

**EVALUACIÓN DE MICROORGANISMOS (*TRICHODERMA SPP.* Y *PSEUDOMONA AERUGINOSA*) PARA LA DEGRADACIÓN DEL PET**

**DIANA CAROLINA BERMÚDEZ MORERA**

**Proyecto integral de grado para optar al título de Ingeniero Químico**

**Orientador**

**EDGAR FERNANDO MORENO**

**Ingeniero Química**

**FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA**

**FACULTAD DE INGENIERIA**

**PROGRAMA DE INGENIERIA QUÍMICA**

**BOGOTÁ D.C**

**2021**

## NOTA DE ACEPTACIÓN

---

---

---

---

---

---

---

Diana Milena Morales  
Firma del jurado

---

Juan Camilo Cely  
Firma del Jurado

---

Nombre  
Firma del Jurado

Bogotá D.C 22 de enero de 2021

## **DIRECTIVOS DE LA UNIVERSIDAD**

Presidente de la Universidad y Reactor de Claustro

Dr. Mario Posada García-Peña

Vicerrectora Académica y de Investigaciones

Dra. María Claudia Aponte González

Vicerrector Administrativo y Financiero

Dr. Ricardo Alfonso Peñaranda Castro

Secretaria General

Dra. Alexandra Mejía Guzmán

Decano de la Facultad de Ingeniería

Ing. Julio Cesar Fuentes Arismendi

Directo de Programa

Ing. Iván Ramírez Marín

Las Directivas de la Universidad de América, los jurados calificadores y el cuerpo docente no son responsables por los criterios e ideas expuestas en el presente documento. Estos corresponden únicamente al autor.

## DEDICATORIA

*Dedico este trabajo a mis padres por el apoyo que me brindaron durante el proceso en mi carrera, por estar en los momentos de estrés y de alegrías siempre a mi lado, guiándome para que los días de duro trabajo fueran más llevaderos y enseñándome que el esfuerzo brinda frutos.*

*A mis hermanos por soportar mi temperamento y acompañarme en el trayecto de mi carrera animándome a no desfallecer y con su humor y amor incondicional hacer mis días felices.*

## **AGRADECIMIENTOS**

Doy gracias primero que todo, al creador del universo, a Dios, a la vida, a mis padres, mis hermanos, que me acompañaron en este trasegar, para llegar hoy aquí a dar un inicio a mi nueva vida, a cumplir mis sueños, porque esto no termina aquí, es el comienzo de una nueva etapa en mi futuro.

A mi director Juan Andrés Sandoval Herrera por haber sido mi apoyo incondicional y animarme para seguir adelante, por su dedicación, empeño, motivación y gran responsabilidad como docente.

A mi orientador Edgar Fernando Moreno por estar pendiente de mis avances, por su orientación y coordinación en lo que respecta a mi trabajo de grado.

Cordial saludo,

Diana Carolina Bermudez Morera

## CONTENIDO

	pág
<b>INTRODUCCIÓN</b>	13
<b>OBJETIVOS</b>	15
<b>1.MARCO TEÓRICO</b>	16
1.1 Plástico	16
1.2 PET	16
1.3 Clasificación para su reconocimiento y problemas con el reciclaje	17
1.4 Métodos para la identificación de cambio de superficie del PET	18
1.5 Degradación enzimática	19
1.6 Microorganismos degradadores de plástico	20
1.6.1 Bacterias	20
1.6.2 Hongos Filamentosos	22
1.7 Medios de cultivo para el crecimiento de microorganismos	24
1.8 Proceso de degradación del PET	25
<b>2. CARACTERIZACIÓN DE LAS CONDICIONES DE LOS CULTIVOS PARA DEL CRECIMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS</b>	29
2.1 Condiciones para el cultivo de los microorganismos <i>Pseudomona aeruginosa</i> y <i>Trichoderma spp.</i>	30
2.1.1 Identificación microorganismo <i>Trichoderma spp.</i>	34
2.1.2 Identificación microorganismo <i>Pseudomona aeruginosa.</i>	34
<b>3. SELECCIÓN DE LAS CONDICIONES DE DEGRADACIÓN DEL PET POR MEDIO DE LOS MICROORGANISMOS <i>TRICHODERMA SPP</i> Y <i>PSEUDOMONA AERUGINOSA</i></b>	36
3.1 Degradación del PET sin tratar	37
3.1.1 Métodos para la identificación de cambio de superficie	41
3.2 Degradación del pet con tratamiento	43
3.2.1 Cambio de superficie en PET pretratado	45
<b>4. ESPECIFICACIONES TÉCNICAS DEL PROCESO</b>	48
4.1 Selección de las condiciones de operación	48
4.2 Pretratamiento del pet	50
4.2.1 Selección del PET	51

4.2.2 Trituración del PET	51
4.2.3 Tamizado	53
4.2.4 Desinfección y limpieza	53
4.2.5 Secado	53
4.3 Selección de equipos del pretratamiento	53
4.3.1 Trituradora	54
4.3.2 Tamiz Circular	54
4.3.3 Desinfección y limpieza	55
4.3.4 Horno centrifugo	55
4.3.5 Almacenamiento	55
4.4 Degradación del PET	56
4.4.1 Mezcla I	57
4.4.2 Mezcla II	57
4.4.3 Cultivo de cepas	57
4.4.4 Inoculación	57
4.4.5 Degradación	58
4.4.6 Separador	58
4.5 Selección de equipos	61
4.5.1 Tanque de mezcla	61
4.5.2 Autoclave	62
4.5.3 Incubadora	62
4.5.4 Biorreactor airlift	63
4.5.5 Separador vertical	63
4.5.6 Compresor axial	64
4.5.7 Bomba	64
4.5.8 Intercambiador de calor	64
<b>5. COSTOS DEL PROCESO</b>	<b>65</b>
<b>6. CONCLUSIONES</b>	<b>68</b>
<b>7. RECOMENDACIONES</b>	<b>70</b>
<b>REFERENCIAS</b>	<b>71</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>79</b>

## LISTA DE FIGURAS

	pág
<b>Figura 1.</b> Estructura del PET	17
<b>Figura 2.</b> Símbolo del PET	17
<b>Figura 3.</b> Degradación enzimática del poliéster	19
<b>Figura 4.</b> Colonia y tinción de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	22
<b>Figura 5.</b> Representación de <i>Trichoderma spp.</i>	24
<b>Figura 6.</b> Etapas para la preparación del PET	26
<b>Figura 7.</b> Etapas para la degradación del PET	27
<b>Figura 8.</b> Medio de cultivo soya-tripcaseina	31
<b>Figura 9.</b> Medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA)	32
<b>Figura 10.</b> Reacción para la degradación del PET	36
<b>Figura 11.</b> Ecuación porcentaje pérdida de peso	37
<b>Figura 12.</b> Degradación del PET por especie <i>Trichoderma spp.</i>	39
<b>Figura 13.</b> Prueba SEM previo a la degradación	41
<b>Figura 14.</b> Prueba SEM con pérdida de peso del 23%	42
<b>Figura 15.</b> Prueba SEM con pérdida de peso del 2.3%	42
<b>Figura 16.</b> Prueba SEM tratamientos rayos UV	45
<b>Figura 17.</b> Prueba DSC degradación con tratamiento NaOH	46
<b>Figura 18.</b> Diagrama del pretratamiento del PET	50
<b>Figura 19.</b> Diagrama de flujo pretratamiento del PET	50
<b>Figura 20.</b> PET triturado	52
<b>Figura 21.</b> Tamaño de partícula del PET	52
<b>Figura 22.</b> Diagrama de bloques para la degradación del PET	56
<b>Figura 23.</b> Degradación del PET	60

## LISTA DE TABLAS

	pág
<b>Tabla 1.</b> Métodos para la identificación del cambio de superficie del PET	18
<b>Tabla 2.</b> Clasificación de los hongos por temperatura	23
<b>Tabla 3.</b> Condiciones de medio de cultivo	29
<b>Tabla 4.</b> Porcentaje de degradación del PET sin tratar.	38
<b>Tabla 5.</b> Degradación del PET por especie de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40
<b>Tabla 6.</b> Degradación del PET con tratamiento	44
<b>Tabla 7.</b> Equipos para la trituración del PET	51
<b>Tabla 8.</b> Capacidad y costos de equipo trituradora	54
<b>Tabla 9.</b> Capacidad y costos de equipo tamiz circular	54
<b>Tabla 10.</b> Costos y capacidades de silos para almacenamiento	56
<b>Tabla 11.</b> Equipos para el proceso de degradación del PET	60
<b>Tabla 12.</b> Selección de biorreactor	61
<b>Tabla 13.</b> Capacidades y costos de autoclaves	62
<b>Tabla 14.</b> Capacidades y costos de incubadora	63
<b>Tabla 15.</b> Costos y capacidades de los equipos para la degradación del PET	65
<b>Tabla 16.</b> Consumo y costos energéticos para cada equipo	66

## GLOSARIO

**Cepa:** es un conjunto de microorganismos de la misma especie que se reproducen de una misma célula inicial, seleccionada y aislada [1].

**Conidios:** es la forma de reproducción asexual en hongos, son esporas asexuales que se forman de una célula o una hifa [2].

**Esporules:** es la formación de esporas y su expulsión que tiene una duración de 7 a 8 horas dependiendo del microorganismo [3].

**Hifas:** son estructuras de forma cilíndrica que forman el cuerpo de los hongos, estos crecen en sus vértices y se ramifican [4].

**Micelio:** son la germinación de dos o más esporas de color blanco y forma lanuda que evita la contaminación temprana del cultivo [5].

## RESUMEN

La presente investigación buscó demostrar las condiciones y capacidad de los microorganismos para lograr la degradación de largas cadenas de polímeros como lo es el PET, por medio de revisiones bibliográficas se propone el proceso para degradar el PET a escala piloto con el respectivo análisis financiero. Las revisiones bibliográficas se realizaron en motores de búsqueda y fuentes como Google académico, Springer Link y Science Direct. Esta búsqueda determinó que *Pseudomona aeruginosa* es una bacteria cuya capacidad de degradación supera el 14%(p/p), mientras que, la capacidad de degradación de *Trichoderma spp.* se encontró en 13.15% (p/p), siendo así, *Pseudomona* la especie recomendada para generar la degradación a escala piloto, donde, se seleccionan las condiciones de operación con base a los requerimientos del microorganismo para plantear el proceso de acondicionamiento y degradación del PET.

Palabras clave: Contaminación, degradación, microorganismo, PET, *Pseudomona aeruginosa*, *Trichoderma spp.*

## INTRODUCCIÓN

En Colombia existe una alta demanda en la producción de plástico dada la fabricación de envases y empaques que realizan las empresas mediante el uso del PET (polietileno tereftalato). A diario se consumen más de 24 kilos de plástico en forma de envases, según la revista Semana de cada 10 envases que salen solo 3 se reutilizan [6]. En Bogotá, capital del país cerca de 7.500 toneladas se generan al día y el 15% se recicla; sin embargo, los envases solo se pueden utilizar de 2 a 3 veces y tardan más de 700 años en degradarse. Las estrategias que se tratan de implementar no son suficientes para tratar todos los residuos. Después de que los envases cumplen su vida útil se transforman en resina reciclable pero la oferta que genera no logra suplir la demanda que producen las empresas [6]. El PET se utiliza en forma de envase para sus productos, estos son distribuidos y una vez el usuario termina el producto, desecha el envase. Al tener una gran demanda y oferta se genera una sobreproducción provocando fisuras en el sistema que se utiliza para reciclar el PET. Algunos problemas son debido a los microplásticos que contiene el PET y quedan en el ambiente, generan afectaciones humanas, problemas en el sector ambiental en zonas urbanas y afectación en el sistema terrestre y marino.

Para evitar que este problema siga en crecimiento se buscan alternativas que disminuyan la acumulación de PET. Por medio de revisiones bibliográficas realizadas en fuentes de búsqueda (Google académico, Springer Link y Science Direct) se determinó que en la degradación microbiana se emplean microorganismos de diversas especies (*Trichoderma harzianum*, *Pseudomonas aeruginosa*) que pueden romper los enlaces de este material y manejarlos para su propio beneficio. Los hongos y bacterias son capaces de adaptarse y crecer en ambientes con presencia de fuentes de carbono. De esta manera se puede controlar el problema sobre la acumulación de plástico en especial en los lugares donde se presentan mayores fallas como la capital de Colombia.

Los microorganismos empiezan su proceso de degradación cuando entran en contacto con el plástico, dado que, es un derivado del petróleo y los microorganismos utilizan una fuente de carbono para su desarrollo. Se realizan

pruebas como calorimetría diferencial (DSC) y microscopía electrónica de barrido (SEM), estas pruebas muestran el cambio de superficie que ha tenido la partícula y en qué proporción se ha dado dicho cambio. Al obtener diferentes resultados se realiza un análisis donde se tiene en cuenta el tiempo, el cambio de superficie y los costos para determinar cuál es la mejor opción para degradar el PET.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

Evaluar la degradación del PET por medio de *Trichoderma spp* y *Pseudomona aeruginosa*.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar las condiciones de los cultivos para el crecimiento de los microorganismos.
- Seleccionar las condiciones de degradación del PET por medio de los microorganismos *Trichoderma spp* y *Pseudomona aeruginosa* mediante revisiones bibliográficas.
- Definir las especificaciones técnicas del proceso.
- Realizar el análisis de los costos.

## 1. MARCO TEÓRICO

A continuación, se presentan los conceptos básicos sobre el plástico y, en especial, el PET; las condiciones de cultivo de los microorganismos correspondientes; la clase de equipos que se manejan para la degradación; así como los métodos que se encuentran para la verificación del proceso.

### 1.1 Plástico

Anualmente se generan 105.000 toneladas de plástico, de las cuales solo reciben tratamiento 32.000 toneladas; esto genera afectaciones en los ecosistemas por la acumulación del plástico debido a que es un material no biodegradable [6].

El plástico es un material orgánico constituido por polímeros de largas cadenas de átomos, en su mayoría carbono. Se obtiene a partir de productos naturales como la celulosa, carbón y derivados del petróleo. El plástico se puede dividir según su procedencia: es natural cuando viene de la celulosa, mientras que, es sintético si se obtiene del carbón o el petróleo [7]. Este material presenta una larga vida útil, por lo tanto, se busca reutilizar para no generar acumulación de residuos.

La contaminación mundial que se ha ido generando a lo largo de los años en gran parte está dada por el plástico. Faber Mogollón afirma “El plástico es un material poco biodegradable pues tardan un promedio de 10 a 15 años para degradar un 25-50% del material, lo que lo convierte en un alto contaminante para el medio ambiente; además se debe tener en cuenta que al ser quemado (práctica frecuente) produce gases venenosos” [8].

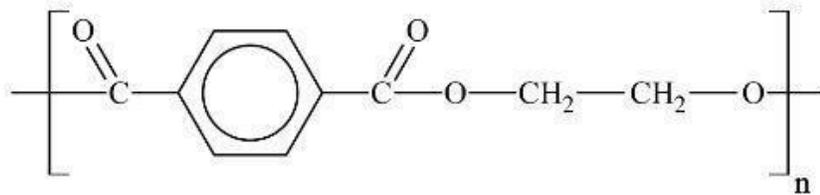
### 1.2 PET

El PET (polietileno tereftalato) es un polímero plástico, lineal con alto grado de cristalinidad que se utiliza en la producción de envases, o botellas, dada su dureza, flexibilidad, ligereza y resistencia; tiene una alta durabilidad (700 años en degradarse). Su fórmula química es  $(C_{10}H_8O_4)_n$  [9]. También se puede definir como un derivado del petróleo compuesto de etilenglicol y ácido tereftálico, que se puede

moldear o deformar para manejo en diferentes áreas [10], cuyas características principales son temperatura de fusión: 260°C, temperatura de cristalización: 80°C y punto de cristalización (40-60%) [11]. En la figura 1 se observa la estructura del PET, con la unidad que se repite, conformada por la unión del ácido tereftálico (a la izquierda, con el anillo bencénico) y el etilenglicol (-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-) a la derecha.

**Figura 1.**

*Estructura del PET.*



Nota: En la figura se presenta la estructura química del PET. Tomado de: ABC Pack. Requisitos: <https://www.abc-pack.com/enciclopedia/pet-polietilen-tereftalato> [9].

### 1.3 Clasificación para su reconocimiento y problemas con el reciclaje.

Los plásticos que se producen en Colombia deben traer el símbolo y número para su respectiva identificación. El PET se identifica con el número uno ubicado en la parte inferior o superior del envase o producto.

**Figura 2.**

*Símbolo del PET*



**Polietileno  
Tereftalato**

**Nota.** La figura representa el símbolo para la identificación del PET (polietileno tereftalato). Tomado de: Cámara Argentina De La industria Plástica (CAIP). Requisitos: <https://www.caip.org.ar/tipos-de-plasticos/>

En Bogotá se generan más de 7.500 toneladas diarias de PET y solo el 15 % de este se recicla. La necesidad de las empresas de utilizar una alta cantidad de PET y el desinterés por su reciclaje, o la posible prolongación de su vida útil, genera una acumulación tan grande que las estrategias para reciclarlo no son las suficientes. Las empresas encargadas de manejar los residuos al encontrarse colapsadas no permiten adquirir más plástico, por lo tanto, este termina llegando a sectores donde la limpieza de calles o zona verde es limitada ya que las comunidades no encuentran alternativas y prefieren dejarlas a la intemperie.

#### 1.4 Métodos para la identificación de cambio de superficie del PET

Los métodos para identificar el cambio de la superficie de la partícula son aquellos que permiten evaluar la degradación que realizan los microorganismos, mediante cambios térmicos, o fisuras, que la partícula llegue a sufrir. En la tabla 1 se definen algunos de los métodos que se emplean para la identificación.

