



BIOPROSPECCIÓN DE LA DEGRADACIÓN DEL POLIETILENO

KAREN FERNANDA MARTIN CLAVIJO

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
CARRERA DE MICROBIOLOGIA INDUSTRIAL
BOGOTÁ, D.C.
DICIEMBRE 4 DE 2012**

BIOPROSPECCIÓN DE LA DEGRADACIÓN DEL POLIETILENO

KAREN FERNANDA MARTIN CLAVIJO

**TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR EL TÍTULO DE
MICROBIOLOGA INDUSTRIAL**

DIRECTOR

LUIS DAVID GOMEZ.

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
CARRERA DE MICROBIOLOGIA INDUSTRIAL
BOGOTÁ, D.C.
2012**

BIOPROSPECCIÓN DE LA DEGRADACIÓN DEL POLIETILENO

KAREN FERNANDA MARTIN CLAVIJO

APROBADO

INGRID SCHULER Ph.D.
DECANA DECADÉMICA.
FACULTAD DE CIENCIAS.

JANETH DEL CARMEN MSc.
DIRECTORA
CARRERA MICROBIOLOGIA
INDUSTRIAL

BIOPROSPECCIÓN DE LA DEGRADACIÓN DEL POLIETILENO

KAREN FERNANDA MARTIN CLAVIJO

APROBADO

LUIS DAVID GÓMEZ
MICROBIOLOGO INDUSTRIALMSc
DIRECTOR TRABAJO DE GRADO

IVONNE GUTIERREZ ROJAS
BACTERIÓLOGA MSc.
JURADO EVALUADOR

NOTA DE ADVERTENCIA

Artículo 23 de la Resolución Nº 13 de Julio de 1946

“La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Solo velará por qué no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y por qué las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vea en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia.”

CONTENIDO

	Pág.
LISTA DE TABLAS	8
LISTA DE FIGURAS	9
RESUMEN	10
INTRODUCCIÓN	11
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN	12
2. OBJETIVOS	13
2.1. OBJETIVO GENERAL	13
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3. METODOLOGIA	13
4. LOS POLIMEROS	15
4.1. EL POLIETILENO	16
4.2. PROPIEDADES DEL POLIETILENO	17
5. MECANISMO DE DEGRADACIÓN TÉRMICO Y POR LUZ UV	17
6. LA SITUACIÓN DE LOS POLÍMEROS EN COLOMBIA	19

7. BIODEGRADACIÓN DEL POLIETILENO	20
7.1 MICROORGANISMOS BIODEGRADADORES DE POLIETILENO	21
7.2. TIPOS DE CULTIVO PARA LA BIODEGRADACIÓN DEL POLIETILENO	25
7.3. MECANISMO CATALÍTICO DE DEGRADACIÓN	29
8. PROPUESTA PARA MEJORAR EL PROCESO	31
9. METODOLOGIA PROPUESTA PARA LA BIODEGRADACION DEL POLIETILENO	31
10. CONCLUSIONES	33
11. BIBIOGRAFIA	34

LISTA DE TABLAS

TABLA 1. CRITERIO DE BUSQUEDA EN ScienceDirect	13
TABLA 2. CRITERIO DE BUSQUEDA EN Scopus	14
TABLA 3. CRITERIO DE BUSQUEDA EN SpringerLink	14
TABLA 4. MICRORGANISMOS DEGRADADORES DE POLIETILENO.	23
TABLA 5. EXPERIMENTOS PARA LA BIODEGRADACION DE POLIETILENO EN COLOMBIA	32

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. POLIMERIZACION DEL POLIETILENO	16
FIGURA 2. ESQUEMA SIMPLIFICADO QUE MUESTRA PRODUCTOS DE LA DEGRADACIÓN DE PE.	18
FIGURA 3. ADHESIÓN DE <i>Rhodococcus rhodochrous</i> A LAMINAS DE PE CON ADITIVOS (FE Y MN)	22
FIGURA 4. PENETRACIÓN DE HIFAS DE <i>Aspergillus terreus</i> y <i>Aspergillus fumigatus</i> .	23
FIGURA 5. ESQUEMA DEL SISTEMA DE CULTIVO EN COMPOST.	26
FIGURA 6. COLONIZACIÓN DE LAMINAS DE PE POR HONGOS EN MEDIOS SOLIDOS	27
FIGURA 7. CÉLULAS VIVAS (DE COLOR VERDE) ADHERIDAS AL PE.	29
FIGURA 8. BIODEGRADACIÓN DEL PE.	30

RESUMEN

En el mundo anualmente se colocan en sitios de disposición final de basuras más de 16 millones de toneladas de polietileno provenientes del consumo creciente de múltiples productos de uso cotidiano, rural o industrial. El problema que existe actualmente es que estos polímeros son productos de difícil degradación lo que genera persistencia en el ambiente y por ende un elevado impacto ambiental.

Este trabajo de grado mediante la recopilación de publicaciones de los últimos cinco años captados de las bases de datos ScienceDirect, Scopus y SpringerLink intenta aportar ideas para iniciar mejoras en los procesos implicados en la biodegradación del polietileno (PE).

Como resultado se encontró que los actinomicetes y los hongos filamentosos son los microorganismos con mejores rendimientos en la biodegradación del polietileno, y que cultivados en medios sólidos como el compost o en medios líquidos minerales realizan esta tarea. Este proceso es posible por acción de enzimas microbianas como las hidrolasas, peroxidasa, oxidasas y oxidoreductasas de microorganismos como *Pseudomonas sp.*, *Arthrobacter sp.*, *Rhodococcus sp.*, *Bacillus circulans*, cuyas enzimas se destacan en la degradación del PE. A partir de esta información se planteó una metodología para la degradación biológica del polietileno en Colombia contemplando los medios de cultivo y los microorganismos con mejores resultados en la biodegradación del polietileno.

Para mí sería de gran importancia si mi trabajo puede ser consultado por la persona que lo necesite y contribuya a solucionar el grave problema que los polímeros causan en el medio ambiente.

Palabras clave:

Biodegradación, polietileno, β -oxidación, compost y microorganismos.

INTRODUCCIÓN

El presente trabajo tiene como finalidad realizar una documentación sobre las alternativas para el tratamiento microbiológico del polietileno, describir los mecanismos bioquímicos empleados por los microorganismos para degradar el polietileno, así también proponer métodos biológicos accesibles para la degradación de estos.

Durante los últimos 25 años, ha habido un continuo incremento en la fabricación de productos y empaques plásticos a base de poliolefinas. El polietileno es uno de los materiales de poliolefina termoplástico con mayor crecimiento comercial debido a su bajo costo y propiedades deseables como su alta resistencia, buenas propiedades de barrera, peso liviano, resistencia al agua y alta estabilidad (Singh B & Sharma N, 2008). El continuo uso de polietileno en empaques y aplicaciones agrícolas por ejemplo, conduce a la generación de una gran cantidad de residuos plásticos cada año.

La acumulación de residuos plásticos en el mundo está dando lugar a problemas en el manejo de la gestión ambiental y de residuos. Esto ha incrementado la preocupación de la comunidad sobre el medio ambiente, la cual ha llevado a desarrollar empaques ecológicos de materiales poliméricos. (Albertsson AC. et. al. 1995). En los últimos años, ha habido un enfoque en el desarrollo de polímeros ecológicos degradables como bolsas, para diferentes usos, como recipientes para hornos microondas, resina biodegradable a base de almidón, entre otros (Husarova et al., 2010; Fontanella et al., 2010).

Los materiales plásticos de polímeros sintéticos se acumulan en el medio ambiente a una tasa de 25 millones de toneladas por año. Los polietilenos (PEs) representan el 64% de materiales plásticos producidos como empaques y botellas, los cuales son usualmente desechados después de un uso breve (Sudhakar M., et. al. 2008). Entre los materiales de empaque, las bolsas plásticas acumuladas en el medio ambiente a causa de su baja degradabilidad, generan polución y ocupan espacio en los vertederos. También, por lo que tienen muy poca masa y están por lo general contaminadas, reciclarlas no es económicamente viable. (Scott G; 1999, 2000. Telmo F.M. Ojeda: et. al,

2009). Es por eso que el objetivo de este trabajo es recopilar información actualizada sobre la biodegradación microbiológica del polietileno con énfasis en las alternativas para la identificación y cultivo de microorganismos capaces de degradarlo y los mecanismos empleados por ellos, para proponer alternativas viables en Colombia.

