

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales

**Evaluación físico-química y biológica de compostaje de
residuos de rosas y polietileno de baja densidad (LDPE)
agroindustrial**

Proyecto de investigación

Camila Salomé Álvarez Vega

Ingeniería en Procesos Biotecnológicos

Trabajo de titulación presentado como requisito
para la obtención del título de
Ingeniera en Procesos Biotecnológicos

Quito, 30 de abril de 2019

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ
COLEGIO CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES

**HOJA DE CALIFICACIÓN
DE TRABAJO DE TITULACIÓN**

Evaluación físico-química y biológica de compostaje de residuos de rosas y polietileno de baja densidad (LDPE) agroindustrial

Calificación:

Nombre del profesor, Título académico

Antonio León, Ph.D.

Firma del profesor

Nombre del profesor, Título académico

Daniela Almeida, Ph.D.

Firma del profesor

Quito, 30 de abril de 2019

Derechos de Autor

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma del estudiante: _____

Nombres y apellidos: Camila Salomé Álvarez Vega

Código: 00118814

Cédula de Identidad: 1724494727

Lugar y fecha: Quito, 30 de abril de 2019

DEDICATORIA

Dedicado a esas dos personas maravillosas que alegraban mis días. A mi madre por sus enseñanzas, por ser mi inspiración cada día. A Diana, mi amiga de toda la vida. Las recuerdo y extraño siempre.

A mi padre, por su templanza, optimismo y lucha diaria, por el apoyo incondicional en los momentos más difíciles de nuestras vidas.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi padre por darme la oportunidad de estudiar, por todo su esfuerzo, trabajo y lucha para que pueda continuar con mi carrera universitaria. A mis hermanos, Carolina, Javier y Fernando, por su compañía en buenos y malos momentos. A Andrés por su motivación y apoyo, en especial en las últimas etapas de esta investigación.

A las empresas AndesSpirulina C.A. y Plastilene S.A. por donar las muestras de polietileno usado y nuevo respectivamente.

Agradezco a Alexandra Padilla y el equipo de trabajo de Plastilene S.A por acogerme y permitirme realizar la caracterización de propiedades mecánicas de los plásticos.

A la empresa Agroplantas Cia. Ltda. y todo el equipo, por abrirme las puertas para realizar la investigación. Un especial agradecimiento a Julio Guaitarilla por el trabajo que realiza en la florícola y su ayuda en campo para el desarrollo del proyecto.

Al Laboratorio de Agrobiotecnología, en especial a Karen Herrera por brindar sus conocimientos, y principalmente por su amistad.

Al Laboratorio del Departamento de Química (IDEMA), al Laboratorio de Mecánica de Materiales del Departamento de Ingeniería Mecánica por apoyar con los equipos necesarios para realizar análisis de esta investigación.

A mis directores de tesis, Antonio León y Daniela Almeida, por su guía y compromiso en el desarrollo de esta investigación.

RESUMEN

El polietileno es uno de los plásticos más usados en el sector agrícola para cubiertas de invernaderos, mallas, revestimientos, túneles, entre otros usos. Se estima que a nivel mundial, el consumo de polietileno en este sector es de 2 millones de toneladas métricas. En el Ecuador, la cantidad de plástico utilizado para cubrimientos de invernadero es de alrededor de 1000 kg de plástico por hectárea de invernadero anualmente. Los plásticos de invernaderos, en su mayoría, tienen un tiempo de vida útil de dos años y al cabo de este período deben ser reemplazados. La mayor parte de estos plásticos terminan desechados en vertederos, ecosistemas terrestres, marinos, o son incinerados en los campos, causando un grave impacto ambiental. Por tales motivos, yace la necesidad de encontrar alternativas de gestión para los residuos plásticos. En este sentido, el compostaje es un sistema dinámico que promueve la biodegradación de la materia orgánica por acción de una diversidad de microorganismos y temperatura, por lo que el presente estudio se aprovechó este ambiente para exponer polietileno de baja densidad nuevo y usado de cubiertas de invernaderos, y de esta manera promover su biodegradación. Este estudio se dividió en dos actividades principales: (1) la caracterización de parámetros físico-químicos y biológicos del compostaje que influyen en la descomposición de la materia orgánica; y (2) la evaluación de la biodegradabilidad de LDPE nuevo y usado bajo condiciones de compostaje de rosas. Se trabajó con 50 muestras (25 por cada tipo LDPE) que fueron expuestas a compostaje, y 2 muestras (1 por cada tipo) que fueron expuestas al tratamiento térmico simulando las temperaturas del compost. Cada 30 días se retiraron 6 muestras de cada tipo de LDPE para realizarles análisis de biodegradación mediante pérdida de peso, FTIR, SEM, propiedades mecánicas, y adicionalmente se realizó cultivos microbianos para identificación morfológica de los potenciales degradadores de LDPE. Los resultados obtenidos para la caracterización del compost mostraron que los parámetros estaban dentro del rango esperado de otros compost que tiene otras materias primas. Por otra parte, las condiciones de compostaje no influyeron sobre la degradación de LDPE. Sin embargo, se reportó el deterioro de muestras de LDPE usado al determinar cambios en la morfología del polímero, a la pérdida de propiedades mecánicas en más del 50% respecto a sus iniciales y los cambios en los espectros del análisis de FTIR. Finalmente, se aislaron e identificaron a nivel morfológico microorganismos que pueden ser potenciales degradadores de polietileno, por lo que se requieren de posteriores estudios para determinar si tienen capacidad degradativa.

ABSTRACT

Polyethylene is one of the most used plastics in farming. Its applications cover a wide range of areas including greenhouse covers, meshes, coatings and tunnels. It is estimated that two million metric tons of polyethylene are expended in this sector worldwide. In Ecuador, the amount of plastic used in greenhouse covers is about 1000 kg per hectare annually. The useful life of these plastics, for the most part, is two years. After this period, they have to be replaced. Most of the old plastics end up discarded in landfills, terrestrial and marine ecosystems, or they are rather incinerated in open fields, causing a serious environmental impact. Hence, there is an urgent need to find alternatives to the current measures of plastic waste management. Thus, composting appears as a potential candidate. It is a dynamic system that promotes biodegradation of organic matter by the action of a variety of microorganisms and temperature. It is for this reason that this study took advantage of these properties to expose new and old LDPE from greenhouse covers to compost conditions to promote their biodegradation. This study was divided in two main activities: (1) characterisation of physical-chemical and biological composting parameters that influence the decomposition of organic matter; and (2) evaluation of biodegradability of new and used LDPE under conditions of rose composting. We worked with 50 samples (25 for each LDPE type) that were exposed to composting, and 2 samples (1 for each type) that were exposed to thermal treatment simulating the temperatures of the compost. Every 30 days, 6 samples of each LDPE type were withdrawn from the compost for biodegradation analysis by means of weight loss, FTIR, SEM, and mechanical properties. Additionally, microbiological cultures were carried out for the morphological identification of potential LDPE-degrading organisms. The results obtained from compost characterisation showed that the parameters were within the expected range as compared to other composts made of different raw materials. It was found that composting conditions had no influence on LDPE degradation. However, deterioration of old LDPE samples was reported by determining changes in polymer morphology, loss of mechanical properties by more than 50% with respect to their initial features, and changes in the spectra of the FTIR analyses. Finally, microorganisms with the potential of degrading LDPE were isolated and identified at the morphological level, so further studies are required to determine whether they do have degradative capacity.

TABLA DE CONTENIDO

Contenido

INTRODUCCIÓN	12
1.1 Antecedentes	12
1.3 Técnicas de medición y cuantificación para determinar biodegradación de polímeros.....	19
JUSTIFICACIÓN	21
OBJETIVOS	22
ÁREA DE ESTUDIO	22
MATERIALES	23
5.1. Caracterización físico-química y biológica del compost	23
5.1.1. Medición de temperatura.....	23
5.1.3. Porcentaje de humedad, sólidos totales, sólidos totales orgánicos.	23
5.1.4. Determinación de nitrógeno total	24
5.1.5. Análisis microbiológico de compost.	24
5.2. Evaluación de biodegradabilidad de polietileno de baja densidad.....	25
5.2.1. Análisis FTIR de polietileno baja densidad	25
5.2.2. Análisis de propiedades mecánicas	25
5.2.4. Cultivos de polietileno	25
METODOLOGÍA	27
6.1 Diseño Experimental	27
6.2 Obtención de polietileno	27
6.3 Preparación de las muestras	27
6.4 Preparación de pila de compost.....	28
6.5 Monitoreo de compostaje	28
6.5.1 Medición de temperatura.....	28
6.5.2 Toma y preparación de muestras de compost	28
6.5.3 Determinación de pH	29
6.5.4 Análisis de sólidos totales y determinación de humedad.....	29
6.5.5 Materia orgánica.....	29
6.5.6 Determinación de contenido de carbono orgánico.....	30
6.5.7 Determinación de nitrógeno total.....	30
6.5.8 Análisis microbiológico de compost: recuento de hongos y bacterias...31	
6.6 Evaluación de degradabilidad de las muestras de polietileno	31

6.6.1	Análisis físico-químicos para determinar degradabilidad de LDPE	31
6.7	Cultivos de LDPE para identificación de microorganismos	32
RESULTADOS	33
7.1	Caracterización físico-química y biológica del compost	33
7.1.1	Temperatura y pH.....	33
7.1.2	Contenido de humedad, sólidos totales, materia orgánica y carbono orgánico.....	33
7.1.3	Contenido de nitrógeno total y relación C/N	34
7.1.4	Caracterización microbiana del compost	35
7.2	Evaluación de degradación de polietileno de baja densidad	35
7.2.1	Evaluación físico-química de LDPE	35
7.2.2	Microscopia electrónica de barrido (SEM)	40
7.2.3	Cultivos e identificación morfológica de microorganismos potenciales degradadores de LDPE	41
DISCUSIÓN	43
8.1	Caracterización físico-química y biológica del compost.	43
8.1.1	Características físico-químicas.....	43
8.1.2	Recuento de bacterias y hongos en el compost	45
8.2	Evaluación de biodegradabilidad de polietileno de baja densidad.....	46
8.2.1	Pérdida de peso.....	46
8.2.2	Análisis FTIR	46
8.2.3	Propiedades mecánicas.....	48
8.2.4	Microscopia electrónica de barrido	49
8.2.5	Cultivos e identificación morfológica de microorganismos potenciales degradadores de LDPE	50
CONCLUSIONES	51
RECOMENDACIONES	52
REFERENCIAS	54
ANEXOS	59

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1 Fases y microorganismos en el compostaje (Eldor, 2007).....	15
Fig. 2 Medición de temperatura y pH de compost durante 124 días de compostaje.	33
Fig. 3 Contenido de humedad, sólidos totales, materia y carbono orgánicos durante 124 días de compostaje.....	34
Fig. 4 Contenido de nitrógeno total (en base seca) y relación C/N durante 124 días de compostaje.	34
Fig. 5 Evolución de la población bacteriana y fúngica del compost durante 124 días.....	35
Fig. 6 Pérdida de peso (%) de LDPE NUEVO (izquierda) y LDPE USADO (derecha) compostado durante 30, 61, 91 y 124 días.....	36
Fig. 7 Análisis FTIR de LDPE NUEVO y USADO, con y sin tratamientos térmicos.....	38
Fig. 8 Análisis FTIR para muestras de LDPE NUEVO sin tratamientos, con tratamiento térmico, y muestras sometidas a compostaje durante 30 días (30 d), 61 días (61 d), 91 días (91d) y 124 días (124 d).....	38
Fig. 9 Análisis FTIR para muestras de LDPE USADO sin tratamientos, con tratamiento térmico, y muestras sometidas a compostaje durante 30 días (30 d), 61 días (61 d), 91 días (91d) y 124 días (124 d).....	38
Fig. 10 Porcentaje de elongación antes de la ruptura de LDPE NUEVO en dirección de axial (AD) y dirección transversal (TD). Pruebas realizadas a muestras sin tratamientos (0); con tratamiento térmico durante 124 días (124 Trat. térmico); compostadas durante 30 días (30) y 124 días (124).	39
Fig. 11 Porcentaje de elongación antes de la ruptura de LDPE USADO en dirección de axial (AD) y dirección transversal (TD). Pruebas realizadas a muestras sin tratamientos (0); con tratamiento térmico durante 124 días (124 Trat. térmico); compostadas durante 30 días (30) y 124 días (124).	39
Fig. 12 Microscopia electrónica de barrido de LDPE nuevo sin tratamientos a 50 µm (izquierda) y LDPE usado por dos años para cubrimiento de invernadero, sin tratamientos a 50 µm (derecha).	40
Fig. 13 Microscopía electrónica de barrido de LDPE usado compostado durante 61 (A y B), 91 (C y D) y 124 días (E y F).....	40

ÍNDICE DE ANEXO

Anexo 1 Medición de temperatura en pila de compost durante 124 días.....	59
Anexo 2 Porcentaje de pérdida de peso de LDPE nuevo compostado. Muestras retiradas cada 30 días	59
Anexo 3 Porcentaje de pérdida de peso de LDPE usado compostado. Muestras retiradas cada 30 días	60
Anexo 4 Propiedades mecánicas de LDPE nuevo sin tratamientos, nuevo sometido a tratamiento térmico; LDPE usado por dos años sin tratamientos y usado con tratamiento térmico. Se midió el % Elongación antes de la ruptura para dirección axial (AD) y dirección transversal (TD).	60
Anexo 5 Propiedades mecánicas de muestras de LDPE nuevo sin tratamientos, con tratamiento térmico, compostado durante 30 y 124 días. Se midió el porcentaje de elongación antes de la ruptura para dirección axial (AD) y dirección transversal (TD).	61
Anexo 6 Propiedades mecánicas de muestras de LDPE usado compostado durante 30; 61 y 124 días. Se midió el porcentaje de elongación antes de la ruptura para dirección de axial (AD) y dirección transversal (TD).	61

INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

Los plásticos son largas cadenas poliméricas sintéticas de alto peso molecular conformados principalmente por carbono e hidrógeno. Estos compuestos se derivan generalmente del petróleo o del gas natural (Huang y Almeida, 2015), y son materiales que se han producido a nivel industrial a partir de 1950. En la actualidad, se siguen usando plásticos a una tasa de crecimiento del 12% al año debido a su bajo costo, flexibilidad, durabilidad, resistencia, entre otras propiedades. Sin embargo, son estas características las que han llevado a un consumo desmesurado de estos materiales causando una problemática global y emergente (Gómez y Michel, 2013). Anualmente la producción de plástico alcanza los 140 millones de toneladas (Greene, 2018), y para el 2015 se han generado 6300 millones de toneladas métricas de residuos plásticos, de los cuales únicamente el 9% del total fue reciclado (Geyer, et al. 2017).

