



BIODEGRADACIÓN DEL POLIESTIRENO EXPANDIDO CON MICROBIOTA INTESTINAL AISLADA DE *Tenebrio molitor* (TENEBRIONIDAE)

Biodegradation of expanded polystyrene with isolated intestinal microbiota from *Tenebrio molitor* (Tenebrionidae)

VERÓNICA VERA-MARMANILLO

Universidad San Antonio Abad del Cusco, Perú

KEYWORDS

Gut microbiota
Tenebrio molitor
Biochemical composition
Expanded polystyrene
Bacterial isolation

ABSTRACT

The research project was carried out using biotechnology as an alternative solution for a problem that is still difficult to solve, such as the biodegradation of single-use plastics. The objective was to isolate bacteria from the intestinal microbiota of Tenebrio molitor larvae as organisms that degrade expanded polystyrene, to identify the genus of isolated bacteria, to determine the volume of polystyrene consumed by the larvae as their sole source of food, under laboratory conditions, and finally assess the biochemical composition of the waste generated as part of the digestion process of Tenebrio molitor larvae.

PALABRAS CLAVE

Microbiota intestinal
Tenebrio molitor
Composición bioquímica
Poliestireno expandido
Aislamiento bacteriano

RESUMEN

El proyecto de investigación se ha realizado utilizando la biotecnología como alternativa de solución a un problema aún de difícil solución como es la biodegradación de plásticos de un solo uso. El objetivo fue aislar bacterias de la microbiota intestinal de larvas de Tenebrio molitor como organismos degradadores de poliestireno expandido, identificar el género de bacterias aisladas, determinar el volumen de poliestireno consumido por las larvas como única fuente de alimento, en condiciones de laboratorio, y finalmente evaluar la composición bioquímica de los residuos generados como parte del proceso de digestión de las larvas de Tenebrio molitor.

Recibido: 14/ 05 / 2022

Aceptado: 16/ 07 / 2022

1. Introducción

La contaminación producida por los polímeros no biodegradables ha experimentado un crecimiento exponencial en los últimos años, razón por lo que se han dedicado esfuerzos a la investigación en la degradación de éstos (Espinoza, 2018). La búsqueda de diversas soluciones, como el uso de plásticos biodegradables, compuestos de almidón o colágeno que permanecen poco tiempo en el ambiente, es una alternativa ecoamigable para mitigar los efectos de los residuos generados por actividad antrópica. Sin embargo, una desventaja, es el elevado costo de producción en comparación al costo de los plásticos de un sólo uso (Albaracin, 2020). Uno de los polímeros derivados del petróleo más utilizados en el mundo, es el poliestireno expandido, al igual que el polietileno de alta y baja densidad, el polipropileno y el PVC con una demanda mundial de aproximadamente 22 millones de toneladas al año (Góngora, 2018).

Los riesgos ambientales recurrentes ocasionados por la producción de espuma de poliestireno es la liberación de sustancias químicas sumamente tóxicas para la atmósfera, incrementando el potencial de los gases de efecto invernadero. La contaminación visual y ambiental que genera el residuo del Poliestireno, al ser considerado el plástico más persistente, es consecuencia de su ciclo de vida tan efímero (Cardozo, 2020). El poliestireno expandido es un producto altamente socorrido en el sector industrial, debido a su maleabilidad y economía puede ser usado en envases, embalajes y la construcción, sin embargo, ello no es justificante para el uso indiscriminado que se le ha dado pues su degradación es tan lenta que puede llegar a permanecer en nuestro medio ambiente durante cientos de años antes de ser incorporados de manera total a la naturaleza (León, 2007).

El estireno es producido y usado en grandes cantidades por la industria petroquímica. La importancia de este compuesto no solo radica en el sector económico- industrial sino también en el sector salud ya que es potencialmente tóxico por considerarse cancerígeno para el hombre pues es liberado en grandes volúmenes sin cuidado alguno al medio ambiente en estado líquido y gaseosos (Mooney, 2006) incidiendo además, en el aumento de los niveles de temperatura ambiental, cooperando al efecto invernadero.

Si consideramos que el 80% de la temperatura a nivel mundial es absorbida por los océanos, desintegrando los glaciales ocasionando con su expansión pérdida de tierra continental, impactando a los ecosistemas marinos.

