

ESTUDIO DE LA CAPACIDAD DEGRADATIVA SOBRE POLIPROPILENO BIORIENTADO (BOPP) DE MICROORGANISMOS NATIVOS DE SUELO DE DEPÓSITOS DE RESIDUOS URBANOS

Juan Battagliotti

Cátedra de Microbiología General. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. UNL. Santa Fe, Argentina.

Área: Ciencias Biológicas, Sub-área: Biotecnología.

INTRODUCCIÓN

El polipropileno biorientado (BOPP) es una de las poliolefinas más importantes en el mercado de los plásticos a nivel mundial. Por su bajo costo de fabricación y su alta versatilidad, se lo utiliza en una amplia gama de productos, principalmente para embalaje o como sistema de empaque (Longo y col., 2011). Sin embargo, debido a su alta demanda de consumo y a su baja tasa de degradabilidad, son responsables de gran parte de los residuos que se acumulan en la naturaleza, generando un desequilibrio ecológico con la consecuente contaminación ambiental. Si bien en la actualidad existen diferentes prácticas que intentan dar solución a este problema, ninguna de ellas representa una alternativa atractiva. La incineración de los residuos plásticos origina una nueva fuente de contaminación del ambiente debido a la generación de gases tóxicos. El reciclaje aún presenta limitaciones técnicas y culturales que impiden su adecuada aplicación. Por su parte, el tratamiento por disposición en rellenos sanitarios demanda grandes extensiones de tierras destinadas para este fin. En este contexto, la biodegradación microbiana surge como una posible vía de minimización de estos residuos plásticos, ya que representa una alternativa eficiente, poco invasiva y amigable con el medio ambiente. En este proceso, diferentes enzimas de los microorganismos descomponen los polímeros complejos en moléculas más simples de cadenas cortas (oligómeros, dímeros y monómeros), los cuales son lo suficientemente pequeños para atravesar las membranas semi-permeables microbianas para ser utilizados luego como fuentes de carbono y energía. Esta solución contribuiría a reducir el volumen total de residuos sólidos dispuestos, lo que permitiría aumentar la vida útil de los rellenos sanitarios donde se disponen los mismos.

OBJETIVOS

- Aislar microorganismos a partir muestras de suelo y de envases de BOPP recolectados de depósitos de residuos urbanos.
- Desarrollar un método de *screening* para el estudio del potencial degradativo de los microorganismos aislados frente al BOPP.
- Identificar los microorganismos que presenten potencial degradativo frente al BOPP.
- Determinar el nivel de degradación del material por acción de los microorganismos seleccionados a través de un método cuantitativo.
- Analizar mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR), los cambios estructurales y moleculares sufridos por el material tras la exposición con los microorganismos.

METODOLOGÍA

Para el aislamiento de los microorganismos se llevaron a cabo muestreos en el Relleno Sanitario de la Ciudad de Santa Fe. Se recolectaron muestras de suelo y de envases de BOPP con suelo a diferentes profundidades. Las muestras se cultivaron en medio líquido mínimo de sales con BOPP como única fuente de carbono y se incubaron a 30°C durante 7 días. Luego, una alícuota de cada uno de estos cultivos se depositó sobre placas de Petri conteniendo Agar Nutritivo y se incubaron 48 h a 30°C. Una vez desarrollados los microorganismos, se procedió a subcultivarlos a fin de obtener colonias puras (Cacciari y col., 1993). Cada aislamiento se identificó con una letra y un número correlativo.

Con el objeto de evaluar la capacidad degradativa de los aislamientos, se los sembró sobre placas de Petri conteniendo agar suplementado con 1 ml de una emulsión de hexadecano y se incubaron 7 días a 30°C (Yoon y col., 2012). Se seleccionaron aquellos que presentaron mayor halo de degradación en el medio de cultivo.

La identificación de los microorganismos seleccionados se llevó a cabo según criterios morfológicos y fisiológicos. Se analizaron características morfológicas macro y microscópicas, junto con pruebas bioquímicas realizadas por métodos manuales, semiautomatizados (API®, bioMérieux) y automatizados (VITEK® 2 Compact, bioMérieux).