**Tabla 1.**

*Métodos para la identificación del cambio de superficie del PET.*

<b>Método</b>	<b>Siglas</b>	<b>Definición</b>	<b>Referencias</b>
Microscopía electrónica de barrido	SEM	Microscopía que forma imágenes de la superficie del material a analizar mediante el uso de electrones mostrando así si se han generado fisuras o perturbaciones en dicha superficie.	[12]
Calorimetría diferencial de barrido	DSC	Este método detecta transiciones endotérmicas o exotérmicas en la superficie de la partícula, también determina las temperaturas de transformación y la entalpía de los sólidos y líquidos en función de la temperatura.	[13]

Nota: Estas pruebas son realizadas en laboratorios que tienen especialidad, ya que los equipos a manejar son costosos y requieren de sumo cuidado. Tomado de: Autoría propia.

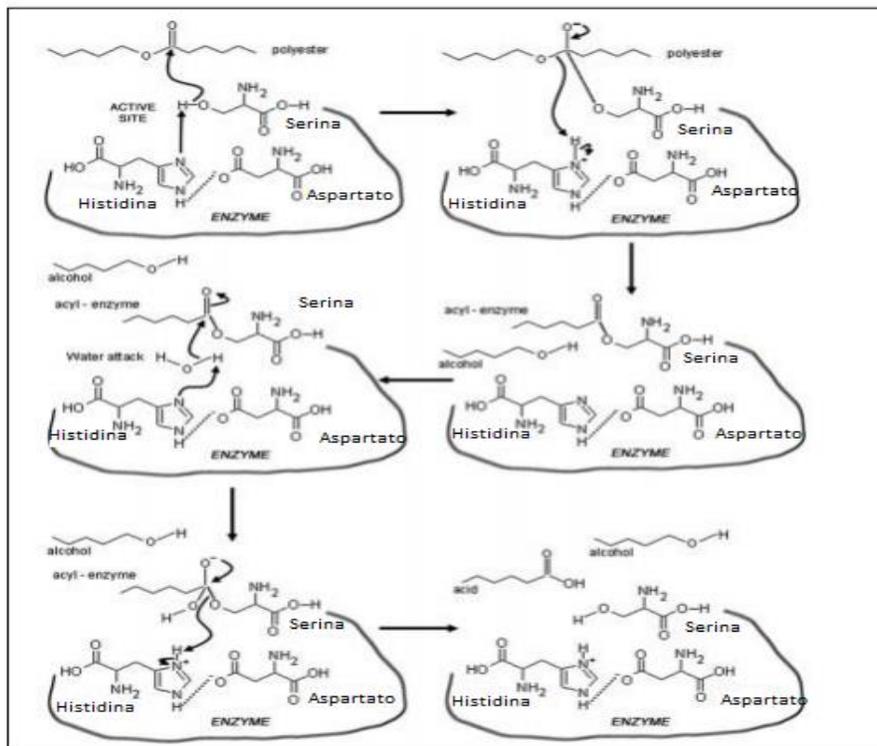
## 1.5 Degradación enzimática

La biotecnología ha ayudado en el avance de las enzimas que producen los microorganismos (PETasa, cutinasa) para el control de la contaminación en ecosistemas terrestres y marinos, así como el control de afectaciones en zonas urbanas [14].

El proceso de la degradación enzimática según Viteri Labeaga es aquel en que “Los microorganismos generan alteraciones en la estructura física y química de la cadena polimérica gracias a las enzimas que estos producen. Cuando comienza la degradación, una molécula de sustrato en el PET se adhiere al sitio activo de la enzima formando un complejo enzima-sustrato” [15]. En la figura 3 se observa la degradación enzimática del poliéster.

**Figura 3**

*Degradación enzimática de poliéster*



Nota: La figura representa el proceso de degradación que lleva un poliéster, es decir, la adherencia de la enzima al sustrato. Tomado de : TRABAJO DE FIN DE MÁSTER. Polímeros biodegradables. Importancia y potenciales aplicaciones [15].

En la figura 3 el sitio activo de la enzima compuesta de histidina, serina y aspartato se une al sustrato (poliéster) formando un complejo enzima-sustrato. Cuando esto ocurre la enzima rompe los enlaces del poliéster transformando una parte de este en alcohol [15]. Al encontrarse en medio acuoso, el agua ayuda a la degradación del poliéster mediante una hidrólisis, por esta razón, se genera el ataque del agua como se muestra en la figura 3. Durante la unión del sustrato y la enzima se generan productos como el alcohol y el ácido formando un complejo entre la enzima y el producto, esto se da por el ataque del agua a la acil enzima, transformándola en un compuesto ácido, esto con la función de liberar el carbono terminal al extremo de la cadena del sustrato. Posterior a esto, los productos se separan del sitio activo dejándolo libre para que la enzima histidina, aspartato y serina puedan ser utilizados nuevamente para otra degradación [15].

## **1.6 Microorganismos degradadores de plástico.**

Existen diversos microorganismos que se usan para degradar el PET; por ejemplo, algunas bacterias (*Ideonella sakaiensis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Thermobifida fusca*) y hongos filamentosos (*Fusarium culmorum*, *Trichoderma spp.*). Esta degradación se realiza por medio de las enzimas que libera cada especie y que son capaces de romper las cadenas de polímeros que componen el PET.

### **1.6.1 Bacterias**

Son microorganismos procariotas unicelulares que producen energía; algunas tienen la capacidad de asimilar el PET como sustrato dada su composición. Se clasifican según su forma: cocos, bacilos u otros; también según capacidad de retener colorante en gram positivos o gram negativos [16]. Algunas bacterias contienen flagelos (*Pseudomonas*, *E. coli*, *salmonella*); entre mayor sea el número de flagelos, mayor será el movimiento. El tamaño promedio se encuentra entre 0.5  $\mu\text{m}$  a 3  $\mu\text{m}$ , incluso algunas bacterias tienen la capacidad de llegar a los 10  $\mu\text{m}$ .

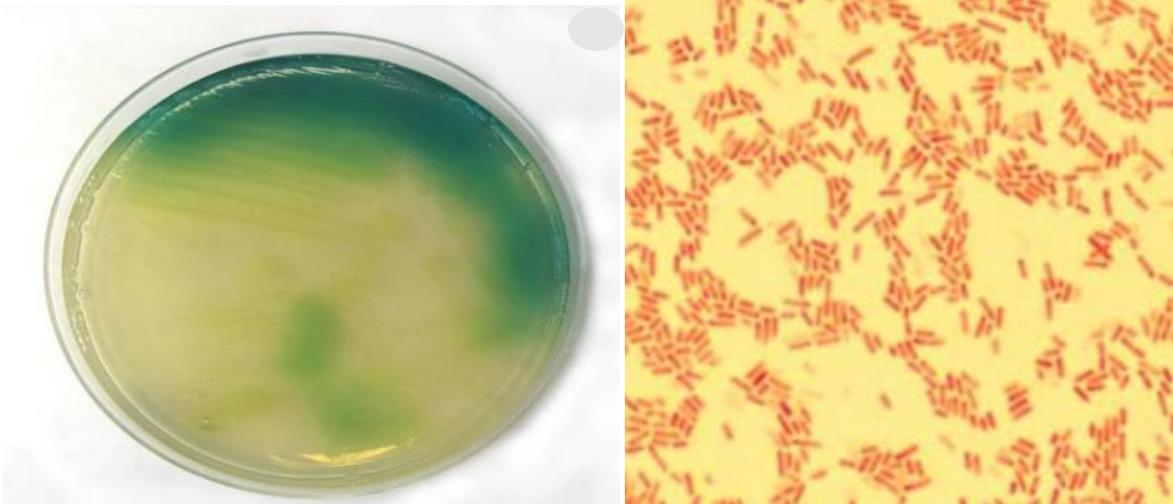
Al ser procariotas, su sistema está formado por ADN circular, ribosomas, plásmidos, membrana y pared celular, citoplasma y no poseen núcleo. En el citoplasma se

encuentra toda la información genética, específicamente en el nucleóide y la reproducción se puede dar por fisión binaria, es decir, la célula copia la información genética para posteriormente aumentar su tamaño y lograr la separación para la propagación del microorganismo [16]. Entre las bacterias degradadoras se presentan *Ideonella sakaiensis* y *Pseudomonas aeruginosa*:

- ***Ideonella sakaiensis***: Es una bacteria perteneciente al género *Ideonella* cuya temperatura óptima de crecimiento se encuentra entre 30°C a 37°C, según la revista National Geographic [25], así como Palm *et al.*, [73] estos microorganismos poseen las enzimas necesarias para degradar el PET como la PETasa, que se encarga de romper los enlaces de ésteres de dicho material. Se identificó un gen responsable de producir la enzima que procesa el PET, por lo tanto, llevó a producir más de la enzima en forma aislada y demostrar que el PET podía ser degradado directamente con la enzima
- ***Pseudomonas aeruginosa***: Es un bacilo gram negativo que pertenece al género *Pseudomonas*. Para su crecimiento y reproducción Barbarán, Cabanillas y Rubio afirman que la bacteria debe encontrarse a 36°C y en condiciones de laboratorio a 41°C, esto a razón de que su desarrollo se puede dar a temperaturas que se encuentren entre 15°C y 40 °C [17]. Teniendo en cuenta que puede tolerar temperaturas de hasta 50°C, a mayores temperaturas el microorganismo no se desarrolla [18]. Para su identificación producen pigmentaciones hidrosolubles de color amarillo-verdoso que en luz ultravioleta es fluorescente y pueden encontrarse en aguas domésticas o residuales. Esta bacteria es heterótrofa, por lo tanto, busca una fuente de sustrato, su tamaño promedio se encuentra entre 0.5-1 µm y 1.5-5 µm de largo [19]. En la figura 4 se observa la formación de la colonia.

#### Figura 4.

Colonia y tinción de *Pseudomona aeruginosa*



Nota: En la figura se identifica la colonia que se ha formado y la tinción que toma al realizar la prueba para la identificación de esta. Tomado de: C Mora, C., 2015. Crecimiento De *Pseudomona Aeruginosa* Sp En Presencia De Luz Roja, Verde Y UV. [online]Repositorio.unadmexico.mx.Availablehttp://www.repositorio.unadmexico.mx:8080/jspui/bitstream/123456789/194/1/PT2\_2091-1\_AL12520157.pdf> [Accessed 22 January 2021] [20].

#### 1.6.2 Hongo Filamentoso

Son microorganismos pluricelulares que se constituyen por filamentos llamados hifas. A un conjunto de hifas se le denomina micelio cuyas funciones reproductivas se dan por micelio aéreo cuando es sexual y conidios cuando es asexual [21]. Pertenecen al grupo de las células eucariotas, por consiguiente, están formadas por un núcleo, citoplasma, ribosoma, aparato de Golgi, lisosomas, vacuolas y a diferencia de las procariontas no poseen pared celular. Tienen la capacidad de degradar polímeros complejos, como muchos residuos sólidos, mediante la secreción de enzimas extracelulares que descomponen los polímeros en compuestos simples, Espinoza indica que cultivos como agar papa dextrosa (PDA) son eficientes para su crecimiento a una temperatura de 37°C [22]. Tienen la capacidad de crecer entre bajas y altas temperaturas; por esta razón, se clasifican dependiendo del rango de temperatura para su desarrollo óptimo como se muestra en la tabla 2.

**Tabla 2.**

*Clasificación de los hongos por temperatura*

<b>Clasificación de los hongos según temperatura</b>	<b>Rango de temperatura (°C)</b>	<b>Temperatura óptima (°C)</b>
Psicrófilos	< 0 °C < 20 °C	<15 °C
Mesófilos	< 20 °C < 40 °C	15 °C < 35 °C
Termófilos	40 °C < 80 °C	50 °C
Extremófilos	80 °C < 110 °C	80 °C < 110 °C

Nota: En el cuadro se muestran las temperaturas en que puede darse el crecimiento microbiano. Existen psicotolerantes que crecen a 0 °C pero su temperatura optima es de 20-40 °C. Tomado de: [http://www.microbiota.com.ar/sites/default/files/4%20crecimiento\\_0.pdf](http://www.microbiota.com.ar/sites/default/files/4%20crecimiento_0.pdf) [22]. Autoría propia.

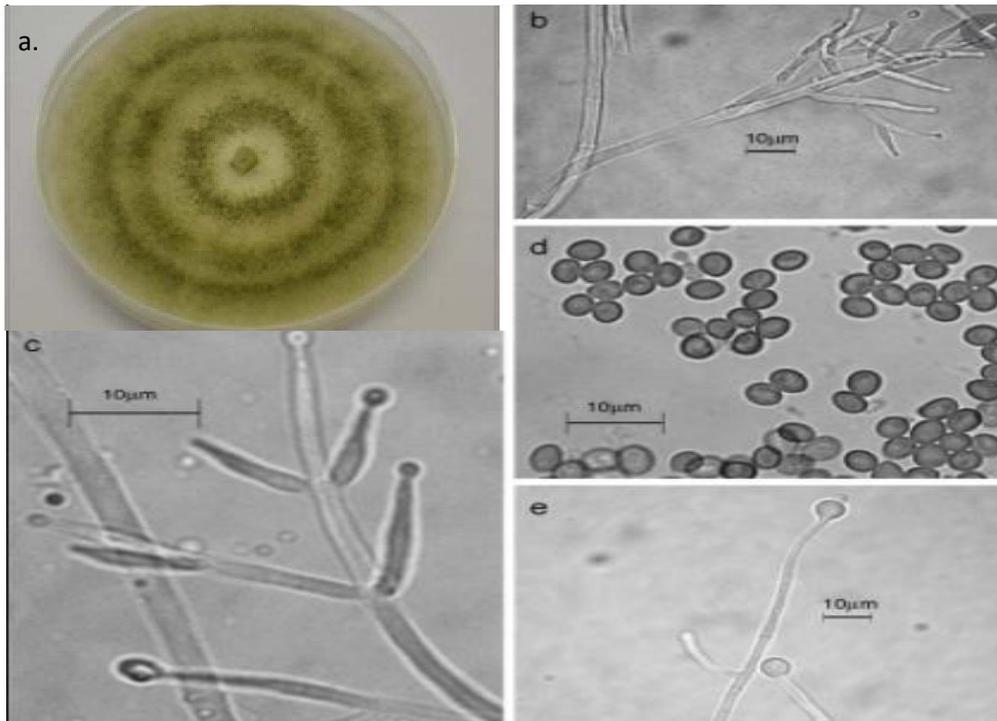
Entre los hongos capaces de degradar el PET se encuentran microorganismos como *Fusarium culmorum* y *Trichoderma spp*:

- ***Fusarium culmorum***: Pertenece al género *Fusarium*, Tapia y Amaro sostienen que este hongo tiene la capacidad de crecer a 37°C y el crecimiento se presenta en medios como agar papa dextrosa (PDA), agar Sabouraud, agar Clavel (CLA), agar de Spezieller Nährstoff-fermenter (SNA) y agar avena. En el momento de la degradación de PET presenta enzimas (cutinasas) que tienen la capacidad de degradar las cadenas que conforman al plástico [26].
- ***Trichoderma spp***: Pertenece al género *Trichoderma*, este microorganismo se encuentra en el ambiente especialmente en los suelos. Tiene la capacidad de inhibir la germinación y esporulación de hongos patógenos, se puede aislar en sustratos naturales y artificiales. Para su cultivo y aislamiento en laboratorios se requiere caldo de cultivo constituido con macro y micronutrientes, Espinoza indica que cultivos como agar papa dextrosa (PDA) son eficientes para su crecimiento a una temperatura de 37°C, temperaturas mayores a 45 °C inhiben el crecimiento de este microorganismo, sin embargo, en este medio la tasa de crecimiento es lento. Estos hongos tienen la capacidad de producir enzimas que degradan el PET debido a que cumple la función de sustrato [22]. Su tamaño promedio se encuentra entre 6.3 a 15.6 µm de largo y 2.7 a 3.4 µm de diámetro

[23]. En la siguiente figura se observa el micelio que forma este microorganismo en el momento de su reproducción. En la figura 5 se observan las partes del hongo *Trichoderma spp.* La parte a hace referencia a la colonia del microorganismo, b,c y d presentan las ramificaciones o hifas y finalmente la parte de las esporas que se producen.

**Figura 5.**

Representación *Trichoderma spp.*



Nota: En la figura se muestran las características morfológicas que *Trichoderma* presenta, el micelio suele cambiar de color dependiendo del medio en el que se cultive. Tomado de: Biotorlabs.Requisitos:<https://www.biotorlabs.com/singlepost/2016/11/30/Caracter%C3%ADsticas-de-Trichoderma-harzianum-como-agente-limitante-en-el-cultivo-de-hongos-comestibles> [24].

### 1.7 Medios de cultivos para el crecimiento de los microorganismos.

Los medios de cultivo son aquellos que las bacterias, hongos, levaduras utilizan para su alimentación e inoculación; aportan nutrientes necesarios para generar las

colonias que posteriormente serán manejados para distintas creaciones de enzimas o elaboración de productos.

Los cultivos están compuestos de macronutrientes ( $>10^4$  mol/L) principalmente carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, azufre, fósforo, potasio, magnesio, calcio y sodio; micronutrientes ( $<10^4$  mol/L) entre los que se encuentran azufre, hierro, zinc, calcio, cobre, cromo y vitaminas. Para las bacterias como *Pseudomona aeruginosa* se encuentran medios como los cultivos agar-sangre, Soya-tripcaseína, extracto de levadura, entre otras. Los hongos como *Trichoderma spp.* se reproducen en medios de agar, levadura y medios que contienen los macronutrientes mencionados anteriormente para su crecimiento.

