

Biodegradación de polietilenglicol 400 con consorcio de *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium trifolii*

Biodegradation of polyethylene glycol 400 with consortium of *Pseudomonas sp.* and *Rhizobium trifolii*

Paula Andrea Sánchez Rengifo*, **Miguel Ángel Piragauta Aguilar (Q.E.P.D.)****, **Orlando Riaño Melo*****

DOI: 10.15446/rev.colomb.biote.v25n1.91128

RESUMEN

Se evaluó la biodegradación de polietilenglicol de peso molecular 400 - PEG 400 con el consorcio *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium trifolii* en reactores en Batch; para determinar las condiciones óptimas de operación del reactor se preparó medio con sales mínimas esenciales suplementado con peptonaCSMEP; en estos medios se estimó el comportamiento del consorcio con condiciones de temperatura entre 15-37°C, pH en un rango de 5-9 y concentración de PEG 400 del .1-2%. Con los resultados obtenidos en estos ensayos previos se ensamblaron tres reactores en Batch - BK. Se analizaron 14 muestras del contenido de cada uno de los reactores durante 20 días para medir la biodegradación del PEG 400 usando demanda química de oxígeno - DQO en sistema de digestión cerrado. Se obtuvo una disminución de hasta el 98.5% del poliéter, lo que mostró que la simbiosis fue efectiva para alcanzar una remoción importante del contaminante.

Palabras clave: consorcio, reactor Batch, cinética, biodegradación.

ABSTRACT

The biodegradation of polyethylene glycol of molecular weight 400 - PEG 400 was evaluated with the consortium *Pseudomonas sp.* and *Rhizobium trifolii* in Batch reactors. To determine the optimal operating conditions of the reactor, a medium with minimum essential salts supplemented with CSMEP peptone was prepared; In these media, the behavior of the consortium was estimated with temperature conditions between 15-37°C, pH in a range of 5-9 and PEG 400 concentration of .1-2%. With the results obtained in these previous tests, three Batch - BK reactors were assembled. 14 samples of the contents of each one of the reactors were analyzed during 20 days to measure the biodegradation of PEG 400 using chemical oxygen demand - COD in a closed digestion system. A decrease of up to 98.5% of the polyether was obtained, which showed that the symbiosis was effective to achieve an important removal of the contaminant.

Keywords: consortium, Batch reactor, kinetics, biodegradation.

Recibido: junio 15 de 2021 **Aprobado:** mayo 15 de 2023

* Ingeniera Sanitaria, Esp. Sistemas de Información Geográfica, Universidad Distrital Francisco José de Caldas, ORCID: 0000-0002-9715-9805, e-mail: pasanchezr@correo.udistrital.edu.co

** Microbiólogo, M.Sc. Microbiología, Universidad Distrital Francisco José de Caldas, e-mail: mpiragauta@udistrital.edu.co

*** Matemático, Ingeniero de Sistemas, M.Sc. Geomática, Ph.D. Ingeniería, Universidad Distrital Francisco José de Caldas, ORCID: 0000-0002-4052-8139, e-mail: oriano@udistrital.edu.co

INTRODUCCIÓN

El polietilenglicol 400 (PEG) es un fluido no volátil sintético empleado como sustancia química (Fusako, 2005), a temperatura de 17-22°C es líquido, mientras que a temperaturas más bajas puede ser semisólido. Su solubilidad en el agua es su característica más significativa, lo que lo hace ideal para usarse en múltiples aplicaciones (Suhaimi *et al.*, 2021), en Colombia es generalmente utilizado en productos farmacéuticos y como agente osmótico para reducir el estrés hídrico en los floricultivos.

Se ha atribuido al PEG efectos ambientales negativos como la toxicidad en plantas tanto por los iones metálicos como el aluminio, como por la retardada transferencia de oxígeno a la raíz (Suhaimi *et al.*, 2021). En animales, los compuestos muestran evidencia de genotoxicidad (Biondi *et al.*, 2002) y se ha probado que el PEG puede causar hipersensibilidad en personas si estas tienden a tener reacciones alérgicas a medicamentos (Wylon *et al.*, 2016). Pero el mayor problema con los polímeros sintéticos es la persistencia prolongada en el medio ambiente debido a sus estructuras químicas específicas, propiedades fisicoquímicas y una larga vida incluso en ambientes hostiles (Fusako, 2010).

Los macroorganismos aplicados en mecanismos de tratamiento biotecnológico, como lo es la biodegradabilidad aerobia, ofrecen una solución eficaz para reducir los impactos ambientales generados por esta sustancia (Garzón *et al.*, 2017). Tanto la degradación aeróbica como la anaeróbica muestran efectividad que varía según la simbiosis de microorganismos utilizados y el peso molecular del PEG (Huang *et al.*, 2003). Investigaciones de microorganismos en condiciones aeróbicas y anaeróbicas arrojan el efecto del peso molecular - Mw en la eficiencia de los procesos de biodegradación de polietilenglicol donde se encontró que la degradación aeróbica es más eficiente que la anaeróbica por medio de las capacidades de degradación de PEG (Huang *et al.*, 2005).

