

**BIODEGRADACIÓN DEL POLIESTIRENO EXPANDIDO POR LARVAS DE *Galleria mellonella* Linnaeus (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) EN CONDICIONES DE LABORATORIO**

**CONSUELO GIOVANNA JIMÉNEZ GONZÁLEZ**

**TRABAJO DE GRADO COMO REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO AMBIENTAL**

**UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA - UNAD  
ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS PECUARIAS Y DEL MEDIO AMBIENTE -  
ECAPMA  
BOGOTÁ - COLOMBIA  
2019**

**BIODEGRADACIÓN DEL POLIESTIRENO EXPANDIDO POR LARVAS DE *Galleria mellonella* Linnaeus (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) EN CONDICIONES DE LABORATORIO**

**CONSUELO GIOVANNA JIMÉNEZ GONZÁLEZ**

**JORDANO SALAMANCA BASTIDAS**

Ingeniero Agrónomo PhD.  
Profesor Programa de Agronomía

**DIRECTOR**

**GRACIELA GARZON MARIN**

MSc. Ingeniería Ambiental

**CODIRECTOR**

**UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA - UNAD  
ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS PECUARIAS Y DEL MEDIO AMBIENTE -  
ECAPMA  
BOGOTÁ - COLOMBIA  
2019**

## **NOTA DE ADVERTENCIA**

Artículo 23 de la Resolución No. 13 de julio de 1946: “La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus tesis de grado”

***Este trabajo lo dedico:***

*A mi director PhD Jordano Salamanca, quien con seguridad encausó mi trabajo apoyándome con sus conocimientos y con el firme propósito de conseguir un excelente resultado.*

*A mi esposo Gabriel Castellanos mi principal apoyo.*

*A mi hijo, Santiago Castellanos mi mayor motivación*

## **AGRADECIMIENTO**

*A Dios por todas las bendiciones recibidas en este proceso, para cumplir una de mis metas.*

*A mi director tesis Doctor Jordano Salamanca, por su confianza en mí desempeño y su compromiso para la desarrollar este proyectos.*

*A la tutora Graciela Garzón por su apoyo.*

*A mi esposo por ser mi principal apoyo.*

*A mi hijo por su comprensión*

*A mi Madre y mis hermanos por sus invaluable aportes.*

*A mis suegros Martha Quintero y Jorge Castellanos por su constante motivación y apoyo.*

*A Vanessa Garzón por su apoyo incondicional*

*A Ana Arias por su apoyo en actividades de laboratorio.*

## TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN .....	9
ABSTRACT .....	10
INTRODUCCIÓN .....	11
1. MARCO TEORICO.....	13
1.1. Polilla de la cera <i>Galleria mellonella</i> (Lepidoptera: Pyralidae).....	13
1.2. Poliestireno expandido (PE).....	15
1.3. Biodegradación de poliestireno expandido (PE) .....	17
2. OBJETIVOS.....	18
2.1. General .....	18
2.2. Específicos.....	18
3. METODOLOGIA .....	19
3.1.Sitio de estudio .....	19
3.2.Obtención de Polilla de la cera <i>Galleria mellonella</i> (Lepidoptera: Pyralidae) .....	19
3.3.Obtención de poliestireno expandido.....	19
3.4.Capacidad de consumo y biodegradación .....	20
4. RESULTADO.....	24
5. DISCUSIÓN.....	27
6. CONCLUSIONES .....	30
7. RECOMENDACIONES .....	31
8. Referencias Bibliográficas .....	32

## LISTADO DE FIGURAS

- Figura 1.** Adulto de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) criado en condiciones de laboratorio (Fuente: el autor).....14
- Figura 2.** Estados fisiológicos de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) criada en condiciones de laboratorio **a.** Huevos de *G. mellonella*, **b.** larvas de *G. mellonella*, **c.** Pupas de *G. mellonella*, **d.** Adulto de *G. mellonella* (Fuente: el autor) .....15
- Figura 3.** Crías de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) en condiciones de laboratorio. **a.** Condiciones para el crecimiento de *G. mellonella* **b.** Dieta de *G. mellonella* (Fuente: el autor).....19
- Figura 4.** Tratamientos replicados 5 veces, así: 1) 10 larvas, 2) 20 larvas, 3) 30 larvas y 4) 40 larvas; por cada tratamiento se colocó 5 gramos de poliestireno expandido (PE) (Fuente: el autor).....20
- Figura 5.** Larvas de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) en III instar, en condiciones de laboratorio (Fuente: el autor).....21
- Figura 6.** Estudio con 20 larvas en I instar, con 5 gramos de poliestireno expandido (PE) (Fuente: el autor).....22
- Figura 7.** Pesos de poliestireno expandido (PE) semana 1 *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) semana 1 en condiciones de laboratorio (Fuente: el autor).....22
- Figura 8.** Peso de excreta solida de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) semana 1 en condiciones de laboratorio (Fuente: el autor).....23
- Figura 9.** Consumo de poliestireno expandido por larvas de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos Tukey HSD ( $\alpha$  0.05) (Fuente: el autor).....25
- Figura 10.** Biodegradación de poliestireno expandido por larvas de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) **a.** Letras diferentes indican diferencias significativas de biodegradación entre los tratamientos Tukey HSD test ( $<0.05$ )......26

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> ANOVA efecto de los diferentes tratamientos sobre el consumo y la biodegradación del poliestireno expandido (PE) por <i>G. mellonella</i> .....	24
---	----

## RESUMEN

El poliestireno expandido (PE) es un residuo difícil de degradar, convirtiéndose en un principal contaminante de ríos, lagos y océanos. En países de Europa, Estados Unidos y Asia, se ha encontrado que este residuo puede ser biodegradado por mecanismos biológicos, específicamente por larvas de insectos del orden Lepidoptera como *Galleria mellonella* L. (Pyralidae). Sin embargo, a nivel de Suramérica hay pocos estudios que evidencian la eficiencia de estos insectos sobre la biodegradación del PE. Por lo tanto, este trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto biodegradable de larvas de *G. mellonella* sobre el PE. Específicamente 1) se determinó la capacidad de consumo y 3) se cuantificó la biodegradación del PE. Por consiguiente, se estableció un diseño completamente al azar con 4 tratamientos (T<sub>1</sub>: 10 larvas (L); T<sub>2</sub>: 20 L; T<sub>3</sub>: 30 L; T<sub>4</sub>: 40 L) replicados 5 veces, donde en cajas Petri se colocaron por cada tratamiento 0,5 g de PE. Para el consumo se registró el peso del PE antes y después de la liberación de las larvas (II y III instar). Para la biodegradación se tomó el peso de las excreciones de las larvas. Estas dos variables fueron evaluadas cada 8 días hasta que las larvas alcanzarán el estado de pupa. Se obtuvo un efecto significativo de las larvas de *G. mellonella* sobre el consumo ( $P < 0,001$ ) y la biodegradación ( $P < 0,001$ ), evidenciando una respuesta exponencial, donde a mayor número de larvas mayor consumo y biodegradación. En conclusión *G. mellonella* puede ser considerado para biodegradar el PE a pequeña escala.

