



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLOGÍA  
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE MICROBIOLOGÍA Y  
PARASITOLOGÍA

**Degradación de poliestireno expandido por bacterias  
cultivables asociadas al intestino de larvas de *Tenebrio  
molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), Lambayeque 2022**

TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO (A) EN  
BIOLOGÍA – MICROBIOLOGÍA – PARASITOLOGÍA

PRESENTADA POR:

Bach. Luis Miguel Caruajulca Marin  
Bach. Katherin Yuliana Huamán Ventura

LAMBAYEQUE, PERÚ  
2024

**Degradación de poliestireno expandido por bacterias cultivables asociadas al intestino de larvas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), Lambayeque 2022**

TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADA Y LICENCIADO EN BIOLOGÍA - MICROBIOLOGÍA - PARASITOLOGÍA

**APROBADA POR:**

Dra. Graciela Olga Albino Cornejo



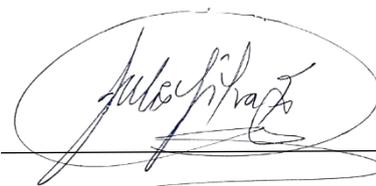
**PRESIDENTA**

Dra. Gianina Llontop Barandiaran



**SECRETARIO**

Lic. Julio César Silva Estela



**VOCAL**

Dra. Carmen Rosa Carreño Farfán



**ASESORA**

LAMBAYEQUE, PERÚ  
2024

## AGRADECIMIENTO

LUIS MIGUEL CARUAJULCA MARIN

### **A Dios**

Por la sabiduría, la fuerza y la perseverancia que me han brindado para alcanzar este logro académico.

### **A mis padres**

Maira Marin y Lucas Caruajulca, mis pilares fundamentales en mi vida, gracias por su apoyo incondicional y por inculcarme desde temprana edad el valor del estudio.

### **A mis hermanos**

Alexander y Jhampier, compañeros de vida y fuente de inspiración para seguir adelante en los momentos difíciles

### **A mi asesora**

Dra. Carmen Carrero, expreso mi mas sincero agradecimiento por su invaluable guía y apoyo durante el desarrollo de esta tesis.

KATHERIN YULIANA HUAMÁN VENTURA

### **A mi asesora**

Dra. Carmen Carreño, por su apoyo, paciencia y dedicación. Su guía constante y experiencia han sido fundamental en el presente trabajo.

### **A Dios**

Por darme la fortaleza necesaria para seguir adelante en momentos de dificultad.

### **A mis padres**

Por su guía y apoyo incondicional que siempre me han brindado. Gracias por su amor, consejos, por motivarme a perseguir mis metas y enseñarme a nunca darme por vencida frente a las adversidades.

### **Al Centro de Investigación para el Fomento Sustentable (CIFOS)**

Por brindarnos y permitirnos utilizar sus instalaciones para realizar nuestra tesis, su apoyo ha sido fundamental para el éxito de nuestra investigación.

## ÍNDICE

|  |    |
|--|----|
| I. INTRODUCCIÓN .....  | 9  |
| II. DISEÑO TEÓRICO .....   | 12 |
| 2.1 Antecedentes .....   | 12 |
| 2.2 Bases teóricas .....   | 15 |
| III. DISEÑO METODOLÓGICO .....   | 18 |
| 3.1 Diseño de contrastación de hipótesis .....   | 18 |
| 3.2 Población y muestra .....  | 18 |
| 3.3 Técnica, instrumentos, equipos y materiales .....  | 18 |
| 3.4 Procedimiento .....  | 18 |
| 3.4.1 Cuantificación de las bacterias cultivables asociadas al intestino de larvas de <i>T. molitor</i> , Lambayeque 2022 .....  | 18 |
| 3.4.2 Selección de las bacterias degradadoras de EPS emulsionado, según el tiempo requerido para la utilización del polímero como fuente de carbono y energía, Lambayeque 2022 ..... | 20 |
| 3.4.3 Identificación fenotípica del género de las bacterias degradadoras de EPS emulsionado asociadas al intestino de larvas de <i>Tenebrio molitor</i> , Lambayeque 2022 .....      | 24 |
| 3.4.4 Comparación de la eficiencia en la degradación del EPS emulsionado por las bacterias seleccionadas .....   | 25 |
| 3.5 Procesamiento y análisis de datos .....  | 25 |
| IV. RESULTADOS .....   | 26 |
| 4.1 Número de bacterias cultivables asociadas al intestino de larvas de <i>Tenebrio molitor</i> , Lambayeque 2022 .....  | 26 |
| 4.2 Bacterias degradadoras de EPS emulsionado seleccionadas según el tiempo requerido para la utilización del polímero como fuente de carbono y energía, Lambayeque 2022 .....       | 26 |
| 4.3 Géneros de bacterias degradadoras de EPS emulsionado asociadas al intestino de larvas de <i>T. molitor</i> , Lambayeque 2022 .....   | 31 |
| 4.4 Comparación de la eficiencia en la degradación del EPS emulsionado por bacterias seleccionadas, Lambayeque 2022 .....  | 31 |
| V. DISCUSIÓN .....   | 37 |
| VI. CONCLUSIONES .....   | 42 |
| VII. RECOMENDACIONES .....   | 43 |
| VIII. REFERENCIAS .....  | 44 |
| IX. ANEXOS .....   | 50 |

