies de *Pseudomona sp.*

### **1.3. Objetivos**

#### **1.3.1. Objetivo General**

- Evaluar el comportamiento de biodegradación de plásticos oxobiodegradables ante la acción bacteriana de *P. aeruginosa*, para estimar la persistencia ambiental de dicho polímero frente al plástico LDPE, a nivel de laboratorio, 2023.

#### **1.3.2. Objetivo Específicos**

- Validar las características metabólicas propias de la especie bacteriana *P. aeruginosa*, adquirida comercialmente, mediante pruebas bioquímicas, que coadyuve a la estimación de la persistencia ambiental de los plásticos oxobiodegradables frente al plástico LDPE, a nivel de laboratorio.

- Analizar la incidencia de las condiciones de pH y temperatura en la eficiencia de biodegradación de plásticos oxobiodegradables por *P. aeruginosa*, estadísticamente, para estimar la persistencia ambiental de dicho polímero frente al plástico LDPE, a nivel de laboratorio.
- Determinar la eficiencia de biodegradación de plásticos oxobiodegradables bajo la acción de *P. aeruginosa*, mediante la pérdida de pesos, para estimar la persistencia ambiental de dicho polímero frente al plástico LDPE, a nivel de laboratorio.

## **1.4. Justificación**

### **1.4.1. *Justificación Teórica***

Los datos obtenidos en este estudio aportarán con información científica que permita conocer el comportamiento de biodegradación de plásticos oxobiodegradables en aras de estimar la persistencia ambiental de dicho polímero frente al plástico LDPE, a nivel de laboratorio, 2023.

### **1.4.2. *Justificación Práctica***

La justificación práctica de este estudio se centra en su contribución al abordaje de un problema ambiental actual relacionado con la gestión de residuos plásticos y en su potencial para impulsar soluciones sostenibles y políticas efectivas en este campo. En otras palabras, este estudio coadyuva al Gobierno peruano hacia la mejora de sus estrategias e instrumentos de gestión ambiental enfocados en la manufactura y comercio de plásticos de origen biodegradable mediante un monitoreo a la trazabilidad de estos, a partir de la obtención de los insumos hasta la disposición final. Además, ayudaría a disminuir y prevenir los desechos plásticos mediante el incentivo y concienciación de la población para evitar el consumismo desmedido y mejorar la gestión de residuos.



### **1.4.3. Justificación Metodológica**

La eficiencia de biodegradación de los plásticos oxobiodegradables expuestos al ataque biológico de *P. aeruginosa* serán de utilidad tanto para las entidades públicas del estado peruano como para organismos de estandarización que quieran replicar la metodología para estimar la persistencia ambiental de estos polímeros, una vez que se comprueba la validez y confiabilidad de los resultados.

### **1.4.4. Justificación Social**

Se conoce muy poco de la biodegradabilidad de plásticos en el Perú, de ese modo, son más las personas que prefieren el uso de plásticos “verdes” sin conocer sus verdaderos impactos en el ambiente. En ese sentido, el estudio contribuye a que la población conozca las implicancias de la degradación biológica de los plásticos oxobiodegradables en un medio controlado bajo la posibilidad de ser replicado en un ambiente al aire libre, particularmente en relación al medio marino, donde los impactos negativos de dichos polímeros pueden acrecentarse debido a la persistencia ambiental del material.

## **1.5. Hipótesis**

### **1.5.1. Hipótesis General**

- La biodegradación de plásticos oxobiodegradables ante la acción bacteriana de *P. aeruginosa* refleja un comportamiento decreciente significativo en el tiempo para estimar la persistencia ambiental de dicho polímero frente al plástico LDPE, a nivel de laboratorio, 2023.

### **1.5.2. Hipótesis Específicas**

- La bacteria *P. aeruginosa*, adquirida comercialmente, presenta características metabólicas propias de la especie que coadyuve a la estimación de la

persistencia ambiental de plásticos oxobiodegradables frente al plástico LDPE, a nivel de laboratorio.

- La eficiencia de biodegradación de plásticos oxobiodegradables por *P. aeruginosa* se merma en un medio ácido y a temperatura ambiente (20°C), para estimar la persistencia ambiental de dicho polímero frente al plástico LDPE, a nivel de laboratorio.
- La tasa de biodegradación de plásticos oxobiodegradables mediante la acción bacteriana de *P. aeruginosa* es mayor al 50%, para estimar la persistencia ambiental de dicho polímero frente al plástico LDPE, a nivel de laboratorio.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación

#### 2.1.1. *Polímeros*

Según Posada, (2012) en su artículo “La degradación de los plásticos” de la Revista de la Universidad Eafit, hace mención que los polímeros o resinas son un conjunto de unidades estructurales (monómeros) que forman macromoléculas de peso molecular alto, de origen orgánico, ya sean naturales o sintéticos. En esa línea, estos polímeros se clasifican en:

- a) **Plásticos:** cloruro de polivinilo – PVC, polipropileno – PP, poliestireno – PS, Polietileno – PE.
- b) **Elastómeros:** Poliuretanos, acrílicos, isopreno natural, etc.


Por lo tanto, en las secciones subsecuentes se describe la familia de los plásticos, específicamente los llamados oxobiodegradables.







#### 2.1.2. *Plásticos*

Son materiales orgánicos caracterizados por ser maleables, de alta resistencia/densidad, y de buena resistencia a los ácidos, álcalis y disolventes. Usualmente son sólidos y en ocasiones fluidos como productos intermedios expuestos a cierta presión y temperatura (Díaz del Castillo, 2012). Según la Tabla 1 se muestran los plásticos más empleados:

**Tabla 1**

*Principales tipos de plásticos*

Nombre	Uso	Producto de reciclaje	Símbolo
Tereftalato de polietileno	Botellas para bebidas	Fibras para alfombras, cuerdas, almohadas y relleno de bolsas de dormir	

Nombre	Uso	Producto de reciclaje	Símbolo
Polietileno de alta densidad	Detergentes, recipientes de leche, aceite para motor	Contenedores de basura, botellas de detergente y macetas	
Policloruro de vinilo o Vinilo	Botellas de shampoo, envases de aceite de cocina	Tubos de drenaje e irrigación	
Polietileno de baja densidad	Bolsas de pan, supermercado, envoltorios	Bolsas de supermercado	
Polipropileno	Envases de yogurt, tapas de botella, sorbetes	Cajas de batería de carros, viguetas de plástico, peldaños	
Poliestireno	Tazas, platos, envases desechables	Viguetas de plástico, macetas, etc.	
Otros (*)	Platos para hornos	No se reciclan por falta de certeza con el tipo de plástico	

*Nota.* (\*) Mezcla de otros plásticos difíciles de reciclar. Los símbolos se basan en el Sistema Internacional de Identificación de resinas de la Sociedad de Industrias de Plástico, desarrollado en 1988. Elaborado en base a (Díaz del Castillo, 2012).

Dicha codificación internacional facilita la identificación y reciclaje de estos materiales; sin embargo, su inclusión no es mandatorio en todos los productos plásticos, a pesar de que sea relativamente estandarizado en su producción (Hernández, 2013).

#### 2.1.2.1. Plásticos Oxobiodegradables.

Según Hernández, (2013) manifiesta que los polímeros oxobiodegradables son aquellos que presentan sales metálicas (catalizador) cada cierto número de monómeros en su estructura

polimérica. Dichas sales son las precursoras de la rápida digestión y descomposición de estos polímeros por agentes biológicos, el calor y la luz solar, cuando los catalizadores reaccionan con el oxígeno rompiendo las cadenas largas del plástico transformándose finalmente en agua, CO<sub>2</sub> y biomasa.

Asimismo, Symphony Environmental Ltd. en su reporte especial “Tecnología del control de vida del plástico” en el 2018, manifiesta que el plástico oxobiodegradable es un material hecho de polímero de alto peso molecular orgánico con la adición de un catalizador inocuo (sin metales pesados) que compatibiliza al material con el agua (hidrofilico) y microorganismos, tanto en tierra como en el medio marino, degradándose controladamente en un periodo de 1 a 5 años después de su vida útil programada. Dicho proceso se acelera bajo los efectos de la luz, el oxígeno, el calor y el estrés mecánico; en cuyos casos donde el material está expuesto a la intemperie, la degradación se da en pocos meses.

Cabe mencionar que, los plásticos “oxodegradables” no son considerados materiales biodegradables a comparación de los plásticos oxobiodegradables o d2w (Symphony Environmental Ltd., 2022; Decreto Supremo N° 025-2021-PRODUCE, art. 5). Además, estos últimos son fácilmente reconocibles en los empaques plásticos por el logo “d2w”.

### **Figura 1**

*Identidad visual: El logo de plásticos d2w u oxobiodegradables*



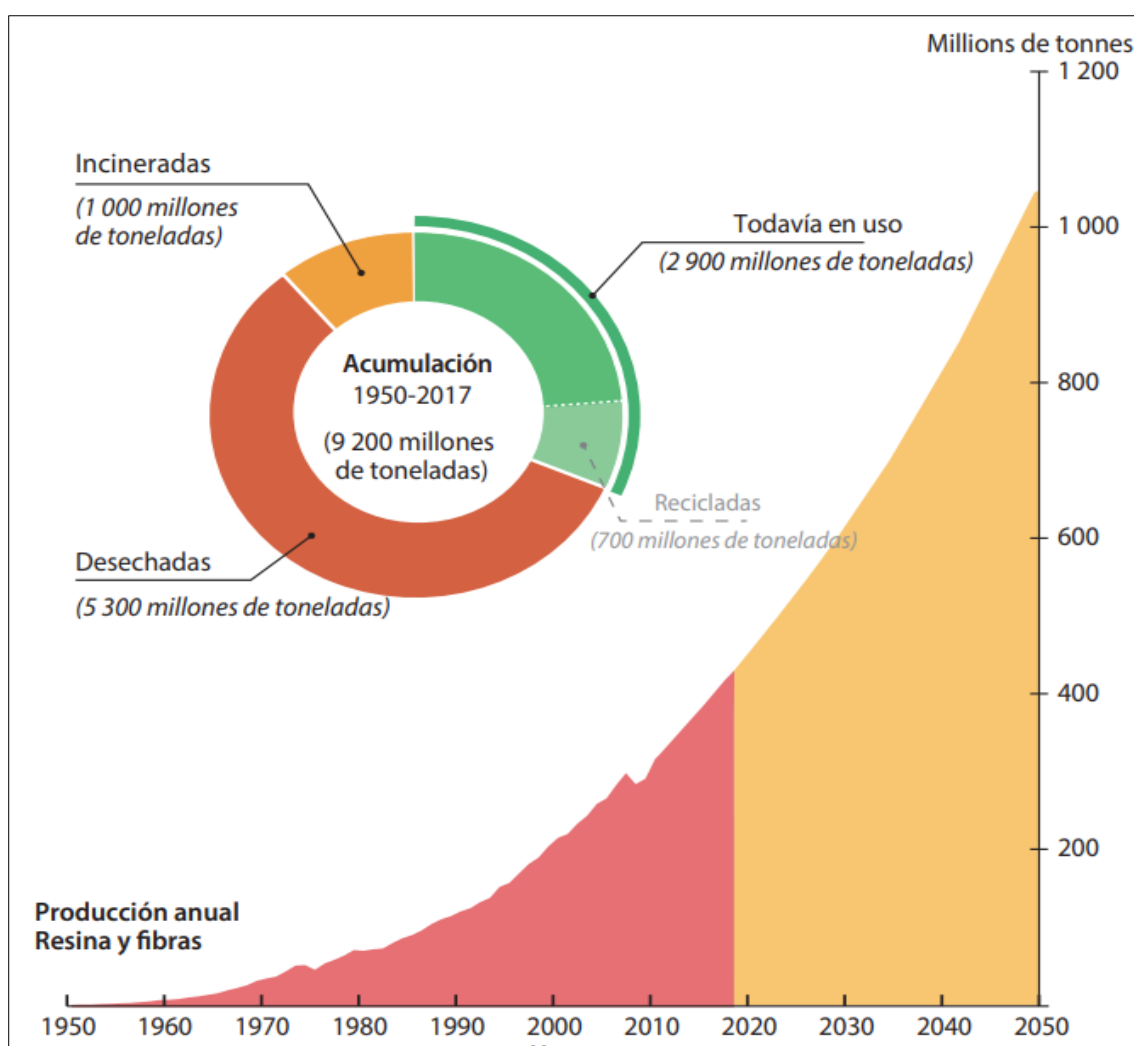
*Nota.* Obtenido de (Symphony Environmental Ltd., 2023).

### 2.1.3. Contaminación por plásticos

La masiva producción de plásticos en el último siglo se ha incrementado vertiginosamente a nivel mundial (Ver Figura 2). Esto ha provocado la generación de una mayor cantidad de desechos plásticos que directa o indirectamente acaban en los océanos, ya sea por la vía fluvial, terrestre o aérea (fuentes no controladas). En consecuencia, los plásticos ya forman parte del registro fósil de la Tierra, y han creado un nuevo hábitat para los microorganismos marinos, llamado plastisfera (Geyer, 2020; Amaral-Zettler et al., 2020).

#### Figura 2

*Proyecciones en la producción y acumulación de plásticos al 2050, a nivel mundial*



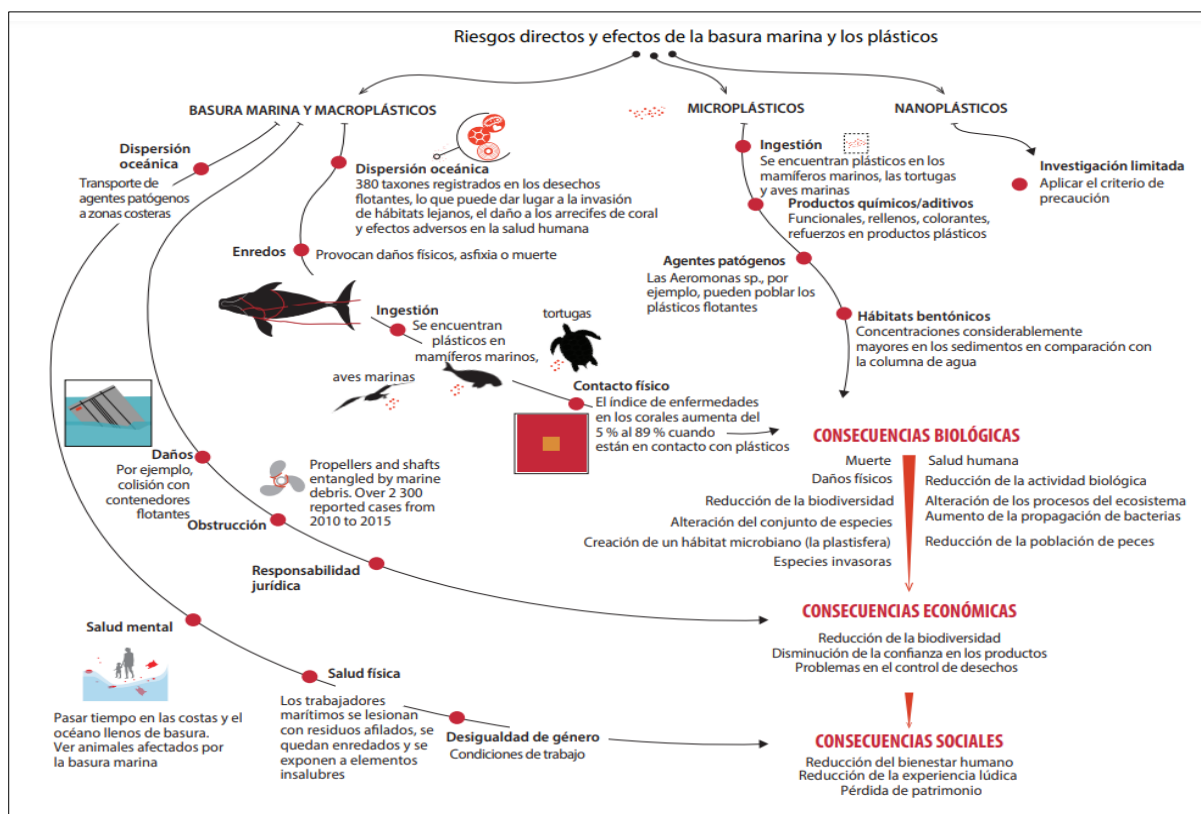
Nota. Ilustrado por GRID-Arendal. PNUD (2021, p. 6).

