



Sección de Biología
Universidad de La Laguna

**Biodegradación de polímeros plásticos por
microorganismos aislados de diferentes
nichos ecológicos.**

**Biodegradation of plastic polymers by
microorganisms isolated from different
ecological niches.**

ISABEL RODRÍGUEZ DOMÍNGUEZ

TUTORIZADO POR EL Dr. JUAN RAMÓN HERNÁNDEZ FERNAUD Y

EL Dr. FERNANDO PERESTELO RODRÍGUEZ

TRABAJO DE FIN DE GRADO

Curso 2023-2024

ÍNDICE

Resumen	3
Abstract	3
1. Introducción	4
1.1. Los residuos plásticos y su biodegradación	4
1.2. Microorganismos degradadores de plástico	9
1.3. Fases de la biodegradación de los plásticos	11
1.4. Polímeros plásticos biodegradables	13
2. Objetivos	15
3. Material y Métodos	15
3.1. Muestras y procedimiento de muestreo	15
3.2. Aislamiento de microorganismos potencialmente degradadores de plástico	16
3.2.1. Aislamiento de microorganismos con actividad esterasa/lipasa	16
3.2.2. Aislamiento de microorganismos degradadores de poliésteres.....	18
3.2.3. Aislamiento de microorganismos degradadores de polietileno	18
3.2.4. Caracterización preliminar en los aislados seleccionados	19
3.3. Capacidad de los aislados seleccionados para degradar polímeros plásticos en medio líquido.....	19
3.3.1. Evaluación de la biodegradación.....	20
3.3.2. Análisis espectroscópico	20
4. Resultados	20
4.1. Microorganismos con actividad esterasa/lipasa	20
4.2. Microorganismos degradadores de poliésteres	22
4.3. Microorganismos degradadores de polietileno	24
4.4. Biodegradación de Polihidroxitirato-valerato en medio líquido.....	24
5. Discusión	26
Conclusiones	28
Conclusions	29
Bibliografía	29

Resumen

La contaminación por plásticos ha generado un grave problema medioambiental debido a su lenta degradación y progresiva acumulación, ante la ausencia de métodos eficaces para su eliminación. En los últimos años, se han llevado a cabo muchos estudios encaminados a la búsqueda de microorganismos con capacidad degradadora de estos residuos. Paralelamente, se han desarrollado alternativas para reducir su producción y reemplazarlos por polímeros biodegradables, más respetuosos con el medio ambiente. Este estudio comprende, por un lado, la realización de un screening de microorganismos potencialmente degradadores de plástico, a partir de muestras obtenidas en ambientes contaminados por estos residuos y, por otro, evaluar las alteraciones producidas sobre polímeros biodegradables (PCL y PHBV) por algunas de las cepas aisladas. Los diferentes cribados llevados a cabo mediante la técnica de zonas claras permitieron obtener un total de 6 aislados bacterianos (A4, A6, A7, A8, A9 y A10) productores de esterasas/lipasas, de los cuales 5 (A4, A7, A8, A9 y A10) también fueron capaces de degradar Policaprolactona (PCL) en medio sólido. Los estudios realizados en medio líquido mostraron que 2 de las cepas preseleccionadas (A8 y A9) fueron capaces de producir alteraciones sobre las láminas de Polihidroxi butirato-valerato (PHBV), como reveló el análisis espectroscópico (ATR-FTIR) de las mismas.

Palabras clave: biodegradación, polímeros plásticos, microorganismos.

Abstract

Plastic pollution has generated a serious environmental problem due to its slow degradation and progressive accumulation, in the absence of effective methods for its elimination. In the past few years, many studies have been carried out in the search for microorganisms with the capacity to degrade these wastes. At the same time, alternatives have been developed to reduce their production and replace them with more environmentally friendly biodegradable polymers. This study comprises, on the one hand, the screening of potentially plastic-degrading microorganisms from samples obtained in environments contaminated by these wastes and, on the other hand, the evaluation of the alterations produced on biodegradable polymers (PCL and PHBV) by some of the isolated strains. The different screenings carried out using the clear zone technique yielded a total of

6 bacterial isolates (A4, A6, A7, A7, A8, A9 and A10) producing esterases/lipases, of which 5 (A4, A7, A8, A9 and A10) were also capable of degrading Polycaprolactone (PCL) in solid medium. Studies performed in liquid medium showed that 2 of the pre-selected strains (A8 and A9) were able to produce alterations on Poly-hydroxy-butyrato-valerate (PHBV) films, as revealed by spectroscopic analysis (ATR-FTIR) of these films.

Key words: biodegradation, plastic polymers, microorganisms.

1. Introducción

1.1. Los residuos plásticos y su biodegradación

Los primeros polímeros plásticos llegaron a nuestras vidas en los años 50 y, desde entonces, su producción industrial ha alcanzado un valor acumulado que supera los 8.300 Mt, de los cuales, 6.300 Mt son residuos plásticos (Al-Tohamy *et al.*, 2023). Aunque en 2020 se produjo una ralentización como consecuencia de la pandemia del COVID-19, la producción mundial de polímeros derivados de petróleo ha continuado su escalada hasta alcanzar los 390,7 Mt en 2021, de los cuales, 57,2 Mt se han generado en Europa (plasticseurope.org) (Fig. 1). Se estima que para el 2035 su producción se duplicará (800 Mt aproximadamente), alcanzando las 1.231 Mt para el año 2060 (The Organisation for Economic Co-operation and Development, 2022), lo que representaría una producción mundial acumulada de 34.000 Mt (Shilpa *et al.*, 2022).

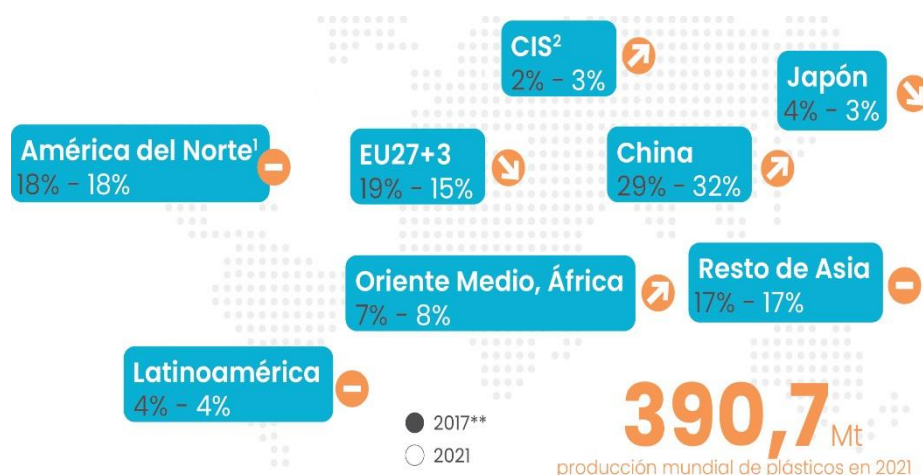


Figura 1.- Estimación de la producción mundial de plásticos para el año 2021 y sus principales productores.

No se incluyen los polímeros que no se utilizan en la transformación de piezas y productos de plástico (es decir, para textiles, adhesivos, sellantes, revestimientos, etc.).

*Incluida la producción de plásticos a partir de la polimerización y la producción de plásticos reciclados mecánicamente.

**Solo termoplásticos y PUR.

1. Canadá, México y Estados Unidos.

2. Comunidad de Estados Independientes: Azerbaiyán, Armenia, Bielorrusia, Kazajistán, Kirguistán, Moldavia, Rusia, Tayikistán, Turkmenistán, Uzbekistán y Ucrania (plasticseurope.org).

Hasta ahora, sólo el 9% de los residuos plásticos son reciclados, mientras que el 12% son quemados, con o sin recuperación de energía. El resto, (79%) terminan en vertederos o en el medioambiente, donde persisten durante años o, incluso, centurias (Chamas *et al.*, 2020). Además, los plásticos son transportados a través del aire y corrientes de agua, de ahí que, muchos ecosistemas del mundo (océanos, aguas dulces, manglares, arrecifes de coral, suelos agrícolas y forestales, regiones polares, atmósfera) se encuentren amenazados por la contaminación por plásticos, afectando negativamente no sólo la vida salvaje de la biosfera sino a la propia salud humana (Cai *et al.*, 2023; Jiménez *et al.*, 2022). Surge, por tanto, la urgente necesidad de afrontar la problemática relativa al uso y gestión de los desechos plásticos, la cual requiere un esfuerzo combinado de público, industria y gobierno, es decir, resulta necesario reducir el consumo de plásticos, encontrar, siempre que sea posible, alternativas más sostenibles a los mismos y mejorar la recuperación y el reciclaje de los desechos generados (Peng *et al.*, 2023). Idealmente, debería poder reciclarse cerca del 100% de los desechos plásticos, lo cual resultaría esencial para la transición de la economía lineal actual, en la que los productos plásticos derivados de combustibles fósiles se desechan después de su uso, hacia una economía circular, en la que el plástico es un recurso que se puede reciclar indefinidamente (Fig. 2).

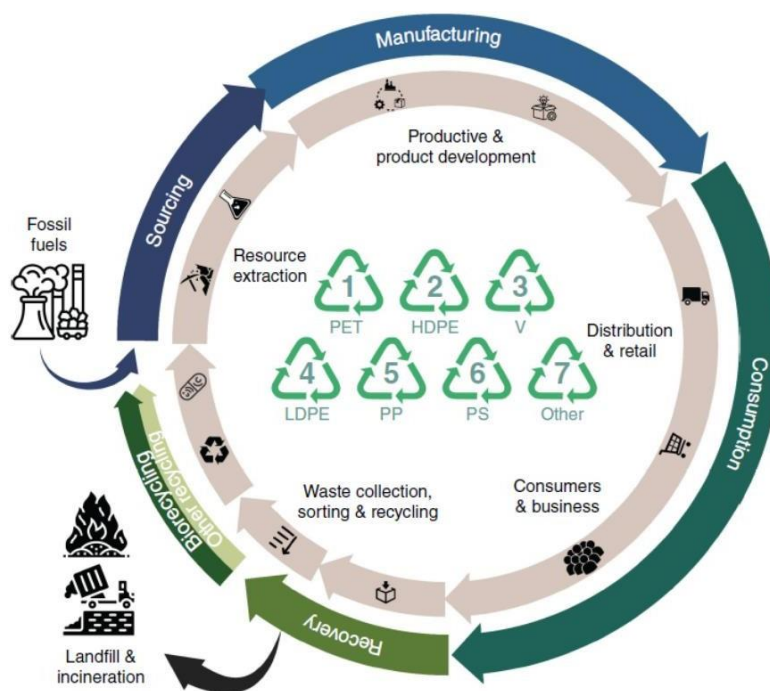


Figura 2.- Transición a una economía circular. Inicialmente, el abastecimiento de materia prima para la producción de plástico contendrá petróleo crudo (flecha azul), y la recuperación de desechos plásticos será incompleta, con recursos desviados para su uso en enfoques de conversión de desechos en energía o perdidos en vertederos (flecha azul). Después de la transición a una economía circular, la recuperación de desechos plásticos aprovechará el biorreciclaje y otros métodos de reciclaje, para convertir el 100 % de los desechos plásticos recuperados en materia prima para la producción de plástico (Peng *et al.*, 2023).

Desafortunadamente, hoy en día, las formas más comunes de manipulación de plásticos son la eliminación en vertederos, la incineración y el reprocesamiento mecánico si

bien, ninguno de ellos, permite eliminar de forma permanente los problemas ambientales ocasionados por éstos (Al-Tohamy *et al.*, 2023; Li *et al.*, 2023) (Fig. 3).

