

DEGRADACIÓN DE POLIETILENO DE BAJA DENSIDAD POR *Fusarium solani*

LOW DENSITY POLYETHYLENE DEGRADATION BY *Fusarium solani*

Reyna I. Ortega¹ e Ismael Acosta²

(1) Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Ciencias, Campus Pedregal, Av. Parque Chapultepec No. 1570, 78210. San Luis Potosí, SLP - México

(2) Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Ciencias Químicas, Laboratorio de Micología Experimental, Av. Dr. Manuel Nava No. 6, Zona Universitaria, 78320. San Luis Potosí, SLP - México
(e-mail: iacosta@uaslp.mx)

Recibido: 08/02/2021 - Evaluado: 04/03/2021 - Aceptado: 30/03/2021

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue determinar la capacidad de biodegradación de polietileno de baja densidad por el hongo *Fusarium solani*, durante 6 meses en condiciones estáticas, a 28°C, pH 6.5, determinando el crecimiento del hongo por la producción de proteína extracelular (164, 193.4 y 262.8 mg/mL) y peso seco (328, 348 y 451 mg), y el peso biodegradado del sustrato (4.5%, 7.8% y 9%). También se analizó la producción de las enzimas lacasa y esterasa extracelulares, obteniendo una actividad de lacasa de 2.66, 2.75 y 2.86 U/mL, y de esterasa de 1.46, 1.89 y 2.0 U/mL, mientras que en el control sin sustrato no se observó actividad enzimática. Además, se analizaron algunas características de las actividades enzimáticas extracelulares, como la estabilidad a 4°C y 28°C, pH y temperatura óptimos, el efecto de la concentración de proteína y sustrato.

ABSTRACT

The objective of this work was to determine the degradation capacity of low density polyethylene by the fungus *Fusarium solani*, for 6 months under static conditions at 28°C, pH 6.5, determining the growth of the fungus by the production of extracellular protein (164, 193.4, and 262.8 mg/mL), and dry weight (328, 348, and 451 mg), and the biodegraded weight of the substrate (4.5%, 7.8%, and 9%). The production of extracellular laccase and esterase enzymes was also analyzed, obtaining laccase activities of 2.66, 2.75 and 2.86 U/mL, and esterase activities of 1.46, 1.89 and 2.0 U/mL, while no enzymatic activity was observed in the control without substrate. In addition, some characteristics of the extracellular enzymatic activities were analyzed, such as stability at 4°C and 28°C, optimal pH and temperature, and the effect of protein and substrate concentration.

Palabras clave: hongo, polietileno, biodegradación, enzimas extracelulares

Key words: fungus, polyethylene, biodegradation, extracellular enzymes

INTRODUCCIÓN

Los plásticos son materiales orgánicos que se obtienen por medio de reacciones químicas utilizando diferentes materias primas sintéticas y/o naturales, y son parte de un grupo de compuestos denominados polímeros. Inicialmente, se fabricaban utilizando polímeros y resinas vegetales, como la celulosa de algodón, furfural de la cáscara de *Avena sativa*, aceite de semillas y caseína de la leche, y el primer plástico totalmente sintético fue la baquelita (1907), con el objeto de sustituir el uso de productos naturales, así como de obtener un producto sencillo, económico, duro y estético, para reemplazar otros productos naturales y de difícil obtención (Cornejo Reyes *et al.*, 2020). En el año 2017, la producción mundial de plásticos fue de 348 millones de toneladas, siendo los principales productores: Asia (50.1%, con China como la mayor productora con 29.4%), Europa (18.5%), Norteamérica (México, Estados Unidos y Canadá, 17.7%), África y Oriente Medio (7.1%), América Latina (4%), y la comunidad de Estados Independientes (ex-Repúblicas Soviéticas, 2.6%) (Martínez Arroyo *et al.*, 2020), por lo que actualmente, estos productos son una de las mayores preocupaciones mundiales por la gran cantidad de problemas ambientales que causan, debido principalmente a su consumo desmedido, los cuales al ser eliminados, se convierten en residuos muy difíciles de eliminar. Por ejemplo, para las bebidas embotelladas se producen 500 mil millones de toneladas de botellas plásticas por año (Lavayen Villamar, 2021), y se ha descrito que la ciudad de México, "es un gran cuerpo con venas atascadas de plástico", pues los aproximadamente 22 millones de habitantes, cada día producen casi 13 000 toneladas de residuos sólidos, de las cuales 123 toneladas son residuos plásticos (Durán Moreno *et al.*, 2013; Martínez Arroyo *et al.*, 2020) y, debido a su mal manejo, así como la costumbre de desecharlos en calles, jardines, alcantarillas, etc., ocasionan una obstrucción del drenaje, ocasionando inundaciones y otros problemas en la ciudad, por lo que su uso a nivel mundial ya es insostenible, debiendo disminuir el uso del plástico en la vida diaria, y también tratar de reutilizarlo (Martínez Arroyo, *et al.*, 2020), además de que el uso de envases de plástico por lo general es de un solo uso (Sánchez Durán, 2020).

Actualmente, los plásticos son muy utilizados debido a sus múltiples aplicaciones, siendo el polietileno el plástico más utilizado, y del cual se han reportado dos tipos: los de alta densidad y los de baja densidad, los cuales tienen una gran demanda a nivel mundial para la producción de bolsas plásticas que sirven como envase de alimentos y artículos de toda clase, lo que conduce a la acumulación excesiva de estos plásticos en el mundo (Martínez Arroyo, *et al.*, 2020). Además, se utilizan en la fabricación de contenedores (botellas y basureros) (Álvarez Estepa & Botache Laguna, 2020), embalajes como bolsas, membranas, láminas y películas (Gutiérrez Álvarez, 2019), y otros productos tan variados como envolturas, tuberías y articulaciones para prótesis de cadera, por lo que es muy común observar desechos plásticos en cualquier lugar del mundo (Rivera Garibay *et al.*, 2020; Cornejo Reyes *et al.*, 2020), ya que éstos pueden permanecer en la naturaleza entre cientos y miles de años (Andrady, 2017; Martínez Arroyo *et al.*, 2020), por lo que hoy los desechos plásticos son una grave amenaza a escala mundial (Barboza *et al.*, 2019). Diferentes investigaciones han documentado ampliamente el gran impacto negativo de la contaminación que estos productos provocan en el mundo (Hemavathi *et al.*, 2019; González Alcos, 2020), por ejemplo: más de trece millones de toneladas de plástico van a parar a nuestros océanos (Geyer *et al.*, 2017), en México uno de cada cinco pescados para consumo humano, contiene en sus vísceras microplásticos, lo que afecta la salud de las personas y las fuentes de trabajo relacionadas con la pesca y el turismo (Greenpeace México, 2019), además, las nanopartículas de PET interactúan con el ion calcio afectando la función de contracción/relajación de tejido, lo que podría afectar el funcionamiento del intestino de roedores (Venegas Guerrero, 2021). También, se ha reportado la contaminación por plástico en áreas naturales protegidas mexicanas, lo que demuestra que este tipo de contaminación está presente en La República Mexicana más allá de los tiraderos clandestinos, la basura arrojada en las calles y los rellenos sanitarios repletos de productos que supuestamente deben ser reciclados (Rivera Garibay *et al.*, 2020). Lo anterior, indica que nuestras decisiones de consumo repercuten en los sitios más limpios, recónditos y protegidos del planeta, y como es evidente, la contaminación por plásticos en nuestro planeta afecta negativamente la biodiversidad y obstaculiza la principal estrategia de conservación de los servicios ecosistémicos (Rivera Garibay *et al.*, 2020).

Por otra parte, se han reportado diferentes métodos de degradación de los plásticos de baja densidad, los cuales pueden ser físicos, químicos y biológicos. Entre los físicos están: la foto-degradación y la termodegradación, y de

los químicos la oxo-degradación (Yepes Aguirre, 2014; De la Cruz Orihuela & Arone Valencia, 2020). También, se ha utilizado la separación de microplásticos por densidad mediante la aplicación de procesos fisicoquímicos con cloruro de zinc en aguas residuales recolectadas de las descargas públicas del sistema de alcantarillado de la ciudad de Riobamba (Ecuador) (Barros Barreno, 2021). Pero, la biodegradación, es el método que se está utilizando más exhaustivamente para su eliminación, por medio de microorganismos que lo degradan utilizando enzimas, aunque esta degradación se lleva a cabo muy lentamente (Dey *et al.*, 2012; González Alcos, 2020). Por lo que, actualmente, se está investigando ampliamente el uso de una gran variedad de microorganismos para la degradación de este tipo de contaminante, como: La biodegradación de plástico y polipropileno con larvas del Coleóptero *Tenebrio molitor* (Álvarez Estepa & Botache Laguna, 2020; Yang *et al.*, 2020), el hongo *Aspergillus flavus* aislado de productos elaborados con polietileno obtenidos de relleno sanitario (Méndez *et al.*, 2007), *A. niger* aislado de plástico de vertedero de residuos (Mathur *et al.*, 2011), en presencia de humus y compostaje doméstico (Calcetero Moreno & Mancera Hernández, 2021) y a partir de una naranja en estado de descomposición (Torres Herrera, 2020), las bacterias *Bacillus cereus* y *Aeromonas hydrophila* y los hongos *Penicillium* sp., y *Aspergillus* sp., aislados de rellenos sanitarios (Castro Velasco & Avendaño Toledo, 2020), la biodegradación de polietileno de baja densidad por hongos y consorcios bacterianos aislados de basureros municipales (Gutiérrez Álvarez, 2019), la biodegradación de poliestireno, PET y perlas de plástico de sulfuro de polifenilo por *Pseudomonas* sp., *P. aeruginosa* y *Tichoderma* spp. (Condori Álvarez, 2020; Bermúdez Morera, 2021; Li *et al.*, 2020b), la degradación de polímeros de interés industrial utilizando una mezcla de *P. aeruginosa*, *Cladosporium* sp., y *Alternaria* sp. (Muñoz Inostrosa, 2014), *Nectria haematococca*, *Penicillium viridicatum* y *Penicillium ochrochloron*, aislados de suelo arenoso y abono (Cosgrove *et al.*, 2010), los hongos filamentosos *Neurospora sitophila*, *Fusarium culmorum*, *Trichoderma atroviride*, *Hypocrea lixii* y *T. harzianum*, aislados de residuos de pulpa mixta en una instalación de reciclaje de papel (Aguilar Alvarado *et al.*, 2015), *F. culmorum* de la colección de cultivos del Centro de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Tlaxcala (Ahuactzin Pérez *et al.*, 2016), dos cepas de *Pestalotiopsis microspora*, aislados de tallos de plantas, que crecen en poliuretano como única fuente de carbono (Russell *et al.*, 2011), el macromiceto *Lentinula edodes* de la colección del COLPOS-Puebla, México, el cual crece en medios de cultivo que contienen di(2-ethylhexyl) ftalato, que es una sustancia utilizada para hacer los plásticos más flexibles (González-Márquez *et al.*, 2015), la capacidad biodegradativa de cinco hongos filamentosos frente al polietileno (González Alcos, 2020), la biodegradación de polietileno de baja densidad por un consorcio microbiano (De la Cruz Orihuela & Arone Valencia, 2020), la degradación de polietileno de alta densidad de desechos marinos por *Aspergillus tubingensis* y *A. flavus* (Devi *et al.*, 2020), la biodegradación de polietileno de baja densidad por *Microbulbifer hydrolyticus* IRE-31 (Li *et al.*, 2020a), la biodegradación de películas plásticas de cloruro de polivinilo por un consorcio marino (Giacomucci *et al.*, 2020) así como la degradación de plástico por bacterias ambientales en Noruega (Charnock, 2021).