El polietileno es uno de los plásticos más usados para fundas, empaques, envases, películas para cubrimientos de invernaderos, entre otros usos (Callister, 1996). Este es un polímero sintético conformado por monómeros de etileno, y dependiendo de su grado de polimerización que hace referencia al número de unidades de monómeros repetidas en la cadena, se pueden obtener varios tipos de polietileno. Estos se clasifican en base a su densidad y estructura molecular en: polietileno de baja densidad (LDPE), polietileno de alta densidad (HDPE), y polietileno lineal de baja densidad (LLDPE) (Peacock, 2000).

El polietileno de baja densidad (LDPE) tiene una estructura química ramificada, alrededor del 2% de los átomos de carbono, lo que causa que su densidad sea baja ($\sim 0,91 \text{ g/cm}^3$) (Kumar y Raut, 2015). Generalmente es el más utilizado debido a sus buenas propiedades mecánicas, ópticas, y bajo costo (Dilara y Briassoulis, 2000). La demanda global para LDPE en 2009 fue de 18,4 millones de toneladas y se proyecta que hasta el 2020, esta demanda

tenga una tasa de crecimiento del 2% anual (Pinzón, D. y Clodoaldo, S., 2017). En el sector agrícola, se utilizan láminas de LDPE para cubrimiento de invernaderos, túneles, revestimientos temporales y otros usos. Por lo que su consumo para este sector a nivel mundial asciende a 2 millones de toneladas por año (Dilara y Briassoulis, 2000; Kasirajan y Ngouajio, 2012).

En el sector florícola del Ecuador existen alrededor de 4000 ha correspondientes a cultivos de flores, los cuales demandan una gran cantidad de recursos hídricos y a su vez se producen grandes cantidades de desechos plásticos utilizados para los invernaderos y control de plagas, mallas antigranizo, botellas, desechos líquidos, químicos, y residuos vegetales, siendo estos últimos los de mayor peso y volumen (Cordero, 2010).

En Ecuador, anualmente se utilizan alrededor de 1000 kg de plástico para cubrir una hectárea de invernadero (Cazar, 2010). En su mayoría, tienen un tiempo de vida útil de dos años y al cabo de este período deben ser reemplazados. Se estima que desde 1998 hasta 2003 habrían entrado al ambiente 2400 toneladas de plástico provenientes de la industria agroforestal (Cordero, 2010), ya que la mayor parte de estos plásticos terminan desechados en vertederos, ecosistemas terrestres, marinos, o son incinerados en los campos (Dilara y Briassoulis, 2000).

Por otra parte, se considera que en Ecuador, la industria de los plásticos es uno de los sectores productivos más importantes del país, ya que genera alrededor de 1200 millones de dólares y más de 10000 empleos directos (Cámara de Industrias de Guayaquil, 2018). No obstante cabe recalcar que la acumulación de estos desechos se ha convertido en un problema emergente a nivel mundial, ya que estos pueden permanecer en el ambiente desde 100 hasta más de 500 años (Kale et al., 2015). Debido a esto, varios estudios se han centrado en buscar metodologías de degradación de plásticos.

La degradación consiste en un proceso irreversible que provoca un cambio significativo en la estructura química del material. Estos cambios incluyen pérdida de peso molecular, integridad, estructura, resistencia mecánica o fragmentación (Yepes, 2014). Las únicas formas de descomponer totalmente los plásticos provenientes del petróleo hasta la actualidad son la combustión o la pirólisis. La incineración genera gases tóxicos y de efecto invernadero (Geyer, R. et al., 2017) y tiene una huella de carbono aproximada a 6 kg de CO₂ por cada kilogramo de plástico (Veletanga, 2017). Mientras que pirólisis es un proceso costoso. Por tanto, aún se requieren de métodos alternos a los tratamientos térmicos mencionados. Por ejemplo, la biodegradación, un proceso donde intervienen microorganismos, su actividad metabólica y factores abióticos para degradar el material (Kale et al., 2015). La biodegradación puede ocurrir naturalmente en el suelo, en el sistema de compostaje o usando microorganismos específicos con capacidad degradativa (Gilan, I., Hadar, Y. y Sivan, A., 2004).

El compostaje es un proceso dinámico de descomposición aerobia que combina fases mesófilas y termófilas; promueve la biodegradación de la materia orgánica en conjunto con las actividades metabólicas de una diversidad de microorganismos. El compost puede componerse por residuos vegetales, hojas, cáscaras de frutas, restos de jardinería, excrementos, entre otros, para obtener un producto estable denominado humus, el cual puede ser utilizado como abono orgánico para los cultivos (Iglesias, 2014). Se considera que este ambiente brinda la posibilidad de exponer polímeros sintéticos para promover su biodegradación (Vaverková et al., 2012). Estudios han reportado la capacidad de algunos microorganismos para degradar polímeros sintéticos, como el polietileno de baja densidad (Das y Kumar, 2015; Greene, 2018; Ndahebwa et al., 2018). Varias cepas de *Bacillus* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., y *Pseudomonas* sp. son microorganismos identificados como potenciales degradadores de LDPE, y han sido aislados de suelos, de vertederos o rellenos

sanitarios y de compost (Gajendiran et al., 2016; Ndahebwa et al., 2018; Zahra et al., 2010; Mahalakshmi et al., 2012). Por tanto, en el proceso de compostaje, las cadenas poliméricas se pueden descomponer y/o fragmentar a partir de la formación de biofilm en la superficie del polímero, atrayendo a otros microorganismos para actuar, y mediante procesos enzimáticos, como la secreción de enzimas degradadoras, formar productos asimilables y mineralizados (Terán, 2017; Huang y Almeida, 2015;).

1.2. Fases del compostaje

Durante el proceso de compostaje existen cuatro fases basadas en la temperatura: mesofílica, termofílica, enfriamiento y maduración. En cada una de estas fases, el crecimiento microbiano varía continuamente debido a los cambios de temperatura durante el compostaje y a su vez promoviendo la degradación de la materia orgánica (Porras y Rodríguez, 2016; Iglesias, 2014).

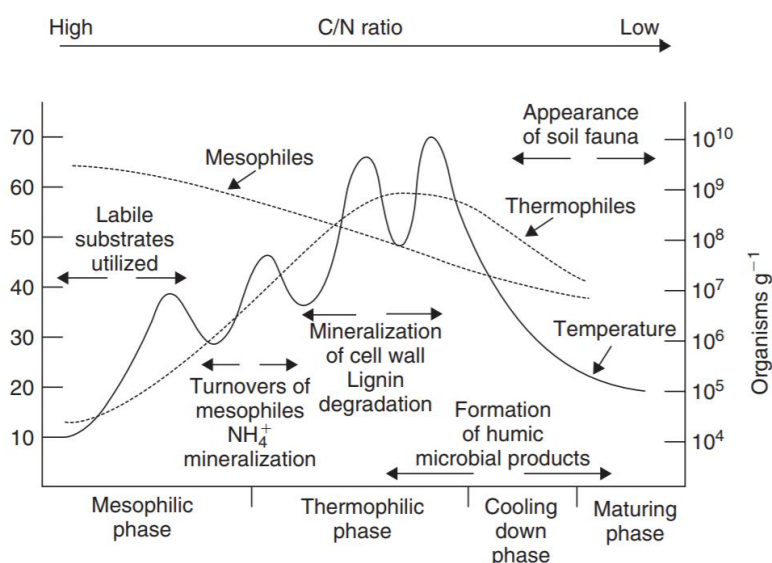


Fig. 1 Fases y microorganismos en el compostaje (Eldor, 2007)

En la Figura 1 se observan los procesos que ocurren durante el compostaje en condiciones óptimas de temperatura y humedad (Eldor, 2007). Durante la fase mesofílica proliferan microorganismos mesófilos, se alcanza una temperatura de hasta 45 °C en pocos días debido a la actividad metabólica microbiana (Mendoza, 2012) donde se utilizan fuentes

sencillas de carbono y nitrógeno generándose calor y se descomponen compuestos solubles, como azúcares, lípidos, proteínas y, por tanto, se producen ácidos orgánicos que pueden causar una acidificación del medio (Cuervo et al, 2014).

La fase termofílica alcanza una temperatura desde 45°C hasta 70 °C, etapa en la que los microorganismos mesófilos son reemplazados por termófilos, como actinomicetos. Se eliminan microorganismos contaminantes, patógenos como son *Escherichia coli*, esporas de hongos fitopatógenos (Figura 1) (Terán, 2017; Mendoza, 2012). La actividad metabólica de estos microorganismos termófilos causa calor, el nitrógeno se transforma en amoníaco, por ende el pH incrementa hasta estabilizarse y permanecer constante hasta el final del proceso del compostaje. Estos microorganismos, además, facilitan la descomposición de fuentes más complejas de carbono, como son los polímeros de lignina y celulosa (Román y Martínez, 2013). La fase termófila termina cuando el sustrato se ha agotado y la temperatura disminuye lentamente hasta los 40°C. En esta etapa de enfriamiento, los microorganismos mesófilos comienzan a proliferar nuevamente, especialmente hongos que todavía tienen la capacidad para degradar polímeros restantes. La fase de enfriamiento requiere de algunas semanas hasta alcanzar los 20 °C, temperatura que indica la fase de maduración. En la etapa de maduración la temperatura y pH se estabilizan. Durante los meses de duración pueden proliferar actinomicetos e inducen a la formación de materiales húmicos (Terán, 2017), el producto del compostaje tiene una coloración marrón oscura debido a la formación de grupos cromóforos y síntesis de melanoidinas (Cuervo et al, 2014; Iglesias, 2014).

1.2.1. Parámetros fundamentales en el proceso de compostaje

Existen varios factores que influyen el proceso de compostaje y la obtención de un producto final útil y de calidad; la calidad del compost comprende estabilidad, contenido de nutrientes, y está determinada por el material de partida, las condiciones ambientales, y otros

elementos que pueden variar dependiendo del sistema de compostaje. Sin embargo, para que estén dentro de un rango óptimo, y asegurar las condiciones de crecimiento de los microorganismos responsables de la descomposición de la materia orgánica se debe controlar: temperatura, humedad, pH, relación C/N, entre otros (Román y Martínez, 2013; Terán, 2017).

a. Temperatura

La temperatura es uno de los factores que indican el desarrollo del proceso de compostaje, de hecho, en base a este parámetro, se pueden establecer las cuatro etapas del proceso mencionadas anteriormente (mesófila, termófila, enfriamiento y maduración). Cada una de las etapas tiene su temperatura óptima que promueve la diversidad y actividad microbiana, descomposición de la materia orgánica y eliminación de microorganismos contaminantes (Mendoza, 2012). La fase mesófila alcanza una temperatura de 20°C a 45 °C; la termófila un rango de 45 °C a 70 °C; la fase de enfriamiento corresponde a la disminución de temperatura lentamente hasta alcanzar los 40 °C; y finalmente la fase de maduración en donde la temperatura.

b. Humedad

El contenido óptimo de humedad se encuentra entre el 40% y 60%. En caso de exceder estos porcentajes, el agua puede saturar los poros por lo que el proceso puede volverse anaerobio e incluso causar podredumbre de la materia orgánica. Al contrario, si la humedad del compost está por debajo del rango óptimo, la actividad microbiana disminuye causando que la velocidad de descomposición de la materia también se reduzca (Román, P. y Martínez, M., 2013).

c. Valor de pH

El valor de pH es un indicador del ambiente microbiano y la estabilización de los residuos ya que varía en el proceso del compostaje. Se recomienda rangos entre 6,5 y 8 para promover crecimiento microbiano y lograr un proceso de compostaje efectivo. Sin embargo, esos valores pueden variar durante el periodo de compost (Vakili et al., 2012). En la fase mesófila el pH puede disminuir desde un valor neutro hasta a 4 a 5,5 debido a la producción de ácidos orgánicos por descomposición de la materia orgánica. A medida que continua el proceso, se forman compuestos como amoníaco producto de la transformación de proteínas, por lo que el pH se vuelve ligeramente alcalino (Sundberg, 2005; Ascázubi, 2011). La estabilización del pH entre 6 y 8 indica que el compost está en su fase de maduración (Sharma et al., 2017)

d. Relación carbono nitrógeno.