En esa línea, la contaminación por plásticos afecta e influye en la sociedad, economía y ambiente (Ver Figura 3); así pues, sus efectos letales o subletales en la biota marina ocasionan problemas de inanición, laceraciones internas, asfixia en animales y en corales que son privados de oxígeno y luz, estrés fisiológico y daños toxicológicos como consecuencia de la degradación del plástico en piezas más pequeñas (microplásticos y nanoplásticos), cuyas características fisicoquímicas originales se modifiquen y se puedan transferir y/o absorber productos químicos tóxicos y metales hacia las aguas superficiales abiertas (Mattsson et al., 2015; PNUD, 2021). En ese contexto, la absorción de bisfenol A, altera el sistema endocrino de animales en contacto con plásticos o microplásticos. Por otro lado, la formación de microplásticos aumenta la superficie para el desarrollo de comunidades microbianas (bioincrustación), en la cual pueden albergar patógenos perjudiciales (*Vibrio sp.*, *Aeromonas salmonicida*) que afecten tanto a animales como al ser humano (Viršek et al., 2017; Kirstein et al., 2016).

A nivel socioeconómico, los problemas de contaminación plástica generan cuatro tipos de costos económicos: los gastos de prevención o recuperación de daños a causa de los plásticos; las pérdidas de producción e ingresos, afectando el sector pesquero tras enredos y daños físicos; pérdida de valor de plásticos; y los costos en materia de bienestar, esto incluye el impacto visual y estético en el turismo afectando las economías locales (Richardson et al., 2019; PNUD, 2021; Pasternak et al., 2017).

Figura 3

## Impactos y riesgos directos de los plásticos en el medio marino



Nota. Ilustrado por GRID-Arendal. PNUD (2021, p. 7)

#### 2.1.4. Degradación de plásticos

Según Mattsson et al., (2015), la degradación de los plásticos se puede dividir en 6 procesos, los cuales son:

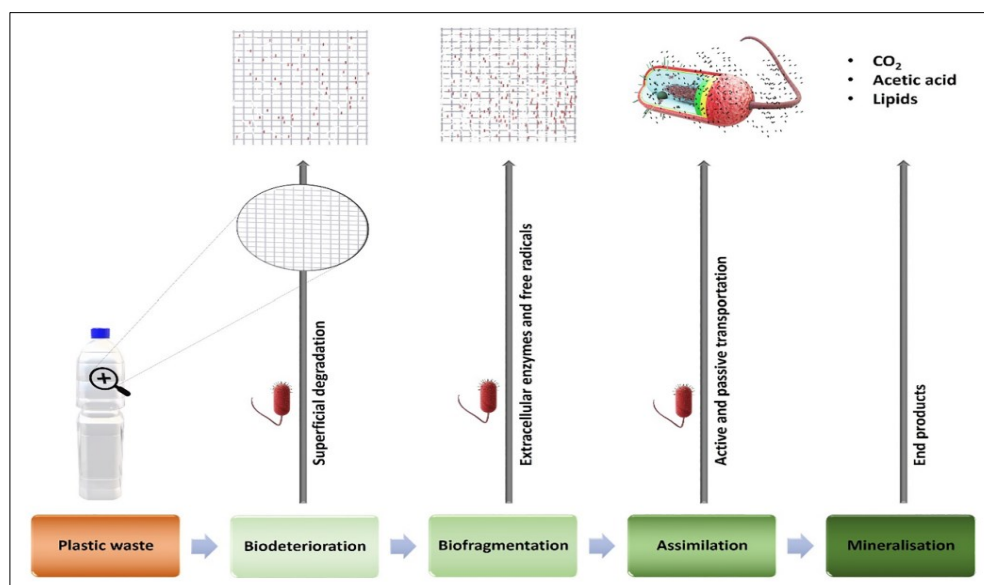
- Termal:** Es un proceso que no se incluye dentro de la degradación ambiental; sin embargo, comercialmente se degrada por el calor.
- Hidrólisis:** Es un proceso en el cual se da una reacción de ruptura de enlaces, cuyo catalizador es el agua, en la que se ha demostrado contribuir en la degradación de los desechos plásticos en el mar.
- Mecánica:** Es un proceso físico en la que los desechos plásticos se degradan a causa de las olas en el mar.



- d) **Termooxidativa:** Es un proceso de descomposición oxidativa lenta a temperaturas moderadas.
- e) **Fotodegradación:** Es un proceso provocado por la luz, por ejemplo, la luz solar. Es un mecanismo muy eficiente para la degradación de plásticos en suelo o aire; sin embargo, en agua de mar el proceso es severamente retardado.
- f) **Biodegradación:** Este proceso es determinado generalmente por microbios (bacterias) que descomponen las sustancias orgánicas en carbono, metano, agua principalmente. Según Blanco (2007) dicho fenómeno se manifiesta inicialmente por la colonización de hongos y bacterias según las características físicas del polímero, y en medios acuosos se complementa con el proceso degradativo hidrolítico. En ese sentido, según Wilkes y Aristilde (2017) reportan la capacidad de diversas especies del género bacteriano *Pseudomonas* como agentes que degradan y metabolizan diferentes tipos de plástico, tales como: PVC, PE, PS, PP, poliuretano, entre otros.

**Figura 4**

*Proceso de biodegradación de polímeros*



*Nota.* Obtenido de Amobonye et al. (2020)

En definitiva, los plásticos están expuestos a diversos procesos de degradación; lo cierto es que se genera una mayor cantidad de partículas de diferente tamaño y superficie, considerados como microplásticos (< 5 mm) o nanoplásticos (1 y 100 nm), y así, se incrementa la absorción y transporte de sustancias hidrofóbicas como los compuestos orgánicos persistentes (COP), debido a una mayor relación entre su superficie y volumen; asimismo, debido a la oxidación y la foto degradación cambia la química de su superficie. Por lo tanto, la dinámica de estos procesos degradativos determina una exposición variada en microorganismos y, por ende, los impactos biológicos son distintos (Mattsson et al., 2015).

#### **2.1.5. *Pseudomonas***

Es un género bacteriano dentro de la familia *Pseudomonadaceae* y el orden *Pseudomonadales* (Ruiz, 2007). Se caracterizan por ser bacilos Gram negativos en forma de bastón con flagelos polares empleados para su desplazamiento. Además, presentan requerimientos nutritivos simples cuyas condiciones de desarrollo son principalmente en medios aeróbicos. Se desarrollan en casi cualquier hábitat con temperaturas entre 4 – 42 °C y pH promedio entre 4 – 8; sin embargo, las condiciones óptimas de crecimiento se dan en temperaturas entre 30 – 37 °C y pH neutro (Ruíz, 2007). Además, se desarrollan rápidamente y metabolizan una amplia variedad de substratos, entre ellos están los derivados de hidrocarburos (Ruíz, 2007).

Es preciso señalar también que las diversas especies bacterianas del género *Pseudomonas* son consideradas patógenas que pueden ocasionar infecciones al ser humano por cirugías o quemaduras. Sin embargo, diferentes cepas aisladas de diversos lugares en suelos, residuos plásticos o incluso de las profundidades del mar, han sido estudiadas intensamente en relación a la biodegradación de plásticos por mucho tiempo (Lee et al., 2020).

### 2.1.5.1. *Pseudomona aeruginosa.*

Es un patógeno muy persistente, oportunista y omnipresente, cuyos flagelos son usados como motilidad. Se desarrolla en ambientes facultativos, es decir, en ambientes anaerobios emplea el nitrógeno, piruvato o arginina como último aceptor de protones, mientras que en ambientes aerobios emplea el oxígeno. Además, persiste en medios acuáticos y terrestres con requerimientos mínimos de crecimiento, cuyas temperaturas van entre 20 – 43 °C; y se diferencia de otras especies debido a su crecimiento en altas temperaturas (Paz-Zarza et al., 2019).

*P. aeruginosa* tiene forma típica alargada y plana, rectos o curvados, pero no vibroides. No tienen esporas. Son gramnegativas con flagelos polares. Presenta un metabolismo oxidativo y de consistencia mucosa debido a la sobreproducción de alginato, el cual es un polisacárido extracelular que forma parte de la cápsula polisacarídica. Suele tener olor a fruta. No son fermentadores de lactosa. Presentan una pigmentación siderófora pioverdina (color amarillo-verdoso), piocianina (color azul-verdoso) o piorubina (color rojo óxido). Además, es una bacteria catalasa y oxidasa positiva (Madigan et al., 2004; Ruiz, 2007).

#### 2.1.5.1.1. *Caracterización fenotípica.*

La caracterización fenotípica de *P. aeruginosa* se fundamenta en sus características observables, tales como la forma, desarrollo de crecimiento, propiedades metabólicas, etc. En ese sentido, según Fernández et al. (2010) se puede agrupar dicha caracterización en cuatro métodos de análisis, los cuales son:

- a) **Características microscópicas:** Se realiza mediante técnicas de microscopía. Una prueba muy conocida es la tinción de Gram, la cual se emplea para distinguir el grupo taxonómico, la uniformidad, forma, tamaño, disposición, etc. Por ende, *P.*

*aeruginosa* al ser un bacilo gramnegativo se tiñe de un color rojizo pudiendo distinguir las características propias de la especie.

- b) Características macroscópicas:** Se realiza con el objetivo de observar la morfología de la bacteria a través de la examinación de cultivos frescos en medios no selectivos o selectivos. En dichas sustancias, sólidas o líquidas, se logra observar y describir el tamaño, forma, consistencia y en determinadas ocasiones el color.

Como ya se mencionó anteriormente, *P. aeruginosa* presenta una coloración característica azul-verdosa o amarillo-verdosa en medio Agar Cetrimide.

- c) Medios de cultivo:** Las bacterias necesitan una fuente de energía para realizar sus procesos metabólicos. En ese sentido, los medios empleados para cumplir los requerimientos nutricionales de crecimiento de *P. aeruginosa* se pueden clasificar en: i) No selectivos: Aquellos que cuentan con los requerimientos básicos de crecimiento, por ejemplo caldo o agar nutritivo; ii) Selectivos: Aquellos que cuentan con compuestos añadidos selectivamente para inhibir el crecimiento de ciertos microorganismos y no de otros, tales como el agar MacConkey o agar Cetrimide y; iii) Diferenciales: Aquellos en los que se ha añadido un indicador, en su mayoría colorantes, lo cual permite diferenciar las diversas reacciones químicas durante el metabolismo del microorganismo. Se puede mencionar al agar triple-hierro-azúcar (TSI), agar de hierro y lisina (LIA), agar citrato de Simmons, la prueba de indol, etc.

Por consiguiente, la inoculación en caldo nutritivo (solución compuesta por extracto de carne y peptona) reactiva la bacteria provocando el crecimiento y la alteración del medio. Respecto al Agar Cetrimide, la bacteria presenta un crecimiento cuya coloración puede ser azul-verdosa o amarillo-verdosa según el pigmento desarrollado. Por último, los medios diferenciales expresan la actividad metabólica

de la bacteria en crecimiento alterando los medios que contienen indicadores expresados en el cambio de coloración como consecuencia del cambio de pH del medio (United States Biological, s.f.; Laboratorios Britania S.A., s.f.; Madigan et al., 2004, pág. 803)

- d) Pruebas bioquímicas:** Dichas pruebas permiten conocer las características metabólicas de las bacterias en estudio. Algunas de estas pruebas son de lectura inmediata, ya que se evalúa la presencia de una enzima preformada en la bacteria; mientras que, otras necesitan un periodo de 18-48h de incubación previa para la respectiva lectura.

Dicho esto, la reacción que caracteriza a *P. aeruginosa* ante algunas pruebas bioquímicas son las siguientes:

**Tabla 2**

*Pruebas bioquímicas para la identificación de P. aeruginosa*

<b>Prueba Bioquímica</b>	<b>Resultado de reacción</b>
Oxidasa	+
Catalasa	+
SIM	-
TSI	-
LIA	+
Citrato	+
Ureasa	+
Hidrólisis de Gelatina	+
Hidrólisis de $\beta$ -Galactosidasa	-

*Nota.* Elaborado según la información de (Mayz y Manzi, 2017; Butrón, 2020).

## 2.2. Marco conceptual

En el proceso de evaluación del comportamiento de biodegradación de plásticos oxobiodegradables mediante el ataque bacteriano de *Pseudomona aeruginosa*, se consideran y detallan los siguientes términos:

**LDPE:** El polietileno de baja densidad o también llamado PEBD, es un polímero termoplástico de densidades relativamente bajas, considerado semi-cristalino de apariencia translúcida. Posee una amplia gama de aplicaciones en bolsas, tapas y/o envases de alimentos (Estrada, 2008; JUDEBI S.L., s.f.).

**Eficiencia de biodegradación:** Es la capacidad de disponer de un material para su transformación y deterioro por acción enzimática de organismos vivos (Real Academia Española, 2021; Blanco, 2007).

**Potencial de hidrógeno (pH):** Es la medida del grado de acidez ( $< 7.0$ ) o basicidad ( $> 7.0$ ) de una solución, el cual determina la estructura y actividad de las biomoléculas, tales como las enzimas; por ende, determina el comportamiento de los seres vivos (Guarnizo y Martínez, 2013)

**Temperatura:** Es la medida de la energía promedio cinética de traslación de las moléculas de una sustancia (Hewitt, 2007). En esta investigación se usa la escala de grados Celsius para su medición.

**Persistencia ambiental:** Es la capacidad de una sustancia de permanecer en un ambiente particular por un lapso de tiempo prolongado, antes de ser removida físicamente o transformada químicamente (United Nations Environment Programme, 1982).

**Bioincrustación:** También llamado “*biofouling*”. Es un fenómeno biológico que sucede en medios acuáticos, en relación a las primeras etapas de colonización de un sustrato sumergido, es así como la bioincrustación empieza con biopelículas bacterianas, de mínimas exigencias nutritivas (Montseny et al., 2010).

### III. MÉTODO

#### 3.1. Tipo de Investigación

Según Hernández Sampieri et al., (2014) esta investigación se desarrolló bajo un diseño experimental puro, debido a que se manipuló la variable exógena o independiente (acción bacteriana de *P. aeruginosa*) para la cuantificación de la variable endógena o dependiente (comportamiento de biodegradación de plásticos oxobiodegradables) en condiciones controladas y en grupos de comparación (blanco muestral LDPE y blanco microbiológico).

Asimismo, se empleó el enfoque cuantitativo cuyo alcance es de nivel descriptivo – correlacional, ya que se midieron y definieron las variables, las cuales se asociaron para permitir predicciones relacionados a la persistencia ambiental de dichos polímeros.

#### 3.2. Ámbito temporal y espacial

Temporal: El desarrollo del estudio se realizó en los meses de agosto a octubre de 2023.

Espacial: El ámbito de aplicación se llevó a cabo en espacios controlados del laboratorio de microbiología de la Universidad Nacional Federico Villarreal.