1. PLANTEAMIENTO Y JUSTIFICACION DEL PROBLEMA

El auge en la utilización del polietileno en diversidad de empaques y productos considerados desechables que van a parar a los rellenos sanitarios constituye un factor agravante del problema ambiental causado por los residuos sólidos que contaminan además fuentes hídricas y en la actualidad se reciclan en porcentaje mínimo. Por esta razón es importante conocer los efectos benéficos que pueden ejercer los microorganismos sobre el PE al emplearlo como fuente de carbono y así disminuir el impacto ambiental de este xenobiótico. Algunos microorganismos reportados capaces de metabolizar el PE son bacterias (*Pseudomonas sp.*, *Burkholderia sp.*, bacterias aisladas de ambientes marinos, *Brevibacillus borstelensis* cepa 707, *Antrhobacter paraffineus*, *Bacillus sp.*, *Arthobacter sp.*) (Shuadhakar et al., 2008; Nowak et al., 2011, Balasubramanian et al., 2010), hongos (*Curvularia sp.*, *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus terreus*, *Fusarium solani*) y archaeas (*Nitrosopomilus maritimus*) (Jakubowicz et al., 2011), y consorcio microbianos no definidos que favorecen la degradación del PE (Husarova et al., 2010; Soni et al., 2009). Este proyecto con base en la información actualizada sobre la degradación microbiológica del polietileno plantea algunas alternativas que se utilizan para el tratamiento microbiológico de este polímero en el mundo con microorganismos identificados, capaces de degradarlo mediante mecanismos enzimáticos y así proponer métodos biológicos para la biodegradación de polietileno en Colombia.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL

Realizar una búsqueda de literatura sobre la degradación microbiológica del polietileno en el mundo en los últimos cinco años.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Documentar las alternativas actuales para el tratamiento microbiológico del polietileno en el mundo.
- Identificar los principales microorganismos capaces de degradar el polietileno.
- Describir los mecanismos empleados por los microorganismos para degradar el polietileno.
- Proponer métodos biológicos viables para la degradación del polietileno en Colombia.

3. METODOLOGIA

Se realizó una búsqueda de artículos científicos publicados en los últimos cinco años en las bases de datos ScienceDirect, Scopus y SpringerLink. Teniendo en cuenta los siguientes criterios:

TABLA 1. CRITERIO DE BUSQUEDA EN ScienceDirect

Criterio de búsquedaScienceDirect	Operadores boléanos/relacionales	Numero de artículos
Poyethylenebiodegradation	ALL	437
Rango de publicación: 2008-2012	>2007	
Fuente: Revistas	AND	
Tipo de documento: Artículos científicos	AND	

TABLA 2. CRITERIO DE BUSQUEDA EN Scopus

Criterio de búsquedas Scopus	Operadores boléanos/relacionales	Numero de artículos
Poyethylenebiodegradation	AND	20
Año: 2008-2012	>2007	
Fuente: Revistas	AND	
Tipo de documento: Artículos científicos	AND	
Área: Agrícola, bioquímica, ambiental, ciencias biológicas y ambientales.	OR	
Área: inmunología, ingeniería química, farmacología, medicina, ciencia de materiales.	NOT	

TABLA 3. CRITERIO DE BUSQUEDA EN SpringerLink

Criterio de búsquedaSpringerLink	Operadores boléanos/relacionales	Numero de artículos
Poyethylenebiodegradation	ALL	28
Año: 2008-2012	>2007	
Fuente: Revistas	AND	
Tipo de documento: Artículos científicos: artículos de investigación.	AND	

Finalmente de 485 artículos arrojados por las bases de datos se seleccionó un grupo de 24 en los cuales se encontraron datos relevantes sobre la degradación del polietileno, los métodos, medios de cultivo y microorganismos capaces de degradar el polietileno, excluyendo los restantes ya que ofrecían información referente a otros polímeros o al polietileno con énfasis en la medicina, inmunología, u otras áreas que no competen para el tema que se desarrolló en este trabajo.

4. LOS POLÍMEROS

Staudinger en los años 20 fue el primero en introducir la definición de plásticos como “compuestos de gran peso molecular (>8000Da) que se producen total o parcialmente en forma sintética y presentan esencialmente una estructura orgánica” (Schwarz, 2002), incluyendo principalmente átomos de carbono e hidrógenos con enlaces sencillos, aunque pueden presentar otras estructuras más complejas como compuestos aromáticos, dependiendo del tipo de polímero.

El desarrollo de los polímeros ha sido inducido a través de modificaciones de estos con el fin de mejorar sus propiedades físicas y favorecer el auge de las aplicaciones de los mismos. En 1839, Charles Goodyear modificó el hule a través del calentamiento con azufre (vulcanización), ya que éste por lo general es frágil en temperaturas bajas y elástico a temperaturas altas. Mediante la vulcanización el hule se convierte en una sustancia resistente a un amplio margen de temperaturas. Otro acontecimiento que contribuyó al desarrollo continuo de los polímeros fue la modificación de la celulosa que permitió el surgimiento de las fibras sintéticas llamadas rayones (Katime, 2004).

Más tarde Leo Baekeland instauró el primer polímero totalmente sintético al que llamó baquelita; éste se caracteriza por ser un material muy duradero y provenir de otros materiales de bajo costo como el fenol y el formaldehído. Fue exitoso durante un tiempo, sin que los científicos lograran tener la información exacta sobre su estructura.

En el transcurso de la década de 1920, Herman Staudinger fue el primero en afirmar que los polímeros eran compuestos de gran peso molecular que se encontraban unidos mediante la formación de enlaces covalentes. Tal idea fue apoyada años más tarde por Wallace Carothers de DuPont, los cuales llegaron a establecer concepciones similares. Estos conceptos dieron paso al desarrollo de la química de los polímeros tanto sintéticos como naturales (Katime, 2004)

Wallace Carothers, en 1928 desarrolló un gran número de nuevos polímeros: poliésteres, poliamidas, neopreno, entre otros. La Segunda Guerra Mundial contribuyó al avance en la investigación de polímeros. Por ejemplo, fue muy importante la sustitución del caucho natural por caucho sintético (Katime, 2004)

Entre los polímeros más usados actualmente se encuentra el polietileno descrito a continuación.

4.1. El polietileno (PE)

Este polímero está clasificado como polímero termoplástico semicristalino constituido por cadenas lineales o ramificadas de carbono que a partir de cierta temperatura, inferior a la degradación puede ser moldeado y que al enfriarse se endurece y conserva la forma moldeada. Este se encuentra en el grupo de las poliolefinas y en general se destaca por una buena resistencia química, alta tenacidad y elongación en la rotura, así como buenas propiedades de aislamiento eléctrico. Dependiendo de la presión a la cual sea sometido el polietileno, este se clasifica en polietileno de alta densidad (PEAD) que es polimerizado a baja presión y se caracteriza por su resistencia a bajas temperaturas, su baja toxicidad y su impermeabilidad entre otras (SchwarzO, 2002). Se utiliza para contener sustancias químicas, en cableado eléctrico, o como recubrimiento de otros materiales como papel. El polietileno polimerizado a alta presión se denomina polietileno de baja densidad (PEBD) y se caracteriza por su flexibilidad, resistencia química y dieléctrica, lo cual lo hace útil en la elaboración de bolsas, embalajes industriales y techos de invernaderos, entre otros (Sivan A, 2011).

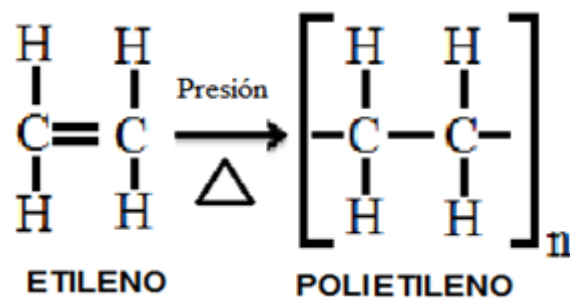


Figura 1. Polimerización del etileno a polietileno. Editado de Schwarz O, 2004.