### Índice de tablas

|  |    |
|--|----|
| Tabla 1. Rango de UFC g <sup>-1</sup> de microorganismos cultivables asociados al intestino de larvas de <i>Tenebrio molitor</i> según procedencia, Lambayeque 2022.....                             | 27 |
| Tabla 2. Rango de morfotipos de colonias bacterianas aisladas en agar nutritivo a partir del intestino de larvas de <i>Tenebrio molitor</i> , Lambayeque 2022.....                                   | 28 |
| Tabla 3. Rango de morfotipos de colonias bacterianas aisladas en agar Mc Conkey a partir del intestino de larvas de <i>Tenebrio molitor</i> , Lambayeque 2022.....                                   | 28 |
| Tabla 4. Bacterias Gram positivas y Gram negativas según el agar de aislamiento a partir del intestino de larvas de <i>Tenebrio molitor</i> , Lambayeque 2023.....                                   | 29 |
| Tabla 5. Número de cultivos de bacterias según la densidad óptica en el caldo mínimo basal libre de carbono con EPS emulsionado y glucosa como fuentes de carbono, Lambayeque 2023.....              | 30 |
| Tabla 6. Bacterias seleccionadas por alcanzar la mayor densidad óptica en el caldo mínimo basal con EPS emulsionado como fuente de carbono, Lambayeque 2023.....                                     | 30 |
| Tabla 7. Tiempo requerido para la reducción del indicador por bacterias cultivadas con caldo mínimo basal libre de carbono con EPS y glucosa como fuentes de carbono y energía, Lambayeque 2023..... | 33 |
| Tabla 8. Porcentaje de disminución del peso del EPS emulsionado utilizado como fuente de carbono por cinco bacterias intestinales de <i>Tenebrio molitor</i> , Lambayeque 2023.....                  | 35 |
| Tabla 9. Peso perdido, tasa de reducción y vida media del EPS residual utilizado como fuente de carbono por cinco bacterias intestinales de <i>Tenebrio molitor</i> , Lambayeque 2023.....           | 36 |