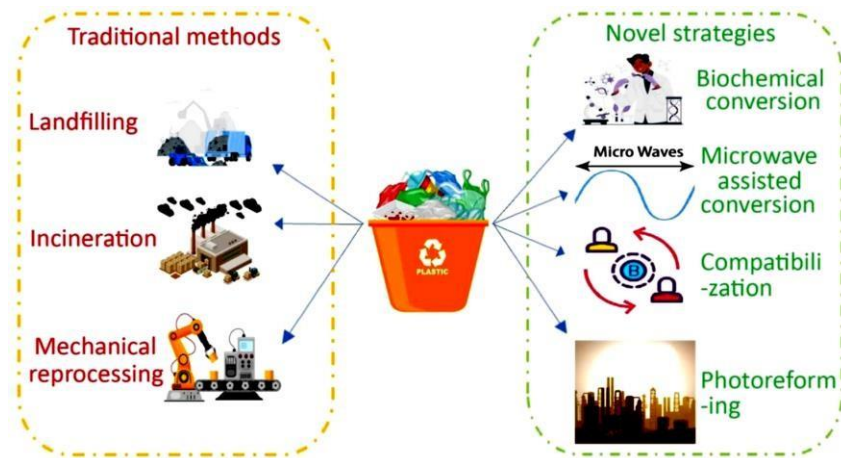


Figura 3.- Métodos tradicionales y nuevas vías para la eliminación de plásticos (Li *et al.*, 2023).

Al contrario, su aplicación tiene graves consecuencias, tanto sobre el medio ambiente como sobre el propio producto; por ejemplo, en los vertederos, a través de la contaminación crónica de suelos, aguas subterráneas, etc.; en la incineración se liberan gases nocivos como CO, furanos, dioxinas y compuestos orgánicos volátiles; y en el reprocesamiento mecánico, además de requerir una clasificación previa, se dañan las prestaciones mecánicas del producto (Li *et al.*, 2023) (Fig. 4).

En los últimos años, han surgido estrategias alternativas para la gestión de los residuos plásticos que son más respetuosas con el medio ambiente, más productivas e incluso pueden convertir los plásticos en productos de alto valor añadido (Li *et al.*, 2023). La introducción, que se ha producido recientemente, del modelo de economía circular en la industria del plástico sugiere un reciclado efectivo y eficiente del desecho plástico generado después de su vida útil (Shamsuyeva & Endres, 2021).

Se han descrito dos estrategias importantes para el reciclado de los residuos plásticos: el “reciclado cerrado” (las propiedades inherentes del plástico no sufren un cambio significativo y puede ser reutilizado) y el “reciclado abierto” (las propiedades del plástico cambian y no pueden ser utilizado con los mismos fines anteriores) y, para su realización, las principales tecnologías disponibles son: 1) Reciclaje mecánico (no cambia significativamente la estructura química de un polímero); 2) Reciclado químico o de materia prima (despolimerización del polímero y reciclado de sus componentes); 3) Reciclado físico

(recuperación del plástico sin cambiar su estructura química); 4) Reciclaje biológico u orgánico (tratamiento aeróbico o anaeróbico de residuos plásticos biodegradables en condiciones controladas utilizando microorganismos que dan como resultado residuos orgánicos estabilizados y gases diversos (CO_2 , CH_4 y H_2O): Norma ISO 15270); 5) Valorización energética (producción de energía mediante combustión directa y controlada) (Shamsuyeva & Endres, 2021).

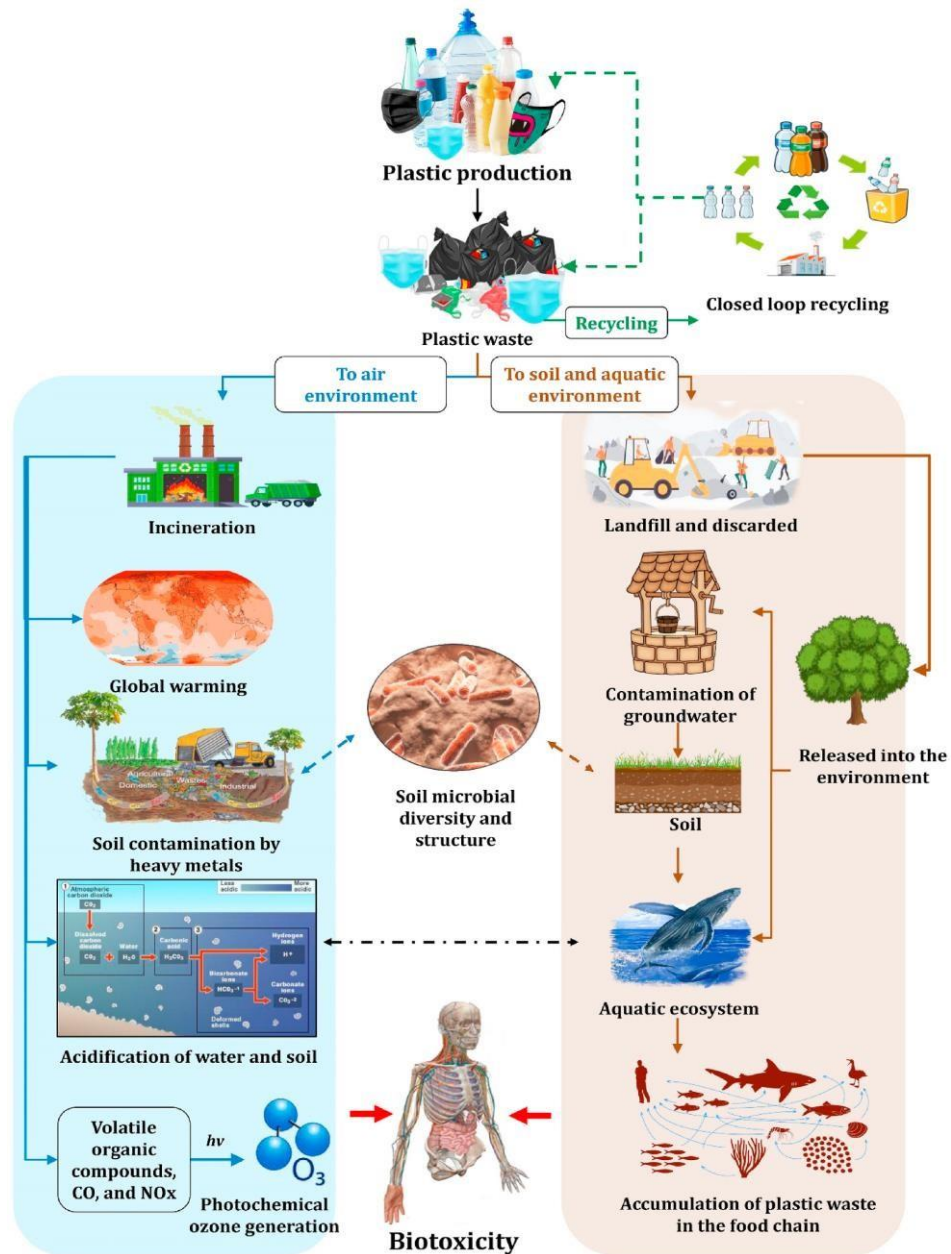


Figura 4.- Potenciales efectos ecotoxicológicos derivados del tratamiento de los residuos plásticos mediante las estrategias de vertido e incineración (Al-Tohamy *et al.*, 2023).

De acuerdo con la definición anterior, el reciclaje biológico no produce ningún subproducto plástico que pueda ser reprocesado (Shamsuyeva & Endres, 2021) si bien, una variante de este, denominada tratamiento enzimático (o biorreciclado), es utilizado

actualmente en el proceso de reciclaje del PET o tejidos mixtos, facilitando la recuperación de fibras de poliéster presentes en dicho tejido (poliéster/lana o poliéster/algodón/lana) (Navone *et al.*, 2020). Asimismo, mediante diferentes reacciones enzimáticas, los polímeros plásticos podrían ser fragmentados en sus monómeros, sin degradar el material, lo que permitiría su repolimerización en plástico de grado virgen (Lu *et al.*, 2022; Tournier *et al.*, 2020). En este contexto, una ventaja adicional que ofrecen estos procesos es que, dadas las características de las reacciones enzimáticas (temperatura y presión fisiológicas), las demandas de energía requeridas son bastante limitadas (Sanluis-Verdes *et al.*, 2022; Yoshida *et al.*, 2016), haciéndolo más respetuoso con el medio ambiente. En teoría, un proceso de biorreciclaje alcanzaría su máximo potencial cuando fuera posible la utilización de un cóctel de enzimas que permitiera seleccionar y reciclar una gran variedad de polímeros plásticos, reduciendo los costos y acelerando el proceso (eliminando etapas previas del procesamiento del residuo) (Peng *et al.*, 2023). Obviamente, la biodegradabilidad del polímero plástico es el principal criterio para la aplicación de esta estrategia y, puesto que muchos de estos polímeros no son biodegradables, (por ejemplo, Polietileno, Polipropileno, Poliestireno y Cloruro de Polivinilo) su aplicabilidad es aún muy limitada (Shamsuyeva & Endres, 2021).

En la actualidad, se contemplan dos escenarios para superar estos problemas: el primero de ellos sería la utilización de biopolímeros plásticos (tanto de base biológica como biodegradables), en cuya investigación se invierten gran cantidad de recursos (por ejemplo, Polihidroxialcanoatos microbianos, PHA). Sin embargo, existen obstáculos (altos costos de producción, fluctuaciones en su calidad, etc.) que impiden la sustitución frente a los de origen petroquímico. El segundo escenario contempla la necesidad de afrontar la biodegradación de los petroplásticos actuales (Koller *et al.*, 2023).

La mayoría de las enzimas descritas con actividad “despolimerizante” sobre diferentes tipos de plásticos, se incluyen en el grupo de las hidrolasas de éster carboxílico (por ejemplo, Lipasas, Esterasas, PETasa), es decir, enzimas que hidrolizan los enlaces éster, constituyentes principales de los plásticos hidrolizables (por ejemplo, Tereftalato de polietileno-PET) (Peng *et al.*, 2023). Sin embargo, esta situación ha cambiado significativamente en los últimos años dado que, recientemente, se han descrito algunas bacterias y hongos capaces de degradar algunos de los denominados plásticos no biodegradables (Sanluis-Verdes *et al.*, 2022; Y. Zhang *et al.*, 2022; Z. Zhang *et al.*, 2022). De

ahí que, desde un punto de vista biotecnológico, las empresas actualmente dedicadas al biorreciclaje de PET y otros poliésteres, deberán incluir dentro de sus objetivos inmediatos el tratamiento de los plásticos C-C más recalcitrantes (Peng *et al.*, 2023).

En resumen, es necesario superar estos cuellos de botella existentes mediante avances en el conocimiento sobre la microbiología de la biodegradación de estos polímeros y sus perspectivas biotecnológicas. Asimismo, es preciso descubrir nuevas y potentes cepas que alberguen las enzimas necesarias que permitan el ataque y biodegradación de tales polímeros, así como la elucidación holística de las vías metabólicas y enzimas implicadas, así como su actividad y estabilidad, la identificación de genes y estrategias moleculares necesarias para obtener biocatalizadores específicos, y otras estrategias de biología biosintética, apoyadas en herramientas bioinformáticas (Koller *et al.*, 2023).

1.2. Microorganismos degradadores de plástico

La acumulación de residuos plásticos ha despertado gran interés en la comunidad científica, sobre todo por las condiciones extraordinarias necesarias para llevar a cabo la biodegradación de dichos polímeros y, por supuesto, por los microorganismos responsables del proceso (Sharma & Neelam, 2023). En la actualidad, muchos contaminantes tóxicos xenobióticos presentes en el medio ambiente son eliminados mediante procesos de biodegradación por microorganismos, dadas sus claras ventajas frente a los procesos físicos o químicos (Bhatt *et al.*, 2022).

Es conocido que los microorganismos presentan una gran diversidad metabólica y, por tanto, un gran poder de adaptación a diversos ambientes naturales y artificiales contaminados. Obviamente, aquellos cuyas rutas metabólicas permitan la colonización de tales nichos ecológicos, son indicativos de su enorme potencial metabólico y, por tanto, atractivos desde un punto de vista biotecnológico (Moharir & Kumar, 2019).

