

BIODEGRADACIÓN DE POLIETILENO DE BAJA DENSIDAD (PEBD) POR HONGOS AISLADOS DE SUELO DE RELLENO SANITARIO DE CIUDAD DEL ESTE, PARAGUAY

DOI: <http://dx.doi.org/10.55449/conresol.8.25.XII-010>

Enrique Sebastián Garay Morínigo (Universidad Católica Nuestra Señora de la Asunción Campus Alto Paraná, enriquegara69@gmail.com), Carlos Mendes Picoli, Gabriela Rocío Sosa Benegas

RESUMEN

Este estudio investigó la capacidad de hongos aislados de un relleno sanitario en Ciudad del Este, Paraguay, para biodegradar el polietileno de baja densidad (PEBD), un plástico persistente en el ambiente. Se recolectaron muestras de suelo, se aislaron y caracterizaron hongos, y se prepararon discos de PEBD para las pruebas de biodegradación. Los resultados mostraron que diferentes especies de hongos pueden degradar el PEBD en diversos grados. De los siete hongos aislados, la cepa 4M6 demostró la mayor capacidad de biodegradación (2.74% de reducción de peso). Sin embargo, la biodegradación observada fue relativamente baja, lo que sugiere que el proceso es lento y podría requerir optimización o estrategias complementarias para aplicaciones a gran escala. El estudio concluye que, si bien los hongos del relleno sanitario tienen potencial para degradar el PEBD, se necesita más investigación para mejorar la eficiencia del proceso.

PALABRAS-CLAVE: Biodegradación, residuos plásticos, hongos, polietileno de baja densidad, relleno sanitario

ABSTRACT

This study investigated the ability of fungi isolated from a landfill in Ciudad del Este, Paraguay, to biodegrade low-density polyethylene (LDPE), a persistent plastic in the environment. Soil samples were collected, fungi were isolated and characterized, and LDPE discs were prepared for biodegradation tests. The results showed that different fungal species can degrade LDPE to varying degrees. Of the seven fungi isolated, strain 4M6 showed the highest biodegradation capacity (2.74% weight reduction). However, the observed biodegradation was relatively low, suggesting that the process is slow and may require optimization or complementary strategies for large-scale applications. The study concludes that while landfill fungi have potential to degrade LDPE, more research is needed to improve the efficiency of the process.

KEY WORDS: Biodegradation, plastic waste, fungus, low density polyethylene, landfill

INTRODUCCION

Los desechos plásticos representan una de las mayores preocupaciones ambientales de la actualidad debido a su persistencia en el medio ambiente y su creciente acumulación en ecosistemas terrestres y acuáticos, hasta el año 2015 se han producido 8300 millones de toneladas de plástico virgen, de los cuales aproximadamente 79% han terminado en vertederos o en el medio ambiente, mientras que solo el 12% ha sido reciclado y 9% incinerado (GEYER, 2017). Esta acumulación de desechos plásticos genera impactos negativos como la contaminación de suelos y cuerpos de agua, ingesta por animales lo que puede introducir químicos tóxicos en la cadena alimenticia y contaminación visual del entorno (NAPPER, 2023). Innumerables microorganismos aislados de vertederos y rellenos sanitarios han demostrado la capacidad de biodegradar un amplio número de polímeros plásticos, entre los cuales los hongos destacan como los candidatos superiores (KHATUA, 2024). El polietileno de baja densidad (PEBD) es uno de los polímeros plásticos más resistentes a la biodegradación, debido a su carácter inerte y su baja susceptibilidad a la acción microbiana (ALBERTSSON, 1987). Se utiliza principalmente en la fabricación de bolsas y envoltorios, y su resistencia a la descomposición natural lo convierte en un contaminante persistente en el ambiente. Sin embargo, diversos estudios han demostrado que hongos de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, entre otros, son capaces de adherirse a su superficie y secretar enzimas que inician su degradación (GHATGE, 2020). En Paraguay, solo el 29% del polietileno de baja densidad (PEBD) utilizado como envase es reciclado (FERREIRA, 2022), lo que agrava su impacto ambiental y representa una problemática creciente a nivel nacional.