La biodegradación de PEG por microorganismos ha sido sugerida como el método futuro para remediar vertimientos contaminados con este polímero (Suhaimi *et al.*, 2021). Investigaciones con agua residual contaminada con concentraciones elevadas de PEG 400, presentan una tasa de reducción de hasta un 97% al adicionar biomasa (Chen & Yangdong, 2015; Huang *et al.*, 2003).

Las *Pseudomonas* se encuentran entre los degradadores más citados para una amplia gama de polímeros plásticos (Wilkes & Aristilde, 2017), por su parte *Rhizobium sp.* es un género bacteriano caracterizado por su habilidad para producir nódulos en las raíces de las leguminosas, y vivir

en asociación simbiótica (Contreras, Iriarte & Muñoz, 2007), es utilizado frecuentemente en asociación junto con otras bacterias de los géneros *Flavobacterium* y *Pseudomonas* para transformar PEG (Takeuchi *et al.*, 1992).

Esta investigación buscó encontrar un método eficiente para la eliminación de PEG 400 utilizando la simbiosis entre *Pseudomonas sp.* y *R. trifolii* en reactor a escala de laboratorio.

Ruta metabólica del PEG

La biodegradación de un polímero depende de sus propiedades físicas y químicas como el peso molecular y la cristalinidad (Pathak, 2017). El primer criterio para la biodegradación es el procesamiento enzimático (Fusako, 2010). Las enzimas responsables de la degradación de polímeros se clasifican en dos grupos: despolimerasa extracelular y despolimerasa intracelular. Dado que el PEG no es un compuesto natural sino un poliéter sintético, los genes responsables de su metabolismo son un mosaico de genes evolucionados a partir de genes con otras funciones metabólicas celulares (Tani *et al.*, 2007).

Investigaciones de la descomposición aeróbica de PEG han demostrado que la metabolización se lleva a cabo a través de la oxidación por medio de enzimas: una deshidrogenasa de alcohol (aldehído deshidrogenasa) y una

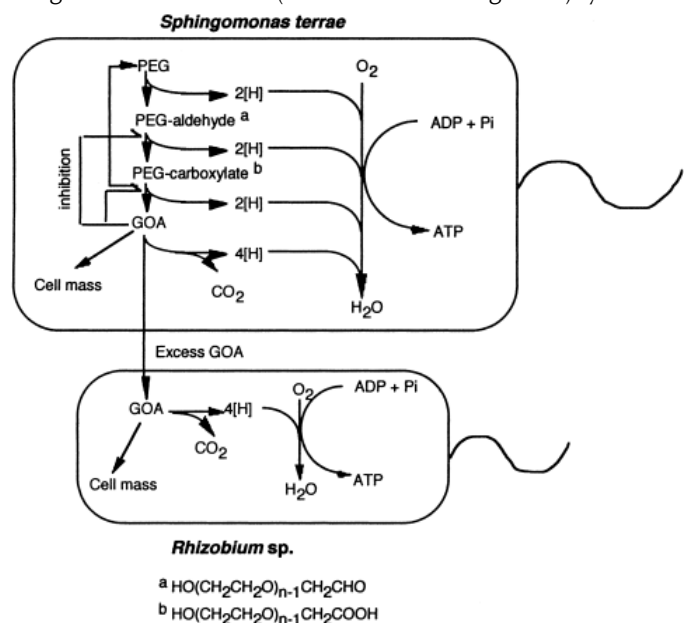


Figura 1. Mecanismo de degradación de PEG por cultivo mixto simbiótico Gram Negativo *S. terrae* y *Rhizobium sp.*

Nota. Se debe a la eliminación de un metabolito tóxico, el ácido glioxílico - GOA que se forma durante el proceso de biodegradación. Tomado de Biodegradations of Polyethers (Polyethylene Glycol, Polypropylene Glycol, Polytetramethylene Glycol, and Others) por Fusako, 2005, Miscellaneous Biopolymers and Biodegradation of Polymers.

enzima bacteriana atacan primero un grupo de alcohol terminal y luego dividen un enlace de éter terminal que rompe el éter produciendo glioxilato - GOA como se observa en la Figura 1 (Suhaimi *et al.*, 2021 - Kawai, 2010).

Thélu *et al.*, en 1980 informan que los extractos libres de células de *Pseudomonas sp.* crecen en PEG 400 ácido 2-etoxiacético deshidrogenado o derivados de dimetiletilo de diEG y tetraEG, donde la formación transitoria de un doble enlace en una unidad terminal de glicol, seguido de hidratación se representa así: $R-O-CH_2CH_2OH \rightarrow [R-O-CH=CHOH] \rightarrow R-O-CHOHCH_2OH$.