Considerando que el carbono es la fuente de energía para los microorganismos y el nitrógeno necesario para la síntesis de proteínas y compuestos que son parte del desarrollo biológico, la relación C/N es un indicador del avance del proceso de compostaje por lo que influye en la velocidad de descomposición. Es decir, que si existen altos niveles de nitrógeno (menor relación C/N) se aceleran los procesos de asimilación e incorporación metabólica, así como rápida mineralización del carbono. Mientras que un aporte bajo en nitrógeno causa una disminución en la tasa de descomposición y mineralización (Terán, 2017). Los microorganismos que participan en el compostaje absorben 30 partes de carbono por cada parte de nitrógeno (Díaz, 2002). Se considera que alcanzar una relación C/N de 25 a 35 es la idónea para lograr una adecuada descomposición de la materia y calidad del producto final (Ascázubi, 2011).

1.3 Técnicas de medición y cuantificación para determinar biodegradación de polímeros.

La degradación del polímero se puede determinar a partir de pérdida de masa. Sin embargo, estos cambios no significan un indicador preciso de biodegradabilidad. Por lo que se requiere de otras técnicas complementarias para evaluar biodegradación o deterioro de los polímeros (Rosario y Dell, 2010).

a. Microscopía electrónica de barrido (SEM)

La microscopía electrónica de barrido (SEM) es una técnica que puede aplicarse para evaluar biodegradación de polietileno. Esta permite observar la morfología del polímero superficialmente, de tal manera que se pueden identificar modificaciones y cambios en la superficie de las muestras, adherencia de microorganismos o formación de colonias bacterianas o biofilm (Shah et al., 2008).

Este método utiliza un haz de electrones de alta energía a través de un dispositivo (filamento) para interactuar con la superficie de las muestras sólidas y generar una señal que se deriva en una imagen, la cual revela información como forma, tamaño de partículas, textura de la muestra (Ratner, 2013).

b. Espectroscopía infrarroja transformada de fourier (FTIR)

La espectroscopía infrarroja transformada de Fourier (FTIR), es un método que permite el análisis cualitativo y cuantitativo de compuestos orgánicos ya que proporciona información específica acerca de la estructura molecular y enlaces químicos (Gerwert, K. y Kötting, C., 2010). Este método se basa en la interacción de las moléculas orgánicas y la cantidad de radiación infrarroja que estas pueden absorber de acuerdo a su estructura molecular, por lo que permite encontrar diferencias en la estructura química de la muestra al observar cambios en el espectro emitido (Shah et al., 2008; Magda, 2008).

c. Análisis de propiedades mecánicas de polímeros

Para el análisis de propiedades mecánicas de los polímeros, las pruebas de técnica de tracción o tensión son las más comunes para determinar deformación, resistencia a cedencia, a roturas, y a rasgado (Mancilla, 2013). Es decir que se mide la fuerza requerida para romper la muestra del plástico y la extensión de la muestra hasta llegar a un punto de ruptura (Groover, 1997).

En el presente estudio se realiza la evaluación de biodegradabilidad de polietileno de baja densidad nuevo y usado por dos años para cubiertas de invernaderos luego de someterse a un proceso de compostaje de residuos forestales en condiciones reales.

JUSTIFICACIÓN

La gestión de residuos sólidos y plásticos en el país ya se ha iniciado. Sin embargo, los planes de manejo ambiental en muchas empresas, incluyendo el sector agrícola y forestal, aún son incipientes. En este sector, la gestión ambiental se centra en el tratamiento de los residuos vegetales para reincorporarlos en el suelo como abono, mientras que los desechos plásticos (cubiertas de invernaderos, recipientes, fundas, etc.) en ocasiones son enterrados en fosas de las plantaciones, desechados en vertederos o quemados, convirtiéndose en un tema de discusión debido a que se van en contra de la Legislación ecuatoriana, además de que estas prácticas convencionales para eliminar los desechos plásticos son perjudiciales para el medio ambiente (Cordero, 2010).

Por otra parte, debido a que la industria del plástico constituye uno de los principales sectores en el país y el uso del plástico en los distintos sectores tiene un crecimiento acelerado. Ecuador debería tomar medidas para el manejo de los residuos plásticos y de esta manera reducir contaminación ambiental. Considerando que el compostaje es un sistema que promueve la biodegradación de materia orgánica, el presente estudio aprovecha las condiciones reales de un sistema de compostaje de residuos florícolas para evaluar el nivel de biodegradación de los plásticos. De esta manera se busca una adecuada gestión de los desechos plásticos y a su vez se pretende encontrar microorganismos potenciales que promuevan la biodegradación de dichos polímeros.

OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

- Evaluar las características físico-químicas y biológicas de degradación durante el compostaje de residuos de rosas con LDPE agroindustrial.

3.2. Objetivos específicos

- Realizar análisis físico-químicos y biológicos del compost durante el período de estudio.
- Determinar y comparar el grado de degradación de LDPE nuevo y usado mediante diferentes métodos (pérdida de peso, microscopía electrónica de barrido, análisis de tensión y espectroscopía FTIR).
- Identificar a nivel morfológico microorganismos que se encuentren adheridos en las muestras de plástico al final de los periodos de análisis mediante cultivos.

ÁREA DE ESTUDIO

El presente estudio se llevó a cabo en la empresa Agrolantás Cia Ltda. ubicada a 2600 s.n.m, en la parroquia de Pifo, Sector Itulcachi de la provincia de Pichincha (Vía Pifo-Sangolquí). Agrolantás Cia Ltda., se dedica principalmente a la selección, cultivo, comercialización y exportación de variedades de rosas, y trabaja en conjunto con Rosen Tantau de Alemania, siendo su representante en Ecuador (Capelo, 2013).

Agrolantás Cia Ltda. cuenta con alrededor de 18 hectáreas de cultivo que en su mayoría corresponde a rosas. Sin embargo, dispone al mercado una variedad de productos a parte de las rosas como son yemas, tallos, patrones, miniplantas. Debido a que la empresa ofrece altos estándares de calidad en sus productos, las rosas son seleccionadas y aquellas que

no cumplan con los requisitos establecidos, son desechadas. Los residuos de flores de Agroplantas Cia. Ltda. se manejan mediante el compostaje para reincorporar el abono obtenido a sus propios cultivos. Mientras que los residuos plásticos de cubiertas de invernadero se generan anualmente ya que son reemplazados al cabo de este período.

MATERIALES

5.1. Caracterización físico-química y biológica del compost

5.1.1. Medición de temperatura

- termómetro digital con conexión a termocupla tipo K (40 cm de longitud).

5.1.2. Medición de pH

- 20 g de muestra de compost
- balanza analítica
- agua destilada
- frascos de vidrio, vaso de precipitación
- colador
- máquina de agitación (Shaker Orbit 3525)
- potenciómetro

5.1.3. Porcentaje de humedad, sólidos totales, sólidos totales orgánicos.

- 5 gramos de muestra de compost
- balanza analítica (RadwagAS 220-R2)
- crisoles
- estufa (Fanem 315 SE)
- mufla (Thermolyne 1400 Fumace)
- desecador

5.1.4. Determinación de nitrógeno total

- 0,5 g de muestra seca de compost
- balanza analítica (Sartorius M-Power)
- papel filtro
- equipo de digestión Kjeldahl (VELP SCIENTIFICA, DK6 Heating Digester)
- pastillas catalizadores y antiespumantes
- ácido sulfúrico
- ácido clorhídrico [0,2 N]
- ácido bórico
- Erlenmeyer (25ml)
- pipeta volumétrica
- indicador de Tasio
- equipo de destilación por arrastre de vapor (VELP SCIENTIFICA, UDK139)
- hidróxido de sodio al 35%

5.1.5. Análisis microbiológico de compost.

- 25 gramos de muestra de compost, balanza analítica
- tubos de ensayo, frasco de vidrio.
- solución salina estéril.
- vórtex
- micropipeta, puntas estériles.
- varilla triangular de vidrio
- medio Agar nutriente
- medio PDA

5.2. Evaluación de biodegradabilidad de polietileno de baja densidad

5.2.1. Análisis FTIR de polietileno baja densidad

- hipoclorito de sodio al 5%
- SDS 1%
- agua destilada
- desecador
- balanza analítica de cinco dígitos (modelo Ohaus)
- espectro FTIR (Cary 630 de Agilent Technologies)

5.2.2. Análisis de propiedades mecánicas

- máquina para pruebas de tensión y elongación (Lloyd Instruments LFPlus 1kN single column tester)
- muestras de LDPE

5.2.3. Análisis SEM

- SDS 1%
- formaldehído 3.7%
- PBS
- refrigerador
- agua destilada
- etanol (50%, 70%, 95%, 100%),
- campana de vacío.
- microscopio Electrónico de barrido (JEON JSM-IT300)

5.2.4. Cultivos de polietileno

- muestras de polietileno (1x1 cm)
- medios de cultivo (Agar Nutriente, PDA, Sabouraud)

- pinzas, palillos estériles
- asa para estriado
- azul de metileno
- colorantes para tinción Gram (cristal violeta, lugol, safranina, alcohol cetona)
- portaobjetos y cubreobjetos
- microscopio (Olympus CX22)

METODOLOGÍA

6.1 Diseño Experimental

En el estudio se determinó el grado de biodegradabilidad de muestras de LDPE nuevo y LDPE usado para cubrimientos de invernadero bajo las condiciones de compostaje que se llevan a cabo en Agroplantas Cia. Ltda, ubicada en la provincia de Pichincha (Vía Pifo-Sangolquí). Se trabajó con un total de 50 muestras de polímero sintético LDPE; 24 muestras corresponden a LDPE nuevo y 24 muestras a LDPE usado. Estas fueron colocadas en el compost durante un período total de 124 días. Adicionalmente se trabajó con una muestra de LDPE nuevo y una de LDPE usado para someterlas a tratamiento térmico simulando el período de compostaje.

6.2 Obtención de polietileno

Las muestras de polietileno de baja densidad (LDPE) usadas por dos años fueron recolectadas en la planta industrial AndesSpirulina C.A., una empresa que se dedica al cultivo de algas y se encuentra en la sierra ecuatoriana a 2800 m.s.n.m. en la parroquia de Pintag. El plástico proporcionado pertenece al tipo AGROLENE TRANSPARENTE AT, de la empresa Plastilene S.A. Las muestras nuevas de LPDE (Infralene Transparente Rosa Roja) fueron donadas por la empresa Plastilene S.A.

6.3 Preparación de las muestras

Previo a la realización de los ensayos, las muestras de LDPE nuevo y LDPE usado fueron recortadas a un tamaño estándar (21 cm x 14,7 cm) obteniéndose 25 pedazos de cada LDPE. Cada muestra fue lavada con hipoclorito de sodio 5%, luego con SDS 1% , y por último 3 veces con agua destilada (15 minutos cada lavado). Finalmente, una vez lavadas y secadas las muestras en un desecador, se pesaron en una balanza analítica de cinco dígitos y a cada muestra se le asignó un número para su posterior diferenciación.

6.4 Preparación de pila de compost

Los residuos de material vegetal en la florícola Agroplantas Cia. Ltda., se manejan a través de compostaje en cajones de 240 cm de largo, 140 cm de ancho y 110 cm de alto. Por lo que para el presente estudio se siguió el mismo diseño y tamaño de cajón. Se trituraron los residuos de flores y se ubicaron en el cajón hasta alcanzar una altura de 73 cm. A esta altura, se colocaron aleatoriamente las muestras de LDPE (nuevas y usadas) con una distancia promedio entre muestras de 20 cm. Se rellenó el cajón nuevamente con aproximadamente 10 cm de residuos vegetales, y se colocaron aleatoriamente las muestras restantes de LDPE. Finalmente, la pila de compost fue completada con material vegetal de flores.

6.5 Monitoreo de compostaje

6.5.1 Medición de temperatura

Se realizaron mediciones de temperatura en cuatro puntos distintos de la pila de compost durante 4 meses. El primer mes se realizaron mediciones cada semana y a partir del segundo mes, se realizaron mediciones mensuales. Para la determinación de la temperatura se utilizó un termómetro digital con conexión a una termocupla tipo K de alrededor de 40 cm de longitud.

6.5.2 Toma y preparación de muestras de compost

Cada semana se tomaron muestras aleatoriamente de la pila de compost en estudio para un total de 5 muestras. Se trató de tomar las muestras a unos 20 cm de profundidad, y se colocaron en fundas herméticas (26,8 cm x 27,3 cm) para ser transportadas al laboratorio donde se realizaron análisis de pH, sólidos totales, materia orgánica, humedad y nitrógeno total. En el laboratorio se homogeneizaron las 5 submuestras de compost en una sola funda hermética para proceder con la caracterización del compost.