**Palabras claves:** Problemática ambiental, ciclo de vida, plástico, polilla de cera, residuos.

## ABSTRACT

Expanded polystyrene (PE) is a difficult residue to degrade, becoming a major pollutant of rivers, lakes and oceans. In countries of Europe, the United States and Asia, it has been found that this residue can be biodegraded by biological mechanisms, specifically by insect larvae of the order Lepidoptera such as *Galleria mellonella* L. (Pyralidae). However, at the level of South America there are few studies that show the efficiency of these insects on the biodegradation of PE. Therefore, this work aims to evaluate the biodegradable effect of *G. mellonella* larvae on PE. Specifically 1) consumption capacity was determined, and 3) PE biodegradation was quantified. Therefore, a completely randomized design was established with 4 treatments (T1: 10 larvae (L); T2: 20 L; T3: 30 L; T4: 40 L) replicated 5 times, where in Petri dishes they were placed for each treatment 0.5 g of PE. For consumption, the weight of PE was recorded before and after the release of the larvae (II and III instar). For biodegradation the weight of larval excretions was taken. These two variables were evaluated every 8 days until the larvae will reach the pupa state. A significant effect of *G. mellonella* larvae on consumption ( $P < 0.001$ ) and biodegradation ( $P < 0.001$ ) was obtained, evidencing an exponential response, where the greater the number of larvae, the greater the consumption and biodegradation. In conclusion *G. mellonella* can be considered to biodegrade the PE on a small scale.

**Keywords:** Environmental problem, life cycle, plastic, wax moth, waste.

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la problemática ambiental referente a los residuos sólidos, es un tema creciente debido a la demanda de servicios e incremento de la población. El desmesurado crecimiento en el volumen de los residuos en la sociedad actual está poniendo en peligro la capacidad de la naturaleza para mantener nuestras necesidades y las de futuras generaciones. La basura se considera uno de los problemas ambientales más grandes de nuestra sociedad; La población y el consumo per cápita crece y por ende la basura, pero el espacio no y además su tratamiento no es el adecuado (UNMDP, 2016). En nuestro país la generación de residuos y su manejo inadecuado a partir de la falta de cultura ambiental es uno de los problemas de mayor impacto ambiental, “no es muy notorio que exista un gran interés en efectuar una reducción importante en cuanto a la adquisición de productos de corta duración y su disposición final, como base para un manejo sustentable y en busca de la preservación de los recursos naturales” (Vélez *et al.*, 2014).

La Conferencia de las Naciones Unidas para el Desarrollo Sostenible de 1992, estableció la Agenda XXI y en el capítulo 21 recomendó que en materia de residuos sólidos se deba minimizar su generación, reciclarlos, reutilizarlos al máximo, tratarlos, disponerlos adecuadamente y aumentar la cobertura de recolección. “El poliestireno expandido (PE) es utilizado a gran escala como embalaje y envasado de alimentos, entre otros gracias a sus propiedades que lo hacen muy ligero y de bajo costo, pero es considerado como material eterno” (López & Canepa, 2014). “En nuestro país encontramos el unicel, fabricado por la empresa, Industria Colombiana de Porosos, conocido comúnmente como icopor” (Rodríguez *et al.*, 2014).

“Es claro que existe poca conciencia ambiental, dentro las fábricas se presentan los residuos inmersos en los procesos pero se ignora el panorama posterior al ser desechados” (Maldonado & Colombia, 2012). “En conjunto, el porcentaje de recuperación del poliestireno

expandido utilizado en diferentes sectores industriales y domésticos es muy bajo” (Arandes, *et al.*, 2004). Teniendo en cuenta el grado de contaminación ambiental generado con los residuos de poliestireno expandido (PE), a través de la aplicación e implementación de la NTC ISO 14001:2015 norma bajo la cual se realiza el presente estudio de caso se busca diseñar y poner en marcha acciones o planes de mejora basados en el ciclo Deming o ciclo PHVA (Planear, Hacer, Verificar y Actuar) (Cuesta & Liceth, 2015). Todos somos consumidores y responsables de la basura que generamos en relación a la calidad y la cantidad. Por lo tanto, también jugamos un papel fundamental en realizar aportes que contribuyan a dar solución a esta problemática ambiental.

Se requiere encontrar soluciones representativas para la descomposición de dichos residuos en un menor tiempo, buscando minimizar el alto impacto en contaminación ambiental que actualmente acarrearán estos residuos; “lo cual se puede encontrar con la participación de insectos lepidópteros, como la polilla de la cera *Galleria mellonella* Linnaeus (Lepidoptera: Pyralidae), el cual ha sido ampliamente estudiado en el mundo para la biodegradación del poliestireno” (Yang *et al.*, 2018). El gusano de cera *G. mellonella* se alimentan de cera de abejas y su nicho natural es el panal; la polilla pone sus huevos dentro de la colmena, donde los gusanos crecen hasta su etapa de pupa, comiendo cera de abejas.

“El término biodegradación en el campo de los polímeros hace referencia al ataque de microorganismos a estos materiales, proceso a través del cual se obtiene la desintegración del polímero en pequeños fragmentos debido a la ruptura de enlaces en su cadena principal” (Valero *et al.*, 2013). “A la fecha faltan investigaciones realizadas en Colombia y gran parte de Suramérica correspondientes a la biodegradación del PE con el uso de insectos para descomposición de este contaminante ambiental” (Yang *et al.*, 2018). Por lo tanto, hasta donde se conoce este proyecto

será uno de los primeros en exponer en Suramérica, la hipótesis que larvas de *Galleria mellonella* (Lepidóptera: Pyralidae) biodegradan el poliestireno expandido (PE) en condiciones de laboratorio. Se escogió éste tipo de residuo poliestireno expandido, para someter a las pruebas basándonos en su complejidad para la degradación natural y en busca de continuar de cierta manera con la investigación de la Dra. Bertocchini, quien descubrió de manera casual que las larvas de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) son capaces de corroer el PE por las capacidades metabólicas que éstas poseen. Por lo tanto el objetivo de este trabajo es evaluar la biodegradación del poliestireno expandido (PE) por larvas de *Galleria mellonella* (Lepidóptera: Pyralidae) en condiciones de laboratorio.

## **1. MARCO TEORICO**

### **1.1. Polilla de la cera *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae)**

La Polilla de la cera *Galleria mellonella* es una especie de insecto lepidóptero del suborden Glossata es una mariposa de color marrón, en medio del ala anterior tiene una mancha oscura longitudinal; las alas posteriores son de color gris (Fig. 1). “La hembra mide entre 20 y 30 mm de punta a punta de las alas extendidas, y el macho mm menos. La larva es una oruga de color blanco, un poco oscura por la espalda, con la cabeza de color marrón, miden hasta 28 a 30 mm “(Velasco Urdiales, 2017). Durante este tiempo, las orugas se someten a 8-10 etapas de muda e hilan hilos de seda en todas las etapas, pero solo el último estadio hace girar un capullo. Luego, las orugas se convirtieron en pupas, que son de color marrón rojizo oscuro e inmobilizadas en capullos. Las polillas macho son ligeramente más pequeñas y de color más claro que las hembras. “Además, las polillas hembra presentan una trompa bifurcada y palpos labiales que se proyectan hacia adelante,

por lo tanto, los palpos labiales son máximos en las hembras y redondeados en los machos” (Oliveira *et al.*, 2018).