Por otra parte, las alcano hidroxilasas - alkB son las enzimas bacterianas clave en la degradación aeróbica de los alcanos. Estas enzimas hidroxilan los alcanos a alcoholes, que luego se oxidan a ácidos grasos y se catabolizan a través de la vía de oxidación bacteriana (Nie *et al.*, 2014). De *Pseudomonas sp.* se puede obtener la secuencia de nucleótidos de la alkB (Yoon, Jeon & Nam, 2012):

Pseudomonas sp. E4 CGCCTCAACGGCCGCGGCTGCCTGCCCTGCACTGGCGCAACGAGCTGATCTGGTGG
TACGCCATCAGTG 210

La actividad deshidrogenasa del ácido diglicólico - DGA presente en *Rhizobium*, es la responsable de dividir el enlace éter liberando el GOA de todos los sustratos (Enokibara & Kawai, 1997).

MATERIALES Y MÉTODOS

Cultivo bacteriano

A partir de una muestra de borra de petróleo se aisló y mantuvo la cepa de *Pseudomonas sp.* en Agar *Pseudomonas*. Desde la raíz de *Trifolium repens*, se aisló la cepa de *Rhizobium trifolii* y se mantuvo en Agar Yeast Manitol - YMA, ambas donadas por el laboratorio de Biotecnología Ambiental de la Universidad Distrital Francisco José de Caldas.

Condiciones ambientales

Para precisar las condiciones óptimas de crecimiento de los microorganismos se aplicó una matriz de trabajo 3×3^3 con condiciones variables de temperatura a 37, 15 y 25°C, concentración de PEG 400 al .1, 1 y 2%, pH de 5.00, 7.00, y 9.00. Para tres réplicas de cada variable, se usaron tubos de ensayo con 10ml de CSMEP y 10^8 cel/ml/tubo de cada uno de los microorganismos. Los tubos fueron incubados durante siete días. Al finalizar el periodo de incubación se realizó análisis de turbidez y conteo de viabilidad por recuento en placa estándar.

Los parámetros de operación de los reactores fueron agitación constante a 300 rpm, temperatura de 25°C, tiempo de operación 20 días y pH 7.00 constante.

Ensamblaje de reactores

Se prepararon tres reactores tipo Batch: BK1, BK2 y BK3, con agitación magnética en Biobase MST-H550-Pro®, recipientes herméticos con volumen de trabajo de 2l, tapas con rejilla de HDPE y papel filtro Whatman® con 185mm de diámetro y 8µm de retención de partículas.

Los reactores se cargaron con medio de cultivo así: BK1 se inoculó con una concentración de 8×10^8 células/ml de *Pseudomonas sp.*, 4×10^8 células/ml de *R. trifolii*, sales mínimas a partir de soluciones stock 10X: macroelementos 2ml/100ml y microelementos 1ml/100ml, se adicionó peptona, PEG 400 al .1% y se aforó con agua destilada. Al reactor BK2 se le adicionó la misma cantidad de células de las dos bacterias que a BK1, PEG 400 al .1%, sales mínimas y agua destilada. El reactor BK3 contiene los mismos componentes que BK1, excepto el inóculo bacteriano, de manera que actuara como testigo comparativo del comportamiento del PEG 400. En la tabla 1 se aprecia el contenido de los componentes de cada reactor.

De cada reactor se tomaron muestras de 10ml, se procedió a realizar conteos directos en cámara de Neubauer

Tabla 1. Componentes inoculados en los reactores.

Componentes	BK1	BK2	BK3
Bacteria <i>Pseudomonas</i>	+	+	-
Bacteria <i>Rhizobium</i>	+	+	-
PEG .1%	+	+	+
Peptona .1%	+	-	+
Sales mínimas	+	+	+

Nota. Se representa (+) como presencia y (-) como ausencia de componentes.

donde se identificó el número de generaciones, tiempo de duplicación y la velocidad específica de crecimiento, luego se centrifugaron en HERMLE-Z 446® a 4000rpm por 10min y, por último, se realizó el análisis de la DQO.

Medición de PEG

La DQO es la cantidad de oxidante específico que reacciona con la muestra bajo condiciones controladas, se empleó por considerarse efectiva para medir la variación de PEG 400 en una solución (Sánchez, 2020).

Con una concentración de PEG 400 de .1% y factor de dilución 1/25, se utilizó el método de digestión en sistema cerrado, este es válido para valores de DQO entre 40-400mg/L (APHA *et al*, 2017). Para mayores valores, se requieren diluciones, como es el caso del presente estudio.

Se emplearon tubos de reacción de 16 x 100mm, un termoreactor VELP Scientifica® y tres réplicas de cada muestra, tomando una muestra por reactor para cada medición. Los volúmenes por tubo de digestión fueron 2.5ml de muestra, 1.5ml de solución digestora y 3.5ml de reactivo de ácido sulfúrico. Para la preparación de

soluciones en cantidades y volúmenes idóneos, se siguió la metodología expuesta por Cárdenas, 2015.