También, se han estudiado algunas enzimas que aparentemente participan en la degradación del polietileno, sobre todo las esterases, las cuales se han sugerido como las principales actividades enzimáticas implicadas en la degradación de poliuretano. Estas enzimas, hidrolizan los enlaces éster, provocando la liberación de grupos terminales de ácidos carboxílicos y alcohólicos (Liu *et al.*, 2021); se ha descrito la actividad de esterasa de *Pseudomonas* sp., que degrada poliuretano y polietileno de baja densidad (Roy *et al.*, 2021), la actividad de esterases fúngicas sobre la degradación de poliésteres (Weinberger *et al.*, 2020), una esterasa de *Sphingobium* sp., C3 que degrada dimetil tereftalato (Cheng *et al.*, 2020), dos actividades enzimáticas de esterasa y ftalato hidrolasa de *Gordonia* sp., que degradan esteroides de ftalato (Huang *et al.*, 2019), una esterasa bacteriana que degrada esteroides de ftalato de agua y otras muestras ambientales (Jayshree & Vasudevan, 2019). También, se ha reportado la actividad de lacasas y esterases producidas por *F. culmorum* crecido en presencia de diferentes concentraciones de di(2-etil hexil) ftalato y de Tween 80 (Ahuactzin Pérez *et al.*, 2016; Ferrer-Parra *et al.*, 2018; Medina Flores *et al.*, 2020), la degradación de poliuretano por las enzimas esterasa, proteasa y ureasa de *Alicyclophilus* sp. (Oceguera-Cervantes *et al.*, 2007), la producción de esterasa en presencia de poliuretano por las bacterias *Bacillus* sp., AF8, *Pseudomonas* sp., AF9, *Micrococcus* sp., *Arthrobacter* sp., AF11, y *Corynebacterium* sp., AF12 (Shah *et al.*, 2008), las actividades de lacasa y esterasa en medios de cultivo con diferentes concentraciones de di(2-etil hexil) ftalato por los aislados fúngicos de *N. sitophila*, *F. culmorum*, *T.*

atroviride, *H. lixii* y *T. harzianum* (Aguilar Alvarado *et al.*, 2015), el efecto del pH en la producción de esterasa en presencia de di(2-etil hexil) ftalato por el hongo *F. culmorum* en fermentación sumergida (Portillo Ojeda *et al.*, 2020), la degradación de plástico con esterases de bacterias ambientales en Noruega (Charnock, 2021), una actividad enzimática de PETasa de la bacteria *Ideonella sakaiensis* (Garcés Cifuentes 2021;), dos poliuretanasas de *Pseudomonas* que degradan poliuretano (Petri do Canto *et al.*, 2021), una lipasa de *Candida rugosa*, que degrada poliuretano comercial en medio acuoso bajo diferentes condiciones (Gautam *et al.*, 2007), una serina hidrolasa que degrada poliuretano de *P. microspora* (Russell *et al.*, 2011), las actividades de lacasa y esterasa intra y extracelulares en *Lentinula edodes* (González-Márquez *et al.*, 2015), una poliuretanasas-lipasa de *Bacillus subtilis*, que crece en el mismo como sustrato (Rowe & Howard, 2002), las actividades enzimáticas de ureasa, proteasa, esterasa y lacasa de los hongos de los géneros *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Alternaria* y *Fusarium* (Loredo-Treviño *et al.*, 2011) y el tratamiento de poli (etilen) tereftalato con cutinasas de *Pseudomonas mendocina*, *F. solani* y *Thermobifida fusca* (Peña Montes, 2018), así como hidrolasas, lipasas y cutinasas de diferentes microorganismos que degradan plástico (Soriano Ortega, 2020).

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de degradación de polietileno de baja densidad proveniente de bolsas comerciales por el hongo *Fusarium solani*, así como analizar algunas propiedades enzimáticas

MATERIALES Y MÉTODOS

Cepa utilizada

Ésta fue obtenida del cepario del Laboratorio de Micología Experimental de la Facultad de Ciencias Químicas de la UASLP. México, la cual se resembró y conservó en Agar Sabouraud Dextrosa a 4°C.

Medio de cultivo para la degradación de polietileno de baja densidad

Este medio contiene (g/L): Glucosa (10), extracto de levadura (5), KH_2PO_4 (0.6), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.5), K_2HPO_4 (0.4), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0.25), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.05), MnSO_4 (0.05) y $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.001) y 400 μL de Tween 80. El medio se ajustó a un pH final de 6.5 con HCl 0.1 M y/o NaOH 0.1 M (Ahuactzin-Pérez *et al.*, 2016). Posteriormente, se adicionaron 50 mL a matraces Erlenmeyer de 125 mL, así como un fragmento de plástico desinfectado y de peso seco conocido (cuadritos de bolsa polietileno de 1 cm^2), y se esterilizaron por calor húmedo a 15 libras (121°C) durante 20 minutos. Posteriormente, se enfriaron a temperatura ambiente, sembrando por triplicado 1×10^6 células/mL, e incubando por 6 meses a temperatura ambiente en condiciones estáticas, monitoreando su crecimiento visualmente cada semana, y adicionando cada 3 semanas medio de cultivo nuevo en condiciones estériles.

Crecimiento del hongo por peso seco

Después de 6 meses de incubación en condiciones estáticas, el sobrenadante del cultivo del hongo se cosechó en un tubo graduado, previamente pesado y se centrifugó a 3000 rpm/10 min, desechando el sobrenadante. El paquete celular se secó a 80°C, durante 24 h, y se pesó el tubo, determinando por diferencia el peso seco de la muestra, comparando el crecimiento con un control crecido en las mismas condiciones sin la adición del fragmento de polietileno de baja densidad. Todos los experimentos se realizaron mínimo 3 veces por duplicado.

Peso seco del polietileno de baja densidad

Después del periodo de incubación, se tomaron con unas pinzas quirúrgicas las muestras de polietileno de baja densidad, y se colocaron en cajas de Petri previamente taradas, se lavaron con dodecil sulfato de sodio al 2% (v/v) durante 24 horas, posteriormente con etanol (70%) y agua tridesionizada, y se secaron a 60°C durante 24 horas, se pesaron y por diferencia de peso, se determinó el peso biodegradado y el porcentaje de biodegradación de la de la muestra según las siguientes fórmulas:

- 1) Biodegradabilidad del peso final de la muestra de polietileno de baja densidad se determinó en miligramos, a los 6 meses de incubación a 28°C, pH 6.5 en condiciones estáticas por la acción del hongo *F. solani*, utilizando la siguiente fórmula:

Peso biodegradado de la muestra = peso inicial - peso final

- 2) Después de la obtención del peso biodegradado de la diferencia del peso inicial menos el peso final, éste se convirtió a porcentaje, mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Pérdida de peso (\%)} = \frac{\text{peso inicial} - \text{peso final}}{\text{Peso inicial}} \times 100$$

Determinación de proteína.

Ésta se determinó por el método de Lowry *et al.* (1951), el cual se basa en la formación de un complejo de cobre y los grupos NH en medio básico, reduciendo con el reactivo de Folin-Ciocalteu, formando un complejo azul oscuro, el cual se lee a 750 nm.

Determinación de las actividades enzimáticas

Las actividades enzimáticas se determinaron espectrofotométricamente en el sobrenadante de los cultivos, obtenido de la filtración de las muestras.

Lacasa

La mezcla de reacción contenía 900 µL de 2,6-dimetoxifenol 2 mM como sustrato (Sigma Chemical Company), en regulador de acetatos 0.1 M pH 4.5, y 100 µL del extracto enzimático (sobrenadante), incubando a 40°C durante 1 minuto (Díaz *et al.*, 2013), y determinando la actividad de lacasa como el cambio en la absorbancia a una longitud de onda de 568 nm en un Espectrofotómetro de luz UV-Visible (Shimadzu modelo 160-A), usando como referencia un blanco preparado con agua tridesionizada de acuerdo al procedimiento anterior. Una unidad de actividad de lacasa se definió como la cantidad de enzima que produce un incremento de una unidad de absorbancia por minuto en la mezcla de reacción (Córdoba-Sosa *et al.*, 2014). Los resultados se expresan como el promedio de 3 determinaciones independientes.