4.2. Propiedades del Polietileno

En general el polietileno tiene propiedades típicas como baja densidad, alta tenacidad y elongación, estabilidad térmica de -50°C a 90°C , buen comportamiento como aislante eléctrico, baja absorción de agua y resistencia a los ácidos, soluciones salinas, agua, alcoholes y aceites. La estructura de las macromoléculas y sus fuerzas de unión le confieren a cada grupo de PE las características específicas como la dureza y fragilidad de los duroplásticos y la resistencia mecánica y químicas a los termoplásticos, esto gracias a los enlaces covalentes. El polietileno de baja densidad muestra principalmente cadenas moleculares ramificadas, mientras que el polietileno de alta densidad las muestra lineales (Schwarz O, 2002).

5. MECANISMO DE DEGRADACIÓN TÉRMICO Y POR LUZ UV

En términos generales el mecanismo térmico de la degradación del plástico se produce a través de la formación de radicales libres. Consta de las etapas de iniciación, propagación y terminación, en el cual las reacciones de abstracción de hidrógeno ocupan un papel esencial en las diferentes etapas que componen el proceso.

En la iniciación se da la rotura inicial del polímero dando lugar a los radicales primarios que pueden contener varios átomos de carbono y puede desarrollarse en enlaces carbono – carbono débiles de la cadena, en impurezas (Ammala et al., 2011).

En la etapa de propagación pueden ocurrir varias reacciones, una de ellas es que se produzca una rotura del radical primario formado en la etapa inicial que conduce a la obtención del monómero constituyente del material degradado y generar un nuevo radical, el cual debe estabilizarse, proceso que se lleva a cabo mediante la transferencia de hidrógeno. Esta transferencia puede ser inter o intra molecular (Ammala A et al., 2011)

Las reacciones de formación de monómeros así como la de transferencia de hidrógenos que aparecen en esta etapa de propagación están influenciadas por factores como la temperatura o la presión, también por la cantidad de hidrógenos presentes en la molécula. A elevadas temperaturas la reacción de generación de monómeros está mucho más favorecida que a temperaturas moderadas produciendo un mayor número de radicales cortos que tienden a cambiar a través de la reacción que genera parafinas en una transferencia intermolecular.

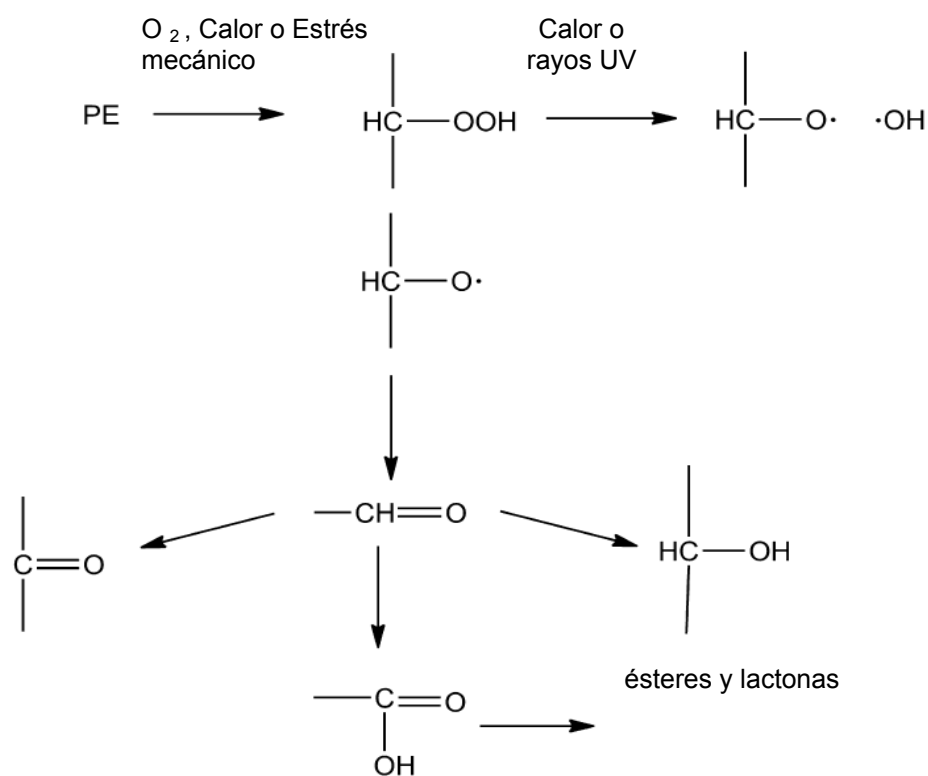


Figura 2. Esquema simplificado que muestra productos de la degradación de PE. Fuente: Wiles DM y Scott G, 2006.

De otro lado, si la molécula cuenta con abundancia de hidrógenos, las reacciones de transferencia y posterior rotura de enlaces pueden producir monómeros por lo tanto el rendimiento obtenido de este producto será reducido. Además, la naturaleza del material a degradar también influye en los productos obtenidos pudiendo obtenerse en esta etapa cantidades considerables del monómero que constituye el polímero, resultado de la

primera rotura del radical primario.

Como resultado de la combinación de todos los procesos de estabilización se obtienen, en mayor o menor medida como productos de la etapa de propagación un compuesto saturado, uno insaturado y un nuevo radical libre (Ojeda TFM, et. al., 2009).

6. LA SITUACIÓN DE LOS POLÍMEROS EN COLOMBIA

En Colombia, el volumen de estos va en aumento y por su difícil degradación es cada vez más común la acumulación de grandes volúmenes de plástico en los rellenos sanitarios, acortando la vida útil de estos (DANE, 2009).

Para el año 2010 la industria del plástico tuvo una tasa de crecimiento de 0.54% y una tasa bruta de 9.49%; las cifras de 2011 aún no se conocen, de acuerdo con la “Encuesta Anual Manufacturera del DANE” pero se presume que van en aumento debido a la proliferación de estos empaques tanto en la industria como en los lugares en los cuales se vierten los desechos.

Dicha tendencia de consumo ha provocado que la industria mundial se incline por desarrollar diversos tipos de plásticos biodegradables; esto con el objetivo de obtener la descomposición de los polímeros en un menor tiempo, y de esta manera reducir los niveles de contaminación en el medio ambiente. Según la SymphonyPlastic Technologies (PLC), la tecnología que posee una mayor eficacia es la Oxo-degradación, la cual produce transformaciones en las reacciones del material, acelerando el proceso de degradación (<http://degradable.net/controlledlife-plastic/why-degradable/>).

En los últimos 5 años, las exportaciones colombianas de plástico, envases y empaques han mejorado su desempeño. Analizando el periodo entre 2002 y 2006, se observa que el total de las exportaciones de plástico pasaron de US\$375 millones a US\$871 millones, lo que significa un crecimiento de 132%. Por su parte, las exportaciones de envases y empaques pasaron de US\$41

millones a US\$87 millones, mostrando un crecimiento de 110%. Aunque la dinámica exportadora en ambos sectores es destacada, la tendencia de la industria mundial exige que se desarrollen nuevos tipos de plásticos biodegradables. Sin embargo, no existe información al detalle de exportaciones de productos plásticos adecuados para que tengan un proceso más efectivo de degradación (Viceministerio de Ambiente, 2004).

7. BIODEGRADACIÓN DEL POLIETILENO

La biodegradación es regida por diferentes factores que incluyen características del polímero, tipo de organismo, y la naturaleza del pretratamiento. Las características del polímero como es la movilidad, tacticidad, cristalinidad, peso molecular, tipo de grupos funcionales y los sustituyentes presentes en su estructura, y plastificantes o aditivos adicionados al polímero, todos juegan un papel importante en la degradación (Shah A et al., 2008). La biodegradación es un proceso por el cual sustancias orgánicas son descompuestas por organismos vivos. El término es usado frecuentemente en relación con la ecología, manejo de desperdicios, remediación ambiental (bio-remediación) y para materiales plásticos, debido a su largo tiempo de vida. El material orgánico puede ser degradado aeróbicamente o anaeróbicamente. Un término relacionado de biodegradación es bio-mineralización, en el cual la materia orgánica es convertida a inorgánica (Shah A, et al., 2008).

La principal estrategia empleada para biodegradar el polietileno es el cultivo aerobio de microorganismos, el cual proporciona condiciones de crecimiento ideales para la actividad enzimática de los microorganismos empleados, logrando mejores resultados si se implementa una primera etapa de degradación oxidativa abiótica por acción de la luz ultravioleta (UV) (fotodegradación) o por degradación térmica.