RESULTADOS

Biocinética

Una vez realizada la incubación en BK1, BK2 y BK3, bajo las condiciones establecidas en la matriz, se inició la toma de 14 muestras para conteo bacteriano y nueve mediciones para DQO en un lapso de 20 días. Las lecturas se muestran en la tabla 2.

Se alcanzaron 4.64 generaciones bacterianas en BK1 y 2.32 en BK2 donde el tiempo de duplicación de cada generación fue de 2.37 y 4.74 respectivamente. En cuanto a la velocidad específica de crecimiento bacteriano es inconstante, puede deberse a que las bacterias incorporan la mayoría de sus nutrientes por mecanismos de transporte activo, que implica una concentración citoplasmática máxima (Parés & Juárez, 2020), así los cambios en las concentraciones de sustrato alteran la velocidad de crecimiento.

Tabla 2. Crecimiento microbiano en BK1 y BK2.

Día	Conteo células promedio		Sustrato (ml/L)		Velocidad específica crecimiento (μ)	
	BK1	BK2	BK1	BK2	BK1	BK2
1*	8.0E+06	8.0E+06	2	2	-	-
	8.0E+06	8.0E+06	2	2	1.4	1.3
4	3.2E+07	2.8E+07	2	1.85	3.2E-01	3.3E-02
5	4.4E+07	3.2E+07	-	-	2.0E-01	3.4E-02
6	9.6E+07	3.8E+07	2	1.7	8.2E-03	-
8	1.0E+08	3.8E+07	1.85	1.5	-	6.4E-03
11	1.0E+08	4.0E+07	1.7	1.4	2.3E-02	-
12	1.2E+08	4.0E+07	-	-	4.6E-02	-
13	2.0E+08	4.0E+07	1.07	1.4	-	-
14	2.0E+08	4.0E+07	-	-	-8.1E-03	-7.5E-03
15	1.8E+08	3.6E+07	.8	1.2	7.5E-03	7.0E-03
18	2.0E+08	4.0 E+07	.5	1.07	-	-
19	2.0E+08	4.0 E+07	-	-	-1.2E-02	-1.2E-02
20	1.6E+08	3.2 E+07	.15	1.07	-	-

*La medición del día 1 se refiere al inició la fermentación, ocho horas después se realizó una siguiente medición.

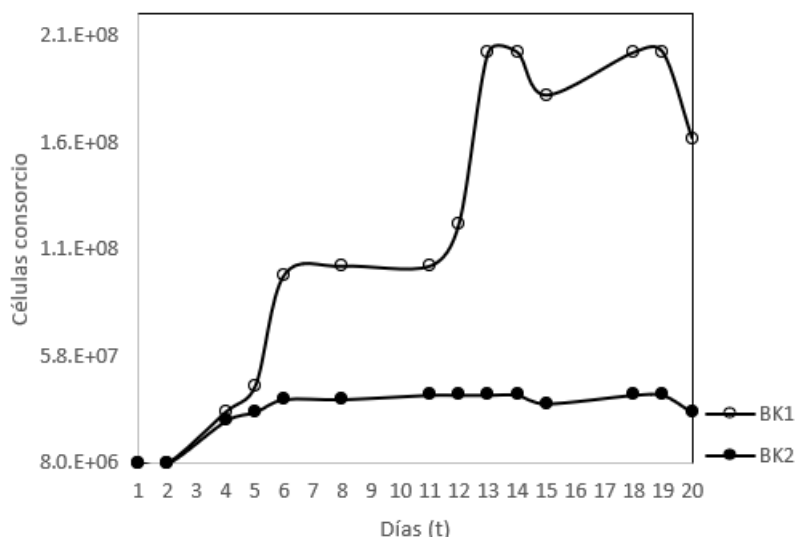


Figura 2. Cinética de crecimiento celular del consorcio en reactores BK1 y BK2.

DQO

A partir del consumo del titulante sulfato ferroso amoniacal-FAS en cada muestra, se realizó el cálculo de la DQO. El consumo promedio de FAS por el blanco de referencia fue 2ml, obteniéndose los resultados de la tabla 3.

Prueba de hipótesis

Los valores a evaluar corresponden al cambio de las medias de la DQO en BK1 y BK2. Con mediciones en nueve días, se aplicó la prueba t-student con nivel de confianza del 95% para una hipótesis nula con medias iguales de DQO y medias diferentes como hipótesis alterna.

Al realizar la prueba de hipótesis, no se encontraron diferencias significativas entre las medias de BK1 y BK2, pero sí de sus varianzas. Por ende, para comprobar los cambios en las mediciones de DQO se tomaron los datos desde la quinta medición, cuando se elimina por completo la peptona en BK1 y por ende cambia la media.

