

Degradación de polipropileno por consorcios de Hongos Micromycetos.

Degradation of polypropylene by Micromycete Fungal Consortia.

Martha Mostajo-Zavaleta^{1*}  y Isabel Rodríguez-Sánchez¹ 

¹ Escuela profesional de Biología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Av. La Cultura 733, Cusco, Perú.

*Autor corresponsal: Martha Mostajo-Zavaleta, martha.mostajo@unsaac.edu.pe

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó con el objetivo de determinar consorcios de cepas de hongos Micromycetos eficientes en la degradación de polipropileno, las cepas de hongos se aislaron de suelo contaminado por hidrocarburo (aceite de carros), por el método de diluciones y siembra por incorporación en superficie, la identificación de género se hizo por características macroscópicas de las colonias y microscópicas de los cuerpos fructíferos, utilizando la guía de identificación de Watanabe T. (2002). La determinación de la capacidad degradativa de las cepas de los consorcios se realizó por el método de cultivo líquido puro de Singh & Sharma (2008). La determinación de los cambios en los grupos funcionales superficiales de las láminas de polipropileno se realizó mediante Espectrofotometría Infrarroja por Transformada de Fourier – FTIR (Gulmine 2002). Se formó cuatro consorcios, los que tuvieron mayor efecto degradativo fueron el consorcio T1 (cepas de *Aspergillus*), T3 (cepas de *Trichoderma*) y el consorcio T4 (Mezcla de todas las cepas de estudio) con un promedio de degradación de láminas de polipropileno de 11.23 % en un tiempo de 3 meses, el consorcio T2 (cepas de *Fusarium*) fue el que tuvo menor efecto (8.77 %). Los espectros obtenidos por espectroscopia infrarroja, demostraron que hubo alteración en la estructura molecular en la región de huella digital de las láminas de polipropileno indicando que si hubo efecto de los consorcios.

Palabras clave: Micromycetos, degradación, polipropileno, consorcios, hongos.

ABSTRACT

The present research work was carried out with the objective of determining consortia of strains of Micromycetes fungi efficient in the degradation of polypropylene, the fungal strains were isolated from soil contaminated by hydrocarbon (car oil), by the method of dilutions and sowing by Surface incorporation, gender identification was done by macroscopic characteristics of the colonies and microscopic characteristics of the fruiting bodies, using the identification guide of Watanabe T. (2002). The determination of the degradative capacity of the strains of the consortia was carried out by the pure liquid culture method of Singh & Sharma (2008). The determination of the changes in the surface functional groups of the polypropylene sheets was carried out by Fourier Transform Infrared Spectrophotometry – FTIR (Gulmine 2002). Four consortia were formed, of which those that had the greatest degradative effect were consortium T1 (*Aspergillus* strains), T3 (*Trichoderma* strains) and consortium T4 (Mixture of all study strains) with an average degradation of sheets of polypropylene of 11.23% over a period of 3 months, the T2 consortium (*Fusarium* strains) was the one that had the least effect (8.77%). The spectra obtained by infrared spectroscopy demonstrated that there was an alteration in the molecular structure in the fingerprint region of the polypropylene sheets, indicating that there was an effect of the consortia.

Key words: Basidiomycetes, degradation, polypropylene, consortia, fungi.

INTRODUCCIÓN

El polipropileno es un material plástico ampliamente utilizado por su gran variedad de aplicaciones y facilidad de manejo, su uso indiscriminado ha generado un grave problema ambiental, debido a su acumulación y largos periodos de degradación, aproximadamente 100 años (Hernández-Aguirre y Gómez Espinosa. 2017). El polipropileno (PP) es uno de los polímeros más utilizados y más difíciles de degradar, debido a que presenta una estructura química estable que le brinda una mayor resistencia a la degradación. (Butnaru et al. 2026). Si bien existen métodos de eliminación para los desechos plásticos mencionados, la mayoría tiene efectos secundarios para el ambiente o son costosos (Balasubramanian et al. 2010). Como consecuencia de estos métodos ineficientes, se observa un incremento de la acumulación de polímeros sintéticos en el ambiente, la cual se presenta como una amenaza tanto en ecosistemas terrestres como acuáticos (Shimao 2001, Mor y Sivan 2008, Álvarez-Zeferino et al. 2020), ya que en su mayoría no pueden degradarse mediante factores extrínsecos de la naturaleza (Ojha et al. 2017).

El microorganismo fúngico tiene capacidad de degradación de plástico, y han sido utilizados y aislados por su acción biodegradante liberando enzimas para la ruptura de la compleja estructura química (oligómeros) del plástico en moléculas más simples (monómeros) para su asimilación. Se han reportado trabajos sobre degradación biológica de

plásticos y se considera que esta alternativa es importante desde el punto de vista de la salud humana, del medio ambiente y del factor económico, además es posible utilizar los subproductos como fuente de energía. Eggins et al. (1971) señalan que el proceso más importante para degradar plásticos es aquel en que sus componentes son utilizados como fuente de carbono. Por otro lado, Soni et al. (2009). Reporto la degradación del polietileno por cepas de hongos y bacterias logrando aislar una enzima fúngica capaz de degradar plásticos. La presente investigación, tuvo por objetivo determinar consorcios eficientes de cepas de micromycetos en la degradación de láminas de polipropileno, aisladas de muestras de suelo contaminado con hidrocarburos, con la finalidad de buscar una solución biológica al problema ambiental que genera la acumulación de residuos plásticos en el país, que está dando lugar a problemas en el manejo de la gestión ambiental y de residuos sólido, seleccionando cepas autóctonas eficientes en la degradación de polipropileno.