Existen diversos tipos de cultivo como los medios de cultivo generales que no aportan los nutrientes que necesita el microorganismo, por lo tanto, necesitan de un agente externo para que este se pueda alimentar. Los medios selectivos que aportan los nutrientes al microorganismo, pero necesitan agentes externos para completar la nutrición y finalmente los medios complejos donde la nutrición celular es completa.

### **1.8 Proceso de degradación del PET.**

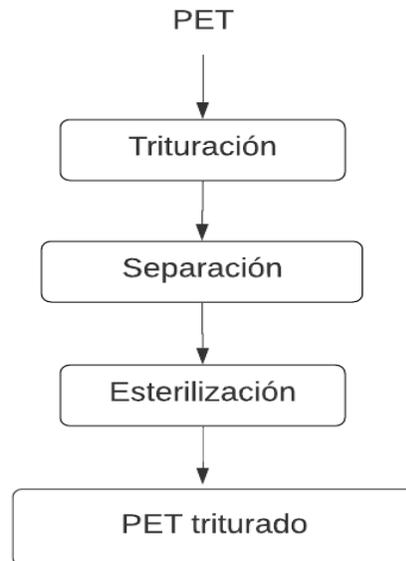
En Colombia no existe planta industrial que realice algún proceso de degradación biológico; sin embargo, a nivel de laboratorio se han realizado pruebas donde degradan pequeñas cantidades de PET. La implementación de esta alternativa se prueba en laboratorios donde se recrean biorreactores para realizar el proceso de degradación [27]. Para este proceso se tiene en cuenta que los microorganismos al momento de degradarse se adhieren a las paredes de la partícula, por este motivo, deben ser partículas diminutas que permitan una mayor degradación [28].

Este debe encontrarse sin ningún tipo de residuo, no debe contener color ni aroma, ya que, afecta la degradación y este tipo de alimento puede generar muerte al

microorganismo o que se generen otros tipos de productos. Por esta razón, para llevar a cabo el proceso es necesario que este polímero reciba un pretratamiento antes de iniciar la degradación como se muestra en la figura 6.

**Figura 6.**

*Etapas para la preparación del PET*



Nota: En la figura 6 se observan las etapas previas a la degradación del PET. Tomado de: Autoría propia

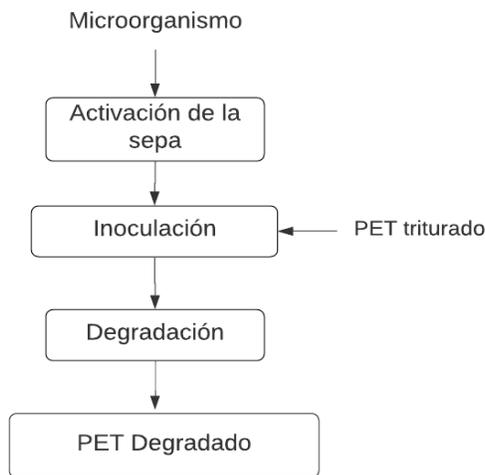
A continuación, se explica cada etapa para llevar a cabo el proceso de disminución de partícula del PET:

- a. Trituración: El PET se introduce en un equipo de trituración donde se disminuye el diámetro de la partícula. Es necesario repetir el proceso para que las partículas queden del menor diámetro posible.
- b. Separación: Por medio de un tamizado se separan las partículas según sus tamaños, aquellas que tienen el diámetro de partícula similar son seleccionadas para realizar la degradación.

- c. Esterilización: Las partículas son llevadas a una solución de alcohol etílico donde se dejan por 8 horas. Este proceso se realiza para eliminar cualquier tipo de contaminante que se encuentre.
- d. PET triturado: Finalmente el PET es llevado al horno centrifugo durante 8 horas a una temperatura de 150°C para almacenar hasta su uso [22].

Después del pretratamiento realizado al PET, se activa el microorganismo para posteriormente inocular las partículas del PET siguiendo los pasos correspondientes como se muestra en la figura 5. La degradación microbiana del PET es un proceso en el que se transforman propiedades como la estructura química y molecular, resistencia, color y peso. Esta degradación depende de las condiciones en las que se encuentre el microorganismo [29].

**Figura 7.**  
*Etapas para la degradación del PET*



Nota: En la siguiente figura se muestran las etapas del proceso para la degradación del PET. Tomado de: Elaboración propia.

A continuación, se define cada una de las etapas para realizar la degradación del PET:

- a. Activación de la cepa: Se añaden los nutrientes y muy pequeñas cantidades de PET (<0.01g) al microorganismo para que la cepa se empiece a adaptar al medio de cultivo. Este proceso se lleva a cabo por medio de la autoclave donde se mantiene en constante agitación a temperaturas de 121 °C, ya que, los medios no han sido esterilizados previamente [22].
- b. Inoculación: Cuando el microorganismo esté desarrollado, se inocula el PET como única fuente de carbono en cajas de Petri.
- c. Degradación: El PET se empieza a consumir por los microorganismos rompiendo la cadena polimérica y disminuyendo el área superficial.
- d. PET degradado: El PET sale del proceso de forma moldeable y manejable, se hacen las respectivas pruebas y el proceso termina.

## 2. CARACTERIZACIÓN DE LAS CONDICIONES DE LOS MEDIOS DE CULTIVO PARA EL CRECIMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS

Las condiciones de cultivo y los medios son importantes para una efectiva degradación, por este motivo, en este capítulo se presentarán las condiciones que diversos autores manejan como la temperatura y la cantidad de sustrato, o medio de cultivo, que utilizan para la inoculación de los microorganismos *Pseudomona aeruginosa* o *Trichoderma spp.*

Los medios de cultivo deben contener los nutrientes que el microorganismo necesita para multiplicarse. En general, los microorganismos necesitan fuente de carbono, nitrógeno, fósforo y otros componentes para que el microorganismo empiece a adaptarse en ese entorno [30].

La temperatura de incubación de la especie *Pseudomona* puede estar entre 35 °C a 47 °C; y, la de la especie *Trichoderma spp.* estar entre 30 y 37 °C. La tabla 3 muestra las condiciones que los autores seleccionaron para el crecimiento de *Pseudomona aeruginosa* y *Trichoderma spp.*

**Tabla 3.**

*Condiciones del medio de cultivo*

Microorganismos	Medio de cultivo	Temperatura de incubación (°C)	Tiempo (horas)	Referencias
<i>Trichoderma spp.</i>	Agar papa dextrosa	30	72	[22]
	Levadura y malta 2%	37	72	[32]
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Soya-Tripcaseína	30	24	[17]
	Soya-Tripcaseína	30	24	[17]
	Soya-Tripcaseína	30	24	[17]
	Mezcla	37	672	[33]
	Agar cetrimide	37	24	[34]

Nota: En la tabla se identifican los cultivos a utilizar por cada autor y el tiempo de incubación del microorganismo. Tomado de: autoría propia.

## 2.1 Condiciones para el cultivo de los microorganismos *Pseudomona aeruginosa* y *Trichoderma spp.*

Los microorganismos se desarrollan de forma óptima, debido a las condiciones que los autores seleccionan, ya que se encuentran en los rangos de temperatura adecuados para su crecimiento y reproducción como se mencionó en el capítulo 1. El tiempo de crecimiento varía dada la selección de medio de cultivo, soya-tripcaseína, levadura y papa de agar dextrosa son los principales nutrientes que se encuentran para el desarrollo de los microorganismos.

Para que los microorganismos se adapten es necesario mantener una agitación constante, debido a que necesitan aireación para distribuir el sustrato y otros nutrientes de manera homogénea, estimulando la adaptación al medio.

Las condiciones de operación para la inoculación de los microorganismos no deben variar, por lo cual, se debe tener un control permanente de la temperatura, ya que, a mayor temperatura puede que el microorganismo no se reproduzca en la cantidad deseada, o que generen otra clase de subproductos. La temperatura no debe sobrepasar los 37°C o los 41°C a nivel de laboratorio, la presión se debe mantener estándar y el pH neutro.

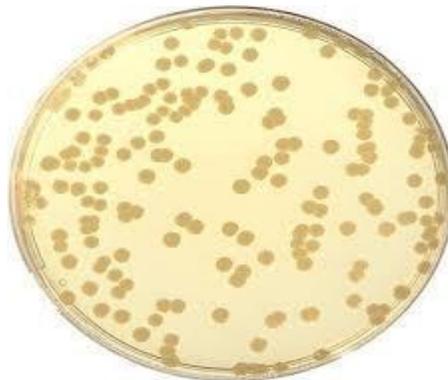
En la tabla 3 se observa que *Pseudomona aeruginosa* tiene diversos medios de cultivo que contienen micronutrientes y macronutrientes, razón por la cual, el microorganismo crece de forma óptima. Las bacterias manifiestan la capacidad de adaptarse en el ambiente que se encuentren y utilizar los nutrientes para su desarrollo, los medios son selectivos porque favorecen el crecimiento de especies específicas. De la misma forma, *Trichoderma spp.* tiende a desarrollarse de forma óptima; sin embargo, toma más tiempo en crecer. Al ser un microorganismo eucariota-pluricelular contiene un sistema complejo en comparación de los microorganismos procariotas (*Pseudomona aeruginosa*) que están formados por una estructura y ADN sencillo, por esta razón, el tiempo de incubación de *Trichoderma spp.* es mayor respecto al tiempo de incubación de *Pseudomona aeruginosa*.

Los medios de cultivo que manejan los autores se pueden diferenciar de forma visual. En la figura 8 se observa un cultivo con biomasa, se evidencia que es un cultivo selectivo, ya que, registra variedad de componentes que favorecen el aislamiento de las bacterias. En la figura 9 se puede observar el cultivo agar papa dextrosa, el medio contiene agar, extracto de papa y dextrosa, nutrientes que favorecen el crecimiento de especies como los hongos. El medio se denomina medio diferencial, debido a que no inhibe el crecimiento de otras especies, pero aporta características específicas para ciertas especies [73].

Las ilustraciones muestran la forma en que cada medio de cultivo se puede presentar al momento de formar las colonias de los microorganismos respectivos. Para estos medios de cultivo es necesario realizar una esterilización, esto se hace con agitación constante para disolver todos los nutrientes y a una temperatura de 121 °C, así se evita que el medio se contamine y altere la degradación.

**Figura 8.**

*Medio de cultivo soya-tripcaseina*



Nota: En la figura 8 se evidencia el cambio en los cultivos. Tomado de: Bioser. Requisitos: <https://www.bioser.com/productos/trypto-casein->

### Figura 9.

Medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA)



Nota: En la figura 9 se evidencia el cambio en los cultivos.

Tomado de: <https://mdmcientifica.com/wp-content/uploads/2018/09/O-P.PD-17-INSERTO-Agar-PAPA-Dextrosa-Actualizado.pdf>

El medio de cultivo afecta el crecimiento de las especies por la cantidad de nutrientes que contienen. La papa agar dextrosa (PDA), medio de cultivo que se usa con *Trichoderma spp.* es un medio que permite el crecimiento y reproducción de hongos, pigmentación y esporulación de estos, mientras que, el medio de cultivo soya-tripcaseína es el medio seleccionado por los autores para el aislamiento y reproducción de las bacterias, este medio está compuesto de micronutrientes y macronutrientes (NaCl, caseína, enzimas pancreáticas) que necesita el microorganismo para crecer y es el que se encuentra principalmente en el microorganismo *Pseudomona*, el medio no ayuda al crecimiento de especies diferentes [17]. También se pueden evidenciar otros tipos de cultivo para la especie *Pseudomona*, como el medio de cultivo agar cetrimide, se denomina un medio diferencial, ya que al contener centrimide inhibe el crecimiento de especies diferentes a *Pseudomona aeruginosa*, este medio según el autor Badahit y Kumar es manejado principalmente para el aislamiento de estas especies y así determinar las colonias a desarrollar [34]. Cabe destacar que *Trichoderma spp* obtuvo un

tiempo de incubación de 72h y *Pseudomona aeruginosa* obtuvo un tiempo de incubación de 24h, sin variaciones. El mayor tiempo en las bacterias (672 horas) se da por la cantidad de concentración de microorganismos que el autor bajo pseudonimo necesitaba para lograr la degradación que se proponía, ya que, a mayor concentración de microorganismos, mayor será la degradación en un menor tiempo, por este motivo, no se tiene en cuenta el tiempo de incubación que seleccionó el autor.

Para seleccionar las condiciones adecuadas de los medios de cultivo los autores tuvieron en cuenta los factores para un medio óptimo como se explica a continuación:

- a. Disponibilidad de nutrientes: Cuando se selecciona el sustrato o nutrientes del medio de cultivo este debe contener carbono, hidrógeno, nitrógeno y sales inorgánicas como lo presentan los autores Bahadid y Kumar y Barbaran, Cabanillas y Rubio [36].
- b. Consistencia del medio: Para que el medio sea apto se presenta un medio viscoso. Los autores seleccionan esta condición ya que algunos microorganismos no crecen de forma apropiada en medios sólidos, por lo tanto, se mantiene la humedad en el medio. [17,34,36].
- c. Presencia de oxígeno: El medio necesita aireación, dado que, *Pseudomona aeruginosa* y *Trichoderma spp.* son especies aerobias facultativas, por lo tanto, crecen a bajas cantidades de oxígeno, necesitan de este para su desarrollo y realizar la degradación, como se mencionó anteriormente [36].
- d. Humedad: El agua que se mantiene en el medio debe ser mínima para que este no se seque, por este motivo, se mantiene un nivel de agua y cuando se observa que el medio se está afectando el agua es retirada por medio de un calentamiento a 35°C [36]. El microorganismo *Trichoderma spp.* necesita de un nivel de humedad superior cuando se encuentra en suelos, sin embargo, esta

condición cambia cuando se aísla ya que cambia el ambiente en el que habita [37].

- e. Luz: Los autores realizan la inoculación en completa oscuridad, ya que, esta puede afectar al microorganismo y alterar la reproducción de este inhibiendo su crecimiento, este parámetro se mantiene constante en el proceso de degradación [36].
- f. pH: El medio se debe encontrar a pH neutro, ya que, *Pseudomona aeruginosa* y *Trichoderma spp* no necesitan de medios básicos o ácidos en condiciones de laboratorio, debido a la adaptación que se está generando en estos [36].

Finalmente, el factor de temperatura y esterilización del medio se seleccionó según las condiciones de crecimiento de los microorganismos.

### **2.1.1 Identificación microorganismo *Trichoderma spp.***

Para el microorganismo *Trichoderma spp.* es necesario realizar las pruebas para su reconocimiento de forma visual, por lo tanto, la revisión se realiza morfológicamente vía microscopio. Cuando se realiza la prueba visual es necesario tener en cuenta la morfología de los microorganismos. *Trichoderma spp.* presenta una colonia de 7.1 a 8.3 cm de coloración blanca y forma lanuda al comienzo de su desarrollo, estos microorganismos producen esporules una vez su colonia cambie de color. La colonia se torna madura cuando el color cambia a verde oscuro sin perder la textura y las ramificaciones se observan con un tamaño de 5.2 a 13.5 de largo y 3.0 a 3.6 de diámetro [37].

### **2.1.2 Identificación microorganismo *Pseudomona aeruginosa.***

Al momento de reconocer el microorganismo *Pseudomona aeruginosa* es necesario realizar pruebas de tinción gram, ya que, el microorganismo tiene la capacidad de pigmentarse para su reconocimiento. Después de su tinción se lleva a cabo la identificación morfológica. *Pseudomona aeruginosa* presenta un tamaño de 0.6 a 2  $\mu\text{m}$ , registra movilidad y no genera esporulaciones, a una temperatura de 41 °C

forma una colonia en forma de velo sobre el medio de cultivo [38]. El tamaño de *Pseudomona* con respecto a la literatura es menor debido a que su crecimiento se dio a condiciones de laboratorio.

### 3. SELECCIÓN DE LAS CONDICIONES DE DEGRADACIÓN DEL PET POR MEDIO DE LOS MICROORGANISMOS *TRICHODERMA SPP* Y *PSEUDOMONA AERUGINOSA*

A continuación, se presentan las condiciones para la degradación del PET que diversos autores tomaron, se explica el proceso que realizan los microorganismos para la transformación de este, las variaciones que se obtienen en el proceso y las variables que se controlan. Además, se presentan las condiciones cuando la degradación se da en un PET previamente tratado con luz ultravioleta e hidróxido de sodio.

El PET se degrada de forma aeróbica, dado que, los microorganismos necesitan aireación para su crecimiento y el oxígeno al ser manejado por estos mismos rompen los enlaces del PET, ya que, actúa como electrón aceptor, es decir, transforma las largas cadenas de polímeros ramificadas en cadenas ramificadas de menor tamaño. El microorganismo se adhiere a la superficie del PET dada su capacidad de asimilar este sustrato, ya que, es su fuente de carbono, se desarrolla en la superficie y posterior a esto ocurre la despolimerización del PET [29]. A continuación, se presenta la reacción que ocurre para la degradación.

#### Figura 10.

Reacción para la *degradación del PET* [39].



Los microorganismos (*Trichoderma spp* y *Pseudomonas aeruginosa*) despolimerizan el polímero lineal del plástico, transformándolo en un oligómero, dímero y finalmente monómero [40]. Cuando es transformado a monómero los microorganismos se inoculan en el sustrato, al transformarse en moléculas pequeñas tienden los microorganismos a degradarlo de mejor forma, por lo tanto, aumenta la biodisponibilidad del sustrato. En este proceso genera dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>),

agua (H<sub>2</sub>O), dióxido de azufre (SO<sub>2</sub>), dióxido de nitrógeno (NO<sub>2</sub>) y biomasa. Esta reacción no se ve afectada en el PET con tratamiento y sin tratamiento [29].