La búsqueda de una mejor calidad de vida ha aumentado la demanda de bienes y servicios que logran satisfacer las exigencias del consumidor, materiales como los plásticos tienen la capacidad de adaptarse a necesidades técnicas específicas, con un constante incremento en la producción de estos en las últimas décadas (Subramanian, 2000). Se ha reportado que en el 2010 la producción mundial de plásticos fue de 2,65x10¹¹kg, con una tendencia a aumentar un 5 % por año (WU, et al. 2013). Una consecuencia de dicho consumismo es la acumulación de grandes cantidades de desechos. Más del 70 % de los residuos plásticos corresponden a Polietileno, Polipropileno, Cloruro de Polivinilo y Poliestireno (Balakrishnan & Guria, 2007). Este último es uno de los materiales de envasado más empleados en la sociedad de hoy y, al igual que otros productos de embalaje, una vez llega al final de su vida útil, es desechado en vertederos a cielo abierto (Iatkamjornwon, et al. 1999), tardando 150 años en descomponerse (Adjanara, 2010) y generando contaminación del agua y el suelo (KAN & Demiborga, 2009). En Perú, la cantidad mensual de desechos de Poliestireno Expandido (EPS) puede llegar a los 2500 m³ y se pueden acumular más de 6000 m³ en un solo lugar en cuestión de meses (Urrea, 2009). La vida útil de los rellenos sanitarios está disminuyendo rápidamente. Debido a que estos residuos invaden espacios en los botaderos, a nivel mundial se están considerando diversas alternativas para su gestión. Los métodos más empleados actualmente para el tratamiento de estos residuos poliméricos son el reciclaje energético o combustión y el reciclaje químico (García, et al. 2009). La incineración del EPS produce mayores cantidades de hollín y HAP (Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos) que los demás plásticos debido a la presencia de anillos aromáticos en su estructura. Ambos productos de esta combustión son potencialmente peligrosos para la salud (Ergut, et al. 2007). Por su parte, el reciclaje químico, emplea solventes orgánicos y derivados del petróleo, tales como Benceno, Tolueno, Xileno, Tetrahidrofurano, Cloroformo y Acetona (García, et al. 2009). El 4 % de la producción mundial de petróleo se destina a la creación de materias primas plásticas y un 4 % adicional se emplea como energía para convertir los insumos en prototipos o productos terminados (Subramanian, 2000). De esta manera el proceso resultaría más costoso que el de la producción del plástico virgen. Además, al mezclarse con estos solventes, el material podría perder sus propiedades originales, dificultándose su aceptación en el mercado de artículos reciclados, porque este sólo permite productos con calidad similar a la del material original (García, et al. 2009). Teniendo en cuenta que el EPS presenta una densidad de 50 kg/m³ (Kan & Demiborga, 2009), los procesos de recuperación antes mencionados, difícilmente implementados, debido al elevado costo que requiere el transporte de los grandes volúmenes del material a los lugares de tratamiento (García, et al. 2009). Según Germán Segura, director de la Fundación Verde Natura (FVN), una tracto mula que carga normalmente 30.000kg de residuos, solo podría llevar 300 kg de EPS, aunque el precio del flete es el mismo. La educación sobre la contaminación medioambiental incrementa la preocupación con respecto al estilo de vida y a la manera en que son dispuestos los residuos, generando entonces la necesidad de optimizar (maximizar) la energía empleada en cada paso del sistema, desde la producción de los bienes hasta la disposición de los desechos (Subramanian, 2000). Otros métodos de procesamiento para tratar los residuos de EPS con solventes no contaminantes y desde el lugar de su generación

deben ser explorados, con el fin de hacer eficiente el transporte de este y reducir el costo de los procesos de reciclaje antes mencionados.

La biotecnología ambiental es una herramienta que nos permite utilizar organismos vivos en avances tecnológicos, en pro de efectivizar procesos de biorremediación o biodegradación con la finalidad de conservar la calidad ambiental. (Blanch, 2010).

La degradación de los polímeros no solo se encuentra sujeta a los microorganismos, también a la complejidad de la estructura química, disponibilidad de grupos hidrofílicos, peso molecular, densidad del polímero, la cantidad de regiones cristalinas y amorfas, enlaces fáciles de romper, o enlaces éster o amidas o su naturaleza física. (Kaplan, 1979). Varios microorganismos tienen la capacidad de degradar diferentes tipos de plásticos en condiciones adecuadas, pero por la dureza de estos polímeros y su insolubilidad, la descomposición es un proceso lento (Ojha, N. et al., 2017).

La búsqueda de alternativas que promuevan la solución de este problema y permitan su incorporación más rápida al medio, es una realidad. Una de ellas, mediante la producción de plásticos naturales a través de especies bacterianas que sintetizan diversos biopolímeros como material de reserva, entre ellos varios ejemplos, como los producidos por las bacterias de los géneros *Acetobacter* sp., *Shewanella* sp., *Pseudomonas* sp., *Enterobacter* sp.; *Alcaligenes* sp. y *Citrobacter* sp. (Segura, 2007) cuyos biopolímeros son más fáciles de degradar (Gross, 2002). El lepidóptero *Galleria mellonella* degrada el polipropileno y polietileno de baja densidad (Velasco, 2017). El poliestireno es muy estable y extremadamente difícil de degradar en el medio ambiente después de desecharlo. El poliestireno se puede utilizar como fuente de carbono para microorganismos de forma similar a muchos otros hidrocarburos (Ho, 2017).