Las cepas de hongos micromycetos se aislaron de muestras de suelo contaminados con hidrocarburos (aceites de carro) provenientes de mecánicas de la ciudad del Cusco, por el método de diluciones y siembra por incorporación en superficie, la identificación de género se hizo por características macroscópicas de las colonias y microscópicas de los cuerpos fructíferos, utilizando la guía de identificación de Watanabe T. (2002). La determinación de la capacidad

degradativa de las cepas de los consorcios se realizó por el método de cultivo líquido puro de Singh & Sharma (2008). La determinación de los cambios en los grupos funcionales superficiales de las láminas de polipropileno se realizó mediante Espectrofotometría Infrarroja por Transformada de Fourier – FTIR (Gulmine 2002). Se formó cuatro consorcios, de los cuales los que tuvieron mayor efecto degradativo fueron el consorcio T1 (cepas de *Aspergillus*), T3 (cepas de *Trichoderma*) y el consorcio T4 (Mezcla de todas las cepas de estudio) con un promedio de degradación de láminas de polipropileno de 11.23 % en un tiempo de 3 meses, el consorcio T2 (cepas de *Fusarium*) fue el que tuvo menor efecto (8.77 %). Los espectros obtenidos por espectroscopia infrarroja, demostraron que hubo alteración en la estructura molecular en la región de huella digital de las láminas de polipropileno indicando que si hubo efecto de los consorcios.

METODOLOGÍA

El aislamiento de las cepas de Micromycetos se realizó, por el método de diluciones y la siembra se realizó por el método de agotamiento en superficie. Se tomaron 4 muestras de suelo (250 gr) a una profundidad de 15 cm, contaminadas con hidrocarburos (aceite para carros) provenientes de mecánicas de la Ciudad de Cusco, haciendo un total de 1 kg de suelo, las que fueron llevadas al laboratorio de Ecología de la Facultad de Ciencias biológicas- UNSAAC para ser procesadas. Para realizar las diluciones se pesó 10 gr de la muestra de suelo, se realizaron hasta 10-3 diluciones, luego se realizó la siembra, colocando 1ml de cada dilución a placas pertry, adicionando el agar PDA, las placas sembradas fueron incubada a 25 °C por 3-5 días. Una vez desarrolladas las colonias de hongos, se purificaron, con el propósito de obtener cultivos puros, para tener el cepario, que se conservó a 4°C en refrigeración correctamente codificados.

Identificación Taxonómica de los hongos aislados.

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

Preparación de láminas de polipropileno.

La preparación de las láminas de bolsas de plástico se llevó a cabo cortando el material en cuadrados de 1 x 1 cm. Antes de su empleo en los estudios de biodegradación, las láminas fueron pesadas y esterilizadas. La esterilización se llevó a cabo sumergiendo las láminas en 20 ml de alcohol 96% durante 30 minutos, dándoles la vuelta cada 10 minutos. A continuación, las láminas fueron sumergidas en 20 ml de alcohol 70% durante otros 30 minutos. Finalmente, las láminas fueron lavadas con agua destilada estéril para eliminar el exceso de alcohol, se secaron con la ayuda de papel de filtro estéril y se añadieron a cada uno de los matraces de cultivo y sus respectivos controles.

La determinación de la concentración de esporas se realizó por el método del recuento en cámara de Neubauer. Obtenida la esporada en placas Petri, se transfirió 10 ml de agua destilada estéril a la superficie de la colonia en cada placa. Luego este inóculo fue trasferido a un matraz conteniendo 50 ml de agua destilada estéril con 1% de Twenn, se homogenizo y se procedió al recuento de esporas en una cámara New bauwer, se realizó diluciones hasta obtener una concentración de 108 esporas por ml.

La Selección de Consorcios eficientes en la degradación de polipropileno se realizó mediante la Prueba de biodegradación se realizó por el método de cultivo líquido puro de Singh &

Sharma (2008). Se colocó en frascos de vidrio de 300 ml y se utilizó el medio KirK carente de fuente de carbono. Ya preparado el medio Kirk estéril, se colocó 250 mL en los frascos de vidrio que contenían 6 láminas de polipropileno por frasco del mismo peso, para ello se utilizó una balanza de precisión analítica gravimétrica, modelo S 2000 ($\pm 0,0001g$). Seguidamente, se inocularon 10 ml de inóculo (108 esporas) preparado 24 h antes. Las láminas de polipropileno ya inoculadas fueron incubadas a una temperatura de 25 °C, en completa oscuridad, durante un periodo de tiempo de 3 meses. Al final del periodo de incubación las láminas fueron lavadas con una solución de agua desionizada para posteriormente ser sometidas a un lavado soxleth con alcohol etílico como solvente durante un periodo de tiempo de 24hrs, con el fin de garantizar la eliminación del micelio que pudiera quedar adherido a la lámina de polipropileno degradada, por último, se secó en horno a 45° durante un periodo de tiempo de 1 h o hasta llegar a peso constante. La prueba se realizó con un blanco el cual consta de una muestra de material de polipropileno sin inocular. Se evaluó el porcentaje de degradación por la pérdida de peso con respecto a su peso inicial (Hadad, D. et.al 2005), mediante la fórmula:

$$(P_i - P_f) / P_i \times 100$$

Donde:

P_i: peso inicial

P_f: peso final (después de la incubación).