La incorporación de oxígeno en la cadena principal de carbono del polímero produce una formación de grupos funcionales como carboxílico o ácidos hidrocarboxílicos, ésteres así como aldehídos y alcoholes (Ammala et al., 2011), que son utilizados por parte de los microorganismos y sus enzimas

(mecanismo catalítico) (Ammala A et al., 2011; Shah AA et al., 2008; Muntaz T et al., 2010; Nowak B, 2011; Ojeda TFM et al., 2009; Sudhakar M et al., 2008; Zahra et al., 2010;) como fuente de carbono. En esta primera etapa (oxidación abiótica) se determina la velocidad de todo el proceso (Ammala A., et al., 2011).

La segunda etapa es la biodegradación de los productos de la oxidación por microorganismos (bacterias, hongos, actinomicetes y arqueas) que consume los fragmentos de las cadenas de carbono oxidadas para formar CO₂, H₂O y biomasa.

7.1. MICROORGANISMOS BIODEGRADADORES DE POLIETILENO

Diferentes microorganismos degradadores de polietileno han sido descubiertos como los reportados por Roy et al., 2008, quien afirmó que la degradación de películas de polietileno de baja densidad que contenían estearato de cobalto como pro-oxidante fue llevado a cabo por especies bacterianas del género *Bacillus* como *B. pumilus*, *B. cereus* y *B. halodenitrifican*, que utilizaron compuestos de bajo peso molecular oxigenados o no oxigenados extraíbles del polímero, generando pérdidas del 8% de su peso. Sudhakar et. al., también encontró bacterias de este mismo género aisladas del mar en la India identificadas como *Bacillus cereus* y *Bacillus sphericus*, con un mayor porcentaje en la pérdida de peso (19%), resultado similar al conseguido con *Pseudomonas* sp, en láminas de polietileno de alta densidad que perdieron 15% de su peso (Balasubramanian et al., 2010).

Los actinomicetes también tienen un espacio importante entre los microorganismos degradadores de polietileno en especial *Rhodococcus* sp. Koutny et. al., 2009, reportó que cepas de *Rhodococcus* sp., formaron una biopelícula en la superficie de una láminade polietileno de baja densidad oxidada que contenía aditivos pro-oxidantes, sugiriendo que estas quizás pudieron ser asimiladas por el microorganismo. La especie *Rhodococcus ruber* está implicada en la biodegradación del polietileno mediante la adhesión a

las láminas del polímero y por acción enzimática (Mor R y Sivan A, 2008; Santo M et al., 2012; Sivan A, 2011), mientras que Fontanella S. et. al., 2010, reportó a *Rhodococcus rhodochrous* como capaz de adherirse y utilizar el polietileno con aditivos (hierro y manganeso) como fuente de carbono (figura 3.). Por otro lado Albestsson et. al., 1995, estudió la degradación termo-oxidativa de polietileno durante 3.5 años y reportó que los ácidos orgánicos (compuestos extraíbles de más de 12 carbonos) producidos durante el proceso de degradación no se detectaron al terminar, ya que estos fueron probablemente utilizados por *Arthrobacter paraffineu*, que fue adicionado al medio.

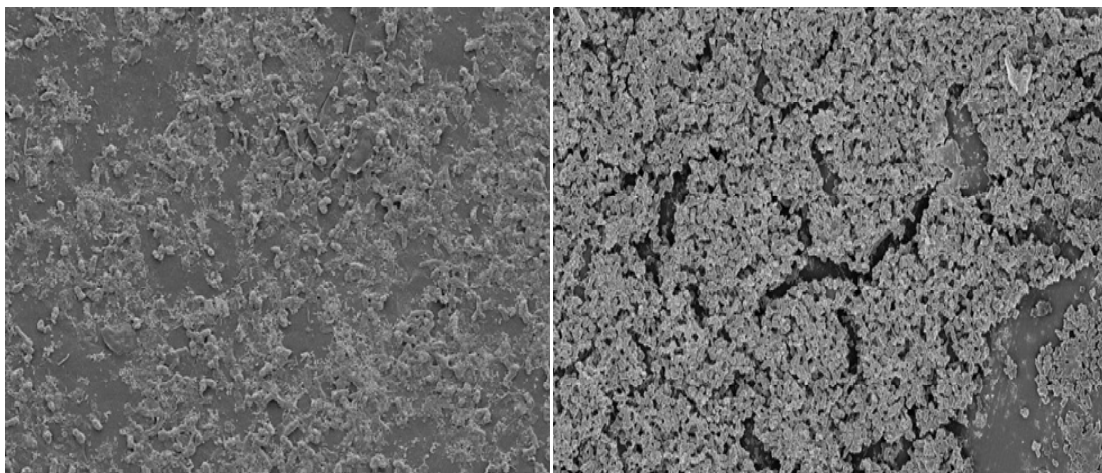


Figura 3. Adhesión de *Rhodococcus rhodochrous* a laminas de PE con aditivos (Fe y Mn). Fuente Fontanella S et al., 2010.

Otros estudios también han reportado la colonización y degradación de la superficie de películas de polietileno oxidado por hongos previamente aislados, identificados pero no nombrados por Corti A et. al., 2010. Motta O et. al., 2009 *Curvulariasp.*, presentó una colonización lenta de las láminas de polietileno completada hasta las 9 semanas con penetración de las laminas de PE como también encontró Zahra et. al., 2010 con *Aspergillus fumigatus* y *Aspergillus terreus*(figura 4.).Zahra et. al., 2010 y Ojeda et. al., 2009 coinciden en que el género *Aspergillus* es capaz de degradar el polietileno, así como hongos del género *Penicillium* encontrados por Ojeda et al., 2009.

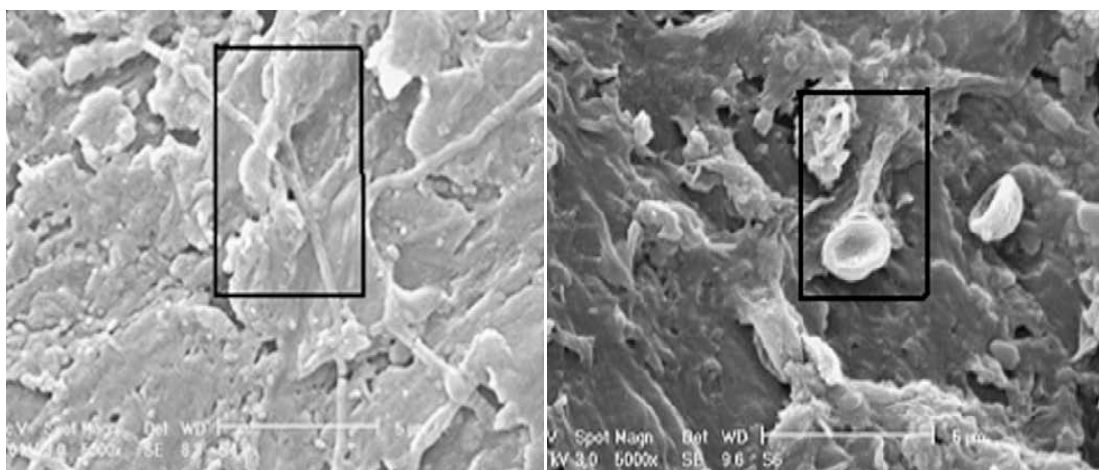


Figura 4. Penetración de hifas de *Aspergillus terreus* y *Aspergillus fumigatus*. Fuente: Zahra S et al., 2010.

Es evidente que los consorcios microbianos son empleados para degradar el PE, pero muchas especies no son identificadas por los investigadores, lo cual puede presentar un sesgo en la información de microorganismos degradadores de polietileno y las enzimas que producen debido a que sólo las poblaciones sobresalientes en número son consideradas. Los microorganismos hasta ahora reportados se muestran en la tabla No. 4.

Tabla 4. Microorganismos degradadores de polietileno. Fuente: autora.

Grupo	Autor	Micróorganismo	Pretratamiento	Tipo de tratamiento biológico
Bacteria	Shudhakar et al., 2008	<i>Bacillus cereus</i>	Termo-oxidación	Cultivo sumergido, con medio de cultivo agua de mar a 30°C durante 12 meses.
			Sin pretratamiento	Cultivo sumergido, con medio de cultivo agua de mar a 30°C durante 12 meses.
		<i>Bacillus sphericus</i>	Termo-oxidación	Cultivo sumergido, con medio de cultivo agua de mar a 30°C durante 12 meses.