La bacteria *Ideonella sakaiensis*, ha sido descrita como la responsable de la degradación o desintegración del tereftalato de polietileno PET a condiciones de laboratorio de 30°C constantes durante incubación de 6 semanas. (Yoshida & Kosuda, 2016).

El trabajo de investigación pretende identificar otra bacteria aislada del microbiota intestinal de *Tenebrio molitor* que confluya en un consorcio, capaz de solucionar un gran problema de contaminación (Azagoh, et al., 2016). Estudios realizados con larvas de coleópteros han demostrado que hay un alto número de especies de bacterias y levaduras presentes en su tracto digestivo, representando un potencial muy importante para la biotecnología (Díaz, 2014). Estos microorganismos, presentes en coleópteros, facilitan la digestión de compuestos presentes en suelos (Rio et al., 2003). El papel esencial de las bacterias intestinales en la biodegradación y mineralización del poliestireno expandido, confirman la presencia de bacterias intestinales que degradan el poliestireno expandido por gusanos de la harina. (Yang, 2015). Estudios recientes han demostrado la capacidad de degradación del poliestireno en el intestino de los gusanos de la harina, para determinar si los plásticos pueden ser ampliamente susceptibles a la biodegradación dentro de éstos se siguen haciendo investigaciones de los consorcios presentes en la microbiota, evaluando el destino del polietileno y las mezclas de polietileno y poliestireno (Anja et al, 2018).

2. Materiales y métodos

La investigación tiene un enfoque cuantitativo y diseño experimental, no paramétrico. Para establecer las condiciones óptimas de humedad relativa (HR), temperatura (T°) y horas luz (hl) (Pinto, 2007), para desarrollo de larvas de *Tenebrio molitor*, sometió a 4 tratamientos diferenciados en condiciones establecidas.

A fin de determinar el consumo y degradación del poliestireno expandido bajo dieta única se hizo la siguiente diferenciación gravimétrica en relación con el balance de la biomasa y el balance del poliestireno consumido con relación a las excretas producidas a condiciones de HR y °T específicas.

Se tuvo una población de 1393 individuos, divididos en 4 muestras al inicio del proyecto, estas 4 muestras diferenciadas de individuos de tenebriónidos, estuvieron a cargo de los investigadores quienes eran responsables de la crianza y aplicación experimental de la biodegradación.

Tabla 2. Población y muestra

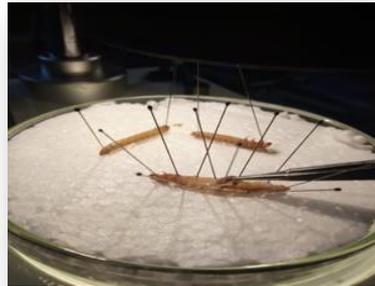
Muestra	Nº de individuos
1	439
2	420
3	256
4	278
Total	1393

Fuente: Elaboración propia

2.1. Extracción del tracto digestivo de las larvas

El sacrificio de las larvas se realizó por enfriamiento, manteniéndolos durante 15 minutos a -2°C en la congeladora, antes de ser utilizados. Los especímenes sacrificados serán sometidos a desinfección en etanol 95% por 2 min. Posteriormente fueron sumergidos en solución salina al 0.7%, fueron instalados en el estereoscopio para disección y extracción de tubo digestivo, usando tijeras para microcirugía, y agujas entomológicas para realizar los cortes ventrales en la zona anal y en la zona cefálica. Luego, se realizó un corte longitudinal con las tijeras. El tracto digestivo fue extraído cortando las dos extremidades de este con el fin de separarlo del individuo (Vasanthakumar et al., 2006; Vasanthakumar et al., 2008). El tracto digestivo fue introducido en un microtubo eppendorf con 0,2 mL de agua peptonada al 10% y usando el vórtex por 30s se logró separar los microorganismos de las paredes del tejido (Schloss et al., 2006; Vasanthakumar et al., 2006). se hizo un cultivo del sobrenadante en placas con Agar sangre, Chromagar, agar saboraund y agar Mc Konkey, por 48h a 37°C .

Figura1. Extracción del tracto digestivo



Fuente: Elaboración propia

2.2 Instrumentos y técnicas de recolección de datos

Los instrumentos de recolección de datos fueron elaborados por los investigadores con el fin de tener una bitácora de registro cada 3 días, durante 39 días, donde se realizó un seguimiento sistemático considerando datos como: las horas de registro, la temperatura ambiental T° , la Humedad relativa HR, el número de individuos, empupamiento, peso inicial W_i y peso final W_f del poliestireno expandido, sometido a biodegradación a fin de hacer un balance de la diferencia másica inicial y final. La técnica empleada fue la observación y corroboración de información en base a gravimetría, para verificar el balance másico diferencial del poliestireno sometido a degradación. Para el análisis del contenido de las excretas se usó la técnica de microscopía de barrido electrónico MEB y espectroscopía EDS.