Después del proceso de degradación las láminas de polipropileno fueron caracterizadas por espectroscopia infrarroja (FTIR), (Modificado de Hernández- Aguirre y Gómez-Espinoza. 2015)

RESULTADOS

Se aislaron 8 cepas de hongos micromycetos de suelo contaminado con hidrocarburo (aceite de carro), provenientes de mecánicas de la ciudad de Cusco. Se determinaron tres géneros: *Trichoderma* (2 cepas), *Fusarium* (3 cepas) y *Aspergillus* (3 cepas).

De acuerdo a los resultados del análisis estadístico Anova, se observó que el factor Consorcio (p-valor = 2.38e-16 ***) tuvo un efecto altamente significativo en la degradación de láminas de polipropileno. En la Tabla 1 y Figura 1, se observa la lectura del análisis de medias del factor independiente Consorcio, donde los consorcios T1 (cepas de *Aspergillus*), T3 (cepas de *Trichoderma* y T4 (mezcla de todas las cepas), tuvieron el mismo efecto estadístico con una significancia del 95%, degradando el 11.23 % (promedio) de las láminas de polipropileno, mientras que el consorcio T2 formado por cepas del género *Fusarium*, presentaron menor degradación (8.77%), el testigo T5 (muestras de polipropileno sin hongos) no presento degradación.

Tabla 1: Análisis de medias del Consorcios en la degradación de láminas de polipropileno

Tratamientos		
Consorcio	Promedio	Grupo
T1	11.05	a
T2	8.77	b
T3	10.7	a
T4	11.93	a
T5	0.34	c

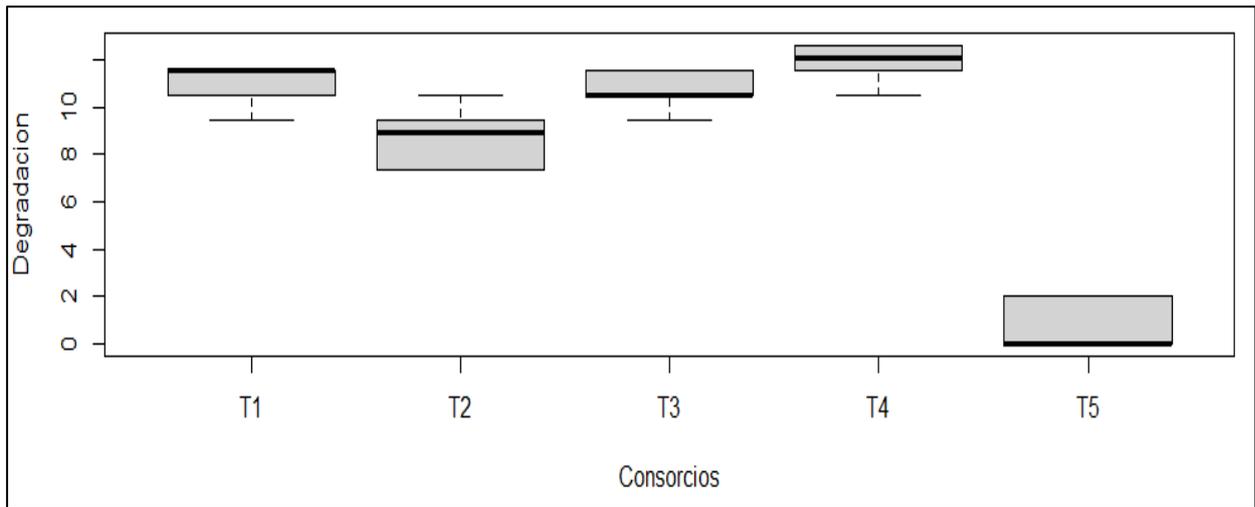


Figura 1. Efecto de consorcios de cepas de hongos Micromycetos en la degradación de láminas de polipropileno.