			Sin pretratamiento	Cultivo sumergido, con medio de cultivo agua de mar a 30°C durante 12 meses.
	Nowak et al., 2011	<i>Bacillus</i> sp.	Sin pretratamiento	Fermentación solida: suelo, durante 7 meses y medio.
	Balasubramanian et al., 2010	<i>Pseudomonas</i> sp.	Sin pretratamiento	Cultivo sumergido con medio mineral, durante 1 mes.
		<i>Arthrobacter</i> sp.	Sin pretratamiento	Cultivo sumergido con medio mineral, durante 1 mes.
Hongos	Motta et al., 2009	<i>Curvulariasp.</i>	Oxidación por un agente químico específico	Cultivo en medio solido sabouraud, durante 2 meses y una semana.
	Ojeda et al., 2009	<i>Aspergillus</i> sp	Exposición a condiciones medioambientales.	Fermentación solida: compost y suelo, durante 12 meses.
		<i>Penicillium</i> sp.	Exposición a condiciones medioambientales.	Fermentación solida: compost y suelo, durante 12 meses.
	Zahara, 2010	<i>Apergillusfumigatus</i>	Foto-oxidación	Fermentación solida: compost, durante 3 meses y 10 días.
		<i>Aspergillus terreus</i>	Foto-oxidación	Fermentación solida: compost, durante 3 meses y 10 días.
		<i>Fusarium solani</i>	Foto-oxidación	Fermentación solida: compost, durante 3 meses y 10 días.
	Nowak et al., 2011	<i>Gliocladiumviride</i>	Sin pretratamiento	Fermentación solida: suelo, durante 7 meses y medio.
		<i>Aspergillus awamori</i>	Sin pretratamiento	Fermentación solida: suelo, durante 7 meses y medio.
		<i>Mortierellasubtilissima</i>	Sin pretratamiento	Fermentación solida: suelo, durante 7 meses y medio.
	Jakubowicz, 2011	<i>Paraconythyriumsporulosum</i>	Termo-oxidación	Fermentación solida: compost, durante 20 meses, siete días y suelo, durante 20 meses.
Corti et al., 2010	4 Hongos identificados, pero no publicados.	Foto-oxidación	Cultivo en medio solido con 1g/L de glucosa y sales minerales, durante 6 meses.	
Actinomyce s	Fontanella et al., 2010.	<i>Rhodococcus rhodochrous</i>	Foto-oxidación	Fermentación solida: compost, suelo y medio mineral, durante

				10 meses siete días y suelo durante 11 meses.
	Santo et al., 2012.	<i>Rhodococcus ruber</i>	Sin pretratamiento	Cultivo sumergido con medio sintético, (tiempo no especificado).
	Koutny et al., 2009.	<i>Rhodococcus</i> sp.	Foto-oxidación	Medio básico de sales minerales con tween 80, durante 1 mes.
Arqueas	Jakubowicz et al., 2011.	<i>Nitrosopumilusmaritimus</i>	Termo-oxidación	Fermentación solida: compost, durante 20 meses, siete días y suelo, durante 20 meses.
Consortios no definidos	Husarova et al., 2010.	Consortio I de suelo y compost	Termo-oxidación	Fermentación solida: compost, durante 15 meses, diez días y suelo, durante 16 meses.
	Mumtaz et al., 2010.	Consortio II de suelo y compost	Termo-oxidación	Fermentación solida: suelo, durante 24 meses.
	Soni et al., 2009.	Consortio III de suelo y compost	Termo-oxidación	Cultivo liquido con caldo mínimo David con dextrosa, durante 10 días.

7.2 TIPOS DE CULTIVO PARA LA BIODEGRADACIÓN DEL POLIETILENO

Las estrategias para los medios de cultivo se pueden agrupar en sólidos y líquidos. Zahra S et al., 2010, empleó un medio constituido por desperdicios orgánicos con material vegetal, materiales con alto contenido de carbono y una parte de compost y láminas de polietileno de baja densidad (figura 5). En cultivos a base de compost los porcentajes de mineralización de láminas con aditivos estuvieron en rangos muy similares pero con diferencia en el tiempo. 23,3% en 90 días de incubación (Ojeda TFM, et al., 2009), 23% en 8 meses (Husarova et al., 2010) y 22% en 300 días del ensayo.

En los cultivos sólidos también se ha empleado suelo para simular las condiciones naturales a las que puede ser sometido el plástico en especial la participación de microorganismos que podrían estar presentes su biodegradación. Los índices de mineralización son menores y más lentos comparados con los obtenidos en cultivos que contienen compost (Husarova L et al., 2010), como encontró Fontanella S et. al., 2010, analizando tres láminas

de polietileno de alta, baja y lineal de baja densidad con aditivos cultivados en suelo que perdieron menos de 5%, 9% y 12% respectivamente y en compost 6%, 16% y 24% respectivamente.

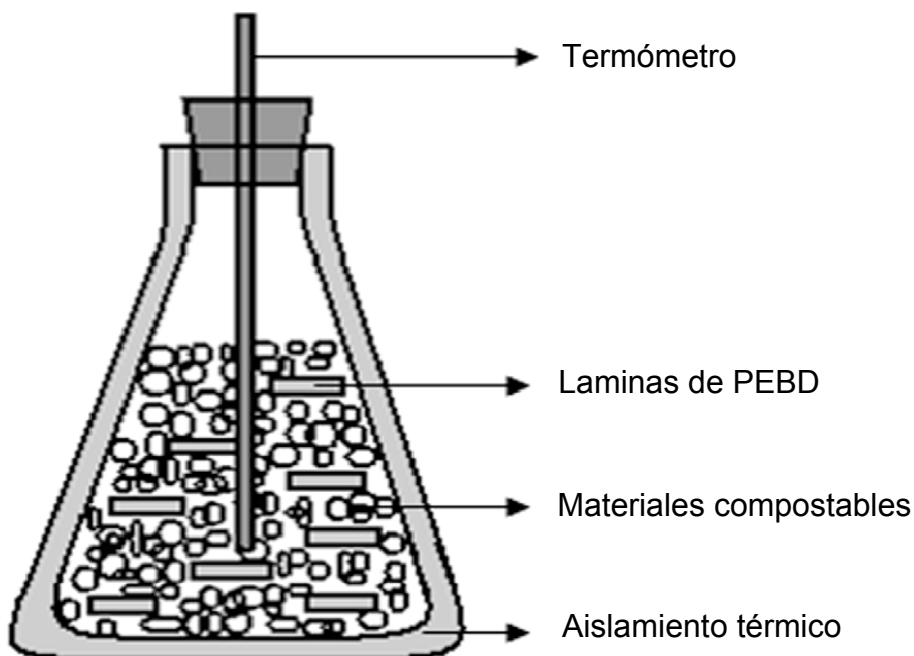


Figura 5. Esquema del sistema de cultivo en compost. Editado de Zahra S et al., 2010.

Porcentajes mucho menores se encontraron con suelo de bosque 0,52%, suelo con residuos de carbono 0,50% y suelo de un cráter 0,62% debido a que las láminas no fueron expuestas a degradación abiótica antes de ser expuestas a las muestras de suelo, es en este experimento se muestra que se necesitan de tiempos más largos de incubación para que se produzcan grupos carbonilos que sean asimilados por los microorganismos (Nowak et. al., 2011). A partir de esto se puede suponer que los microorganismos presentes tienen en su metabolismo un factor capaz de degradar el polietileno sin pretratamiento o que la composición del suelo favorece la biodegradación del polímero. En el experimento de Jakubowicz et. al., 2011, se presentó el único resultado en el que el suelo presentó un mayor porcentaje de biodegradación (91%) con respecto al compost que fue de 43%, en dos años de cultivo de láminas de polietileno suplementadas con sal de manganeso. Estos resultados son importantes para la elaboración de plásticos biodegradables ya que trozos de

polietileno adicionados con esta sal se desintegrarán sin causar daño y pueden ser transformados en energía y una pequeña porción a biomasa (Jakubowicz et al., 2011). Muntaz resalta que para obtener una degradación en mayor proporción del polietileno la degradación abiótica y biótica deben ser combinadas sinérgicamente (Muntaz et al, 2010).