6.5.3 Determinación de pH

Se pesaron 20 g de muestra y se colocaron en un frasco con 100 ml de agua destilada, teniendo una relación muestra-agua de 1/5. Se mezcló la muestra con agitación mecánica constante durante 30 minutos, luego se filtró con un cernidor para proceder con la lectura del pH (Soliva et al., 2002).

6.5.4 Análisis de sólidos totales y determinación de humedad

Los análisis se realizaron por triplicado siguiendo la metodología propuesta a continuación (Huang y Almeida, 2015): Se pesaron los crisoles estériles vacíos, se pesaron 5 g de la muestra y se colocaron en el crisol. Se secaron las muestras a una temperatura de 105 °C en una estufa durante 24 horas. Al cabo de este tiempo se retiraron los crisoles y fueron colocados en un desecador para enfriarlos y posteriormente pesarlos. Para calcular los sólidos totales se aplicó la siguiente ecuación (1):

$$TS = \frac{(m_2 - m_0)}{m_1 - m_0} * 100 [\%] \quad (1)$$

Donde m_0 es el peso del crisol vacío, m_1 es el peso del crisol con la muestra, y m_2 es el peso del crisol con la muestra seca.

Para determinar el porcentaje de humedad de la muestra se aplicó la ecuación (2)

$$Humedad = \frac{(m_1 - m_2)}{m_1 - m_0} * 100 [\%] \quad (2)$$

6.5.5 Materia orgánica

Para el análisis de materia orgánica se siguió el procedimiento mencionado a continuación (Huang y Almeida, 2015). Los crisoles con las muestras secas previamente fueron calcinados en una mufla de 6 a 8 horas a una temperatura de 550 °C. Los crisoles fueron retirados y colocados en el desecador para enfriarlos y luego pesarlos. Para calcular

los sólidos totales orgánicos, que hacen referencia al contenido de materia orgánica que queda presente en la muestra, se aplicó la ecuación (3):

$$MO = \frac{(m_2 - m_3)}{m_2 - m_0} * 100 \text{ [%]} \quad (3)$$

Donde m_3 es el peso del crisol con la muestra calcinada.

6.5.6 Determinación de contenido de carbono orgánico

Para determinar el porcentaje de carbono orgánico presente en la materia orgánica de la muestra, se aplicó la ecuación (4) (Sharma y Yadav, 2017). La utilización del factor de conversión para transformar materia orgánica a carbono orgánico total se basa en que la materia orgánica contiene alrededor del 54% al 58% de carbono orgánico (Iglesias, E. y Pérez, V. , 1992).

$$\%C = \frac{\%MO}{1,8} \quad (4)$$

6.5.7 Determinación de nitrógeno total

El contenido de nitrógeno se realizó por triplicado utilizando el método Kjeldahl. Para la digestión se pesaron alrededor de 0,5 g de la muestra en papel filtro y se colocaron en los tubos de digestión Kjeldahl. Se añadieron 12 ml de ácido sulfúrico concentrado, una pastilla catalizadora y 2 pastillas antiespumantes a cada tubo de digestión. Las muestras fueron digeridas en un digestor a una temperatura de 420 °C durante 1,5 horas aproximadamente hasta que la muestra se haya digerido completamente tomando un aspecto cristalino, con cierta tonalidad verdeazulada. Se dejó enfriar para la destilación. Para la destilación se colocaron 25 ml de ácido bórico medidos con una pipeta en Erlenmeyer. Simultáneamente se colocó en un aparato de destilación por arrastre de vapor, un tubo con la solución digerida, y el frasco con ácido bórico. Se procedió a destilar dosificando 50 ml de agua y 50 ml de NaOH al 35%. Finalmente se tituló con ácido clorhídrico 0,2 N utilizando el indicador Tasio.

6.5.8 Análisis microbiológico de compost: recuento de hongos y bacterias

Se preparó una solución madre de 25 gramos de muestra de compost pesadas en una balanza analítica, y se agregaron a un frasco con 225 ml de solución salina estéril. Se mantuvo en agitación durante 20 minutos. A partir de la primera dilución, se realizó diluciones seriadas, transfiriendo 1 ml de muestra a otro tubo con 9 ml de solución salina estéril, seguidamente se agitó en vórtex. Se realizó el mismo procedimiento hasta llegar a la dilución 10^{-9} . Posteriormente, se tomó 0,1 ml de cada dilución con ayuda de una micropipeta para sembrar por triplicado en medios de cultivo Agar Papa Dextrosa con rosa de bengala y gentamicina, y Agar nutriente previamente preparados. Se dejaron en incubación durante 24 horas a 30 °C para mesófilos y 50 °C para termófilos, en Agar Nutriente y hasta una semana para PDA. Una vez crecidas las colonias se realizó el recuento por método directo. Se tomó en cuenta valores entre 30 y 300 colonias para bacterias, y para hongos entre 10-150. Finalmente se calculó el número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC/g) de hongos y bacterias tomando en cuenta la dilución más alta (adaptado de Gebeyehu y Kibret, 2013).

6.6 Evaluación de degradabilidad de las muestras de polietileno

6.6.1 Análisis físico-químicos para determinar degradabilidad de LDPE

Se realizó un monitoreo de evaluación de la degradabilidad de las muestras de polietileno cada 31 días. Para ello se tomaron aleatoriamente del compost 6 muestras de LDPE nuevo y 6 muestras de LDPE usado. De estas, 3 muestras de cada tipo de LDPE fueron lavadas con hipoclorito de sodio 5%, luego con SDS 1%, y por último 3 veces con agua destilada (15 minutos por cada lavado). Las muestras fueron secadas en un desecador y llevadas al Laboratorio de Ingeniería Química para análisis de pérdida de peso y FTIR; y a la industria Plastilene S.A para análisis de propiedades mecánicas.

Para cambios en peso se utilizó una balanza analítica de cinco dígitos. El porcentaje de pérdida de peso se determinó aplicando la ecuación (5) propuesta por (Gajendiran et al., 2016).

$$\%Pérdida\ peso = \frac{peso\ inicial - peso\ final}{peso\ inicial} * 100 \quad (5)$$

El análisis de FTIR fue realizado para determinar cambios estructurales en las muestras de LDPE debido a los tratamientos aplicados. Se utilizó el equipo Cary 630 de Agilent Technologies.

Las pruebas mecánicas de tensión se realizaron para establecer cambios en el porcentaje de elongación de LDPE en dirección axial y en dirección transversal antes de la ruptura respecto a sus propiedades iniciales. La determinación de elongación antes de la ruptura se realizó por triplicado mediante el método ASTM D-882-83.

Para los análisis de SEM se obtuvieron submuestras de los 3 restantes por cada tipo LDPE (0,5 x 0,5 cm). Las muestras fueron lavadas con SDS 1% por 10 minutos para eliminar impurezas, luego se fijaron formaldehído 3.7% en PBS durante 1 hora 30 minutos a 4°C. Luego se lavaron con agua destilada, seguido de PBS, y deshidratación con etanol en gradiente durante 15 minutos cada uno (50%, 70%, 95%, 100%), finalmente las muestras fueron secadas en una campana de vacío (modificado de Bonhome, 2003; Das y Kumar, 2015).

6.7 Cultivos de LDPE para identificación de microorganismos

Para realizar los cultivos se realizó un lavado superficial a muestras de 1x1 cm de cada tipo de LDPE, y luego fueron cultivados en medio Agar Nutriente, PDA, y Sabouraud. Se aislaron e identificaron morfológicamente los microorganismos que crecieron de las muestras. Para identificación de bacterias se realizó tinción Gram. Para identificar los

hongos, se tomó muestras de micelio y conidios con una cinta adhesiva y se colocó en un portaobjetos con una gota de azul de metileno para teñir las estructuras. Hongos y bacterias fueron visualizados en microscopio a 40X y 100X para la identificación morfológica.

RESULTADOS

7.1 Caracterización físico-química y biológica del compost

7.1.1 Temperatura y pH

La temperatura y el pH son indicadores del ambiente microbiano y estabilización del compostaje (Fig. 2). En este estudio, la fase mesófila empezó con $21,53 \pm 1,36^\circ\text{C}$ y un pH de 5,30. La fase termófila registró un pH de 7,20 y a los 12 días alcanzó una temperatura máxima de $56,50 \pm 1,55^\circ\text{C}$. La fase de enfriamiento alcanzó una temperatura de $34,63 \pm 7,78^\circ\text{C}$, y un pH de 8,00. Finalmente, a los 60 días el compost alcanzó la fase de maduración con un pH de 8,24 y una temperatura de $19,55 \pm 2,16^\circ\text{C}$. Cabe mencionar que se registró heterogeneidad en los valores individuales de temperatura en la pila de compost, lo cual se evidencia en las barras de error presentadas (Anexo 1).

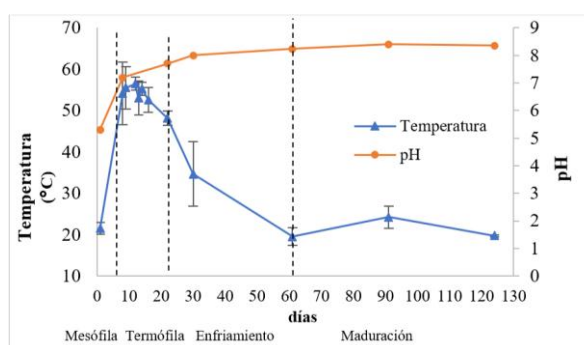


Fig. 2 Medición de temperatura y pH de compost durante 124 días de compostaje.

7.1.2 Contenido de humedad, sólidos totales, materia orgánica y carbono orgánico.

En el sistema de compostaje evaluado, el contenido inicial de humedad fue de $67,07 \pm 0,82\%$, y disminuyó periódicamente hasta llegar a un valor de $16,21 \pm 0,53\%$ a los 124 días de compostaje. En los sólidos totales, se observa un incremento de $32,93 \pm 0,82\%$ hasta

83,79 \pm 0,53%. El contenido de materia orgánica disminuye durante el composteo de 91,19 \pm 0,66% a 88,03 \pm 0,58% debido a su descomposición y mineralización. El contenido de carbono orgánico disminuye ligeramente de 50,66 \pm 0,37 % a 48,90 \pm 0,32 % (Fig. 3). Sin embargo, la reducción del contenido de materia orgánica y de carbono orgánico, no representan una diferencia significativa.

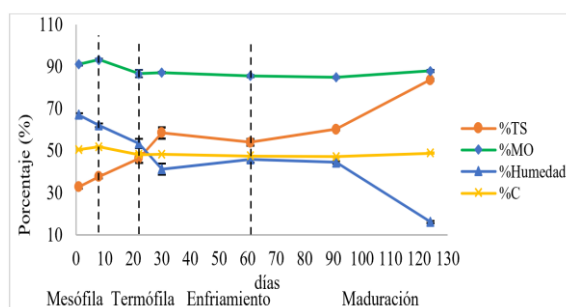


Fig. 3 Contenido de humedad, sólidos totales (TS), materia orgánica (MO) y carbono orgánico (C) durante 124 días de compostaje.

7.1.3 Contenido de nitrógeno total y relación C/N

El contenido inicial de nitrógeno total en la pila de compost fue en promedio de 1,19 \pm 0,10%, y aumentó hasta 2,93 \pm 0,07 % luego de 124 días de compostaje (Fig. 4). La relación C/N durante el compostaje disminuyó gradualmente hasta los 60 días, después del cual aumentó progresivamente a una relación C/N igual a 14 (Fig. 4).

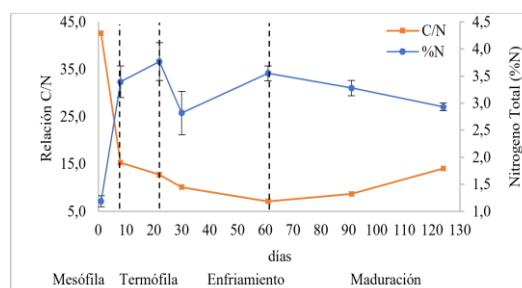


Fig. 4 Contenido de nitrógeno total (en base seca) y relación C/N durante 124 días de compostaje.

7.1.4 Caracterización microbiana del compost

La población microbiana presente en el compost fue determinada por recuento directo de Unidades Formadoras de Colonias por gramo de compost (UFC/g). En la Fig. 5 se observa la evolución de la población microbiana; se encontró que la población de bacterias estuvo en mayor proporción respecto a la población fúngica durante el período de compostaje. Al inicio del compost, se encontró que la población bacteriana y fúngica fue de 10^7 UFC/g compost; en 14 días, correspondiente a la fase termófila, las bacterias aumentaron a 10^{10} UFC/g compost y los hongos a 10^8 UFC/g compost. Posterior a la etapa termófila se observó variación en el número de UFC/g para bacterias y hongos, sin embargo se mantuvieron en un rango de 10^6 a 10^8 . Cabe mencionar que las bacterias que se reportan en la Fig. 5 corresponden a aquellas que crecieron a 50°C a 55°C . Además, no se encontraron hongos UFC/g compost cultivados a 50°C . Sin embargo, durante todo el período de compostaje existió población de hongos mesófilos.