## Índice de figuras

|  |    |
|--|----|
| Figura 1. Larvas de <i>T. molitor</i> provenientes del centro de comercialización (a), de una crianza en laboratorio con dieta mixta de salvado de trigo y EPS (b) y con dieta única de EPS (c), Lambayeque 2022.....  | 19 |
| Figura 2. Proceso de desinfección de larvas de <i>T. molitor</i> , inactivación (a), inmersión en etanol (b), enjuague con solución salina (c), secado (d), Lambayeque 2022.....                                       | 21 |
| Figura 3. Tratamiento del contenido intestinal de <i>T. molitor</i> : larva desinfectada (a), extracción del intestino (b), homogenización (c), diluciones del contenido intestinal (d), Lambayeque 2022.....          | 22 |
| Figura 4. Obtención de láminas de poliestireno expandido emulsionado, pesado (a), adición de solvente (b), en frasco ámbar (c), láminas en placas de Petri (d), Lambayeque 2022.....                                   | 23 |
| Figura 5. Colonias de bacterias del contenido intestinal de <i>Tenebrio molitor</i> desarrolladas en agar para recuento, Lambayeque 2022.....  | 27 |
| Figura 6. Frecuencia de bacterias Gram positivas y Gram negativas aisladas del intestino de larvas de <i>Tenebrio molitor</i> , Lambayeque 2023.....   | 29 |
| Figura 7. Coloración observada por la reducción del indicador TTC por bacterias cultivadas con glucosa (a) y EPS emulsionado (b, c, d) como fuente de carbono y energía, Lambayeque 2023.....                          | 32 |
| Figura 8. Porcentaje de bacterias reductoras del indicador cloruro de 2,3,5 – trifeniltetrazolio en caldo mínimo basal libre de carbono con EPS como fuente de carbono y energía durante 10 días, Lambayeque 2023..... | 33 |
| Figura 9. Densidad óptica del caldo mínimo basal con EPS emulsionado como fuente de carbono utilizado por bacterias intestinales de <i>Tenebrio molitor</i> , Lambayeque 2023.....                                     | 34 |
| Figura 10. Densidad óptica del caldo mínimo basal con glucosa como fuente de carbono utilizado por bacterias intestinales de <i>Tenebrio molitor</i> , Lambayeque 2023.....  | 34 |

## RESUMEN

Los plásticos como el poliestireno son resistentes a la biodegradación, contaminan el ambiente e impactan la salud de los seres vivos. El objetivo de la investigación fue determinar la degradación del poliestireno expandido (EPS) por las bacterias cultivables asociadas al intestino de larvas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). Se cuantificaron las bacterias asociadas al intestino de larvas provenientes de un centro de comercialización, de una crianza con dieta mixta de salvado de trigo más EPS y de una crianza con dieta única de EPS. Las bacterias degradadoras de EPS emulsionado se seleccionaron según el tiempo requerido para la utilización del polímero como carbono de fuente y energía, se identificó el género de las bacterias degradadoras y se comparó la eficiencia en la degradación. El rango de microorganismos cultivables asociados al intestino de *T. molitor* fue de  $1,0 \times 10^5 - 9,9 \times 10^7$  UFC g<sup>-1</sup> en las larvas procedentes del centro de comercialización y de la crianza con dieta mixta y de  $1,0 \times 10^5 - 9,9 \times 10^6$  UFC g<sup>-1</sup> en las larvas de la crianza con EPS. El 95,13 % de las bacterias aisladas en agar nutritivo y el 86,57 % de las bacterias aisladas en agar Mc Conkey desarrollaron con EPS emulsionado y se seleccionaron las cinco bacterias que utilizaron el polímero después de 36 horas de incubación con el indicador de reducción TTC. Las bacterias degradadoras de EPS seleccionadas se identificaron como *Staphylococcus* sp. 267, *Citrobacter* sp. 277, *Citrobacter* sp. 250, *Enterobacter* sp. 204 y *Shigella* sp. 219. La eficiencia en la degradación del EPS expresada como porcentaje de peso perdido por las bacterias degradadoras fue de 12,68 % con *Citrobacter* sp. 250 a 5,55 % con *Shigella* sp. 219. Se concluyó que estas bacterias tienen potencial para la degradación del contaminante.

**Palabras clave:** *Tenebrio molitor*, poliestireno, biodegradación, larvas.

## ABSTRACT

Plastics such as polystyrene are resistant to biodegradation, contaminate the environment and impact the health of living beings. The objective of the research was to determine the degradation of expanded polystyrene (EPS) by culturable bacteria associated with the intestine of *Tenebrio molitor* larvae (Coleoptera: Tenebrionidae). The bacteria associated with the intestine of larvae from a marketing center, from a rearing with a mixed diet of wheat bran plus EPS and from a rearing with a single EPS diet were quantified. The emulsified EPS-degrading bacteria were selected according to the time required for the use of the polymer as a carbon source and energy, the genus of the degrading bacteria was identified and the degradation efficiency was compared. The range of culturable microorganisms associated with the intestine of *T. molitor* was  $1,0 \times 10^5 - 9,9 \times 10^7$  CFU g<sup>-1</sup> in the larvae from the marketing center and rearing with a mixed diet and  $1,0 \times 10^5 - 9,9 \times 10^6$  CFU g<sup>-1</sup> in the larvae raised with EPS. 95.13 % of the bacteria isolated on nutrient agar and 86.57 % of the bacteria isolated on Mc Conkey agar developed with emulsified EPS and the five bacteria that used the polymer were selected after 36 hours of incubation with the indicator TTC reduction. The selected EPS-degrading bacteria were identified as *Staphylococcus* sp. 267, *Citrobacter* sp. 277, *Citrobacter* sp. 250, *Enterobacter* sp. 204 and *Shigella* sp. 219. The EPS degradation efficiency expressed as a percentage of weight lost by the degrading bacteria was 12.68 % with *Citrobacter* sp. 250 to 5.55 % with *Shigella* sp. 219. It was concluded that these bacteria have the potential for contaminant degradation.