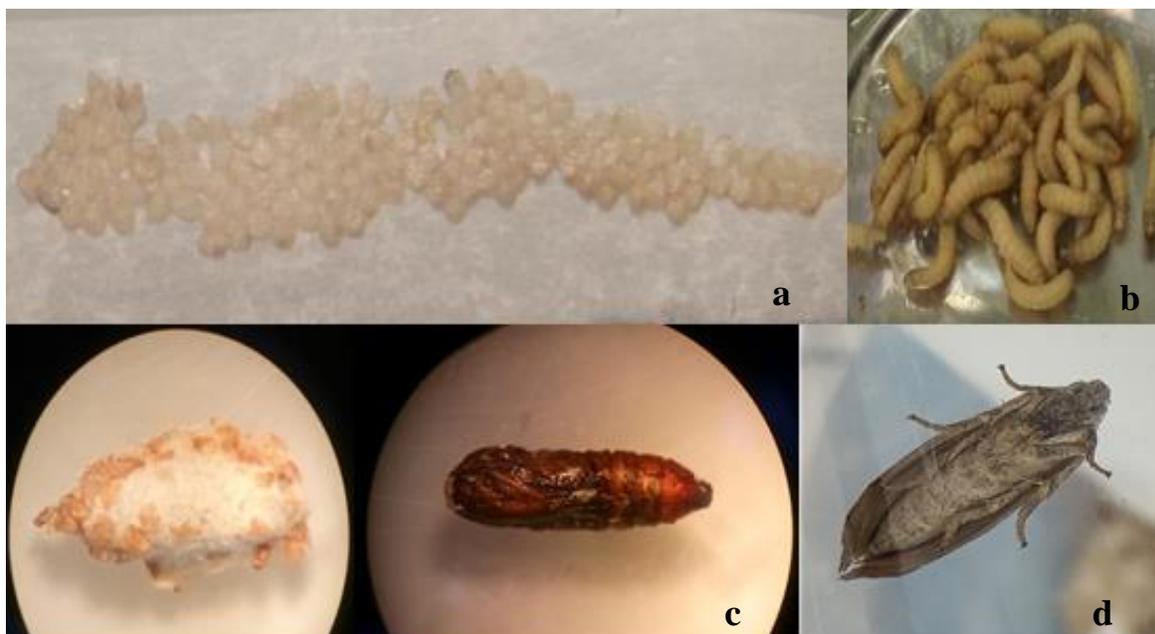
**Figura 1.** Adulto de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) criado en condiciones de laboratorio (Fuente: el autor).

La polilla de cera (*G. mellonella*), es una de las plagas más importantes de las colmenas de abejas, se alimentan de cera de abejas y su nicho natural es el panal; la polilla pone sus huevos dentro de la colmena, donde los gusanos crecen hasta su etapa de pupa, comiendo cera de abejas. “La cera de abejas se compone de una mezcla muy diversa de compuestos lipídicos, incluidos alcanos , alquenos, ácidos grasos y ésteres” (Bombelli *et al.*, 2017). “Se alimenta de la cera, miel y polen almacenados en los panales de las colonias activas de abejas donde construyen galerías de allí su nombre en latín de Gallería” (Salas Otiniano, 2015).

“No está claro si la actividad de digestión de hidrocarburos de *G. mellonella* deriva del propio organismo o de las actividades enzimáticas de su flora intestinal, como ocurre con la digestión por *Plodia interpunctella* (dos cepas bacterianas, *Bacillus* sp. YP1 y *Enterobacter asburiae* YT1)” (Bombelli *et al.*, 2017). Los investigadores aún no saben cómo se produce la

biodegradación, que podría deberse a una bacteria que vive en simbiosis en el intestino del gusano o una enzima, una molécula generada por el insecto.

El Ciclo biológico de *G. mellonella* está entre 40 y 60 días en una temperatura de 21°C; la polilla hembra 2 o 3 días después de ser fecundada, deposita los huevos de aproximadamente 1 mm de diámetro y la puesta suele superar a los 500 huevos. A los 15 – 20 días después de la puesta eclosionan los huevos, a los 21 – 25 días hilan un capullo y a los 10 – 15 días nacen los nuevos adultos (Realpe *et al.*, 2008) (Fig. 2).



**Figura 2.** Estados fisiológicos de *Gallería mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) criada en condiciones de laboratorio **a.** Huevos de *G. mellonella*, **b.** larvas de *G. mellonella*, **c.** Pupas de *G. mellonella*, **d.** Adulto de *G. mellonella* (Fuente: el autor).

## 1.2. Poliestireno expandido (PE)

“El poliestireno expandido (PE) es un polímero vinílico que estructuralmente es una cadena hidrocarbonada,  $-[CH_2-CH(C_6H_5)]_n-$ , con un grupo fenilo ( $C_6H_5$ ). El PE es actualmente el cuarto plástico

más consumido por detrás del poliestireno, el polipropileno y el PVC, además el un residuo contaminante muy resistente a la acción del medio ambiente” (Rodríguez & Ávila, 2015).

El poliestireno expandido se obtiene en perlas por polimerización en suspensión, que se impregnan con un agente expansor, generalmente pentano, a alta presión y temperatura, aunque también se puede llevar a cabo la impregnación con la polimerización, en la pre expansión se calienta con vapor de agua, lo que produce un doble efecto; ablandamiento de las perlas por efecto de la dilatación del pentano que se encuentra dentro de las perlas obtenidas. “En la maduración se enfrían y estabilizan las perlas pre expandidas, condensándose el pentano e introduciéndose aire” (Quintero Peña *et al.*, 2013) “Es un volumen realmente grande para tan poco material y necesita mucho más espacio debido a que está compuesto por 98% de aire y 2% de la materia prima” (Schmidt *et al.*, 2011).

El poliestireno expandido (PE) es materia prima en la industria de la transformación de los artículos para el sector de la construcción, embalaje y envase, entre otras aplicaciones diversas, por sus características de aislante acústico, térmico, de inocuidad y por su baja absorción de agua (Ramo Carpio & De Maria Ruiz, 1988). Su principal aplicación es la fabricación de envases y empaques tanto de uso permanente como de un solo uso (desechables) (Quiñones *et al.*, 2009).

“El poliestireno es considerado como material eterno” (López & Canepa, 2014). Una tonelada de desechos de poliestireno es igual a 100 toneladas de volumen de otros residuos sólidos, adicionalmente el valor de una tonelada reciclada de poliestireno no es nada representativa para todo lo que abarca su recolección (Junca, I (1 de febrero de 2014). “Debido a sus características de baja densidad y de material comprimible acarrea la necesidad de su disminución en cuanto al volumen disponible presente en los sitios de recolección de residuos sólidos urbanos (basureros)” (Quintero Peña *et al.*, 2013).

“Los productos de poliestireno expandido (PE) contienen sustancias químicas cancerígenas tales como el estireno y el benceno, los cuales son altamente tóxicos si son ingeridos, ya que dañan los sistemas nerviosos, los pulmones y los órganos reproductivos”. (Resúmenes de Salud Pública - Estireno (Styrene) Junio 2012). Adicionalmente en los países en vía de desarrollo, los desechos de poliestireno expandido (PE) afectan de manera negativa, como desagrado visual de un parque o vías contaminados con estos desechos, ya que “su volumen es realmente grande para tan poco material y necesita mucho espacio debido a que está compuesto el 98% de aire y el 2% de la materia prima: poliestireno” (Schmidt *et al.*, 2011).