#### 3.3. Variables

Como parte del proceso de la operacionalización de variables, tanto la independiente como la dependiente, se definieron en la Tabla 3:

**Tabla 3**

*Operacionalización de variables*

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores	Escala
<b>Dependiente:</b> <b>Comportamiento de biodegradación de plásticos oxobiodegradables</b>	El plástico oxobiodegradable es la combinación de un polímero de alto peso molecular orgánico y un catalizador inocuo, que acelera el proceso natural de degradación, entre ellos la biodegradación, el cual se entiende como el cambio en las propiedades físicas y químicas causada por las reacciones biológicas que escinden los enlaces, los cuales determinan el comportamiento del material. (Symphony Environmental Ltd., 2018, p. 4; Posada, 2012, p. 5).	El comportamiento de biodegradación de plásticos oxobiodegradables se realizará mediante el pesaje de muestras empleadas (gravimetría). En ese sentido, se determinará la eficiencia de biodegradación por diferencia de pesos y, por ende, se estimará su persistencia ambiental en tiempos determinados.	Eficiencia de biodegradación	Peso inicial	g
				Peso final	g
				% Biodegradación	$\Delta$ g / tiempo
<b>Independiente:</b> <b>Ataque bacteriano de <i>Pseudomona aeruginosa</i></b>	Las bacterias del género <i>Pseudomonas</i> son microorganismos aeróbicos, gramnegativas, en forma de bastón, con flagelos polares para movilizarse y en caso de <i>P. aeruginosa</i> presenta fluorescencia (Clarke, 1982, p. 106). En tal sentido, estas últimas utilizan el carbono como parte de su metabolismo, lo que determina su uso en procesos de biorremediación de plásticos (Ccallo et al., 2020).	Se adquirirá comercialmente una cepa de <i>P. aeruginosa</i> , para luego ser incubados y conservados en laboratorio para su posterior uso y ataque de la muestra seleccionada.	Persistencia ambiental  Bacteria <i>P. aeruginosa</i>	Biodegradación total del polímero	Periodo de estimación de biodegradación total
				Tiempo de exposición	Días
				Temperatura	°C
				pH	Adimensional [0 - 14]



### **3.4. Población y muestra**

#### **3.4.1. Población**

El universo de elementos empleado como población son todos los polímeros biodegradables (oxobiodegradables y compostables).

#### **3.4.2. Muestra**

La muestra empleada en el estudio fueron 48 pedazos de 5x5 mm (Polímeros d2w u oxobiodegradables).

#### **3.4.3. Diseño muestral**

Se utilizó un diseño muestral aleatorio simple, en virtud de la elección al azar de fragmentos d2w de 5 mm de lado hasta completar el tamaño muestral previsto.

#### **3.4.4. Unidad de análisis**

Se utilizó como unidad de análisis 1 fragmento de plástico d2w de 5x5 mm, lo cual sirvió para evaluar el comportamiento de biodegradación del polímero.

### **3.5. Instrumentos**

En el análisis y tratamiento de las variables de estudio, se emplearon las técnicas de observación y la gravimétrica, esta última considerada como la forma más simple para monitorear la biodegradación de polímeros (Montazer et al., 2020). Dichas técnicas sirvieron para plasmar los datos en una ficha de registro con los pesos de la muestra a lo largo del periodo de estudio (42 días). En ese sentido, se empleó la siguiente fórmula (Montazer et al., 2020) para calcular la pérdida de masa de plástico d2w:

$$\% \text{ Pérdida de peso} = \left[ \frac{\text{peso inicial} - \text{peso final}}{\text{peso inicial}} \right]$$

### 3.5.1. *Materiales*

- Tiras de pH y termómetro.
- Polímero oxobiodegradable y LDPE.
- Ficha de registro.
- Papel filtro Wattman.
- Pinzas punta fina.
- Matraz de Erlenmeyer.
- Placa de Petri.
- Pipeta.
- Vaso de precipitado.
- Probeta.
- Papel metálico y algodón.

### 3.5.2. *Insumos*

- Caldo nutritivo, marca Scharlau.
- Agar Cetrimide, marca Merck.
- Agua destilada.
- Alcohol 70° y 90°.

### 3.5.3. *Equipos*

- Balanza analítica, marca H.W. Kessel.
- Autoclave vertical, marca Daihan Scientific.
- Incubadora, marca JSR.
- Microscopio, marca Zeiss Primo Star.
- Mechero de Bunzen.

### 3.6. Procedimiento

El tratamiento y análisis de la muestra para evaluar el proceso de biodegradación consistió en tres (3) etapas: preliminar, laboratorio y gabinete:

#### 3.6.1. Etapa Preliminar

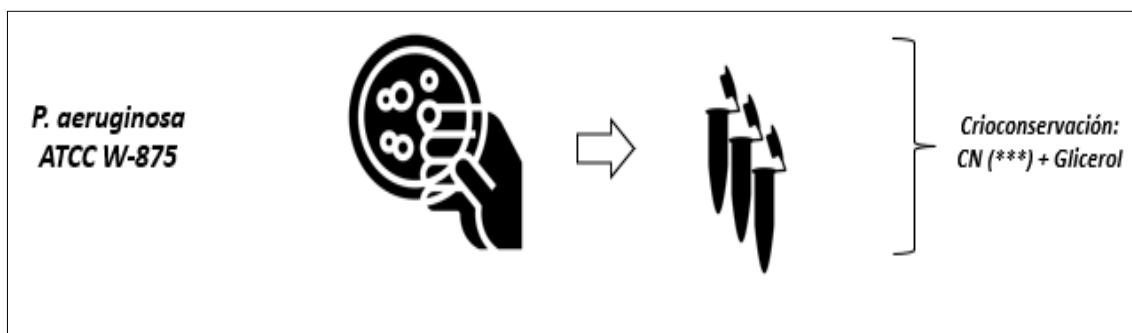
##### 3.6.1.1. Fase I: Adquisición de la cepa *Pseudomona aeruginosa*.

En primer lugar, se adquirió comercialmente la cepa bacteriana *P. aeruginosa* ATCC W-785, la cual fue empleada como agente microbiológico primario para su posterior identificación bioquímica y empleo en la biodegradación del polímero en estudio (Ver Anexo B).

En segundo término, se conservó la cepa en la refrigeradora del Laboratorio de Microbiología SL10LA101 de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática de la Universidad Nacional Federico Villarreal. Asimismo, se inoculó el microorganismo patrón en Caldo Nutritivo (CN) y se envasó para su criopreservación (-40°C) con glicerol (1 ml muestra / 0.3 ml glicerol) en tubos Eppendorf (Arenas, 2018).

#### Figura 5

*Proceso de criopreservación de P. aeruginosa en glicerol*



*Nota.* (\*\*\*) Caldo Nutritivo. Elaborado en base al diseño de iconos por (Lortal, 2019; Monkik, 2019)

### **3.6.1.2. Fase II: Preparación de materiales e insumos de laboratorio.**

En esta fase se esterilizaron los materiales de laboratorio para su posterior uso en la elaboración de medios no selectivos, selectivos y diferenciados para la incubación, crecimiento e identificación de *P. aeruginosa*, extraída de la muestra adquirida en la fase I de la etapa preliminar. En consecuencia, empleando el autoclave se esterilizaron cinco (5) tubos de ensayo, dieciocho (18) placas Petri, dos (2) vasos de precipitado, dos (2) probetas, una (1) pipeta, veintiún (21) matraces Erlenmeyer, una (1) espátula, dos (2) pinzas, una (1) tijera; y diez (10) tubos Eppendorf para su posterior uso.

Finalmente, se empleó la espátula para el pesaje de los medios deshidratados según las indicaciones del frasco utilizado; por tanto, se esterilizó en autoclave el medio no selectivo (Caldo Nutritivo - CN), el medio selectivo (Agar Cetrimide - AC) y los medios diferenciales (Agar Hierro Triple Azúcar – TSI, Agar Lisina Hierro – LIA, Agar Citrato de Simmons - CITRATO).

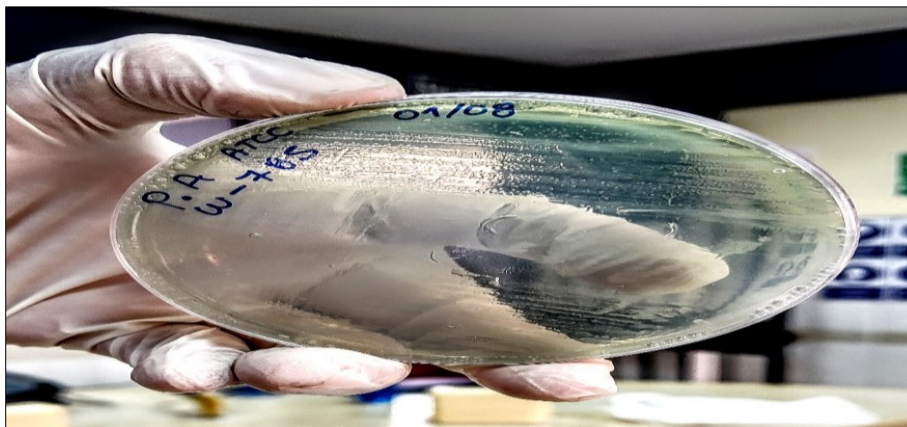
### **3.6.2. Etapa Laboratorio**

#### **3.6.2.1. Fase I: Caracterización de la bacteria *Pseudomonas aeruginosa*.**

En esta fase se empleó el medio esterilizado AC para la incubación de *P. aeruginosa* mediante repiques durante 1 día a 37 °C, obtenido tanto de los tubos Eppendorf como de la muestra principal (Ver Figura 6). Cabe mencionar que se empleó la tinción de Gram, el crecimiento en CN y las pruebas bioquímicas (TSI, LIA, CITRATO, catalasa) con el fin de observar y confirmar las características intrínsecas de la especie bacteriana (Koneman et al., 2008).

**Figura 6**

*Cepa comercial P. aeruginosa ATCC W-875 en placa Petri*

**3.6.2.2. Fase II: Preparación de unidad de análisis y esterilización.**

Se compró una bolsa comercial oxobiodegradable (d2w) de la marca Bimbo, para cortarla en pequeños cuadrados de 5 mm de lado. Al obtener la muestra requerida, se sometió al pesaje en una balanza analítica, luego se esterilizó con 20 ml de alcohol medicinal al 96° y 70° por 30 minutos, respectivamente; esto con el fin del eliminar la mayor cantidad de microorganismos. Posteriormente, se lavó con agua destilada con el fin de remover el exceso de alcohol, y se secó con papel filtro estéril para ser empleado en los matraces de tratamiento (Martín, 2017). De la misma manera, se realizó el procedimiento con una muestra blanco muestral (plástico convencional LDPE).

**3.6.2.3. Fase III: Inoculación de cepas bacterianas en unidad de análisis.**

En esta fase se inoculó la bacteria crioconservada *P. aeruginosa*, previamente dejada a temperatura ambiente, en cuatro (4) matraces Erlenmeyer que contenían caldo nutritivo (CN), de los cuales la mitad estaba regulado a pH 5 y la otra mitad a pH 7 (Butrón, 2020); asimismo, como blanco microbiológico se emplearon cuatro (4) matraces con el medio CN sin el agente bacteriano (Begum et al., 2015; Gonzales, 2020).

Posteriormente se colocaron seis (6) fragmentos de plástico d2w por cada matraz hasta completar los ocho (8) matraces; esto con el fin de que la cepa *P. aeruginosa* pueda consumir las muestras poliméricas como fuente de carbono. En ese contexto, es relevante destacar que se realizó el mismo proceso de inoculación bacteriana e introducción de plástico para el blanco muestral LDPE; asimismo, cuatro (4) matraces d2w y LDPE, respectivamente, se incubaron a 20 °C y los otros ocho (8) a 37 °C (Ver Tabla 4 y Figura 7).

**Tabla 4**

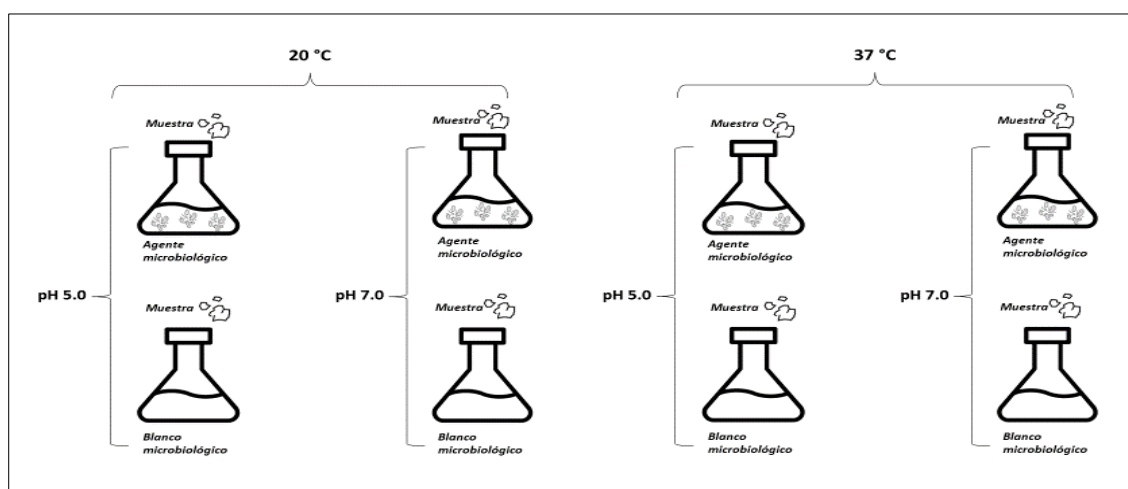
*Condiciones de biodegradación de plásticos oxobiodegradables d2w*

Temperatura	pH	Fragmentos de plástico	Matraces
20 °C	5.0	12 (6 muestra + 6 blanco (*))	2
	7.0	12 (6 muestra + 6 blanco (*))	2
37 °C	5.0	12 (6 muestra + 6 blanco (*))	2
	7.0	12 (6 muestra + 6 blanco (*))	2

*Nota.* (\*) Las muestras blanco microbiológico son los mismos fragmentos de plástico oxobiodegradable inoculados en el medio CN sin la presencia de *P. aeruginosa*.

**Figura 7**

*Esquema del experimento de biodegradación de plásticos d2w*



*Nota.* Se realizó el mismo proceso para el blanco muestral (LDPE). Elaborado en base al diseño de iconos por (Faisalovers, 2017; Vectors Market, 2017; Vectorstall, 2021).

#### 3.6.2.4. Fase IV: Registro de datos.

La unidad muestral, aislada del matraz en análisis, siguió el mismo proceso de desinfección detallado en la Fase II de la etapa de laboratorio. Cabe mencionar que, dichas unidades muestrales se lavaron con agua destilada por 10 minutos (Das y Kumar, 2013; Butrón, 2020).

A través de una ficha de muestreo, utilizado como instrumento de medición, se tomó registro del peso final semanalmente, según la unidad muestral recolectada, ya sea, el polímero en análisis o los de control (blanco microbiológico y muestral); todo esto por un periodo de 42 días.

#### 3.6.3. Etapa Gabinete

Toda la data obtenida de los ensayos en laboratorio fue procesada para determinar la eficiencia de degradación de plásticos oxobiodegradables, y de esta manera, obtener un modelo de estimación de su persistencia ambiental.

### 3.7. Análisis de datos

Luego de recolectar la información experimental de laboratorio, se acondicionaron los datos para procesarlos en una hoja de cálculo de Microsoft Excel para Microsoft 365 MSO, los cuales fueron ordenados y clasificados para estimar su confiabilidad, empleando un diseño factorial de efectos fijos y el modelo estadístico de análisis de varianza – ANOVA; procesado en el software IBM SPSS versión 27.

Se representa el modelo estadístico para este diseño en base a lo propuesto por (Lara et al., 2009):

$$y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + \gamma_k + (\tau\beta_{ij}) + (\tau\gamma_{ik}) + (\beta\gamma_{jk}) + u_{ijk} \quad i = 1,2; j = 1,2; k = 1,2$$

Donde:

$y_{ijk}$  = Representa la biodegradación de plásticos oxobiodegradables a temperatura  $i$ , a pH  $j$  y a la presencia  $k$  de *P. aeruginosa*.

$\mu$  = Efecto constante, denominado como la media global.

$\tau_i$  = Efecto medio causado por la temperatura  $i$ .

$\beta_j$  = Efecto medio causado por el pH  $j$ .

$\gamma_k$  = Efecto medio causado por la presencia  $k$  de *P. aeruginosa*.

$(\tau\beta_{ij})$  = Efecto causado por la interacción de la temperatura  $i$  y el pH  $j$ .

$(\tau\gamma_{ik})$  = Efecto causado por la interacción de la temperatura  $i$  y la presencia  $k$  de *P. aeruginosa*.

$(\beta\gamma_{jk})$  = Efecto causado por la interacción del pH  $j$  y la presencia  $k$  de *P. aeruginosa*.

$(u_{ijk})$  = Variables independientes con distribución normal.

Además, se generó un modelo que estime la persistencia ambiental de los plásticos oxobiodegradables por acción bacteriana.