**Keywords:** *Tenebrio molitor*, polystyrene, biodegradation, larvae.

## I. INTRODUCCIÓN

Los plásticos derivados del petróleo o petroplásticos, con peso ligero, durabilidad y bajo costo son componentes de la mayoría de materiales de uso diario, por lo que la producción global se ha incrementado en forma significativa, alcanzando más de 300 millones de toneladas métricas, TM, al año, en comparación con 1,5 millones TM en 1950 (United States Agency International Development [USAID], 2020). En su mayoría los plásticos se usan por única vez y no son biodegradables, por lo que se ha estimado que 4 900 millones de TM descartadas entre 1950 a 2005 persisten en algún lugar del mundo (Song et al., 2020).

El poliestireno (PS) es un tipo de petroplástico utilizado en el embalaje, depósitos, juguetes, construcción, electrónica y artículos del hogar. Es un polímero con estructura amorfa, alta rigidez, peso ligero, de bajo costo y es 100 % reciclable; no obstante, el mercado del reciclado no es significativo. El tipo de PS predominante es el poliestireno expandido (EPS). La demanda global de PS y EPS se incrementó de 13 millones de TM en el 2000 a 14,9 millones de TM en el 2010 y el mercado de EPS en el mundo se estimó en 6,62 millones TM en el 2016 (Song et al., 2020).

En los océanos predomina el EPS cuya exposición a la luz solar propicia la fragmentación. En una caja de EPS expuesta a la radiación ultravioleta por 1 mes se cuantifican  $6,7 \times 10^7$  microplásticos y nanoplásticos  $\text{cm}^{-2}$ . Esférulas de PS y en forma mayoritaria de EPS se han detectado en las aguas costeras desde 1970 e inclusive se han encontrado en el intestino de diversas especies de peces (Song et al., 2020). En el suelo se ha detectado PS entre los 0 - 30 cm de profundidad en Alemania, China y España, entre otros países (Dioses et al., 2020). En el aire se reportó PS en investigaciones realizadas en París, Londres y Dongguan (Amato et al., 2020). En el Perú la contaminación con plásticos y entre ellos el PS se incrementa cada día más y se han registrado más de 500 microplásticos por metro cuadrado en las playas de Lima y Callao (USAID, 2020).

En embriones de *Danio rerio* “pez cebra” expuestos a nanopartículas de PS se demostró que éstas se acumularon en el saco embrionario y emigraron al tracto gastrointestinal, páncreas, agallas, corazón y cerebro. El PS se acumuló en los tejidos, afectó la fisiología y comportamiento y disminuyó la sobrevivencia (Pitt et al., 2018). En el cultivo de *Lactuca sativa* L. “lechuga” la aplicación foliar de nanoplásticos de PS redujo el peso (14,3 - 27,3 %), altura (24,2 - 27,3 %) y área foliar (12,7 - 19,2 %) de las

plantas, así como también disminuyó el contenido de clorofila a, b y carotenoides (8,7 - 12,5 %) y micronutrientes (Lian et al., 2021).

El ser humano ingiere monómeros de estireno en los alimentos, agua, dispositivos médicos y productos de uso diario. Se ha calculado que el consumo de PS por las personas puede exceder los 133 mg año<sup>-1</sup> cuando las partículas tienen un diámetro de 100  $\mu$ m (Hwang et al., 2020). Las nanopartículas (25 - 70 nm diámetro) de PS pueden ser absorbidas por los seres vivos. Estas partículas afectan en forma significativa la viabilidad de las células epiteliales alveolares humanas, activan los genes relacionados con la respuesta inflamatoria y cambian la expresión de las proteínas asociadas al ciclo celular y la pro-apoptosis (Xu et al., 2019).