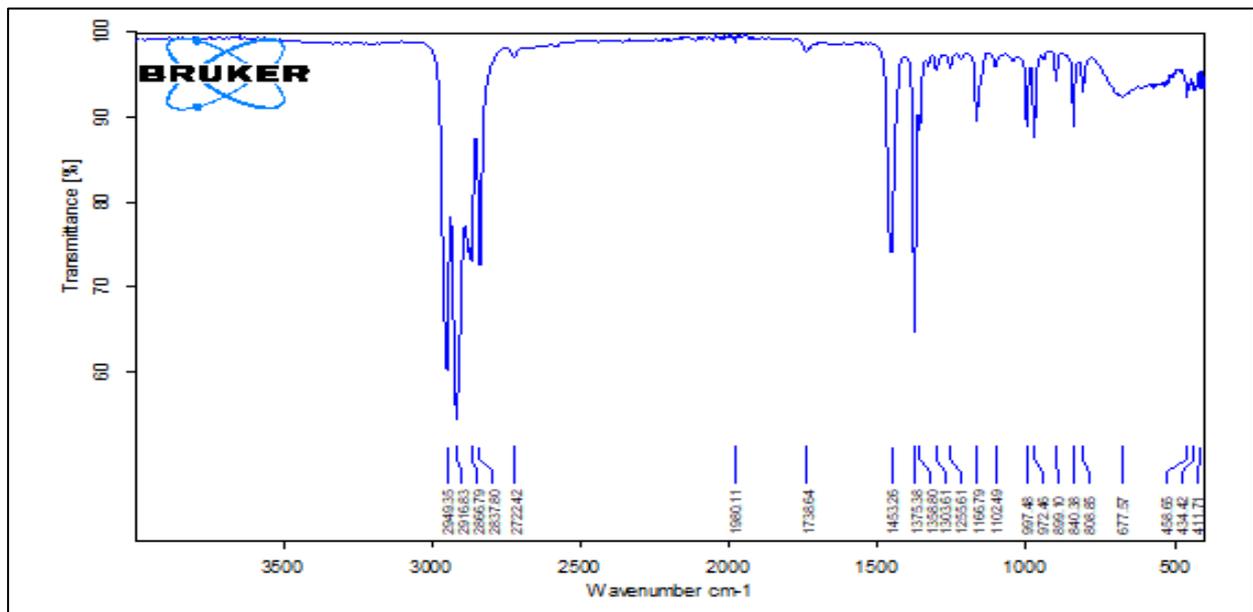


Figura 2. Espectro infrarrojo del consorcio T1 (Testigo, sin aplicación de hongos)

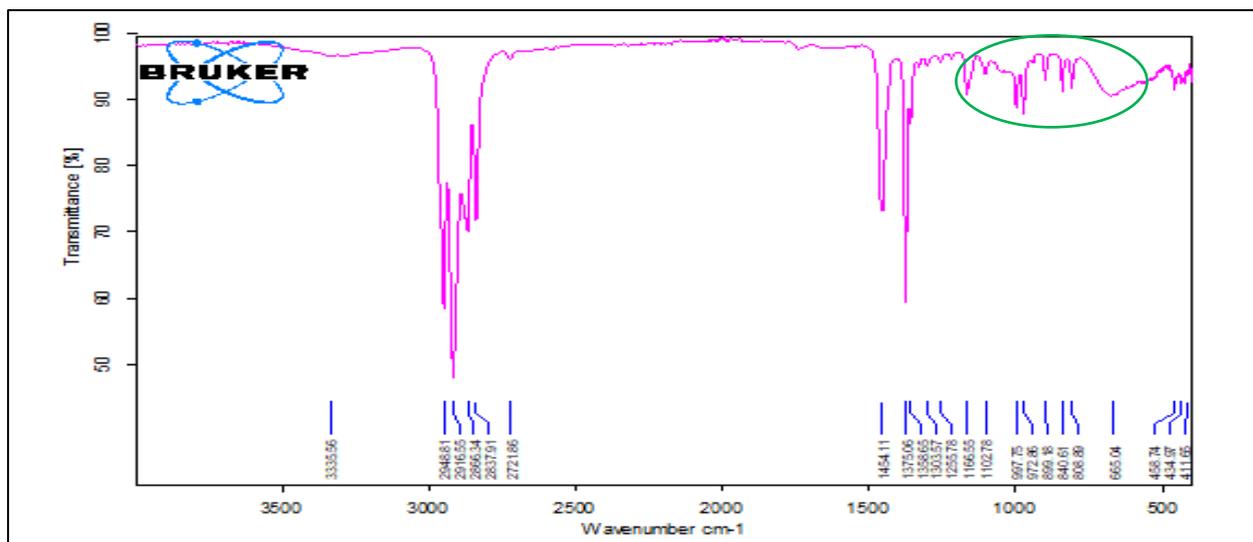


Figura 3. Espectro infrarrojo del consorcio T2 (cepas de Fusarium)