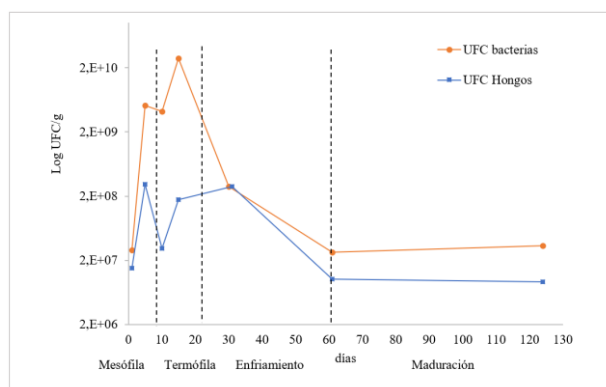


Fig. 5 Evolución de la población bacteriana y fúngica del compost durante 124 días.

7.2 Evaluación de degradación de polietileno de baja densidad

7.2.1 Evaluación físico-química de LDPE

La evaluación físico-química de la degradación del LDPE se realizó mediante tres metodologías: medición de cambios físicos por pérdida de peso, composición química por

análisis de FTIR y propiedades mecánicas por ensayos de tensión (dirección axial y transversal). Se determinó el promedio del porcentaje en pérdida de peso para las muestras de LDPE nuevo y usado retiradas para un mismo mes. En LDPE nuevo se registró mayor pérdida de peso (0,639%) después de 31 días de compostaje (Fig. 6). Mientras que, en el LDPE usado la máxima pérdida de 1,92% se encontró luego de 91 días en compostaje. Los valores negativos indican aumento de peso (Fig. 6).

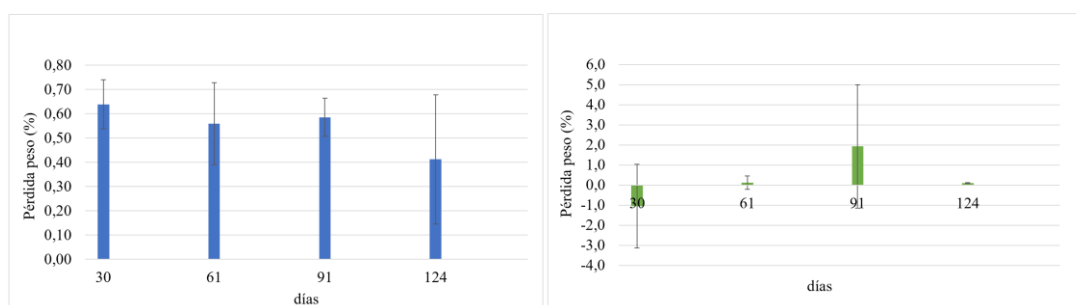


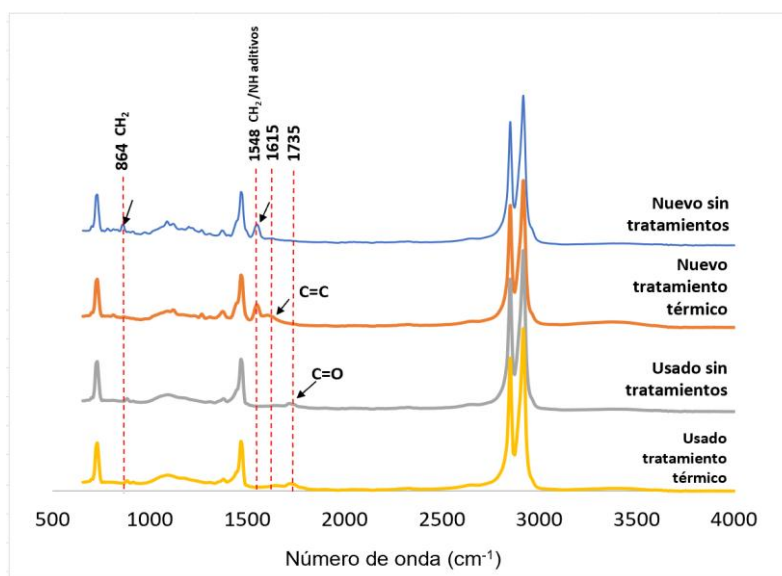
Fig. 6 Pérdida de peso (%) de LDPE NUEVO (izquierda) y LDPE USADO (derecha) compostado durante 30, 61, 91 y 124 días.

Para caracterizar la composición química de las muestras, se realizó análisis de FTIR a los plásticos luego de ser sometidas al compostaje o tratamiento térmico. La Fig. 7 muestra la diferencia en los espectros de LDPE nuevo y usado. El polímero nuevo sin tratamientos presenta picos a 730 cm^{-1} , 864 cm^{-1} , 1467 cm^{-1} , 2850 cm^{-1} y 2917 cm^{-1} correspondientes a vibraciones de las cadenas CH_2 . El pico a 1548 cm^{-1} podría corresponder a grupos metilos CH_2 o a grupos aminos provenientes de los aditivos estabilizantes y absorbedores de luz UV. Se observó formación de un pico a 1615 cm^{-1} para LDPE nuevo con tratamiento térmico (Fig. 7).

En las muestras nuevas compostadas se observó desaparición de picos a 864 cm^{-1} y 1548 cm^{-1} conforme avanza la exposición de LDPE nuevo a compostaje durante 30, 61, 91 y 124 días (Fig. 8) comparado con LDPE nuevo con tratamiento térmico y sin tratamientos.

Además, se formó un pico leve a 1615 cm^{-1} en las muestras nuevas compostadas por 61 días (Fig. 8; 61d).

En el espectro original del LDPE usado ya no se observan picos asociados a grupos CH_2 a 864 cm^{-1} , ni el pico a 1548 cm^{-1} que puede ser vibración de grupos amino correspondientes a los aditivos o bien de grupos CH_2 , y se observa formación de un pico leve a 1735 cm^{-1} correspondiente a enlaces $\text{C}=\text{O}$ (Fig. 9). En el LDPE usado compostado se observó cambios sólo para una muestra (Fig. 9; 91d) donde se formó un pico entre 3000 y 3500 cm^{-1} y mayor intensidad a 100 y 1150 cm^{-1} . Esta muestra corresponde a aquella que presentó un mayor porcentaje en pérdida de peso (Anexo 3). Para las demás muestras compostadas de LDPE usado no se observaron cambios en el espectro de FTIR.



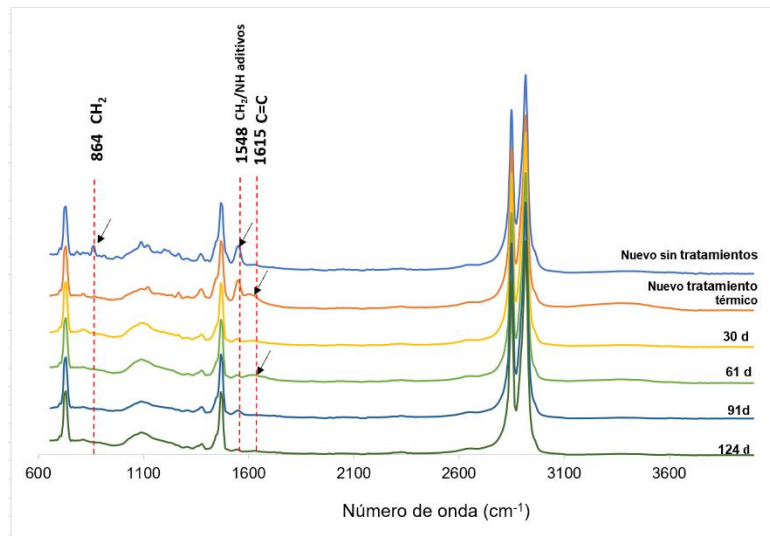


Fig. 7 Análisis FTIR de LDPE NUEVO y USADO, con y sin tratamientos térmicos.

Fig. 8 Análisis FTIR para muestras de LDPE NUEVO sin tratamientos, con tratamiento térmico, y muestras sometidas a compostaje durante 30 días (30 d), 61 días (61 d), 91 días (91d) y 124 días (124 d).

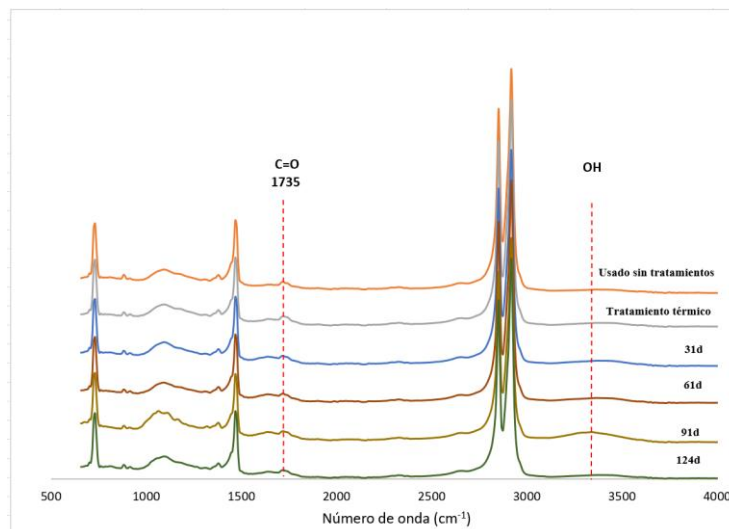


Fig. 9 Análisis FTIR para muestras de LDPE USADO sin tratamientos, con tratamiento térmico, y muestras sometidas a compostaje durante 30 días (30 d), 61 días (61 d), 91 días (91d) y 124 días (124 d).

Las propiedades mecánicas de las muestras de cada tipo de LDPE se realizaron por triplicado para la dirección de maquina (AD) y para la dirección transversal (TD). No hubo cambios en propiedades mecánicas de LDPE nuevo (Fig. 10). Sin embargo, se determinó

degradación en algunas de las muestras LDPE usado, obteniéndose más del 50% en pérdida de propiedades mecánicas respecto a la elongación a rotura inicial (Fig. 11); en otras muestras de LDPE usado no se observó deterioro. Debido a esta variabilidad en el porcentaje de elongación antes de la rotura en LDPE usado, se observa que las barras de error estándar son grandes.

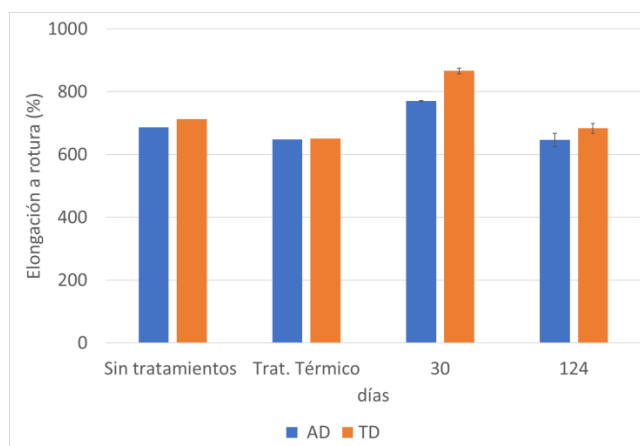


Fig. 10 Porcentaje de elongación antes de la ruptura de LDPE NUEVO en dirección de axial (AD) y dirección transversal (TD). Pruebas realizadas a muestras sin tratamientos; con tratamiento térmico durante 124 días (Trat. térmico); compostadas durante 30 días (30) y 124 días (124).

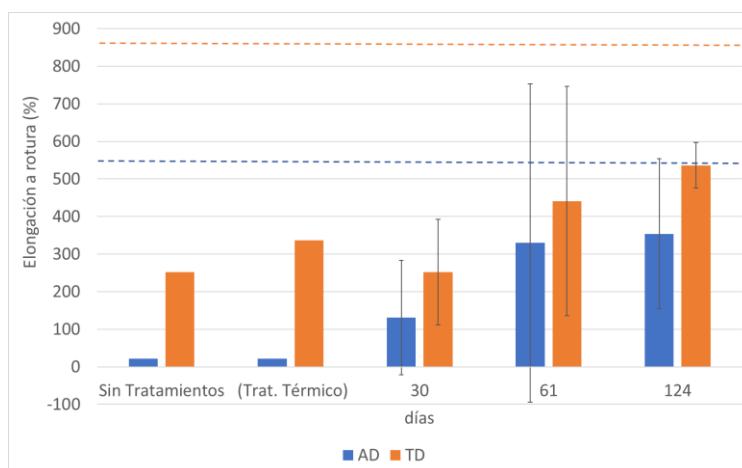


Fig. 11 Porcentaje de elongación antes de la ruptura de LDPE USADO en dirección de axial (AD) y dirección transversal (TD). Pruebas realizadas a muestras sin tratamientos 0; con tratamiento térmico durante 124 días (Trat. térmico); compostadas durante 30 días (30) y 124 días (124). Las líneas entrecortadas representan los valores de elongación a la rotura, obtenidos de la ficha técnica del material. La línea de color azul corresponde a dirección axial; línea azul a dirección transversal.