Los microorganismos que mostraron mayor capacidad degradativa se utilizaron para el desarrollo del ensayo cuantitativo. Láminas de BOPP previamente desinfectadas y pesadas se colocaron en Erlenmeyers conteniendo cultivos de cada uno de ellos en medio mínimo de sales y se incubaron durante 30, 90 y 120 días a 30°C. Cada tratamiento se realizó por duplicado. Como control negativo, se colocaron tiras de BOPP pesadas y desinfectadas en frascos conteniendo el medio mínimo de sales sin microorganismos. Concluido cada período de incubación, las láminas de BOPP se lavaron con una solución acuosa de SDS al 2% durante cuatro horas para eliminar el biofilm bacteriano, se enjuagaron con agua destilada estéril y se secaron en estufa a 60 °C hasta pesada constante. Posteriormente se calculó la diferencia de peso, siendo el peso inicial de las tiras el correspondiente al tiempo cero. (Shah y col., 2008).

El porcentaje de pérdida de peso se calculó según la siguiente fórmula:

$$Pp(\%) = \left(\frac{PI-PF}{PI}\right) \times 100 \quad (1)$$

Siendo, PI el peso inicial de las bandas a tiempo cero y PF el peso final luego de cada periodo de incubación.

Finalmente, se analizaron los cambios estructurales y moleculares de los materiales tratados con los microorganismos seleccionados. Mediante FTIR (Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier) se evaluó la formación o desaparición de grupos funcionales en el polímero durante el proceso de degradación. Se monitorearon varios aspectos: la región del grupo carbonilo presente entre 1700 y 1800 cm^{-1} ; los cambios en la intensidad de la absorbancia relativa del grupo éster (correspondiente a 1748 cm^{-1}), el grupo cetona (correspondiente a 1715 cm^{-1} o 1711 cm^{-1}) y el grupo metilo (correspondiente a 1377 cm^{-1}) respecto a la del grupo metileno (correspondiente a 1456 cm^{-1}); presencia de grupos oxidados. El valor de la intensidad de la absorbancia correspondiente al grupo metileno se utilizó como estándar, ya que se considera que se mantiene invariable durante el período de estudio. Las siguientes

fórmulas se utilizaron para calcular los índices de grupo éster, cetona y metilo de las muestras de BOPP:

$$\text{Índice grupo éster (IE)} = \frac{A_{1748}}{A_{1456}} \quad (2)$$

$$\text{Índice grupo cetona (IK)} = \frac{A_{1715}}{A_{1456}} \quad (3)$$

$$\text{Índice grupo metilo (IM)} = \frac{A_{1377}}{A_{1456}} \quad (4)$$

Los cambios en la morfología de la superficie de las tiras de BOPP luego de los diferentes tiempos de incubación fueron observados utilizando Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).

RESULTADOS

Se obtuvieron 44 aislamientos bacterianos capaces de crecer en un medio mínimo de sales conteniendo al BOPP como única fuente de carbono. Seis de ellos (B1, B2, B3, B4, B5 y B6) fueron seleccionados en base al tamaño de los halos de degradación, para el desarrollo del ensayo cuantitativo. Todos los aislamientos seleccionados fueron identificados como *Pseudomonas aeruginosa*.

Las láminas de BOPP tratadas con el aislamiento B4 mostraron la mayor pérdida de peso en cada período de incubación, alcanzando una disminución máxima del 17% respecto al peso inicial. Las muestras incubadas con el resto de los aislamientos no superaron el 5% de disminución en su peso respecto del peso inicial.

Los espectros IR obtenidos para todas las muestras luego de los distintos tratamientos no presentaron variaciones con respecto a los espectros del material original (BOPP) y del control. Sin embargo se observó una disminución en los índices del grupo cetona cuando los films fueron expuestos a los aislamientos microbianos. Del mismo modo, los índices de los grupo metilo y éster mostraron, en su mayoría, una disminución en sus valores respecto al film original.

La superficie de las láminas expuestas al aislamiento B4 resultó con daños, observándose la formación de perforaciones y grietas en el material. A su vez, no se observaron restos de células adheridas a la superficie de la muestra (Figura 1).