### **1.3. Biodegradación de poliestireno expandido (PE)**

Los productos no biodegradables son aquellos productos que para lograr su descomposición conlleva mucho tiempo, entre ellos están los plásticos pueden llegar a tardar cientos de años e incluso miles causando un perjuicio durante todo el tiempo que tardan en realizar el proceso de degradación. “A pesar que algunos de ellos son reciclables no basta, ya que para que se de ese proceso se necesita que el ser humano intervenga”. (Umaña Gallego, 2007).

Algunos estudios informaron que la biodegradación al realizar la incubación de PE con cepas de Bacillus y Pseudomonas, después de 1 año, el material perdió aproximadamente 2.5% en peso, mientras que no hubo diferencias notables con el no tratado (Arkatkar *et al.*, 2010). Otros estudios manifiestan “la biodegradación bacteriana del material de PE, pero trataron el polímero con ácido” (Rajandas *et al.*, 2012). Otro patrón fue observado con “degradación del PE, lo cual resulta en una pérdida de peso del 10 al 19% después de 1 año usando hongos” (Jeyakumar *et al.*, 2013).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. General**

Evaluar la Biodegradación del poliestireno expandido (PE) por larvas de *Galleria mellonella* (Lepidóptera: Pyralidae) en condiciones de laboratorio.

### **2.2. Específicos**

- Determinar la capacidad de consumo por las larvas de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) sobre el poliestireno expandido (PE).
- Determinar la biodegradación de poliestireno expandido (PE) por las larvas de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae).

### 3. METODOLOGIA

#### 3.1. Sitio de estudio

Este estudio se realizó en el laboratorio multipropósito de la Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD sede José Celestino Mutis, localizada en la Calle 14 Sur No. 14-23 Piso Bogotá.

#### 3.2. Obtención de Polilla de la cera *Gallería mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae)

Las larvas *G. mellonella* para todos los experimentos fueron obtenidas de las crías de manutención presentes en el laboratorio multipropósito de la UNAD (Fig. 3).



#### b DIETA *Galleria mellonella*.

Producto	Cantidad en gr
Salvado de Trigo	300
Levadura de Cerveza	100
Cera de abejas	50
Glicerina	250
Miel de abejas	250
Germen de trigo	250

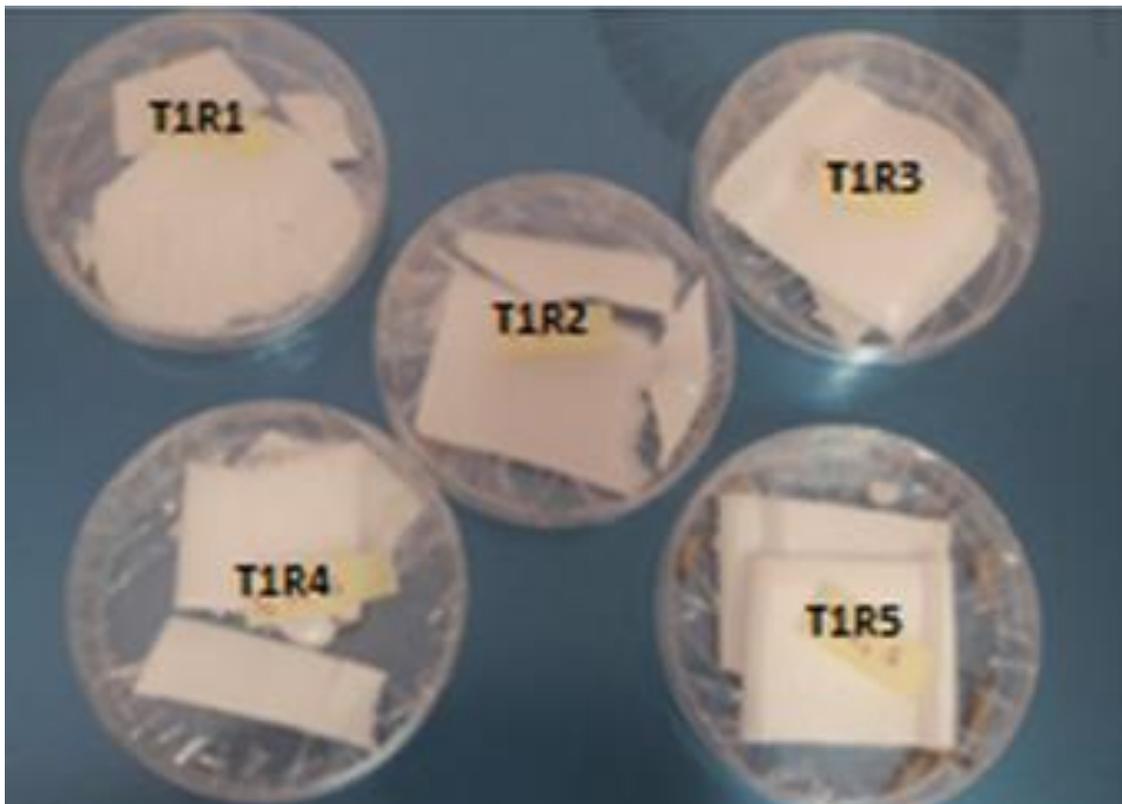
**Figura 3.** Cría de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) en condiciones de laboratorio. **a.** Condiciones para el crecimiento de *G. mellonella* **b.** Dieta de *G. mellonella* (Fuente: el autor).

#### 3.3. Obtención de poliestireno expandido

El poliestireno expandido (PE) fue obtenido de desechos de casa, al cual se le retiro los residuos orgánicos presentes.

### 3.4. Capacidad de consumo y biodegradación

Para la capacidad de consumo y la biodegradación se siguió una metodología ligeramente modificada de Kilic (2018), donde se estableció un diseño completamente al azar para (DCA) con 4 tratamientos replicados 5 veces, así: 1) 10 larvas, 2) 20 larvas, 3) 30 larvas y 4) 40 larvas, (Fig. 4). Por cada tratamiento se colocó 5 mg de poliestireno expandido (PE), material que fue seleccionado verificando que no presentara ningún tipo de contaminante o deterioro notable, con la finalidad de observar con mayor claridad los signos de biodegradación.



**Figura 4.** Tratamientos replicados 5 veces, así: 1) 10 larvas, 2) 20 larvas, 3) 30 larvas y 4) 40 larvas; por cada tratamiento se colocó 5 gramos de poliestireno expandido (PE) (Fuente: el autor).

Se colocaron larvas del III y IV instar de *G. mellonella* (Fig. 5), alimentadas previamente

con la dieta establecida (Fig. 3a.), las larvas fueron encubadas en cajas Petri, bajo condiciones controladas a una temperatura de 24°C, en fotoperiodo oscuro durante 1 mes y 1 semana. Es claro que el comportamiento y desarrollo de las poblaciones de insectos, están influenciados por varios factores abióticos y uno de los más importantes es la temperatura. Esta es la que determina los límites de las actividades biológicas de los insectos, de tal manera que las temperaturas óptimas y los umbrales máximos y mínimos pueden ser estimados para todos los procesos principales de la vida de los insectos. Sin embargo, “los requerimientos térmicos pueden ser diferentes según las especies y las etapas de desarrollo” (Marquina Bazan, 2016).



**Figura 5.** Larvas de *Gallería mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) en III instar, en condiciones de laboratorio (Fuente: el autor).