Se calcularon las nuevas estadísticas cuyos resultados indican que el estadístico de prueba se encuentra entre la zona de rechazo de la hipótesis nula, por consiguiente, se rechaza H_0 puesto que la media de DQO1 no es igual a la media de DQO2.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Cinética de Crecimiento en los reactores

Al comenzar la fase exponencial en BK1, cerca al séptimo día y antes de entrar a una fase estacionaria el consorcio disminuye su crecimiento, debido a la adaptación del medio al consumo exclusivo de PEG 400 como fuente de carbono, después del quinto día, en BK1, la pepto-

na se ha consumido completamente. En el día 11 se eleva su crecimiento hasta llegar al número máximo de células en el medio y en el día 19 se presenta decrecimiento hasta llegar a la muerte de la población bacteriana. Asimismo, hasta el sexto día BK2 tiene un crecimiento bacteriano permanente hasta el día seis, luego, hasta el día 14, pasa a un crecimiento constante y del día 15 al 19 un incremento celular hasta el descenso que manifiesta el comienzo de la fase de muerte celular, este proceso se advierte en la Figura 2.

El número de generaciones y tiempo de duplicación durante la fase *lag* en los reactores, es de aproximadamente el doble para ambos casos en BK1, debido a que contiene peptona, que actúa como impulsadora de crecimiento además de ser óptima fuente de nitrógeno.

En los reactores tipo Batch ocurre que el crecimiento bacteriano es inverso al sustrato, en el estadio en el cual se reproducen mayoritariamente las bacterias es en la fase *lag*, representada desde la segunda medición hasta la doceava como se muestra en los resultados de la tabla 2 y figura 2. A medida que aumenta el número de células por agotamiento del sustrato y por acumulación de productos tóxicos en la bioxidación, la tasa específica de crecimiento disminuye y el crecimiento declina (Romero, 2008).

Se advierte que los microorganismos asimilan a tasas de consumo variadas las diferentes fracciones de PEG 400 como respuesta a las diferentes afinidades que presentan las bacterias hacia los compuestos disponibles, la cual depende de la estructura y el peso molecular

Tabla 3. DQO en los reactores.

DQO (mg O ₂ /L)	Muestras								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Control	240	224	240	248	232	240	216	248	240
BK1	4000	3000	2600	2400	2200	1400	1000	600	200
BK2	2600	2400	2200	2000	1800	1800	1600	1400	1400
BK3	4200	4200	4000	4200	4000	4000	4000	4000	4000

(García & Aguirre, 2014). Esto explica el prolongado tiempo que le toma al consorcio consumir el sustrato.

También, se evidencia que un cultivo mixto de microorganismos trabajando en consorcio, es más eficiente en la degradación de PEG 400 que si se realizan cultivos individuales. En la biodegradación de poliéter realizada mediante consorcios bacterianos cada microorganismo desempeña uno de los papeles necesarios para la degradación final.

Medición de la Degradación de PEG 400

Una razón de seleccionar el método de reflujo cerrado titrimétrico es porque se requieren menos reactivos y se genera menos desechos peligrosos (APHA et al, 2017). El método utilizado prueba la disminución del poliéter, cuando se compara su concentración inicial con las siguientes concentraciones a medida que transcurre el tiempo en los fermentadores.

BK1 desciende aceleradamente la concentración del poliéter a diferencia de BK2 que decrece de manera más lenta, lo que muestra que la disminución de PEG es inversamente proporcional al crecimiento bacteriano. La eficiencia de BK1 es de 98.5% y de 88.5% la de BK2 en los 20 días, valores que pueden considerarse como óptimos de remoción del sustrato. El sustrato es consumido lentamente, este método percibe cambios en concentraciones reducidas de diversas sustancias por lo que es adecuado para medir los cambios de una sustancia en un sistema.

La prueba fundamental en la precisión del método se evidencia en la estabilidad del blanco BK3 debido a la ausencia de microorganismos. El resultado analítico del control se encuentra dentro del rango aceptable $\pm 25\%$ para 200 mgO₂/L (IDEAM, 2007).

El método de digestión en sistema cerrado utilizado, en comparación con los demás métodos de DQO presenta mejores condiciones analíticas respecto a su precisión, exactitud, recuperación e incertidumbre (Blanco, 2012).

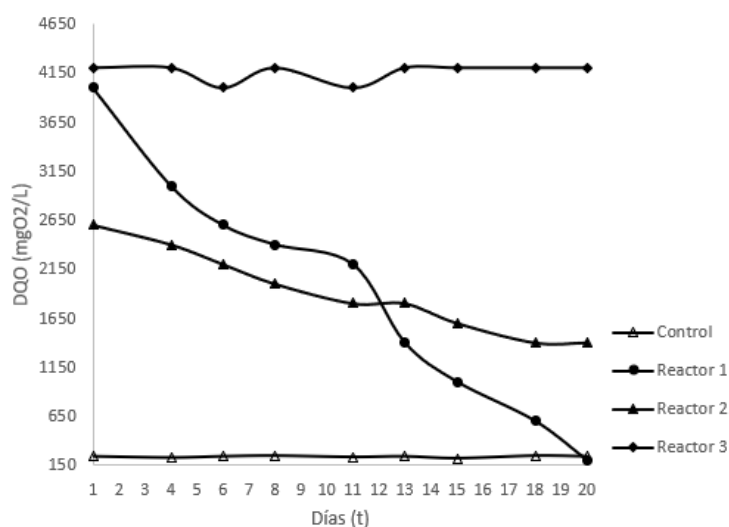


Figura 3. Medida de DQO en los reactores BK1, BK2 y BK3.