Para que los hongos colonicen y biodegraden el polietileno se emplea un sistema en el cual las láminas son introducidas en placas de agar mínimo con micronutrientes (Corti A et. al., 2010) o en agar sabouraud (Motta et. al., 2009) como se observa en la figura 6.

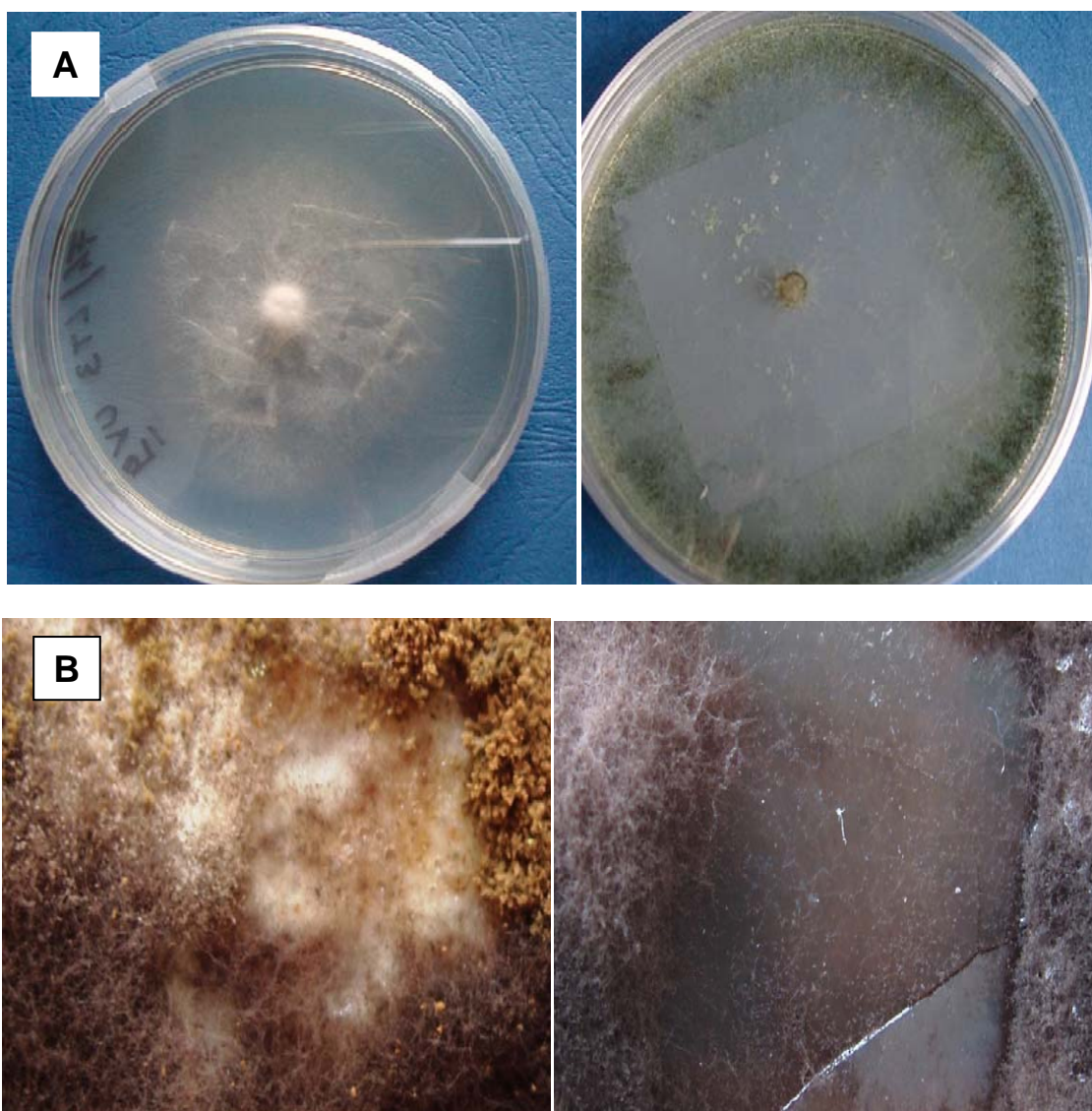


Figura 6. Colonización de laminas de PE por hongos en medios solidos: A) agar mínimo con nutrientes, fuente: Corti A et. al., 2010). B) agar sabouraud. Fuente Motta et. al., 2009.

Los cultivos líquidos ofrecen condiciones más controladas como lo menciona Fontanella S et. al., 2010, al incluir en el medio sólo nutrientes que aseguren el desarrollo de los microorganismos y el polímero como única fuente de carbono (Fontanella S et. al., 2010; Koutny M. et. al., 2009; Santo M et. al., 2012). Para inducir la enzimalacasa de *Rhodococcus ruber* se adicionaron diferentes concentraciones de cobre al medio sintético (medio mínimo) mejorando la biodegradación del polietileno en un 75%, lo que reflejó un 15% de disminución en el peso del polímero (Santo M et. al., 2012). Balasubramanian V. et al., 2010, logró una reducción en el peso de 15% y 12% con *Pseudomonas* sp y *Arthrobacter* sp. en un medio mínimo a los 30 días del ensayo. Soni R et. al., 2009 suplementó un medio mínimo con dextrosa e inoculó un consorcio de 12 bacterias (no especificadas) junto a polietileno en polvo no-agujereado y polietileno en polvo "agujereado". Al transformar el polietileno en polvo y agujerearlo se facilitó la accesibilidad del consorcio a la matriz del PEBD, reflejado en una fase exponencial más corta del consorcio por acción conjunta del consorcio que actúa en los agujeros generados en el agujerearlo (Soni R et. al., 2009). Una alternativa para la biodegradación del polietileno es cultivar las bacterias en su medio natural por ejemplo bacterias de origen marino, estrategia que puede favorecer el proceso ya que obtuvo el porcentaje mayor de degradación (19%) con láminas pretratadas con altas temperaturas (Sudhakar M et al., 2008).

Estos cultivos son potencialmente una herramienta adicional para los análisis de cultivos sólidos, porque aportan una respuesta clara de si el microorganismo está en capacidad de crecer con el polímero como única fuente de carbono y así asimilarla a la biomasa microbiana, que puede ser útil como parte de la cadena trófica. Además se puede analizar si los aditivos empleados para hacer el polietileno biodegradable son tóxicos en algún momento por acumulación en donde es tratado debido a los altos volúmenes utilizados de este material en la cotidianidad, o si por el contrario aportan algún tipo de elemento traza que ayuda al microorganismo.

Es necesario que el polietileno este disponible para ser biodegradado, para ello algunos microorganismos producen sustancias (biosurfactantes) que permiten

que moléculas apolares como son las de polietileno ingresen para ser asimiladas o biodegradadas (Fontanella et. al., 2010; Sivan A, 2011; Mor R y Sivan A, 2008) o pueden ser adicionadas a los medios de cultivo como el Tween 80 o aceite vegetal (Mor R y Sivan A, 2008; Balasubramanian V. et. al., 2010) para mejorar la adherencia de los microorganismos y aumentar la posibilidad de biodegradar el polietileno, manteniendo activo el metabolismo celular como se evidencia en la figura 7.

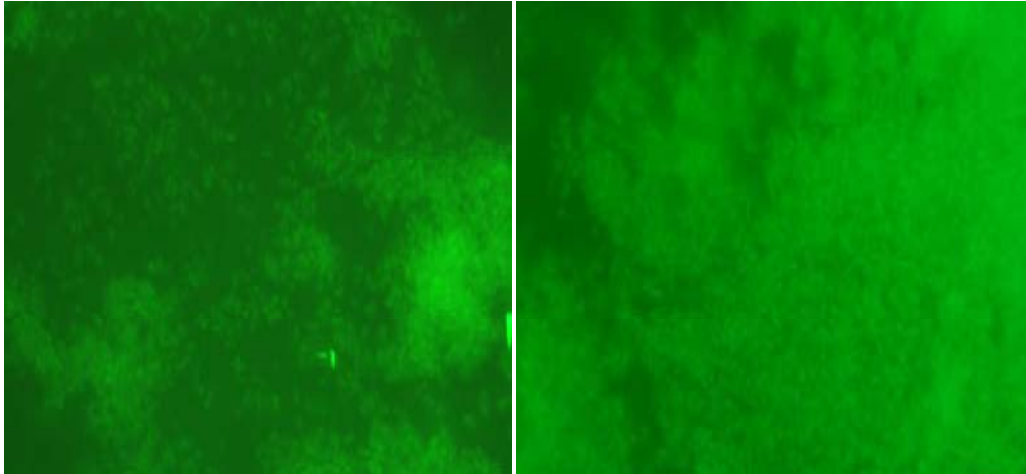


Figura 7. Células vivas (de color verde) adheridas al PE. A) *Arthrobacter* sp. B) *Pseudomonas* sp. Fuente: Balasubramanian V. et. al., 2010.