### 3.1 Degradación del PET sin tratar

El PET pasa por un proceso de trituración y tamizado para separar las partículas que contengan el mismo tamaño; después se esteriliza en tanques de agua para eliminar cualquier material externo que pueda afectar la degradación; se mantiene el control de temperatura y finalmente se inocula.

*Trichoderma SPP.* y *Pseudomona aeruginosa* tienen la capacidad de crecer y reproducirse en diversos medios de cultivo. Estos medios son replicados en cajas de Petri donde se inocula el PET que será la fuente de energía principal para iniciar la degradación. Los autores que se verán a continuación determinan las pérdidas de peso que se obtienen en el proceso, mediante la siguiente ecuación general:

**Figura 11.**

Ecuación Porcentaje pérdida de peso

$$\text{Pérdida de peso (\%)} = \frac{P_i - P_f}{P_i} * 100$$

Donde:

Pp: Pérdida de peso en masa (%).

Pi: Peso inicial (mg).

Pf: Peso final (mg).

Los porcentajes de pérdida de peso difieren por la cantidad de sustrato, cantidad de microorganismo y temperatura de degradación, entre otras variables. En la tabla 4 se evidencian los resultados.

**Tabla 4.**

Porcentaje de degradación del PET sin tratar.

Microorganismo	Medio de cultivo	Temperatura (°C)	Tiempo (días)	Peso inicial (mg)	Peso final (mg)	Peso perdido (%)	Referencias
<i>Trichoderma spp.</i>	Agar papa dextrosa	30	45	0.01	9.76*10 <sup>-03</sup>	3.3%	[31]
	Levadura-Malta	30	90	0.01	0.077	23%	[32]
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Soya-Tripcaseina	30	35	100	86.8	13.20%	[17]
	Soya-Tripcaseina	30	35	100	82.9	17.10%	[17]
	Soya-Tripcaseina	30-40	35	100	80.07	19.93%	[17]
	Mezcla	37	48	32.2	18.9	41.30%	[16]
	Agar cetrimide	37	30	0.01	9.15*10 <sup>-03</sup>	8.5%	[34]

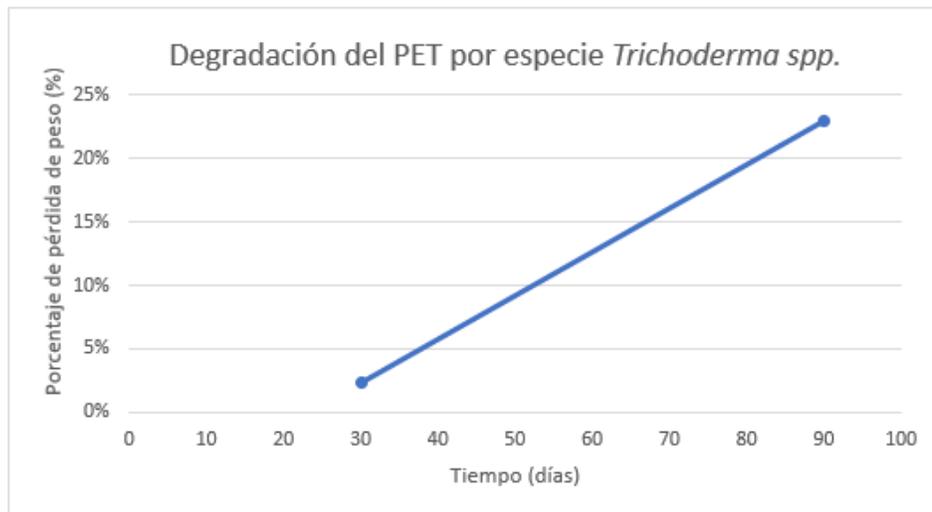
Nota: La siguiente tabla muestra los porcentajes de pérdida de peso en diferentes tiempos. El medio de cultivo Mezcla contiene 0.1%(NH<sub>4</sub>)SO<sub>4</sub>, 0.1% NaNO<sub>3</sub>, 0.1% K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.1% KCl, 0.02% MgSO<sub>4</sub>, 0.1% levadura, 1 Litro de agua doméstica. Tomado de: Autoría propia

*Trichoderma spp.* presenta un aumento mínimo en pérdida de peso en las pruebas realizadas por Espinoza. Estas dos variables se relacionan de forma directamente proporcional: a mayor tiempo, mayor será la degradación. Los autores Bellibatlu y Basaiah reportan para el PET una pérdida de peso de 23% en 90 días, siendo la mayor degradación entre la especie *Trichoderma spp.*

La figura 12 *Degradación del PET por especie Trichoderma spp.* muestra la relación existente entre el tiempo y la degradación, la degradación es una variable dependiente del tiempo, por lo tanto, a mayor tiempo será mayor la degradación, teniendo en cuenta que, cuando se agote el sustrato o el microorganismo ya no lo asimile, la relación entre el tiempo y la degradación se puede ver afectada, ya que, no se degradará el PET restante, por lo tanto, se presentará un cambio donde a mayor tiempo de degradación, menor será el porcentaje.

**Figura 12.**

*Degradación del PET por especie Trichoderma spp.*



Nota: La gráfica muestra la relación que tiene el tiempo con el porcentaje. Tomado de: Autoría propia.

De igual manera, la relación directamente proporcional entre la variable del tiempo y el porcentaje de degradación se evidencia en el microorganismo *Pseudomona aeruginosa* en la tabla 4, ya que, según los autores el menor porcentaje de degradación se presentó en 30 días, mientras que, el mayor porcentaje se dio en 48 días, siendo así la relación directamente proporcional para este microorganismo.

El medio de cultivo también es un factor que puede alterar la degradación: el agar, medio de cultivo general no aporta nutrientes al microorganismo, por esta razón, es necesaria la intervención de un agente externo; mientras que, la levadura es un medio selectivo que nutre al microorganismo ayudando a mejorar su adaptación, crecimiento y reproducción dado su alto contenido de vitaminas; por otra parte, contiene cloranfenicol que evita el crecimiento de microorganismos externos como las bacterias [41].

Por otro lado, *Pseudomona aeruginosa* presenta la mayor degradación en general con un porcentaje de 41.30% según un autor bajo seudónimo; el medio de cultivo que eligieron los autores fue de 0.1%(NH<sub>4</sub>)SO<sub>4</sub>, 0.1% NaNO<sub>3</sub>, 0.1% K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.1%

KCl, 0.02% MgSO<sub>4</sub>, 0.1% levadura, 1 Litro de agua doméstica. Este es un factor importante en este caso, debido a que, las bacterias utilizan como nutriente el ambiente en el que se encuentran, al contener vitaminas, macro y micronutrientes su desarrollo resulta óptimo, teniendo en cuenta que, a mayor tiempo de incubación, mayor será la colonia de esta.

Cuando el tiempo de degradación de *Trichoderma spp.* es similar al tiempo de degradación de *Pseudomona aeruginosa*, esta última presenta una degradación que supera en un 1.53% a la especie *trichoderma. Trichoderma spp.*, tarda más en adaptarse a su medio para iniciar la degradación. Otro factor de importancia en la degradación es la concentración como se muestra en la tabla 5.

**Tabla 5.**

*Degradación del PET por Pseudomona aeruginosa.*

Microorganismo	Medio de cultivo	Concentración (UFC)	Tiempo degradación	Porcentaje pérdida de peso
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Soya-Tripcaseína	9x10 <sup>8</sup>	30	13.20%
	Soya-Tripcaseína	18x10 <sup>7</sup>	30	17.10%
	Soya-Tripcaseína	36 x 10 <sup>7</sup>	30	19.93%

Nota: Los autores Barbaran, Cabanillas y Rubios realizan la degradación a diversas concentraciones. UFC: Unidades formadoras de colonia. Tomado de: Biodegradación de polietileno tereftalato (PET) por acción de *Pseudomona aeruginosa*

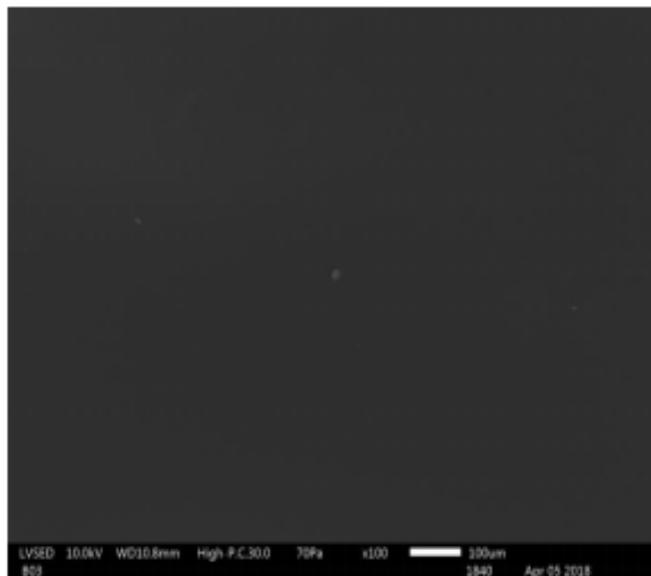
Los autores Barbaran, Cabanillas y Rubios evidencian un aumento en la degradación en un mismo tiempo, esto se debe a la relación que existe entre la concentración de microorganismo y la degradación. Cuando la concentración de microorganismo aumenta, la degradación también lo hace, *Pseudomona* al ser un organismo procariota obtiene la colonia en menor tiempo dependiendo de la cantidad de microorganismo se inocule.

### 3.1.1 Métodos para la identificación de cambio de superficie

Los autores Bellibatlu, Basaiah y Espinoza verificaron el cambio que tuvo la superficie del PET mediante pruebas de microscopía espacial de barrido (SEM). El autor Espinoza realizó la prueba de microscopía en el PET previo a la degradación como se muestra en la figura 13:

**Figura 13.**

*Prueba SEM previo a degradación*

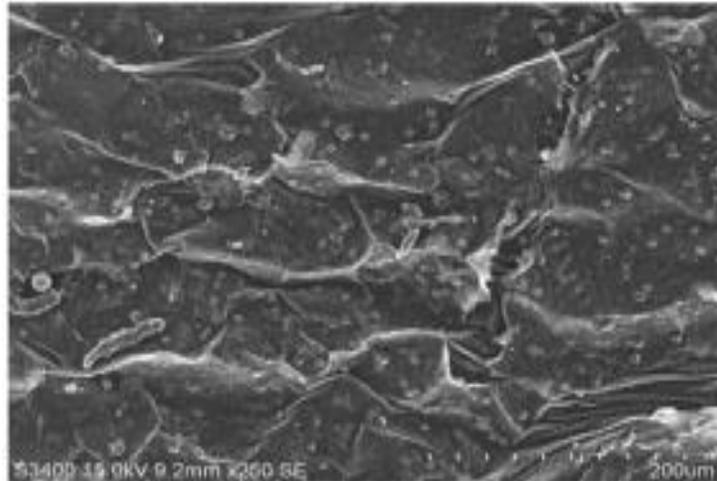


Nota: La figura 13 muestra la partícula previa a la degradación. Tomado de: Espinoza. Evaluación del polietileno de baja densidad [22].

En la figura 13 se muestra una superficie lisa, sin perturbaciones o alguna asimetría, esto se da porque no se ha realizado ningún tipo de proceso que afecte la superficie de este material o alguna corrosión o perturbación por agentes externos. Los autores tomaron muestras de tamaño inferior a 0.1 cm para realizar la prueba. En las figuras 14 y 15 se observan los cambios de la superficie tratada.

### Figura 14

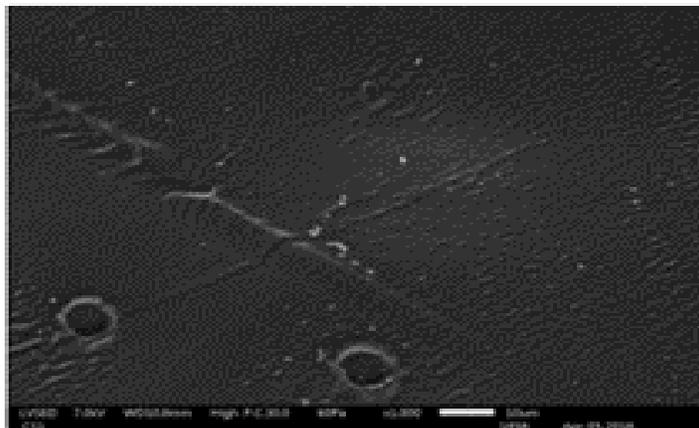
*Prueba SEM con pérdida de peso 23%*



Nota: En la ilustración se muestran los cambios que tiene el PET. Tomado de: Bellibatlu, Basaiah, Degradation of polyethylene by *Trichoderma harzianum*-SEM, FTIR, and NMR analyses [26].

### Figura 15.

*Prueba SEM con pérdida de peso 2.3%*



Nota: En la ilustración se muestran los cambios que tiene el PET. Tomado de: Espinoza, Evaluación de la degradación de polietileno de baja densidad [20].

Las pruebas realizadas al PET degradado por acción del microorganismo *Trichoderma spp.* evidencian pequeñas perturbaciones demostrando que la superficie se encuentra con fisuras y corrugada. En la figura 14 se puede observar una descamación pronunciada en diferentes partes del PET, esto se da en la totalidad de la superficie, debido a que, el microorganismo degradó al PET durante 90 días, por lo tanto, el microorganismo estuvo en contacto con el PET durante un mayor tiempo, mientras que, en la figura 15 se evidencia un cambio mínimo en la superficie debido a que los cambios que se presentan son poco visibles y se generan en un solo lugar del PET, esto se da, porque el microorganismo se concentró en una parte específica en la superficie del PET y el tiempo de degradación fue menor respecto a la figura 14, dando como resultado una degradación en menor proporción debido a que en el restante de la superficie no se observó una degradación inicial.

### **3.2 Degradación del PET con tratamiento**

El PET en algunos casos recibe un pretratamiento en el que se altera su superficie. Cuando se realiza este proceso las partículas de PET se dejan en solución durante 8 horas en el reactivo correspondiente, o se expone a radiación de luz ultravioleta. Este material es susceptible a cambios de su superficie dado que su estructura química contiene compuestos orgánicos. La radiación UV, en conjunto con el oxígeno daña la cadena de polímeros, esto debido a que la radiación genera un enlace con esta cadena generando radicales libres para así empezar el proceso de rompimiento [43]. Se utiliza el hidróxido de sodio (NaOH) al 1 M o el ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) para romper las cadenas del polímero y disminuir el área superficial.

Estos tratamientos se llevan a cabo para alterar la superficie, previo a la degradación microbiana. Posterior a esto, el material se esteriliza para eliminar cualquier residuo de los tratamientos y se inocula al medio. A los medios de cultivo y microorganismos no se les realiza ningún tipo de modificación, dado que ya el PET se trató. En la tabla 6 se registran los resultados encontrados por algunos autores al realizar la degradación con estos pretratamientos.

**Tabla 6.***Degradación del PET con pretratamiento.*

Microorganismo	Pretratamiento	Porcentaje de pérdida de peso (tratamiento)	Medio de cultivo	Tiempo de degradación (días)	Porcentaje degradación PET (microorganismo)	Referencias
<i>Trichoderma spp.</i>	Rayos UV	40%	Mezcla	21	86.02%	[32]
	NaOH	2.1 %	Agar papa dextrosa	90	40%	[44]

Nota: La siguiente tabla muestra los porcentajes de pérdida de peso en diferentes tiempos. El medio de cultivo Mezcla contiene 0.1%(NH<sub>4</sub>)SO<sub>4</sub>, 0.1% NaNO<sub>3</sub>, 0.1t% K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.1% KCl, 0.02% MgSO<sub>4</sub>, 0.1% levadura.

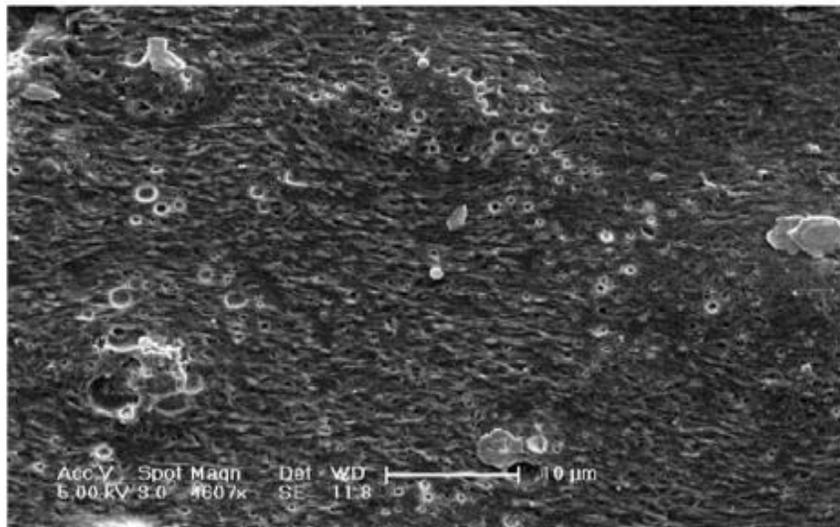
El tratamiento con rayos UV se realizó según los autores Bellibatlu y Basaiah en un equipo completamente aislado, este muestra una efectividad (40%) en comparación al NaOH (2.1%), las condiciones en las que se presentó la disminución de partícula por medio de los rayos UV fueron de alta frecuencia, por esta razón, la partícula presentó fisuras y superficie con quemaduras en el total de la superficie de la partícula. El PET solubilizado en NaOH muestra resultados óptimos a pesar de estar en menor proporción respecto al tratamiento con rayos UV. En comparación con los primeros resultados obtenidos en el PET sin tratamiento, el porcentaje de degradación es superior, por lo cual este método genera mayor efectividad respecto al PET que solo se desinfecta. La partícula del PET fue sometida a una solubilización en NaOH durante 8 horas, los autores al no manejar un porcentaje mayor respecto a la base dieron como resultado una disminución de partícula menor. Por otro lado, se demuestra la degradación que obtuvo en las partículas, los tratamientos aportaron un cambio notorio en la superficie, el autor Bellibatlu reporto para el PET una pérdida de peso del 86%, es decir, una degradación del 46% en 21 días, mientras que, la autora Yadira reporta un porcentaje de degradación del 40%, en 90 días, evidenciando la degradación que se obtuvo en un porcentaje de 38.1% por acción de *trichoderma spp.*, por lo tanto, se determina que los tratamientos ayudan al porcentaje de degradación sin afectar el proceso de los mismos.