Fueron seleccionadas larvas de *G. mellonella* de III y IV instar, debido a que cuando se usó larvas de I instar en estudio, se colocó 20 larvas de I instar en copas con 0.5 g de poliestireno expandido, lo cual nos dio un resultado negativo para la biodegradación del poliestireno ya que a los 12 días el 100% de larvas *G. mellonella* no presentaba supervivencia con solo el consumo de poliestireno expandido (Fig. 6).



**Figura 6.** Estudio con 20 larvas en I instar, con 5 gramos de poliestireno expandido (PE) (Fuente: el autor).

Las larvas de *G. mellonella* a partir del III y IV instar fueron alimentadas con poliestireno expandido (PE) como dieta única. Posteriormente cada 7 día se realizó toma de datos de: El peso del poliestireno expandido (PE) (Fig. 7), peso de los excretos solidos de las las larvas de *G. mellonella* (Fig. 8) y el porcentaje de biodegradación de poliestireno expandido (PE) en cada uno de los tratamiento, hasta la fase de pupa de la *G. mellonella*.



**Figura 7.** Pesos de poliestireno expandido (PE) semana 1 *Galleria mellonella* (Lepidóptera: Pyralidae) semana 1 en condiciones de laboratorio (Fuente: el autor).



**Figura 8.** Peso de excreta solida de *Galleria mellonella* (Lepidóptera: Pyralidae) semana 1 en condiciones de laboratorio (Fuente: el autor).

Los instrumentos que se utilizaron dentro del proceso de la investigación, fueron estereoscopio para visualización del estado de los huevos y las larvas en el III y IV de instar *G. mellonella*, la balanza electrónica para la toma del peso del poliestireno expandido (PE) y peso de los excretos solidos de las las larvas de *G. mellonella*.

### **3.5. Análisis estadístico**

Todos los datos fueron analizados con R 3.3.1 (R Development Core Team 2017). Para conocer si los datos cumplen la normalidad y homocedasticidad, se realizaron los análisis de Shapiro–Wilk (Shapiro and Wilk, 1965) y Levene (“car” package in R) respectivamente. Para la capacidad de consumo del poliestireno expandido (PE) se realizó un análisis de varianza ANOVA, y como fue significativo se realizó un análisis de Tukey’s HSD ( $\alpha = 0.05$ ) para conocer las diferencias de entre los tratamientos. Además para la capacidad de consumo se realizó un análisis de regresión para conocer si el consumo es directamente proporcional o no de acuerdo al número de larvas liberadas.

#### 4. RESULTADOS

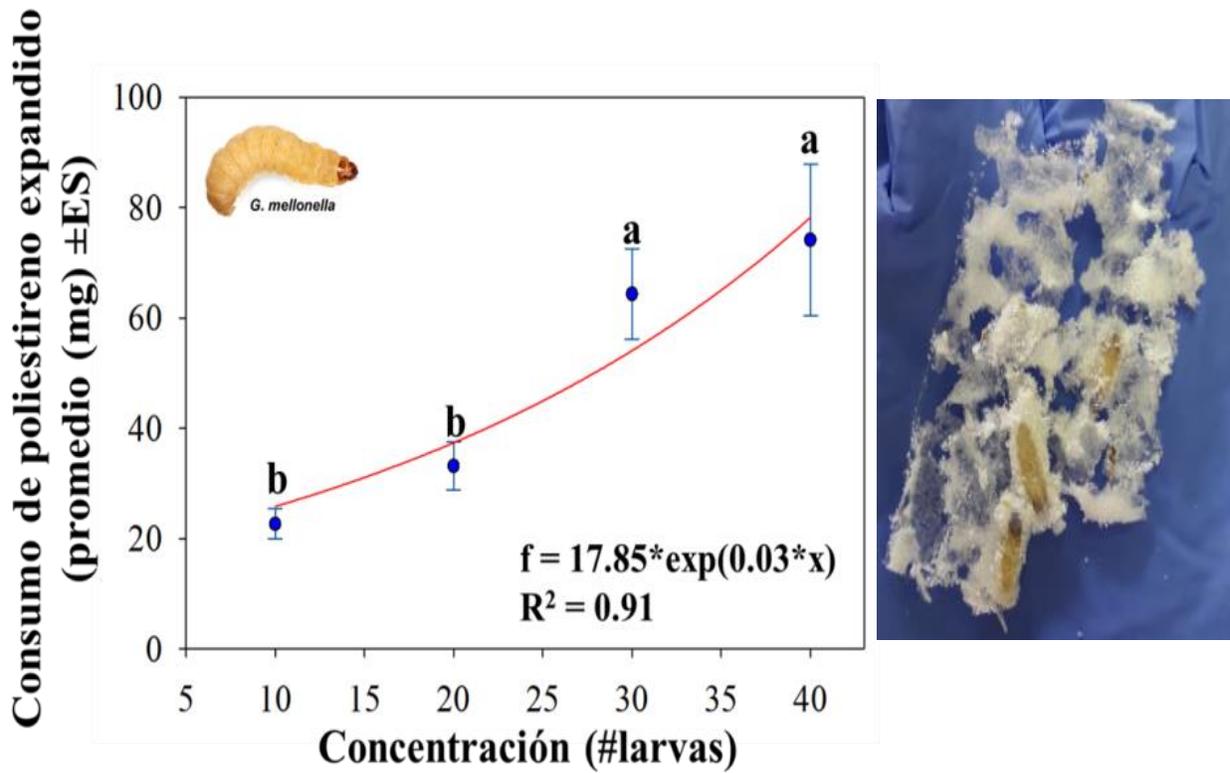
La biodegradación del poliestireno expandido (PE) por larvas de *Gallería mellonella* (Lepidóptera: Pyralidae) en condiciones de laboratorio, durante la investigación mostro que la larva *G. mellonella* presenta un efecto significativo en los diferentes tratamientos sobre el consumo y la biodegradación de poliestireno expandido (PE), debido a que la probabilidad es menor de 0.001.

**Tabla 1.** ANOVA del efecto de los diferentes tratamientos (número de larvas) sobre el consumo y la biodegradación del poliestireno expandido (PE) por *G. mellonella*.

<b>Resultados Two-way ANOVA</b>				
	<b>Variable</b>	<b>gl</b>	<b>F</b>	<b>P<sup>a</sup></b>
Consumo	Tratamientos	3	21,14	<b>&lt;0.001</b>
Biodegradación	Tratamientos	3	75,47	<b>&lt;0.001</b>