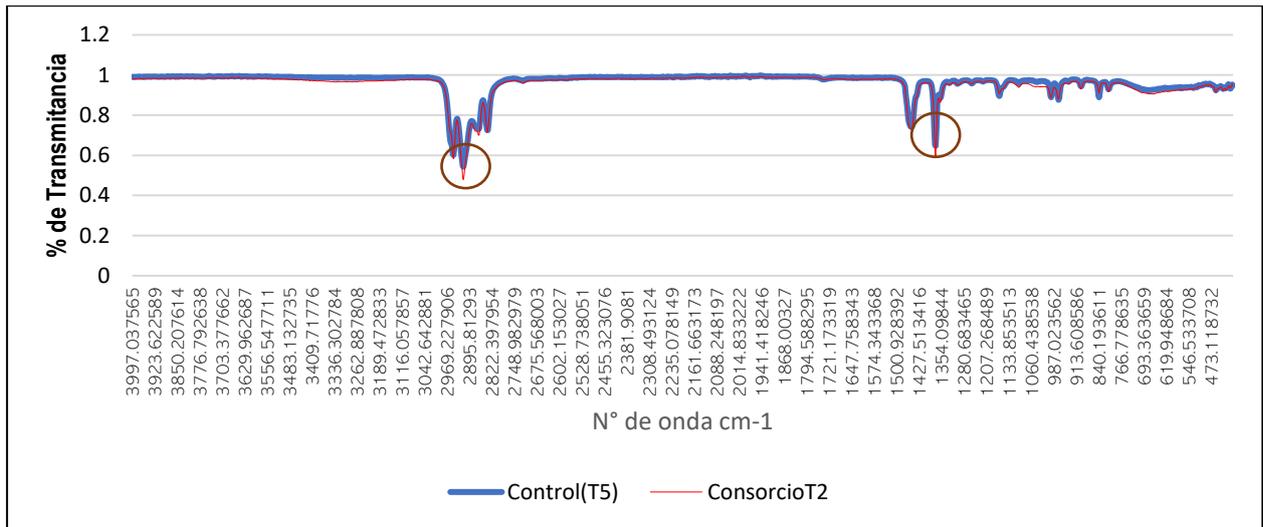


Figura 4. Comparación del espectro del Control (T5) con el espectro del consorcio T2 (género *Fusarium*)

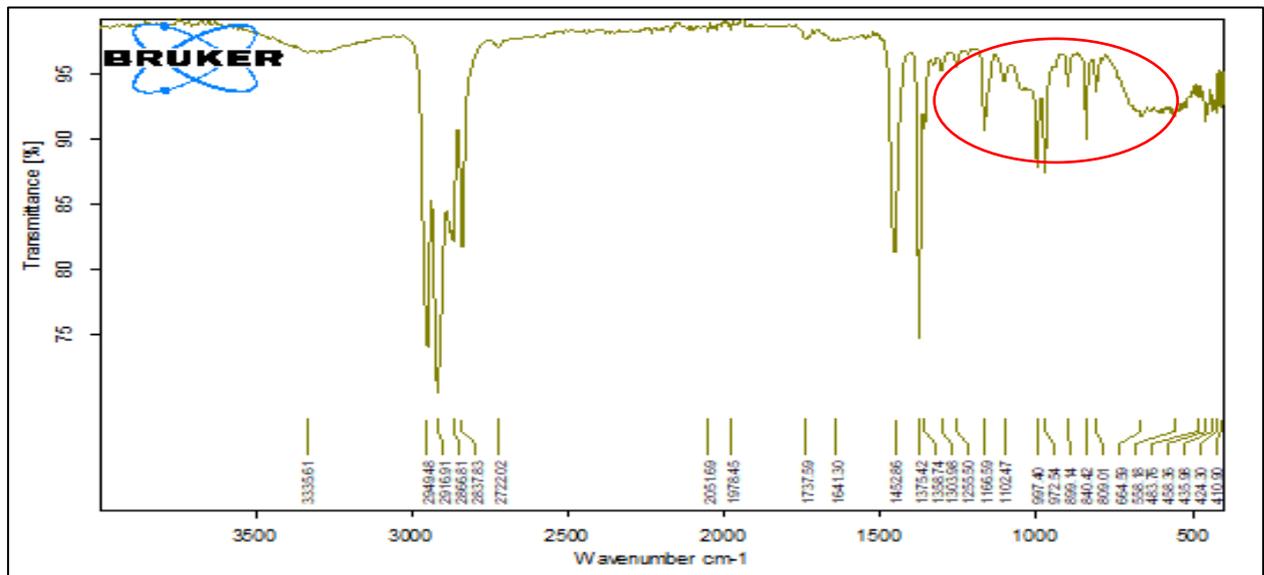


Figura 5. Espectro infrarrojo del consorcio T3 (cepas de *Trichoderma*)