Desde la descripción en 1974 del primer microorganismo (*Aureobasidium pullulans*) capaz de biodegradar un polímero plástico sintético (Policaprolactona) (Fields *et al.*, 1974), se han descrito más de 400 especies microbianas que muestran la capacidad de degradar diferentes tipos de plásticos (Tabla 1) (Gambarini *et al.*, 2022). De los tres grandes grupos de microorganismos, arqueobacterias, bacterias y hongos, las primeras han sido las menos estudiadas, aunque, recientemente, (Jin *et al.*, 2022), han descrito la biodegradación de

plásticos biodegradables por algunas especies de *Methanothermobacter*. Aun así, el papel de las arqueobacterias en la biodegradación de plásticos es escaso y debe ser explorado profundamente (Kour *et al.*, 2022).

Tabla 1.- Relación de algunas cepas bacterianas degradadoras de polímeros plásticos descritas en la bibliografía (Kour *et al.*, 2023).

Microorganismo degradador	Tipo de plástico degradado	Microorganismo degradador	Tipo de plástico degradado
<i>Achromobacter spp.</i>	Polietileno de baja densidad	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Polietileno de baja densidad
<i>Acinetobacter ursingii</i>	Polietileno de baja densidad	<i>Pseudomonas knackmussii</i>	Polietileno (PE)
<i>Bacillus licheniformis</i>	Polietileno (PE)	<i>Pseudomonas putida</i>	Polietileno (PE)
<i>Bacillus spp.</i>	Polietileno de baja densidad	<i>Pseudomonas spp.</i>	Polietileno (PE)
<i>Bacillus spp.</i>	Polietileno (PE)	<i>Pseudomonas spp.</i>	Polietileno de baja densidad
<i>Bacillus subtilis</i>	Policaprolactona (PCL)	<i>Pseudoxanthomonas spp.</i>	Bisfenol-A policarbonato
<i>Bacillus subtilis</i>	Polietileno (PE)	<i>Ralstonia spp.</i>	Polietileno (PE)
<i>Bacillus subtilis</i>	Polietileno de alta densidad	<i>Rheinheimera spp.</i>	Polietileno de baja densidad
<i>Bacillus subtilis</i>	Polietileno de baja densidad	<i>Shewanella spp.</i>	Polietileno de baja densidad
<i>Enterobacter spp.</i>	Polietileno (PE)	<i>Staphylococcus spp.</i>	Polipropileno
<i>Ideonella sakaiensis</i>	Polietileno tereftalato	<i>Stenotrophomonas pavanii</i>	Polietileno tereftalato
<i>Micrococcus spp.</i>	Polietileno de baja densidad	<i>Stenotrophomonas spp.</i>	Polietileno de baja densidad
<i>Oceanimonas spp.</i>	Polietileno de baja densidad	<i>Streptomyces spp.</i>	Polietileno (PE)
<i>Paenibacillus spp.</i>	Polietileno de baja densidad	<i>Streptomyces spp.</i>	Polietileno de baja densidad
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Polietileno de baja densidad	<i>Thermobifida fusca</i>	Polietileno tereftalato
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Polietileno (PE)	<i>Vibrio spp.</i>	Polietileno de baja densidad

En los últimos años, las bacterias han emergido como agentes excelentes para la degradación de sustratos plásticos. De hecho, la aplicación de bacterias termófilas se ha revelado como una estrategia de tratamiento muy beneficioso, entre otras razones porque a estas temperaturas los microorganismos mejoran la biodisponibilidad de los polímeros (Ahmed *et al.*, 2018).

De todas las bacterias descritas hasta ahora, *Ideonella sakaiensis* es la que ha mostrado los mejores resultados y, por ello, la que se ha estudiado con mayor detalle. La cepa *I. sakaiensis* 201-F6s, aislada en un vertedero en 2016 y es capaz de utilizar eficazmente el plástico tereftalato de polietileno (PET) como fuente de carbono (Son *et al.*, 2019; Yoshida *et al.*, 2016). Otro ejemplo, y uno de los microorganismos más relevantes en los consorcios marinos, es el género *Alcanivorax*, capaz de llevar a cabo descomposición de contaminantes basados en hidrocarburos del petróleo (Zadjelovic *et al.*, 2020). Esta bacteria es cosmopolita y se adapta rápidamente a la presencia de petróleo, lo cual le otorga una ventaja competitiva ecológica y la hace ideal para la degradación de polímeros responsables de la contaminación. Estos factores indican que el género *Alcanivorax* podría constituir la base de nuevas estrategias biotecnológicas para acelerar el proceso de reparación ambiental (Cappello & Yakimov, 2010; Zadjelovic *et al.*, 2020).

Por su parte, los hongos se han revelado también como un biorecurso, cada vez más importante, para la biodegradación de los plásticos. Cosgrove *et al.* (2007) fueron los primeros en describir la presencia de comunidades fúngicas en la superficie de plástico de tipo poliuretano. Desde entonces, se han desarrollado muchos estudios que muestran la degradación de distintos plásticos por diferentes especies de hongos (Kour *et al.*, 2023)

1.3. Fases de la biodegradación de los plásticos

Antes de iniciar la biodegradación, los microorganismos deben establecer una estrecha relación con el sustrato polimérico y generar las condiciones idóneas para su degradación. La colonización de la superficie de los plásticos por microorganismos se produce de forma eficaz a través de la formación de biopelículas, constituidas por bacterias u hongos (Delacuvellerie *et al.*, 2019). Una biopelícula se puede definir como un consorcio de bacterias que está formado por un grupo ordenado de microorganismos, los cuales viven dentro de una matriz polimérica sintetizada por ellos mismos (Rather *et al.*, 2021). Sin embargo, la colonización de la superficie y la naturaleza del microorganismo no son, por sí solos, suficientes para que se produzca la degradación del polímero; el tipo de plástico, las condiciones fisicoquímicas y la degradación ambiental, entre otros, son factores abióticos claramente decisivos (Atanasova *et al.*, 2021).

Una vez consolidada la biopelícula, si se dan las condiciones adecuadas, comienza el proceso de degradación, el cual tiene lugar en cuatro fases claramente diferenciadas: biodeterioro, biofragmentación, asimilación y mineralización (Fig. 5) (Glaser, 2019). La fase de biodeterioro se refiere al conjunto de modificaciones que ocurren en las propiedades físicas, químicas y mecánicas del polímero como consecuencia del crecimiento microbiano, es decir, tras la adherencia de los microorganismos a la superficie plástica y posterior formación de la biopelícula. La secreción de sustancia poliméricas extracelulares (EPS) y el crecimiento microbiano representan etapas cruciales en el ataque al polímero plástico, aunque en condiciones naturales, esta fase suele venir precedida por una etapa de degradación abiótica como resultado del efecto de factores ambientales: fotodegradación, degradación térmica, mecánica y/o química (Emadian *et al.*, 2017; Ganesh Kumar *et al.*, 2020). La fase de biofragmentación o despolimerización, consiste en la escisión de los polímeros plásticos en monómeros y es debida a la rotura de enlaces por la acción de enzimas producidas por los microorganismos (Shah *et al.*, 2008; Soledad Pazos *et al.*, 2020). Cuando se trata de entornos naturales, una condición previa decisiva es que exista un contacto estrecho entre el plástico y las exoenzimas activas liberadas por estos microorganismos. Estas enzimas se pueden dividir en dos grandes grupos: esterasas y lipasas (Glaser, 2019; Sandoval Herrera & Bermúdez Morera, 2021). Por último, en las etapas de asimilación y mineralización, los productos de fragmentación que se producen en la fase anterior atraviesan la membrana celular y se incorporan al metabolismo microbiano, ya que estos pueden ser utilizados como fuente de carbono o energía (Magalhães *et al.*, 2021). La etapa de mineralización da como resultado CO₂, H₂O y biomasa en condiciones aerobias, o CO₂, H₂O, CH₄ y biomasa en condiciones anaerobias. Por tanto, la cuantificación de la concentración de CO₂ liberado permite el seguimiento del proceso de biodegradación (Emadian *et al.*, 2017; Ganesh Kumar *et al.*, 2020).

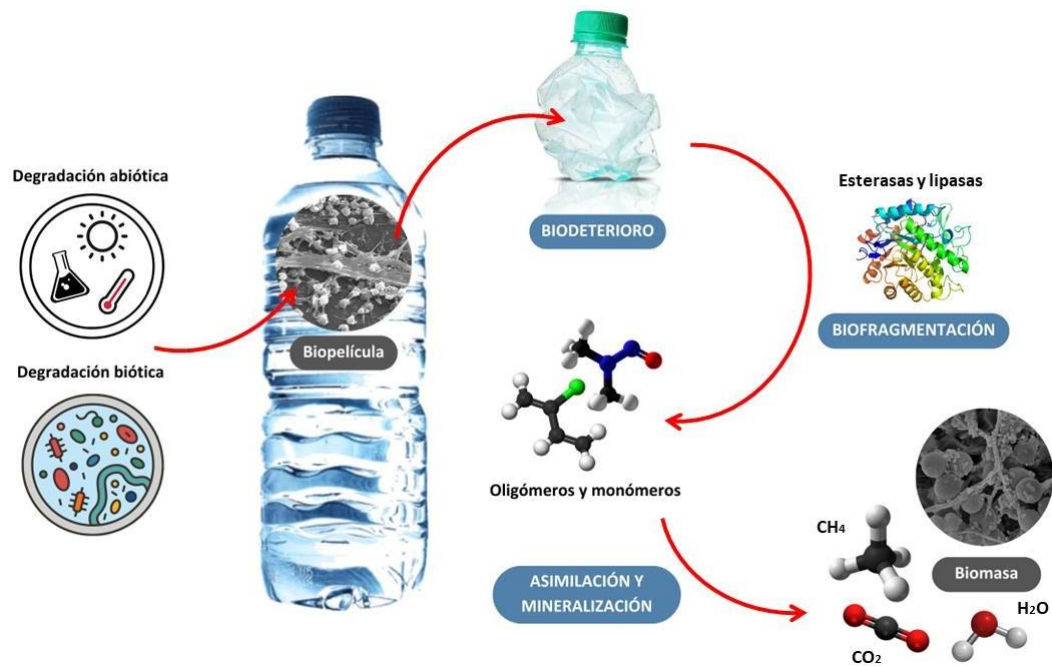


Figura 5.- Representación esquemática de las etapas del proceso de biodegradación de plásticos (elaboración propia).

1.4. Polímeros plásticos biodegradables

Aunque, actualmente, es posible degradar los residuos presentes en el medio ambiente, persiste la preocupación por los problemas ambientales derivados de su continua acumulación. Como consecuencia de ello, en los últimos años, se han desarrollado diferentes alternativas que tienen como finalidad reducir la producción de plásticos convencionales, replazándolos por polímeros biodegradables, más respetuosos con el medio ambiente (Álvarez da Silva, 2016; Segura *et al.*, 2007; Tapia & Belalcazar, 2020).

Dichos polímeros, aunque mantienen sus propiedades durante el periodo de utilización, llegado el momento de su descomposición son atacados por los microorganismos, produciendo cambios en su estructura que originan compuestos compatibles con el medio ambiente (Kabir *et al.*, 2020). Sin embargo, reemplazar polímeros sintéticos derivados del petróleo por aquellos que se degraden por medio de la biota es un proceso complejo, dadas las propiedades de los nuevos materiales (resistencia, termoplaticidad y durabilidad) (Tapia & Belalcazar, 2020).

Existen diferentes tipos de polímeros biodegradables dependiendo de su origen (Álvarez da Silva, 2016; Guan *et al.*, 2020): a) Polímeros naturales (derivados de celulosa, almidón, proteínas, o de síntesis microbiana, como es el caso del Polihidroxitirato-valerato

(PHBV)); b) Polímeros naturales modificados (Acetato de celulosa, polialcanoatos); c) Materiales compuestos que combinan partículas biodegradables (por ejemplo, almidón, celulosa regenerada, gomas naturales) con polímeros sintéticos (mezclas de almidón-poliestireno o almidón-policaprolactona); d) Polímeros sintéticos (poliésteres, poliuretanos, etc). Este tipo de polímeros son obtenidos por reacciones químicas de polimerización de monómeros procedentes de derivados del petróleo o de fuentes renovables.