Esterasa

La mezcla de reacción contenía 10 µL de p-nitrofenilbutirato [1.76% (v/v)] (Sigma Chemical Company) en acetonitrilo, 790 µL de regulador de acetatos 50 mM pH 7.0, Triton X-100 0.04% (v/v) y 100 µL del extracto enzimático (sobrenadante), incubando a 37°C durante 5 minutos (Alves-Macedo & Fontes-Pio, 2005), y determinando la actividad de esterasa como el cambio en la absorbancia a una longitud de onda de 405 nm en un Espectrofotómetro de luz UV-Visible (Shimadzu modelo 160-A), usando como referencia un blanco preparado con agua tridesionizada de acuerdo al procedimiento anterior. Una unidad de actividad de esterasa se definió como la cantidad de enzima que produce un incremento de una unidad de absorbancia por minuto en la mezcla de reacción (Córdoba-Sosa *et al.*, 2014). Los resultados se expresan como el promedio de 3 determinaciones independientes.

Análisis Estadístico

Los datos que se obtuvieron por triplicados fueron analizados mediante Anova de dos vías no paramétrico con corrección de Bonferroni, obteniendo la significancia de la comparación entre los grupos de datos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Inicialmente, se analizó el crecimiento del hongo en presencia de polietileno de baja densidad como sustrato, determinando el peso seco y la producción de proteína extracelular. En la Figura 1 se observa que el microorganismo tuvo un mayor crecimiento en peso seco de 2.78, 2.14 y 2.02 veces más en presencia del sustrato con respecto al control (que no tiene sustrato), a los 6 meses de incubación, pH 6.5 a 28°C, en condiciones estáticas, lo cual indica que el polietileno estimula el crecimiento del hongo. Los datos encontrados en este trabajo coinciden con algunos reportes de la literatura, en los cuales se reporta el crecimiento de diferentes microorganismos en presencia de diferentes sustratos plásticos como en el hongo *A. niger* ITCC No. 6052, el cual crece en la superficie de polietileno en medio mínimo en un mes de incubación en agitación constante (Mathur *et al.*, 2011), *Mucor sp.*, y *Aspergillus sp.*, que aumentan su crecimiento un 8.75% y 21.73% en presencia de polietileno de baja densidad a los 3 meses de incubación (Cedeño Domínguez & Merino Cordero, 2020), *P. microspora* E2712A, el cual crece 0.110 g más en presencia de poliuretano con respecto al control a las 2 semanas de incubación (Russell *et al.*, 2011), para el hongo de la podredumbre blanca *P. ostreatus*, se observó un crecimiento de 619 mg con 15 mg/L de polvo de llanta, las cuales se obtuvieron de un vertedero de residuos industriales ubicado en Cartagena, Colombia (Ramírez Cuadro & Teheran, 2017). También, *Alternaria alternata*, aislada de contenedores residuales urbanos de 5 ciudades de la V región de Chile, demostró la capacidad de crecer en diferentes tipos de plástico, sobre todo en poliuretano, cloruro de polivinilo y polietileno (Arancibia Cortés, 2014), así como un mayor crecimiento con respecto al control de *Pseudomonas sp.* (Condori Álvarez, 2020) y el crecimiento de cinco hongos filamentosos en presencia de polietileno (González Alcos, 2020).

Con respecto a la producción de proteína extracelular, se encontró un crecimiento relacionado con la producción de ésta de 1.92, 3.07 y 2.27 veces más que el control sin sustrato (Figura 2), lo cual coincide con lo reportado para el hongo *F. culmorum* que produce una gran cantidad de proteína extracelular en presencia de 20 g/L de cutina (González Márquez *et al.*, 2019), sin encontrar en la bibliografía más datos relacionados al respecto.

En la Figura 3, se observa la biodegradación del polietileno de baja densidad, con un 4.37%, 7.22% y 9.28% de biodegradación en base al peso biodegradado del sustrato, en las condiciones descritas anteriormente, resultados que coinciden con lo reportado para tres cepas del hongo *A. niger* aislado de plástico de vertedero de residuos, de una naranja en estado de descomposición, y en presencia de humus y compostaje doméstico, los cuales reducen 3.44%, 6.9% y 4.84% del peso inicial del polietileno en un mes, 10 días y un mes, respectivamente (Mathur *et al.*, 2011; Torres Herrera, 2020; Calcetero Moreno & Mancera Hernández, 2021), para *Fusarium sp.*, que biodegrada un 0.99% de polietileno de baja densidad (Espinosa Arias, 2018), para los hongos *Fusarium sp.*, *Aspergillus sp.*, *Trichoderma sp.*, y *Mucor sp.*, que reducen el peso seco del polietileno de 1.0354 a 0.9533, de 1.0244 a 0.9715, de 1.096 a 0.9873, de 1.0047 a 0.9805 gramos de peso seco, respectivamente (Cedeño Domínguez & Merino Cordero, 2020). Pero, estos resultados son ligeramente mayores a lo reportado para el 2.88% de biodegradación de polietileno de baja densidad por hongos y consorcios bacterianos aislados de basureros municipales, a los 70 días (Gutiérrez Álvarez, 2019), para el 1.61% de biodegradación de poliestireno a los 15 días por *Pseudomonas sp.* (Condori Álvarez, 2020), para *A. flavus* que biodegrada eficientemente polietileno a 30°C y 10 semanas de incubación (Méndez *et al.*, 2007), y las bacterias *P. microspora* E2712A y E3317B, que biodegradan eficientemente el poliuretano en cultivos líquidos a los 16 días de incubación (Russell *et al.*, 2011). También, los datos encontrados, son menores a lo reportado para la biodegradación del mismo sustrato por las larvas del Coleóptero *T. molitor*, las cuales biodegradan un 64% en 45 días de incubación (Álvarez Estepa & Botache Laguna, 2020), para la bacteria *Bacillus cereus* y el hongo *Penicillium sp.*, con una biodegradación del 17.91% del polietileno tereftalato, a los 4 meses, aunque éste se trató previamente con luz Uv y termodegradación (Castro Velasco & Avendaño Toledo, 2020), para *P. aeruginosa*, la cual biodegrada 21.7% y 27.3% de partículas de polietileno de baja densidad a 25°C y 35°C, respectivamente, a los 30 días de incubación (Butron Pizano, 2020), para la biodegradación de polietileno tereftalato tratado a 150°C durante 8 horas, por *P. aeruginosa* (14.4%) y *Trichoderma sp.* (13.15%) durante un período de 30-90 días (Bermúdez Morera, 2021), para la biodegradación de espuma poliestireno (12.4%) por *Acinetobacter sp.*, después de 60 días (Wang *et al.*,

2020), para la bacteria *Rhodococcus rhodochrous* LDPE, con aditivo pro-oxidante, la cual degrada un 16% de polietileno de baja densidad después de 317 días (Fontanella *et al.*, 2010), con trigo colonizado por los hongos *N. haematococca*, *P. viridicatum* y *P. ochrochloron*, aislados de suelo arenoso y abono, biodegradando el mismo sustrato entre 30% a 70%, al mes de incubación (Cosgrove *et al.*, 2010). También, para *Streptomyces coelicoflavus* NBRC 15399, se reportó una disminución del peso seco de polietileno de baja densidad del 30% a las 4 semanas de incubación (Duddu *et al.*, 2015), mientras que para *A. alternata*, aislada de contenedores residuales urbanos de 5 ciudades de la V región de Chile, se reportó una disminución de 5 gramos en el peso seco de cloruro de polivinilo y poliuretano, a los 28 días de incubación en condiciones aerobias (Arancibia Cortés, 2014).

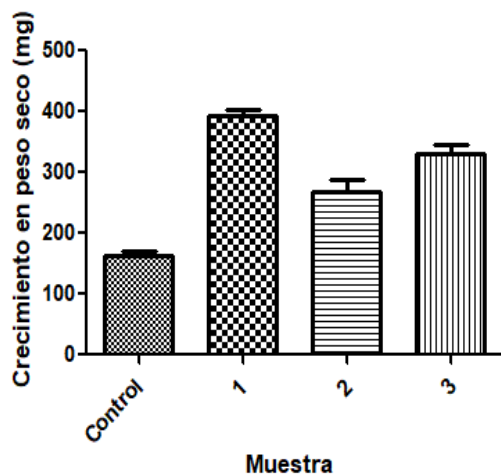


Fig. 1: Crecimiento en peso seco de *Fusarium solani* en presencia de polietileno de baja densidad. 28°C. 6 meses de incubación. Condiciones estáticas (1×10^6 células/mL). (1.- Control, 2, 3 y 4.- problemas). ($P = <0.0001$)

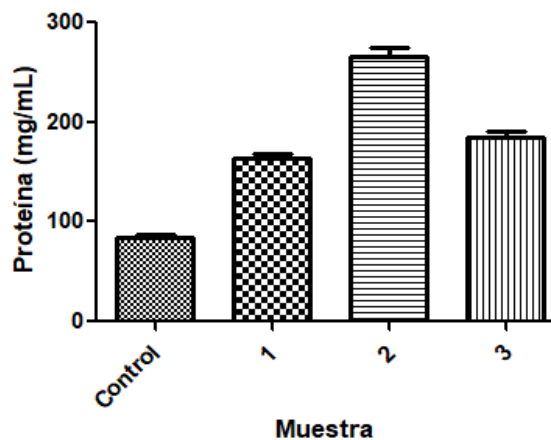


Fig. 2: Producción de proteína extracelular por *Fusarium solani* en presencia de polietileno de baja densidad. 28°C. 6 meses de incubación. Condiciones estáticas. (1×10^6 células/mL). (1.- Control, 2, 3 y 4.- problemas). ($P = <0.0001$)

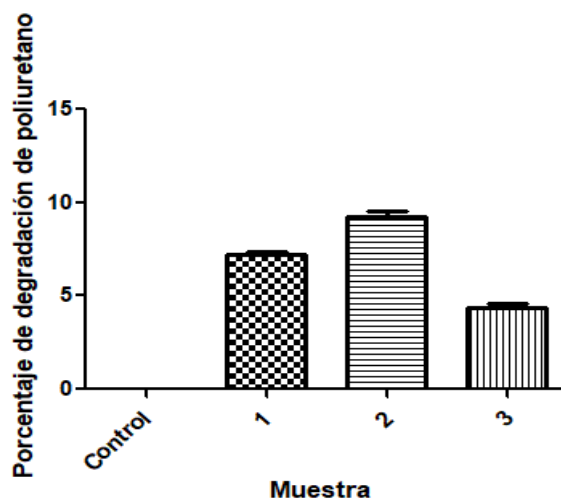


Fig. 3: Porcentaje de biodegradación de polietileno de baja densidad por *Fusarium solani* 28°C. 6 meses de incubación. Condiciones estáticas (1×10^6 células/mL). (1.- Control, 2, 3, 4.- Problemas) ($P = <0.0001$).