OBJETIVOS

Los desechos plásticos representan una de las mayores preocupaciones ambientales de la actualidad debido a su persistencia en el medio ambiente. El presente estudio tuvo como objetivos el aislamiento, identificación y determinación y capacidad de biodegradación del polietileno de baja densidad (PEBD) por hongos aislados de suelo de relleno sanitario.

METODOLOGIA

Recolección de muestras y zona de estudio

Muestras de suelo fueron obtenidas del relleno sanitario de Ciudad del Este con las coordenadas 25°33'08.8"S 54°43'50.9"W. Un total de 10 muestras de aproximadamente 100 gramos fueron recogidas con una profundidad entre 5 a 10cm, en bolsas estériles (3MTM, España). La colecta se realizó con auxilio de una pala previamente desinfectada. Luego las muestras fueron acondicionadas de 4° a 10°C en conservadoras para su posterior transporte al laboratorio.

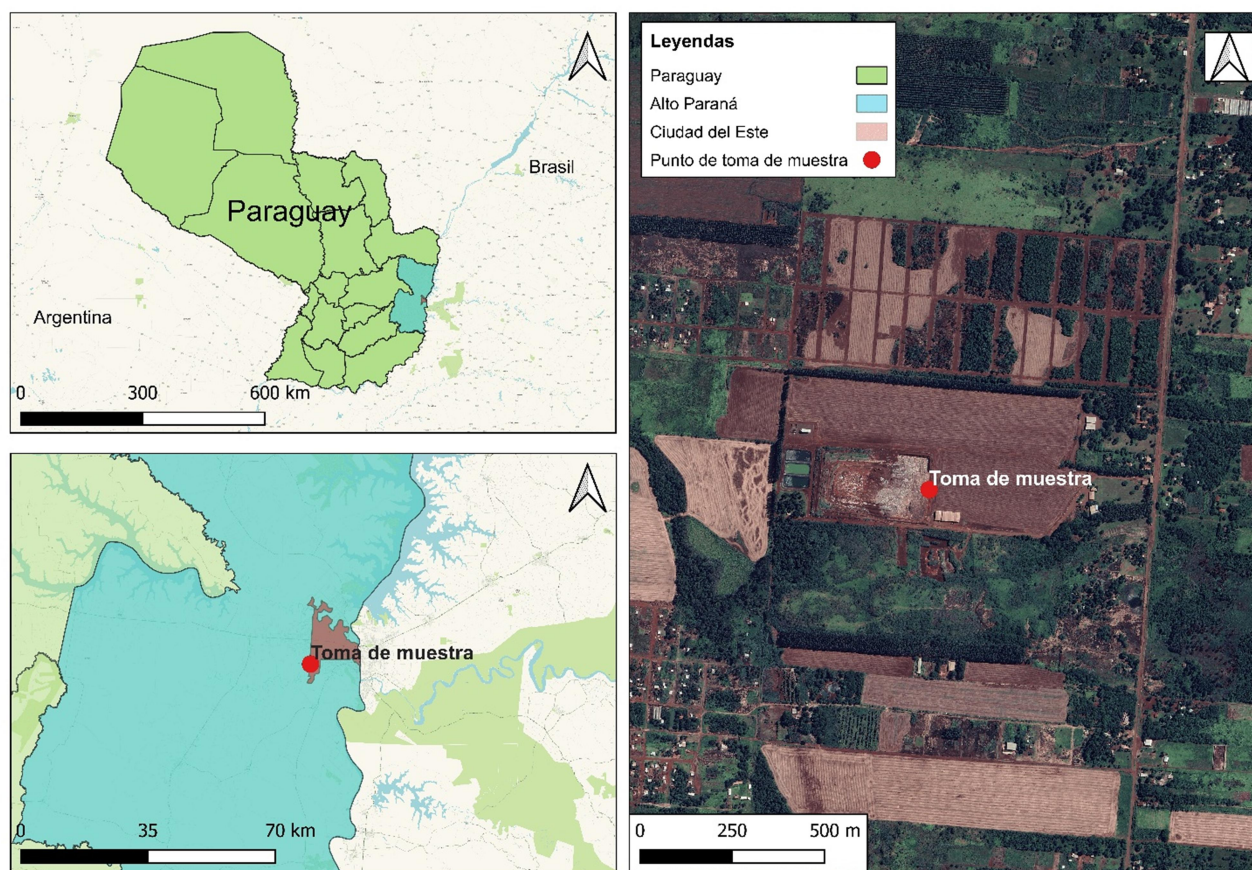


Figura 1: Mapas y vista aérea de la ubicación del sitio de toma de muestras de suelo para aislamiento de hongos.

Fuente: Autor del trabajo

Aislamiento de hongos

Siguiendo la metodología descrita por Saira et al. (2022) para el aislamiento de hongos, fueron suspendidos 10 gramos de cada muestra de suelo en 100mL de agua destilada estéril, luego las suspensiones fueron introducidas en una agitadora orbital (IKA KS 3000i, USA) en las condiciones: 15 minutos, 150 rpm y 25 °C. Seguidamente se tomaron 0.1mL de cada suspensión y se realizó la siembra en placas de medio sólido conteniendo: Sabouraud Dextrosa Agar (CONDA, España) con 2mL de gentamicina 400 mg/10mL. Las placas fueron incubadas a 30 °C durante 72 horas (PIETIKÄINEN, 2005). Tras el crecimiento de diversas especies fúngicas en las placas de cultivo, se realizaron subcultivos sucesivos en placas de Sabouraud Dextrosa Agar (SDA) utilizando un asa de siembra, con el objetivo de obtener cultivos puros. Todo el procedimiento se llevó a cabo dentro de una campana de flujo laminar (AirClean®, USA) para garantizar condiciones estériles y evitar contaminaciones (COTÉ, 1998).