Los polímeros de síntesis microbiana se han convertido en un potencial sustituto de los plásticos convencionales, ya que presentan propiedades muy similares y la gran ventaja de ser degradados por las bacterias que los producen, y por otras bacterias, hongos y algas. En concreto, el Polihidroxi-butirato-valerato (PHBV) (producido por *Ralstonia eutropha*) es un copolímero biodegradable que pertenece a la familia de los polihidroxi-alcanoatos (PHAs), y se conoce comercialmente como *Biopol* (Jost & Langowski, 2015; Meereboer *et al.*, 2020; Tapia & Belalcazar, 2020). Se trata de un copolímero formado por monómeros de ácido 3-hidroxi-butanoico y ácido 3-hidroxi-pentanoico unidos por un enlace éster. Sin embargo, presenta propiedades diferentes a los plásticos derivados del petróleo, como una baja estabilidad térmica, fragilidad o un procesado complejo. De ahí la necesidad de añadir distintos agentes plastificantes (compatible y biodegradable) que le permitan mantener sus características. Sin embargo, a pesar de la versatilidad de este biopolímero, la problemática que presenta es el alto coste de sus sustratos, lo cual incide su precio final (Jost & Langowski, 2015; Li *et al.*, 2021; Meereboer *et al.*, 2020). La Policaprolactona (PCL) por su parte es un polímero sintético de origen fósil biodegradable, perteneciente a la familia de los poliésteres alifáticos, siendo su unidad monomérica la ϵ -caprolactona. No obstante, la biodegradación de la PCL es de larga duración y sus tiempos de degradación pueden tardar meses o años. Para determinar este tiempo, hay que tener en cuenta su peso molecular, el grado de cristalinidad, su morfología y las condiciones ambientales en el momento de la degradación (Suzuki *et al.*, 2021; Tapia & Belalcazar, 2020).

En definitiva, la fabricación de estos polímeros a partir de recursos renovables los convierte en sustitutos idóneos de los polímeros derivados del petróleo si bien, su producción, es claramente inferior a la de plásticos sintéticos. Además, no todos los bioplásticos son biodegradables, por lo que su remplazo definitivo necesita ser confirmado en detalle. (Narancic *et al.*, 2018; Sin & Tveen, 2019).

2. Objetivos

En este trabajo planteamos como objetivo general buscar y aislar microorganismos potencialmente degradadores de plástico presentes en diferentes nichos ecológicos. Como hipótesis de partida, buscaremos microorganismos degradadores de plásticos en ambientes compuestos por materiales plásticos o derivados, empleando como método de selección su capacidad para degradar sustratos poliméricos. Para la consecución del objetivo general, se abordarán como objetivos específicos los siguientes:

1. Analizar la actividad esterasa/lipasa de los microorganismos mediante el uso de un medio suplementado con tributirina.
2. Aislar microorganismos degradadores de polímeros biodegradables (síntesis química) en un medio suplementado con Policaprolactona (PCL) y de polímeros no biodegradables (derivados del petróleo) en un medio suplementado con polietileno (PE).
3. Evaluar la capacidad de alteración de polímeros biodegradables (síntesis microbiana) en un medio líquido suplementado con Polihidroxibutirato-valerato (PHBV), de los microorganismos aislados anteriormente.

3. Material y Métodos

3.1. Muestras y procedimiento de muestreo

En este trabajo se recolectaron muestras de diferentes ambientes (Tabla 2) que consideramos propicios para el cribado de microorganismos degradadores de plásticos, debido a la presencia de diversos tipos de plásticos y/o compuestos químicos relacionados con estos, como hidrocarburos. El muestreo se llevó a cabo mediante diferentes técnicas en función del tipo de muestra: hisopado en el caso de superficies, sedimentación para muestreo de aire o con recipientes estériles en otro tipo de muestras. Además de los microorganismos obtenidos a partir de estas muestras, en el presente trabajo se utilizó, como control positivo, una bacteria marina del género *Alcanivorax* (cepa *Alcanivorax* spp. 24, aislada de residuos plásticos), capaz de degradar hidrocarburos de petróleo y el poliéster sintético Policaprolactona (PCL), entre otros (Zadjelovic *et al.*, 2020).

3.2. Aislamiento de microorganismos potencialmente degradadores de plástico

3.2.1. Aislamiento de microorganismos con actividad esterasa/lipasa

Las muestras descritas en el apartado anterior fueron sometidas a un cribado de microorganismos con actividad esterasa/lipasa. Para ello, se empleó el medio Agar Tributirina (TbA) modificado de Rodríguez Martín (2021), que fue inoculado a partir de dichas muestras tal y como se indica en la Tabla 2. La composición del medio TbA fue la siguiente: tributirina (Sigma-Aldrich), 10 ml/L; Tween 80 (Sigma-Aldrich), 1 ml/L; extracto de levadura (Labkem), 10 g/L; y agar bacteriológico (Panreac), 15 g/L. Se realizaron dos versiones de este medio, la original ya descrita y otra en la que se sustituyó el extracto de levadura por caldo marino, 37 g/L (Sigma), para favorecer el crecimiento de *Alcanivorax spp.*

Una vez inoculadas, las placas de TbA fueron incubadas a 28°C y revisadas periódicamente, cada 24 h, para detectar la presencia de microorganismos productores de actividad esterasa/lipasa. Estos pueden identificarse fácilmente, ya que sus colonias aparecen rodeadas de halos transparentes debido a la hidrólisis de la tributirina.

Tabla 2.- Relación de muestras empleadas para el aislamiento de microorganismos degradadores de plásticos.

Muestra	Tipo de muestra / localización	Técnica de muestreo / aislamiento
M1	Contenedor de reciclaje de plástico (San Benito, La Laguna).	Muestreo de la superficie del interior del contenedor con un hisopo estéril y siembra en TbA.
M2	Recipiente de plástico, tipo pulverizador para riego, con signos de deterioro debido a factores abióticos (Facultad de Farmacia, ULL, La Laguna).	Raspado de la superficie deteriorada con una espátula estéril y siembra de los fragmentos de plástico en TbA.
M3	Cultivos de muestras ambientales incubados durante 1 año en presencia de diversos tipos de plásticos, a 28°C y agitación (Área de Microbiología, ULL, La Laguna).	Siembra directa (en césped) en TbA.
M4	Agua contenida en el interior de un recipiente de plástico, tipo pulverizador para riego (muestra M2).	Siembra directa (en césped) en TbA.
M5	Suelo de jardín contaminado con residuos plásticos (Facultad de Farmacia, ULL, La Laguna).	Siembra directa en TbA.
M6	*Lodo activado de filtros de membrana de la estación depuradora de aguas residuales (EDAR) de Valle Guerra (La Laguna).	Diluciones seriadas y siembra en TbA a partir de las diluciones 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} .
M7	Tanque de combustible de un coche de gasolina.	Muestreo de superficie en la boca del depósito con un hisopo estéril y siembra en TbA.
M8	Muestra de aire en las inmediaciones de un contenedor de reciclaje de plástico (Facultad de Farmacia, ULL, La Laguna).	Muestreo por sedimentación en TbA.
M9	Muestra de aire en el laboratorio del Área de Microbiología (ULL, La Laguna).	Muestreo por sedimentación en TbA.
M10	Contaminación fortuita de placa de TbA almacenada en nevera (Área de Microbiología, ULL, La Laguna).	Resiembra de contaminante en TbA.

* La muestra de lodo activado fue suministrada por la Dra. Luisa Vera Peña (Dpto. Ingeniería Química y Tecnología Farmacéutica, ULL).

3.2.2. Aislamiento de microorganismos degradadores de poliésteres

Los aislados que mostraron un resultado positivo en TbA fueron sometidos a un test de zonas claras mediante su siembra en medios de Agar Policaprolactona (PCLA). La composición del medio PCLA fue la siguiente (Rodríguez Martín, 2021): Policaprolactona (Sigma-Aldrich), 12 g/L; extracto de levadura, 10 g/L; y agar bacteriológico, 15 g/L. Para la preparación del medio, se disolvieron los pellets de PCL en acetona (a 50°C en agitación), a los cuales, una vez disueltos, se incorporó agua destilada estéril en un baño maría. Una vez obtenida una mezcla homogénea, esta fue añadida al medio fundido (agua destilada + agar + extracto de levadura) esterilizado previamente (121°C durante 15 minutos). Finalmente, el medio fundido se extendió en placas de Petri, dando como resultado un medio opaco debido a la presencia de PCL.

Las placas de PCLA fueron inoculadas con los aislados bacterianos que presentaban actividad esterasa/lipasa, incubadas en la estufa de 28°C y revisadas periódicamente durante 1 – 2 semanas. Aquellas colonias que presentaron un halo de hidrólisis a su alrededor fueron seleccionadas para estudios posteriores.

3.2.3. Aislamiento de microorganismos degradadores de polietileno

De igual manera, los aislados que mostraron resultados positivos en TbA fueron también inoculados en medio de agar polietileno (PEA) (Rodríguez Martín, 2021). Se trata de un medio de doble capa, con una capa inferior (15 ml, aproximadamente) constituida por medio mínimo mineral (MMM) y agar bacteriológico (15 g/L). La composición del MMM fue la siguiente (g/L): KH_2PO_4 , 0,7; K_2HPO_4 , 0,7; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,7; NH_4NO_3 , 1,0; NaCl, 2,5; MnSO_4 , 0,5; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,005; $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,001; $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,002; $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,002; y H_3BO_3 , 0,002. En cambio, la capa superior, de menor grosor (10 ml, aproximadamente), estaba compuesta por: MMM; polietileno en polvo (PE, 6-8 μm de diámetro de partícula; MicroPowder), 3 g/L; etanol absoluto, 10ml/L; Tween 80, 1 ml/L; agar bacteriológico, 15 g/L; y un suplemento de nistatina (Panreac) como fungicida, 0,05 g/L. Para la preparación de este medio, se suspendió el polvo de PE en etanol absoluto, al cual se añadió, en agitación, Tween 80 estéril como agente dispersante. La suspensión de PE resultante fue añadida, al igual que la nistatina, al medio fundido (MMM + agar) previamente esterilizado en autoclave (121°C durante 15 minutos). Finalmente, el medio fue extendido en placas de Petri que ya contenían la capa inferior solidificada.

Las placas de PEA fueron sembradas, de igual forma que en el caso anterior, con los microorganismos aislados que presentaban actividad esterasa/lipasa. Las placas fueron incubadas en la estufa de 28°C y revisadas periódicamente durante un mes con el objetivo de detectar microorganismos potencialmente degradadores de PE. Estos se corresponden con aquellas colonias que muestran zonas claras a su alrededor, es decir, un halo de degradación del sustrato.

3.2.4. Caracterización preliminar en los aislados seleccionados

Los microorganismos seleccionados en el programa de cribado descrito en los apartados anteriores fueron caracterizados atendiendo a rasgos fenotípicos. De esta forma, los aislados bacterianos obtenidos fueron sometidos a tinción de Gram para determinar su morfología celular y respuesta a la tinción (Gram positivos o Gram negativos).

3.3. Capacidad de los aislados seleccionados para degradar polímeros plásticos en medio líquido

Los aislados seleccionados como potenciales degradadores de plástico en medio sólido fueron ensayados en medio líquido para evaluar su actividad degradadora frente a Polihidroxibutirato-valerato (PHBV, copolímero de ácido 3-hidroxibutírico y ácido 3-hidroxipentanoico), un poliéster de origen microbiano de tipo polihidroxialcanoato.

El ensayo de biodegradación se llevó a cabo en matraces Erlenmeyer de 100 ml de capacidad que contenían 22 ml de MMM (apartado 3.2.3) suplementado con extracto de levadura, 1 g/L. El medio se esterilizó en autoclave (121°C durante 15 minutos) y, una vez estéril, se incorporó al mismo una lámina de PHBV de 2x2 cm (Goodfellow), previamente esterilizada mediante inmersión en alcohol 70° (1 hora). Los medios así preparados fueron inoculados a partir de preinóculos realizados en el mismo medio (9 ml en tubos de ensayos) e incubados a 28°C (90 rpm, agitador KS501Digital IKA-WERNE) hasta alcanzar una turbidez de 2 en la escala McFarland. Una vez alcanzada dicha turbidez, se utilizaron 3 ml de preinóculo por matraz y los cultivos fueron incubados durante 1 mes a 28°C y agitación (90 rpm). El ensayo fue realizado por triplicado y en el mismo se incluyeron controles no inoculados que fueron sometidos a las mismas condiciones que los cultivos.