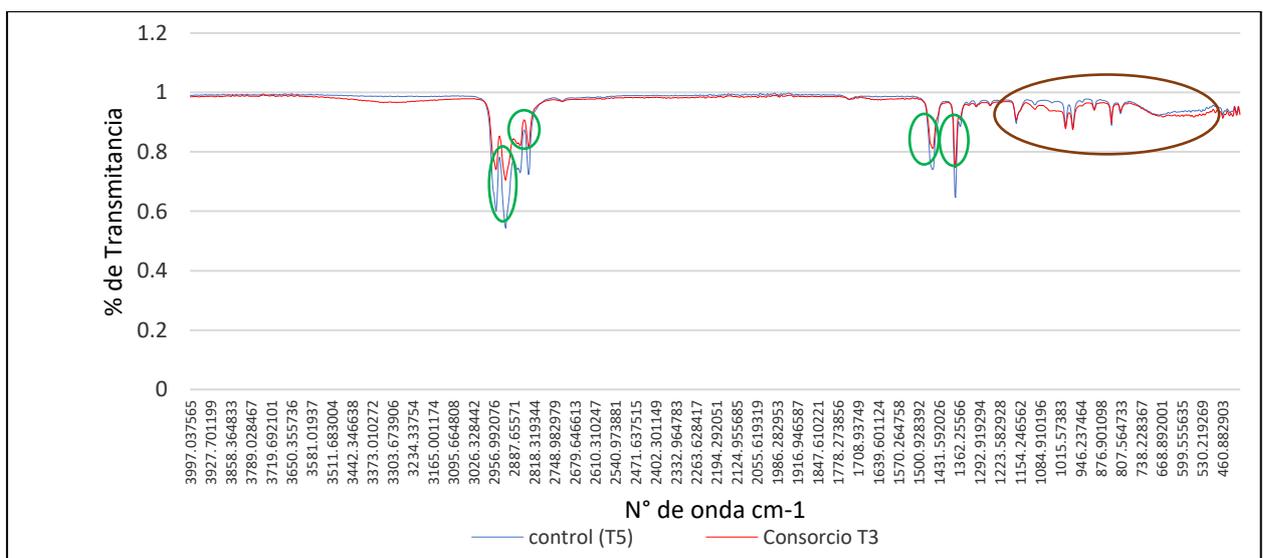


Figura 6. Comparación del espectro del Control (T5) con el espectro del consorcio T3 (género *Trichoderma*)

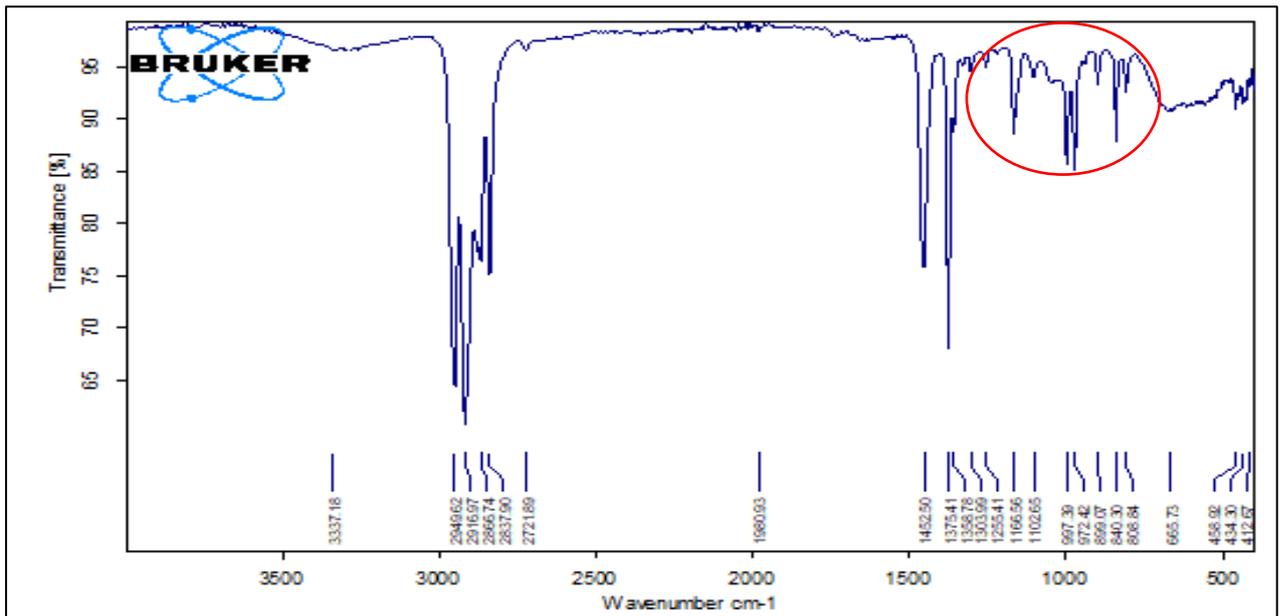


Figura 7. Espectro infrarrojo del consorcio T1 (cepas de *Aspergillus*)