3. Resultados

El aislamiento de las enterobacterias del tracto digestivo en diferentes medios específicos para la proliferación fue posible. El tracto digestivo fue extraído cortando las dos extremidades de este con el fin de separarlo del individuo. El tracto digestivo fue introducido en un microtubo eppendorf con 0,2 mL de agua peptonada al 10% y usando el vórtex por 30s se logró separar los microorganismos de las paredes del tejido.

Se pudo determinar que los medios chromagar y agar sangre fueron los idóneos para la proliferación, a una temperatura de incubación de 37°C por 48 horas, formando colonias cremosas, similares morfológicamente y con coloración reactiva en el caso específico del chromagar para enterobacterias, determinando por tinción Gram, que se trataba de enterococos Gram positivos.

Para la determinación del género de las enterobacterias se utilizó un medio específico para la proliferación de enterococos. El medio de cultivo diferencial para bacterias reductoras del telurito de potasio, especialmente indicado para distinguir entre miembros del grupo enterococo degradadores de la esculina. (Ficha técnica, 2021).

Este medio de cultivo además puede ser utilizado para el diagnóstico diferencial de otras bacterias tolerantes al telurito, y capaces de reducirlo, tales como *Staphylococcus aureus* y *Corynebacterium diphtheriae*. Las bacterias capaces de tolerar y reducir telurito de potasio producen colonias de color negro, en tanto que el desarrollo de la mayoría de los Gram negativos resulta inhibido por el efecto toxico de este aditivo. Las peptonas de caseína y soya aportan una gran variedad de fuentes de nitrógeno, y aminoácidos esenciales para el desarrollo microbiano. La peptona de soya además aporta algunos carbohidratos naturales. El cloruro de sodio contribuye al equilibrio osmótico del medio de cultivo y el agar actúa como agente gelificante de soporte. Se Incubó por 48 horas a 37°C , en atmósfera aeróbica. (Ficha técnica, 2021). Una vez completado el período de incubación, se pudo observar el

desarrollo de colonias y sus características, especialmente la capacidad de tolerar y reducir el telurito y originar colonias de color negro. Para la diferenciación de miembros del género *Enterococcus* en base a la reducción de telurito.

Tabla 3. Resultados esperados tras 24 horas de cultivo en atmósfera aeróbica a 37°C

Cepa de Control	Resultado esperado
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Bueno, colonias negras
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibición total o parcial
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Bueno, colonias negras
<i>Enterococcus faecium</i> ATCC 19434	Bueno, colonias no pigmentadas

Fuente: Ficha técnica, 2021

De acuerdo con la coloración de las colonias aisladas, y por el patrón de identificación, se pudo determinar que se trataba de la especie *Enterococcus faecalis*. Finalmente, la coloración Gram estableció que se trataban de enterococos Gram positivos (Gram+).

Durante 39 días de monitoreo sistemático por parte de los investigadores, se determinó el balance de las excretas de los tenebriónidos expresado en gramos, y que, por diferencia másica, se pueda establecer la cantidad de poliestireno digerido. el balance másico del poliestireno consumido por las larvas de tenebrios en 39 días de monitoreo, haciendo una diferenciación del peso inicial y peso final, que corrobora la generación de excretas como producto final, con relación al producto digerido. La investigación de (Daviran, 2017), que tuvo resultados favorables en la degradación de Poliestireno con *Tenebrio molitor*, los cuales se relacionan en cuanto al porcentaje degradado de poliestireno, siendo este un indicador clave de referencia en cuanto al porcentaje de degradación en otros microorganismos, ya que en dicha investigación estas larvas son capaces de consumir entre 40 y 60% más que otros organismos invertebrados, y esto se debe a que la microbiota que presenta la larva tiene la capacidad de degradar el poliestireno y transformarla como fragmentos de materia orgánica que pueden ser aprovechados incluso como abono conjugado en sus excretas. Al mismo tiempo se evidencia una clara disminución tisular por la falta de proteínas en el sustrato. Algunos individuos murieron en el proceso y fueron canibalizados por sus congéneres -situación inusual en condiciones normales- por la búsqueda de alimento, aún en estas condiciones, el poliestireno sirvió de única fuente de alimentación.

Los parámetros ambientales de ^oT y HR monitoreados en el proceso de crianza de los tenebriónidos, siendo el promedio de HR de 45.19% y 16.91°C de temperatura, considerados como factores ambientales de estrés. En el proceso, se evidenció la formación de pupas antes de tiempo, inducidas por el estrés del entorno al cual se sometió a los tenebriónidos.

Al realizar los estudios bioquímicos a los desechos generados por las larvas de *Tenebrio Molitor*, no encontré trazas de poliestireno expandido, (Daviran, 2017) indica en sus resultados obtenidos que se ha logrado adquirir una materia fecal de 0.0307 gr en un periodo de 4 días del consumo de Poliestireno de densidad 10 (kg/m³), mientras que en el poliestireno evaluado de densidad 40 (kg/m³) se obtuvo una masa fecal de 0.1635 g en un periodo de 8 días.