3.3.1. Evaluación de la biodegradación

Con la finalidad de evaluar las modificaciones producidas sobre el polímero PHBV como resultado de la acción microbiana de los aislados ensayados, las láminas incubadas en medio líquido fueron sometidas a un tratamiento para eliminar la biomasa adherida, siguiendo una modificación del protocolo descrito por Dey *et al.* (2020). Para ello, las láminas fueron tratadas con dodecil sulfato sódico, 20 g/L (SDS, Sigma-Aldrich), durante 2 horas en un baño de ultrasonidos (VWR Ultrasonic Cleaner). Tras este proceso, las láminas se lavaron con agua destilada y se secaron en una estufa a 37°C durante 24 horas. El grado de alteración del polímero fue evaluado mediante análisis espectroscópico.

3.3.2. Análisis espectroscópico

Con el fin de determinar las modificaciones ocurridas sobre la estructura química del sustrato plástico ensayado, las láminas fueron analizadas mediante Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier basada en la Reflectancia Total Atenuada (ATR-FTIR). Esta técnica se llevó a cabo en un espectrofotómetro IFS 66/S de Bruker, equipado con un detector de sulfato de triglicina deuterada y un módulo ATR con un cristal de diamante. Los espectros ATR-FTIR de cada réplica fueron adquiridos a partir del promedio de 64 escaneos (resolución 8 cm⁻¹) y las medidas fueron realizadas en el rango 4000-400 cm⁻¹ (Rodríguez Martín, 2021). El análisis espectroscópico fue realizado en el Servicio de Espectroscopía Infrarroja perteneciente al SEGAI (ULL).

Los espectros obtenidos a partir de las láminas de PHBV recuperadas de los cultivos fueron comparadas con los de las láminas de los controles negativos (no inoculados) con el fin de detectar alteraciones atribuibles a la actividad microbiana. En este sentido, la aparición o desaparición de picos de absorción en relación con el control se debe a generación de nuevos grupos funcionales o a la pérdida de grupos existentes en el polímero. Asimismo, los cambios en la intensidad de los picos son indicativos de variaciones en la abundancia relativa de los grupos correspondientes a dichos picos.

4. Resultados

4.1. Microorganismos con actividad esterasa/lipasa

A fin de encontrar microorganismos con actividad degradadora de plásticos procedimos al muestreo de superficies plásticas (muestras M1 y M2), cultivos de muestras

ambientales en presencia de plásticos (muestra M3), agua (muestra M4) y suelo (muestra M5) en contacto con plástico envejecido, lodos activados provenientes de la depuración de aguas residuales (muestra M6), superficies en contacto con combustible (muestra M7), aire en ambientes contaminados (muestras M8 y M9) y contaminaciones fortuitas de los medios de cultivo (muestra M10). Como primera aproximación evaluamos la presencia de microorganismos con actividad enzimática esterasa/lipasa, pudiendo observarse la aparición de colonias con actividad hidrolítica en las placas de TbA sembradas con las muestras M4, M6, M7, M8, M9 y M10 (Fig. 6).

Las colonias con resultado positivo en TbA fueron resembradas en el mismo medio con la finalidad de obtener cultivos puros y evaluar su nivel de actividad esterasa/lipasa. Para ello, se calculó la ratio entre el diámetro del halo de degradación y el diámetro de la colonia:

$$R = \frac{H}{C}$$

Donde:

R = Ratio.

H = Diámetro del halo de degradación.

C = Diámetro de crecimiento de la colonia.

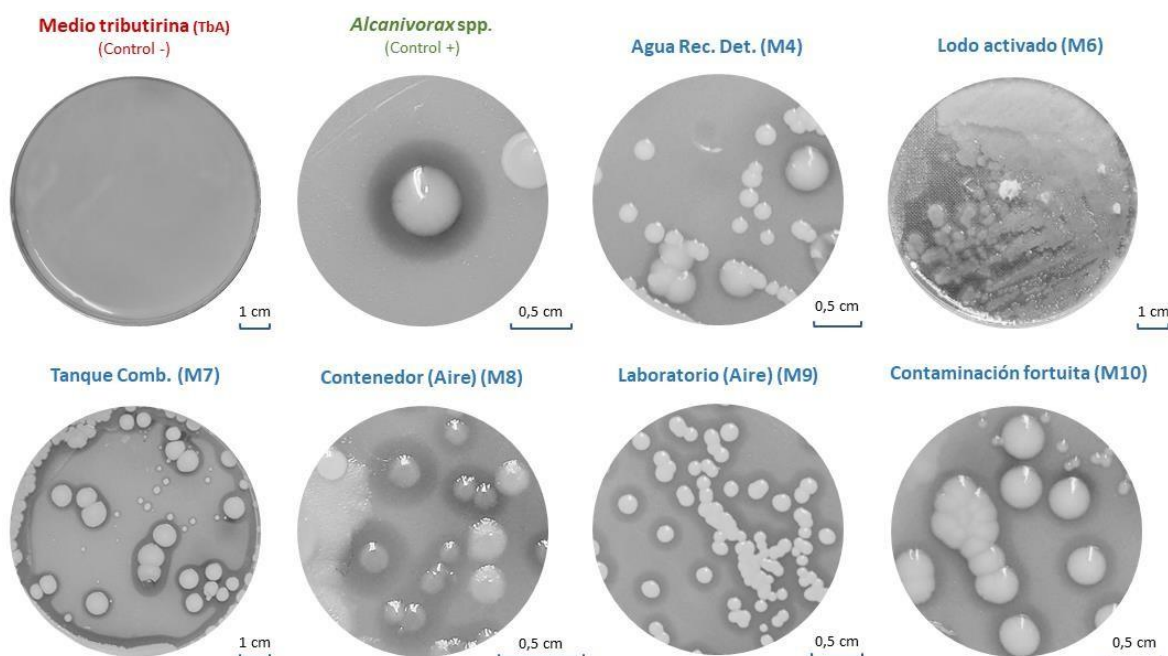


Figura 6.- Imágenes representativas de colonias mostrando actividad esterasa/lipasa, revelada por la presencia de halos claros, correspondientes a la degradación de la tributirina. Los microorganismos provienen de las muestras indicadas en la figura.

Los aislados que mostraron un valor de ratio mayor tras 24 h de incubación fueron A8 y A9, obtenidos de las muestras M8 y M9, en ambos casos se trata de muestras de aire procedentes de ambientes con presencia de residuos y químicos. Cabe señalar que la actividad de estos aislados fue superior a la de la cepa de *Alcanivorax* spp. utilizada como control positivo. El resto de aislados mostraron menor actividad, si bien en el caso del aislado A6 procedente de lodo activado (muestra M6) no se pudo determinar la ratio de degradación (Tabla 3).

Tabla 3.- Relación de aislados con actividad esterasa/lipasa, indicando sus ratios y tiempos de degradación.

Muestra	Tipo de muestra	Actividad esterasa/lipasa	Aislado	Ratio (H/C)	Tiempo
C+	<i>Alcanivorax</i> spp.	+	-	1,78	24 h
M1	Superficie de contenedor de reciclado de plástico	-	-	-	-
M2	Superficie de envase de plástico deteriorado	-	-	-	-
M3	Cultivos de muestras ambientales en presencia de plásticos	-	-	-	-
M4	Agua en recipiente de plástico deteriorado	+	A4	1,25	48 h
M5	Suelo en contacto con plástico envejecido	-	-	-	-
M6	Lodo activado de depuradora	+	A6	*	24 h
M7	Superficie de tanque de combustible	+	A7	1,5	24 h
M8	Aire muestreado en las inmediaciones de un contenedor de reciclado de plástico	+	A8	2,29	24 h
M9	Aire muestreado en un laboratorio de microbiología	+	A9	2,25	24 h
M10	Contaminación fortuita de medios de cultivo	+	A10	1,43	24 h

*Degradación total del sustrato (tributirina), ausencia de halo.

4.2. Microorganismos degradadores de poliésteres

Los aislados bacterianos con resultados positivos en medio TbA se inocularon en PCLA con el fin de estudiar su actividad como degradadores de poliésteres. Nuevamente, la actividad hidrolítica se mostraba como un halo transparente de degradación, transcurridos entre 4 y 7 días de incubación. Todos los aislados ensayados presentaron resultados positivos, salvo el aislado A6 procedente de lodo activado (Fig. 7).

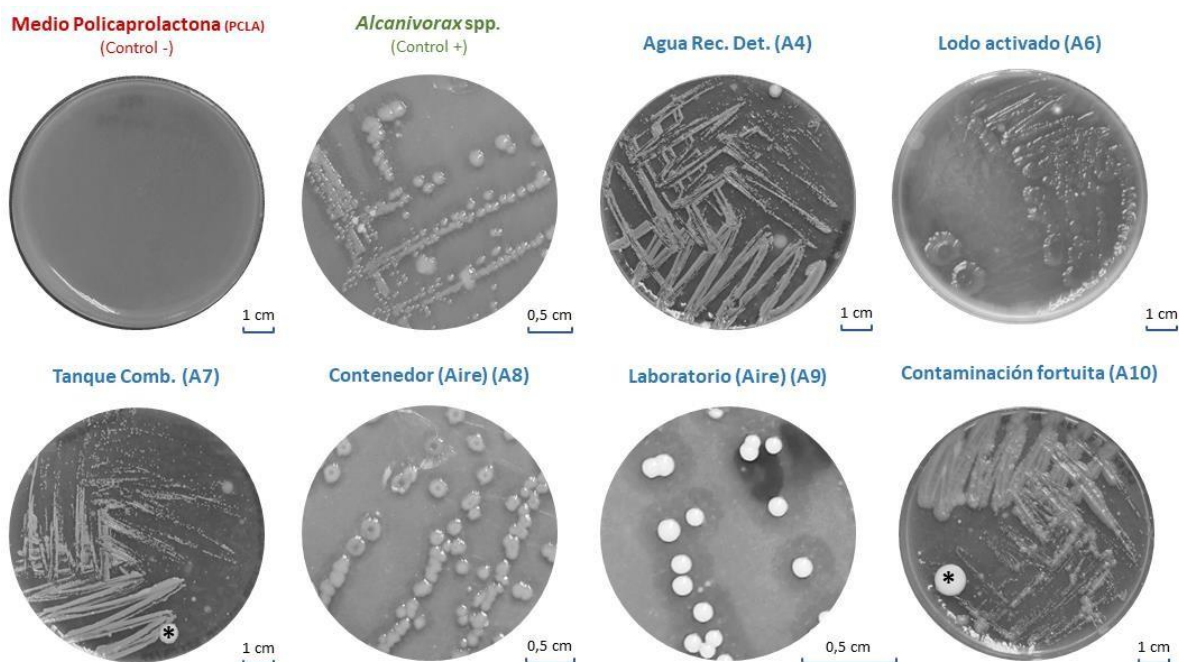


Figura 7.- Imágenes representativas de colonias mostrando actividad degradadora de policaprolactona (PCL), revelada por la presencia de halos claros, correspondientes a la degradación de la PCL. Los microorganismos aislados. *Indican precipitados de PCL.

En la Tabla 4 se muestra el nivel de actividad los aislados ensayados sobre PCL, de acuerdo con la ratio entre el diámetro del halo de hidrólisis y el diámetro de la colonia. En este caso, la mitad de los aislados con resultados positivos en este test presentaron un alto nivel de actividad (aislados A4, A7 y A10), observándose una degradación total del sustrato PCL. Al igual que en experimento anterior, el aislado A9 mostró una actividad más alta que la cepa de *Alcanivorax* spp. utilizada como control positivo (ratio = 3,13 del aislado A9 frente a ratio = 2,1 de *Alcanivorax* spp., tras 4 días de incubación).