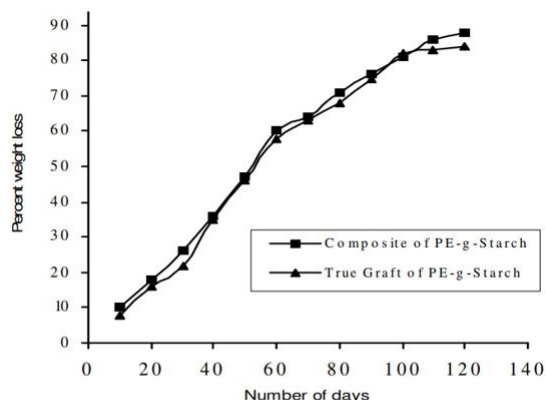
Nota. Se aprecia la decadencia de la DQO en los reactores BK1 y BK2, el control es biftalato de potasio - BP y el blanco BK3.

Confrontación metodológica

De manera análoga, una investigación realizó la medición de la degradación de polietileno por medio de la diferencia de peso de la muestra que estuvo en contacto con un consorcio microbiano que incluye *Rhizobium* (Figura 4). En este método conocido como "Soil Burial Test", la disminución en el porcentaje de pérdida de peso se debe a la invasión de microorganismos en el sustrato y la absorción de la humedad por parte de las muestras (Gautam & Kaur, 2013).

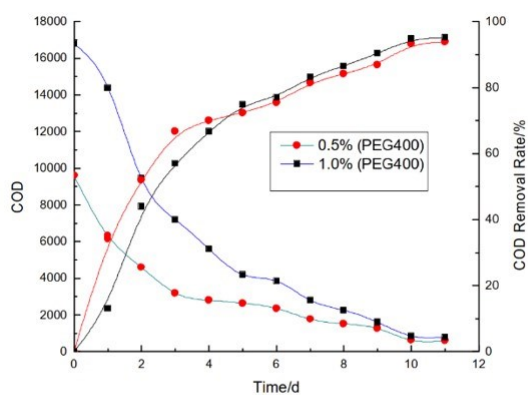
El porcentaje de remoción de DQO que se representa en la figura 5, obedece a los resultados del presente estudio. El comportamiento de la DQO explica la biodegradación por acción de la simbiosis bacteriana.

La figura 6 muestra que el modelo de aguas residuales con PEG 400 puede ser biodegradable con oxidación anaeróbica al hacer uso de lodo digerido, producto de una planta de tratamiento de aguas residuales que contiene una gran



Nota. Tomado de Soil burial biodegradation studies of starch grafted polyethylene and identification of *Rhizobium meliloti* therefrom. Por Gautam & Kaur, (2013). *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology*.

Figura 4. Porcentaje de pérdida de peso en función del número de días en contacto con *Rhizobium meliloti*.

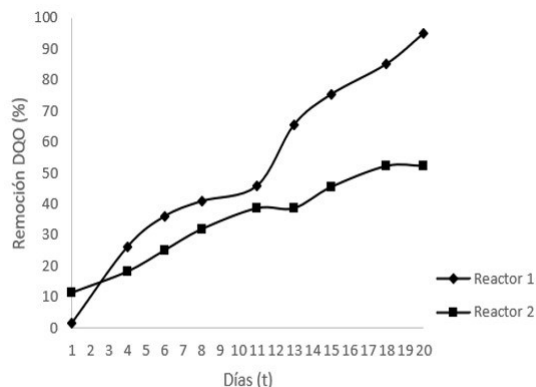


Nota. Tomado de Anaerobic Degradation of Polyethylene Glycol 400. Por Chen & Yangdong, 2015. *International Conference on Manufacturing Science and Engineering*.

Figura 6. Porcentaje de remoción de DQO durante oxidación con lodo anaeróbico.

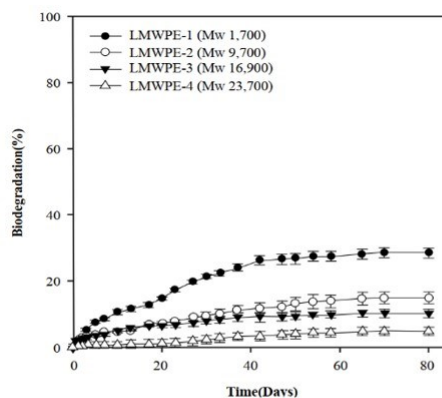
cantidad de biomasa, la cual utiliza el PEG como única fuente de carbono y energía. La degradación del poliéter se determinó por el análisis de la DQO y el carbono orgánico total - TOC (Chen & Yangdong, 2015).