7.3. MECANISMO CATALÍTICO DE DEGRADACIÓN

La catálisis es un proceso por el cual se aumenta la velocidad de una reacción química, debido a la participación de enzimas producidas por microorganismos (figura 8). Albertsson et al., fueron los primeros y hasta el momento los únicos en descubrir que la degradación o asimilación de los productos intermedarios de la degradación abiótica del polietileno se realiza únicamente por medio de la β -oxidación, removiendo dos fragmentos de carbono mediada por enzimas peroxidasa y hidrolasa (Albertsson et al., 1995).

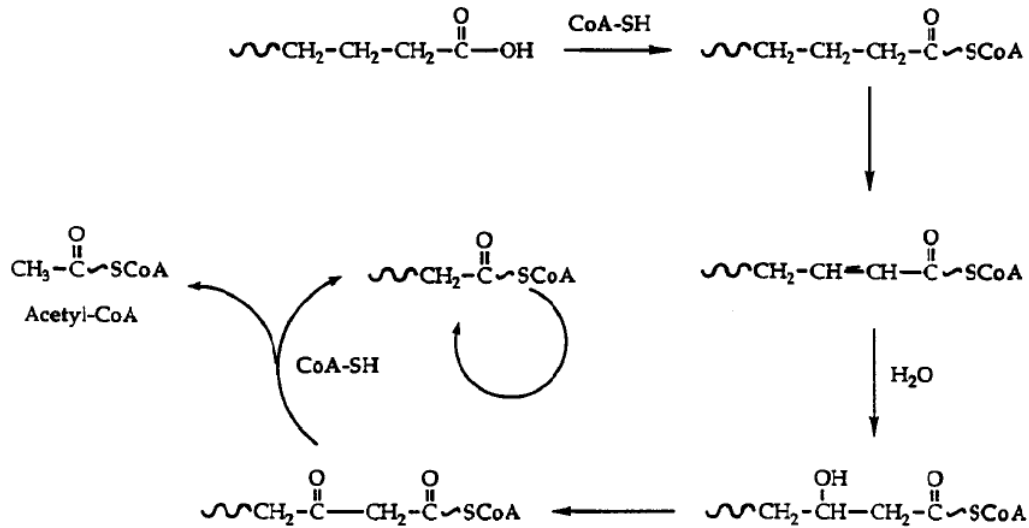


Figura 8. Biodegradación del PE. Fuente: Albertsson et al., 1995.

El papel de estas moléculas es vital para que el microorganismo pueda utilizar el PE como fuente de carbono o asimilarlo como biomasa, porque sin su acción compuestos de alto peso molecular son poco susceptibles al ataque microbiano. Es por eso que la mayoría de los autores destacan su función en los diferentes procesos desarrollados para la biodegradación del polímero (Albertsson et al., 1995; Ammala et al., 2011; Balasubramanian V et al., 2010; Soni R et al., 2009; Koutny M et al., 2009; Santo M et al., 2012; Corti A et al., 2010; Motta O et al., 2010; Nowak B et al., 2011) para favorecer la formación de moléculas de menor tamaño y lograr la formación de oligómeros, dímeros y/o monómeros (Ammala et al., 2011). Es así como Santo M et al., 2012, busco la concentración de cobre para estimular la lacasa y mejorar el potencial de producción y degradación de la enzima. Ojeda et al., 2009 y Husarova L et al., 2010, encontraron también que la acción de las enzimas mejora en el compost gracias a la temperatura de éste y aporta elementos traza. Mumtaz T et al., 2010, encontró que el ataque a la superficie del PE fue efectuada por enzimas peroxidasa de origen bacteriano. Watanabe et al., 2008 encontró que la acción de las enzimas de *Bacillus circulans*, *Bacillus brevis* y *Bacillus sphaericus* degradan el polietileno por cambios en la superficie de sus laminas produciendo grupos OH y carbonos unidos por doble enlace utilizables en el metabolismo de estas bacterias (Watanabe et al., 2008).

8. PROPUESTA PARA MEJORAR EL PROCESO

Los polímeros biodegradables provienen de fuentes renovables (plantas y microorganismos) que son adecuados para ser desechados en el suelo. Sin embargo, estos son 2.5-10 veces más costoso que los polímeros convencionales y con frecuencia muestran propiedades físicas y químicas que restringen su uso.

Actualmente, las mezclas de polietileno con otros compuestos o con aditivos o pro oxidantes constituyen una alternativa más económica, elevando el costo final por solo 10-20%. Entre las sustancias añadidas a los aditivos pro oxidantes están compuestos de cobalto, magnesio y hierro, como también estearatos de manganeso e hierro (Fontanella S et al., 2010; Husanova L et al., 2010). Aunque esta alternativa sea más económica, los avances en esta área no han sido muchos y el índice de degradación es bajo y el tiempo es prolongado. La causa principal puede ser que los medios de cultivo no estimulan el metabolismo del microorganismo y por la complejidad en la composición del compost y el suelo los resultados obtenidos como la tasa absoluta de deterioro no se pueden extrapolar con medios definidos o en condiciones aceleradas (Ammala A et al., 2011). Además otro factor que varía en todos los experimentos inclusive si son realizados con las condiciones iguales es la composición específica del polímero (Ammala A et al., 2011) que cambia entre productores y plantas de plásticos y es un factor que altera el proceso de biodegradación.

9. METODOLOGÍA PROPUESTA DE BIODEGRADACION DEL PE EN COLOMBIA

En Colombia y para iniciar en Bogotá, se puede hacer una propuesta aprovechando la inclusión de los recicladores en la labor de recolección de basuras para que los envases y productos de polietileno se recojan y no lleguen a los rellenos sanitarios, sino que inicien un proceso de degradación

consistente en la pulverización de las laminas de polietileno y posteriormente agujerear las partículas sometiéndolas a 400 psi en presencia de N₂ en reactor de alta presión como lo hizo Soni et al., 2009, quien fue el único autor en mejorar la disponibilidad significativamente y en consecuencia disminuyó el peso del polímero o aumento su mineralización con incubaciones mucho mas cortas en diez días comparado con otros Fontanella et. al., 2010; Sivan A, 2011; Mor R y Sivan A, 2008 que lograron resultados similares en la disminución de peso del PE pero en tiempos superiores del orden de dos años, para posteriormente irradiarlo con luz solar y finalmente introducirlo en medio solido (compost) y liquido (medio mineral). Sería importante investigar cuales son las enzimas que producen los microorganismos, identificarlas y mejorar sus condiciones para obtener un mejor desempeño en la degradación del polietileno basados en la técnica utilizada por Santo et al., 2012 en la que utilizaron diferentes concentraciones no toxicas de Cu como inductor de la enzima, y de igual forma implementarla en la metodología propuesta buscando los valores óptimos de temperatura y pH que favorecen la acción enzimática u otros parámetros que induzcan la producción de enzimas degradadoras de PE, y que constituyen una buena opción aun cuando aún no se han reportado trabajos con las condiciones propuestas en la tabla 5. Adicionalmente agregar a los medios de cultivo un sustrato hidrofóbico como el glicerol para estimular las poblaciones capaces de degradar este tipo de sustratos y las productoras de biosurfactantes que podrían favorecer la disponibilidad del Pe para si mismas o para otras poblaciones.

Tabla 5. Experimentos propuestos para la biodegradación del PE en Colombia.