Tabla 4.- Relación de aislados con actividad degradadora de policaprolactona (PCL), indicando sus ratios y tiempos de degradación.

Aislado	Tipo de muestra	Actividad degradadora de PCL	Ratio (H/C)	Tiempo
C+	<i>Alcanivorax</i> spp.	+	2,1	4 días
A4	Agua en recipiente de plástico deteriorado	+	*	1 semana
A6	Lodo activado de depuradora	-	-	-
A7	Superficie de tanque de combustible	+	*	5 días
A8	Aire muestreado en las inmediaciones de un contenedor de reciclado de plástico	+	1,67	4 días
A9	Aire muestreado en un laboratorio de microbiología	+	3,13	4 días
A10	Contaminación fortuita de medios de cultivo	+	*	1 semana

*Degradación total del sustrato (PCL), ausencia de halo.

En cuanto a la caracterización preliminar de los microorganismos aislados, la realizamos a partir de las muestras que arrojaron un resultado positivo en el cribado con PCLA (Tabla 5). Verificamos que la cepa de *Alcanivorax* spp. corresponde con bacilos Gram -. El resto de aislados presentaron morfologías diversas. Cabe destacar la muestra 10, la cual está conformada por un consorcio bacteriano entre un coco Gram - y un bacilo Gram + (Fig. 8).

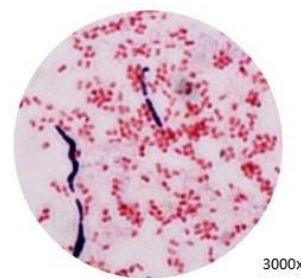


Figura 8.- Consorcio bacteriano formado por cocos Gram - y bacilos Gram +.

Tabla 5.- Caracterización morfológica de los aislados degradadores de Policaprolactona.

Aislado	Tipo de muestra	Gram		Morfología	
C+	<i>Alcanivorax</i> spp.	-		Bacilos	
A4	Agua en recipiente de plástico deteriorado	+		Cocos	
A7	Superficie de tanque de combustible	+		Cocos	
A8	Aire muestreado en las inmediaciones de un contenedor de reciclado de plástico	No concluyente		Bacilos	
A9	Aire muestreado en un laboratorio de microbiología	No concluyente		Cocos	
A10	*Contaminación fortuita de medios de cultivo	-	+	Cocos	Bacilos

*Consortio bacteriano; las bacterias no pudieron ser aisladas por separado para su identificación.

4.3. Microorganismos degradadores de polietileno

Los aislados bacterianos con resultados positivos en medio PCLA fueron seleccionados para evaluar su capacidad para degradar polietileno. Dichos aislados se inocularon en medio sólido PEA, con resultados negativos en todos los casos, ya que no se observó la aparición de zonas claras en torno a las colonias como resultado de la degradación del polietileno del medio.

4.4. Biodegradación de Polihidroxitirato-valerato en medio líquido.

La capacidad de los aislados con resultados positivos en PCLA para atacar otros polímeros de tipo poliéster fue evaluada en medio líquido, utilizando como sustrato láminas de PHBV. Una vez transcurrido el periodo de incubación (1 mes), las láminas de PHBV fueron sometidas a análisis espectroscópico, cuyos resultados se muestran en las Figuras 9 y 10. En el caso de los aislados A4, A7 y A10, así como de la cepa de *Alcanivorax* spp. incluida en el estudio, no se observaron alteraciones apreciables en el espectro de las láminas recuperadas de los cultivos con respecto al control no inoculado (Fig. 9). Sin embargo, los aislados A8 y A9

sí produjeron modificaciones en el espectro del polímero en comparación con las láminas control (Fig. 10). Cabe señalar que estos dos aislados fueron los que mostraron los mejores resultados en medio PCLA.

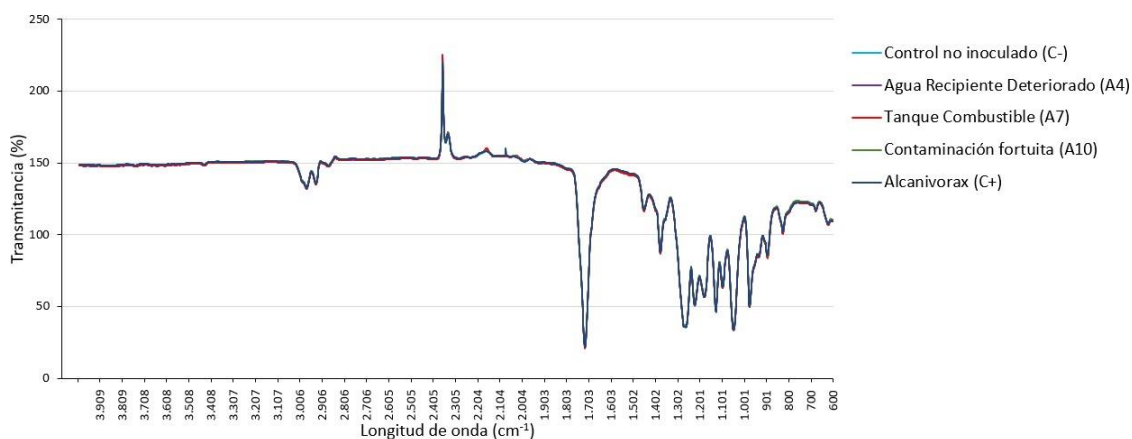


Figura 9.- Espectros ATR-FTIR de las láminas de PHBV incubadas con los aislados A4, A7, A10 y *Alcanivorax* spp. en medio líquido, a 28 °C durante un mes. El control negativo fue tratado de la misma forma, pero no se inoculó con microorganismos. Todos los espectros fueron similares.

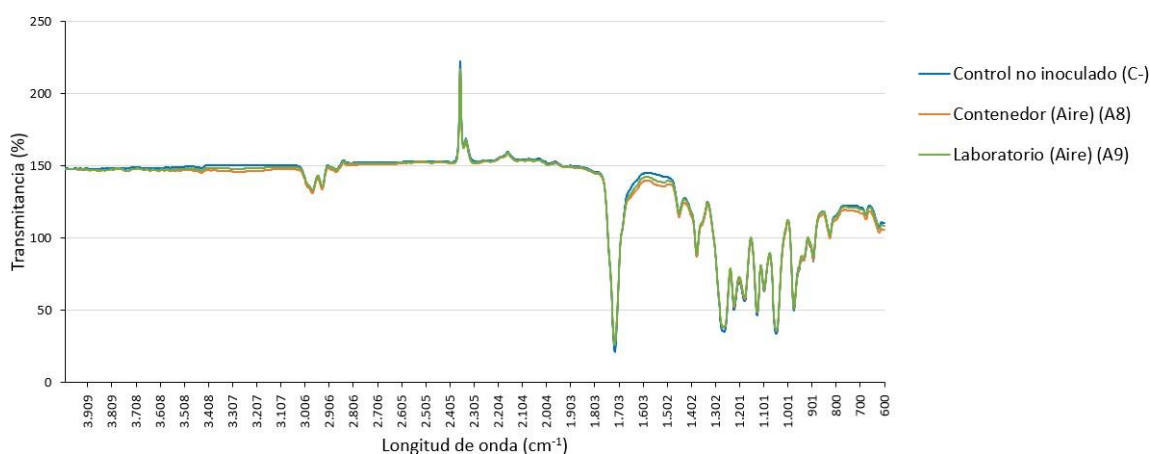


Figura 10.- Espectros ATR-FTIR de las láminas de PHBV incubadas con los aislados A8 y A9 en medio líquido, a 28 °C durante un mes. El control negativo fue tratado de la misma forma, pero no se inoculó con microorganismos. Los espectros tratados mostraron diferencias respecto del control.

Con respecto a los aislados A8 y A9, se observaron cambios en la intensidad de las bandas de absorción comprendidas entre 1640 – 1500 cm^{-1} y entre 800 – 700 cm^{-1} , correspondientes a alquenos ($\text{C}=\text{C}$) y grupos aromáticos, respectivamente, así como la aparición de una nueva banda de absorción entre 3350 – 3000 cm^{-1} que se corresponde con grupos hidroxilos (OH), de acuerdo con Brandley (2015) (Fig. 11). Estas modificaciones fueron cuantificadas tomando como referencia los valores de intensidad de las bandas de las láminas recuperadas de los controles no inoculados, expresándose en forma de porcentaje de alteración (Tabla 6). Los resultados indican que el aislado A9 produjo una alteración mayor en el polímero de PHBV que el aislado A8. Por otra parte, los mayores porcentajes de

alteración se registraron sobre el grupo funcional alqueno (3,11% en el caso del aislado A8; 5,36% en el aislado A9).

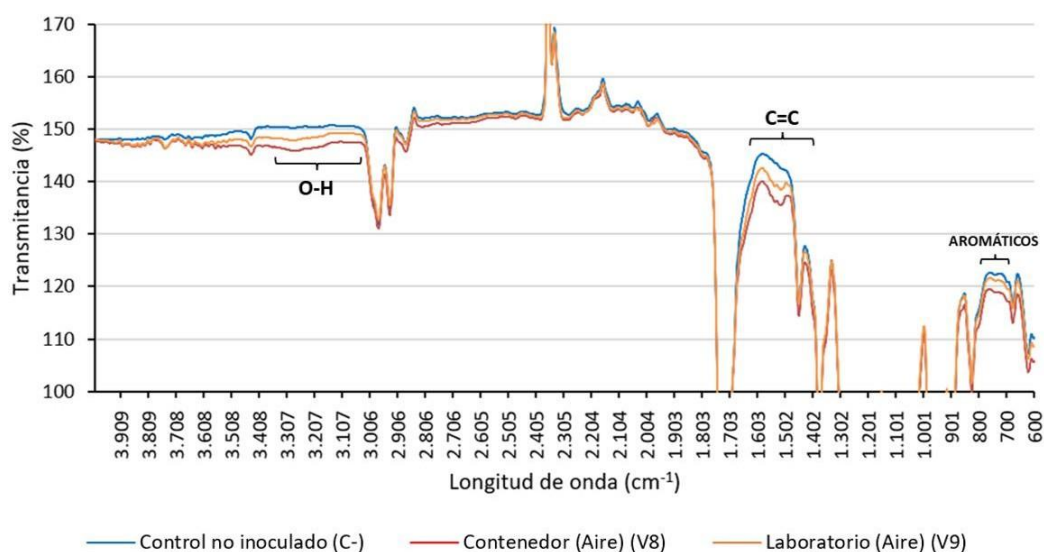


Figura 11. Ampliación de los espectros ATR-FTIR de las láminas de PHBV incubadas con los aislados A8 y A9 en medio líquido, a 28 °C durante un mes. El control negativo fue tratado de la misma forma, pero no se inoculó con microorganismos. Los espectros tratados mostraron diferencias respecto del control.

Tabla 6.- Porcentaje de alteración de los grupos funcionales indicados, en las láminas de PHBV incubadas con los aislados A8 y A9. Los datos fueron calculados a partir de los espectros ATR-FTIR, tomando como referencia los controles no inoculados.

Aislado	Grupos funcionales	% de alteración
A8	Hidroxilos (OH)	1,6%
	Alquenos (C=C)	3,11%
	Grupos aromáticos	1,1%
A9	Hidroxilos (OH)	2,95%
	Alquenos (C=C)	5,36%
	Grupos aromáticos	3,04%

5. Discusión

A pesar de que los plásticos se han convertido en un material muy preciado debido a su versatilidad, alta durabilidad y bajo coste, el uso masivo de estos polímeros en la vida cotidiana ha derivado en un problema medioambiental de primera magnitud (Cunguan *et al.*, 2023; Moshood *et al.*, 2022). Ante esta amenaza, es de suma importancia encontrar alternativas a los sistemas tradicionales de tratamiento de desechos plásticos como la utilización de microorganismos (o sus enzimas) para degradar este tipo de residuos, o la utilización de materiales biodegradables en lugar de plásticos derivados del petróleo. Sin

embargo, hasta la fecha, existe un conocimiento limitado sobre los mecanismos y la eficiencia de la biodegradación de plásticos (Ali *et al.*, 2021; Colnik *et al.*, 2020). Es por ello por lo que, en el presente trabajo, nos centramos en la búsqueda de microorganismos que sean capaces de degradar polímeros plásticos de diferente índole, tanto biodegradables como tradicionales.