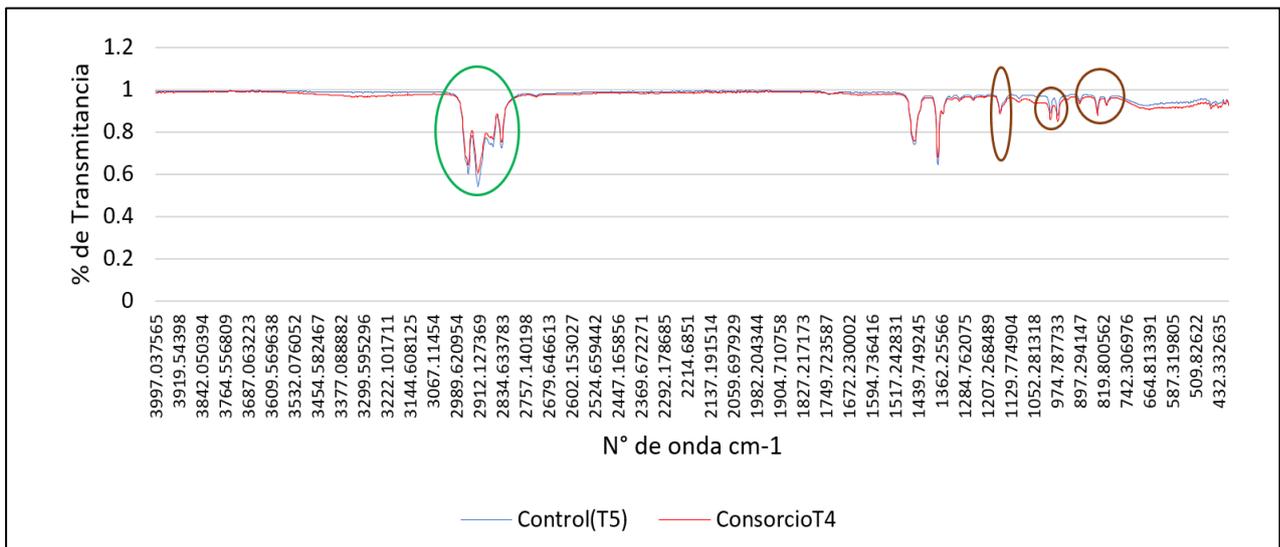


Figura 8. Comparación del espectro del Control (T5) con el espectro del consorcio T1 (*Genero Aspergillus*)

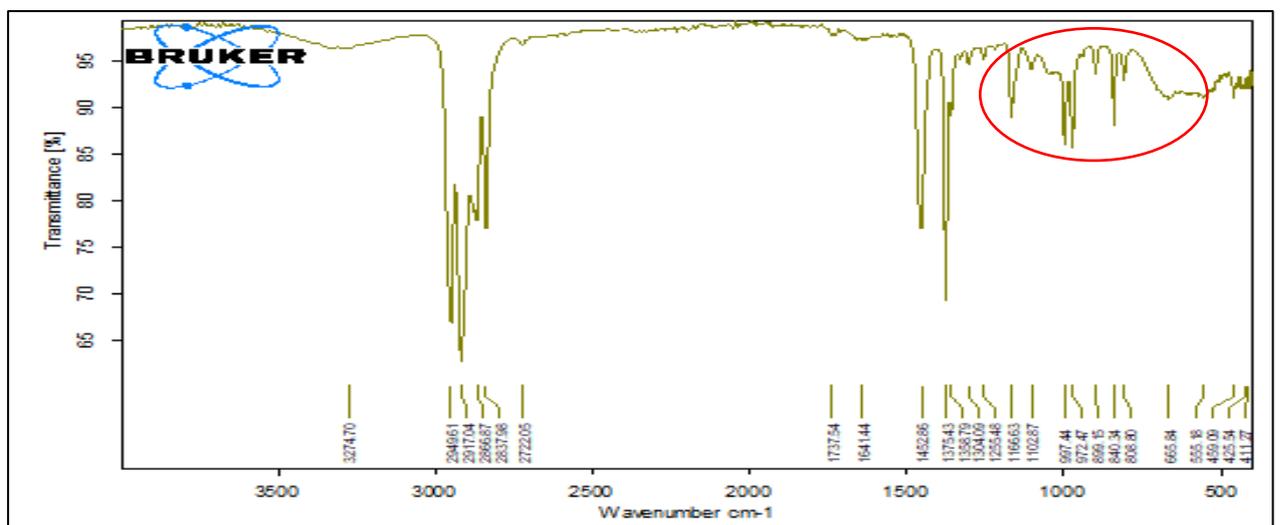


Figura 9. Espectro infrarrojo del consorcio T4 (mezcla de cepas de *Aspergillus*, *Fusarium* y *Trichoderma*)

varían para un polímero, a menos que este haya sufrido el efecto de un agente biológico (Gulmine 2002) similar al reportado por Cacciari P (1993) que indica que *Aspergillus niger* degradan Polipropileno, ya que estos logran reducir la hidrofobicidad del polímero, introducen grupos como C = O ó C – OH y generan una disminución de la viscosidad durante el proceso de degradación. Esta capacidad degradativa se debe a la secreción de complejos enzimáticos extracelulares no específicos y a la inespecificidad de las enzimas que poseen, ya que estas permiten transformar una gran variedad de productos químicos y, por otro lado, su naturaleza extracelular permite a los hongos acceder a compuestos no polares e insolubles (Hopper DJ.1991) Este análisis estructural de las láminas de polipropileno, es un parámetro importante para identificar los cambios estructurales que aparecen durante la degradación responsable de la pérdida de peso.

CONCLUSIONES

Se aislaron ocho cepas de hongos Micromycetos de muestras de suelo contaminado con hidrocarburo. Se identificaron los géneros *Trichoderma* (2 cepas) *Fusarium* (3 cepas) y *Aspergillus* (3 cepas).

Los consorcios eficientes en la degradación de láminas de polipropileno fueron T1 (cepas *Aspergillus*) con 11.05 %, T3 (cepas de *Trichoderma*) con 10.70% y T4 con 11.93 %. (mezcla de cepas de los 3 géneros). El consorcio T2 (cepas de *Fusarium*) fue el que tuvo menor efecto (8.77 %).