En las Figuras 4 y 5, se observa las actividades enzimáticas extracelulares de lacasa y esterasa producidas por el hongo en presencia de poliuretano de baja densidad, en las condiciones descritas anteriormente. Cabe mencionar que los controles sin el sustrato produjeron muy poca actividad enzimática, encontrando una actividad para lacasa de 2.66, 2.75 y 2.86 U/mL, lo cual es diferente para una lacasa de *T. viridae*, en la cual se reporta una actividad de 7.31 U/mL con poliuretano de baja densidad como sustrato (Johnnie *et al.*, 2021), mientras que para la esterasa se encontró una actividad de 1.46, 1.89 y 2.0 U/mL. Estos resultados son similares a lo reportado para 2 cepas de *Alicyclophilus* sp., en las cuales se detecta actividad enzimática de esterasa, pero no de ureasa y proteasa (Oceguera-Cervantes *et al.*, 2007), aunque son menores a los reportados para la producción de esterasa (12 U/mL) en presencia de poliuretano por las bacterias *Bacillus* sp., AF8, *Pseudomonas* sp., AF9, *Micrococcus* sp., *Arthrobacter* sp., AF11 y *Corynebacterium* sp., AF12 (Shah *et al.*, 2008), de una actividad enzimática similar de *F. culmorum*, donde se reporta un valor de 420.2 U/L en presencia de 2 g/L de di(2-etil hexil) ftalato a las 200 horas de incubación (Ferrer Parra *et al.*, 2018): también, para las mismas actividades enzimáticas de *F. Culmorum* y diferentes hongos aislados de arena contaminada con plásticos, en los cuales se reporta una mayor actividad de esterasa con di(2-etil hexil) ftalato y espuma de poliuretano como sustrato (Ahuactzin Pérez *et al.*, 2016; Loredó Treviño *et al.*, 2011).

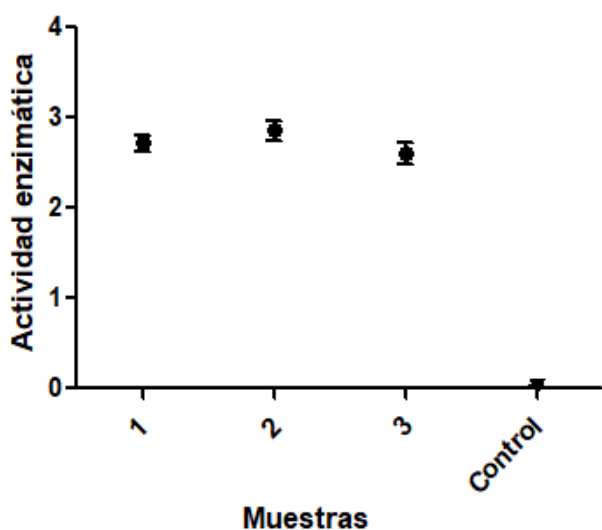


Fig. 4: Producción de lacasa extracelular por *Fusarium solani*. 28°C. 6 meses de incubación. Condiciones estáticas (1×10^6 células/mL). (1, 2 y 3.- Problemas y 4.- Control). ($p = <0.0001$)

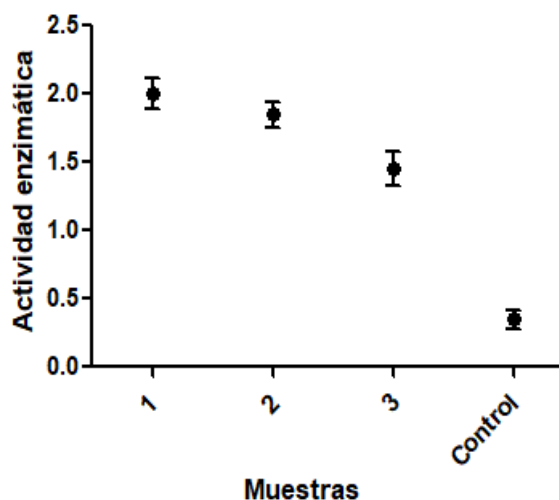


Fig. 5: Producción de esterasa extracelular por *Fusarium solani*. 28°C. 6 meses de incubación. Condiciones estáticas. (1×10^6 células/mL). (1, 2 y 3.- Problemas y 4.- Control). ($p = 0.0002$)

Posteriormente, se analizaron algunas propiedades de las actividades enzimáticas extracelulares. Para la estabilidad, se encontró que la actividad de lacasa es muy estable a 4°C y 28°C, conservando 92% y 87% de actividad remanente (Figura 6). Al respecto, para una lacasa recombinante de *Streptomyces cyaneus* CECT 3335, se ha reportado que a temperaturas de 60 a 80°C la actividad fue superior al 75 % de la máxima detectada, y después de 4 horas de incubación a 50°C-60°C, la enzima perdió un 50% de la actividad inicial (Moya Lobo, 2011) y una lacasa purificada de *Geobacillus* sp. ID17, mostró una estabilidad similar a 55°C (Atalah Zuñiga, 2017),

Por otro lado, la actividad de esterasa conserva un 70% de actividad remanente a ambas temperaturas (Figura 7). Estos resultados son similares a lo reportado para una esterasa de la bacteria *Comamonas acidovorans* TB-35, la cual es estable a 55°C durante 30 minutos, pero pierde el 85% de su actividad a 60°C (Akutsu *et al.*, 1998), para *Pseudomonas chlororaphis*, dos actividades enzimáticas son estables a 100°C durante 10 minutos (Ruiz *et al.*, 1999), en *Corynebacterium glutamicum* ATTC 13032, se ha descrito una actividad de esterasa, la cual pierde

su actividad a 60°C a los 5 minutos de incubación (Navarro González, 2012) y una carboxilesterasa de *Escherichia coli* conserva el 100% de su actividad después de 23 días a 45°C (Ding *et al.*, 2020).

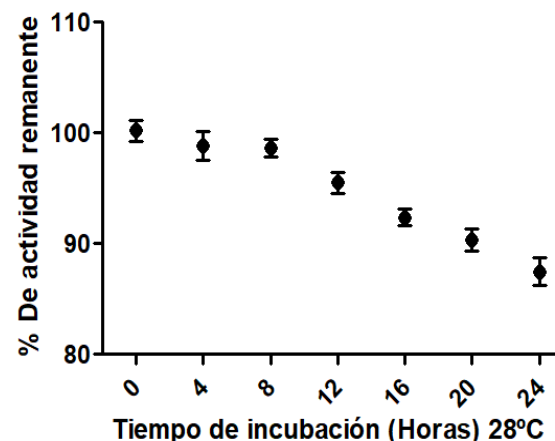
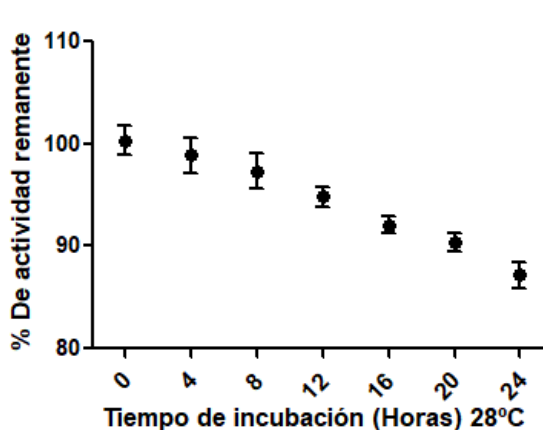
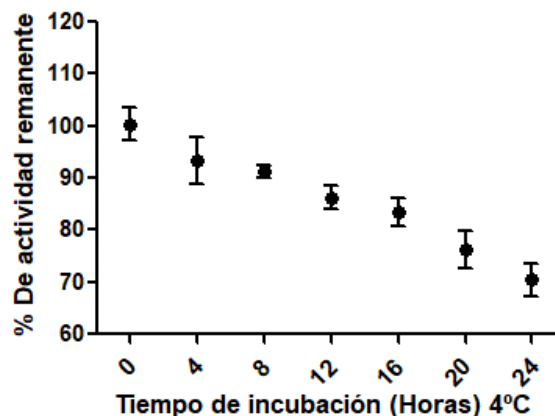
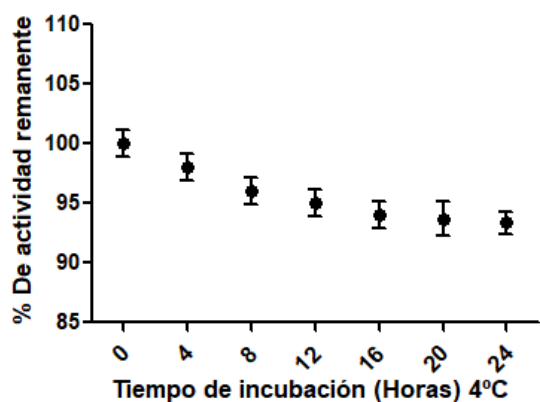


Fig. 6: Estabilidad de la actividad de lacasa extracelular de *Fusarium solani* a 4°C y 28°C. (P= <0.0001)

Fig. 7: Estabilidad de la actividad de esterasa extracelular de *Fusarium solani* a 4°C y 28°C. (P= <0.0001)

El pH más efectivo para la actividad de lacasa fue de 6.0 (Figura 8), y estos datos son diferentes para los reportados para una lacasa recombinante de *S. cyaneus* CECT 3335, la cual presenta un pH óptimo de 3.0 con 2,6-dimetoxifenol como sustrato (Moya Lobo, 2011), mientras que una lacasa purificada de *Geobacillus* sp. ID17, mostró una mayor actividad enzimática a pH 7.5 (Atalah Zuñiga, 2017) y para una lacasa de *T. viridae*, en la cual se reporta un pH óptimo de 4.0-5.0 con poliuretano de baja densidad como sustrato (Johnnie *et al.*, 2021).