### 3.2.1 Cambio de superficie en PET pretratado

Las pruebas presentadas por algunos autores en la degradación del PET pretratado muestran variaciones en diferentes puntos de la superficie de la partícula. La figura 16 muestra cambios de la superficie tratada con radiación UV.

**Figura 16.**

*Prueba SEM tratamiento rayos UV*



Nota: La ilustración muestra el cambio de superficie después de degradado.

Tomado de: Degradation of polyethylene by *Trichoderma harzianum*-SEM, FTIR, and NMR analyses.

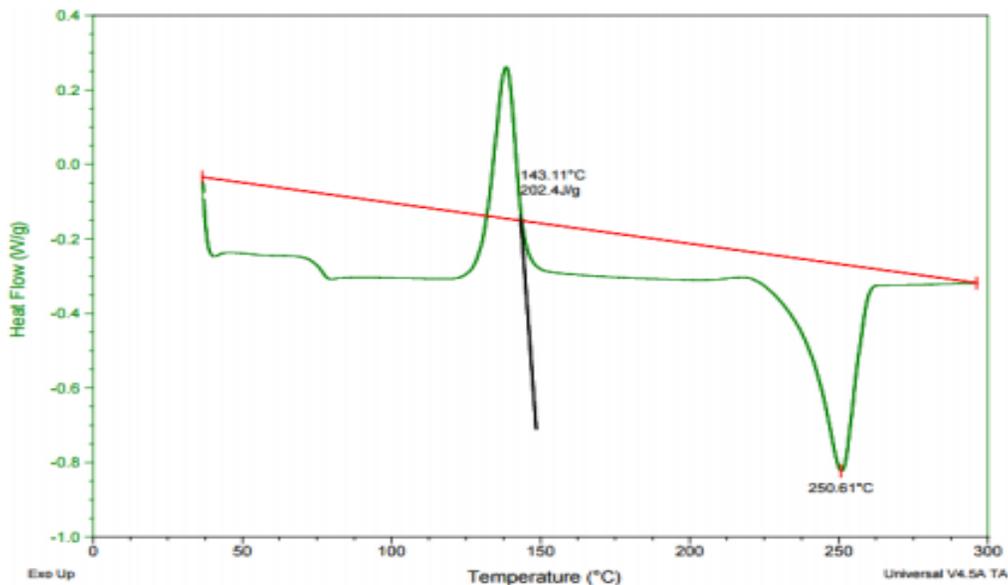
Las perturbaciones son evidentes en diversas partes de la superficie, cabe destacar que esas perturbaciones no son simétricas, por lo tanto, es notoria la degradación por la radiación de rayos UV. Estas perturbaciones se presentan a lo largo de la partícula y debido a la alta frecuencia manejada por el autor se presentó una disminución de superficie superior respecto a la figura 15, que presentó cambios mínimos, en un solo lugar del PET y en la figura 14 que presentó una descamación por obra de los microorganismos. Esta ilustración presenta cambios sustanciales en comparación de las figuras 14 y 15, donde los cambios son mínimos. Gracias a las

pruebas realizadas se determina el cambio de superficie que sufre la partícula y es una forma de determinar las variaciones en su densidad.

El autor Martínez realizó muestras de calorimetría espacial de barrido (DSC) para corroborar que el NaOH si altera el área superficial del PET disminuyendo su superficie. La figura 17 muestra la desviación que tiene el flujo de calor en algunos puntos de la gráfica. Cuando esto ocurre se toma la temperatura, ya que, esto evidencia si el cambio en el área de partícula sucede o no. La primera desviación es de 143.11 °C y el calor aumenta, mientras que, la segunda desviación es a 250.61 °C y el calor disminuye, por lo tanto, se puede afirmar que si a menor temperatura el calor aumenta es una reacción que está liberando calor, es decir, exotérmica y si a mayor temperatura el calor disminuye es endotérmica [44].

**Figura 17.**

*Prueba DSC degradación con tratamiento NaOH.*



Nota: En la gráfica se evidencia la degradación en las partículas en diversos puntos. Tomado de: Estudio de la degradabilidad del PET (Polietileno tereftalato) dosificado con un biopolímero de la fibra de banano.

La reacción que tiene el PET con el NaOH en un comienzo se da de forma exotérmica llegando a un punto donde el hidróxido de sodio no logra romper las cadenas de polímeros del PET y no altera las propiedades físicas de este; sin embargo, al presentar estos cambios en el comportamiento térmico se demuestra que el PET si fue alterado y que el reactivo no afecta la degradación pues este se usa para eliminar cualquier contaminante que pueda tener y que llegase a afectar posteriormente al microorganismo.

## 4. ESPECIFICACIONES TÉCNICAS DEL PROCESO

En este capítulo se define el proceso para realizar la degradación del PET y los equipos a utilizar, especificando la operación de cada uno de ellos. Debido a los altos volúmenes que no se reciclan de PET, se plantea un proceso para la degradación a escala piloto como una alternativa para el tratamiento de este con base en las condiciones en las que cada etapa del proceso se debe encontrar. Se hace la salvedad de que, para realizar los diagramas debidamente, es necesario realizar el trabajo de forma experimental.

En Colombia solo existen dos empresas recicladoras de PET: Apropet y Enka, según la revista semana, Aprobet recibe 30 toneladas al día y Enka transforma 24.000 toneladas por año, es decir, transforman 31.200 toneladas de PET, mientras anualmente 105.000 toneladas de residuos terminan en los basureros [6].

### 4.1 Selección de las condiciones de operación

De acuerdo con lo observado en capítulos anteriores, se plantea el proceso para la degradación a escala piloto. Tomando como referencia el autor Martin, el PET debe encontrarse con un diámetro de partícula promedio inferior a 1 cm y, para que la degradación ocurra en forma homogénea, el resto de las partículas a degradar deben tener tamaño de partícula similar. El PET se esteriliza con agua en aspersión a temperaturas entre 70°C y 90°C durante 8 horas, posterior a esto, se realiza un secado durante 6 a 8 horas a 150°C a 160°C [29].

Los microorganismos (*Trichoderma spp* y *Pseudomona aeruginosa*) deben encontrarse aislados y cultivados. Para esto, los medios de cultivo deben esterilizarse en autoclave a 121°C durante 20 minutos, como indica Espinoza [22]. Tanto *Trichoderma* como *Pseudomona* tienen condiciones de crecimiento similares, como se estableció en el punto 1.6 Microorganismos degradadores; por lo tanto, la temperatura para su inoculación y crecimiento se establece en 30°C, que se mantiene constante en el biorreactor. Una vez el proceso termine, el PET se lleva a un lavado con alcohol y agua; y, finalmente, se almacena para usarse como resina o como relleno en la fabricación de algún producto que lo requiera.

Para la propuesta a escala piloto se tienen en cuenta los tipos de procesos que pueden llevarse a cabo como el proceso *fed-batch*, *batch* y continuo, como se muestra a continuación:

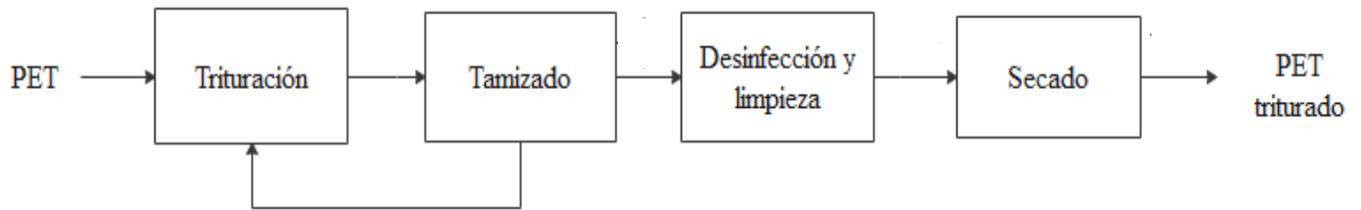
- **Fed batch:** El escalamiento se realiza por medio de un proceso *fed-batch*, debido al ingreso del sustrato de forma escalada, el microorganismo se adapta previamente al ingreso de la etapa de degradación, por esta razón, ingresan bajas cantidades de PET para evitar la ruptura de colonias y que el microorganismo se adapte de manera correcta para que logre la degradación, realizar la adición del PET en cada etapa mejora la productividad en el biorreactor [35].
- **Batch:** Para realizar el proceso *batch* debe solo ingresar el PET y el microorganismo, sin embargo, puede que la degradación no se de forma eficiente debido a la mala adaptación que se genera entre el microorganismo y el sustrato, otra consecuencia al realizar el proceso por este medio se debe a que el PET no se consume en su totalidad y al ingresar grandes cantidades puede que en el PET no se genere el rompimiento de las largas cadenas de polímeros [35].
- **Continuo:** Para realizar el proceso continuo debe ingresar el PET de forma constante, el microorganismo necesita de un tiempo determinado para lograr la degradación del PET y posterior a este salir del biorreactor. En el proceso no es requerido el ingreso del PET de forma permanente, ya que, generaría acumulación de sustrato donde no se degradaría debido al tiempo que toma el microorganismo en realizar el proceso, por lo tanto, los costos serían mayores debido al tiempo, sustrato y biomasa que se perdería [35].

## 4.2 Pretratamiento del PET

Conforme a los resultados mostrados en la sección 3.2.1 acerca de los beneficios sobre el proceso de degradación que genera el pretratamiento del PET, se propone a continuación el diagrama de bloques de dicho proceso.

**Figura 18.**

*Diagrama del pretratamiento del PET*

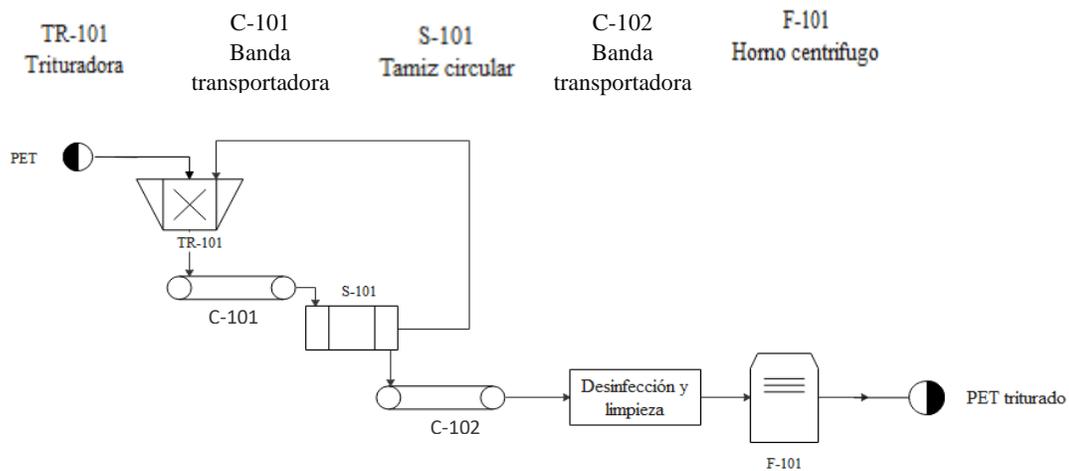


Nota: En el diagrama se muestran las etapas a llevar a cabo para el proceso de disminución de partícula del PET. Tomado de: Autoría propia.

A partir de la figura 18 se realiza el diagrama de flujo de proceso para el pretratamiento del PET que se muestra a continuación.

**Figura 19.**

*Diagrama de flujo pretratamiento del PET.*



Nota: En el diagrama se observa el proceso para la disminución de partícula del PET. Tomado de: Autoría propia.

**Tabla 7.**

*Equipos para la trituración del PET*

<b>Nombre equipo</b>	<b>Equipos</b>
TR-101	Trituradora
S-101	Separador
TK-101	Desinfección y limpieza
F-101	Horno centrífugo

Nota: La tabla muestra los equipos para la trituración del PET.

Tomado de: Autoría propia

Teniendo en cuenta las figuras 18 y 19 se procede para cada etapa detallar su funcionamiento, de forma general, como se explica a continuación:

#### **4.2.1 Selección del PET**

Es necesario que el PET no contenga trazas de algún tratamiento previo con químicos o alguna sustancia corrosiva y que el material se encuentre incoloro, dado que esto puede afectar la degradación o generar muerte microbiana, debido a los químicos que contienen los aditivos que se adicionan para dar el color al plástico y que el microorganismo no puede asimilar, ya que, no genera enzimas que degraden este tipo de compuestos. Esta operación se hace de forma manual [29].

#### **4.2.2 Trituración del PET**

El PET ingresa al equipo de trituración y molienda (TR-101) para la disminución de tamaño de partícula durante 10 minutos. Las especificaciones de dicho equipo se detallarán en la próxima sección. El tamaño ideal para la partícula se encuentra

entre 1 cm o inferior a este. Las siguientes figuras muestran el aspecto físico que debe tener el PET.

**Figura 20.**

*PET triturado*



Nota: En la figura se observa el tamaño de partícula adecuado después de pasar por la trituración. Tomado de: Green global polymers. Requisitos: <https://www.greenglobalpolymers.es/plastico-triturado-de-tereftalato-de-polietileno-pet/> [46]

**Figura 21.**

*Tamaño de partícula del PET*



Nota: En la figura se observa el máximo tamaño de partícula que debe salir de la trituración. Tomado de : autoría propia

### **4.2.3 Tamizado**

En esta etapa la separación se realiza durante 10 a 15 minutos, mediante tamices que se detallarán más adelante (S-101). El PET mayor a 1 cm se recircula a la etapa de trituración, mientras que el PET que cumple con las características físicas es llevado a desinfección.

### **4.2.4 Desinfección y limpieza**

El PET ingresa a un equipo que trabaja por dispersión continua del agente desinfectante en un tanque agitado (TK-101) con control de temperatura. Durante 8 horas se realiza la desinfección manteniendo la temperatura, ya que, esta es una variable que puede afectar el proceso; posteriormente, el PET necesita 20 minutos de limpieza para retirar cualquier residuo que pueda quedar en su superficie, esta limpieza consiste en un lavado con agua a una temperatura de 40°C, menor a la temperatura de desinfección, donde, se terminan de eliminar los residuos que puedan quedar en la superficie de las partículas [47].

### **4.2.5 Secado**

Las partículas de PET quedan húmedas por la dispersión de la anterior etapa. El autor Martin indica que el secado se lleva a cabo en un horno centrífugo, en un rango de 6 a 8 horas y a una temperatura de 150 a 160°C, (F-101), con control de temperatura [48], ya que, es necesario mantener la estabilidad del PET y a una mayor temperatura se puede alterar su superficie.

## **4.3 Selección de equipos del pretratamiento**

De acuerdo con el diagrama de flujo previamente realizado se proponen los siguientes equipos para el pretratamiento del PET, teniendo en cuenta que en el anexo A se muestran los equipos a trabajar.

### 4.3.1 Trituradora

La empresa Asian Machinery ofrece una trituradora a bajas revoluciones que está provista de cuchillas que giran a 25 rpm; estas realizan el trabajo de forma eficaz sin generar altos consumos energéticos ni ruidos [49]. La capacidad y costo depende del tipo de equipo a manejar. La tabla 8 muestra dicha información para algunas trituradoras en específico que se pueden encontrar industrialmente.

**Tabla 8.**

*Capacidad y costos de equipo trituradora.*

Equipo	Capacidad kg/h	Precio unitario (COP)	Referencias
Trituradora plástico VMGL2160	20-30	\$ 6.600.000	[50]
Trituradora plástico VMGL2170	70-80	\$ 8.000.000	[50]
Trituradora PET y vidrio LCC-G5	100	\$ 12.000.000	[50]

Nota: En la tabla se observa la capacidad y calor de cada equipo. Tomado de: Elaboración propia.

### 4.3.2 Tamiz circular

El tamiz se realiza posterior al triturado. Industrialmente existen diversas capacidades para realizar la separación de las partículas por tamaños. Los tamices más comunes al momento de separar el PET son aquellos de forma circular, estos equipos tienen baja carga energética y larga vida útil, la empresa Almapal Colombia ofrece diversos tipos de tamices. En la tabla 9 se aprecian las diferentes capacidades y costos de este equipo.

**Tabla 9.**

*Capacidad y costos de equipo tamiz circular.*

Equipo	Capacidad (kg/h)	Precio unitario (COP)	Referencias
Tamiz circular FTI-0550	400	\$ 5.400.000	[51]
Tamiz circular FTI-0800	850	\$ 9.000.000	[51]
Tamiz circular FTI-1200	2000	\$ 20.000.000	[51]
Tamiz circular GTI-1500	3000	\$ 32.000.000	[51]

Nota: La tabla presenta los costos y capacidades de los tamices. Tomado de: Autoría propia.

### **4.3.3 Desinfección y limpieza**

El PET de tamaño inferior a 1 cm ingresa al equipo de desinfección. Los equipos para esta etapa deben ser especiales para sólidos granulados o pequeñas superficies. El equipo de agua FW series de la empresa Neue Herbold por medio de la aspersión desinfecta y limpia la superficie del PET, debido a la fricción y rotación que se genera, este equipo tiene una capacidad de 200-1000 kg/h dependiendo del tipo de material que entra al equipo [52].