7.2.2 Microscopia electrónica de barrido (SEM)

El LDPE nuevo sin tratamientos presenta una morfología de superficie lisa a pesar de las impurezas observadas (Fig. 12; izquierda). El LDPE usado sin tratamiento de compostaje muestra deterioro en su morfología al observarse hoyos, ruptura de la superficie del plástico (Fig. 12; derecha). Así mismo, en la Fig. 13 se observan agujeros, grietas, rasgados y erosión en muestras de LDPE usado compostado durante 61 y 91 días. Se observa material orgánico adherido en la superficie de LDPE usado compostado por 4 meses (124 días) (Fig. 13; F).

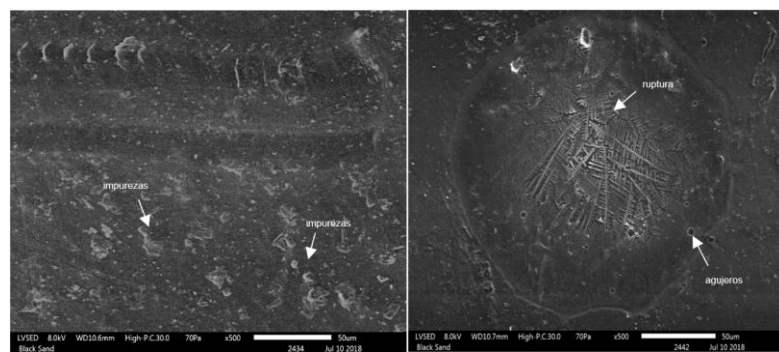


Fig. 12 Microscopia electrónica de barrido de LDPE nuevo sin tratamientos a 50 μm (izquierda) y LDPE usado por dos años para cubrimiento de invernadero, sin tratamientos a 50 μm (derecha).

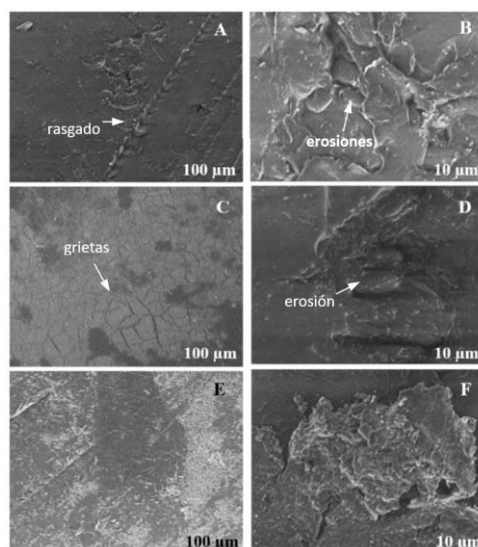

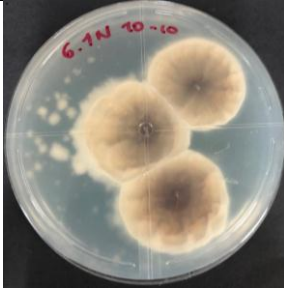




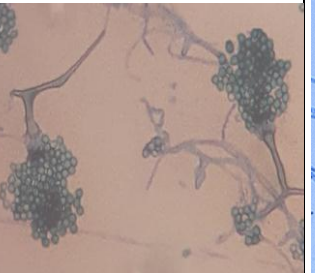

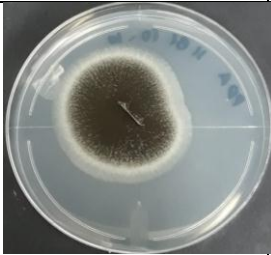


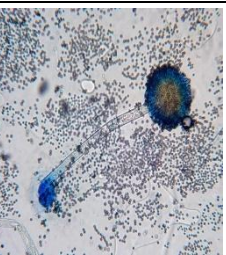


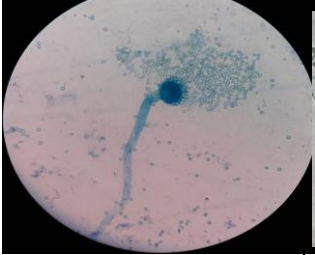
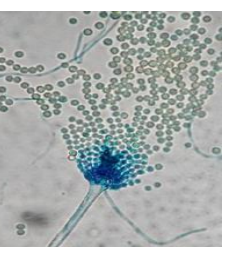


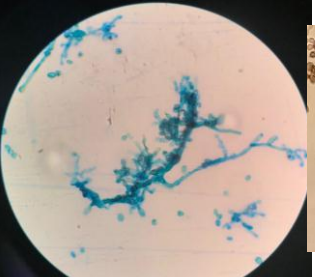


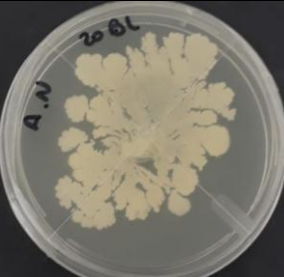
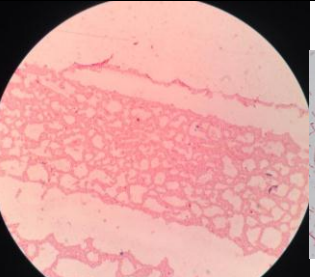



Fig. 13 Microscopía electrónica de barrido de LDPE usado compostado durante 61 (A y B), 91 (C y D) y 124 días (E y F)

7.2.3 Cultivos e identificación morfológica de microorganismos potenciales degradadores de LDPE

Luego de sembrar las muestras de LDPE nuevos y usados por dos años en PDA, Agar Nutriente y Sabouraud a 27°C, se identificó a nivel morfológico el crecimiento de *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Cladosporium* sp., y bacilos Gram negativos (Tabla 1).

Tabla 1 Cultivos de LDPE e identificación morfológica de microorganismos potenciales de biodegradación.

Género identificado	Cepas	Vista frontal	Vista posterior	Microscopia	Bibliografía
<i>Penicillium</i> sp.	1				
	2				
<i>Aspergillus</i> sp.	1				
	2				
<i>Cladosporium</i> sp.	1				
Bacterias Gram negativas	1				

DISCUSIÓN

8.1 Caracterización físico-química y biológica del compost.

8.1.1 Características físico-químicas

Las características fisicoquímicas del compost pueden ser analizadas conjuntamente en base a los parámetros previamente descritos. La temperatura es uno de los indicadores de la tasa de degradación de la materia orgánica y del tipo de biomasa microbiana (Ascázubi, 2011). En este estudio, la fase mesófila comenzó con $21,53 \pm 1,36$ °C, y a los 8 días de compostaje se registró la fase termófila, con una duración de 14 días, alcanzando una temperatura máxima de $56,50 \pm 1,55$ °C (Fig. 2), valores que difieren con estudios de composteo de residuos forestales (Sharma et al., 2017). El calor generado es el resultado de la actividad metabólica de compuestos lábiles y ricos en carbono (Eldor, 2007). La heterogeneidad en los valores individuales de temperatura en la pila de compost (Anexo 1) posiblemente fue por una aireación continua, factor que aceleró el proceso de enfriamiento; el mantenimiento de la temperatura depende principalmente de la cantidad de calor producida por la actividad metabólica de los microorganismos y la pérdida a través de aireación. Otros factores que influyen sobre la temperatura son: la composición de los residuos, diseño del sistema de compost, humedad (Trautmann et al., 1996; Pérez et al., 2011). Además se considera que la termocupla utilizada no fue lo suficientemente larga como para alcanzar la profundidad adecuada y obtener una medición más precisa.

Por otra parte, el pH es un indicador del proceso y maduración del compost. El valor inicial obtenido de pH de 5.3 (Fig. 2) concuerda con otros estudios relacionados, donde se menciona que el pH inicial del proceso de compostaje depende del material de partida (Ascázubi, 2011). En este estudio, el pH neutro se obtuvo después de 8 días,

debido a la formación de ácido carbónico, carbonatos, bicarbonatos, compuestos que tienden a neutralizar el pH del compost. Además de la liberación de amoníaco y amonio por la descomposición de proteínas (Sundberg, 2005).

La humedad es un factor fundamental en el proceso de compostaje ya que promueve la actividad y supervivencia microbiana. Está relacionada con la temperatura, la tasa de descomposición de la materia orgánica y el contenido de oxígeno presente (Díaz, 2002). La cantidad de agua presente en la pila de compost facilita el transporte de nutrientes y sustancias que serán utilizadas por los microorganismos (Mendoza, 2012). El contenido inicial de humedad obtenido durante el proceso de compost fue de 67,07% (Fig. 3), valor que se encuentra sobre el rango óptimo sugerido entre 40% y 60% (Román y Martínez, 2013). A diferencia de Mendoza (2012) que menciona que entre 40% y 70% de humedad son rangos tolerables. Adicionalmente, se obtuvieron valores de humedad dentro del rango recomendado, exceptuando por el contenido final de humedad registrado igual a 16,21%, valor que indica baja actividad metabólica y maduración del compost (Román y Martínez, 2013).

Los cambios en el contenido de carbono indican la mineralización de la materia orgánica y el proceso de maduración del compost (Yadav et al., 2013). La descomposición de la materia orgánica presente se lleva a cabo en el inicio de la fase termofílica del compostaje; su contenido final dependerá del tipo de material de partida, así como de su tasa de descomposición y transformación (Navarrón, 2016). En este estudio, la reducción en el contenido de materia orgánica y de carbono orgánico total no fue significativo (Fig. 3) probablemente, al igual que en otros estudios, debido a que no se agregaron inóculos como gallinaza o estiércol de vaca, y el aumento de temperaturas al inicio del proceso de la fase termofílica fue limitado (Sharma, et al., 2017; Navarrón,

2016). Por otra parte la tasa del proceso de compostaje es inversamente proporcional a la cantidad de celulosa presente en el compost (Shouche, Pandey y Bathi, 2011).

La relación C/N es otro factor que se relaciona con la madurez y estabilidad del compost. Esta relación debe disminuir durante el composteo (Yadav et al., 2013). En esta investigación, la relación C/N inicial fue de 42; valor que no concuerda con otros estudios similares, donde se reportan valores iniciales de 25 a 30. Sin embargo, cabe mencionar que esto pudo deberse al material de partida que fueron exclusivamente diferentes tipos de rosas, incluyendo tallos. La baja tasa de degradación de la materia orgánica también hace que incremente la relación C/N (Yadav, 2013; Sharma et al., 2017). Por otra parte, se observó un aumento en el contenido de nitrógeno durante el composteo de 1,17% a 2,93% debido a la mineralización de la materia orgánica (Sharma y Yadav 2017).

8.1.2 Recuento de bacterias y hongos en el compost

Las condiciones ambientales del compost influyen sobre la comunidad microbiana del compost. Sin embargo, esta comunidad cumple un rol fundamental en el compostaje al promover la descomposición de la materia orgánica (Bathia et al., 2015). De acuerdo con la literatura, el rango de unidades formadoras de colonias bacterianas en el compost varía entre 10^7 a 10^9 UFC/g (Bathia et al., 2015). En este estudio, la población bacteriana presente en el compostaje de flores fue de 10^7 a 10^{10} en 14 días de compostaje. Luego de la fase termófila el número se redujo a un rango de 10^8 a 10^7 UFC/g de compost, manteniéndose en este valor; resultados similares se obtuvieron en el estudio de Hassen, et al., 2002. Por otra parte, en este estudio no se encontraron hongos termófilos, sin embargo la población de hongos mesófilos se mantuvo durante todo el proceso de compostaje en un rango de 10^6 a 10^8 UFC/g de compost. Estos resultados a pesar de que difieren con la literatura se pueden justificar debido a que en

este caso se trabajó exclusivamente con residuos florícolas, que incluyen distintas variedades de rosas, tallos, hojas lo cual puede influir en la comunidad microbiana. No existen estudios suficientes sobre la comunidad presente en este tipo de compostaje.

8.2 Evaluación de biodegradabilidad de polietileno de baja densidad.

8.2.1 Pérdida de peso

Uno de los métodos más sencillos para determinar degradabilidad en los polímeros como LDPE es cuantificar la diferencia en pérdida de peso. Pues en caso de registrar variación se puede inferir que los microorganismos utilizan el polímero sintético como fuente de energía causando un cambio en la integridad del material y pérdida de peso (Shah et al., 2008).

Para el LDPE usado se obtuvo 1,92% en pérdida de peso durante 91 días de exposición al compostaje. Cabe mencionar que solamente una muestra de las 3 correspondientes a este mes, presentó un porcentaje en pérdida de peso de 5,46% y las otras dos presentaron 0,042% y 0,259% . A los 124 días se registró un porcentaje promedio de 0,028% entre las muestras. Por otro lado, los valores negativos (Anexo 3) significan que las muestras ganaron peso, esto puede explicarse por las siguientes razones: los microorganismos se adhirieron y se acumularon formando biofilm en el plástico, o hubieron problemas con la limpieza de las muestras (Das, M. y Kumar, S., 2015) quedando residuos e impurezas adheridos al plástico. Por tanto, este método no es una evidencia directa de degradación y se requieren más análisis (Shah et al., 2008).