En la naturaleza se encuentran diversos insectos como *Tenebrio molitor* (Peng et al., 2019; Yang et al., 2018a), *T. obscurus* (Peng et al., 2019), *Uloma* sp. (Kundungal et al., 2021) y *Tribolium castaneum* (Rodríguez et al., 2021), cuyas larvas fragmentan el PS para consumirlo e interiorizarlo en el intestino; no obstante estas micropartículas que son persistentes y pueden contaminar el ambiente solo son mineralizadas por bacterias intestinales especializadas entre las que destacan especies de *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Citrobacter* y *Alcaligenes* (Yang et al., 2018a; Mohan et al., 2016; Sekhar et al., 2016), que degradan el polímero hasta dióxido de carbono y agua por lo que pueden constituir una alternativa para la reducción de este contaminante (Wang et al., 2020; Peng et al., 2019).

Ante la problemática expuesta, se planteó el siguiente problema ¿Las bacterias cultivables asociadas al intestino de larvas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) degradan el poliestireno expandido, Lambayeque 2022? Se formuló la siguiente hipótesis: Las bacterias cultivables asociadas al intestino de larvas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) si degradan el poliestireno expandido y utilizan el polímero como fuente de carbono con una eficiencia mayor de 10%.

El objetivo general de la investigación fue determinar la degradación del poliestireno expandido por las bacterias cultivables asociadas al intestino de larvas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), Lambayeque 2022. Los objetivos específicos fueron: cuantificar las bacterias cultivables asociadas al intestino de larvas de *T. molitor*, Lambayeque 2022, seleccionar las bacterias degradadoras de EPS emulsionado, según el tiempo requerido para la utilización del polímero como fuente de carbono y energía, identificar fenotípicamente el género de las bacterias degradadoras

de EPS emulsionado asociadas al intestino de larvas de *T. molitor* y comparar la eficiencia en la degradación del EPS emulsionado por cinco bacterias seleccionadas.

La búsqueda de microorganismos degradadores del EPS es una alternativa sustentable para la biorremediación de ambientes contaminados. Los microorganismos son importantes porque son fáciles de manejar y se pueden incrementar en grandes cantidades en sustratos de bajo costo y fácil disponibilidad. Los microorganismos que se encuentran en el interior de los insectos degradadores de EPS pueden mineralizar el contaminante y la caracterización de aquellos cultivables en la presente investigación permite la identificación de los especímenes con potencial degradador, que posteriormente pueden constituir el objeto de estudio en diversas investigaciones, con miras a su aplicación a gran escala en la degradación y eliminación del petroplástico contaminante.

## II. DISEÑO TEÓRICO

### 2.1 Antecedentes

Cucini et al. (2022) investigaron la comunidad bacteriana intestinal en el coleóptero *Alphitobius diaperinus* degradador de PS. Aproximadamente 1700 larvas del insecto (300 g) se alimentaron con PS como única fuente de carbono y después de 30 días se sumergieron en etanol 75 % por 1 minuto, se enjuagaron en solución salina (NaCl 0,85 %, p/v) por 1 minuto y se extrajeron los intestinos. Éstos se diseccionaron, se centrifugaron, se lavaron dos veces con solución salina y se resuspendieron en medio basal mínimo con 0,0125 g PS por mL. Después del enriquecimiento en aerobiosis, a 22 °C por 60 días, los caldos se diluyeron, se sembraron en medio agarizado y se seleccionaron los morfotipos de bacterias desarrolladas. Se identificaron tres bacterias Gram negativas: *Klebsiella* sp., *Pseudomonas* sp. y *Stenotrophomonas* sp. cuya adhesión a la superficie del PS mediante estructuras fibrilares, se confirmó bajo el microscopio de rastreo (SEM), y se demostró el potencial de las bacterias para la degradación del PS.