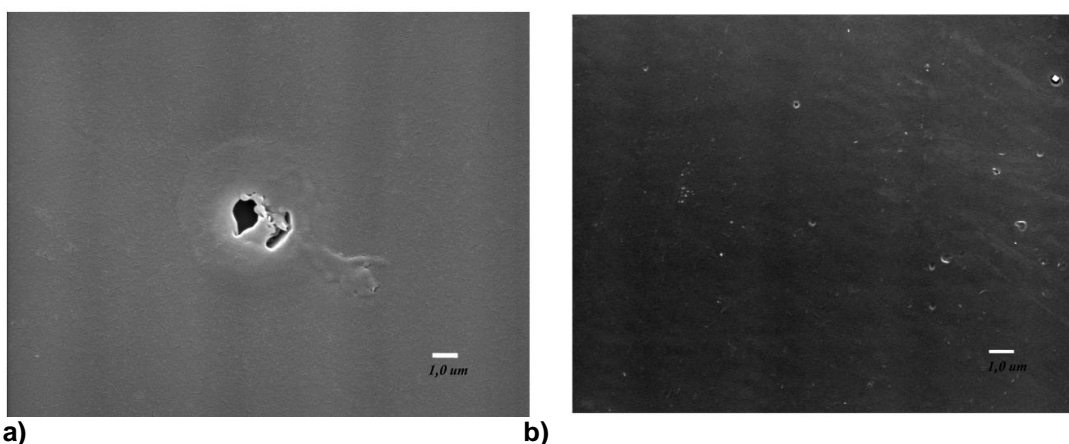


Figura 1: Micrografías (SEM) a) de una muestra de BOPP incubada por 120 días con la cepa B4 y b) de una muestra control de BOPP sin exposición a los microorganismos.

CONCLUSIONES

- Ha sido posible aislar bacterias con capacidad de utilizar el BOPP como única fuente de carbono a partir de muestras de suelo y envases con suelo de sitios ricos en desechos plásticos.
- Se logró identificar la especie *P. aeruginosa*, como responsable de la actividad degradativa frente al BOPP.
- Los porcentajes de pérdida de peso del material polimérico fueron diferentes para las distintas cepas de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas. Esto parecería indicar que cepas de una misma especie presentan una capacidad enzimática y metabólica particular que las hacen más o menos aptas para la degradación del BOPP.
- La cepa B4 demostró ser el microorganismo con mayor capacidad degradativa sobre el BOPP.
- El análisis cualitativo mediante FTIR no arrojó variaciones en la intensidad de los picos de las diferentes regiones monitoreadas de las muestras de BOPP tras la exposición microbiana respecto a las muestras sin tratar. Las variaciones en los índices evaluados, permiten inferir que la estructura superficial del polímero fue afectada por la acción de microorganismos. Sin embargo, la magnitud de esta degradación no fue de la extensión necesaria para manifestarse en la aparición o desaparición de grupos funcionales.
- Las imágenes tomadas mediante SEM mostraron que la cepa B4 fue capaz de dañar la superficie del material plástico. La formación de pequeñas perforaciones y grietas en la superficie del material, son eventos asociados al comienzo de un proceso de biodegradación/biodeterioración del material polimérico por acción de los microorganismos.
- Por lo tanto, si bien las cepas bacterianas aisladas presentan un potencial biodegradador frente al BOPP, aún es necesario realizar estudios adicionales tendientes a identificar y esclarecer los mecanismos, metabolitos y compuestos involucrados en la degradación, que permitan desarrollar un proceso de tratamiento de estos materiales a gran escala.

BIBLIOGRAFÍA

- Cacciari I., Quatrini P., Zirletta G., Vinciguerra V., Lupattelli P., Giovannozzi Sermanni G.,** 1993. Isotactic Polypropylene Biodegradation by a Microbial Community: Physicochemical Characterization of Metabolites Produced. *Appl. Environ. Microbiol.* 59(11):3695-3700.
- Longo C., Savaris M., Zeni M., Brandalise RN., Grisa AMC.,** 2011. Degradation study of polypropylene (PP) and bioriented polypropylene (BOPP) in the environment. *Mater Res.* 14(4):442-8.
- Yoon MG., Jeon HJ., Kim MN.,** 2012. Biodegradation of Polyethylene by a Soil Bacterium and AlkB Cloned Recombinant Cell. *J Bioremed Biodegrad* 3:145.