8.2.2 Análisis FTIR

El análisis de la estructura química del LDPE es importante para identificar cambios estructurales que pueden darse como resultado de la degradación del plástico (Gajendiran, A. et al., 2016). Para las muestras nuevas compostadas durante 30 días se

observó una reducción de los picos en 864 cm^{-1} y 1548 cm^{-1} . En el estudio de Awasthi et al. (2017) se reportó la reducción de picos a 1472 y 719 cm^{-1} después de haber sometido muestras a tratamiento con hongos. Mientras que en el estudio de Cristofoli et al. (2012), se reportó la reducción de un pico a 1534 cm^{-1} correspondiente a grupos aminos de los aditivos estabilizadores de luz de amina luego de exponerse a radiación UV. Adicionalmente debe considerarse la interacción de los agroquímicos en las plantaciones de flores sobre los aditivos colocados, ya que por lo general estos compuestos reducen el tiempo de vida del material acelerando el proceso de degradación debido a que contienen compuestos como halógenos y sulfuros (Dilara y Briassoulis, 2000).

La formación de un nuevo pico a 1615 cm^{-1} (correspondiente a enlaces -C=C-) para la muestra de LDPE nueva sometida a tratamiento térmico y para las muestras nuevas compostadas por 61 días, se atribuye a la oxidación del polietileno debido a procesos térmicos y de biodegradación (Shah et al., 2008).

La formación del pico a 1735 cm^{-1} en el LDPE usado por dos años para cubrimientos de invernadero, corresponden a vibraciones de enlaces C=O que pueden ser de grupos ésteres o carbonilos, estos se forman por la radiación UV e indican degradación (Zahra et al., 2010; Hamzah et al., 2018). La formación de picos a 3000 y 3500 observadas para la muestra de LDPE usado y compostado por 91 días corresponden a vibraciones de grupos OH de alcoholes, que se pudieron haber formado por procesos de la radiación solar o procesos de biodegradación del plástico (Adelhafidi et al., 2015).

A pesar de que no se observó cambio alguno en los picos principales del LDPE tanto nuevo como usado después de ser compostados o expuestos a tratamiento térmico (temperatura similar a la del compost), la formación y reducción de picos mencionados anteriormente pueden indicar cambios estructurales de los aditivos colocados al

polímero, por ejemplo estabilizadores de luz de amina (1548 cm^{-1}). Esto se puede corroborar con las muestras usadas y compostadas, ya que a excepción de una muestra, no se observaron cambios en los espectros FTIR; indicando entonces la protección que ofrecen los aditivos al polietileno; la estabilidad y durabilidad del plástico.

8.2.3 Propiedades mecánicas

En el presente estudio se midió el porcentaje de elongación antes de la ruptura como el indicador de degradación, ya que no todas las propiedades se ven afectadas de la misma manera. Es el indicador más apropiado para determinar degradación ya que el material deteriorado se vuelve más quebradizo, y por tanto no puede mantener su elongación plástica inicial antes de romperse (Dilara y Briassoulis, 2000). Algunas muestras de LDPE usado por dos años para cubiertas de invernadero presentan degradación ya que han perdido más del 50% de las propiedades mecánicas iniciales (Anexo 6). Este deterioro se atribuye a factores medioambientales como el viento, variaciones de temperatura, y exposición a largos períodos de radiación solar (Kyrikou y Briassoulis, 2007). La fotooxidación térmica resultado de la radiación solar y cambios de temperatura producen grupos carbonilo, los mismos que desencadenan reacciones de degradación de los plásticos (Das y Kumar, 2015). En aquellas muestras utilizadas para cubrimiento de invernaderos que no se observó deterioro en base a sus propiedades mecánicas puede explicarse debido a la posición en la que estas estuvieron colocadas en la cubierta antes de ser desmontadas, por lo que probablemente las muestras escogidas corresponden a los laterales de las cubiertas donde los factores medioambientales no afectan tanto a sus propiedades mecánicas (ver tabla 5).

Por otra parte, en base a los resultados obtenidos de FTIR presentados en el punto anterior donde se determinó la estabilidad del LDPE ya que no se observaron cambios en los picos principales del LDPE, y a los resultados de las propiedades

mecánicas de los plásticos utilizados; se puede determinar que la pérdida de propiedades físicas, mecánicas y químicas del LDPE usado se debe a las radiaciones ultravioletas de la luz solar causando foto degradación del polímero, este fenómeno afecta a las propiedades anteriormente mencionadas ya que forma radicales libres en la superficie del polímero que tienen la capacidad de atacar las estructuras poliméricas. La foto degradación se produce también por la ruptura de los enlaces químicos, como, C-C, O-O, H-O en los polímeros debido a que la energía de la luz UV es mayor a la fuerza de estos enlaces (Nikafshar et al., 2017). Las variaciones de temperaturas del invernadero, humedad, vientos, anclajes de la estructura que sostiene los plásticos en el invernadero y la manera en que se lo instaló, son factores que pueden acelerar e intensificar el deterioro y la foto degradación (Nikafshar et al., 2017; Dehbi et al., 2018).

Adicionalmente, las películas de LDPE para cubiertas de invernadero tienen un tiempo de vida útil, ya que después de uno o dos años de uso dejan de brindar las propiedades necesarias para los cultivos. Por lo general, al cabo de este período el grado de protección de las películas disminuye por la migración de los aditivos, como son los estabilizadores de luz de amina. Este fenómeno es causado por su interacción con factores ambientales como agroquímicos, exposición prolongada a variaciones de temperatura, humedad, entre otras condiciones (Murphy, 2001).

8.2.4 Microscopia electrónica de barrido

La microscopia electrónica de barrido es una técnica que permite determinar cambios en la morfología de superficie del material (Das y Kumar, 2015). En el presente estudio, se determinaron cambios morfológicos en el LDPE usado por dos años como ruptura de la superficie, formación de agujeros y grietas (Fig. 13) que indican el deterioro del plástico (Corcoran et al., 2009; Kumar Sen y Raut, 2015). Estos cambios se deben a la exposición del material a radiación solar, variaciones de temperaturas, y

otros factores ambientales que afectan la estructura y propiedades del plástico. En el estudio de (Nikafshar et al., 2017) se estableció que la exposición a radiación UV causa el cubrimiento de la superficie del polímero con pequeñas grietas, tal como se observa en la Fig. 13, c. obtenida en esta investigación.

No se observaron cambios morfológicos ni adherencias microbianas para el LDPE nuevo compostado. La hidrofobicidad del polietileno es un factor que dificulta la colonización y formación de biofilm (Gilan, Hadar y Sivan, A., 2004). Sin embargo, factores ambientales como la radiación solar y variaciones de temperatura, aceleran el deterioro del polímero y, por tanto facilitan la adhesión y ataque de los microorganismos (Arutchelvi et al., 2008). En la Fig. 13, C., correspondiente a LDPE usado y compostado durante 124 días, se observa la posible formación de biofilm. Sin embargo, esta es una conjetura, y, probablemente muy apresurada. Es importante considerar que puede tratarse de material residual adherido a la muestra.

8.2.5 Cultivos e identificación morfológica de microorganismos potenciales degradadores de LDPE

Los microorganismos encontrados luego de cultivar los plásticos en los distintos medios de cultivo corresponden en a *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Cladosporium* sp. (Tabla 1) y bacterias gram negativas. Estudios anteriores reportan la biodegradación de LDPE por hongos de los géneros mencionados, entre las especies: *Aspergillus niger*, *A. fumigatus*, *A. oryzae*, *A. nidulans*, *A. clavatus*, *A. japonicus*, *Penicillium simplicissimum*, *P. pinoohilum*, *P. chrysogenum*, *Cladosporium cladosporioides* (Gajendiran et al., 2016; Ndahebwa et al., 2018; Ojha et al, 2017; Kumar Sen. S., Raut, S., 2015). Sin embargo, se requieren de análisis moleculares para determinar la especie de los microorganismos obtenidos en este estudio. Adicionalmente para comprobar biodegradación por los microorganismos identificados se necesitan más estudios, ya que

la formación de biofilm en la superficie no es un parámetro que indique biodegradación a nivel de metabolismo, pero puede ser el primer indicio de ataque microbiano al polímero (Shah, et al., 2008).

CONCLUSIONES

Los análisis físico-químicos realizados en este estudio mostraron que las características del compostaje se encontraban dentro del rango establecido. Sin embargo, se reportaron ciertos factores externos que afectaron las condiciones del compostaje. La población microbiana presente en el compostaje durante los primeros 14 días se compuso por bacterias en un rango de 10^7 a 10^{10} (UFC/g compost), posteriormente se redujo a 10^7 a 10^8 (UFC/g compost). Mientras que la población de hongos se mantuvo durante todo el proceso de compostaje en un rango de 10^6 a 10^8 (UFC/g de compost).

Después de haber sometido las muestras LDPE nuevo y usado a compostaje durante 124 días se observaron pequeños cambios en pérdida de peso, pero no fueron significativos; en los análisis de FTIR se determinó la formación y reducción de picos que podrían indicar cambios estructurales en los aditivos presentes en las películas de polietileno. En cuanto a las propiedades mecánicas realizadas a las muestras, se determinó deterioro en LDPE usado por dos años para cubiertas de invernadero debido a la pérdida de porcentaje de elongación antes de la ruptura en más del 50% respecto a las propiedades iniciales. Mediante análisis de SEM se determinó formación de grietas,

agujeros, erosiones y ruptura de la superficie en el LDPE usado que indican deterioro del polímero.

Se realizó identificación morfológica de microorganismos potenciales degradadores de LDPE, mediante el cultivo de muestras. Se identificaron los siguientes: *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Cladosporium* sp. y bacterias gram negativas.

RECOMENDACIONES

Se recomienda añadir inóculos al compost como gallinaza, estiércol de vaca, y microorganismos termófilos y degradadores de lignina y celulosa para mejorar las condiciones del compostaje y aumentar la tasa de degradación de la materia orgánica por acción de los microorganismos.

Se requiere de estudios sobre la ecotoxicidad de los plásticos con aditivos para invernadero sobre el compostaje.

En un siguiente estudio se recomienda realizar estudios de biodegradación de LDPE con los microorganismos identificados en este estudio. Y realizar identificación molecular de los microorganismos descritos a nivel de morfología.

En términos de la gestión de los residuos plásticos de invernadero, es necesario el cumplimiento de la regulación de los plásticos desechados luego de su vida útil. Y más allá de su gestión, es fundamental buscar alternativas de economía circular a los plásticos de invernadero que son desechados anualmente, debido a que la incorporación de los plásticos a las pilas de compost no es una solución viable de tratamiento.

REFERENCIAS

- Adelhafidi, A., Babaghayou, S. y Chabiraa, M. (2015). Impact of Solar Radiation Effects on the Physicochemical Properties of Polyethylene (PE) Plastic Film. *Procedia - Social and Behavioral Sciences*, 2210 – 2217.
- Alvarez, J. (2009). La calidad microbiológica del suelo y del compost del parque Itchimbía en su proceso de recuperación. Tesis de Pregrado Facultad de Ingeniería en Biotecnología. ESPE.
- Arutchelvi, J., Sudhakar, M., Arkatkar, M. et al. (2008). Biodegradation of polyethylene and polypropylene. *Indian Journal of Biotechnology*, 9-22.
- Ascázubi, E. (2011). Evaluacion de seis combinaciones de compost de material vegetal de rosas enriquecido con machachi utilizando como planta indicadora la remolacha. Escuela Politecnica del Ejercito. Tesis de Pregrado.
- Bathia, A., Rajpal, A., Madan, S. et al. (2015). Techniques to analyze microbial diversity during composting-A mini review. *Indian Journal of Biotechnology*, 19-25.
- Capelo, C. (2013). Diseño de unnn plan de marketing para la empresa Agroplantas Cia Ltda. dedicada a la venta de flores y plantas, ubicada en la parroquia Pifo, provincia de Pichincha. Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito. Tesis de pregrado.
- Cazar, M. (2010). Evaluación del grado de deterioro y nivel de contaminación de los residuos plásticos de cubiertas de invernaderos provenientes de las florícolas del Distrito Metropolitano de Quito. Centro de Investigaciones Aplicadas a Polímeros. Escuela Politécnica Nacional.
- Corcoran, P., Biesinger, M. y Grifi, M. (2009). Plastics and beaches: A degrading relationship. *Marine Pollution Bulletin*, 50, 80-84.
doi:10.1016/j.marpolbul.2008.08.022
- Cristofoli, K., Brandalise, R. y Zeni, M. (2012). Photostabilized LDPE Films with UV Absorber and HALS as Protection against the Light for Rosé Sparkling Wine. *Food Processing & Technology*. doi:doi:10.4172/2157-7110.1000166
- Cuervo, J. et al. (2014). *Guía Técnica para el aprovechamiento de residuos orgánicos a través de metodología de compostaje y lombricultura*. Bogotá, Colombia: Unidad Administrativa Especial de Servicios Públicos (UAESP) y Grupo de Investigación Sistemas Integrados de Producción Agrícola y Forestal (SIPAF) de la Universidad Nacional de Colombia.