Para comenzar este estudio, realizamos un primer screening para aislar microorganismos con actividad esterasa o lipasa a partir de distintos tipos de muestras, ya que este tipo de enzimas están implicadas en la degradación de plásticos de tipo poliéster. Además, esta actividad puede ser evaluada fácilmente en medio sólido, utilizando como sustrato tributirina, un éster sintético de cadena corta-media (Alarcón, 2008; Sandoval Herrera & Bermúdez Morera, 2021). De esta forma se obtuvieron aislados bacterianos que mostraban este tipo de actividad a partir de 6 de las 10 muestras analizadas. Estos aislados fueron sometidos a un segundo cribado con un sustrato más resistente: la policaprolactona (PCL), un material biodegradable que ha suscitado gran interés en los últimos años debido a su buena disponibilidad, bajo coste y facilidad para ser moldeado. Este polímero presenta un tiempo de degradación de entre 2 y 3 años, y puede ser degradado por microorganismos o por hidrólisis abiótica de su enlace éster alifático (Dwivedi *et al.*, 2020).

Cabe mencionar que, 5 de los 6 aislados con resultados positivos sobre la tributirina también fueron capaces de hidrolizar PCL, entre ellos el aislado A10, procedente de una contaminación fortuita de placas almacenadas a 4°C. No obstante, mediante observación microscópica se determinó que no se trata de un cultivo puro, sino de un consorcio bacteriano. Según trabajos recientes, el uso de consorcios microbianos podría contribuir a mejorar la biodegradación de los plásticos (Salinas *et al.*, 2023), tal y como describen Fachrul *et al.* (2021). Además, también se han estudiado recientemente microorganismos con capacidad degradadora de plásticos a bajas temperaturas. En este sentido, Urbanek *et al.* (2021) describen que, aunque la temperatura óptima del proceso de biodegradación es de 20°C, la tasa de biodegradación puede ser eficiente incluso a 14°C. Esto resulta muy interesante, ya que la aplicación de microorganismos y enzimas adaptadas al frío para el reciclaje industrial puede ahorrar energía y costos de procesamiento. Asimismo, las enzimas adaptadas al frío a menudo poseen una especificidad más amplia que las mesófilas, característica que puede ser de interés para su aplicación en procesos de biodegradación.

Por otra parte, ninguno de los aislados con actividad sobre la PCL fue capaz de degradar el polietileno (PE) de acuerdo con los resultados del test de zonas claras en medio sólido, hecho que no resulta sorprendente si se tiene en cuenta que se trata de un polímero muy resistente a la degradación. En la actualidad, el PE es uno de los plásticos más populares y utilizados en todo mundo. Sin embargo, el conocimiento sobre las condiciones que determinan su descomposición es muy limitado, pudiendo encontrarse en la bibliografía informaciones contradictorias a este respecto. De acuerdo con Fachrul *et al.* (2021), tras un tiempo relativamente corto de uso, el PE se vuelve extremadamente resistente a la biodegradación debido a su elevado peso molecular y contenido en aditivos como antioxidantes y estabilizadores.

Finalmente, los aislados seleccionados como degradadores de PCL fueron ensayados en medio líquido, con el fin de evaluar su capacidad degradadora frente a láminas de Polihidroxialcanoato valerato (PHBV). Este biopolímero, obtenido a partir de fuentes renovables y sostenibles, se ha convertido en un candidato destacado como alternativa a los polímeros sintéticos, por su biocompatibilidad y predisposición a la biodegradación (McAdam *et al.*, 2020). Como describen Utsunomia *et al.* (2020), la degradación de este tipo de polímeros tiene lugar en entornos con alta actividad microbiana, en los que los microorganismos crecen en su superficie y secretan enzimas, que dan lugar a productos hidrosolubles que son utilizados por los microorganismos. En nuestro caso, dos de los aislados ensayados fueron capaces de producir alteraciones en distintos grupos funcionales del polímero PHBV. Curiosamente, ambos aislados (A8 y A9) fueron obtenidos de muestras de aire, si bien este tipo de muestras no son utilizadas habitualmente como fuente de microorganismos degradadores de plásticos.

Conclusiones

1. La muestra proveniente de lodo activado (M6) mostró un aislado con únicamente actividad esterasa/lipasa.
2. Los aislados provenientes de la muestra de agua contenida en un recipiente plástico (M5), de la superficie de un tanque de combustible (M7) y el consorcio obtenido de una contaminación fortuita en una placa de TbA (M10) mostraron actividad esterasa/lipasa y degradaron la Policaprolactona (PCL).

3. Los aislados provenientes de las muestras de aire del contenedor de reciclaje (M8) y de laboratorio (M9) mostraron actividad esterasa/lipasa, degradaron la PCL y alteraron la composición de Polihidroxi butirato-valerato (PHBV) acorde a su espectro de ATR-FTIR.
4. Ninguna de las bacterias aisladas, con actividad esterasa/lipasa, fue capaz de degradar el Polietileno.

Conclusions

1. The sample taken from activated sludge (M6) showed an isolate with only esterase/lipase activity.
2. The isolates from the water sample contained in a plastic container (M5), from the surface of a fuel tank (M7) and the consortium obtained from an incidental contamination on TbA (M10) showed esterase/lipase activity and degraded Polycaprolactone (PCL).
3. Isolates from air samples taken in a recycling container (M8) and the laboratory (M9) showed esterase/lipase activity, degraded PCL and altered the composition of Polyhydroxy butyrate valerate (PHBV (PHBV) according to their ATR-FTIR spectra.
4. None of the isolated bacteria with esterase/lipase activity were able to degrade polyethylene.

Bibliografía

- Ahmed, T., Shahid, M., Azeem, F., Rasul, I., Shah, A. A., Noman, M., Hameed, A., Manzoor, N., Manzoor, I., & Muhammad, S. (2018). Biodegradation of plastics: Current scenario and future prospects for environmental safety. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(8), 7287-7298. doi.org/10.1007/s11356-018-1234-9
- Alarcón, M. (2008). *Producción de la lipasa Lip2 de Candida rugosa en el sistema Pichia pastoris: Caracterización y aplicación en reacciones de síntesis*. [Doctoral]. Universidad Autónoma de Barcelona.
- Ali, S. S., Elsamahy, T., Koutra, E., Kornaros, M., El-Sheekh, M., Abdelkarim, E. A., Zhu, D., & Sun, J. (2021). Degradation of conventional plastic wastes in the environment: A review on current status of knowledge and future perspectives of disposal. *Science of The Total Environment*, 771, 144719. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144719
- Al-Tohamy, R., Ali, S. S., Zhang, M., Sameh, M., Zahoor, Mahmoud, Y. A.-G., Waleed, N., Okasha, K. M., Sun, S., & Sun, J. (2023). Can wood-feeding termites solve the environmental bottleneck caused by plastics? A critical state-of-the-art review. *Journal of Environmental Management*, 326, 116606. doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.116606
- Álvarez da Silva, L. (2016). *Bioplásticos: Obtención y aplicaciones de polihidroxicanoatos*.
- Atanasova, N., Stoitsova, S., Paunova-Krasteva, T., & Kambourova, M. (2021). Plastic Degradation by Extremophilic Bacteria. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), 5610. doi.org/10.3390/ijms22115610

- Bhatt, P., Pandey, S. C., Joshi, S., Chaudhary, P., Pathak, V. M., Huang, Y., Wu, X., Zhou, Z., & Chen, S. (2022). Nanobioremediation: A sustainable approach for the removal of toxic pollutants from the environment. *Journal of Hazardous Materials*, 427, 128033. doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.128033
- Cai, Z., Li, M., Zhu, Z., Wang, X., Huang, Y., Li, T., Gong, H., & Yan, M. (2023). Biological Degradation of Plastics and Microplastics: A Recent Perspective on Associated Mechanisms and Influencing Factors. *Microorganisms*, 11(7), 1661. doi.org/10.3390/microorganisms11071661
- Cappello, S., & Yakimov, M. M. (2010). Alcanivorax. En K. N. Timmis (Ed.), *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology* (pp. 1737-1748). Springer Berlin Heidelberg. doi.org/10.1007/978-3-540-77587-4_123
- Chamas, A., Moon, H., Zheng, J., Qiu, Y., Tabassum, T., Jang, J. H., Abu-Omar, M., Scott, S. L., & Suh, S. (2020). Degradation Rates of Plastics in the Environment. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 8(9), 3494-3511. doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b06635
- Colnik, M., Knez-Hrncic, M., Skerget, M., & Knez, Z. (2020). Biodegradable polymers, current trends of research and their applications, a review. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 26(4), 401-418. doi.org/10.2298/CICEQ191210018C
- Cosgrove, L., McGeechan, P. L., Robson, G. D., & Handley, P. S. (2007). Fungal Communities Associated with Degradation of Polyester Polyurethane in Soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(18), 5817-5824. doi.org/10.1128/AEM.01083-07
- Cungan, J., Rojas, L., Morocho, T., Arcos, B., & Ortoz, C. (2023). Biodegradación del plástico con larvas de insecto Tenebrio molitor como contribución interdisciplinaria a la biotecnología medioambiental. *CIENCIA UNEMI*, 16(41), 28-33. doi.org/10.29076/issn.2528-7737vol16iss41.2023pp28-33p
- Delacuvellerie, A., Cyriaque, V., Gobert, S., Benali, S., & Wattiez, R. (2019). The plastisphere in marine ecosystem hosts potential specific microbial degraders including Alcanivorax borkumensis as a key player for the low-density polyethylene degradation. *Journal of Hazardous Materials*, 380, 120899. doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.120899
- Dey, A. S., Bose, H., Mohapatra, B., & Sar, P. (2020). Biodegradation of Unpretreated Low-Density Polyethylene (LDPE) by Stenotrophomonas sp. And Achromobacter sp., Isolated From Waste Dumpsite and Drilling Fluid. *Frontiers in Microbiology*, 11, 603210. doi.org/10.3389/fmicb.2020.603210
- Dwivedi, R., Kumar, S., Pandey, R., Mahajan, A., Nandana, D., Katti, D. S., & Mehrotra, D. (2020). Polycaprolactone as biomaterial for bone scaffolds: Review of literature. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 10(1), 381-388. doi.org/10.1016/j.jobcr.2019.10.003
- Emadian, S. M., Onay, T. T., & Demirel, B. (2017). Biodegradation of bioplastics in natural environments. *Waste Management*, 59, 526-536. doi.org/10.1016/j.wasman.2016.10.006
- Fachrul, M. F., Rinanti, A., Tazkiaturrizki, T., Salmiati, S., & Sunaryo, T. (2021). Degradation of Polyethylene plastic waste by indigenous microbial consortium and fungi. *Indonesian Journal of Urban and Environmental Technology*, 86-103. doi.org/10.25105/urbanenvirotech.v5i1.10749
- Fields, R. D., Rodriguez, F., & Finn, R. K. (1974). Microbial degradation of polyesters: Polycaprolactone degraded by P. pullulans. *Journal of Applied Polymer Science*, 18(12), 3571-3579. doi.org/10.1002/app.1974.070181207
- Gambarini, V., Pantos, O., Kingsbury, J. M., Weaver, L., Handley, K. M., & Lear, G. (2022). PlasticDB: A database of microorganisms and proteins linked to plastic biodegradation. *Database*, 2022, baac008. doi.org/10.1093/database/baac008
- Ganesh Kumar, A., Anjana, K., Hinduja, M., Sujitha K., & Dharani G. (2020). Review on plastic wastes in marine environment – Biodegradation and biotechnological solutions. *Marine Pollution Bulletin*, 150, 110733. doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110733
- Glaser, J. (2019). Biological Degradation of Polymers in the Environment. En A. Gomiero (Ed.), *Plastics in the Environment*. IntechOpen. doi.org/10.5772/intechopen.85124
- *Global plastic waste set to almost triple by 2060, says OECD.* (2022, junio 3). The Organisation for Economic Co-operation and Development. <https://www.oecd.org/newsroom/global-plastic-waste-set-to-almost-triple-by-2060.htm>
- Guan, Q.-F., Yang, H.-B., Han, Z.-M., Ling, Z.-C., & Yu, S.-H. (2020). An all-natural bioinspired structural material for plastic replacement. *Nature Communications*, 11(1), 5401. doi.org/10.1038/s41467-020-19174-1
- Jiménez, D. J., Öztürk, B., Wei, R., Bugg, T. D., Amaya Gomez, C. V., Salcedo Galan, F., Castro-Mayorga, J. L., Saldarriaga, J. F., & Tarazona, N. A. (2022). Merging Plastics, Microbes, and Enzymes: Highlights from an International Workshop. *Applied and Environmental Microbiology*, 88(14), e00721-22. doi.org/10.1128/aem.00721-22