### 3.8. Consideraciones éticas

Toda información será elaborada, analizada e interpretada en base a los resultados de laboratorio sin falsedad, siguiendo los lineamientos y protocolos establecidos para la manipulación de equipos y/o instrumentos. En cuanto a la información teórica, fue referenciada respetando los derechos de autor. Por tanto, mediante la presente investigación pretende contribuir al conocimiento científico brindando datos de suma importancia respecto a la contaminación plástica y degradación de plásticos oxobiodegradables que pueden impactar en el ambiente.



## IV. RESULTADOS

### 4.1. Caracterización fenotípica de *P. aeruginosa*

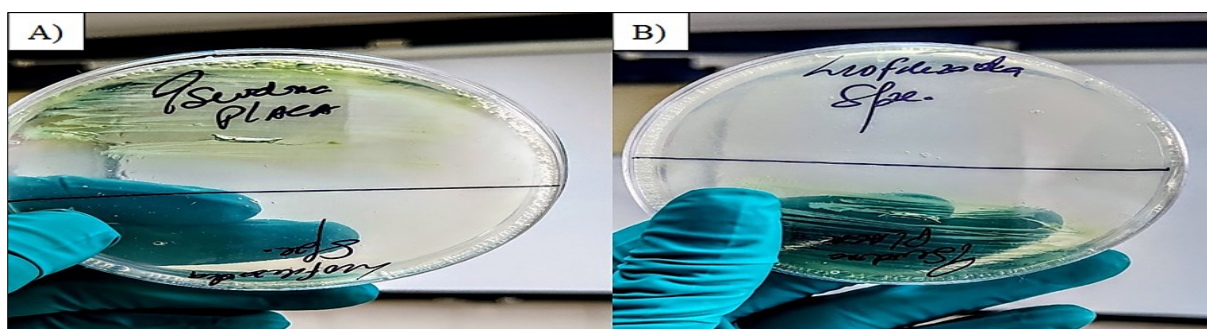
La caracterización confirmativa de la cepa *P. aeruginosa* se realizó mediante la tinción de Gram, pruebas bioquímicas y por su reacción en el medio de cultivo selectivo (AC) y no selectivo (CN).

#### 4.1.1. Reacción bacteriana en medios de cultivo selectivos y no selectivos

Tras la siembra de la cepa procedente de la placa Petri principal se obtienen resultados positivos; sin embargo, el inóculo proveniente de los tubos Eppendorf no mostró un crecimiento visible positivo (Ver Figura 8). Esto podría atribuirse a la concentración de bacterias presentes que se encontraban inactivas o posiblemente hayan muerto.

#### Figura 8

Crecimiento de *P. aeruginosa* en Agar Cetrimide tras 24 horas de incubación a 37°C



[Nota. A) Crecimiento positivo en AC inoculada de la muestra principal. Coloración verde-amarillento y consistencia mucosa. B) Crecimiento negativo visible en AC, obtenido de la muestra crioconservada en tubos Eppendorf.

Como segunda prueba de confirmación, se inoculó la cepa de ambas fuentes en Caldo Nutritivo (CN). Como resultado del crecimiento y actividad de *P. aeruginosa*, se observó una alteración del medio de cultivo en el color y en la presencia de partículas mucoides (Ver Figura 9).

## Figura 9

*Crecimiento de P. aeruginosa en el medio no selectivo – Caldo Nutritivo*



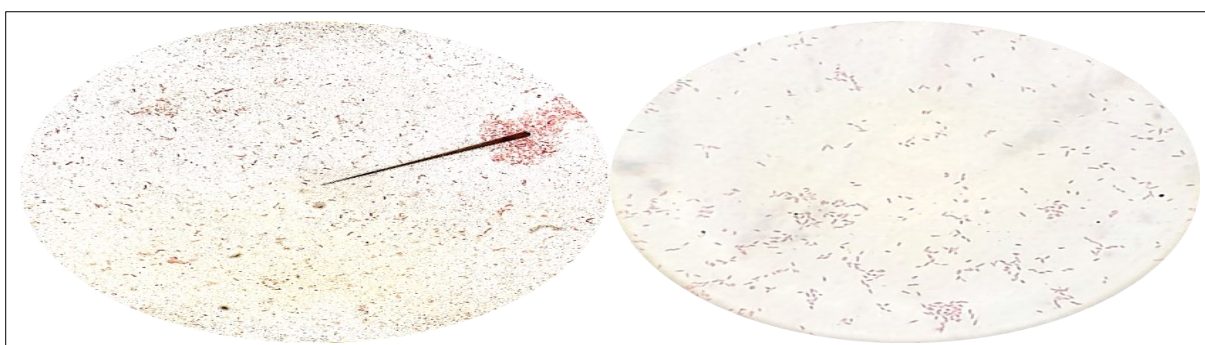
*Nota.* El primer tubo de ensayo (Fuente Eppendorf) de color amarillento indica una reacción negativa de crecimiento. El segundo tubo de ensayo (Fuente placa Petri principal) de color blanquecino indica una reacción positiva de crecimiento.

### 4.1.2. Tinción de Gram

Respecto a la identificación de características microscópicas de la cepa en estudio, se empleó la técnica de la tinción de Gram (Ver Figura 10), mediante el cual se reconoció bacilos gramnegativos, alargados, ligeramente curvados en forma de bastones y de coloración rosácea; dichas características son propias de *P. aeruginosa*.

## Figura 10

*Aplicación de la tinción de Gram en la identificación microscópica de P. aeruginosa*



*Nota.* Vista microscópica de *P. aeruginosa* a 100X. Aguja microscópica señalando bacilos gramnegativos abastionados.

### 4.1.3. Pruebas bioquímicas

Para la confirmación de la cepa *P. aeruginosa* se emplearon tres medios diferenciales (TSI, LIA y Citrato) y el reactivo para la prueba Catalasa. En ese sentido, los resultados de las 4 pruebas empleadas confirmaron las características de reacción de la especie en análisis (Ver Tabla 5).

**Tabla 5**

*Pruebas bioquímicas para la identificación de P. aeruginosa*

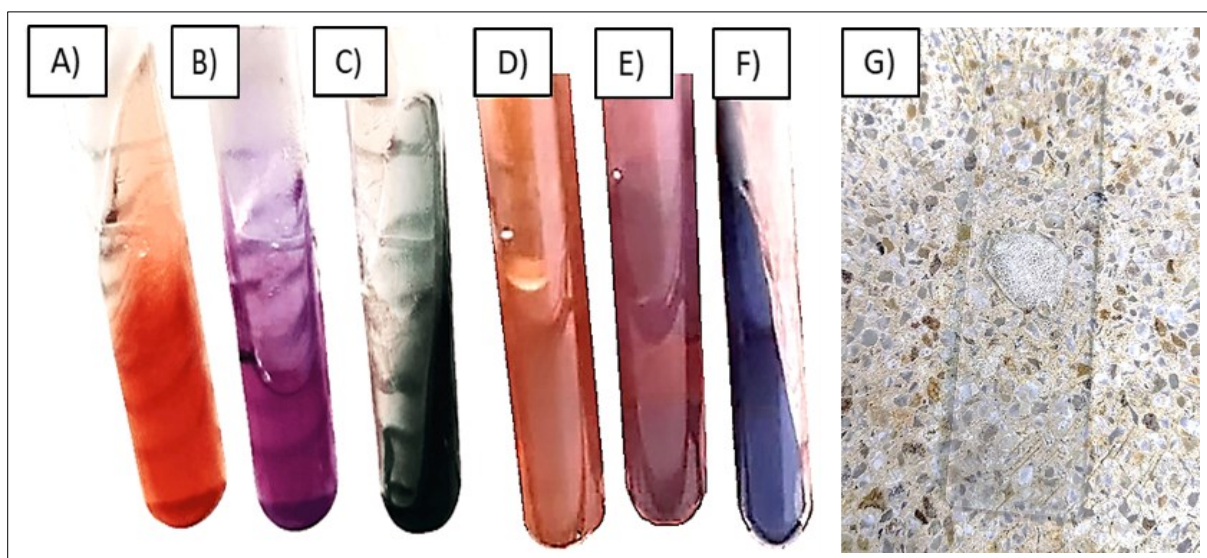
Prueba Bioquímica	Resultado			Característica
	Lactosa	Sacarosa	Glucosa	
TSI	K	K	(-)	Bisel alcalino rojizo / Fondo alcalino rojizo. Cepa no fermentativa.
LIA	Desaminación (-)	Descarboxilasa (+)	H <sub>2</sub> S (-)	Metabolización de la lisina a cadaverina mediante la enzima descarboxilasa.
Citrato		(+)		Metabolización del citrato como fuente de carbono alcalinizando el medio. Color azul positivo.
Catalasa		(+)		La bacteria descompone el H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , expresado mediante la generación de O <sub>2</sub> .

*Nota.* K = Medio básico. (-) = Prueba negativa. (+) = Prueba positiva.

En esa misma línea, se exponen los hallazgos visibles de la reacción de *P. aeruginosa* ante los medios de cultivo diferenciales mencionados anteriormente (Ver Figura 11).

## Figura 11

Resultados de las pruebas bioquímicas para *P. aeruginosa*



*Nota.* Los tres primeros tubos de ensayo muestran los medios diferenciales antes de ser alterados por *P. aeruginosa*: A) TSI sin inoculo. B) LIA sin inoculo. C) CITRATO sin inoculo. Pruebas confirmativas bioquímicas para la cepa *P. aeruginosa*: D) TSI negativo debido a la ausencia de fermentación expresado en color amarillo. E) LIA positiva por actividad descarboxilasa debido a la alcalinidad de peptonas. F) CITRATO positivo por el indicador Azul de bromotimol. G) Prueba de catalasa positiva (Burbujeo).

### 4.2. Incidencia del pH y temperatura en la biodegradación bacteriana

Las unidades muestrales de polímero d2w y LDPE, cuando se expusieron a la cepa bacteriana bajo las condiciones de temperatura y pH establecidas, se vieron afectadas en el proceso de biodegradación. Por lo tanto, según la Tabla 6, se observa que la temperatura, como factor independiente, es la única causa de variación que no tiene efectos significativos en la biodegradación de polímeros d2w y LDPE. Esto se debe a que su *p-value* ( $\text{Sig}_{\text{temp}} = 0.324$ ) supera el nivel de significancia del 5%.

Por otro lado, los efectos del pH, el tipo de muestra analizada (d2w y/o LDPE, con o sin acción de *P. aeruginosa*), así como la interacción entre la muestra, la temperatura y el pH, presentaron consecuencias significativas en el proceso de biodegradación. Esto se sustenta en el hecho de que los *p-value* asociados a estos factores fueron notablemente menores al nivel de significancia del 5%; dicho de otra manera, la varianza de las medias para tales efectos varió significativamente en comparación con el efecto de la temperatura.

Por ende, la ecuación del modelo estadístico se simplificó, ajustó y validó únicamente teniendo en cuenta los factor influyentes en el proceso de biodegradación:

$$y_{ijk} = \mu + \beta_j + \gamma_k + (\tau\beta_{ij}) + (\tau\gamma_{ik}) + (\beta\gamma_{jk}) + u_{ijk}$$

**Tabla 6**

*Análisis de varianza – ANOVA*

<b>Causa de variación</b>	<b>SC Tipo III</b>	<b>gl</b>	<b>MC</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
<i>Intersección</i>	12,616.906	1	12,616.906	2,046.884	0.000
<i>Muestra analizada</i>	2,626.907	3	875.636	142.057	0.001
<i>Temperatura</i>	8.556	1	8.556	1.388	0.324
<i>pH</i>	167.056	1	167.056	27.102	0.014
<i>Muestra analizada * Temperatura</i>	364.317	3	121.439	19.701	0.018
<i>Muestra analizada * pH</i>	205.817	3	68.606	11.130	0.039
<i>Temperatura * pH</i>	354.381	1	354.381	57.492	0.005
<i>Error</i>	18.492	3	6.164		
<b>Total</b>	16,362.430	16			

*Nota.* SC = Suma de cuadrados. MC = Media cuadrática. Análisis al 5% de significancia.

En ese contexto, se logró discernir el impacto de los diferentes niveles de los factores en la biodegradación de los plásticos d2w y LDPE. En primer lugar, los resultados presentados en la Tabla 7 y Tabla 8, revelaron un aumento sustancial en la biodegradación de los polímeros en relación al pH, donde se observó un incremento significativo en su eficiencia, alcanzando

su punto máximo a un pH de 5. No obstante, no se observó un patrón similar en lo que respecta a la temperatura, ya que la variación en los niveles de temperatura no condujo a un aumento apreciable en la tasa de degradación. En este caso, la mayor eficiencia se logró a una temperatura de 37°C.

**Tabla 7**

*Análisis de medias del factor pH en la eficiencia de biodegradación*

	Nivel	Factor pH	Estadístico	Error estándar
Eficiencia de Biodegradación (%)	pH 5	95% de intervalo de confianza	Li	16.919
			Ls	45.706
		Media		31.313
	pH 7	95% de intervalo de confianza	Li	12.597
			Ls	37.103
		Media		24.850

**Tabla 8**

*Análisis de medias del factor temperatura en la eficiencia de biodegradación*

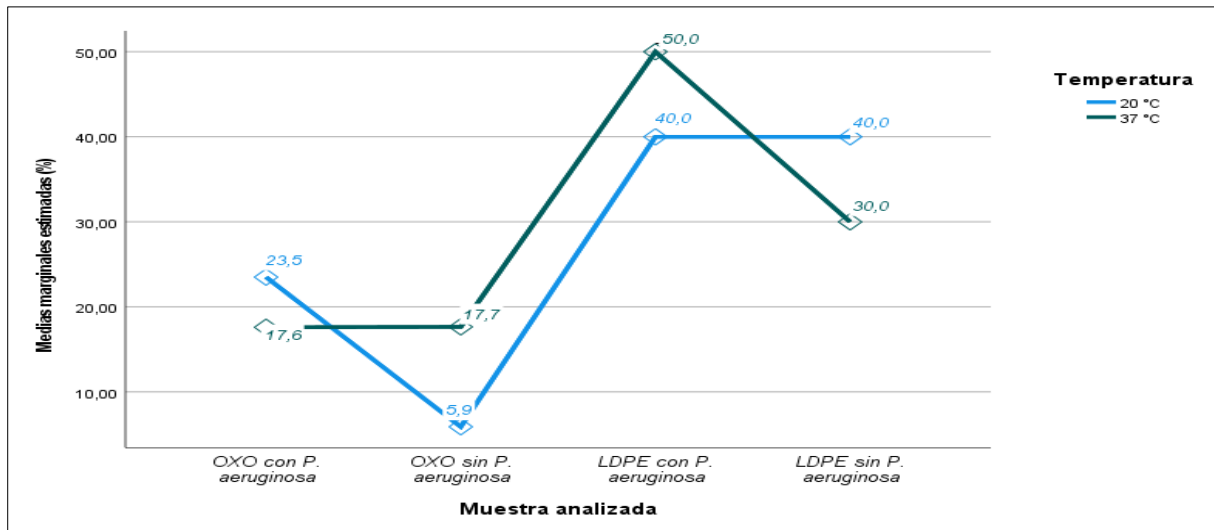
	Nivel	Factor temperatura	Estadístico	Error estándar
Eficiencia de Biodegradación (%)	20 °C	95% de intervalo de confianza	Li	14.477
			Ls	40.223
		Media		27.350
	37 °C	95% de intervalo de confianza	Li	14.410
			Ls	43.215
		Media		28.813

*Nota.* La variación de las medias entre ambos niveles no es significativa.

Finalmente, según los gráficos presentados en las Figuras 12, 13 y 14, se observó que a una temperatura de 20°C, la degradación media del plástico d2w se vio notablemente favorecida en presencia de *P. aeruginosa*; sin embargo, a 37°C, la presencia de esta bacteria no fue la causa principal de dicha degradación. En el caso del plástico LDPE, la bacteria no influyó en la degradación promedio a 20°C, mientras que a 37°C sí se apreció su efecto.