Además, el pH más efectivo para la actividad de esterasa fue de 7.0 a 9.0 (Figura 9), lo cual es similar a lo reportado para la misma actividad enzimática de *C. glutamicum* ATTC 13032, la cual presenta un pH óptimo de 8.0 (Navarro-González, 2012), para una esterasa derivada de metagenomas de suelos agrícolas colombianos, con un pH óptimo de 8.0 (Villamil *et al.*, 2016), una esterasa proveniente de un ambiente extremo en Colombia, con pH alcalino (9.0) (López *et al.*, 2014), una esterasa bacteriana con un pH de 7.0 (Jayshree *et al.*, 2019), un pH de 9.0 para una carboxilesterasa de *E. coli* (Ding *et al.*, 2020), pero estos resultados son diferentes para una esterasa que degrada poliuretano de *C. acidovorans* TB-35, la cual presenta un pH óptimo de 6.5 (Akutsu *et al.*, 1998),

También, se observó una temperatura óptima de 40°C para la actividad de lacasa (Figura 10), los cuales son similares a lo reportado para una lacasa de *T. viridae*, en la cual se reporta una temperatura óptima de 30°C y 40°C con poliuretano de baja densidad como sustrato (Johnnie *et al.*, 2021) y para una despolimerasa extracelular de *Penicillium oxalicum*, con una temperatura óptima de 40°C con poliésteres alifáticos como sustratos (Satti *et al.*, 2020). Por otra parte, para la actividad de esterasa, la temperatura óptima fue de 37°C (Figura 11), lo cual es diferente para una esterasa que degrada poliuretano de *C. acidovorans* TB-35, de la cual se ha reportado una temperatura óptima de 45°C (Akutsu *et al.*, 1998), una esterasa de *C. glutamicum* ATTC 13032, a 40°C (Navarro-González, 2012), una esterasa derivada de metagenomas de suelos agrícolas colombianos, con una temperatura óptima entre 30°C y 37°C (Villamil *et al.*, 2016), una esterasa bacteriana con una temperatura de 40°C (Jaishree *et al.*, 2019), 65°C para diferentes esterases fúngicas sobre la degradación de poliésteres (Weinberger *et al.*, 2020) y 45°C para una carboxilesterasa de *E. coli* (Ding *et al.*, 2020),

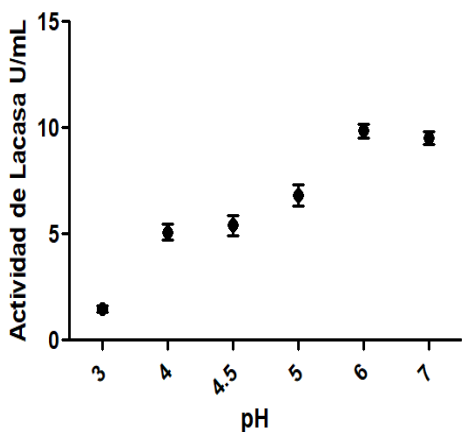


Fig. 8: Efecto del pH sobre la actividad de lacasa Extracelular de *Fusarium solani*. (P= <0.0001)

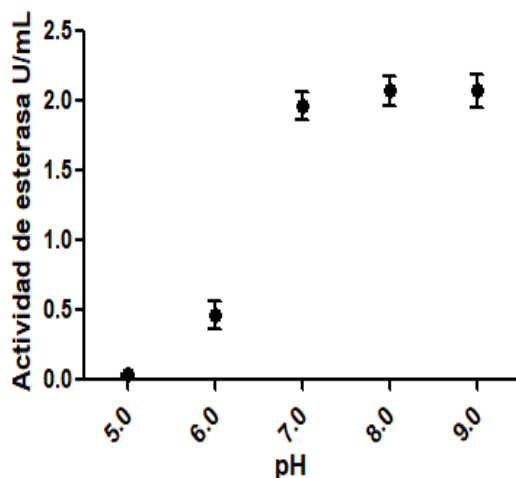


Fig. 9: Efecto del pH sobre la actividad de esterasa extracelular de *Fusarium solani*. (P= <0.0001)

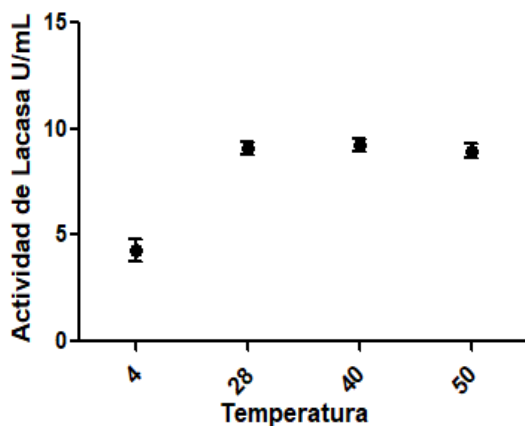


Fig. 10: Efecto de la temperatura de incubación sobre la actividad de lacasa extracelular de *Fusarium solani*. (P= <0.0001)

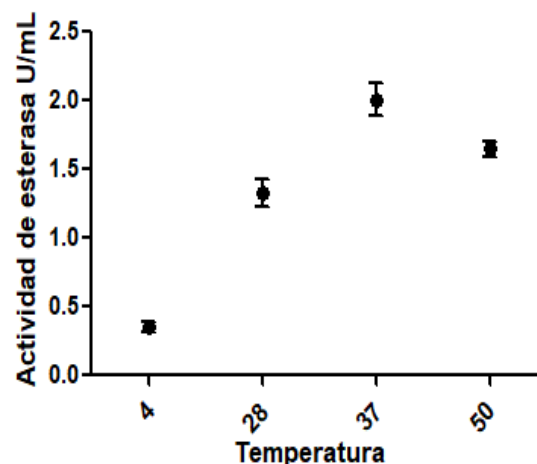


Fig. 11: Efecto de la temperatura de incubación sobre la actividad de esterasa de extracelular de *Fusarium solani*. (P= <0.0001)

Por otra parte, el tiempo de incubación óptimo para la actividad de lacasa fue de 5 minutos (Figura 12), mientras que para la actividad de esterasa, fue de 10 minutos (Figura 13), y con respecto al efecto de la concentración de proteína, se encontró una reacción lineal de la actividad de lacasa a las concentraciones analizadas (Figura 14), mientras que, para la actividad de esterasa, la máxima actividad fue a una concentración de proteína de 32.8 $\mu\text{g}/\text{ensayo}$ (Figura 15), similar a los 3.15 μM para una esterasa bacteriana con (Jayshree *et al.*, 2019), mientras que con respecto a la concentración del sustrato, (2,6-dimetoxifenol) se observó la mayor actividad de lacasa a 0.5256 $\mu\text{g}/\text{ensayo}$ (Figura 16), similar a lo reportado para una lacasa recombinante de *S. cyaneus* CECT 3335, que a concentraciones mayores a 0.1 mM de 2,6-dimetoxifenol inhiben la actividad enzimática (Moya Lobo, 2011). Para la esterasa se encontró una mayor actividad con 8.2 $\mu\text{g}/\text{ensayo}$ con p-fenilbutirato como sustrato (Figura 17). Al respecto, en *C. glutamicum* ATTC 13032, se ha descrito una actividad de esterasa, con una K_m de 681 μM con p-nitrofenilbutirato (Navarro-González, 2012), una K_m de 138.88 μM para una esterasa bacteriana con di-2-dietilftalato como sustrato (Jayshree *et al.*, 2019).

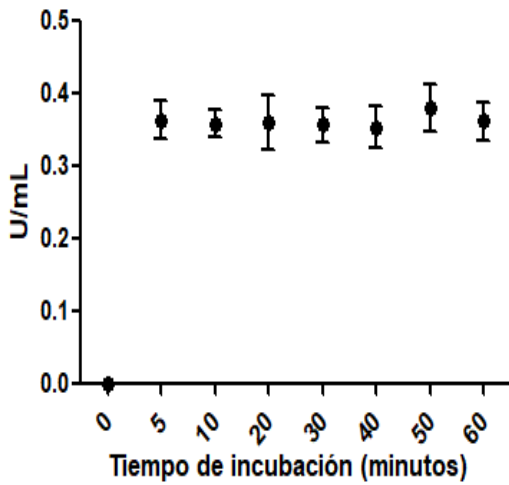


Fig. 12: Efecto del tiempo de incubación sobre la actividad de lacasa extracelular de *Fusarium solani*. (P= <0.0001)

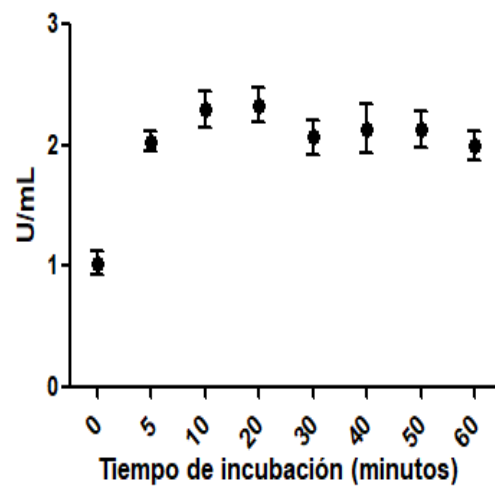


Fig. 13: Efecto del tiempo de incubación sobre la actividad de esterasa extracelular de *Fusarium solani*. (P= 0.0007)

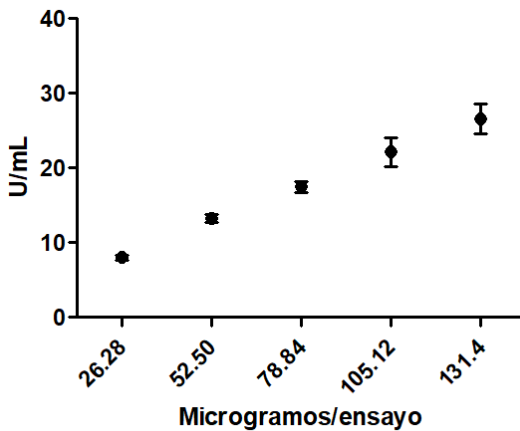


Fig. 14: Efecto de la concentración de proteína sobre la actividad de lacasa extracelular de *Fusarium solani*. (P= 0.0001)