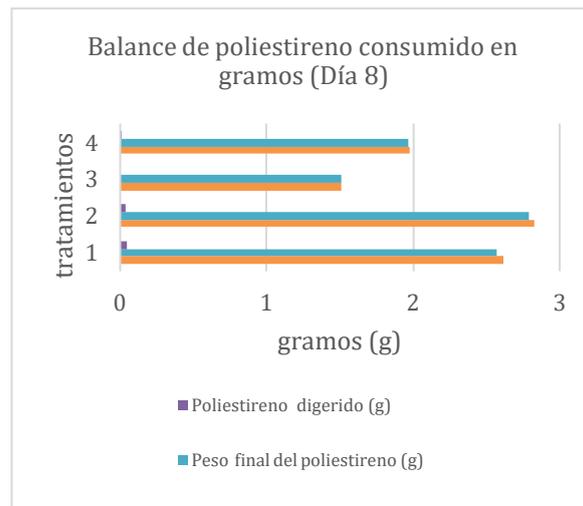
En el trabajo de investigación, se logró evidenciar una masa fecal de 0.3g en el tratamiento 4 y 0.13g en el tratamiento 2 en el día 8 respectivamente, y 0,14g en el tratamiento 2 el día 11.

Figura2. Balance másico de las excretas de tenebriónidos en 8 y 11 días



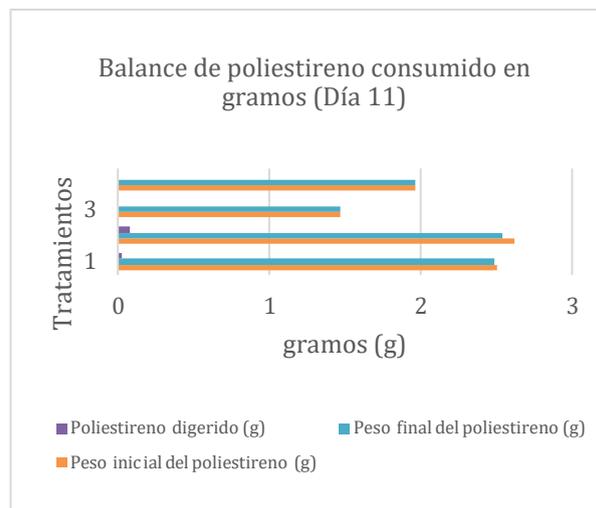
Fuente: Elaboración propia

Figura 3. Balance másico del poliestireno consumido en 8 días



Fuente: propia

Figura4. Balance másico del poliestireno consumido en 11 días



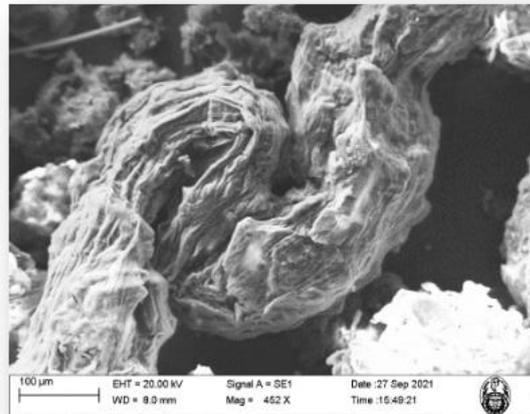
Fuente: propia

A partir de las muestras generadas los 39 días de monitoreo sistemático del consumo y degradación del poliestireno, se procedió a realizar un análisis de la composición bioquímica de las excretas por espectroscopía EDS y de la valoración cualitativa de éstas por microscopía electrónica de barrido MEB.

La evaluación de cada espectro, en la muestra M01 denotó que los elementos descritos como el oxígeno O está presente en un porcentaje atómico del 50.45% +/- un error relativo de 12.58%, el fósforo P en un 2.14% del porcentaje atómico, el potasio K en un 8.87%, el nitrógeno N en 35.66%, el cloro Cl en 0.78% el azufre S en 0.51% y el Ca en 0.39%.

Se ha evidenciado un incremento sustancial del oxígeno, del nitrógeno, potasio y fósforo (en menor proporción), elementos importantes para considerar una materia fecal con potencial de nutrientes, esto traduce el hecho de que las excretas de los tenebriónidos convirtieron los polímeros en sustancias químicas que podrían aportar nutrientes al suelo y lograron eliminar los relictos de poliestireno expandido.

Figura5. Imagen por Microscopía electrónica de barrido SEM – M01



Fuente: UNI, 2021

La imagen a escala 100Um, con energía dispersiva de 20.00 KV, magnitud 452X muestra que no hay evidencia de polímeros fragmentados.