### **4.3.4 Horno centrífugo**

Se lleva a un horno TM-1005 de la empresa Neue Herbold para terminar de secar las partículas. Este equipo se emplea en el secado de granulados, polvos y pellets de todo tipo de plástico. Alcanza una temperatura máxima de 200°C y mantiene el control de la temperatura. Tiene una capacidad de hasta 500 kg/h y un costo aproximado, en el momento de realizar este trabajo, de \$12.000.000 COP. Finalmente, el PET es llevado a almacenaje [52].

### **4.3.5 Almacenamiento**

Hay que aclarar que esta parte no se incluyó en el diagrama porque depende de la cantidad que se maneje de PET y la escala del proceso. Pero, en general, para la degradación se debe almacenar el PET previamente hasta que el cultivo del microorganismo alcance su crecimiento y esté en la capacidad de realizar la degradación. Existen diversos tipos de almacenamiento para los gránulos o las partículas del PET, la empresa LaPesa brinda silos con capacidades que varían según la necesidad del cliente como se ve en la tabla 10.

**Tabla 10.**

*Costos y capacidades de silos para almacenamiento.*

Equipo	Capacidad m <sup>3</sup>	Precio unitario (COP)	Referencias
Silo IF – 5	5	\$ 6.000.000	[53]
Silo IF – 10	10	\$ 10.000.000	[53]
Silo IF – 15	15	\$ 14.000.000	[53]
Silo IF – 20	20	\$ 17.000.000	[53]
Silo IF – 25	25	\$ 20.000.000	[53]

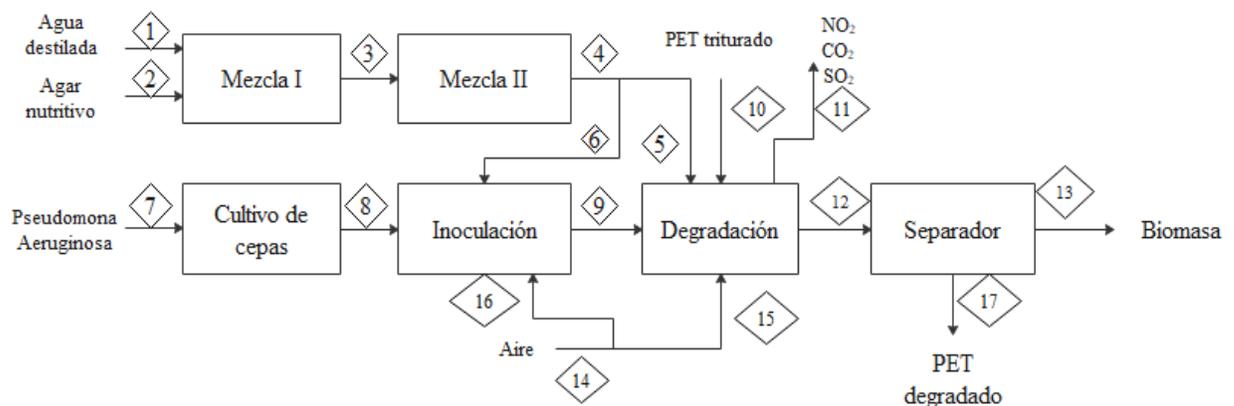
Nota: La capacidad está dada por unidades volumétricas. Tomado de: Autoría propia.

#### 4.4 Degradación del PET

Para realizar el proceso de la degradación a escala piloto se plantea el diseño por medio de diagramas. Primero el de bloques, para tener una visión de las etapas necesarias, conforme a lo revisado en la literatura. Y luego el diagrama de flujo del proceso, para entender los equipos que luego se especificarán. La figura 22 muestra las etapas a seguir para la degradación.

**Figura 22.**

*Diagrama de bloques para la degradación del PET.*



Nota: La figura 22 muestra las etapas del proceso de degradación. Tomado de: Autoría propia.

En el proceso para realizar la degradación del PET se especifica la operación que se realiza en cada etapa como se muestra a continuación:

#### **4.4.1 Mezcla I**

En esta etapa ingresa agua destilada (corriente 1) y caldo nutritivo (corriente 2). La mezcla disuelve el agar en el agua volviendo este un medio líquido en su mayoría (corriente 3) [54].

#### **4.4.2 Mezcla II**

La mezcla I pasa a la autoclave para esterilizar el medio de cultivo a una temperatura de 121°C y agitación de 50 rpm, una vez el medio esté en condiciones óptimas ingresa al biorreactor de la degradación [22].

#### **4.4.3 Cultivo de cepas**

En esta etapa se activa el microorganismo, en este caso *Pseudomonas aeruginosa*, por su mayor capacidad de degradación y mejor adaptación, como se explicó en el capítulo 2. Esta inoculación se realiza previamente en condiciones de laboratorio. El PET se suministra en muy bajas cantidades para que el microorganismo se vaya adaptando al nuevo sustrato en las posteriores etapas a escala industrial [55].

#### **4.4.4 Inoculación**

El microorganismo adaptado (Corriente 8) ingresa al biorreactor (*Airlift*) para desarrollarse y reproducirse; en esta etapa se suministra el medio de cultivo (corriente 6) y pequeñas cantidades de PET [55]. El biorreactor favorece la transferencia de masa y minimiza el consumo de energía [68].

#### **4.4.5 Degradación**

Después de que el microorganismo se reproduce, ingresa al biorreactor (Corriente 9) para realizar la degradación respectiva; el PET entra como un único sustrato (Corriente 10), en cantidades mayores. Durante el proceso, se generan gases como  $\text{NO}_2$ ,  $\text{CO}_2$  y  $\text{SO}_2$ , (Corriente 11) propios del metabolismo del microorganismo y la degradación que ocurre en la materia orgánica (PET). Este proceso se da de forma aerobia, para lo que se suministra aire (corriente 15) de forma constante para producir agitación en el sistema y que los microorganismos reciban la aireación [56]. Esta degradación se da durante 24 a 72 horas, los microorganismos pueden llegar a no asimilar el sustrato o que se genere muerte microbiana debido a los cambios que se realizan en el proceso en la escala piloto, por lo tanto, no se obtendrá el PET degradado a mayor tiempo y esto podría incrementar costos a futuro, por esta razón, se selecciona un menor tiempo de degradación respecto a las pruebas realizadas en laboratorio según los autores. Posteriormente, el PET degradado y la biomasa salen del biorreactor (corriente 12). Realizar la degradación en una fermentación sólida favorece el proceso al generar menor efluentes y menor número de operaciones de separación. Al ser una mezcla heterogénea la separación se hace factible para plantear el escalamiento [68].

#### **4.4.6 Separador**

El producto semi líquido del biorreactor de la degradación (Corriente 12), ingresa a un separador donde la biomasa sale por la corriente 13 y el PET degradado sale por la corriente 17, se lleva a cabo un proceso de filtración para realizar la separación celular o un proceso de evaporación donde se recupere y concentre el producto [68]. Cuando sale del biorreactor se debe tener en cuenta la sedimentación que se presenta en la tubería, una vez se localice se emplea un instrumento adecuado para remover taponamientos. El diseño de esta etapa es netamente experimental.

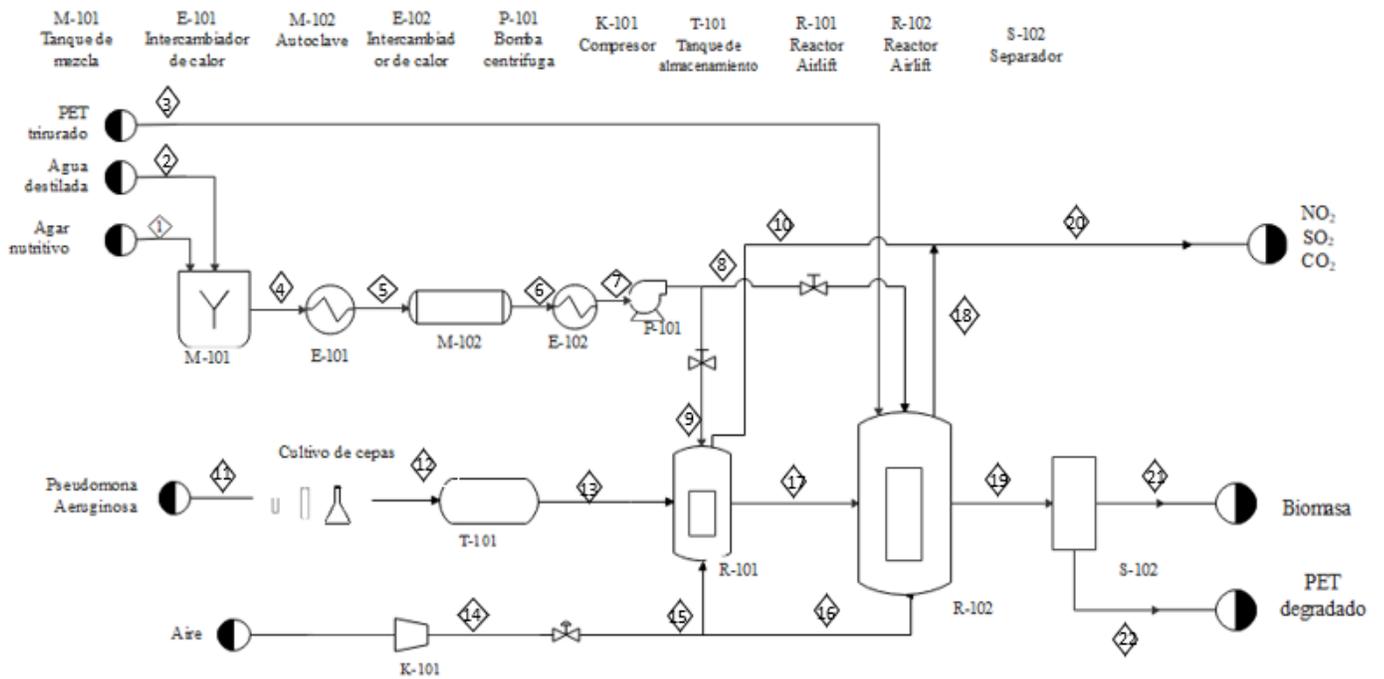
Cabe resaltar que el microorganismo requiere agitación, como se explicó en el marco teórico y lo mencionan Espinoza, Martín, Barbaran, Cabanillas y Rubio [17], por lo cual es fundamental un suministro de aire de forma permanente en las etapas de inoculación y degradación, que se ilustra en la figura 22 por medio de las corrientes 14 (aire principal de la fuente de suministro), previamente filtrado y secado; corriente 15: aire para inoculación; y corriente 16, aire para la degradación. Este suministro de aire requiere, además de su acondicionamiento previo, un control de flujo para evitar velocidades de agitación demasiado altas que alteren el funcionamiento de las etapas mencionadas [57].

En el proceso se generan gases de efecto invernadero como el  $\text{CO}_2$ ,  $\text{SO}_2$  y  $\text{NO}_2$ , que deben removerse mediante lavado de gases para no producir contaminación en caso de que sus concentraciones sobrepasen los límites permitidos. Se propone el tratamiento de haces electrónicos, dado que, es capaz de transformar el  $\text{NO}_2$  y  $\text{SO}_2$  en un 90% de forma simultánea haciendo uso de un solo equipo y un reactivo (amonio) con requerimiento energético de 300 a 800 kW y a temperaturas de 115°C a 121°C sin producir desechos que tengan que ser tratados posteriormente, el subproducto que se genera al ser un fertilizante resulta útil para los agricultores o procesos que requieran de este material [69,70]. Para el  $\text{CO}_2$  se realiza una separación previa con etanolamina (MEA). Después de la separación el componente 80%-90% puro se calienta para evaporar el solvente y finalmente se almacena [71].

Finalmente, con base en la figura 22 y a lo expuesto en los ítems 4.4.1 a 4.4.6, se presenta, a continuación, el diagrama de flujo del proceso para la degradación del PET. No se incluyó el sistema de instrumentación y control completo porque falta información de tipo experimental, pero sí intercambiadores de calor, válvulas, bomba y compresor, que son fundamentales en este proceso. En la tabla 11 se indican los equipos con su respectiva identificación en el diagrama.

**Figura 23.**

*Degradación del PET*



Nota: El diagrama presenta el proceso para la degradación del PET. Tomado de: Autoría propia.

**Tabla 11.**

*Equipos para el proceso de degradación del PET.*

Nombre del equipo	Equipo	Nombre del equipo	Equipo
M-101	Mezclador	T-101	Tanque
E-101	Intercambiador de calor	K-101	Compresor
M-102	Autoclave	R-101	Reactor Air-lift
E-102	Intercambiador de calor	R-102	Reactor Air-lift
P-101	Bomba	S-101	Separador

Nota: La tabla muestra los equipos para el proceso de degradación. Tomado de: Autoría propia.

## 4.5 Selección de equipos

Para la selección de equipos se tiene en cuenta que el proceso se realiza en medio sólido y líquido, por lo tanto, con el fin de elegir el biorreactor indicado para la degradación se presenta una matriz que se observa a continuación:

**Tabla 12.**

### *Selección de biorreactor*

BIORREACTOR	VENTAJAS	DESVENTAJAS	SELECCIÓN
Tanque agitado	Tiene mayor contacto con las burbujas que se encuentran en el medio líquido, por lo tanto, tiene mayor aireación. La agitación mecánica produce una mezcla homogénea. Contienen separador de espuma.	Al contener helices es posible que resulte un estancamiento con el PET.	No
Columna de burbujeo	La agitación y aireación se da por el aire insertado en la parte baja de la columna. No tiene helices. Bajo costo de operación. Permite la salida del CO <sub>2</sub>	La viscosidad del medio afecta la transferencia de oxígeno y mezcla homogénea	No
Airlift	La agitación y aireación se da por inyección de aire. La viscosidad del medio es distribuido por toda la columna. Es comúnmente utilizado para microorganismos frágiles.	El líquido se torna más denso en la parte superior de la columna.	Si, ya que da una agitación constante y distribuye el líquido de las partes menos densas a las más densas, por lo tanto genera una mezcla homogénea.

Nota: La matriz presenta las ventajas y desventajas de los biorreactores propuestos. Tomado de: Autoría propia modificado de Tipos de biorreactores. Requisitos: <http://www.aulavirtualexactas.dyndns.org/claroline/backends/download.php?url=L1RFT1JJQS9DbGFzZV8xMV8tX0Jpb3JyZWJjdG9yZXNfMjAxOS5wZGY%3D&cidReset=true&cidReq=BIOTOPT> [58]

### 4.5.1 Tanque de mezcla

La empresa Inoxpa cuenta con un equipo de mezcla CMC con capacidad de 500 a 1000 litros y costo de \$12.870.000 COP IVA incluido, donde se incluye el agitador convencional que busca obtener la mezcla homogénea y trabaja con un servicio de agua caliente para reducir la viscosidad del medio [59].

### 4.5.2 Autoclave

Se lleva a cabo en un tanque agitado donde se disuelve el medio de cultivo. Para disminuir costos es posible manejar la esterilización en el mismo biorreactor de las etapas de inoculación y degradación; sin embargo, se opta por realizar el proceso aparte debido a que cada etapa debe cumplir con las condiciones de operación específicas. Después de salir del tanque de mezcla M-101, el medio de cultivo ingresa a la autoclave M-102 para la respectiva esterilización [55]. La empresa Kasalab SAS brinda diversas capacidades de los equipos como se muestra en la tabla 13.

**Tabla 13.**

*Capacidades y costos autoclaves*

Equipo (Autoclave)	Capacidad (L)	Precio unitario (COP)	Referencias
AV-18	18	\$ 9.000.000	[60]
AV-30	30	\$ 14.000.000	[60]
AV-50	50	\$ 18.900.000	[60]
AV-75	75	\$ 22.000.000	[60]
AV-100	100	\$ 28.000.000	[60]

Nota: La tabla presenta las capacidades y costos de cada autoclave especializada en medios de cultivo. Tomado de: Autoría propia.

### 4.5.3 Tanque de almacenamiento (Incubadora T-101)

Para la conservación del microorganismo antes de la inoculación, es necesario emplear equipos cerrados a bajas temperaturas ( $-4^{\circ}\text{C}$ ), por esta razón, en la tabla 14 se proponen las siguientes incubadoras de la empresa Kasalab SAS [56]:

**Tabla 14.**

*Capacidades y costos de incubadora*

<b>Equipo</b>	<b>Capacidad (L)</b>	<b>Precio unitario (COP)</b>	<b>Referencias</b>
Incubadora 58H1010	10	\$ 2.600.000	[61]
Incubadora 70BP60	60-240	\$ 13.800.000-35.000.000	[61]
Incubadora 54SI600	115	\$ 20.000.000	[61]
Incubadora TE/381	120	\$ 23.000.000	[61]

Nota: La tabla presenta los costos y las capacidades de las incubadoras. Tomado de: Autoría propia.

#### **4.5.4 Biorreactor airlift**

El R-101 es el reactor a escala piloto de inoculación, como se explicó en el numeral 4.4.4. El R-102 corresponde al reactor de fermentación, definido en el numeral 4.4.5. Industrialmente no se encuentra este equipo en empresas diferentes, por esa razón se tomó la información de Kasalab SAS empresa que ofrece un biorreactor Airlift con capacidades de 1.5 L, 4.5 L, 7.5 L, 15 L y con agitación neumática, así como lo es todo el proceso con un precio de \$20.842.250 [62]. Al encontrar capacidades diferentes tanto la inoculación como la fermentación es efectiva en el equipo.