En la figura 7, el polietilenglicol de bajo peso molecular - LMWPE se biodegrada al inocularse al medio bacterias mesófilas del género *Pseudomonas*, donde se demuestra que la biodegradación está definida por la diferencia entre la cantidad de CO₂ acumulado con presencia y ausencia de LMWPE sobre la cantidad de CO₂ acumula-



Nota. Porcentaje de remoción en BK1 con peptona como impulsador de crecimiento y en BK2 menor remoción sin peptona.

Figura 5. Porcentaje de disminución de DQO en incubación con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium trifolii*.



Nota. Tomado de Biodegradación de Polyethylene by a Soil Bacterium and AlkB Cloned Recombinant Cell. Por Yoon, Jeon, Nam, 2012. *Journal of Bioremediation & Biodegradation*.

Figura 7. Porcentaje de degradación de polietileno con compost inoculado con *Pseudomonas sp.*

do cuando todos los carbonos se han mineralizado (Yoon, Jeon & Nam, 2012).

En general, las figuras 4, 5, 6 y 7 presentan un patrón sigmoide donde la transición se produce con base en el metabolismo de los microorganismos presentes en el ambiente de reacción. La degradación de los poliéteres es lenta y está condicionada principalmente por su peso molecular, tiempo de retención hidráulico y una simbiosis acertada.

La eficiencia de remoción de los polímeros varía del 30-98.5% aproximadamente, en la figura 7, sucede una

menor eficiencia de remoción (30%) puesto que la actividad de biodegradación disminuye con el aumento del peso molecular que fluctúa entre 1,700-23,700Mw (Yoon, Jeon & Nam, 2012). En la figura 5, la eficiencia del PEG con 400Mw llega al 98.5%.

Los resultados de estas investigaciones también indican la variación de los mecanismos de reacción de una simbiosis a otra que, aunque degradan continuamente y tienen tendencia similar, su comportamiento difiere a medida que avanza el tiempo.

Prueba de hipótesis de comparación de medias

Con una confiabilidad del 95% existen evidencias para aceptar la prueba de hipótesis nula que afirma que no hay diferencia significativa entre los reactores BK1 y BK2 a partir del quinto día.

El valor crítico, es el punto que divide la región de aceptación y la región de rechazo de la hipótesis nula. $1 - \alpha$, que se encuentra en la región entre -2.447 y 2.447, límites establecidos por la tabla de la distribución t-student.

CONCLUSIONES

El PEG 400 fue biodegradado en más del 95% por el consorcio de *Pseudomonas sp.* y *R. trifolii* en 20 días, de manera que esta simbiosis actúa con eficacia en la disminución del poliéter. Su progresivo crecimiento celular indica que las bacterias tomaron el PEG 400 como única fuente de carbono, es decir, como alimento para reproducirse, aunque la peptona es necesaria para acelerar el crecimiento de los microorganismos y así, reducir su tiempo de duplicación celular.

En una de las investigaciones referenciadas, la eficiencia de remoción de los poliéteres fue cercana al 30% puesto que la biodegradación disminuye con el aumento del peso molecular y una eficiencia máxima del 98.5% obedece a unas condiciones de reacción idóneas con una conveniente simbiosis de microorganismos.

El método de evaluación de la disminución de PEG 400, DQO por reflujo cerrado permite observar los cambios en la concentración del poliéter dentro de los reactores y así refleja un consumo del contaminante evaluado.

REFERENCIAS

APHA American Public Health Association, AWWA American Water Works Association & WEF Water Environment Federation. (2017). *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*. Ed. 23. Washington – USA.