Habiendo evaluado cada espectro, en la muestra M02 se observó que los elementos descritos como el oxígeno O está presente en un porcentaje atómico del 56.78% +- un error relativo de 11.84%, el fósforo P en un 14.56% del porcentaje atómico, el potasio K en un 12.80%, el nitrógeno N en 11.80%, el cloro Cl en 1.11% el azufre S en 2.69% y el Ca en 1.13%.

Se ha evidenciado un incremento sustancial del oxígeno, del nitrógeno, potasio y fósforo, elementos importantes para considerar una materia fecal con potencial de nutrientes, esto traduce el hecho de que las excretas de los tenebriónidos, convirtieron los polímeros en sustancias químicas que podrían aportar nutrientes al suelo y lograron eliminar los relictos de poliestireno expandido. En la muestra M03 se observó que los elementos descritos como el oxígeno O está presente en un porcentaje atómico del 59.63% +- un error relativo de 11.58%, el fósforo P en un 0.72% del porcentaje atómico, el potasio K en un 1.22%, el nitrógeno N en 35.76%, el cloro Cl en 0.98% el azufre S en 0.56% y el Ca en 0.33%.

Se ha evidenciado un incremento sustancial del nitrógeno, potasio y fósforo, en menor proporción, elementos importantes para considerar una materia fecal con potencial de nutrientes, esto traduce el hecho de que las excretas de los tenebriónidos, convirtieron los polímeros en sustancias químicas que podrían aportar nutrientes al suelo y lograron eliminar los relictos de poliestireno expandido.

La evaluación de cada espectro, en la muestra M04 denotó que los elementos descritos como el oxígeno O está presente en un porcentaje atómico del 27.39% +- un error relativo de 19.56%, el fósforo P en un 9.78% del porcentaje atómico, el potasio K en un 30.58%, el cloro Cl en 7.98% el azufre S en 8.16% y el Ca en 4.20%.

Se ha evidenciado un incremento sustancial del fósforo, nitrógeno no se evidencia, el potasio tuvo un incremento muy sustancial con relación a los otros elementos, los tenebriónidos, convirtieron los polímeros en sustancias químicas que podrían aportar nutrientes al suelo y lograron eliminar los relictos de poliestireno expandido.

4. Conclusiones

Las bacterias de la microbiota intestinal de las larvas de *Tenebrio molitor* como organismos degradadores del poliestireno expandido, bajo condiciones de laboratorio, fueron aisladas. Los medios chromagar y agar sangre fueron los idóneos para la proliferación, a una temperatura de incubación de 37°C por 48 horas, formando colonias cremosas, similares morfológicamente y con coloración reactiva en el caso específico del chromagar para enterobacterias, determinando por tinción Gram, que se trataba de enterococos Gram positivos.

Fue identificado el género de bacterias aisladas de la microbiota intestinal de *Tenebrio molitor* como organismos degradadores del poliestireno expandido, bajo condiciones de laboratorio. Para la determinación del género de las enterobacterias se utilizó un medio específico para la proliferación de enterococos. El medio de cultivo diferencial para bacterias reductoras del telurito de potasio, especialmente indicado para distinguir entre miembros del grupo enterococo degradadores de la esculina. Se logró identificar no sólo el género sino también la especie, identificando a la especie *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Se determinó el volumen de poliestireno consumido por las larvas de *Tenebrio molitor* como fuente única de alimentación, bajo condiciones de laboratorio. Durante 39 días de monitoreo sistemático por parte de los

investigadores, se evaluó el balance de las excretas de los tenebriónidos expresado en gramos, y que, por diferencia másica, se pueda establecer la cantidad de poliestireno digerido, determinando por gravimetría una masa fecal de 0.3g en el tratamiento 4 y 0.13g en el tratamiento 2 en el día 8 respectivamente, y 0,14g en el tratamiento 2 el día 11, siendo los días de mayor gramaje. Al mismo tiempo se estableció por diferencia gravimétrica, los pesos inicial y final del poliestireno por cada uno de los tratamientos, evidenciando que sí había consumo del polímero de estireno.

Se valoró la composición bioquímica de los desechos generados como parte del proceso de digestión de las larvas de *Tenebrio molitor* bajo condiciones de laboratorio por espectrometría, evidenciando que los polímeros sintéticos habían sido digeridos por las enterobacterias y generado excretas contenidas en oxígeno, nitrógeno, fósforo y potasio expresado en porcentajes atómicos, dato que representa una evidencia muy relevante, en el contexto de la capacidad de convertir sustancias no biodegradables, en sustancias químicas potencialmente asimilables.

La investigación, nos permite seguir indagando y replicando las experiencias a nivel de laboratorio, a fin de cultivar la bacteria aislada del tracto intestinal de *Tenebrio molitor* y someterla a condiciones controladas de humedad y temperatura con el fin de conseguir el objetivo de biodegradación del poliestireno expandido por las cepas cultivadas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y con la curva de calibración para la escala de McFarland, se podrá determinar la concentración de bacterias adicionadas al mediolibre de carbono, con poliestireno.