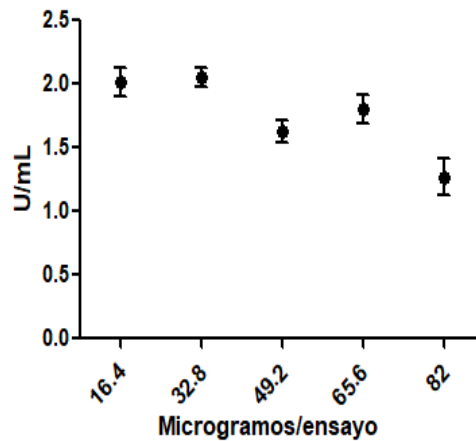


Fig. 15: Efecto de la concentración de proteína sobre la actividad de esterasa extracelular de *Fusarium solani*. (P= 0.0081)

Finalmente, se han reportado otras actividades enzimáticas relacionadas con la degradación de poliuretano como: una lipasa de *Candida rugosa*, que degrada poliuretano comercial (Gautam *et al.*, 2007), esterasa cutinolítica (cutinasa), de *F. culmorum* (González Márquez *et al.*, 2019), serin hidrolasa de aislados de *P. microspora*, que degrada poliuretano (Russell *et al.*, 2011), poliuretanasas-lipasa de *B. subtilis* (Rowe & Howard, 2002), proteasa y ureasa de diferentes hongos con espuma de poliuretano como sustrato (Loredo Treviño *et al.*, 2011), cutinasas de *F. solani* y *Pichia pastoris* (Peña-Montes *et al.*, 2018), poliuretanasas de *Pseudomonas* (Petri do Conto, 2021), ftalato hidrolasa de *Gordonia* sp., que degrada esteres de ftalato (Huang *et al.*, 2019), hidrolasas, lipasas y cutinasas de diferentes microorganismos que degradan plástico (Soriano Ortega, 2020), carboxilesterasas y cutinasas de *E. coli* (Ding *et al.*, 2020; Falkestein *et al.*, 2020), PETasa y MHETasa de *I. sakaiensis* 201-F6 (Maity *et al.*, 2021) y lipasa, carboximetilcelulosa, xilanasas y proteasa de *Alcaligenes faecalis* (Nag *et al.*, 2021), pero se requieren más estudios para determinar cuáles de estas actividades son las más eficientes en la degradación de este sustrato, así como para optimizar la producción de las mismas para una biodegradación más rápida y eficiente.

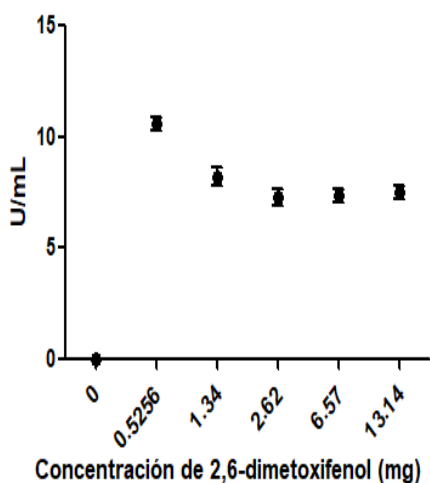


Fig. 16: Efecto de la concentración de sustrato sobre la actividad de lacasa extracelular de *Fusarium solani*. (P= <0.0001)

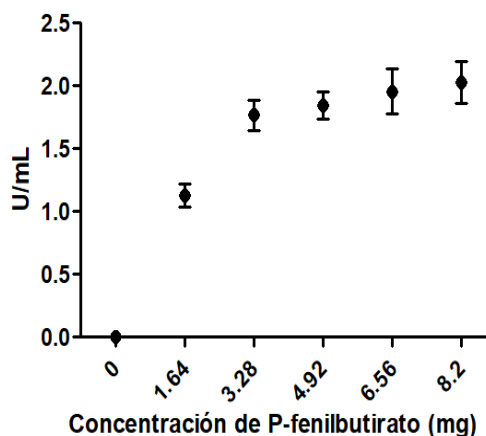


Fig. 17: Efecto de la concentración de sustrato sobre la actividad de esterasa extracelular de *Fusarium solani*. (P= <0.0001)

En la Tabla 1, se muestra un resumen de los resultados obtenidos para las dos actividades enzimáticas.

Tabla 1: Características cinéticas de las actividades enzimáticas extracelulares de *F. solani*

Parámetro	Lacasa	Esterasa
Estabilidad a 4°C	92%	70.15%
Estabilidad a 28°C	87.27%	70.3%
pH	6.0	7.0-9.0
Temperatura óptima	40°C	37°C
Tiempo de incubación	5 minutos	10 minutos
Concentración de proteína	131.4 µg/ensayo	32.8 µg/ensayo
Concentración de sustrato	0.5256 µg/ensayo*	8.2 µg/ensayo ⁺

* 2,6-Dimetoxifenol
⁺ p-fenilbutirato

CONCLUSIONES

- 1.- La producción de proteína extracelular y peso seco del hongo son mayores en presencia de polietileno de baja densidad.
- 2.- La degradación del sustrato en base al peso biodegradado fue de 7.8%, 9% y 4.5%.
- 3.- El hongo produjo actividades enzimáticas de lacasa y esterasa extracelulares en presencia de polietileno, siendo ligeramente mayor la actividad de lacasa (2.86 U/mL) que de esterasa (2.0 U/mL).
- 4.- La actividad de lacasa es más estable a 4°C y 28°C, conservando 92% y 87% de actividad remanente, que la actividad de esterasa, pues esta conserva un 70% de actividad remanente a las mismas temperaturas.
- 5.- El pH y temperatura óptimos fueron de 6.0 y 40°C para la lacasa y de 7.0 a 9.0 y 37°C para la esterasa.
- 6.- El tiempo de incubación fue de 5 y 10 minutos para las actividades de lacasa y esterasa, respectivamente.
- 7.- Los datos obtenidos sugieren que estas actividades enzimáticas pueden participar en la degradación del polietileno.

REFERENCIAS

- Aguilar-Alvarado, Y., Báez-Sánchez, M.R., Martínez-Carrera, D.C., Ahuactzin-Pérez, M., Cuamatzi-Muñoz, M. & Sánchez, C. (2015). Mycelial Growth and Enzymatic Activities of Fungi Isolated from Recycled Paper Wastes Grown on Di (2-ethylhexyl) phthalate. *Polish Journal of Environmental Studies*, 24 (5), 1897-1902.
- Ahuactzin-Pérez, M., Tecuítl-Beristain, S., García-Dávila, J., González-Pérez, M., Gutiérrez- Ruiz, M.C. & Sánchez, C. (2016). Degradation of di(2-ethyl hexyl) phthalate by *Fusarium culmorum*: Kinetics, enzymatic activities and biodegradation pathway based on quantum chemical modeling pathway. *Science of Total Environmental*, 566-567, 1186-1193.
- Akutsu, Y., Nakajima, T., Nomura, N. & Nakahara, T. (1998). Purification and Properties of a Polyester Polyurethane Degrading Enzyme from *Comamonas acidovorans* TB-35. *Applied and Environmental Microbiology*, 64 (1), 62-67.
- Álvarez Estepa, D.N. & Botache Laguna, L.M. (2020). *Biodegradación de plástico con larvas del Coleóptero Tenebrio molitor como un aporte interdisciplinar a la Biotecnología Ambiental*. Tesis licenciatura. Licenciado en Biología. Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencia y Tecnología. Universidad Pedagógica Nacional. Bogotá, D.C. Colombia. <http://hdl.handle.net/20.500.12209/12205>
- Alves-Macedo, G. & Fontes-Pio, T. (2005). A rapid screening method for cutinase producing microorganisms. *Brazilian Journal of Microbiology*, 36, 388–394.
- Andrady, A.L. (2017). The plastic in microplastics: a review. *Marine Pollution Bulletin*, 119(1) 12-22.
- Arancibia Cortes, V.E. (2014). *Caracterización de Alternaria alternata aislada de contenedores residuales urbanos y su potencial uso en la degradación de 6 polímeros de Importancia ambiental*. Tesis para optar al título profesional de Tecnólogo Médico Mención Laboratorio clínico, Hematología y Banco de Sangre. Campus 1 Norte. Viña del Mar. Universidad Santo Tomas. Viña del Mar, Chile. DOI: [10.13140/RG.2.1.3310.0884](https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3310.0884)
- Atalah Zuñiga, J.I. (2017). *Purificación y caracterización de una nueva lacasa aislada del microorganismo termófilo Geobacillus sp. ID17*. Memoria para optar al Título de Bioquímico. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile. Santiago, Chile. <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/149820>
- Barboza, L.G.A., Cózar, A., Giménez, B.C., Barros, T.L., Kershaw P.J. & Guilhermino, L. (2019). *Macroplastics pollution in the marine environment*, in Charles R. C. Sheppard (ed.), *World Seas: an environmental evaluation*, United States, Academic Press. 305-328.