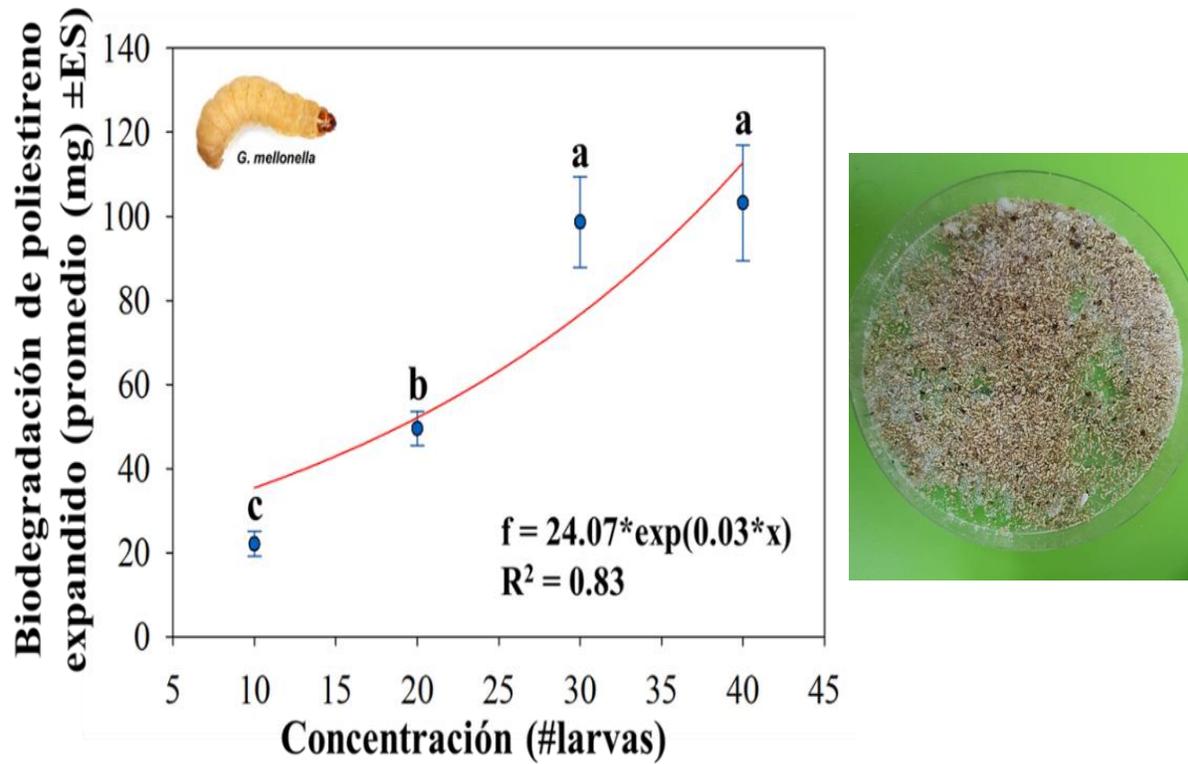
<sup>a</sup>Números en negrilla indican diferencias significativas ( $\alpha = 0,05$ ).

Se realizó el Test de Tukey HSD ( $\alpha$  0.05) para mirar cual tratamiento tenia efecto sobre el consumo y sobre la biodegradación del poliestireno expandido (PE), aquí se observa que cuando tenemos mayor número de larvas, es cuando tenemos mayor consumo y mayor biodegradación. Esto se ajusta a un modelo exponencial debido a que a mayor concentración (número de larvas), mayor consumo y biodegradación (Fig. 11).



**Figura 9.** Consumo de poliestireno expandido por larvas de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos Tukey HSD ( $\alpha$  0.05) (Fuente: el autor).

Esta investigación muestra que 40 larvas de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) en 168 horas consumen 103,88 mg poliestireno expandido (PE), degradando el 84,77% de poliestireno expandido (PE) consumido y generando un excretas solidas de 18,61 mg (Fig. 10).



**Figura 10.** Biodegradación de poliestireno expandido por larvas de *Galleria mellonella* (Lepidóptera: Pyralidae) **a.** Letras diferentes indican diferencias significativas de biodegradación entre los tratamientos Tukey HSD ( $\alpha$  0.05). **b.** Excretas solidas generadas por las larvas de *G mellonella* (Fuente: el autor).

## 5. DISCUSIÓN

A pesar de que se cree que el PE no es susceptible a la biodegradación, algunos intentos se han enfocado en encontrar el agente que promueva o genere la biodegradación del PE, utilizado a gran escala como embalaje y envasado de alimentos, entre otros gracias a sus propiedades que lo hacen muy ligero y de bajo costo, pero es considerado como material eterno (López & Canepa, 2014). Por ejemplo se observó degradación de PE después del tratamiento e incubación de ácido nítrico durante 3 meses en un cultivo líquido de hongo *Penicillium simplicissimum* (Yamada *et al.*, 2001). Se han encontrado también varias técnicas químicas y térmicas, que están disponibles para el reciclaje de residuos de PE. Sin embargo, las técnicas químicas por lo general implican el uso de disolventes peligrosos (Poletto *et al.*, 2011).

Se han estudiado cinco especies de hongos (*Aspergillus niger*, *Aspergillus versicolor*, *Penicillium funiculosum*, *Chaetomium globosum*, *Aspergillus flavus*) los cuales se analizaron para determinar el crecimiento después de Protocolos de prueba ASTM C1338; los resultados mostraron que en condiciones ideales de crecimiento de laboratorio, los hongos no crecieron en ninguna de las piezas de prueba; este resultado es respaldado por Hocking (1991), quien informó que los productos de espuma PS son inertes a la biodegradación. Este resultado experimental también fue similar al resultado obtenido por Kaplan *et al.* (1968) y Gautam *et al.* (2007), quienes llevaron a cabo la biodegradación experimentos con polímeros de PS utilizando diferentes especies de hongos.

También ha habido informes de degradación de PE en el intestino de otros insectos omnívoros, como en las larvas de las polillas de la comida india (Zhou, 1996), también en los gusanos de la harina *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae), en el cual se reveló dos bacterias *Citrobacter* sp. y *Kosakonia* sp, fuertemente asociadas con la biodegradación del PE (Yang *et al.*, 2015). En el gusano de cera *G. mellonella* lo que puede ocurrir es que el intestino de

este insecto permite ampliamente la degradación de los plásticos recalcitrantes (Bombelli *et al.*, 2017), sin embargo la evidencia de degradación es preliminar se necesita un mayor estudio para la confirmación.

La biología de la polilla *G. mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae), ha sido estudiada y pueden completar su desarrollo en diferentes tipos de alimentos (Coskun *et al.*, 2006). Estas polillas de cera se utilizan en algunos aspectos beneficiosos, como lo es para deshacerse de los desechos plásticos (Bombelli *et al.*, 2017). Aunque faltan estudios que afirmen que el ciclo de vida no es afectado en ninguna etapa

Los resultados de este proyecto de investigación indican que larvas de *G. mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) pueden ser una fuente prometedor para la biodegradación del poliestireno expandido (PE). Este es un tema oportuno ya que en otros resultados se han encontrado que las larvas de la polilla *G. mellonella* son capaces de degradar el plástico (Bombelli *et al.*, 2017). Paolo Bombelli y Christopher Howe de la Universidad de Cambridge en el Reino Unido, decidieron llevar a cabo un experimento cronometrado; alrededor de un centenar de larvas de '*Galleria mellonella*' fueron colocadas en una bolsa de plástico, la típica de los supermercados. “Los agujeros comenzaron a aparecer apenas 40 minutos después y tras 12 horas hubo una clara reducción en la masa de plástico de la bolsa y se produjo etilenglicol. Bertocchini y sus colegas Paolo Bombelli y Christopher Howe, realizaron análisis espectroscópicos para demostrar que los enlaces químicos en el plástico se rompían. El análisis reveló que los gusanos transformaban el polietileno en etileno-glicol, un producto fácilmente degradable. "El gusano produce algo que rompe el enlace químico, tal vez en sus glándulas salivales o una bacteria simbiótica en su intestino. En estudio futuros para este trabajo se buscará identificar estos procesos moleculares y ver si podemos aislar la enzima responsable” (Bertocchini *et al.*, 2018).