Microorganismo	Medio de cultivo	Temperatura
<i>Rhodococcus ruber</i> (Santo et al., 2012)	Mezcla de compost	58°C
<i>Pseudomonas</i> (Balasubramanian et al., 2010)		
<i>Aspergillus sp.</i> (Ojeda et al., 2009)	Medio mínimo en cultivo alimentado	58°C y 30°C

<i>Arqueas de rellenos sanitarios o compost</i>	Mezcla de compost	58°C
	Medio mínimo en cultivo alimentado	58°C y 30°C
Adicionar glicerol a concentraciones de 0.1, 0.5 y 1% empleado como co-sustrato.		

10. CONCLUSIONES

- Con este trabajo se pudo observar los diferentes estudios a nivel mundial y los mecanismos que son usados para la biodegradación de materiales.
- Los microorganismos mas relevantes capaces de degradar el polietileno fueron *Bacillus cereus*, *Bacillus sphaericus*, *Pseudomonas sp.* y *Rhodococcus sp.*
- El mecanismo empleado por los microorganismos para degradar el polietileno es una acción sinérgica con la degradación abiótica y la biológica conducida por enzimas como las peroxidadas, oxidasas e hidrolasas, las cuales permiten que los productos de degradación biótica sean llevados al interior de la célula transformando los por la β -oxidación a CO₂, H₂O.
- Con esta investigación se planteó una metodología para la biodegradación del polietileno teniendo como primer paso pulverizar el polietileno, agujerearlo y exponerlo a la luz solar para disminuir el tiempo de degradación y mejorar la acción enzimática de microorganismos como *Rhodococcus ruber*, *Pseudomonas* y *Aspergillus sp.*, para postularlo como una alternativa viable frente a la existentes en Colombia y en América Latina.

11. BIBLIOGRAFÍA

1. Albertsson AC, Barenstedt C, Karlsson S, Lindberg T. Degradation product pattern and morphology changes as means to differentiate abiotically and biotically aged degradable polyethylene. *Polymer* 1995; **36**, 3075-3083.
2. Ammala A, Bateman S, Dean K, Petanakis E, Sangwan P, Yun Q, Yu L, Patrick C, Leong KH. An overview of degradable and biodegradable polyolefins. *Progress in PolymerScience* 2011; **36**, 1015-1049.
3. Balasubramanian V, Natajaran K, Hemambika B, Ramesh N, Sumathi CS, Kottaimuthu R, Rajesh V. High-density polyethylene (HDPE)-degrading potential bacteria from marine ecosystem of Gulf of Mannar, India. *Letters in AppliedMicrobiology*2010; **51**, 205-211.
4. Bhardwaj H, Gupta R, Tiwari A. Communities of microbial enzymes associated with biodegradation of plastics. *Journal of Polymers and the Environment* 2012;
5. Corti A, Muniyasamy S, Vitali M, Imam SH, Chiellini E. Oxidation and biodegradation of polyethylene films containing pro-oxidant additives: Synergistic effects of sunlight exposure, thermal aging and fungal biodegradation. *PolymerDegradation and Stability*2010; **95**, 1106-1114.
6. DANE.Encuesta anual manufacturera. http://www.bogota.gov.co/portel/libreria/php/x_frame_detalle.php?id=43773 Consultado 29 de Julio de 2012.
7. Fontanella S; Bonhomme S, Kounny M, Husarova L, Brusson JM, Courdavault JP, Pitteri S, Samuel G, Pichon Gérard, Lemaire J, Delort AM. Comparison of the biodegradability of various polyethylene films containing pro-oxidant additives. *PolymerDegradation and Stability*2010; **95**,1011-1021.
8. Husarova L, Machovsky M, Gerych P, Houser J, Kounny M. Aerobic biodegradation of calcium carbonate filled polyethylene film containing pro-oxidant additives. *PolymerDegradation and Stability*. 2010; **95**, 1794-1799.
9. Jakubowicz I, Yarahmadi N, Arthurson V. Kinetics of abiotic and biotic

- degradability of low-density polyethylene containing prodegradant additives and its effect on the growth of microbial communities. . *Polymer Degradation and Stability*. 2011; **96**, 919-928.
10. Katime I. *Química Física Macromolecular II*. (eds.). Servicio Editorial UPV/EHU. Bilbao, España. 2004; 350-405.
 11. Koutny M, Amato P, Muchova M, Ruzicka J, Delort A-M. Soil bacterial strains able to grow on the surface of oxidized polyethylene film containing prooxidant additives. *International Biodeterioration & Biodegradation* 2009; **63**, 354-357.
 12. Kumanayaka TO, Parthasarathy R, Jollands M. Accelerating effect of montmorillonite on oxidative degradation of polyethylene nanocomposites. *Polymer Degradation and Stability* 2010. **95**: 672-676.
 13. Mor R, Sivan A. Biofilm formation and partial biodegradation of polystyrene by the actinomycete *Rhodococcus ruber*. *Biodegradation* 2008; **19**, 851-858.
 14. Motta O, Proto A, De Carlo F, De Caro F, Santoro E, Brunetti L, Capunzo. Utilization of chemically oxidized polystyrene as co-substrate by filamentous fungi. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 2009; **212**, 61-66.
 15. Mumtaz T, Khan MR, Hassan MA. Study of environmental biodegradation of LDPE films in soil using optical and scanning electron microscopy. *Micron* 2010; **41**, 430-438.
 16. Nowak B, Pająk J, Drozd-Bratkowicz M, Rymarz G. Microorganisms participating in the biodegradation of modified polyethylene films in different soils under laboratory conditions. *International Biodeterioration & Biodegradation* 2011; **65**, 757-767.
 17. Ojeda TFM, Dalmolin E, Forte MMC, Jacques RJS, Bento FM, Camargo FAO. Abiotic and biotic degradation of oxo-biodegradable polyethylenes. *Polymer Degradation and Stability* 2009; **94**, 965-970.
 18. Proexport. Prospección y tendencias internacionales, diciembre de 2007. Proexport, Colombia. Fuente: www.proexport.com.co. consultado 22 de noviembre de 2012.
 19. Roy PK, Titus S, Surekha P, Tulsi E, Deshmukh C, Rajogopal C.

- Degradation of abiotically aged LDPE films containing por-oxidant by bacterial consortium. . *Polymer Degradation and Stability* 2008; **93**, 1917-1922.
20. Santo M, Weitsman R, Sivan A. The role of the copper-binding enzyme – laccase – in the biodegradation of polyethylene by the actinomycete *Rhodococcus ruber*. *International Biodeterioration & Biodegradation* 2012, **X**, 1-7.
 21. Schwarz O. Ciencia de los plásticos. (eds.). Grupo Editorial Costa Nogal S.A, Montevideo, Uruguay. 2002; 85-120.
 22. Shah AA, Hasan F, Hameed A, Ahmed S. Biological degradation of plastics: A comprehensive review. *Biotechnology Advances* 2008; **26**, 246-265.
 23. Sivan A. New perspectives in plastic biodegradation. *Current Opinion in Biotechnology* 2011; **22**, 422-426.
 24. Soni R, Kapri A, Zaidi MGH, Goel R. Comparative Biodegradation Studies of Non- poronized and poronized LDPE using indigenous Microbial consortium. *Polymer Journal Environmental* 2009; **17**, 233-239.
 25. Sudhakar M, Doble M, Murthy PS, Venkatesan R. Marine microbe-mediated biodegradation of low- and high-density polyethylene's. *International Biodeterioration & Biodegradation* 2008; **61**, 203-213.
 26. Symphony Plastic Technologies. Tomado de <http://degradable.net/controlledlife-plastic/why-degradable/>. Consultado el 1 de noviembre de 2012.
 27. Viceministerio de ambiente. Guías ambientales. Procesos básicos de transformación de la industria plástica. Manejo y aprovechamiento, disposición de residuos plásticos. Bogotá: 2004.
 28. Watanabe T, Ohtake Y, Asabe H, Murakami N, Furukawa M. Biodegradability and Degrading Microbes of Low-Density Polyethylene. *Journal of Applied Polymer Science* 2009; **111**, 551-599.
 29. Wiles DM, Scott G. Polyolefins with controlled environmental degradability. *Polymer Degradation and Stability* 2006; **91**, 1581-1592.
 30. Zahra S, Abbas SS, Mahsa M-T, Mohsen N. Biodegradation of low-density polyethylene (LDPE) by isolated fungi in solid waste medium.

Waste Management 2010; **30**, 396-401.