#### **4.5.5 Separador vertical**

Este equipo es importante para la remoción de sólidos de la corriente de salida del biorreactor R-102. Se propone el separador de sólido-líquido de alta eficiencia ePJX de la empresa Lakos, ya que retira las partículas sólidas de un medio viscoso, mediante acción centrífuga, al girar el equipo, ahorrando tiempo del proceso. Su capacidad varía de 2.4 litros a 28.9 litros y con costos que se encuentran entre \$5.000.000 a \$17.000.00 [63].

#### **4.5.6 Compresor axial**

La empresa Evans ofrece compresores de diversas capacidades. El compresor EC08ME250-040 tiene una capacidad hasta de 40 litros y un costo de \$709.247 COP IVA incluido. Tiene una vida útil de 700 horas y potencia de 2.50 HP [64].

#### **4.5.7 Bomba**

Aunque hay varias empresas, la empresa Milton Roy ofrece bombas dosificadoras Mil Royal ideales para el control del flujo antes de entrar al reactor, con una capacidad de hasta 125 L/h y un costo de \$3.675.000 COP [65].

#### **4.5.8 Intercambiador de calor (tubos y coraza)**

La empresa Standar Xchange ofrece un intercambiador BCF/HCF/HFF que brinda la mayor transferencia de calor y menos costos de operación, para este tipo de procesos. Este intercambiador tiene un costo de \$ 3.624.720 COP IVA incluido, al necesitar dos intercambiadores el precio total sería de \$ 7.249.440 COP [66].

## 5. COSTOS DEL PROCESO

En este capítulo se realiza el análisis de los costos del proceso y los equipos seleccionados con base en el capítulo 4. La información se presenta en la tabla 15.

**Tabla 15.**

*Costos y capacidades de los equipos para la degradación del PET.*

Nombre del equipo	Capacidad	Cantidad	Costo Total
Trituradora plástico VMGL2160	20-30	1	\$ 6.600.000
Tamiz circular FTI-0550	400	1	\$ 5.400.000
Equipo de agua FW series	200	1	\$ 5.000.000
Horno TM-1005	500	1	\$ 12.000.000
Silo IF – 5	5*	1	\$ 6.000.000
Equipo de mezcla CMC	500*	1	\$ 12.870.000
Autoclave AV-18	18*	1	\$ 9.000.000
Incubadora 58H1010	10*	1	\$ 2.600.000
Biorreactor Airlift	15*	2	\$ 41.684.500
Separador ePJX	2.4-28.6*	1	\$ 17.000.000
Compresor EC08ME250-040	40*	1	\$ 709.247
Bomba Mil royal	125**	1	\$ 3.675.000
Intercambiador BCF/HCF/HFF		2	\$ 3.624.720
<b>Total</b>			<b>\$ 126.163.467</b>

Nota: Las capacidades se encuentran en kg/h, \*en litros, \*\* L/h. Tomado de: Autoría propia.

Para el proceso se escogieron las capacidades mínimas debido al cuidado y control que se debe tener para lograr la degradación, teniendo en cuenta, que para afianzar este análisis hace falta realizar la parte experimental. Los costos energéticos de cada equipo también difieren del costo final del proyecto; cada equipo trabaja a diferentes tiempos y potencias, por lo tanto, los costos de los servicios tienden a variar. La tabla 16 presenta los costos energéticos de cada equipo.

**Tabla 16.**

*Consumo y costos energéticos para cada equipo.*

Nombre del equipo	Cantidad	Potencia (kW)	Horas de trabajo diarias	Días de trabajo semanal	Costo \$/kWh	Costo total (COP)
Trituradora plástico VMGL2160	1	5	0.16	1	601.0297	480.2
Tamiz circular FTI-0550	1	0.25	0.16	1	601.0297	24.04
Equipo de agua FW series	1	5	0.33	1	601.0297	1.983
Horno TM-1005	1	1.1	6	1	601.0297	991.70
Silo IF – 5	1	-	-	-	601.0297	-
Equipo de mezcla CMC	1	3.5	0.5	3	601.0297	3.155
Autoclave AV-18	1	1.5	0.33	3	601.0297	892.53
Incubadora 58H1010	1	0.23	-	-	601.0297	-
Biorreactor Airlift	2	2.4	24	5	601.0297	173.096
Separador ePJX	1	-	0.5	5	601.0297	-
Compresor EC08ME250-040	1	1.86	24	5	601.0297	134.149
Bomba Milroyal	1	1.5	-	-	601.0297	-
Intercambiador BCF/HCF/HFF	2	-	0.33	3	601.0297	-
<b>Total</b>					<b>\$</b>	<b>316.575</b>

Nota: La tabla presenta las horas de trabajo por día. La potencia se tomó de las características de los equipos en el anexo A. Tomado de: Autoría propia

Según las tarifas de energía eléctrica reguladas por la comisión de regulación de energía y gas, el costo de la energía en la zona industrial en horas fuera de lo monótono (horario regular) es de \$601.0297 [67]. Los biorreactores consumen más energía, ya que, la operación de estos es de 24 a 72 horas, por lo tanto, su costo semanal es de \$173.096. El siguiente equipo en tener un costo energético elevado son los compresores, que al igual que los biorreactores deben estar operando las 24 horas, debido a que, son los que aportan la aireación a los microorganismos.

El proceso de degradación presenta grandes costos al momento de adquirir los equipos por las diversas operaciones que se deben realizar para lograr la correcta degradación; sin embargo, estos equipos operan a bajas potencias por consiguiente no generan grandes costos. Otro factor que afecta el costo energético es el tiempo de operación del equipo, los equipos no necesitan operar por horas o ser manejados durante la semana de trabajo lo que genera menores costos de energía.

Una ventaja para destacar en el proceso es la baja cantidad de inóculo, debido a que el microorganismo *Pseudomona* tiene la habilidad de reproducirse en un menor tiempo de incubación, por lo tanto, se disminuyen costos en los medios de cultivo y la adaptación de los mismos en el cultivo de cepas [68]. Cuando el PET pasa por el proceso de degradación se puede vender como resina, biosurfactante o abono.

Los costos respecto a la remoción de gases resultan ser bajos: el tratamiento de gases por medio de haces electrónicos realiza el proceso de transformación en un solo equipo con bajo gasto energético (300 kW) respecto a otros tipos de purificación, ya que, estos manejan más de un equipo y reactivo para lograr la eliminación de los gases llevándose a cabo en más de una etapa, por lo cual consume mayor tiempo y mayor energía en realizar el proceso [69]. Al finalizar los tratamientos de gases NO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> quedan como productos finales fertilizantes y CO<sub>2</sub> puro, siendo aptos para su almacenamiento y venta [71].

## 6. CONCLUSIONES

1. Según las revisiones bibliográficas, los medios de cultivo son un factor importante al momento de realizar la inoculación del microorganismo. Los cultivos de los autores Barbaran, Cabanillas y Rubio compuestos de soya-Tripcaseina demuestran un crecimiento en menor tiempo de incubación con respecto al medio de cultivo de agar centrimide, esto se da por el medio de cultivo contiene mayor cantidad de nutrientes respecto al agar.
2. *Pseudomona aeruginosa* demuestra su capacidad de degradación con un porcentaje promedio de 14.68% en 35 días, mientras que, *Trichoderma spp.* en 67 días degrada 13.15% del PET, esto se da por la adaptabilidad que se encuentra en la especie *Pseudomona* en el entorno en que habita y al ser una procariota tiene la facilidad de reproducirse, iniciando con el proceso de degradación en menor tiempo respecto a *Trichoderma spp.*
3. Los puntos críticos del sistema se presentan en equipos como la autoclave y biorreactores, ya que, según el autor Espinoza, la esterilización del medio de cultivo es un factor importante para la eliminación de agentes externos que puedan afectar al microorganismo y dañar el cultivo, mientras que, en los biorreactores es necesario mantener el control de la temperatura para que no sobrepase las temperaturas que soportan los microorganismos y genere inhibición o muerte de estos, por este motivo, se recomienda que los equipos se encuentren con controladores de temperatura y pH integrados.
4. El biorreactor Airlift es el equipo responsable del crecimiento, reproducción y degradación del PET, este equipo mantiene las condiciones de cultivo constantes y genera una aireación homogénea donde los microorganismos la reciben por igual ayudando a la degradación, si este equipo llega a fallar o se presenta algún contratiempo perjudica el proceso y los microorganismos y el PET que se encuentren en este tendrían que ser desechados.

5. Los costos energéticos que generan los equipos del proyecto son bajos (\$316.575), esto se da por el corto tiempo que se deben manejar los equipos por cada etapa y por los requerimientos que el mismo equipo necesita. Los equipos tienen un costo alto debido a que trabajar con microorganismos requiere de equipos especiales para no generar fisuras o rompimientos en las colonias previamente establecidas.

## RECOMENDACIONES

1. Realizar el proyecto de forma experimental es de suma importancia para plantear los balances de materia respectivos y así tener conocimiento exacto, no solo de los costos del proyecto, sino también del beneficio económico que podría generar.
2. El separador S-102 se plantea de forma tentativa, por lo tanto, se debe verificar que esta etapa del proceso sea la ideal para realizar la separación del PET y biomasa.
3. Para la disminución de costos de operación se recomienda realizar el proceso en forma batch, teniendo en cuenta que, son los procesos de operación manejados a nivel nacional.
4. Determinar qué tipos de sustancias se pueden degradar, para así, aprovechar el proceso y los equipos que se deben implementar para la correcta operación.

## REFERENCIAS

- [1] Equipo editorial. (2012). "¿Qué son las cepas bacterianas?", *iquimicas*. [En línea]. <https://iquimicas.com/que-es-una-cepa-bacteriana/>. [Acceso: 16, Oct, 2020].
- [2] R, T. Molina, (2014). "Plantas y Hongos". [En línea]. [http://www.plantasyhongos.es/hongos/Ascomycota\\_conidios.htm](http://www.plantasyhongos.es/hongos/Ascomycota_conidios.htm). [Acceso: 16, Oct, 2020].
- [3] Nature Review Microbiology, (mar, 2005). *Depa.fquim.unam.mx*, 2016. [En línea]. [http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/2d\\_Esporulacion\\_17668.PDF](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/2d_Esporulacion_17668.PDF). [Acceso: 16, Oct, 2020].
- [4] C. Lira, (9, feb, 2020). "Hifas: características, funciones y tipos - Lifeder", *Lifeder*. [En línea]. <https://www.lifeder.com/hifas/>. [Acceso: 16, Oct, 2020].
- [5] Mycelior, (2018). "¿Micelio o esporas?", [En línea]. <https://mycelior.com/micelio-o-esporas>. [Acceso: 16, Oct, 2020].
- [6] Revista semana. "En Colombia, por cada 10 botellas plásticas que salen al mercado solo se reciclan 3", sep, 2019. Bogotá D.C. Colombia. [En línea]. Disponible en <https://sostenibilidad.semana.com/medio-ambiente/articulo/que-sucedo-con-el-reciclaje-de-botellas-pet-en-colombia/46691> [Acceso: 28, mar, 2020]
- [7] Tecnología, "Plásticos, Que Son, Tipos, Dar Forma, Reciclaje", *Areatecnologia.com*, 2020. [En línea]. <https://www.areatecnologia.com/LOS%20PLASTICOS.htm>. [Acceso: 29, sep, 2020]
- [8] M, Faber. "Plan de negocios para la adquisición de una planta móvil y autónoma para recuperación de polietileno de alta densidad (pead) para sab miller – bavaria. [en línea]. Bogotá, Colombia, Pontificia universidad javeriana, 9 nov, 2009.
- [9] Abc Pack, (2020). "PET (polietileno tereftalato) - Abc Pack", [En línea]. <https://www.abc-pack.com/enciclopedia/pet-polietileno-tereftalato> [Acceso: 26, ago, 2020]
- [10] K. Castillo, "Manual electrónico para el control de en medios de cultivo y cepas de referencia.", Química Farmacéutica Bióloga, Universidad Nacional Autónoma de México, 2013.
- [11] J. Ru, Y. Huo and Y. Yang, "Microbial Degradation and Valorization of Plastic Wastes", *Microbiothecnology*, 2020.

- [12] Microscopia electrónica de barrido. Ciudad española de Burgos, España, Universidad de Burgos, may, 2018. Disponible: <https://www.ubu.es/parque-cientifico-tecnologico/servicios-cientifico%20tecnicos/microscopia/microscopia-electronica-de-barrido-meb> [Acceso: 26, ago, 2020]
- [13] L, Messgeräte GmbH, (2020). "DSC - LINSEIS calorímetro diferencial de barrido", [En línea] : <https://www.linseis.com/es/productos/calorimetria-diferencial-de-barrido>. [Acceso: 26, ago, 2020]
- [14] Lesdasa, (2020), "Degradación enzimática". [En línea]. <http://www.lesdasa.com/degradacionenzimatica/#:~:text=Consiste%20en%20el%20empleo%20de,son%20previamente%20producidas%20en%20microorganismos.2020>. [Acceso: 26, ago, 2020]
- [15] A. Viteri, (feb, 2018). "Polímeros biodegradables. Importancia y potenciales aplicaciones. Universidad nacional de educación a distancia". [Acceso: 26, ago, 2020]
- [16] M Pirez, M, Mota (2008), "Morfología y estructura bacteriana", [En línea]. Disponible, <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/MorfologiayEstructuraBacteriana.pdf>. "[Acceso: 26, ago, 2020]
- [17] H. Barbaran, L. Cabanillas, y. Rubio, (12 dec, 2018). "Biodegradación de polietileno tereftalato (PET) por acción de Pseudomona aeruginosa, en condiciones de laboratorio". Trujillo, Perú, Universidad Cesar Vallejo.
- [18] J. Baena del valle, C. Gomez and D. Gomez, "Vista de Coexistencia de Pseudomonas aeruginosa y Candida albicans en infecciones nosocomiales en Cartagena de Indias (Colombia) | NOVA", [Revistas.unicolmayor.edu.co](http://Revistas.unicolmayor.edu.co), 2011.
- [19] Paz-Zarza, V., Mangwani-Mordani, S., Martínez-Maldonado, A., Álvarez-Hernández, D., Solano-Gálvez, S. and Vázquez-López, R., 2019. Pseudomonas aeruginosa: patogenicidad y resistencia antimicrobiana en la infección urinaria. *Revista chilena de infectología*, 36(2), pp.180-189.
- [20] Mora, C., (2015). "Crecimiento De Pseudomona Aeruginosa Sp En Presencia De Luz Roja, Verde Y UV". [En línea] <[http://www.repositorio.unadmexico.mx:8080/jspui/bitstream/123456789/194/1/PT2\\_2091-1\\_AL12520157.pdf](http://www.repositorio.unadmexico.mx:8080/jspui/bitstream/123456789/194/1/PT2_2091-1_AL12520157.pdf)> [Acceso 22, ene 2021].

- [21]G. Salazar and M. Ramirez, "Micología General". Manizales: Carol Castaño, 2019, p. 36. <https://javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis226.pdf>, "[ Acceso: 26, ago, 2020]
- [22] Espinoza, L. "Evaluación de la degradación de polietileno de baja densidad mediada por diferentes especies de hongos". Quito, Ecuador, Universidad san francisco de quito, may, 2018.
- [23]Romero, O., Huertas, M., Damian, M., Dominguez, F. and Arellano, D., n.d. "Características de Trichoderma Harzianum como agente limitante de hongos comestibles". [En línea]. <http://Dialnet-CharacterísticasDeTrichodermaHarzianumComoAgenteLim-3105406.pdf>> [Acceso 26, October, 2020].
- [24]O. Romero and M. Huerta, "Biotor", Biotorlabs.com, 2016. [En línea]. <https://www.biotorlabs.com/single-post/2016/11/30/Caracter%C3%ADsticas-de-Trichoderma-harzianum-como-agente-limitante-en-el-cultivo-de-hongos-comestibles>. [Acceso: 10, oct, 2020]
- [25] Revista nacional, Anónimo. España. "Crean una enzima mutante que "se come" el plástico". 16, nov, 2019. Revista national geographic. 2019.
- [26] Revista Chilena Infectol ,Tapia, Cecilia, Amaro, Jose. "Genero Fusarium". , 2014, Chile. Universidad de Chile, 85-86, 2014.
- [27]Mogollón, H. and Sarmiento, L., 2020. "Evaluación de la biodegradación microbiana de un empaque plástico comercial de ácido poliláctico por medio de un lodo activo, aspergillus y lodo activo bioaumentado con aspergillus en un medio acuoso aerobio". Fundación Universidad de América, 2020.
- [28] Damayanti, N., Sulaiman, N. and Ibrahim, N., 2020. "Plastic Biodegradation by Pseudomonas aeruginosa UKMCC1011 Using A Modified Winogradsky Column". [En línea] <https://www.kemalapublisher.com/index.php/ppi-ukm/article/view/458>. [Acceso 26, oct, 2020].
- [29] Fesseha, H. and Abebe, F., 2019. "Degradation of Plastic Materials Using Microorganisms: A Review". Public Health – Open Journal, 4(2), pp.57-63.
- [30] N. LaTorre, "Evaluación de medios de cultivo altos y bajos en nutrientes para la recuperación de heterótrofos edáfico en la ecorregión la corregión cafetera de los andes", Javeriana.edu.co, 2007.