**Figura 12**

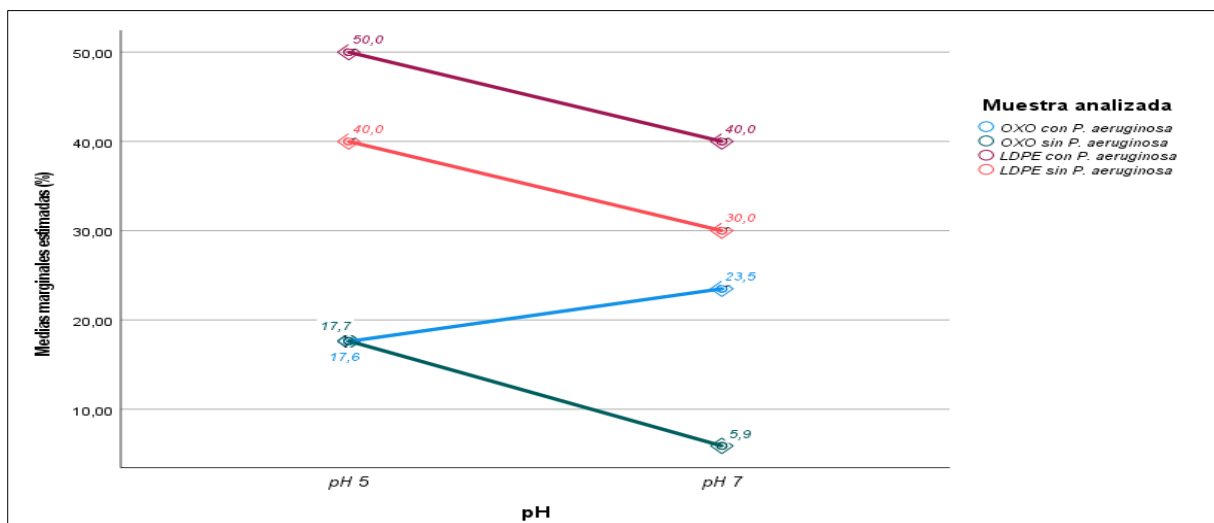
Gráfico de medias estimadas de biodegradación – Muestra vs temperatura



En relación a lo anterior, la tasa de biodegradación media de la muestra d2w varió según la alcalinización del medio, siendo mayor en presencia bacteriana y menor en ausencia de la cepa empleada. En lo que respecta a la muestra LDPE, se constató que, en pH neutro, ya sea en presencia o ausencia de *P. aeruginosa*, se observó un decremento en el índice de biodegradación.

**Figura 13**

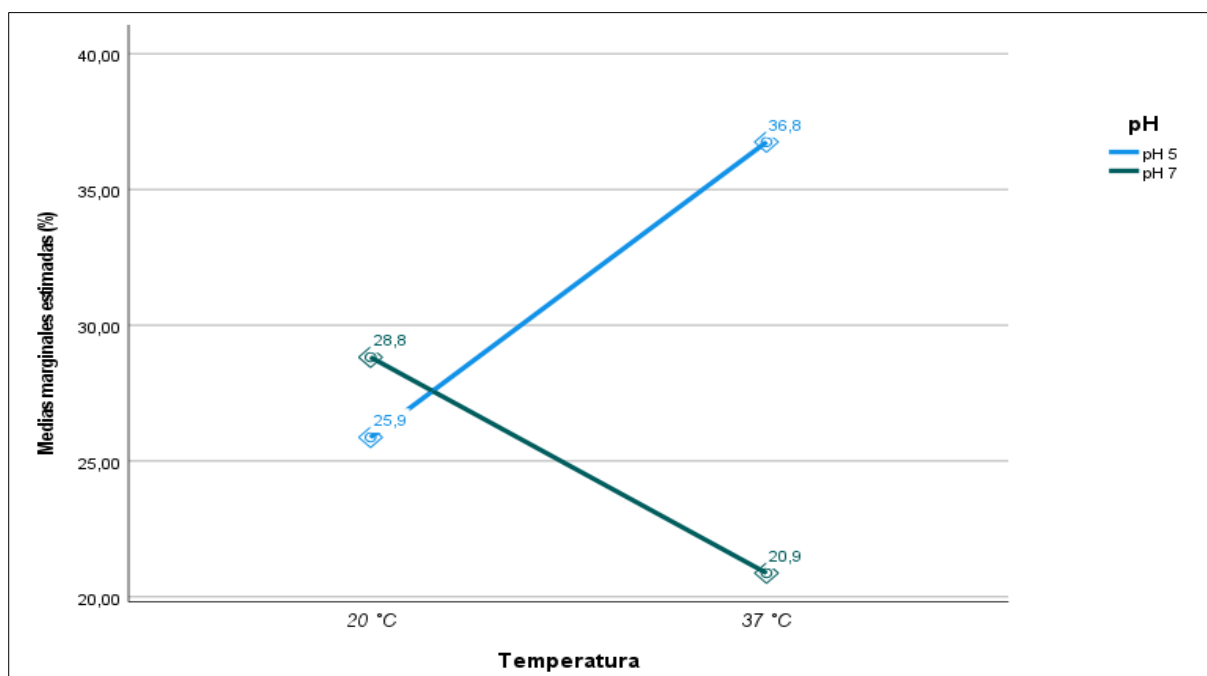
Gráfico de medias estimadas de biodegradación – pH vs muestra



Además, cuando se mantuvo un pH de 5, ambos polímeros, d2w y LDPE, experimentaron una mayor tasa media de biodegradación a medida que la temperatura aumentaba; por otro lado, bajo un pH de 7, se apreció una merma en el proceso de biodegradación.

**Figura 14**

*Gráfico de medias estimadas de biodegradación – Temperatura vs pH*



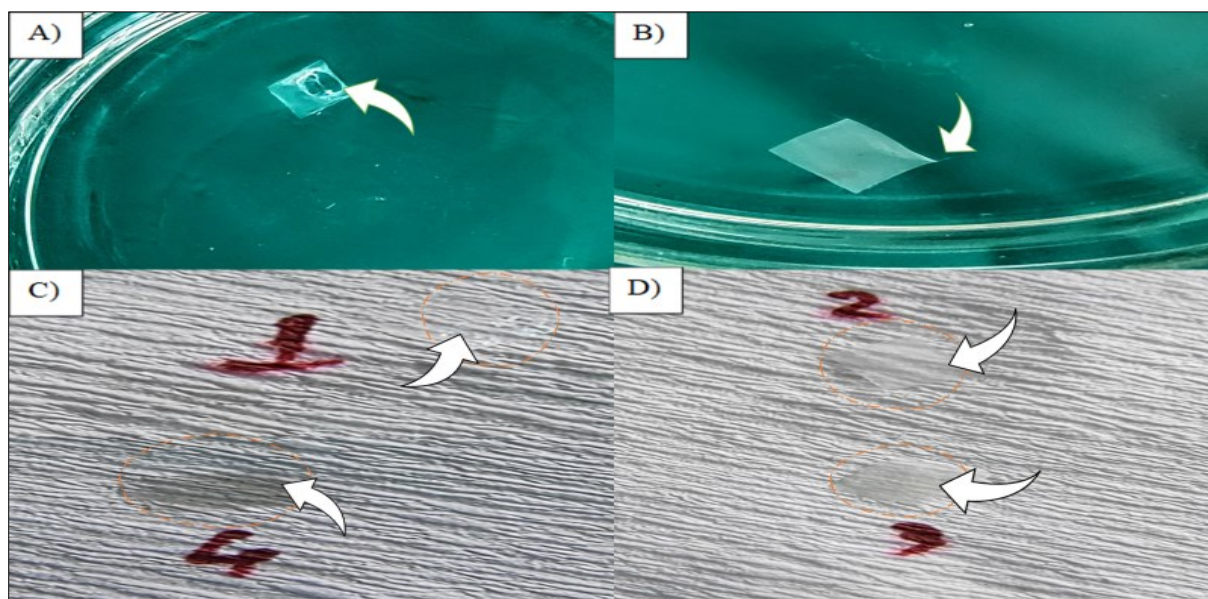
#### 4.3. Eficiencia de biodegradación bacteriana por *P. aeruginosa*

A lo largo del proceso de biodegradación, se observó que la bacteria provocó cambios en las propiedades fisicoquímicas de los fragmentos de plástico d2w y LDPE (blanco), reflejados en alteraciones de color y peso (Ver Tabla 9 y Figura 15). Además, se evidenció el fenómeno de bioincrustación (*biofouling*) en las muestras de estudio.



**Figura 15**

*Bioincrustación y efectos microbiológicos en fragmentos d2w y LDPE*



*Nota.* En un periodo de 6 semanas se observó: A) Bioincrustación en todo el fragmento de plástico oxobiodegradable (d2w). B) Bioincrustación leve en los bordes del plástico LDPE. C) Fragmentos d2w. D) Fragmentos LDPE. Oscurecimiento en los fragmentos d2w y LDPE (efecto bacteriano), es decir, los plásticos 3 y 4 fueron expuestos a la acción de *P. aeruginosa* a diferencia del plástico 1 y 2.

**Tabla 9**

*Eficiencia de biodegradación del polímero en estudio*

Periodo – 42 días	Muestra analizada (A)	Temperatura de análisis (B)			
		20 °C		37 °C	
		pH (C)		pH (C)	
		5	7	5	7
OXO con <i>P. aeruginosa</i>	Peso inicial (g)	0.00085	0.00085	0.00085	0.00085
	Peso final (g)	0.00070	0.00060	0.00070	0.00070
	<b>Eficiencia (%)</b>	<b>17.6%</b>	<b>29.4%</b>	<b>17.6%</b>	<b>17.6%</b>
OXO sin <i>P. aeruginosa</i>	Peso inicial (g)	0.00085	0.00085	0.00085	0.00085
	Peso final (g)	0.00080	0.00080	0.00060	0.00080
	<b>Eficiencia (%)</b>	<b>5.9%</b>	<b>5.9%</b>	<b>29.4%</b>	<b>5.9%</b>

Periodo – 42 días Muestra analizada (A)		Temperatura de análisis (B)			
		20 °C		37 °C	
		pH (C)		pH (C)	
		5	7	5	7
LDPE con <i>P. aeruginosa</i>	Peso inicial (g)	0.00050	0.00050	0.00050	0.00050
	Peso final (g)	0.00030	0.00030	0.00020	0.00030
	<b>Eficiencia (%)</b>	<b>40.0%</b>	<b>40.0%</b>	<b>60.0%</b>	<b>40.0%</b>
LDPE sin <i>P. aeruginosa</i>	Peso inicial (g)	0.00050	0.00050	0.00050	0.00050
	Peso final (g)	0.00030	0.00030	0.00030	0.00040
	<b>Eficiencia (%)</b>	<b>40.0%</b>	<b>40.0%</b>	<b>40.0%</b>	<b>20.0%</b>

Por otro lado, pese a la esterilización por calor de las bocas de los matraces y asas empleadas, se observó una contaminación del medio Caldo Nutritivo (CN) en ciertos envases empleados como blancos microbiológicos. En ese sentido, el medio CN de los matraces que contenían LDPE, a 20°C y 37°C, a un pH 7, enturbió; asimismo, se manifestó el mismo fenómeno en los matraces con plástico oxobiodegradable, a 20°C y 37°C, a un pH 7 (Ver Anexo B).

Pese a esto, según los datos de la Tabla 10, el plástico LDPE (subgrupo 4) exhibió el mayor índice promedio de biodegradación en comparación con el plástico d2w (subgrupo 2).

**Tabla 10**

*Prueba de Tukey – Subconjuntos homogéneos del factor muestra analizada*

Factor	Nivel	N	Subconjunto			
			1	2	3	4
	d2w sin <i>P. aeruginosa</i>	4	11.775			
Muestra	d2w con <i>P. aeruginosa</i>	4		20.550		
analizada	LDPE sin <i>P. aeruginosa</i>	4			35.000	
	LDPE con <i>P. aeruginosa</i>	4				45.000

*Nota.* Análisis estadístico al 5% de significancia.

Por último, según la Figura 16 y Figura 17, se estimó la persistencia ambiental de los plásticos d2w y LDPE, es decir, el tiempo que estos materiales permanecen en un ambiente in vitro antes de su remoción fisicoquímica y sin pretratamientos. Por ende, bajo la influencia de la presencia y la dinámica de crecimiento de *P. aeruginosa*, se observó que el plástico d2w persiste durante 80 años, mientras que el LDPE lo hace durante 5 años.

**Tabla 11**

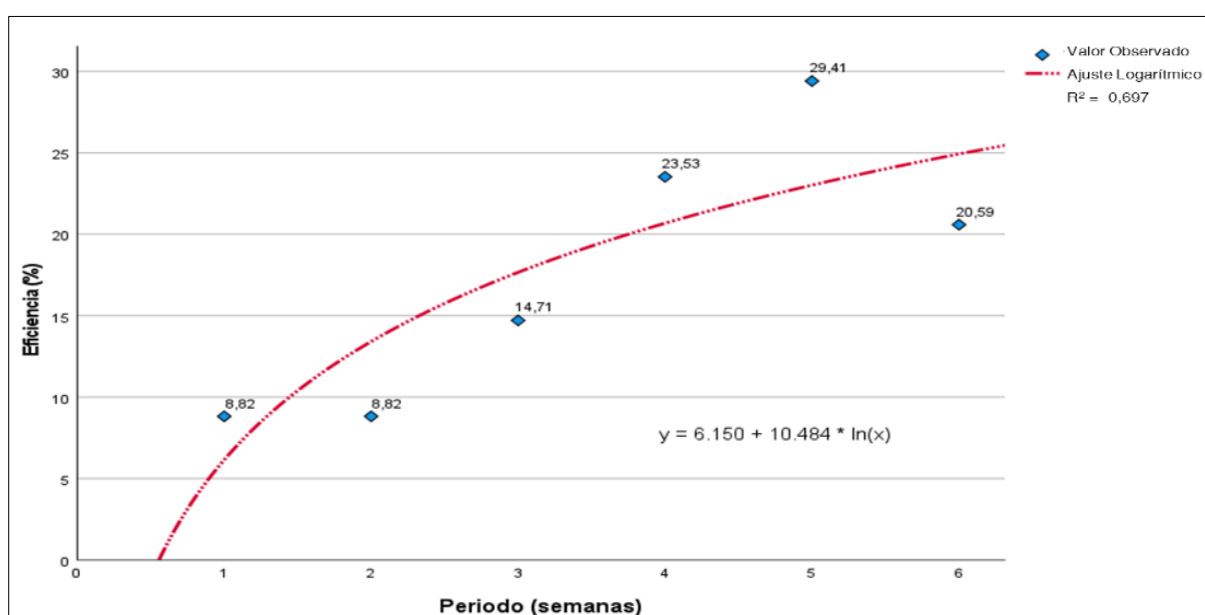
*Persistencia ambiental in vitro estimada para el plástico d2w y LDPE*

Muestra in vitro	Factor determinante	Bondad del modelo	Persistencia ambiental estimada	
			Semanas	Años
Plástico d2w	<i>P. aeruginosa</i>	70%	3863	80
Plástico LDPE		72%	217	5

*Nota.* Se consideró una biodegradación al 92.74%, según las pruebas realizadas en base a la norma ASTM D6954 (The Biodegradable Plastics Association, p. 5, 2023).