- Das, M. y Kumar, S. (2015). An approach to low-density polyethylene biodegradation. *3 Biotech*. doi:10.1007/s13205-014-0205-1
- Dehbi, A., Youssef, B., Picuno, P., Statuto, D. (2018). Physical and gas permeation properties of five-layer polyethylene film used as greenhouse roof. *Journal of Agricultural Engineering*. doi:10.4081/jae.2018.797
- Díaz, E. (2002). Lombricultura una alternativa de producción. España.
- Dilara, P. y Briassoulis, D. (2000). Degradation and Stabilization of Low-density Polyethylene Films used as. *J. agric. Engng. Res*, 76, 309-321. doi:10.1006/jaer.1999.0513
- Dilara, P. y Briassoulis, D. (2000). Degradation and Stabilization of Low-density Polyethylene Films used as Greenhouse Covering Materials. *J. agric. Engng Res.*, 76, 10.1006/jaer.1999.0513.
- Eldor, P. (2007). Soil Microbiology. *Ecology and Biochemistry*. Elsevier.
- Gajendiran, A. et al. (2016). Microbial degradation of low-density polyethylene (LDPE) by *Aspergillus clavatus* strain JASK1 isolated from landfill soil. *Biotech. Springer*.
- Gebeyehu, R. y Kibret, M. (2013). Microbiological and Physico-chemical Analysis of Compost and its Effect on the Yield of Kale (*Brassica oleracea*) in Bahir Dar, Ethiopia. *Ethiop. J. Sci. & Technol*, 93-102.
- Gerwert, K. y Kötting, C. (2010). Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy. *eLS. John Wiley & Sons Ltd, Chichester*. doi:10.1002/9780470015902.a0003112.pub2
- Geyer, R. et al. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances*. doi:10.1126 / sciadv.1700782
- Gilan, I., Hadar, Y. y Sivan, A. (2004). Colonization, biofilm formation and biodegradation. *Appl Microbiol Biotechnol*, 97–104. doi:10.1007/s00253-004-1584-8
- Greene, J. (2018). Biodegradation of Biodegradable and Compostable Plastics under Industrial Compost, Marine and Anaerobic Digestion. *Ecology, Pollution and Environmental Science*.
- Hassen, A., Belguith, K., Jedidi, N. et al. (2002). Microbial characterization during composting of municipal solid waste. *Proceedings of International Symposium on Environmental Pollution Control and Waste Management*, 357-368.
- Huang, T., y Almeida, D. (2015). Estudio comparativo de la compostabilidad de fundas plásticas de PEBD, oxobioodegradables y de papel distribuidas en el Distrito Metropolitano de Quito. *Avances en Cienciass e Ingeniería*, 7(1), C20-C30.
- Iglesias, E. (2014). Unidad Temática 4: Métodos y parámetros para evaluar la madurez del compost. En *Aspectos físico-químicos, bioquímicos y microbiológicos del*

proceso de compostaje. Evaluación de la calidad. Universitat Miguel Hernández.

- Iglesias, E. y Pérez, V. . (1992). Relationships between Organic Carbon and Total Organic Matter in Municipal Solid Wastes and City Refuse Composts. *Bioresource Technology*, 265-272.
- Kale, S., Deshmukh, A., Dudhare, M. et al. (2015). Microbial degradation of plastic: a review. *J Biochem Tech.*
- Kasirajan, S. y Ngouajio, M. (2012). Polyethylene and biodegradable mulches for agricultural applications: a review. *Agron. Sustain. Dev.* .
- Kumar Sen. S., Raut, S. (2015). Microbial degradation of low density polyethylene (LDPE): A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering.* , 462–473. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jece.2015.01.003>
- Kyrikou, I. y Briassoulis, D. (2007). Biodegradation of Agricultural Plastic Films: A critical review. *J Polym Environm.*
- Magda, N. (2008). Estudio y caracterización de la degradación hidrolítica y en compostaje de PET virgen y reciclado. Universidad Simón Bolívar. Tesis de Pregrado.
- Mahalakshmi, V., Siddiq, A., Andrew, S.N. . (2012). Analysis of Polyethylene Degrading Potentials of Microorganisms Isolated From Compost Soil. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*, 1190-1196.
- Mendoza, M. (2012). Propuesta de compostaje de los residuos vegetales generados en la Universidad de Piura. Tesis de pregrado en Ingeniería Industrial y de Sistemas. Universidad de Piura. Facultad de Ingeniería. Programa Académico de Ingeniería. Industrial y de Sistemas. .
- Mohee, R., y Unmar, G. (2007). Determining biodegradability of plastic materials under controlled and natural composting environments. *Waste Management*, 1486-1493.
- Murphy, J. (2001). *Additives for plastics handbook*. Elsevier Science.
- Navarrón, L. (2016). Compostaje de tronco de palmera con lodos de depuración de aguas residuales urbanas . Universidad Miguel Hernández de Elche. Tesis de pregrado.
- Ndahebwa, C., Makonde, H., Magoma, G. et al. (2018). Biodegradability of polyethylene by bacteria and fungi from Dandora dumpsite Nairobi Kenya. *PLoS ONE*. doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198446>
- Nikafshar, S., Zabihi, O., Ahmadi, M. et al. (2017). The Effects of UV Light on the Chemical and Mechanical Properties of a Transparent Epoxy-Diamine System in the Presence of an Organic UV Absorber. *Materials*, 10, 180. doi:[doi:10.3390/ma10020180](https://doi.org/10.3390/ma10020180)

- Ojha, N., Pradhan, N., Singh, S. et al. (2017). Evaluation of HDPE and LDPE degradation by fungus, implemented by statistical optimization. *Sci. Rep.* doi:10.1038/srep39515
- Peacock, A. (2000). Introduction: The essence of Polyethylene. En *Handbook of Polyethylene: Structures, Properties and Applications*. New York: Marcel Dekker. Obtenido de https://books.google.com.ec/books?id=OPuWyxwJwJwC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- Pérez, M., Sánchez, R., Palma, D., et al. (2011). Caracterización química del compostaje de residuos de caña de azúcar en el sureste de México. *Interciencia*, 35(1), 45-52.
- Pinzón, D. y Clodoaldo, S. (2017). Low-density polyethylene waste/recycled wood composites. *Composite Structures*, 1152–1157.
- Ratner, B. (2013). Chapter I.1.5 - Surface Properties and Surface Characterization of Biomaterials. En *Biomaterials Science*. Academic Press. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-087780-8.00005-X>
- Román, P. y Martínez, M. (2013). Manual de compostaje del agricultor. *Experiencias en América Latina*.
- Shah, A., Hasan, F., Hameed, A. et al. (2008). Biological degradation of plastics: A comprehensive review. *Biotechnology Advances*, 26.
- Sharma, D. y Yadav, K. (2017). Bioconversion of flowers waste: Composting using dry leaves as bulking agent. *Environmental Engineering Research*. doi:<https://doi.org/10.4491/eer.2016.126>
- Sharma, D., Varma, S., Yadav, K., et al. (2017). Evolution of chemical and biological characterization during agitated pile composting of flower waste. *Int J Recycl Org Waste Agricult*, 89–98. doi:10.1007/s40093-017-0155-9
- Shouche, S., Pandey, A. y Bathi, P. . (2011). Study about the changes in physical parameters during vermicomposting of floral wastes . *Journal of Environmental Research and Development*.
- Soliva, M., Condes, L. y Induráin, M. (2002). Análisis de muestras de compost. Escola Superior d'Agricultura de Barcelona.
- Sundberg, C. (2005). Improving compost process efficiency by controlling aeration, temperatura and pH. Doctoral thesis. Swedish of University of Agricultural Sciences.
- Terán, A. (2017). Estudio de la biodegradabilidad aeróbica de polietileno mediante compostaje con aditivos degradables. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Tesis de Pregrado.
- Trautmann, N., Richard, T. y Krasny, M. . (1996). *Cornell Waste Management Institute*. Obtenido de Cornell University: <http://compost.css.cornell.edu/credits.html>

- Vaverková, M., et al. (2012). Study of the biodegradability of degradable plastic material in a controlled composting environment. *Ecological Chemistry and Engineering*, 19(3).
- Veletanga, F. (2017). Estudio de la Huella Ecológica de Plástico PET (Tereftalato de polietileno) del barrio Nueva Aurora en la Parroquia de Guamaní en el Distrito Metropolitano de Quito. Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Biológicas. [Tesis de Pregrado].
- Yadav, A., Gupta, R. y Garg, V. (2013). Organic manure production from cow dung and biogas plant slurry by vermicomposting under field conditions. *Int J Recycl Org Waste Agric*.
- Yepes, L. (2014). Degradación de Polietileno de Baja Densidad utilizando hongos. Revisión de Literatura. *Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá, Colombia*.
- Zahra, S., Seyed, S., Mahsa, M. et al. (2010). Biodegradation of low-density polyethylene (LDPE) by isolated fungi in solid waste medium. *Waste Management .Elsevier*.

ANEXOS

Anexo 1 Medición de temperatura en pila de compost durante 124 días.

Días	T1 [°C]	T2 [°C]	T3 [°C]	T4 [°C]	Promedio T[°C]	Desv. Est
1	21,5	20,2	23,4	21	21,53	1,36
8	62,1	44	55,2	55,3	54,15	7,50
9	61,8	57,5	52,1	50,7	55,53	5,11
12	57,9	56,7	57,1	54,3	56,50	1,55
13	56,3	53,8	47	55	53,03	4,14
14	57,2	55,8	53,4	54,6	55,25	1,63
16	50,9	49,3	54,3	55,9	52,60	3,03
22	47,1	48,4	50,4	46,6	48,13	1,70
30	27	42,2	40,4	28,9	34,63	7,78
61	17,6	21	21,8	17,8	19,55	2,16
91	27,1	22,3	21,7	25,8	24,23	2,63
124	19,8	19,8	19,9	19,4	19,73	0,22

Anexo 2 Porcentaje de pérdida de peso de LDPE nuevo compostado. Muestras retiradas cada 30 días

Días	Código de la muestra	Peso LDPE nuevo antes de compostar	Peso LDPE nuevo después de compostar	Pérdida Peso (%)	Pérdida Peso (%) LDPE nuevo	DE
30	9	4,88164	4,84715	0,707	0,639	0,101
	14	5,02906	5,00274	0,523		
	16	5,15118	5,1158	0,687		
61	1	5,12117	5,08422	0,722	0,559	0,170
	3	5,19478	5,17488	0,383		
	17	5,00275	4,97411	0,572		
91	8	5,09221	5,06253	0,583	0,585	0,078
	18	5,0054	4,97212	0,665		
	20	5,12882	5,10275	0,508		
124	5	4,97425	4,96842	0,117	0,412	0,266
	12	5,02652	4,99463	0,634		
	24	4,95225	4,92833	0,483		

Anexo 3 Porcentaje de pérdida de peso de LDPE usado compostado. Muestras retiradas cada 30 días

Días	Código de la muestra	Peso LDPE usado antes de compostar	Peso LDPE usado después de compostar	Pérdida Peso (%)	Pérdida Peso (%) LDPE usado	DE
30	5	6,02228	6,00597	0,271	-1,047	2,075
	15	5,82747	6,02789	-3,439		
	18	6,06248	6,06085	0,027		
61	3	6,12983	6,12758	0,037	0,112	0,331
	4	6,03083	6,04141	-0,175		
	20	5,83719	5,80951	0,474		
91	2	6,08378	6,08125	0,042	1,922	3,071
	13	6,19756	5,85879	5,466		
	24	5,5685	5,5541	0,259		
124	6	5,7977	5,79157	0,106	0,098	0,020
	21	6,08711	6,0803	0,112		
	23	5,68305	5,67879	0,075		

Anexo 4 Propiedades mecánicas de LDPE nuevo sin tratamientos, nuevo sometido a tratamiento térmico; LDPE usado por dos años sin tratamientos y usado con tratamiento térmico. Se midió el % Elongación antes de la ruptura para dirección axial (AD) y dirección transversal (TD).

Muestra LDPE	AD Elongación (%)	TD Elongación (%)
Nuevo sin tratamientos	687	713
Nuevo tratamiento térmico	648	651
Usado sin tratamientos	22	252
Usado tratamiento térmico	22	336

Anexo 5 Propiedades mecánicas de muestras de LDPE nuevo sin tratamientos, con tratamiento térmico, compostado durante 30 y 124 días. Se midió el porcentaje de elongación antes de la ruptura para dirección axial (AD) y dirección transversal (TD).

Muestra LDPE Nuevo	Elongación (%) (AD)	Elongación (%) (TD)
Sin tratamientos	687	713
Trat. térmico	648	886
30 días	771	860
30 días	768	872
Promedio	770	866
Desv. Est	2,12	8,49
124 días	661	671
124 días	631	694
Promedio	646	683
Desv. Est	21,21	16,26

Anexo 6 Propiedades mecánicas de muestras de LDPE usado compostado durante 30; 61 y 124 días. Se midió el porcentaje de elongación antes de la ruptura para dirección de axial (AD) y dirección transversal (TD).

Muestra LDPE usado	Elongación (%) (AD)	Elongación (%) (TD)
Prop. Iniciales	540	873
Sin tratamientos	22	252
Trat. térmico	22	336
30 días	23	152
30 días	239	351
Promedio	131	252
Desv. Est	152,74	140,71
61 días	30	225
61 días	629	657
Promedio	330	441
Desv. Est	423,56	305,47
124 días	495	579
124 días	212	493
Promedio	354	536
Desv. Est	200,11	60,81