En el desarrollo del proyecto se evidencia que el consumo de PE por larvas de *G. mellonella* entrega resultados positivos con respecto a la biodegradación de este material eterno, siempre y cuando se tenga en cuenta que el estado ideal de la larva de *G. mellonella*, para que pueda realizar una mejor biodegradación del poliestireno expandido (PE) es a partir del instar III y IV, debido a que estos estados les permiten estar en condiciones aptas para tener de alimento solo el poliestireno expandido (PE), también su mordedura es mucho más fuerte, en comparación con la larva *G. mellonella* a partir del instar I, la cual no posee mandíbulas grandes y adicionalmente no presentar supervivencia con solo el consumo de poliestireno expandido (PE). Lo cual sugiere que las larvas de *G. mellonella*, criadas en condiciones de laboratorio y con dieta artificial si son capaces de consumir y biodegradar el PE, esto respalda lo reportado por Bombelli et al. (2017) quienes encontraron que las larvas que habitan en su medio natural si son capaces de asimilar y alimentarse de este poliestireno. Por el contrario Mason & Raffa (2014), afirman que el cambio de dieta afecta negativamente la diversidad microbiana que habita en el interior de larvas de lepidópteros.

La temperatura optima del lepidóptero *G. mellonella* para poder obtener mejores resultados en la biodegradación del poliestireno expandido (PE) es de 26°C debido a que es un ambiente donde pueden adaptarse tranquilamente. Así mismo Fransico et al. (2001), registraron que 25°C es la temperatura más apropiada para el desarrollo larval de *G. mellonella*.

El gusano de cera de miel *G. mellonella* pueden masticar, comer y penetrar diversos materiales de embalaje de plástico (Bombelli et al., 2017) hace falta analizar el destino final que se le puede dar a las excretas solidas que generan al consumir como alimento poliestireno expandido (PE). Lo cual afirma lo que dijo Paolo Bombelli se necesita más trabajos para perfilar a los residentes del intestino del insecto, incluidos hongos y virus, identificar los microorganismos específicos que juegan un papel clave en la biodegradación de la PE (Bombelli et al., 2017).

## 6. CONCLUSIONES

- La concentración (# de larvas) tiene una influencia significativa, sobre el consumo y biodegradación del poliestireno expandido (PE) generado por *G mellonella*.
- Las larvas de *G. Mellonella* a partir del III instar, tienen la capacidad de alimentarse del poliestireno expandido (PE) hasta llegar a adulto.
- Las larvas en Instar I y II no presentan la capacidad de sobrevivir siendo alimentadas solo por poliestireno expandido (PE).
- A mayor nivel de temperatura entre los 21°C y 26°C las larvas realizan más consumo de poliestireno en menos tiempo.

## **7. RECOMENDACIONES**

- Se recomienda realizar más investigaciones, teniendo en cuenta la rápida tasa de biodegradación reportada aquí en este proyecto, estos hallazgos tienen potencial para aplicaciones biotecnológicas significativas.
- Se recomienda realizar investigación de los compuestos de las excretas sólidas, para darle un buen destino a las mismas.
- Se recomienda realizar investigación en varias condiciones térmicas, para afirmar el mejor desempeño de estos lepidópteros.
- Se recomienda realizar el análisis del costo de dieta que se les suministra a los lepidópteros durante el periodo de los 3 primeros instar, frente a valor del poliestireno expandido (PE) biodegradado.

## 8. Referencias Bibliográficas

- Arkatkar, A., Juwarkar, A. A., Bhaduri, S., Uppara, P. V., & Doble, M. (2010). Growth of *Pseudomonas* and *Bacillus* biofilms on pretreated polypropylene surface. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 64(6), 530-536.
- Barenboim, C. A., & Zamler, D. (2017). Impacto socioambiental en la creación de nuevas áreas urbanas en la ciudad de Rosario, Argentina: 2005-2017. *Revista Ciudades, Estados y Política*, 4(2), 51-66.
- Brandon, A. M., Gao, S. H., Tian, R., Ning, D., Yang, S. S., Zhou, J. & Criddle, C. S. (2018). Biodegradation of polyethylene and plastic mixtures in mealworms (larvae of *Tenebrio molitor*) and effects on the gut microbiome. *Environmental science & technology*, 52(11), 6526-6533.
- Bombelli, P., Howe, C. J., Bertocchini, F. (2017). Polyethylene bio-degradation by caterpillars of the wax moth *Galleria mellonella*. *Current Biology*, 27: 292-293.
- Carpio, M. R., & de María Ruiz, M. R. (1988). *Ingeniería de los materiales plásticos*. Díaz de Santos.
- Coskun, M., Kayis, T., Sulanc, M. y Ozalp, P. (2006). Efectos de diferentes niveles de panal y sacarosa en el desarrollo de larvas de polilla de cera mayor *Galleria mellonella*. *Revista Internacional de Agricultura y Biología*, 8 (6), 855-858.
- Cuesta, M., & Liceth, G. Diagnóstico y planificación del sistema de gestión ambiental (SGA) de la empresa Preflex SA ubicada en Soacha-Cazuca, según la norma NTC ISO 14001: 2015.
- De Rio, O. D. (1992). *Medio Ambiente y Desarrollo*. Río de Janeiro, 14.

- Doucet, JP y Doucet-Panaye, A. (2014). Estudio de la relación estructura-actividad de los inhibidores de trifluorometilcetona de la hormona esterasa juvenil de insectos: comparación de varios métodos de clasificación. *SAR y QSAR en Investigación Ambiental*, 25 (7), 589-616.
- Estrada, J., & Villanueva, C. (2016). Tratamiento de residuos peligrosos generados en laboratorios químicos. *Revista del Instituto de Investigación de la Facultad de Ingeniería Geológica, Minera, Metalúrgica y Geográfica*, 18(35).
- Fávero, K. (2009). Biología e técnicas de criação de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) e *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae).
- Fortuny, J. (1996). El tractament de l'espai i el volum al currículum de l'Àrea Visual i Plàstica de l'ensenyament primari i secundari obligatori. Una proposta crítica. IX Trobada de Plàstica. Barcelona: Institut de Ciències de l'Educació de la Universitat Barcelona, 11.
- Gautam, R., Bassi, A. S., & Yanful, E. K. (2007). A review of biodegradation of synthetic plastic and foams. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 141(1), 85-108.
- Gerhardt, P. y Lindgren, D. (1954). Penetración de películas de embalaje: materiales de película utilizados para el envasado de alimentos sometidos a prueba de resistencia a algunos insectos comunes de productos almacenados *Agricultura de California*, 8 (6), 3-4.
- Hernandez, O. A. B., Quiroz, E. T., & Prieto, E. M. (2017). Simulación de un sistema de control de temperatura en un reactor de pirólisis de residuos plásticos urbanos. *Ingenium*, 18(36), 110-127.