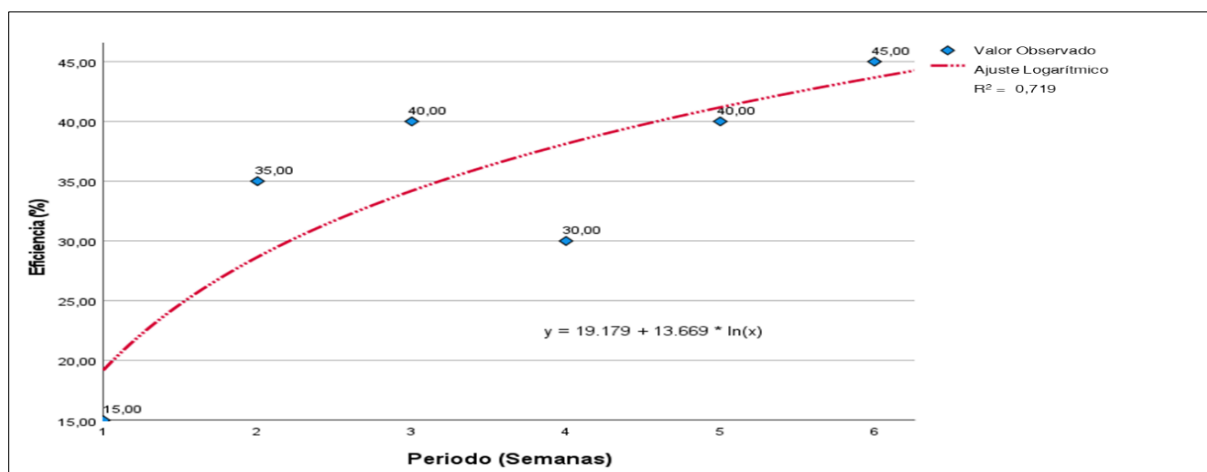
**Figura 16**

*Modelo de la persistencia ambiental del plástico d2w*



**Figura 17**

*Modelo de la persistencia ambiental del plástico LDPE*



#### 4.4. Análisis Estadístico

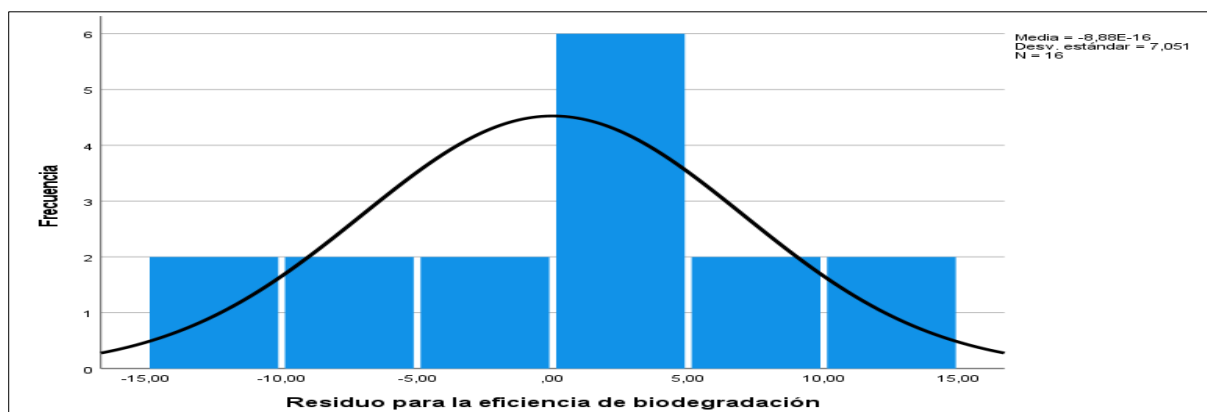
Para confirmar la idoneidad del modelo ANOVA, es necesario cumplir con los siguientes supuestos relacionados a los residuos de la eficiencia de biodegradación:

##### 4.4.1. Normalidad

Según el histograma resultante, se observan desviaciones con respecto a la normalidad de los datos; no obstante, es importante destacar que esto no necesariamente indica la inexistencia de una distribución normal.

**Figura 18**

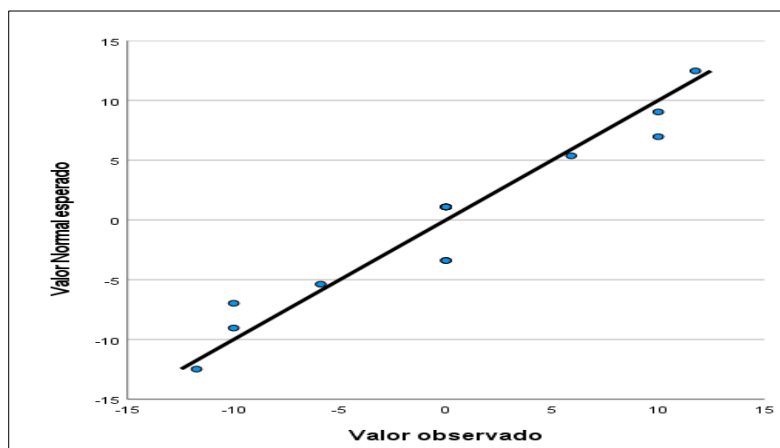
*Gráfico de la normalidad de los residuos en la eficiencia de biodegradación*



Para evaluar esto, se lleva a cabo un análisis gráfico utilizando el gráfico de probabilidad normal Q-Q, en el que se observa que los residuos se encuentran cercanos a la línea diagonal de normalidad

### Figura 19

Gráfico Q-Q Normal de los residuos en la eficiencia de biodegradación



Finalmente, de acuerdo con el procedimiento analítico para evaluar el contraste de Kolmogorov-Smirnov, se observa que el valor de *p-value* (Sig. = 0.009) es inferior al nivel de significancia de 0.05, lo que lleva a la conclusión de que se rechaza la hipótesis de normalidad de los datos.

### Tabla 12

Prueba analítica de normalidad de los residuos

Prueba de Kolmogorov-Smirnov	Estadístico	Residuos
N		16
Parámetros normales <sup>a, b</sup>	Media	0.000
	Desv. Estándar	7.051
	Absoluta	0.250
Máximas diferencias extremas	Positivo	0.250
	Negativo	-0.250
Estadístico de prueba		0.250
Sig. asin. (bilateral) <sup>c</sup>		0.009

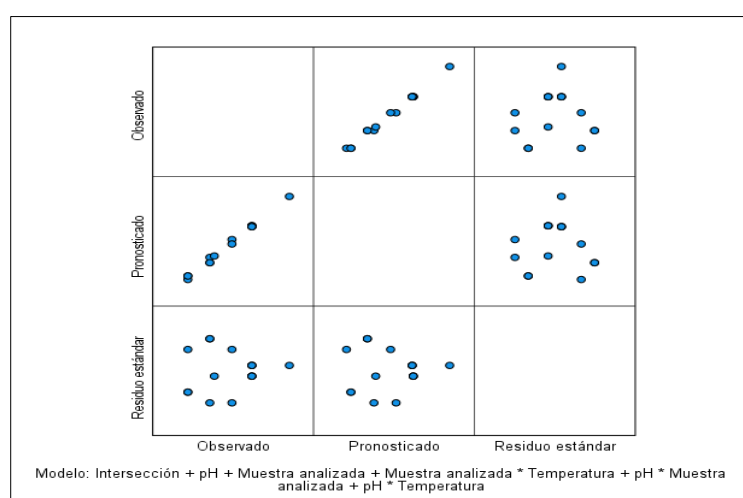
Nota. <sup>a</sup>La distribución de prueba es normal. <sup>b</sup>Se calcula a partir de datos. <sup>c</sup>Corrección de significación de Lilliefors.

#### 4.4.2. Independencia

Para verificar el cumplimiento del supuesto de independencia, se examinó el gráfico de los residuos estándar (eje y, fila 3) en función de los valores pronosticados (eje x, columna 2) generados por el modelo. La ausencia de cualquier tendencia sistemática en el gráfico indica que se cumple el supuesto de independencia.

**Figura 20**

*Gráfico de los residuos estándar vs pronosticado*



#### 4.4.3. Homocedasticidad

##### 4.4.3.1. Para el pH.

Para evaluar la homogeneidad de varianzas, se empleó la prueba del test de Levene. Los resultados indican que el *p-value* (Sig. = 0.762) es mayor que el nivel de significancia de 0.05. Esto sugiere que se mantiene la homocedasticidad para ambos niveles de pH.

**Tabla 13**

*Prueba de Levene asociada al factor pH*

Homogeneidad de varianzas	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	.095	1	14	.762

#### 4.4.3.2. Para la muestra.

Si la homogeneidad de varianzas se cumple en la muestra, esto implica que se satisface también el supuesto de homocedasticidad. Esto se aprecia en el resultado del *p-value* (Sig. = 0.630), que es mayor que el nivel de significancia de 0.05, lo cual sugiere que existe igualdad en las varianzas entre los niveles de las muestras utilizadas.

**Tabla 14**

*Prueba de Levene asociada a la muestra empleada*

Homogeneidad de varianzas	Estadístico de Levene	g1	g2	Sig.
Se basa en la media	.595	3	12	.630

#### 4.4.4. Conclusión

El modelo estadístico ANOVA utilizado en este estudio satisface los supuestos de homocedasticidad e independencia. A pesar de que no cumple con el supuesto de normalidad, es importante destacar que esto no invalida el modelo, ya que la prueba ANOVA es robusta ante ligeras desviaciones de la normalidad.

## V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El estudio realizado por **Abed et al., (2019)** indica una mayor biodegradabilidad del plástico oxobiodegradable (OXO-PE) en comparación con el polietileno (PE). Este hallazgo sugiere que el OXO-PE experimenta cambios fisicoquímicos más notables, especialmente debido a la acción de bacterias de géneros específicos como *Roseobacter*, *Nautella* y *Pseudomonas*, con especial mención a *Alteromonas* y *Zooglea*.

Sin embargo, los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran parcialmente lo contrario. Aunque es cierto que el PE, en su forma de polietileno de baja densidad (LDPE), se degrada más rápido que el OXO-PE, este último presenta cambios físicos y biológicos más evidentes, en términos de coloración y bioincrustación por la presencia de *Pseudomona aeruginosa*. Además, dicha variabilidad de resultados se explica por el menor grosor del LDPE en comparación con el OXO-PE. Asimismo, la elección de un entorno marino por parte de los investigadores, con factores ambientales tales como la exposición a la luz solar, el efecto de las olas, la profundidad de la muestra y la mayor presencia de organismos incrustantes; ejerció una influencia significativa en las muestras de OXO-PE. Esto hizo que el OXO-PE sea más susceptible a la fotooxidación, un preproceso de degradación inducido por la luz solar, lo que podría explicar la discrepancia en su biodegradación en comparación con el PE.

Según los hallazgos de **Lee et al., (2020)** se registró una pérdida promedio de peso del PE del 0.64%/día empleando *P. aeruginosa*, lo que implica que, en un periodo de 42 días, el PE podría biodegradarse hasta un 26.88%. En el presente estudio, se determinó una tasa de biodegradación del 20.55 % y 45.00 % para el OXO-PE y PE, respectivamente. Estas diferencias reflejan variaciones en las condiciones de biodegradación que afectan la dinámica de las enzimas biodegradantes secretadas por *P. aeruginosa* según el tipo de plástico, tal como



señaló el investigador. Además, esta variación se debe a las características físicas del polímero, como su grosor, tamaño y densidad.

Según los resultados obtenidos, la persistencia ambiental estimada, tanto del OXO-PE como del PE, en condiciones de laboratorio y sin pretratamiento, fue de 80 y 5 años, respectivamente. Esto supone que, en un ambiente real, dicha persistencia sería menor debido a diversos agentes climáticos que causen modificaciones fisicoquímicas en los polímeros en estudio, con énfasis en el OXO-PE, cuyos prooxidantes facilitan la biodegradación. Asimismo, **Napper y Thompson, (2019)** corroboran que a pesar de que diversos polímeros tales como los convencionales (HDPE), los biodegradables o los oxobiodegradables se deterioran en el suelo o en el mar, siguen persistiendo por más de 3 años, por lo que no se puede asegurar que estos materiales se deteriorarán lo suficiente para reducir sus impactos en los ecosistemas. Sin embargo, estos patrones sumado a las estimaciones de persistencia ambiental en diferentes condiciones ofrecen información crítica para la gestión de residuos plásticos y la toma de decisiones en políticas medioambientales.

Según lo reportado por **Butrón, (2020)** la biodegradación del LDPE varía en función de las condiciones de pH y temperatura. Se destaca un aumento significativo en la tasa de degradación cuando el pH se ajusta a 7 y se aplican temperaturas de 25°C y 35°C, alcanzando tasas de 21.7% y 27.3%, respectivamente. Sin embargo, en la presente investigación, se observan discrepancias notables con estos resultados de referencia. A un pH de 7 y temperaturas de 20°C y 37°C, el LDPE se biodegrada en un 40% en ambas condiciones térmicas. En el caso del OXO-PE, en las mismas condiciones de pH y temperaturas, se registra una biodegradación del 29.4% y 17.6%.

Es esencial señalar que estas diferencias en los resultados pueden atribuirse al efecto de la exposición adicional de 12 días a la acción de *P. aeruginosa* en el estudio actual. Además,

factores como el tamaño de las muestras, el contenido de humedad, la posible acción de un consorcio bacteriano y el tipo de medio de cultivo empleado emergen como elementos cruciales en el proceso de biodegradación.

## VI. CONCLUSIONES

- 6.1. Durante el proceso de metabolización en medios de cultivo no selectivos, selectivos y diferenciales, se confirmó la presencia de pigmentación sideróforo pioverdina, la sobreproducción de alginato que se manifestó en la consistencia mucosa de los medios y el metabolismo no fermentativo en relación con el peróxido de hidrógeno, la lisina y el citrato, lo que resultó en la alcalinización de los medios. Estos hallazgos validan de manera sólida las características de la especie bacteriana *P. aeruginosa*.
- 6.2. En presencia de *P. aeruginosa*, la biodegradación de plásticos oxobiodegradables (OXO-PE) disminuye en un entorno ácido a una temperatura de 37°C. Por otro lado, los plásticos de polietileno de baja densidad (LDPE) experimentan una disminución en su biodegradación en un medio alcalino a una temperatura de 20°C. En síntesis, tanto el pH como la temperatura inciden en la eficiencia de biodegradación de ambos tipos de plásticos, con tasas de biodegradación más bajas a temperaturas más frías en un entorno ácido y tasas más altas en un entorno alcalino a temperaturas más cálidas.
- 6.3. La eficiencia promedio de biodegradación del plástico OXO-PE y del LDPE, se situó en un 20.55% y 45%, respectivamente, durante un lapso de 42 días, en presencia de *P. aeruginosa*. No obstante, el OXO-PE obtuvo su máximo desempeño en un medio alcalino y a una temperatura de 20°C con una tasa de biodegradación del 29.4%; mientras el LDPE lo obtuvo a 37°C en un medio ácido, con una tasa de 60%.

## VII. RECOMENDACIONES

- 7.1. Se recomienda extender la duración de la fase experimental para acumular una mayor cantidad de datos, lo que permitirá establecer una eficiencia de biodegradación más sólida.
- 7.2. Se recomienda implementar tecnología más avanzada en el proceso de pesaje y deterioro de las muestras con el fin de mejorar la precisión y confiabilidad de los datos recopilados.
- 7.3. Se recomienda explorar la utilización de otros microorganismos, ya sea de manera individual o en consorcios microbiológicos, que sean capaces de biodegradar polímeros, ampliando así las perspectivas de investigación.
- 7.4. Se recomienda replicar el proceso de biodegradación de plásticos oxobiodegradables en entornos reales, como ambientes marinos, donde el impacto en los ecosistemas involucrados es significativo.
- 7.5. Se recomienda considerar la aplicación de pretratamientos fisicoquímicos en los polímeros propensos a la biodegradación para obtener resultados mejorados en términos de biodeterioro, biofragmentación, asimilación y mineralización.