Caracterización morfológica macroscópica de los hongos

Los cultivos fúngicos purificados obtenidos en la etapa 2.2 fueron examinados macroscópicamente con el objetivo de registrar las características morfológicas de sus colonias (GARCIA, 2012). Se evaluaron aspectos como el color frontal y reverso, la textura y topografía de las colonias en agar Sabouraud dextrosa (SDA). Estas observaciones permitieron diferenciar los distintos morfotipos y establecer la presencia de especies fúngicas únicas dentro de las muestras analizadas.



Figura 2: Cultivos fúngicos purificados en medio Saboraud Dextrosa Agar (SDA). Superior izquierda: 4M6, Superior centro: 5M6, Superior derecha: 2M3, Centro izquierda: 4M3, Centro: 2M6, Inferior izquierda: 1M1, Inferior derecha: 1M8

Fuente: Autor del trabajo

Medios y químicos

Medio mínimo de glucosa (MMG) descrito por Bailes et al (2013), con composición: 6.0gr/L NaNO₃ (Biopack®, Argentina), 0.52 gr/L KCl (Biopack®, Argentina), 0.52 gr/L MgSO₄*7H₂O (Biopack®, Argentina), 1.52 gr/L KH₂PO₄

(Biopack®, Argentina), 10.0gr/L Glucosa (Biopack®, Argentina). Saboraud Dextrosa Agar (CONDA, España), Caldo de Peptona (3M™, España).

Preparación del polietileno de baja densidad (PEBD)

De una bolsa plástica de polietileno de baja densidad fueron cortados discos de 25 mm de diámetro, estos discos fueron desinfectados utilizando alcohol etílico 70%, luego fueron llevados a una campana de flujo laminar (AirClean®, USA) donde fueron expuestos a luz ultravioleta durante 1 minuto para desinfectarlos. Posteriormente los discos fueron agrupados en tandas, cada tanda teniendo 3 discos de plástico, las tandas fueron pesadas en una balanza analítica (Boeco BAS 31 plus, Alemania) (SAIRA, 2022).