Al determinar el volumen de poliestireno consumido por los tenebriónidos objeto de estudio a través del balance másico de sus excretas y diferencia gravimétrica inicial y final del polímero de estireno, se pudo evidenciar la actividad biológica de la degradación, sin embargo, sólo es en un contexto netamente investigativo y experimental, ya que la idea no es utilizar a la especie *Tenebrio molitor* como organismo degradador, sino que a través de la biotecnología, se pueda aislar la especie identificada para proliferarla y sea ésta la utilizada para la biodegradación del poliestireno en grandes volúmenes.

Al valorar la composición bioquímica de las excretas de los tenebriónidos, se pudo evidenciar la transformación bioquímica de los polímeros expandidos en sustancias químicas potencialmente asimilables, lo que significaría un residuo orgánico compostable y con la probabilidad de producir abono.

Referencias

- Albaracin Liendo, R. L. (2020). *Evaluación de las condiciones biológicas y ambientales en Tenebrio molitor que influye en la biodegradación del poliestireno*. <https://bit.ly/3vhUgav>
- Álvarez Estepa, D., & Botache Laguna, L. (2020). *Biodegradación de Plástico con Larvas del Coleóptero Tenebrio molitor como un aporte Interdisciplinar a la Biotecnología Ambiental*. <https://bit.ly/3J7hzcy>
- Anja M. B., Shu-Hong G., Renmao T. (2018). Biodegradación de mezclas de polietileno y plástico en gusanos de la harina (larvas de Tenebrio molitor) y efectos en el microbioma intestinal. *Ciencia y tecnología ambiental*. 52 (11), 6526-6533. DOI: 10.1021/acs.est.8b02301
- Ávila, J. A. (2016). *Evaluación de bloques multinutricionales con harina de larva de Tenebrio molitor Linnaeus) en el engorde de conejos (Oryctolagus cuniculus)*. Recuperado el 8 de noviembre de 2021. <https://bit.ly/3vkUPjH>
- Azagoh, C., Ducept, F., Garcia, R., Rakotozafy, L., Cuvelier, M. E., & Keller, S. (2016). Extraction and physicochemical characterization of Tenebrio molitor proteins. *Food Research International*, 88, 24-31. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.06.010>
- Balakrishnan, R., Guria, Ch. (2007). Thermal degradation of polystyrene in the presence of hydrogen by catalyst in solution. *Polymer Degradation and Stability*, 92(8), 1583-1591. <https://doi.org/10.1016/j.polymerdegradstab.2007.04.014>
- Blanch. A.G., (2010). Biotecnología Ambiental. Aplicaciones biotecnológicas a la mejora del medio ambiente. *Nota d'Economía*, 97-98, 179-194. <http://hdl.handle.net/2445/44558>
- Cardozo Sánchez, M. L. (2020). *Biodegradación del poliestireno expandido por larvas de Tenebrio molitor I. (Coleóptera: Tenebrionidae), en condiciones de laboratorio*. <https://bit.ly/3PTJQWg>
- Daviran Yance, P. A. (2017). *Biodegradación de la Espuma de Poliestireno por la larva del Tenebrio molitor para la producción de Abono, 2017*. Recuperado el 02 de abril de 2021. <https://bit.ly/3cycoWS>
- Díaz Gámez, G. M. (2014). *Uso de la larva de tenebrio (Tenebrio molitor) como aditivo proteico, en la alimentación de codornices (Coturnix coturnix japonica)*. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Elorduy, R., Pino Moreno, M., Angeles, S., & Perez, G. (2013). *Utilización potencial de la excreta del gusano amarillo de las harinas como abono orgánico*. Recuperado el 1 de noviembre de 2021. <https://bit.ly/3owbahB>
- Ergut, A., (2007). Emissions from the combustion of polystyrene, styrene and ethylbenzene under diverse conditions. *Fuel*, 86(12- 13), 1789-1799. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2007.01.009>
- Espinoza Pinchi, J. (2018). *Eficiencia de las larvas Tenebrio Molitor y Galleria Mellonella para la biodegradación de microplásticos de la playa Costa Azul, Ventanilla, Callao*. Recuperado de: <https://bit.ly/3BmA8rC>
- García, M.T, et al. (2009). Study of the solubility and stability of polystyrene wastes in a dissolution recycling process. En: Waste Management. Ciudad Real, España. Vol. 29 No. 6, p. 1814
- Góngora, J. (2018). *El reciclaje en México*. Ministerio de Comercio exterior. <https://bit.ly/3zA4x48>
- Groos, R.A. (2002). Biodegradable polymers for the environment. *Science*. 297: 803-807.
- Ho, B. (2017). An overview on biodegradation of polystyrene and modified polystyrene: the microbial approach. *Critical Reviews in Biotechnology*, 38(2), 308-320. <https://doi.org/10.1080/07388551.2017.1355293>
- Kaplan, D., Hartenstein, R., & Sutter, R. (1979). Biodegradation of polystyrene, poly (metnyl methacrylate), and phenol formaldehyde. *Applied and Environmental Microbiology*, 38, 551-553. <https://bit.ly/3Bh33NH>
- León, A.R. (2007). Síntesis, caracterización y aplicación del PS entrecruzado a partir de residuos de PS. *Revista Iberoamericana de Polimeros*, 8, 112-137.
- López, M. K. (2020). *Supervivencia de larvas de dos especies de escarabajos Tenebrio molitor y Dermestes sp. expuestas a dietas basadas en dos tipos de plásticos (polietileno y poliestireno)*. <https://bit.ly/3vea5yT>
- Ortega Barbosa, B. P., & González Álvarez, K. T. (2019). *El cultivo del gusano de harina (Tenebrio molitor) como herramienta didáctica para disminuir el impacto ambiental del uso del poliestireno expandido (EPS) potenciando el uso del abono orgánico producto de su biodegradación*. Recuperado el 8 de noviembre de 2021. <https://bit.ly/3cJNmH>
- Ojha, N., Pradhan, N., Singh, S., Barla, A., Shrivastava, A., Khatua, P., Rai, V., & Bose, S. (2017). Evaluation of HDPE and LDPE degradation by fungus, implemented by statistical optimization. *Scientific Reports*, 7, 1-13. <https://doi.org/10.1038/srep39515>
- Pinto-Tomás, A., L. Uribe-Lorío, Blanco, J., G. Fontecha, Rodríguez, C., M. Mora, Janzen, D., F. Chavarría, Díaz, J., A. Sittenfeld. (2007). Actividades enzimáticas en aislamientos bacterianos de tractos digestivos de larvas y del contenido de pupas de Automeris zugana y Rothschildia lebeau (Lepidoptera: Saturniidae). *Revista biología tropical*, 55(2), 401-415
- Redacción. (2021). *Definición de Degradación*. Recuperado de: <https://bit.ly/30D7jKf>
- Schloss, P.D., Delalibera, I., Handelsman, J., & Raffa, K. (2006). Bacteria Associated with the Guts of Two Wood-Boring Beetles: Anoplophora glabripennis and Saperdastita (Cerambycidae). *Environmental Entomology* 35(3), 625-629. <https://doi.org/10.1603/0046-225X-35.3.625>
- Segura, D. (2007). Contaminación ambiental y bacterias productoras de plásticos biodegradables. *Biotecnología*,