- [31] W. De faria, E. Pereira, Luciana. Biodegradación de polipropileno reciclado (ppr) y poli (tereftalato de etileno) reciclado (petr) por *Pleurotus ostreatus*. Universidad de sao paulo, abr, 2015.
- [32] R. Belibatlu and T. Basaiah, "Degradation of polyethylene by *Trichoderma harzianum*-SEM, FTIR, and NMR analyses". PubMed, India, 2014. [En línea] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25052326/>. [Acceso 26, oct, 2020].
- [33] Pseudonomos, "Evaluación de la bacteria pseudomona como degradador de polietileno", XIII Concurso de feria de las ciencias, México, 2007. [En línea]. [https://www.feriadelasciencias.unam.mx/anteriores/feria18/B\\_L\\_IE%20Evaluacion\\_de\\_la\\_bacteria\\_Pseudo.pdf](https://www.feriadelasciencias.unam.mx/anteriores/feria18/B_L_IE%20Evaluacion_de_la_bacteria_Pseudo.pdf). [Acceso 26, oct, 2020].
- [34] G. Badahit, J. Kumar and A. Singh, "Screening of Plastic Degrading *Pseudomonas* spp. From Soil". Nepal, 2018. [En línea]. [https://www.researchgate.net/publication/329755946\\_Screening\\_of\\_Plastic\\_Degrading\\_Pseudomonas\\_spp\\_From\\_Soil](https://www.researchgate.net/publication/329755946_Screening_of_Plastic_Degrading_Pseudomonas_spp_From_Soil). [Acceso 26, oct, 2020].
- [35] D. Hernandez, R. Ferrera and A. Alarcon, "Trichoderma: importancia agrícola, biotecnológica, y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industria", *Agro-ciencia*, pp. 98-112, 2019.
- [36] S. Muñoz, "Degradación de polímeros de interés industrial utilizando una mezcla de *Pseudomonas aeruginosa*, *Cladosporium* sp y *Alternaria* spp.", 2014. [En línea]. [https://www.researchgate.net/profile/Eugenio\\_Reyes/publication/290431329\\_Degradacion\\_de\\_Plasticos\\_utilizando\\_Bacterias\\_y\\_Hongos/links/5697acbd08ae34f3cf1f0a26/Degradacion-de-Plasticos-utilizando-Bacterias-y-Hongos.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Eugenio_Reyes/publication/290431329_Degradacion_de_Plasticos_utilizando_Bacterias_y_Hongos/links/5697acbd08ae34f3cf1f0a26/Degradacion-de-Plasticos-utilizando-Bacterias-y-Hongos.pdf). [Acceso 26, oct, 2020].
- [37] Insumolab.cl, 2021. "Fichas técnicas, placas" [En línea]: [https://www.insumolab.cl/descargas/industria/placas\\_90mm/ficha\\_tecnica/02.pdf](https://www.insumolab.cl/descargas/industria/placas_90mm/ficha_tecnica/02.pdf). [Acceso: 23, jan, 2021].
- [38] L. Parra., H. Buritaca. (01, dic, 2017). "Los medios de cultivo en microbiología", *Microinmuno.qb.fcen.uba.ar*. [En línea]. Available: <http://www.microinmuno.qb.fcen.uba.ar/SeminarioMedios.htm>. [Acceso: 16, oct, 2020].
- [39] Rodríguez, A., (2012). "Biodegradabilidad de materiales bioplásticos". La Habana, pp.69-72. [En línea]. <https://thefoodtech.com/insumos-para-empaque/determinacion-de-la-biodegradabilidad-de-materiales-plasticos>. [Acceso: 16, oct, 2020]

[40] Ahmed, T., Shahid, M., Azeem, F., Rasul, I., Shah, A., Noman, M., Hameed, A., Manzoor, N., Manzoor, I. and Muhammad, S., 2018. Biodegradation of plastics: current scenario and future prospects for environmental safety. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(8), pp.7287-7298. 2018.

[41]S. Arevalo, (27, nov, 1998). "Optimización de la producción de agente de biocontrol", Doctora, Universidad de Lleida. [En línea]. <https://repositori.udl.cat/handle/10459.1/63893?locale-attribute=es>. [Acceso: 16, oct, 2020].

[42] C, Bach, X, Dauchy, (2012). "Chemical compounds and toxicological assessments of drinking water stored in polyethylene terephthalate (PET) bottles: A source of controversy reviewed", *Water Research*, v. 46, n. 3, 1, pp.571–583.

[43] Posada, B., (s.f.). La degradación de los plásticos. *Revista Universidad Eafit*, 94. [En línea].<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2326920#:~:text=1.,como%20qu%C3%ADmicas%20en%20el%20mismo>. [Acceso: 16, oct, 2020].

[44]Y. Martínez, "Estudio de la degradabilidad del polietileno tereftalato dosificado con un biopolímero de la fibra de banano". *Universidad politécnica salesiana*, jun, 2017. [En línea] <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6512678>. [Acceso: 16, oct, 2020].

[45]A. Martín, Estudio preliminar de la biodegradación de plásticos por bacterias marinas. *Facatativá, Cundinamarca. Universidad de la Laguna. Departamento de microbiología*, 2017.

[46] Green global polymers (s.f.), "Plástico triturado de Tereftalato de polietileno. (PET)". [En línea]. <https://www.greenglobalpolymers.es/plastico-triturado-de-tereftalato-de-polietileno-pet/>. [Acceso: 03, oct, 2020]

[47] Tecnología de los plásticos. (2011). "Reciclado Mecánico De PET (Super-Limpieza)".[En línea]. <https://tecnologiadelosplasticos.blogspot.com/2011/07/reciclado-mecanico-de-pet>. [Acceso 26, oct, 2020].

[48]M. Zavaleta, "Las 4 variables para controlar el proceso de secado de plásticos", *Modelo por inyección*, 2018. [En línea]. <https://www.plastico.com/temas/Cuales-son-los-parametros-mas-importantes-de-secado+118107>. [Acceso 26, oct, 2020].

- [49]"Qué son las máquinas trituradoras de plásticos y para qué sirven", Interempresas, 2020. [En línea]. <https://www.interempresas.net/Plastico/Articulos/242683-Que-son-las-maquinas-trituradoras-de-plasticos-y-para-que-sirven.html>. [Acceso: 03, oct, 2020].
- [50] Asian Machinery USA, Inc, (2020). "De Doble Eje - Asian Machinery USA, Inc", [En línea]. <https://asianmachineryusa.com/m/reciclado/trituradores/de-doble-eje/#/>. [Acceso: 13, oct, 2020].
- [51] Almapal, (2020) "Almapal colombia: Tecnología validada", [En línea]. <https://www.almapal.com.co/catalogo/representado/29.html>. [Acceso: 13, oct, 2020].
- [52]"Neue herbold - plantas de lavado para el reciclado de plasticos contaminados - NEUE HERBOLD Maschinen-u. Anlagenbau GmbH - Catálogo PDF | Documentación técnica | Brochure", Pdf.directindustry.es, 2020. [En línea]. <https://pdf.directindustry.es/pdf/neue-herbold-maschinen-u-anlagenbau-gmbh/neue-herbold-plantas-lavado-reciclado-plasticos-contaminados/50063-453573.html>. [Acceso: 13, oct, 2020].
- [53]La pesa, "SILOS | lapesa", Lapesa.com, 2020. [En línea]. <http://www.lapesa.com/es/otros/silos.html>. [Acceso: 13, oct, 2020].
- [54]Universidad Autónoma de Santo Domingo "Química bioindustrial 252 tema 2 - Preparación de Medios de Cultivo", Es.slideshare.net, 2015. [En línea]: <https://es.slideshare.net/BioIndustrial252/quimica-bioindustrial-252-tema-2-preparacion-de-medios-de-cultivo>. [Acceso: 26, oct, 2020]
- [55]A. Rhodes, "Principios de microbiología industrial". Zaragoza, Esp.: Acribia, 1969. [En línea], [http://sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/favela/Microbiologia\\_Industrial\\_Libro.pdf](http://sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/favela/Microbiologia_Industrial_Libro.pdf). [Acceso: 26, oct, 2020]
- [56] Ambientum, "Mecanismos de fermentación aerobia - Enciclopedia Medioambiental", Ambientum.com. [Online]. Available: [https://www.ambientum.com/enciclopedia\\_medioambiental/suelos/mecanismos\\_fermentacion\\_aerobia.asp](https://www.ambientum.com/enciclopedia_medioambiental/suelos/mecanismos_fermentacion_aerobia.asp). [Accessed: 26- Oct- 2020].
- [57] J. Doncel and H. Moreno, "Evaluación de la influencia de la agitación para la producción de biomasa microalgal en un fbr panel plano a escala laboratorio", Fundación Universidad de América, 2017.

[58]Aulavirtual-exactas,(2020). "Biotop" [En línea]. Available: <http://www.aulavirtualexactas.dyndns.org/claroline/backends/download.php?url=L1RFT1JJQS9DbGFzZV8xMV8tX0Jpb3JyZWVjdG9yZXNfMjAxOS5wZGY%3D&cidReset=true&cidReq=BIOTOPT>. [Acceso: 13- Oct- 2020].

[59]Inoxpa, "Equipos de Mezcla CMC - Sistema de mezcla CMC INOXPA", Inoxpa.co, 2020. [En línea]. <https://www.inoxpa.co/productos/equipos/equipos-de-mezcla/equipo-de-mezcla-cmc>. [Acceso: 13- Oct- 2020].

[60]Kasalab, "Autoclave Vertical, Autoclaves Colombia, Autoclave, Autoclave Medellin", Kasalab, 2020. [En línea]. Disponible: <https://www.kasalab.com/producto/autoclave-vertical-digital-de-30-litros/>. [Acceso: 13, oct, 2020].

[61] Kasalab "Incubadora, Incubadora Medellin", Kasalab, 2020. [En línea]. <https://www.kasalab.com/producto/Incubadora/>. [Acceso: 13, oct, 2020].

[62]Biorreactor airlift, "Buen Precio De Alta Calidad Fermentador Biorreactor - Buy Bioreactor Fermentador,Bioreactor Fermentador De Alta Calidad,Bioreactor Fermentador De Buen Precio Product on Alibaba.com", www.alibaba.com, 2020. [En línea]. [https://spanish.alibaba.com/product-detail/high-quality-good-price-fermentor-bioreactor-60823438388.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal\\_offer.d\\_title.51f32504xR4mvK&s=p](https://spanish.alibaba.com/product-detail/high-quality-good-price-fermentor-bioreactor-60823438388.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal_offer.d_title.51f32504xR4mvK&s=p). [Acceso: 26, oct, 2020].

[63] Lakos, "Separador de líquidos- sólidos de alta eficiencia", Lakos, 2020. [En línea] <http://www.aquaozon.com/Productos/Separadores/Separadores.html>. [Acceso: 26, oct, 2020].

[64]Evans, "Compresor 2.5Hp 40L. EC08ME250-040 | Evans Colombia", Evans Colombia, 2020. [En línea]. <https://www.evans.com.co/producto/compresor-2-5hp-40l-ec08me250-040/>. [Acceso: 13, oct, 2020].

[65]R, Milton, (2020). "Bombas dosificadoras serie MILROYAL® | Milton Roy", miltonroy, 2020. [En línea]. <https://www.miltonroy.com/es-es/metering-pumps/milroyal-series-metering-pumps>. [Acceso: 13, oct, 2020].

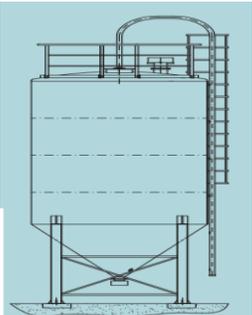
[66] Xylem, "Standard-Xchange, a Xylem Brand - Heat Exchangers", Xylem Applied Water Systems - United States, 2020. [En línea]. <http://www.standard-xchange.com/>. [Acceso: 13, oct, 2020].

- [67]Enel.com.co, (2020). “Costos de energía” [En línea]. <https://www.enel.com.co/content/dam/enel-co/espa%20ol/personas/1-171/2020/Tarifario-septiembre-2020.pdf>. [Acceso: 13-, oct, 2020].
- [68]Hernandez, J., Ferrera, R. and Alarcón, A., (2019). Trichoderma: Importancia agrícola, biotecnológica, y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial. [En línea] <https://scielo.conicyt.cl/pdf/chjaasc/v35n1/0719-3890-chjaasc-00205.pdf> [Acceso 27, enero, 2021].
- [69] Markovic, V., (s.f.). “Tratamiento de los gases de combustión por haces electrónicos”. [En línea] [laea.org. https://www.iaea.org/sites/default/files/29205682527\\_es.pdf](https://www.iaea.org/sites/default/files/29205682527_es.pdf). [Acceso]: 27, enero, 2021].
- [70] Markovic, V., Franl, N., (s.f.). “Tratamiento de los gases de combustión por haces electrónicos: Purificación del aire”. [En línea] [laea.org. https://www.iaea.org/sites/default/files/36101080710\\_es.pdf](https://www.iaea.org/sites/default/files/36101080710_es.pdf) [Acceso 27, enero, 2021].
- [71]Vicente,M.2008. “Tecnologías avanzadas de purificación de CO<sub>2</sub> procedente de oxidación para almacenamiento geológico” [En línea]. <<http://bibing.us.es/proyectos/abreproy/70170/fichero/Trabajo+fin+de+m%20ster+Macarena+Vicente+Enamorado.pdf>>. [Acceso 27 enero 2021].
- [72]Palm et al., “Structure of the plastic-degrading Ideonella sakaiensis MHETase bound to a substrate”, *Nature Communications*, vol. 10, no 1, p. 1-10. Oct, 2019.
- [73]Barrero, L., “Microbiología clínica”. Madrid. Editorial Síntesis. p. 14. s.f.. [En línea]. <https://sites.google.com/site/lacienciadelamicrobiologia/home/microbiologiaclinica#:~:text=El%20objetivo%20de%20la%20microbiolog%20Da,efectos%20patol%20gicos%20de%20este%20microorganismo>. [Acceso 27 enero 2021].

## ANEXO A

EQUIPO	NOMBRE	CARACTERISTICAS
	<p>Trituradora: VMGL2160</p>	<p>-Diámetro de rotor <math>\Phi</math> 284                      -Velocidad de eje 15 R/Min                      -Cuchillas de rotor 30 PCS                      -Espesor de las cuchillas 20 mm                      -Potencia del motor principal 5.5 + 5.5 KW                      Peso 2200 Kg</p>
	<p>Tamizadora: ZEUS FTI-0550</p>	<p>-Pet :                      Malla: 5000<math>\mu</math>                      Flujo masico: 400Kg/h                      Voltaje: 220-300V / 380-400V                      Potencia: 0.525 kW                      Amperios: 1.59/0.92 A                      Frecuencia: 50-60 Hz                      Vibración: 1500 rpm</p>
	<p>Horno centrifugo: TE-393/80L</p>	<p>Temperatura: Ambiente +7°C a 200°C                      Control de temperatura: Digital                      microprocesado con sistema PID                      Sensor: Tipo "J"                      Capacidad: 2 bandejas con distancia de                      150 mm entre si Aislamiento: Térmico con                      doble camada de fibra cerámica y lana de                      vidrio Seguridad: Sistema de protección                      contra sobrecalentamiento                      Gabinete: En acero carbono con                      tratamiento anticorrosivo y pintura                      electrostática Volumen: 80 litros                      Peso: 50 KG                      Potencia: 1100 Watts                      Voltaje: 220 Volts o 127 Volts</p>

Continuación del Anexo A:

	<p>Silo: If-5</p>	<p>Filtros despolvreadores.  Válvulas de seguridad. Indicadores de nivel. Diferentes tipos de bridas y válvulas.  Equipo de control y pesaje.  Instalación de alimentación a tolvas.  Descargadores de silo para productos de poca fluidez: sistemas de vibración en fondo.  Válvulas de guillotina. Válvulas de paso neumático.</p>
	<p>Equipo de mezcla: CMC</p>	<p>Bomba descarga de producto.  Montaje bomba descarga sobre una bancada.  Depósito con camisa y aislamiento.  Agitador tipo áncora u otro elemento agitación según necesidades del cliente.  Filtro recto corto a la salida de la bomba.  Toma de muestras higiénico.  Potencia: 3.5 kW  Capacidad: 500 L/h</p>
	<p>Autoclave: AV-18</p>	<p>Capacidad: 18 L  Potencia: 1.5 kW  Voltaje: 120V  Peso: 32 kg  Válvula de seguridad ajustada para ser actuada en la Máxima Presión de Trabajo Admisible. Válvula anti-vacío para permitir la entrada de aire.</p>

Continuación del Anexo A

EQUIPO	NOMBRE	CARACTERISTICAS
	<p>Incubadora: T-101</p>	<p>Temperatura: 10°C a 60°C Controlador de temperatura: Digital micro-procesado con sistema PID.                      Eficiencia 4,79 BTU/Wh.                      Capacidad de refrigeración: 350 Btu/temp.                      Evaporación: -23°C/Gas R 134A;                      Aislamiento térmico: Poliuretano expandido Circulación: Ventilación forzada Seguridad: Termostato de sobrecalentamiento superior a 60°C.                      Peso: 37 kg                      Potencia: 230 Watts                      Tensión: 220 Volts o 127 Volts</p>
	<p>Separador: ePJX</p>	<p>Potencia: 0.23 kW                      Capacidad: 2.4-28.6 L                      Peso seco: 85 kg                      Peso con agua: 117kg                      Válvulas de bola neumáticas de seguridad con purga automática                      Válvulas de pinza neumáticas con purga Automática                      Válvulas de bola con purga automática</p>
	<p>Biorreactor Airlift</p>	<p>Capacidad: 15 L                      Potencia: 2.4 kW                      Agitación neumática y constante                      Turbinas: Rushton y Smith: indicados para fluidos viscosos y para trabajos en alta velocidad (100-1000 rpm).                      Controles: Temperatura, pH, O2 (polarográfico o óptico), CO2 disuelto, espuma, presión, agitación, torque, aireación (rotámetro o controlador másico), CO2/O2 gas, mezclador de gases, sensor PAR, gas metano – CH4, turbidez, células viables.</p>