## VIII. REFERENCIAS

- Abed, R. M., Muthukrishnan, T., Al Khaburi, M., Al-Senafi, F., Munam, A., & Mahmoud, H. (2019). Degradability and biofouling of oxo-biodegradable polyethylene in the planktonic and benthic zones of the Arabian Gulf. *Marine Pollution Bulletin*, 150, 110639. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110639>
- Amaral-Zettler, L., Zettler, E., & Mincer, T. (2020). Ecology of the plastisphere. *Nature Reviews Microbiology*, 18, 139-151. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0308-0>
- Amobonye, A., Bhagwat, P., Singh, S., & Pillai, S. (2020). Plastic biodegradation: Frontline microbes and their enzymes. *Science of The Total Environment*, 759(143536). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143536>
- Andina. (22 de febrero de 2022). Científicos peruanos hallan microplásticos en playas de Chancay y Asia. <https://andina.pe/agencia/noticia-cientificos-peruanos-hallan-microplasticos-playas-chancay-y-asia-882757.aspx>
- Arenas, A. (2018). Aislamiento y caracterización molecular 16S rRNA de cepas bacterianas con capacidad de biodegradación de PEAD (Polietileno de Alta Densidad) micro contaminante en aguas sintéticas a escala laboratorio [Tesis de pregrado, Universidad Católica de Santa Mar]. Repositorio Institucional de la Universidad Católica de Santa María. <https://repositorio.ucsm.edu.pe/handle/20.500.12920/8228>
- Barbarán, H., Cabanillas, L., & Rubio, Y. (2018). Biodegradación de polietileno tereftalato (PET) por acción de *Pseudomona aeruginosa*, en condiciones de laboratorio [Tesis de pregrado, Universidad César Vallejo]. Repositorio institucional de la Universidad César Vallejo. <https://hdl.handle.net/20.500.12692/32118>

- Barrionuevo, Y. (2020). Evaluación de la degradación de plásticos biodegradables y convencionales distribuidos en las principales cadenas de supermercados de la ciudad de Arequipa – 2019 [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa]. Repositorio institucional de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/20.500.12773/12163>
- Begum, M., Varalakshmi, B., & Umamagheswari, K. (2015). Biodegradation of Polythene Bag using Bacteria Isolated from Soil. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 4(11), 674-680. <https://www.ijcmas.com/vol-4-11/M.%20Ariba%20Begum,%20et%20al.pdf>
- Blanco, M. (2007). Anexo B: Generalidades sobre polímeros. 21-41. Barcelona: Universidad Politécnica de Catalunya - UPC. <https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099.1/4536/Anexo%20%20B.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- Butrón, S. (2020). Capacidad de biodegradación de Pseudomonas aeruginosa frente al polietileno de baja densidad [Tesis doctoral, Universidad Nacional del Altiplano]. Repositorio institucional de la Universidad Nacional del Altiplano. <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/13475>
- Ccallo, M., Sacaca, F., Callata, R., Vigo, J., & Calla, J. (2020). Biodegradación de polímeros de plástico por Pseudomonas. *Revista de Investigación Ciencia, Tecnología y Desarrollo*, 6(2), 46-59. <https://doi.org/10.17162/rictd.v6i2.1457>
- Chugnas, K. (2019). Eficiencia de las bacterias pseudomonas SP y dietziaceae para la degradación de Tereftalato de Polietileno, 2019 [Tesis de pregrado, Universidad César Vallejo]. Repositorio institucional de la Universidad César Vallejo. <https://hdl.handle.net/20.500.12692/48879>

- Clarke, P. (1982). The metabolic versatility of pseudomonads. *Antonie van Leeuwenhoek*, 48(2), 105-130. <https://doi.org/10.1007/bf00405197>
- Das, M., & Kumar, S. (2013). Influence of cell surface hydrophobicity in colonization and biofilm formation on LDPE Biodegradation. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(4), 690-694. <https://innovareacademics.in/journal/ijpps/Vol5Issue4/7854.pdf>
- Decreto Supremo N° 025-2021-PRODUCE. (30 de noviembre de 2021). Reglamento Técnico sobre Bolsas de Plástico Biodegradables. *Diario Oficial El Peruano*. <https://busquedas.elperuano.pe/normaslegales/decreto-supremo-que-aprueba-el-reglamento-tecnico-sobre-bols-decreto-supremo-n-025-2021-produce-2017203-5/#:~:text=El%20Peruano%20%2D%20Decreto%20Supremo%20que,%2DPRODUC E%20%2D%20PODER%20EJECUTIVO%20%2D%20PRODU>
- Díaz del Castillo, F. (2012). Lecturas de Ingeniería 21. Conformado de materiales plásticos. México: Universidad Nacional Autónoma de México - UNAM. [http://olimpia.cuautitlan2.unam.mx/pagina\\_ingenieria/mecanica/mat/mat\\_mec/m6/conformado%20de%20plasticos.pdf](http://olimpia.cuautitlan2.unam.mx/pagina_ingenieria/mecanica/mat/mat_mec/m6/conformado%20de%20plasticos.pdf)
- Díaz, R. (2021). El plástico biodegradable en el Perú: ¿una solución o un problema?. *South Sustainability*, 2(2), e042. <https://doi.org/10.21142/SS-0202-2021-pb004>
- Estrada, A. (2008). Síntesis de polietileno lineal de baja densidad (LLDPE) mediante el sistema (n-BuCp)2ZrHAlH4/SiO2/MAO y Evaluación de sus propiedades físicas y mecánicas. [Tesis de maestría, Centro de Investigación en Química Aplicada]. Repositorio Institucional del Centro de Investigación en Química Aplicada. <https://ciqa.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1025/255/1/Alba%20Nidia%20Estrada%20Ramirez%20Maestria.pdf>

Faisalovers. (24 de Abril de 2017). Bacteria [Clip Art].  
<https://thenounproject.com/icon/bacteria-1023777/>

Fernández, A., García, C., Saez, J., & Valdezate, S. (2010). Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. *Procedimientos en microbiología clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. (E. Cercenado, & R. Cantón, Edits.) España: Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.  
<https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia37.pdf>

Gestión. (29 de noviembre de 2018). Contaminación por microplásticos en el litoral peruano aún es baja, asegura Imarpe. <https://gestion.pe/economia/contaminacion-microplasticos-litoral-peruano-baja-asegura-imarpe-251341-noticia/>

Geyer, R. (2020). Chapter 2 - Production, use, and fate of synthetic polymers. (T. Letcher, Ed.) *Plastic Waste and Recycling: Environmental Impact, Societal Issues, Prevention, and Solutions*, 13-32. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817880-5.00002-5>

Gonzales, V. (2020). capacidad biodegradativa de hongos filamentosos frente al polietileno. *Revista de Investigaciones de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional del Altiplano*, 9(3), 205-217. <https://doi.org/10.26788/riepg.v9i3.1625>

Greenpeace. (25 de Agosto de 2016). *Plásticos en los océanos. Datos, comparativas e impactos*. Greenpeace Web site: <http://archivos.greenpeace.org/espana/es/Trabajamos-en/Parar-la-contaminacion/Plasticos/index.html>

Guarnizo, A., & Martínez, P. (2013). *Experimentos de Química Orgánica con enfoque en ciencias de la vida* (Primera ed.). Elizcom S.A.S.



<https://books.google.com.pe/books?id=Otm5wsEeKYEC&pg=PA23&dq=potencial+de+hidrogeno&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwiOorfO9sb6AhUJu5UCHYFUAQ4Q6AF6BAgCEAI#v=onepage&q=potencial%20de%20hidrogeno&f=false>

Gutiérrez, A. (2019). Biodegradación de Polietileno de Baja Densidad Utilizando Hongos, Bacterias y Consorcios Microbianos Aislados del Botadero Municipal de Tacna [Tesis de pregrado, Universidad Privada de Tacna]. Repositorio institucional de la Universidad Privada de Tacna. <http://hdl.handle.net/20.500.12969/1269>

Hernández Sampieri, R., Fernández, C., & Baptista, M. (2014). *Metodología de la Investigación* (Sexta ed.). México D.F.: McGraw-Hill.

Hernández, K. (2013). Biodegradación de envases elaborados a base de fécula de maíz, papa, caña de azúcar, papel y oxo-biodegradables [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Autónoma de México]. [https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/Portal2015/Licenciaturas/biologia/tesis/tesis\\_hernandez\\_tomas.pdf](https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/Portal2015/Licenciaturas/biologia/tesis/tesis_hernandez_tomas.pdf)

Hewitt, P. (2007). *Física Conceptual* (Décima ed.). Pearson Educación. [https://ccie.com.mx/wp-content/uploads/2020/03/fisica-conceptual\\_paulhewitt.pdf](https://ccie.com.mx/wp-content/uploads/2020/03/fisica-conceptual_paulhewitt.pdf)

JUDEBI S.L. (s.f.). *LDPE (Polietileno de baja densidad)*. Judebi S.L. Web site: [https://jubedi.com/comercializacion-de-plasticos/ldpe-polietileno-baja-densidad/#:~:text=El%20polietileno%20de%20baja%20densidad,\(polietileno%20de%20baja%20densidad\)](https://jubedi.com/comercializacion-de-plasticos/ldpe-polietileno-baja-densidad/#:~:text=El%20polietileno%20de%20baja%20densidad,(polietileno%20de%20baja%20densidad)).

Kirstein, I., Kirmizi, S., Wichels, A., Garin-Fernández, A., Erler, R., Löder, M., & Gerdts, G. (2016). Dangerous hitchhikers? Evidence for potentially pathogenic *Vibrio* spp. on microplastic particles. *Marine Environmental Research*, 120, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2016.07.004>

- Koneman, E., Allen, S., Winn, W., Janda, W., Procop, G., Schreckenberger, P., & Woods, G. (2008). *Diagnóstico microbiológico. Texto y Atlas en color* (Sexta ed.). Médica Panamericana S.A.  
<https://books.google.com.pe/books?hl=es&lr=&id=jyVQueKro88C&oi=fnd&pg=PA1&dq=Diagnostico+Microbiologico/Microbiological+diagnosis+koneman&ots=5QLg205Ulz&sig=ObavO3mgegrkh4GYnk8EwhPCMA#v=onepage&q=Diagnostico%20Microbiologico%2FMicrobiological%20diagnosis>
- Laboratorios Britania S.A. (s.f.). *Cetrimida Agar*. Britanialab Web site:  
[https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl\\_617060f686dfd.pdf](https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_617060f686dfd.pdf)
- Lara, A., Román, Y., Pérez, F., & Parra, P. (1 de Octubre de 2009). *Bioestadística. Guía interactiva de Autoaprendizaje de SPSS*. (F. d. Granada, Ed.) Diseño estadístico de experimentos: <https://www.ugr.es/~bioestad/guiaspss/practica7/Contenidos.pdf>
- Lee, H., Kim, H., Jeon, E., Yu, H., Lee, S., Li, J., & Kim, D. (2020). Evaluation of the Biodegradation Efficiency of Four Various Types of Plastics by *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from the Gut Extract of Superworms. *Microorganisms*, 8(9), 1341.  
<https://doi.org/10.3390/microorganisms8091341>
- Lortal, L. (5 de Junio de 2019). Eppendorf [Clip Art].  
<https://thenounproject.com/icon/eppendorf-2723776/>
- Madigan, M., Martinko, J., & Parker, J. (2004). *Brock: Biología de los microorganismos* (10a ed.). Prentice-Hall.  
[https://www.academia.edu/27080424/Brock\\_Biolog%C3%ADa\\_de\\_los\\_microorganismos\\_10ed](https://www.academia.edu/27080424/Brock_Biolog%C3%ADa_de_los_microorganismos_10ed)

- Martín, A. (2017). Estudio preliminar de la biodegradación de plásticos por bacterias marinas [Tesis de pregrado, Universidad de la Laguna]. Repositorio Institucional de la Universidad de la Laguna. <https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/5762/Estudio+preliminar+de+la+biodegradacion+de+plasticos+por+bacterias+marinas.pdf?sequence=1>
- Mattsson, K., Hansson, L.-A., & Cedervall, T. (2015). Nano-plastics in the aquatic environment. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 17(10), 1712-1721. <https://doi.org/10.1039/c5em00227C>
- Mayz, J., & Manzi, L. (2017). Bacterias hidrocarburoclásticas del género *Pseudomonas* en la rizosfera de *Samanea saman* (Jacq.) Merr. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 19(1), 29-37. <https://doi.org/https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v19n1.57408>
- MINAM. (15 de diciembre de 2021). Conclusiones y recomendaciones MINAM. Proyecto de Ley que propone la postergación del plazo para la entrada en vigencia de la prohibición establecida en el literal c), del numeral 3.3 del artículo 3 de la Ley n° 30884 [Diapositivas de PowerPoint]. <https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/2617362/MINAM%20sobre%20PL%20399-2021-CR%20Tecnopor%2015.12.2021%20%282%29.pdf.pdf>
- Monkik. (14 de Marzo de 2019). Petri Dish [Clip Art]. <https://thenounproject.com/icon/petri-dish-2452248/>
- Montazer, Z., Habibi Najafi, M., & Levin, D. (2020). Challenges with verifying microbial degradation of polyethylene. *Polymers*, 12(1), 123. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/polym12010123>

- Montseny, M., Marlés, J., & Fortuño, J. (2010). *Bioincrustación*. Investigación y Ciencia. El cerebro latente: <https://www.investigacionyciencia.es/revistas/investigacion-y-ciencia/el-cerebro-latente-504/bioincrustacin-1437>
- Mora, M. (03 de mayo de 2019). *Brasil, un 'gigante' del plástico*. Banco Central de Cuba: <https://www.bc.gob.cu/noticia-internacional/brasil-un-gigante-del-plastico/222#:~:text=Este%20pa%C3%ADs%20latinoamericano%20es%20el,mundo%2C%20las%20bolsas%20se%20derrochan.>
- Mouafo Tamnou, E. B., Tamsa Arfao, A., Nougang, M. E., Metsopkeng, C. S., Noah Ewoti, O. V., Mounang, L. M., . . . Nola, M. (2021). Biodegradation of polyethylene by the bacterium *Pseudomonas aeruginosa* in acidic aquatic microcosm and effect of the environmental temperature. *Environmental Challenges*, 3, 100056. <https://doi.org/10.1016/j.envc.2021.100056>
- Napper, I., & Thompson, R. (2019). Environmental Deterioration of Biodegradable, Oxo-biodegradable, Compostable, and Conventional Plastic Carrier Bags in the Sea, Soil, and Open-Air Over a 3-Year Period. *Environmental Science & Technology*, 53(9), 4775-4783. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b06984>
- Open-Bio. (01 de febrero de 2016). Statement of Open-Bio partners to the UNEP (2015) report on Biodegradable Plastics and Marine Litter. Misconceptions, concerns and impacts on marine environments. [https://www.biobasedeconomy.eu/app/uploads/sites/2/2017/09/16-02-01\\_Open-Bio-comment-on-UNEP-report-FINAL-short.pdf](https://www.biobasedeconomy.eu/app/uploads/sites/2/2017/09/16-02-01_Open-Bio-comment-on-UNEP-report-FINAL-short.pdf)
- Organización de las Naciones Unidas. (15 de Marzo de 2019). *Compromiso mundial para reducir los plásticos de un solo uso*. Noticias ONU Web site: <https://news.un.org/es/story/2019/03/1452961>

- Parker, L. (07 de junio de 2019). *The world's plastic pollution crisis explained*. National Geographic: <https://www.nationalgeographic.com/environment/article/plastic-pollution>
- Pasternak, G., Zviely, D., Ribic, C., Ariel, A., & Spanier, E. (2017). Sources, composition and spatial distribution of marine debris along the Mediterranean coast of Israel. *Marine Pollution Bulletin*, *114*(2), 1036-1045. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.11.023>
- Paz-Zarza, V., Mangwani-Mordani, S., Martínez-Maldonado, A., Álvarez-Hernández, D., Solano-Gálvez, S., & Vázquez-López, R. (2019). Pseudomonas aeruginosa: patogenicidad y resistencia antimicrobiana en la infección urinaria. *Revista chilena de infectología*, *36*(2), 180-189. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182019000200180>
- Posada, B. (2012). La degradación de los plásticos. *Revista Universidad EAFIT*, *30*(94), 67-86. <https://publicaciones.eafit.edu.co/index.php/revista-universidad-eafit/article/view/1408>
- Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. (2021). De la contaminación a la solución: Una evaluación global de la basura marina y la contaminación por plásticos. Síntesis. Nairobi. [https://wedocs.unep.org/bitstream/handle/20.500.11822/36965/POLSOLSum\\_SP.pdf](https://wedocs.unep.org/bitstream/handle/20.500.11822/36965/POLSOLSum_SP.pdf)
- Purca, S., & Henostroza, A. (2017). Presencia de microplásticos en cuatro playas arenosas de Perú. *Revista Peruana de Biología*, *24*(1), 101-106. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v24i1.12724>
- Real Academia Española. (2021). *Eficiencia*. Diccionario de la Lengua Española: <https://dle.rae.es/eficiencia>