- Biondi O., Motta S., Mosesso P. (2002). *Low molecular weight polyethylene glycol induces chromosome aberrations in Chinese hamster cells cultured in vitro*. *Mutagenesis*. 17(3):261-4.
- Blanco D. (2012). *Validación de los Métodos de Análisis DQO Reflujo Cerrado, Sulfatos y Nitatos en Aguas, en el Laboratorio de Análisis Químico de Aguas Residuales de la Universidad Pontificia Bolivariana Seccional Cundinamarca*. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga – Colombia.
- Cárdenas J. (2015). *Calidad de Aguas para Estudiantes de Ciencias Ambientales*. Ed. 1, Fondo de Publicaciones Universidad Distrital Francisco José de Caldas. Bogotá - Colombia. P. 142 – 145.
- Chen X., Yangdong H. (2015). *Anaerobic Degradation of Polyethylene Glycol 400*. International Conference on Manufacturing Science and Engineering. Sandong – China.
- Contreras C., Iriarte J., Muñoz A. (2007). Aislamiento y caracterización bioquímica, fisiológica y morfológica de géneros *Rhizobium sp.* y *Bradyrhizobium sp.* asociados a la leguminosa *Cajanus cajan* en parcelas agrícolas del municipio de Sampués, departamento de Sucre. Universidad de Sucre. Sincelejo – Colombia.
- Enokibara S., Kawai F. (1997). Purification and Characterization of an Ether Bond-Cleaving Enzyme Involved in the Metabolism of Polyethylene Glycol. *Journal of Fermentation and Bioengineer.* 83 (6): 549-554.
- Fusako K. (2005). Biodegradations of Polyethers (Polyethylene Glycol, Polypropylene Glycol, Polytetramethylene Glycol, and Others). *Miscellaneous Biopolymers and Biodegradation of Polymers*. Okayama University. Kurashiki – Japan.
- García N., Aguirre M. (2014). Biodegradación de petróleo por bacterias: algunos casos de estudio en el Golfo de México. UAC. Mérida – España.
- Garzón, Jennyfer M., Rodríguez-Miranda, Juan Pablo, & Hernández-Gómez, Catalina. (2017). Aporte de la biorremediación para solucionar problemas de contaminación y su relación con el desarrollo sostenible. *Universidad y Salud*, 19(2), 309-318. <https://doi.org/10.22267/rus.171902.93>.
- Gautam N., Kaur I. (2013). *Soil burial biodegradation studies of starch grafted polyethylene and identification of Rhizobium meliloti therefrom*. *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology*. 5(6): 147-158.
- Huang Y., Li Q., Deng X., Lu Y., Liao X., Hong M., Wang Y. (2005). Aerobic and anaerobic biodegradation of polyethylene glycols using sludge microbes. *Process Biochem.*, 40(1):207–211.

- Huang Y., Li Q., Deng X. et al. (2003). *Aerobic and Anaerobic Biodegradation of Polyethylene Glycols Using Sludge Microbes*. Elsevier. Department of Chemical and Biochemical Engineering, Xiamen University. Xiamen - China.
- Kawai F. (2010). *The biochemistry and molecular biology of xenobiotic polymer degradation by microorganisms*. *Biosci Biotechnol Biochem.*, 74(9):1743-1759.
- IDEAM. (2007). *Demanda Química de Oxígeno por Reflujo Cerrado y Volumetría*. Versión 05. Subdirección de Hidrología - Calidad Ambiental. Colombia.
- Nie, Y., Chi, C. Q., Fang, H., Liang, J. L., Lu, S. L., Lai, G. L., ... & Wu, X. L. (2014). Diverse alkane hydroxylase genes in microorganisms and environments. *Scientific reports*, 4(1), 4968.
- Parés R., Juárez A. (2020). Bioquímica de los microorganismos. Editorial Reverté. pp. 32-33.
- Pathak, V. M. (2017). Review on the current status of polymer degradation: a microbial approach. *Bioresources and Bioprocessing*, 4(1), 1-31.
- Romero Rojas, J. A. (2004). Tratamiento de aguas residuales, teoría y principios de diseño. Bogotá, CO, Escuela Colombiana de Ingenieros. 3ra edición.
- Sánchez P. (2020). Medición de la degradación de polietilenglicol 400 por consorcio *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium trifolii* empleando demanda química de oxígeno. Universidad Distrital Francisco José de Caldas. Bogotá - Colombia.
- Suhaimi, N., Syed, M. A., Shamaan, N. A., & Othman, A. R. (2021). Biodegradation of PEGs: A review. *Journal of Biochemistry, Microbiology and Biotechnology*, 9(1), 8-18.
- Sutton W., Paterson A. (1981). Biology of the Rhizobiaceae. *Plant Physiology and Applied Biochemistry Divisions*. Palmerston - New Zealand.
- Takeuchi M., Kawai F., Shimada Y., Yokota A. (1992). Taxonomic Study of Polyethylene Glycol-Utilizing Bacteria: Emended Description of the Genus *Sphingomonas* and New Descriptions of *Sphingomonas macrogoltabidus* sp. nov., *Sphingomonas sanguis* sp. nov. vnd *Sphingomonas terrae* sp. nov. *Systematic and Applied Microbiology*. 1(6),227138.
- Tani, A., Charoenpanich J., Mori T., Takeichi M., Kimbara K., & Kawai F. (2007). Structure and conservation of a polyethylene glycol-degradative operon in sphingomonads. *Microbiology* (Reading, England). 153. 338-46.
- Thélu, J., Medina, L., Pelmont, J. (1980). Oxidation of polyoxyethylene oligomers by an inducible enzyme from *Pseudomonas P400*. *FEMS Microbiol.* 8, 187-190.
- Wilkes, R. A., & Aristilde, L. (2017). Degradation and metabolism of synthetic plastics and associated products by *Pseudomonas sp.*: capabilities and challenges. *Journal of applied microbiology*, 123 (3), 582-593.
- Wylon, K., Dölle, S., & Worm, M. (2016). Polyethylene glycol as a cause of anaphylaxis. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*, 12(1), 1-3.
- Yoon, M. G., Jeon, H. J., & Kim, M. N. (2012). Biodegradation of polyethylene by a soil bacterium and AlkB cloned recombinant cell. *J Bioremed Biodegrad*, 3(4), 1-8.