- Jin, Y., Cai, F., Song, C., Liu, G., & Chen, C. (2022). Degradation of biodegradable plastics by anaerobic digestion: Morphological, micro-structural changes and microbial community dynamics. *Science of The Total Environment*, 834, 155167. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155167
- Jost, V., & Langowski, H.-C. (2015). Effect of different plasticisers on the mechanical and barrier properties of extruded cast PHBV films. *European Polymer Journal*, 68, 302-312. doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2015.04.012
- Kabir, E., Kaur, R., Lee, J., Kim, K.-H., & Kwon, E. E. (2020). Prospects of biopolymer technology as an alternative option for non-degradable plastics and sustainable management of plastic wastes. *Journal of Cleaner Production*, 258, 120536. doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.120536
- Koller, M., Matsumoto, K., Wang, Z., Li, F., & Shah, A. A. (2023). Editorial: Biodegradation of plastics. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 11, 1150078. doi.org/10.3389/fbioe.2023.1150078
- Kour, H., Khan, S. S., Kour, D., Rasool, S., Sharma, Y. P., Rai, P. K., Singh, S., Chaubey, K. K., Rai, A. K., & Yadav, A. N. (2022). Microbes mediated plastic degradation: A sustainable approach for environmental sustainability. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*. doi.org/10.7324/JABB.2023.110515
- Li, F., Yu, H.-Y., Li, Y., Hussain Abdalkarim, S. Y., Zhu, J., & Zhou, Y. (2021). "Soft-rigid" synergistic reinforcement of PHBV composites with functionalized cellulose nanocrystals and amorphous recycled polycarbonate. *Composites Part B: Engineering*, 206, 108542. doi.org/10.1016/j.compositesb.2020.108542
- Li, W., Zhao, W., Zhu, H., Li, Z.-J., & Wang, W. (2023). State of the art in the photochemical degradation of (micro)plastics: From fundamental principles to catalysts and applications. *Journal of Materials Chemistry A*, 11(6), 2503-2527. doi.org/10.1039/D2TA09523H
- Lu, H., Diaz, D. J., Czarnecki, N. J., Zhu, C., Kim, W., Shroff, R., Acosta, D. J., Alexander, B. R., Cole, H. O., Zhang, Y., Lynd, N. A., Ellington, A. D., & Alper, H. S. (2022). Machine learning-aided engineering of hydrolases for PET depolymerization. *Nature*, 604(7907), 662-667. doi.org/10.1038/s41586-022-04599-z
- Magalhães, R. P., Cunha, J. M., & Sousa, S. F. (2021). Perspectives on the Role of Enzymatic Biocatalysis for the Degradation of Plastic PET. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(20), 11257. doi.org/10.3390/ijms222011257
- McAdam, B., Brennan Fournet, M., McDonald, P., & Mojicevic, M. (2020). Production of Polyhydroxybutyrate (PHB) and Factors Impacting Its Chemical and Mechanical Characteristics. *Polymers*, 12(12), 2908. doi.org/10.3390/polym12122908
- Meereboer, K. W., Pal, A. K., Misra, M., & Mohanty, A. K. (2020). Sustainable PHBV/Cellulose Acetate Blends: Effect of a Chain Extender and a Plasticizer. *ACS Omega*, 5(24), 14221-14231. doi.org/10.1021/acsomega.9b03369
- Moharir, R. V., & Kumar, S. (2019). Challenges associated with plastic waste disposal and allied microbial routes for its effective degradation: A comprehensive review. *Journal of Cleaner Production*, 208, 65-76. doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.10.059
- Moshood, T. D., Nawanir, G., Mahmud, F., Mohamad, F., Ahmad, M. H., & AbdulGhani, A. (2022). Sustainability of biodegradable plastics: New problem or solution to solve the global plastic pollution? *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*, 5, 100273. doi.org/10.1016/j.crgsc.2022.100273
- Narancic, T., Verstichel, S., Reddy Chaganti, S., Morales-Gamez, L., Kenny, S. T., De Wilde, B., Babu Padamati, R., & O'Connor, K. E. (2018). Biodegradable Plastic Blends Create New Possibilities for End-of-Life Management of Plastics but They Are Not a Panacea for Plastic Pollution. *Environmental Science & Technology*, 52(18), 10441-10452. doi.org/10.1021/acs.est.8b02963
- Peng, Y., Prabhu, A., & Rinke, C. (2023). Facing our plastic waste crisis: Biorecycling as a promising solution. *Microbiology Australia*, 44(1), 52-56. doi.org/10.1071/MA23013
- Rather, M. A., Gupta, K., & Mandal, M. (2021). Microbial biofilm: Formation, architecture, antibiotic resistance, and control strategies. *Brazilian Journal of Microbiology*, 52(4), 1701-1718. doi.org/10.1007/s42770-021-00624-x
- Rodríguez Martín, S. (2021). *Biodegradación de polímeros plásticos por microorganismos de suelos de vertedero y cepas seleccionadas a partir de lodos activados y suelos contaminados por residuos plásticos* [Doctoral]. Universidad de La Laguna.
- Salinas, J., Carpena, V., Martínez-Gallardo, M. R., Segado, M., Estrella-González, M. J., Toribio, A. J., Jurado, M. M., López-González, J. A., Suárez-Estrella, F., & López, M. J. (2023). Development of plastic-degrading microbial consortia by induced selection in microcosms. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1143769. doi.org/10.3389/fmicb.2023.1143769
- Sandoval Herrera, J., & Bermúdez Morera, D. (2021). Degradación del polietilentereftalato por medio de microorganismos. *Informador Técnico*, 85(2). doi.org/10.23850/22565035.3592

- Sanluis-Verdes, A., Colomer-Vidal, P., Rodriguez-Ventura, F., Bello-Villarino, M., Spinola-Amilibia, M., Ruiz-Lopez, E., Illanes-Vicioso, R., Castroviejo, P., Aiese Cigliano, R., Montoya, M., Falabella, P., Pesquera, C., Gonzalez-Legarreta, L., Arias-Palomo, E., Solà, M., Torroba, T., Arias, C. F., & Bertocchini, F. (2022). Wax worm saliva and the enzymes therein are the key to polyethylene degradation by *Galleria mellonella*. *Nature Communications*, *13*(1), 5568. doi.org/10.1038/s41467-022-33127-w
- Shah, A. A., Hasan, F., Hameed, A., & Ahmed, S. (2008). Biological degradation of plastics: A comprehensive review. *Biotechnology Advances*, *26*(3), 246-265. doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.12.005
- Shamsuyeva, M., & Endres, H.-J. (2021). Plastics in the context of the circular economy and sustainable plastics recycling: Comprehensive review on research development, standardization and market. *Composites Part C: Open Access*, *6*, 100168. doi.org/10.1016/j.jcomc.2021.100168
- Sharma, H., & Neelam, D. K. (2023). Understanding challenges associated with plastic and bacterial approach toward plastic degradation. *Journal of Basic Microbiology*, *63*(3-4), 292-307. doi.org/10.1002/jobm.202200428
- Shilpa, Basak, N., & Meena, S. S. (2022). Microbial biodegradation of plastics: Challenges, opportunities, and a critical perspective. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, *16*(12), 161. doi.org/10.1007/s11783-022-1596-6
- Sin, L. T., & Tueen, B. S. (2019). Overview of Biodegradable Polymers and Poly(Lactic Acid). En *Poly(lactic Acid)* (pp. 1-52). Elsevier. doi.org/10.1016/B978-0-12-814472-5.00001-7
- Soledad Pazos, R., Suárez, J. C., & Gómez, N. (2020). Study of the plastisphere: Biofilm development and presence of faecal indicator bacteria on microplastics from the Río de la Plata estuary. *Ecosistemas*, *29*(3). doi.org/10.7818/ECOS.2069
- Son, H. F., Cho, I. J., Joo, S., Seo, H., Sagong, H.-Y., Choi, S. Y., Lee, S. Y., & Kim, K.-J. (2019). Rational Protein Engineering of Thermo-Stable PETase from *Ideonella sakaiensis* for Highly Efficient PET Degradation. *ACS Catalysis*, *9*(4), 3519-3526. doi.org/10.1021/acscatal.9b00568
- Suzuki, M., Tachibana, Y., & Kasuya, K. (2021). Biodegradability of poly(3-hydroxyalkanoate) and poly(ϵ -caprolactone) via biological carbon cycles in marine environments. *Polymer Journal*, *53*(1), 47-66. doi.org/10.1038/s41428-020-00396-5
- Tapia, M. C. P., & Belalcazar, J. J. H. (2020). *Propiedades, métodos de síntesis y aplicaciones de la policaprolactona*.
- Tournier, V., Topham, C. M., Gilles, A., David, B., Folgoas, C., Moya-Leclair, E., Kamionka, E., Desrousseaux, M.-L., Texier, H., Gavalda, S., Cot, M., Guémard, E., Dalibey, M., Nomme, J., Cioci, G., Barbe, S., Chateau, M., André, I., Duquesne, S., & Marty, A. (2020). An engineered PET depolymerase to break down and recycle plastic bottles. *Nature*, *580*(7802), 216-219. doi.org/10.1038/s41586-020-2149-4
- Urbanek, A. K., Strzelecki, M. C., & Mirończuk, A. M. (2021). The potential of cold-adapted microorganisms for biodegradation of bioplastics. *Waste Management*, *119*, 72-81. doi.org/10.1016/j.wasman.2020.09.031
- Utsunomia, C., Ren, Q., & Zinn, M. (2020). Poly(4-Hydroxybutyrate): Current State and Perspectives. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *8*, 257. doi.org/10.3389/fbioe.2020.00257
- Yoshida, S., Hiraga, K., Takehana, T., Taniguchi, I., Yamaji, H., Maeda, Y., Toyohara, K., Miyamoto, K., Kimura, Y., & Oda, K. (2016). A bacterium that degrades and assimilates poly(ethylene terephthalate). *Science*, *351*(6278), 1196-1199. doi.org/10.1126/science.aad6359
- Zadjelovic, V., Gibson, M. I., Dorador, C., & Christie-Oleza, J. A. (2020). Genome of *Alcanivorax* sp. 24: A hydrocarbon degrading bacterium isolated from marine plastic debris. *Marine Genomics*, *49*, 100686. doi.org/10.1016/j.margen.2019.05.001
- Zapata, D. A. (2012). *Polímeros biodegradables: Una alternativa de futuro a la sostenibilidad del medio ambiente*.
- Zhang, Y., Pedersen, J. N., Eser, B. E., & Guo, Z. (2022). Biodegradation of polyethylene and polystyrene: From microbial deterioration to enzyme discovery. *Biotechnology Advances*, *60*, 107991. doi.org/10.1016/j.biotechadv.2022.107991
- Zhang, Z., Peng, H., Yang, D., Zhang, G., Zhang, J., & Ju, F. (2022). Polyvinyl chloride degradation by a bacterium isolated from the gut of insect larvae. *Nature Communications*, *13*(1), 5360. doi.org/10.1038/s41467-022-32903-y