- Richardson, K., Asmutis-Silvia, R., Drinkwin, J., Gilardi, K., Giskes, I., Jones, G., . . . Hogan, E. (2019). Building evidence around ghost gear: Global trends and analysis for sustainable solutions at scale. *Marine Pollution Bulletin*, 138, 222-229. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.12.010>
- Ruíz, L. (2007). "Pseudomonas aeruginosa": Aportación al conocimiento de su estructura y al de los mecanismos que contribuyen a su resistencia a los antimicrobianos [Tesis doctoral, Universidad de Barcelona]. Repositorio Cooperativo TDX. <https://www.tesisenred.net/handle/10803/2521#page=1>
- Ruiz, L. (2007). Pseudomonas aeruginosa: Aportación al conocimiento de su estructura y al de los mecanismos que contribuyen a su resistencia a los antimicrobianos [Tesis doctoral: Universidad de Barcelona]. Repositorio cooperativo de tesis doctorales en Xarxa. [https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/2521/LRM\\_TESIS.pdf?se](https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/2521/LRM_TESIS.pdf?se)
- Santillán, M. (27 de Julio de 2018). *Una vida de plástico*. Ciencia Universidad Nacional Autónoma de México: <http://ciencia.unam.mx/leer/766/una-vida-de-plastico>
- SINIA. (2021). *Estadística Ambiental. Residuos. Generación total de residuos sólidos municipales*. <https://sinia.minam.gob.pe/informacion/estadisticas>
- Symphony Environmental Ltd. (2023). *d2w. Better for the Environment*. Symphony Environmental Web site: <https://www.symphonyenvironmental.com/>
- Symphony Environmental Ltd. (2018). Información D2w. Reporte especial. <https://degradable.com.pe/wp-content/uploads/2018/06/INFORMACION-D2W.pdf>
- Symphony Environmental LTd. (27 de junio de 2022). *Es oficial: d2w no es un plástico oxo-degradable y no crea microplásticos*. <https://www.symphonyenvironmental.com/its-official-d2w-is-not-an-oxo-degradable-plastic-and-does-not-create-microplastics/>

The Biodegradable Plastics Association. (5 de Setiembre de 2023). *Why Biodegradable?* BPA

Web site: <https://www.biodeg.org/wp-content/uploads/2023/04/Why-Biodegradable-5-Sept-23.pdf>

United Nations Environment Programme. (1982). *English-Russian Glossary of Selected Terms*

*in Preventive Toxicology: Interim Document*. United Nations Environment Programme - UNEP. <https://wedocs.unep.org/20.500.11822/29624>

United States Biological. (s.f.). *Nutrient Broth (Powder)*. US Biological Life Sciences Web

site: <https://www.usbio.net/protocols/nutrient-broth#:~:text=Nutrient%20Broth%20is%20a%20basic,and%20other%20organic%20nitrogen%20compounds.>

Vectors Market. (13 de Abril de 2017). Flask [Clip Art]. [https://thenounproject.com/icon/flask-](https://thenounproject.com/icon/flask-1003978/)

1003978/

Vectorstall. (5 de Enero de 2021). Plastic [Clip art]. <https://thenounproject.com/vectorstall/>

Viršek, M., Lovšin, M., Koren, Š., Kržan, A., & Peterlin, M. (2017). Microplastics as a vector

for the transport of the bacterial fish pathogen species *Aeromonas salmonicida*. *Marine Pollution Bulletin*, 125(1-2), 301-309. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.08.024>

Wilkes, R., & Aristilde, L. (2017). Degradation and metabolism of synthetic plastics and

associated products by *Pseudomonas* sp.: capabilities and challenges. *Journal of Applied Microbiology*, 123(3), 582-593. <https://doi.org/10.1111/jam.13472>

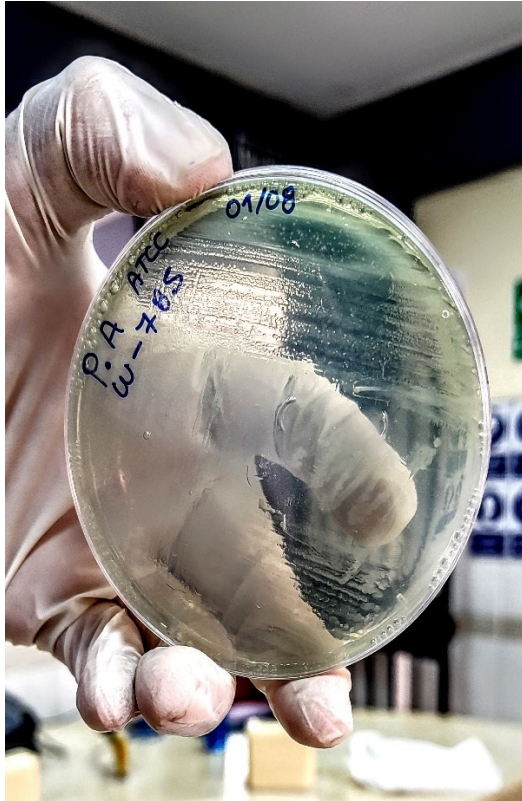
IX. ANEXOS

ANEXO A. MATRIZ DE CONSISTENCIA

PROBLEMA	OBJETIVO	HIPÓTESIS	VARIABLE	INDICADOR	MÉTODO	ESTADÍSTICA
<p><b>PROBLEMA GENERAL:</b> ¿Cuál es el comportamiento de biodegradación de plásticos oxobiodegradables ante la acción de <i>P. aeruginosa</i> para estimar la persistencia ambiental de dicho polímero frente al plástico LDPE, a nivel de laboratorio, 2023?</p> <p><b>PROBLEMA ESPECÍFICO 1:</b> ¿La bacteria <i>P. aeruginosa</i>, adquirida comercialmente, presentará características metabólicas propias de la especie que coadyuven a la estimación de la persistencia ambiental del plástico oxobiodegradable frente al plástico LDPE, a nivel de laboratorio?</p> <p><b>PROBLEMA ESPECÍFICO 2:</b> ¿Cómo inciden las condiciones de pH y temperatura en la eficiencia de biodegradación de plásticos oxobiodegradables por <i>P. aeruginosa</i> para estimar la persistencia ambiental de dicho polímero frente al plástico LDPE, a nivel de laboratorio?</p> <p><b>PROBLEMA ESPECÍFICO 3:</b> ¿Cuál es la eficiencia de biodegradación de plásticos oxobiodegradables bajo la acción de <i>P. aeruginosa</i> para estimar la persistencia ambiental de dicho polímero frente al plástico LDPE, a nivel de laboratorio?</p>	<p><b>OBJETIVO GENERAL:</b> Evaluar el comportamiento de biodegradación de plásticos oxobiodegradables ante la acción bacteriana de <i>P. aeruginosa</i>, para estimar la persistencia ambiental de dicho polímero frente al plástico LDPE, a nivel de laboratorio, 2023.</p> <p><b>OBJETIVO ESPECÍFICO 1:</b> Validar las características metabólicas propias de la especie bacteriana <i>P. aeruginosa</i>, adquirida comercialmente, mediante pruebas bioquímicas, que coadyuve a la estimación de la persistencia ambiental de los plásticos oxobiodegradables frente al plástico LDPE, a nivel de laboratorio.</p> <p><b>OBJETIVO ESPECÍFICO 2:</b> Analizar la incidencia de las condiciones de pH y temperatura en la eficiencia de biodegradación de plásticos oxobiodegradables por <i>P. aeruginosa</i>, estadísticamente, para estimar la persistencia ambiental de dicho polímero frente al plástico LDPE, a nivel de laboratorio.</p> <p><b>OBJETIVO ESPECÍFICO 3:</b> Determinar la eficiencia de biodegradación de plásticos oxobiodegradables bajo la acción de <i>P. aeruginosa</i>, mediante la pérdida de pesos, para estimar la persistencia ambiental de dicho polímero frente al plástico LDPE, a nivel de laboratorio.</p>	<p><b>HIPÓTESIS GENERAL:</b> La biodegradación de plásticos oxobiodegradables ante la acción bacteriana de <i>P. aeruginosa</i> refleja un comportamiento decreciente significativo en el tiempo para estimar la persistencia ambiental de dicho polímero frente al plástico LDPE, a nivel de laboratorio, 2023.</p> <p><b>HIPÓTESIS ESPECÍFICA 1:</b> La bacteria <i>P. aeruginosa</i>, adquirida comercialmente, presenta características metabólicas propias de la especie que coadyuve a la estimación de la persistencia ambiental de plásticos oxobiodegradables frente al plástico LDPE, a nivel de laboratorio.</p> <p><b>HIPÓTESIS ESPECÍFICA 2:</b> La eficiencia de biodegradación de plásticos oxobiodegradables por <i>P. aeruginosa</i> se merma en un medio ácido y a temperatura ambiente (20°C), para estimar la persistencia ambiental de dicho polímero frente al plástico LDPE, a nivel de laboratorio.</p> <p><b>HIPÓTESIS ESPECÍFICA 3:</b> La tasa de biodegradación de plásticos oxobiodegradables mediante la acción bacteriana de <i>P. aeruginosa</i> es mayor al 50%, para estimar la persistencia ambiental de dicho polímero frente al plástico LDPE, a nivel de laboratorio.</p>	<p><b>VARIABLE DEPENDIENTE:</b> Comportamiento de biodegradación de plásticos oxobiodegradables</p> <p><b>VARIABLE INDEPENDIENTE:</b> Ataque bacteriano de <i>Pseudomona aeruginosa</i></p>	<p>Peso inicial Peso final % biodegradación Biodegradación total</p> <p>Tiempo de exposición Temperatura pH</p>	<p>Gravimetría Estimación por modelos matemáticos</p> <p>Tiras de pH Ficha de recolección de datos</p>	<p>Prueba en SPSS. Diseño factorial de efectos fijos, modelo ANOVA. Modelo de tendencia de datos de biodegradación.</p>



## ANEXO B. PANEL FOTOGRÁFICO



**Fotografía 1.** Adquisición comercial de cepa *P. aeruginosa* ATCC W-785.



**Fotografía 2.** Preparación de medios de cultivo selectivos y no selectivos.



**Fotografía 3.** Autoclavado de materiales a emplear.



**Fotografía 4.** Siembra y crioconservación de *P. aeruginosa* en tubo Eppendorf.



**Fotografía 5.** Medio de cultivo selectivo Agar Cetrimide esterilizado.



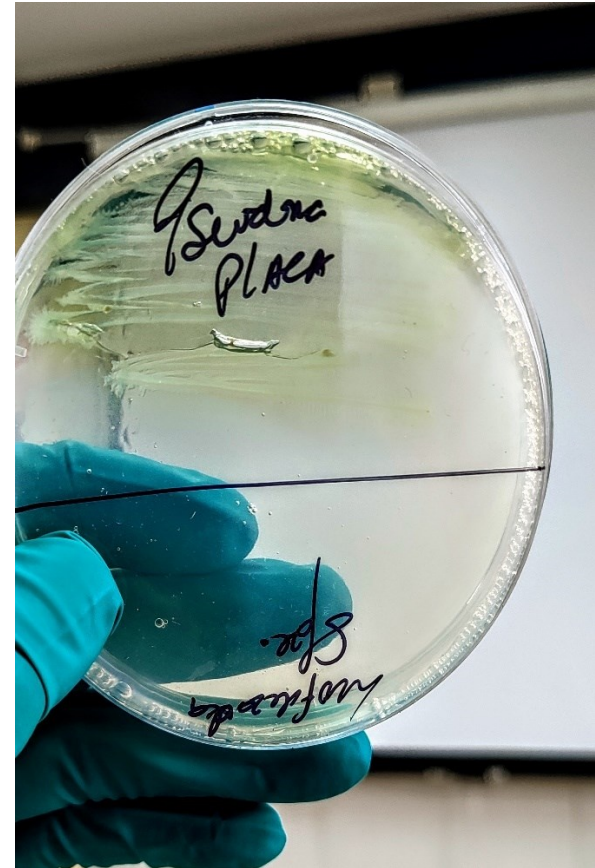
**Fotografía 6.** Fragmentos de plástico D2W (OXO) y LDPE (Blanco Muestral).



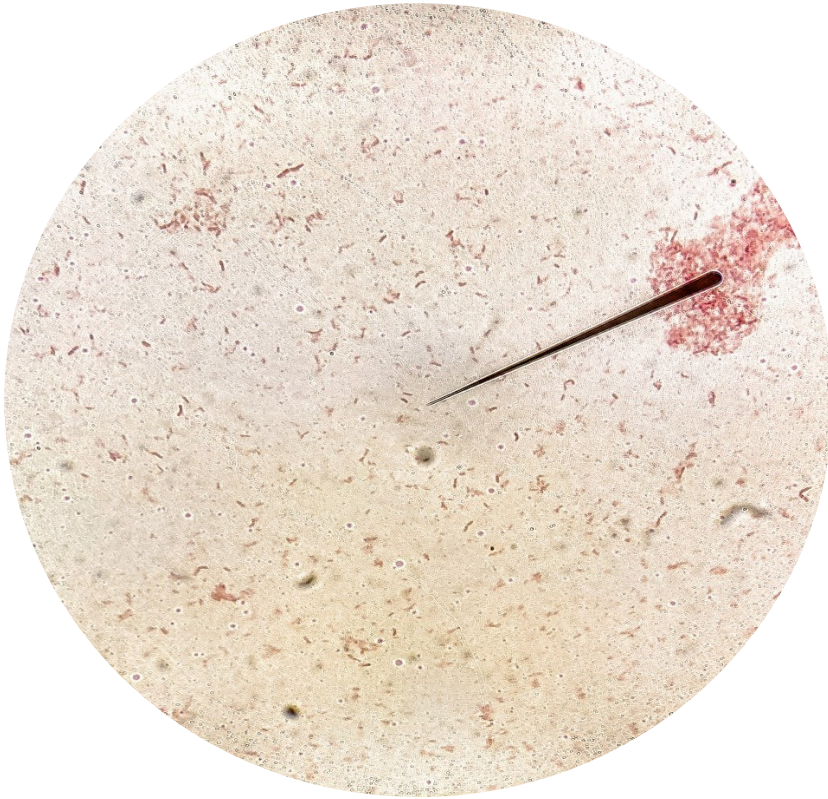
**Fotografía 7.** Acondicionamiento de fragmentos muestrales.



**Fotografía 8.** Preparación de cepa crioconservada para la siembra en AC.



**Fotografía 9.** Crecimiento de *P. aeruginosa* extraída de placa Petri principal vs Tubo Eppendorf.



**Fotografía 10.** Prueba de Gram para *P. aeruginosa*. Aguja de microscopio óptico señalando los bacilos gran negativos característicos de la especie bacteriana



**Fotografía 11.** Acción de *P. aeruginosa* en muestras de plástico oxobiodegradable.



**Fotografía 12.** Efectos bacterianos en caldo nutritivo con las muestras de plástico oxobiodegradable a 20°C y 37°C.

**Fotografía 13.** Efectos bacterianos en caldo nutritivo con las muestras de plástico LDPE a 20°C y 37°C.

ANEXO C. FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Fecha	°C	pH	Muestra OXO-PE	Peso inicial (mg)	Peso Final (mg)	Blanco microbiológico	Peso inicial (mg)	Peso Final (mg)	Blanco muestral LDPE	Peso inicial (mg)	Peso Final (mg)	Blanco microbiológico muestral LDPE	Peso inicial (mg)	Peso Final (mg)
	20	5	OXOT1P1			B-OXOT1P1			LDPET1P1			B-LDPET1P1		
		7	OXOT1P2			B-OXOT1P2			LDPET1P2			B-LDPET1P2		
	37	5	OXOT2P1			B-OXOT2P1			LDPET2P1			B-LDPET2P1		
		7	OXOT2P2			B-OXOT2P2			LDPET2P2			B-LDPET2P2		

Nota. OXO = Plástico oxobiodegradable; LDPE = Plástico polietileno de baja densidad. T1 = Temperatura a 20°C; T2 = Temperatura a 37°C; P1 = pH 5; P2 = pH

*MARIBEL DENISE RIVEROS RAMIREZ*  
 MARIBEL DENISE RIVEROS RAMIREZ  
 CBP. 9945

*F. B. Valderrama O.*  
 CIP: 160959

COLECCION DE INGENIEROS DEL PERU  
 CONSEJO DEPARTAMENTAL DEL CALLAO  
 AHUBER OMAR YASQUEZ ARANDA  
 CIP. N° 82507  
 INGENIERO GEOGRAFO