14, 361-371.

- Subramanian, P.M. (2000). Plastics recycling and waste management in the US. *Resources, Conservation and Recycling*, 28(3-4), 253-263. [https://doi.org/10.1016/S0921-3449\(99\)00049-X](https://doi.org/10.1016/S0921-3449(99)00049-X)
- Vasanthakumar. A., Delalibera, I., Handelsman. J., Klepzig, K., Schloss. P., & Raffa, K. (2006) Characterization of Gut-Associated Bacteria in Larvae and Adults of the Southern Pine Beetle, *Dendroctonus frontalis* Zimmermann. *Environmental Entomology*, 35(6), 1710-1717. <https://doi.org/10.1093/ee/35.6.1710>
- Vasanthakumar. A., Handelsman, J., Schloss. P., Bauer, L., & Raffa. K. (2008) Gut Microbiota of an Invasive Subcortical Beetle, *Agrilus planipennis* Fairmaire, Across Various Life Stages. *Environmental Entomology* 37(5), 1344-1353. [https://doi.org/10.1603/0046-225x\(2008\)37\[1344:gmoais\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1603/0046-225x(2008)37[1344:gmoais]2.0.co;2)
- Velasco, M. J. (2017). *Biodegradación del polietileno de baja densidad, mediante el uso del lepidóptero Galleria mellonella bajo condiciones térmicas controladas*. Repositorio UCV. <https://hdl.handle.net/20.500.12692/12614>
- Vega, L. C. (2019). Larvas de gusano de harina (*Tenebrio molitor*) como alternativa proteica en la alimentación animal. Recuperado el 8 de noviembre de 2021. <https://bit.ly/3PG1ehq>
- Wu, Guiqing; LI Jia y XU Zhenming. Triboelectrostatic (2013). Separation for Granular Plastic Waste Recycling: A review. *Waste Management*, 3(3), 585-597. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2012.10.014>
- Yang, Y., & Yang, J. (2015). Biodegradation and Mineralization of Polystyrene by Plastic-Eating Mealworms. *Environmental Science & Technology*, 49(20), 12087 - 12093. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b02663>
- Yoshida, S., & Kosuda, Y. (2016). A bacterium that degrades and assimilates polyethylene terephthalate. *Science*, 351(6278), 1196-1199. <https://doi.org/10.1126/science.aad6359>