Biodegradación de polietileno de baja densidad (PEBD) por hongos aislados

El proceso de biodegradación se llevó a cabo en dos etapas. En la primera, se tomaron inóculos de siete cultivos fúngicos puros en placas de Petri y se transfirieron a frascos GL45 que contenían 100mL de caldo de peptona. Estos cultivos fueron incubados durante una semana para permitir su adaptación al medio líquido. En la segunda etapa, se tomó 50 mL de cada cultivo líquido y se inoculó en matraces Erlenmeyer que contenían 100mL de medio mínimo de glucosa (MMG) junto con una tanda de discos plásticos descrita en la sección “Preparación del polietileno de baja densidad (PEBD)”. Método modificado de Bailes et al (2013).

Como control negativo, se preparó un matraz Erlenmeyer con 100mL de medio mínimo de glucosa (MMG) y una tanda de discos plásticos, pero sin la adición de inóculo fúngico (OHJA, 2017).

A continuación, los frascos fueron incubados en un cuarto oscuro con una agitadora orbital (IKA KS 3000i, USA) durante 71 días a 150 rpm y 30°C (7). Una vez transcurrido el tiempo las tandas de discos plásticos fueron colectadas y lavadas usando abundante agua destilada, un mezclador vórtice (SI™ Vortex Genie 2, USA) y un sonicador (Elma® Elmasonic Select 100, Alemania) (BAILES, 2013). Una vez limpios los discos plásticos fueron secados en una estufa (WPL-45BE, China) a 30°C durante 2 días y fue medido su peso final usando una balanza analítica (Boeco BAS 31 plus, Alemania) (USHA, 2011). El porcentaje de la pérdida de peso fue calculado usando la fórmula debajo, citada por Saira et al. (2022).

$$\% \text{ disminución del peso del plástico} = \frac{R_1 - R_2}{R_1} \times 100 \text{ ecuación (1)}$$

RESULTADOS

Aislamiento de Hongos

Se aislaron un total de siete hongos diferentes a partir de las muestras de suelo obtenidas del relleno sanitario. La identificación de las siete especies fúngicas fue basada en características morfológicas macroscópicas como color, textura y forma.

Tabla 1. Morfología macroscópica de hongos aislados de relleno sanitario

Código de especie	Color de frente	Color de reverso	Textura	Topografía
1M1	Verde grisáceo	Beige	Polvorienta	Plana
1M8	Blanco con bordes amarillos	Amarillo	Polvorienta	Amontonada
2M3	Crema	Granate	Aterciopelada	Plegada
2M6	Blanco	Amarillo	Aterciopelada	Plegada
4M3	Marrón	Beige	Polvorienta	Plana
4M6	Amarillo	Naranja	Aterciopelada	Plegada
5M6	Blanco	Amarillo	Aterciopelada	Plegada

Pérdida de Peso Estimada

La evaluación de la biodegradación del plástico por las especies fúngicas aisladas mostró variaciones en la pérdida de peso del material. Los porcentajes de biodegradación obtenidos fueron los siguientes: 1M1 logró una reducción del 0.19%, 1M8 alcanzó un 0.52%, 2M3 alcanzó un 1.07%, 2M6 obtuvo un 0.13%, 4M3 logró un 1.06%, 4M6 mostró el mayor porcentaje con un 2.74%, y 5M6 presentó un 1.12%. En comparación, el control presentó una reducción del 0.61%.

Tabla 2: Reducción de peso de los discos de polietileno de baja densidad en términos de porcentaje de pérdida de peso antes y después de la inoculación con hongos

Código de especie	Peso inicial (mg)	Peso final (mg)	Pérdida de peso (mg)	Porcentaje de pérdida de peso (%)
1M1	53.5	53.4	0.1	0.19
1M8	77.2	76.8	0.4	0.52
2M3	56.2	55.6	0.6	1.07
2M6	78	77.9	0.1	0.13
4M3	56.3	55.7	0.6	1.06
4M6	29.2	28.4	0.8	2.74
5M6	26.8	26.5	0.3	1.12
Control	65.5	65.1	0.4	0.61