El análisis FTIR–ATR demostró que los consorcios T1(cepas *Aspergillus*), T3 (cepas *Trichoderma*) y T4 (mezcla de cepas) y T2 (cepas de *Fusarium*) generaron alteraciones a nivel de la región de los grupos funcionales y aparición de nuevos picos en la región de la huella digital del polipropileno, demostrando que hubo degradación de las láminas de polipropileno.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Álvarez-Zeferino J.C., Cruz-Salas A.A., Vázquez-Morillas A. y Ojeda-Benítez S. (2020). Method for quantifying and characterization of microplastics in sand beaches. *Rev. Int. Balasubramanian V., Natarajan K., Hemambika B., Ramesh N., Sumathi, C.S., Kottaimuthu R. y Rajesh Kannan V. (2010). High density polyethylene (HDPE) degrading potential bacteria from marine ecosystem of Gulf of Mannar, India. Lett. Appl. Microbiol. 51 (2), 205-211. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2010.02883.x>*
- Butnaru, E., R.N. Darie-Niță, T. Zaharescu, T. Balaeș, C. Tănase, G. Hitruc, F. Doroftei, and C. Vasile (2016). Gamma irradiation assisted fungal degradation of the polypropylene/biomass composites. *Radiation Physics and Chemistry. 125: p. 134–144.*
- Cacciari, P., Quatrini, G., Zirletta, E., Mincione, V., Vinciguerra, P., Lupattelli, P., et al. (1993). Isotactic polypropylene biodegradation by a microbial community: physicochemical characterization of metabolites produced. *Appl. Environ. Microbiol. 59, 3695–3700. doi: 10.1128/AEM.59.11.3695-3700.1993*
- Eggins, H., Mills, J., Holt, A., & Scott, G. (1971). Biodegradation and biodegradation of Synthesis polymers, 267-279. IM
- Hadad, D., Geresh, S., Sivan, A. (2005). Biodegradation of polyethylene by the thermophilic bacterium *Brevibacillus borstelensis*. *Journal of Applied Microbiology 98(5):1093-1100*
- Hernández-Aguirre O.A y Gómez Espinosa. R.M, (Tratamiento Biológico–Ultrasónico Nueva Alternativa en la Degradación de Polipropileno). *Revista Iberoamericana de Polímeros. Volumen 18(2), 2017.*
- Hopper DJ, Engesser KH (et al., Smith RN, Wyatt JM (et al.,Mackay N (et al., Sims GK (et al. Biodegradation - Natural and Synthetic Materials [W.B. Betts] Springer [Internet]. 1st ed. Betts W., editor. Vol 1, Springer in Applied Biology. Springer;1991 [cited 2021]] 1-234 p. Available from: <https://www.springer.com/gp/book/9781447134725>
- Gulmine JV, Janissek PR, Heise HM, Akcelrud L (2002) Polyethylene characterization by FTIR. *Polymer Testing 21: 557–563.*
- Mor R. y Sivan A. (2008). Biofilm formation and partial biodegradation of polystyrene by the actinomycete *Rhodococcus ruber*. *Biodegradation 19, 851-858. <https://doi.org/10.1007/s10532-008-9188-0>*
- Ojha N., Pradhan N., Singh S., Barla A., Shrivastava A., Khatua P., Rai V. y Bose S. (2017). Evaluation of HDPE and LDPE degradation by fungus, implemented by statistical optimization. *Sci. Rep. 7 (1), 1-13. <https://doi.org/10.1038/srep39515>*
- Singh, B & Sharma, N. (2008). Mechanistic implications of plastic degradation, *Polymer Degradation and Stability, vol. 93 (3), pp. 561-584. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2007.11.008>*
- Shimao M. (2001). Biodegradation of plastics. *Curr. Opin. Biotech. 12, 242-247. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(00\)00206](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(00)00206)*
- Villa-Carvajal M. Rivera D. (2008). Degradación biológica de polímeros mediante la selección y producción de potenciales cultivos iniciadores. CIMNE. Disponible en: http://213.229.136.11/bases/ainia_a
- Watanabe, T. (2002). *Pictorial Atlas of soil seed Fungy. Second Edition. CRC Press. Printed in the United States of America.*
- Thompson, R.C., Olsen, Y., Mitchell, R.P., Davis, A., Rowland, S. J., John, A. W. G., Mc Gonigle, D. & Russell, A. E. (2004). New Plastics Economy Report offers blueprint to design a circular future for plastics. <https://www.ellenmacarthurfoundation.org/news/new-plastics-economy-report-offers-blueprint-to-design-a-circular-future-forplastics> (recuperado 17 febrero 2020)
- Wang, F., Wong, C.S., Chen, D., Lu, X., Wang, F. & Zeng, E.Y. (2018). Interaction of toxic chemicals with microplastics: A critical review. *Rev. Water Research. 139:208-19.*

Presentado: 20/11/2024

Aceptado: 02/12/2024

Publicado: 20/12/2024