- Hocking, M. B. (1991, February). Paper versus polystyrene: a complex choice. Seminar Organising Committee.
- Jeyakumar, D., Chirsteen, J., & Doble, M. (2013). Synergistic effects of pretreatment and blending on fungi mediated biodegradation of polypropylenes. *Bioresource technology*, 148, 78-85.
- Jiménez Bautista, Y. (2011). Cuantificación de enzimas de resistencia del complejo del gorgojo de las harinas *Tribolium castaneum* (Herbst) y *Tribolium confusum* (Duval) (Coleóptera: Tenebrionidae).
- Jorjão, AL, Oliveira, LD, Scorzoni, L., Figueiredo-Godoi, LMA, Cristina A. Prata, M., Jorge, AOC y Junqueira, JC (2018). De las polillas a las orugas: condiciones ideales para la cría de *Galleria mellonella* para estudios microbiológicos in vivo. *Virulencia*, 9 (1), 383-389.
- JUNCA, Isabel. El icopor, una amenaza ambiental creciente para Bogotá. *El Espectador*, 2014, vol. 1
- Kilic, E. (2018). A Environmental Friendly Insect is *Tenebrio molitor* (Tenebrionidae: Coleoptera). *Advances in Ecological and Environmental Research*, 1: 58-62.
- Kong, HG, Kim, HH, Chung, JH, Jun, J., Lee, S., Kim, HM. & Ryu, CM (2019). El hologenoma *Galleria mellonella* apoya el metabolismo independiente de la microbiota de la cera de abejas de hidrocarburos de cadena larga. *Informes celulares*, 26 (9), 2451-2464.
- López, C. M., & Canepa, J. R. L. (2014). Poliestireno expandido (EPS) y su problemática ambiental. *Kuxulkab'*, 19(36).

- Marquina Bazan, R. A. (2016). Efecto de la temperatura en el ciclo de desarrollo de *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae).
- Mundial, B. (1992). Informe sobre el desarrollo mundial 1992. Desarrollo y medio ambiente. Banco Mundial.
- Peña, C. H. Q. (2015). Reciclaje termo-mecánico del poliestireno expandido (Icopor), como una estrategia de mitigación de su impacto ambiental en rellenos sanitarios. *Informador Técnico*, 79(2), 81
- Poletto, M., Dettenborn, J., Zeni, M., & Zattera, A. J. (2011). Characterization of composites based on expanded polystyrene wastes and wood flour. *Waste Management*, 31(4), 779-784.
- Quintero Peña, C. H. (2013). Reciclaje termo-mecánico del poliestireno expandido (Icopor), como una estrategia de mitigación de su impacto ambiental en rellenos sanitarios.
- Quiñones, I. J. (2009). Vigilancia tecnológica aplicada para identificar las tendencias tecnológicas en los biopolímeros y plásticos degradables. *Informador técnico*, (73), 53-65.
- Rajandas, H., Parimannan, S., Sathasivam, K., Ravichandran, M., & Yin, L. S. (2012). A novel FTIR-ATR spectroscopy based technique for the estimation of low-density polyethylene biodegradation. *Polymer Testing*, 31(8), 1094-1099.
- R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing: R Foundation for Statistical Computing. (Vienna, Austria, 2016).
- Realpe, F. J., Bustillo, A. E., & López, J. C. (2008). Optimización de la cría de *Gallería mellonella* L para la producción de nematodos entomopatógenos parásitos de la broca del café.

- Realpe Aranda, F. J., Bustillo Pardey, A. E., & López Núñez, J. C. Optimización de la cría de *Galleria mellonella* (L.) para la producción de nematodos entomopatógenos parásitos de la broca del café.
- Revilla, S.M. (2018). Eficiencia del homogenizado proveniente del tracto digestivo de la *Galleria mellonella* en la biodegradación de dos tipos de polietileno de baja densidad. (Trabajo de grado). Universidad Cesar Vallejo. Lima, Perú.
- Ribera, I., & Foster, G. (1997). El uso de artrópodos como indicadores biológicos. Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa, 20, 265-276.
- Rivera, D. L., Montoya, P. R., Zapata, M. A. T., Ordóñez, K. V., Castrillón, L. J. R., Salazar, Y. V., & Carmona, M. E. R. (2014). Tratamiento de residuos de poliestireno expandido utilizando solventes verdes. Revista Investigaciones Aplicadas, 8(1), 1-9.
- Rodríguez, A. J. J., & Ávila, J. M. R. (2015). Análisis cromatográfico de combustibles obtenidos a partir de desechos plásticos. JÓVENES EN LA CIENCIA, 1(2), 1865-1868.
- Rodríguez, C. A. G. (2014). Icopor o unisel le ponen el cáncer a tu comida. Material de uso diario que nos mata poco a poco. MasD Revista Digital de Diseño, 8(15).
- Salas Otiniano, M. A. (2015). Efecto de dietas artificiales en la crianza de *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae).
- Schmidt, P.N.S.; Cioffi, M.O.H.; Voorwald, H.J.C. and Silveria, J.L. 2011. Flexural test on recycled polystyrene. Procedia Engineering, 10: 930-935.

- Shapiro, S. S. & Wilk, M. B. (1965). An Analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*, 52, 591–611.
- Slack, N., & Brandon-Jones, A. (2018). *Operations and process management: principles and practice for strategic impact*. Pearson UK.
- Swamy, BH (2008). Bionomía y biometría de la polilla de cera mayor *Galleria mellonella* Linnaeus. *Asian Journal of Bio Science*, 3 (1), 49-51.
- Torres, R., & Macol, S. (2018). Eficiencia del homogenizado proveniente del tracto digestivo de la *Galleria Mellonella* en la biodegradación de dos tipos de polietileno de baja densidad, Lima-2018.
- Valero-Valdivieso, M. F., Ortégón, Y., & Uscategui, Y. (2013). Biopolymers: Progress and prospects. *Dyna*, 80(181), 171-180.
- Velasco Urdiales, M. J. (2017). Biodegradación del polietileno de baja densidad, mediante el uso del lepidóptero *Gallería mellonella* bajo condiciones térmicas controladas en el 2017.
- Vélez de López, M. T., & Padauí, B. (2014). *Sostenibilidad ambiental: Nuestra última frontera*. Editorial Universitaria. Universidad de Cartagena.
- Wu, Q., Tao, H., & Wong, M. H. (2018). Feeding and metabolism effects of three common microplastics on *Tenebrio molitor* L. *Environmental geochemistry and health*, 1-10.
- Yang, Y.; Yang, J.; Wu, W.; Zhao, J.; Song, Y.; Gao, L.; Yang, R.; Jiang, L. (2015). Biodegradation and Mineralization of Polystyrene by Plastic-Eating Mealworms. 2. Role of Gut Microorganisms. *Environ. Sci. Technol*, 49 (20), 12087–12093.

- Yang, Y., Yang, J., Wu, WM, Zhao, J., Song, Y., Gao, L. & Jiang, L. (2015). Biodegradación y mineralización de poliestireno por gusanos de harina que comen plástico: Parte 1. Caracterización química y física y pruebas isotópicas. *Ciencia y tecnología ambiental*, 49 (20), 12080-12086.
- Yang, S. S., Brandon, A. M., Flanagan, J. C. A., Yang, J., Ning, D., Cai, S. Y. & Ren, N. Q. (2018). Biodegradation of polystyrene wastes in yellow mealworms (larvae of *Tenebrio molitor* Linnaeus): Factors affecting biodegradation rates and the ability of polystyrene-fed larvae to complete their life cycle. *Chemosphere*, 191, 979-989.
- Zhou, J.; Bruns, M. A.; Tiedje, J. M. (1996). DNA recovery from soils of diverse composition. *412 Appl. Environ. Microbiol*, 62 (2), 316–322.