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este estudio evidencian que los hongos aislados del suelo de un relleno sanitario tienen la capacidad de degradar polietileno de baja densidad (PEBD) en distintas proporciones. Se observaron variaciones en la biodegradación entre las especies evaluadas, destacándose la cepa 4M6 con la mayor reducción de peso del material plástico (2.74%). Sin embargo, la comparación con el control, que presentó una reducción del 0.61%, sugiere que otros factores como el pH del medio o fotooxidación por luz ultravioleta (YAMADA-ONODERA, 2001) utiliza para esterilizar el material también podrían contribuir a la disminución del peso del polietileno de baja densidad (PEBD) y al comparar los resultados de nuestro control con otros estudios similares, se observa que en muchos casos no se reporta pérdida de peso en los controles sin microorganismos. A pesar de que algunos hongos mostraron una ligera capacidad de degradación, los valores obtenidos indican que el proceso es lento y posiblemente insuficiente para aplicaciones a gran escala sin tratamientos previos o condiciones optimizadas. Esto refuerza la necesidad de explorar estrategias complementarias, como la fotooxidación, para mejorar la eficiencia del proceso de biodegradación del polietileno de baja densidad (PEBD) (ALBERTSSON, 1987).

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Geyer R, Jambeck JR, Law KL. Production, use, and fate of all plastics ever made. *Sci Adv.* 19 de julio de 2017;3(7):e1700782.
2. Napper IE, Thompson RC. Plastics and the Environment. *Annu Rev Environ Resour.* 13 de noviembre de 2023;48(Volume 48, 2023):55-79.
3. Khatua S, Simal-Gandara J, Acharya K. Myco-remediation of plastic pollution: current knowledge and future prospects. *Biodegradation.* junio de 2024;35(3):249-79.
4. Albertsson AC, Andersson SO, Karlsson S. The mechanism of biodegradation of polyethylene. *Polym Degrad Stab.* enero de 1987;18(1):73-87.
5. Ghatge S, Yang Y, Ahn JH, Hur HG. Biodegradation of polyethylene: a brief review. *Appl Biol Chem.* diciembre de 2020;63(1):27.
6. Ferreira M, Zavala D, Pereira A, Echagüe V, Gomez F, Schein L, et al. Diagnóstico del Metabolismo de la Economía Paraguaya [Internet]. Paraguay: Fundación Moisés Bertoni; 2022. Disponible en: <https://mbertoni.org.py/publicaciones/>
7. Saira, Abdullah, Maroof L, Iqbal M, Farman S, Lubna, et al. Biodegradation of Low-Density Polyethylene (LDPE) Bags by Fungi Isolated from Waste Disposal Soil. *Appl Environ Soil Sci.* 2022;2022(1):8286344.
8. Pietikäinen J, Pettersson M, Bååth E. Comparison of temperature effects on soil respiration and bacterial and fungal growth rates. *FEMS Microbiol Ecol.* 1 de marzo de 2005;52(1):49-58.
9. Coté RJ. Aseptic Technique for Cell Culture. *Curr Protoc Cell Biol.* 1998;00(1):1.3.1-1.3.10.
10. Cepero de García MC, Restrepo Restrepo S, Franco-Molano AE, editores. *Biología de hongos.* 1. ed. Bogotá: Universidad de los Andes; 2012. 497 p.
11. Bailes G, Lind M, Ely A, Powell M, Moore-Kucera J, Miles C, et al. Isolation of native soil microorganisms with potential for breaking down biodegradable plastic mulch films used in agriculture. *J Vis Exp JoVE.* 10 de mayo de 2013;(75):e50373.
12. Ojha N, Pradhan N, Singh S, Barla A, Shrivastava A, Khatua P, et al. Evaluation of HDPE and LDPE degradation by fungus, implemented by statistical optimization. *Sci Rep.* 4 de enero de 2017;7(1):39515.
13. Usha R, Sangeetha T, Palaniswamy M. SCREENING OF POLYETHYLENE DEGRADING MICROORGANISMS FROM GARBAGE SOIL. 2011;
14. Yamada-Onodera K, Mukumoto H, Katsuyaya Y, Saiganji A, Tani Y. Degradation of polyethylene by a fungus, *Penicillium simplicissimum* YK. *Polym Degrad Stab.* mayo de 2001;72(2):323-7.