- Barros Barreno, W.A. (2021). *Separación de microplásticos mediante procesos fisicoquímicos en aguas residuales en la ciudad de Riobamba*. Tesis Licenciatura. Ingeniería Civil. Escuela de Ingeniería Civil. Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de Chimborazo. Riobamba, Ecuador. <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/7499>
- Bermúdez Morera, D.C. (2021). *Evaluación de microorganismos (Trichoderma spp. y Pseudomonas aeruginosa) para la degradación del PET*. Tesis Licenciatura. Ingeniero Químico. Programa de Ingeniería Química. Facultad de Ingeniería. Fundación Universidad de América. Bogotá, D.C. Bogotá, Colombia. <http://repository.uamerica.edu.co>
- Butron Pizano, S.B. (2020). *Capacidad de biodegradación de Pseudomonas aeruginosa frente al polietileno de baja densidad*. Tesis Doctoral. Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente. Escuela de Posgrado. Universidad Nacional del Altiplano. Puno, Perú. <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/13475>
- Calcetero Moreno, L.A. & Mancera Hernández, J.C. (2021). *Evaluación del proceso de colonización y degradación de polietileno de baja densidad por inóculo de Aspergillus niger en humus y compostaje doméstico*. Tesis Licenciatura. Ingeniero Químico. Programa de Ingeniería Química. Facultad de Ingenierías. Fundación Universidad de América. Bogotá, D.C. Colombia. <https://hdl.handle.net/20.500.11839/8303>
- Castro Velasco, A.M. & Avendaño Toledo, C.A. (2020). *Determinación del tratamiento más efectivo sobre el polietileno tereftalato para el aumento en la eficiencia del proceso de degradación realizado por hongos y bacterias autóctonas de lixiviado de relleno sanitario*. Tesis Licenciatura. Ingeniería Ambiental. Facultad de Ingeniería Ambiental. Universidad Libre Seccional Socorro. Santander. Colombia. <http://hdl.handle.net/10901/18618>
- Cedeño Domínguez, J.C. & Merino Cordero, J.G. (2020). *Valoración in vitro de polietileno de baja densidad mediante hongos filamentosos aislados del relleno sanitario de Pichacay*. Tesis Licenciatura. Ingeniería Ambiental. Carrera de Ingeniería Ambiental. Universidad Politécnica Salesiana. Sede Cuenca. Cuenca, Ecuador. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/18821>
- Charnock, C. (2021). Norwegian soils and waters contain mesophilic, plastic-degrading bacteria. *Microorganisms*, 9 (94), 1-18.
- Cheng, X., Dong, S.S., Chena, D., Rui, Q., Guo, J., Wang, D. *et al.* (2020). Potential of esterase DmtH in transforming plastic additive dimethyl terephthalate to less toxic mono-methyl terephthalate. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 187(5), 109848.
- Condori Álvarez, K.C. (2020). *Biodegradación de poliestireno expandido mediante Pseudomonas sp aisladas del botadero de residuos sólidos de la ciudad de Azángaro*. Tesis Licenciatura. Ingeniería Ambiental y Forestal. Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental y Forestal. Universidad Nacional de Juliaca. Juliaca, Perú. <http://repositorio.unaj.edu.pe/handle/UNAJ/131>
- Córdoba-Sosa, G., Torres, J.L., Ahuactzin-Pérez, M., Díaz-Godínez, G., Díaz, R. & Sánchez, C. (2014). Growth of *Pleurotus ostreatus* ATCC 3526 in different concentrations of di(2-ethylhexyl) phthalate in submerged fermentation. *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences*, 4 (5), 96–103.
- Cornejo Reyes, G.V., Marinero Orantes, E.A., Funes Guadron, C.R., Toruño, P.J. & Zúñiga González, C.A. (2020). Biopolímeros para uso agroindustrial: Alternativa sostenible para la elaboración de una película de algodón termoplástico biodegradable. *Revista Iberoamericana de Bioeconomía y Cambio Climático*, 6 (11), 1-29.
- Cosgrove, R.L., McGeechan, P.L., Handley, P.S. & Robson, G.D. (2010). Effect of Biostimulation and bioaugmentation on Degradation of Polyurethane Buried in Soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 76 (3), 810-819.
- De La Cruz Orihuela, C. & Arone Valencia, A. (2020). *Biodegradación de polietileno de baja densidad mediante un consorcio microbiano a condiciones anaerobias y aerobias*. Tesis Licenciatura. Ingeniería Ambiental. Escuela

Profesional de Ingeniería Ambiental. Facultad de Ingeniería y Arquitectura. Universidad Peruana Unión. Lima, Perú. <http://repositorio.upeu.edu.pe/handle/UPEU/3219>

Devi, R.S., Kannan, V.R., Nivas, D., Kannan, K., Chandru, S. & Antony, A.R. (2020). Biodegradation of HDPE by *Aspergillus* spp. from marine ecosystem of Gulf of Mannar, India. *Marine Pollution Bulletin*, 96 (1,2), 32-40.

Dey, U., Mondal, N.K., Das, K. & Dutta, S. (2012). An approach to polymer degradation through microbes. *IOSR Journal of Pharmacy*, 2, 385-388.

Díaz, R., Téllez-Téllez, M., Bibbins-Martínez, M.D., Sánchez, C., Díaz-Godínez, G. & Soriano-Santos, J. (2013). Influence of initial pH of the growing medium on the activity, production and expression profiles of laccases produced by *Pleurotus ostreatus* in submerged fermentation. *Electronical Journal of Biotechnology*, 16, 1-13

Ding, J., Zhou, Y., Wang, Ch., Peng, Z., Mu, Y., Tang, X. *et al.* (2020). Development a whole-cell biocatalyst for diisobutyl phthalate degradation by functional display of carbobylesterase on the surface of *Escherichia coli*. *Microbial Cell Factories*, 19 (114), 1-11.

Duddu, M.K., Tripura, K.L., Guntuku, G. & Duvya, D.S. (2015). Biodegradation of low density polyethylene (LPDE) by a new biosurfactant-producing thermophilic *Streptomyces coelicoflavus* NBRC 15399. *African Journal of Biotechnology*, 14 (4), 327-340.

Durán Moreno, A., Garcés Rodríguez, M., Velasco, A.R., Marín Enríquez J.C., Gutiérrez Lara, R., Moreno Gutiérrez, A. *et al.* (2013). Mexico City´s municipal solid waste characteristics and composition analysis. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 29 (1), 39-46.

Espinosa Arias, L.M. (2018). *Evaluación de la degradación de polietileno de baja densidad mediada por diferentes especies de hongos*. Trabajo de titulación. Ingeniero Químico. Colegio de Ciencias e Ingeniería. Universidad de San Francisco de Quito (USFQ). Quito, Ecuador. <http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/7410>

Falkestein, P., Gräsing, D., Byelytskyi, P., Zimmermann, W., Matysic, J., Wei, R. *et al.* (2020). Uv treatment impairs the enzymatic degradation of polyethylene terephthalate. *Frontiers in Microbiology*, 11(689), 1-10.

Ferrer-Parra, L., López-Nicolás, D.I., Martínez-Castillo, R., Montiel-Cina, J.P., Morales-Hernández, A.R. & Ocaña-Romo, E. (2018). Caracterización parcial de esterases de *Fusarium culmorum* crecido en presencia de di(2-etil hexil ftalato) en fermentación sólida y sumergida. *Mexican Journal of Biotechnology*, 3 (1), 82-94.

Fontanella, S., Bonhomme, S., Koutny, M., Husarova, L., Brusson, J.M., Courdavault, J.P. *et al.* (2010). Comparison of the Biodegradability of Various Polyethylene Films Containing Pro-Oxidant Additives. *Polymer Degradation and Stability*, 95, 1011-1021.

Garcés Cifuentes, A.B. (2021). *Análisis Filogenético de Estructura y Genoma de enzima PETasa de Ideonella sakaiensis*. Tesis Licenciatura. Ingeniería Bioquímica. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología. Universidad Técnica de Ambato. Ambato, Ecuador. <https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/32087>

Gautam, R., Bassi, A.S. & Yanful, E.K. (2007). *Candida rugosa* lipase-catalyzed polyurethane degradation in aqueous medium. *Biotechnology Letter*, 29, 1081-1086.

Geyer, R., Jenna R., Lavender Law, J. & Lavender Law, K. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances*, 3 (7), 1-5. e1700782

Giacomucci, L., Raddadi, N., Soccio, M., Lotti, N. & Fava, F. (2020). Biodegradation of polyvinyl chloride plastic films by enriched anaerobic marine consortia. *Marine Environmental Research*, 158, 104949.

- González Alcos, V. C. (2020). Capacidad biodegradativa de hongos filamentosos frente al polietileno. *Revista de Investigaciones de la Escuela de Posgrado. Universidad Nacional del Altiplano*, 9 (3), 1792-1804.
- González-Márquez, A., Ahuactzin-Pérez, M. & Sánchez, C, (2015). *Lentinula edodes* Grown on Di(2-ethylhexyl) Phthalate Containing Media: Mycelial Growth and Enzyme Activities. *BioResources*, 10 (4), 7898-7906.
- González-Márquez, A., Loera-Corral, O., Viniegra-González, G. & Sánchez, C. (2019). Production of cutinolytic esterase by *Fusarium culmorum* grown at different apple cutin concentrations in submerged fermentation. *Mexican Journal of Biotechnology*, 4 (4), 50-64.
- Greenpeace México (2019). *Estudio sobre de la contaminación por microplásticos en peces de México*. <https://www.greenpeace.org/mexico/publicacion/3377/estudio-sobre-el-impacto-de-la-contaminacion-por-microp- plasticos-en-peces-de-mexico>.
- Gutiérrez Álvarez, A.I. (2019). *Biodegradación de polietileno de baja densidad utilizando hongos, bacterias y consorcios bacterianos aislados del botadero municipal de Tacna*. Tesis Licenciatura. Ingeniería Ambiental. Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental. Facultad de Ingeniería. Universidad Privada de Tacna. Tacna, Perú. <http://repositorio.upt.edu.pe/handle/UPT/1269>
- Hemavathi, B., Shobha Rani, A. & Bharathi, D. (2019). Impact of plastics on human health and environment. *International Journal of Development Research*, 09 (01), 25264-25267.
- Huang, H. Zhang, X.Y., Chen, T.L., Zhao, Y.L., Xu, D.S. & Bai, Y.P. (2019). Biodegradation of Structurally Diverse Phthalate Esters by a Newly Identified Esterase with Catalytic Activity toward Di(2-ethylhexyl) Phthalate. *Journal of Agricultural Food chemistry*, 67 (31), 8548-8558.
- Jayshree, A. & Vasudevan, N. (2019). Bacterial enzyme based spectrophotometric determination of phthalate esters in drinking water stored in PET bottles. *Food Measure* 13, 2190–2202.
- Johnnie, D.A., Isaac, R. & Prabha, M. L. (2021). Bio efficacy assay of laccase isolated and characterized from *Trichoderma viride* in biodegradation of low-density polyethylene (LDPE) and textile industrial effluents dyes. *Journal of Pure Applied Microbiology*, 15 (1), 410-420.
- Lavayen Villamar, K.J. (2021). *El microplástico y la contaminación del mar*. Tesis Licenciatura. Licenciado en Comunicación Social con Mención en Producción Audiovisual y Multimedial. Universidad Politécnica Salesiana. Sede Guayaquil. Guayaquil, Ecuador. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/20095>
- Li, S., Wei, R., Gao, M., Ren, Y., Yu, B., Nie, K. *et al.* (2020a). Biodegradation of low density polyethylene by *Microbulbifer hydrolyticus* IRE-31. *Journal of Environmental Management*, 263, 1-13. 110402.
- Li, J., Kim, H.R., Lee, H.M., Yu, H.Ch., Jeon, E., Lee, S. *et al.* (2020b). Rapid biodegradation of polyphenylene sulfide plastic beads by *Pseudomonas* sp. *Science of the Total Environment*, 729, 1-11, 137616.
- Liu, J., He, J., Xue, R., Xu, B., Qian, X., Xin, F. *et al.* (2021). Biodegradation and up-cycling of polyurethanes: Progress, challenges, and prospects. *Biotechnology Advances*, 48, 1-12. 107730.
- López, G., Chow, J., Bongen, P., Lauinger, B., Pietruszka, J., Streit, W.R. *et al.* (2014). A novel thermoalkalostable esterase from *Acidicaldus* sp. strain USBA-GBX-499 with enantio selectivity isolated from an acidic hot spring of Colombian Andes. *Applied Microbiology and Biotechnology* 98, (20), 8603-8616.
- Loredo-Treviño, A., García, G., Velasco-Téllez, A., Rodríguez-Herrera, R. & Aguilar, C.N. (2011). Polyurethane foam as substrate for fungal strains. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 2, 52-58.

- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. & Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, 193 (1), 265–275.
- Martínez Arroyo, M.A., Ruíz Suarez, L.G., Gavilán García, A., Mendoza Cantú, A. & Ramírez Muñoz, T. (2020). *Panorama General de las Tecnologías del Reciclaje de plásticos en México y en el Mundo*. Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. <https://biblioteca.semarnat.gob.mx>.
- Mathur, G., Mathur, A. & Prasad, R. (2011). Colonization and Degradation of Thermally Oxidized High-Density Polyethylene by *Aspergillus niger* (ITCC No. 6052) Isolated from Plastic Waste Dumpsite. *Bioremediation Journal*, 15 (2), 69-76.
- Maity, W., Maity, S., Brera, S. & Roy, A. (2021). Emerging roles of PETase and MHETase in the biodegradation of plastic wastes. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 1-18. doi: 10.1007/s12010-021-03562-4
- Medina-Flores, H., González-Márquez, A. & Sánchez, C. (2020). Effect of surfactant Tween 80 on growth and esterase production of *Fusarium culmorum* in liquid fermentation. *Mexican Journal of Biotechnology*, 5 (4), 64-79.
- Méndez, C.R., Vergaray, G., Béjar, V.R., Karina J. & Cárdenas, K.J. (2007). Aislamiento y caracterización de micromicetos biodegradadores de polietileno. *Revista Peruana de Biología. Número Especial*, 13 (3), 203-205.
- Moya Lobo, R. (2011). *Caracterización de la lacasa de Streptomyces cyaneus CECT 3335 y aproximación al estudio de su potencial oxidativo y función biológica*. Tesis Doctoral. Depto. de Microbiología y Parasitología. Universidad de Alcalá. Alcalá de Henares, España. <http://hdl.handle.net/10017/16781>
- Muñoz Inostroza, S.C. (2014). *Degradación de polímeros de interés industrial utilizando una mezcla de Pseudomonas aeruginosa, Cladosporium sp. y Alternaria sp.* Tesis profesional de Tecnólogo Médico, mención Laboratorio Clínico, Hematología y Banco de Sangre. Universidad Santo Tomás Tecnología Médica. Santiago, Chile. www.researchgate.net > profile > publication
- Nag, M., Lahiri, D., Dutta, D., Jadav, G. & Ray, R.R. (2021). Biodegradation of use polyethylene bags by a new marine strain of *Alcaligenes faecalis* LND-1. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-15.
- Navarro-González, I. (2012). Clonación, expresión, caracterización y modelado de esterases putativas de *Corynebacterium glutamicum* ATTC 13032. *Anales de Biología*, 34, 77-89.
- Oceguera-Cervantes, A., Carrillo-García, A., López, N., Bolaños-Núñez, S., Cruz-Gómez, M.J. Wachter, C. *et al.* (2007). Characterization of the Polyurethanolytic Activity of Two *Alicyclophilus* sp. Strains Able to Degrade Polyurethane and N-Methylpyrrolidone. *Applied and Environmental Microbiology*, 73 (19), 6214–6223.
- Peña-Montes, C., Bermúdez-García, E., Morales-García, S. & Farrés, A. (2018). Las cutinasas como una herramienta valiosa para la descontaminación de residuos plásticos. *Mensaje Bioquímico*, 42, 24-35. <http://tab.facmed.unam.mx>
- Petri do Canto, V., Thompson, C.E. & Netzi, P.A. (2021). Computational studies of polyurethanases from *Pseudomonas*. *Journal of Molecular Modeling*, 27(46), 1-8.
- Portillo-Ojeda, M., González-Márquez, A., Arteaga-Mejía, M. & Sánchez, C. (2020). Optimum pH for di(2-ethylhexyl) phthalate degradation by *Fusarium culmorum* in submerged fermentation. *Mexican Journal of Biotechnology*, 5 (3), 71-82

- Ramírez Cuadro, N.E. & Teherán, J.A. (2017). *Potencial tolerante y de biodegradación del hongo de podredumbre blanca en llantas usadas*. Tesis Licenciatura. Ingeniería Química. Programa de Ingeniería Química. Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño. Cartagena. Colombia. bibliotecadigital.usbcali.edu.co
- Rivera-Garibay, O.O., Álvarez-Filip, L., Rivas, M., Garelli-Ríos, O., Pérez-Cervantes, E. & Estrada-Saldívar, N. (2020). *Impacto de la contaminación por plástico en áreas naturales protegidas mexicanas*. 1ª. Ed. Greenpeace México. <https://www.greenpeace.org>
- Rowe, L. & Howard, G.T. (2002). Growth of *Bacillus subtilis* on polyurethane and the purification and characterization of polyurethanase-lipase enzyme. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 50, 33–40.
- Roy, R., Mukherjee, G., Das Gupta, A., Tribedi, P. & Kamar Sil, A. (2021). Isolation of a soil bacterium for remediation of polyurethane and low-density polyethylene: a promising tool towards sustainable cleanup of the environment. *3 Biotech*, 11 (29), 1-13.
- Ruiz, C., Main, T., Hilliard, N.P. & Howard, G.T. (1999). Purification and characterization of two polyurethanase enzymes from *Pseudomonas chlororaphis*. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 43, 43-47.
- Russell, J.R., Huang, J., Anand, P., Kucera, K., Sandoval, A.G., Dantzler, K.W. *et al.* (2011). Biodegradation of polyester polyurethane by endophytic fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 77 (17), 6076–6084.
- Sánchez Durán, J.F. (2020). *Impacto del plástico de un solo uso y alternativas para su sustitución en el municipio de Urrao*. Tesis Licenciatura. Ingeniería Ambiental. Facultad de Ingeniería. Tecnológico de Antioquia. Institución Universitaria. Medellín, Colombia. <https://dspace.tdea.edu>.
- Satti, S.M., Shah, Z., Luqman, A., Hasan, F., Osman, M. & Alí Shah, A. (2020). Biodegradation of poly(3-hydroxybutyrate) and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) by newly isolated *Penicillium oxalicum* SS2 in soil microcosms and partial characterization of extracellular depolymerase. *Current Microbiology*, 77, 1622-1636.
- Shah, A., Hasan, F., Akhter, J.I., Hameed, A. & Ahmed, A. (2008). Degradation of polyurethane by novel bacterial consortium isolated from soil. *Annals of Microbiology*, 58 (3), 381-386.
- Soriano Ortega, B. (2020). *Biodegradación de plásticos en ambientes naturales*. Trabajo de Fin de Grado. Ciencias Ambientales. Facultad de Ciencias. Universidad de Alcalá. Alcalá de Henares. Madrid, España. <http://hdl.handle.net/10017/45807>
- Torres Herrera, A.A. (2020). *Efectividad del hongo Aspergillus niger en la biodegradación de polietileno de baja densidad*. Tesis Licenciatura. Ingeniería Ambiental. Escuela Académica Profesional de Ingeniería Ambiental. Facultad de Ingeniería y Arquitectura. Universidad Cesar Vallejo. Chiclayo, Perú. <https://hdl.handle.net/20.500.12692/50246>
- Venegas Guerrero, G. (2021). *Toxicidad de nanopartículas de tereftalato de polietileno (PET) en modelo ex vivo de sistema digestivo de roedor*. Tesis Maestría en Ciencias. Nanotecnología. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California. Ensenada, Baja California, México. <http://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/3558>
- Villamil, C., Del Portillo, P. & Monguí, A. (2016). Clonación, expresión y caracterización de una nueva esterasa derivada de metagenomas de suelos agrícolas colombianos. *Revista Colombiana de Biotecnología*, XVIII, 2, 48-55.
- Wang, Z., Xin, X., Shi, X. & Zhang, Y. (2020). A polystyrene-degrading *Acinetobacter* bacterium isolated from the larvae of *Tribolium castaneum*. *Science of the Total Environment*, 756 (726), 138564.

Weinberger, S., Beyer, R., Schüller, Ch., Strauss, J., Pellis, A., Ribitsch, D. & Guebitz, G.M. (2020). High throughput screening for new fungal polyester hydrolyzing enzymes. *Frontiers in Microbiology*, 11 (558), 1-8.

Yang, S.S., Ding, M.Q., Lei, H., Zhang, Ch.H., LI, Q.X., Xing, D.F. et al. (2020). Biodegradation of polypropylene by yellow mealworms (*Tenebrio molitor*) and superworms (*Zophobas atratus*) via gut-microbe-dependent depolymerization. *Science of The Total Environment*, 756 (20), 144087.

Yepes Aguirre, L.M. (2014). *Degradación de Polietileno de Baja Densidad Utilizando Hongos. Revisión Sistemática de la Literatura*. Trabajo de Grado. Microbiología Industrial. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá D.C. Colombia. <http://hdl.handle.net/10554/16184>