Machona et al. (2022) investigaron el potencial biodegradador de las bacterias del intestino de larvas de *T. molitor*. Éstas se acondicionaron en tres grupos cada uno con 100 individuos, a 25 °C con 75 - 80 % de humedad con las dietas de harina de maíz y zanahoria (T1), PS y zanahoria (T2) y PS (T3). Las larvas que se alimentaron con PS se desinfectaron por inmersión, el contenido intestinal se enriqueció en caldo LCFBM con una emulsión de PS, durante 28 días y se sembró en el medio agarizado para el conteo y aislamiento de las colonias bacterianas y la identificación molecular. Transcurrida 1 semana se observaron agujeros en el PS de T2 y T3 además de rugosidades y grietas. La masa del PS (1,5 g) disminuyó en 40 % en T2 y 33,33 % en T3. La sobrevivencia a los 7 días fue de 90 % en T1 y T2 y de 85 % en T3. Se seleccionaron cinco colonias bacterianas identificadas como *Klebsiella oxytoca*. Se evidenció que el intestino de las larvas es una fuente de microorganismos con potencial para la degradación del PS.

Bae et al. (2021) identificaron los cambios en la microbiota intestinal de larvas de *T. molitor* alimentadas con EPS. Las larvas se acondicionaron en cajas de polipropileno en dos grupos y se alimentaron con salvado (T1) y EPS (T2) por 14 días. Después las larvas se esterilizaron superficialmente, se extrajo el contenido intestinal y el

microbioma se analizó a nivel molecular. Las larvas de T1 incrementaron 15,20 % de su peso y las larvas de T2 lo disminuyeron en 13,52 %. En T1 se identificaron 15 especies de bacterias, con predominancia de *Pediococcus pentosaceus* y *Spiroplasma veloccicrecens* y en T2 se identificaron siete especies con predominio de *Lactococcus garvieae* y *Cronobacter sakazakii*. La diversidad poblacional fue similar en ambos grupos, pero el índice de Shannon fue de 1,69 en T1 y 0,731 en T2. La población de *C. sakazakii* y *L. garvieae* se incrementó en forma significativa en T2, por lo que se concluyó que estas bacterias tienen potencial para la degradación de EPS.

Brandon et al. (2021) investigaron la degradación del PS por bacterias intestinales de *T. molitor*. Las larvas se alimentaron con salvado (T1), PS (T2), salvado con antibiótico (T3) y PS con antibiótico (T4). Después de 3 semanas, las larvas se sumergieron en etanol 75 % por 1 minuto, se enjuagaron con agua desionizada, se extrajo el contenido intestinal, se depositó en 0,6 mL de solución salina (NaCl 0,75 %), se tamizó (nylon 40 uM) y se centrifugó a 4000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante filtrado se inoculó en caldo mínimo basal con PS y transcurridos 3 meses las bacterias se aislaron y se investigó la actividad metabólica en películas de PS. El microbioma intestinal fue capaz de respirar en el PS como fuente de carbono y el dióxido de carbono se incrementó con T1 y T2. Las larvas y los microorganismos secretaron factores de emulsificación que mejoraron el proceso degradativo y se identificaron *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens* y *Klebsiella aerogenes*. Se demostró la degradación del PS por bacterias intestinales de *T. molitor*.

Tan et al. (2021a) identificaron los microorganismos degradadores de PS asociados a *Zophobas morio* "supergusano". Las larvas se alimentaron con EPS como única dieta durante 2 semanas, se esterilizaron superficialmente, el contenido intestinal se enriqueció en caldo mínimo basal con una emulsión de EPS y después de 28 días se realizó el aislamiento microbiano en el medio agarizado. Los microorganismos se identificaron a nivel molecular y la actividad metabólica se determinó cultivándolos por duplicado en caldo LCFBM suplementado con 2 % de emulsión de PS, 2 % de glucosa como control positivo y 2, 3,5 trifeniltetrazolium cloruro (TTC) como indicador de la actividad microbiana. Se obtuvieron cinco colonias bacterianas identificadas como *Bacillus megaterium*. En el ensayo de actividad metabólica se observó una coloración rojiza por la reducción del TTC que evidenció la utilización del PS como fuente de carbono después de 5 - 7 días. Los resultados demostraron el potencial de *B. megaterium* para la degradación del PS.

Tsochatzis et al. (2021) realizaron el análisis molecular del microbioma del intestino de larvas de *T. molitor* bajo tres dietas alimenticias de EPS correspondientes al afrecho + PS (4:1), afrecho + PS (20:1) con 1,5 mL de agua cada 4 días y afrecho + PS (20:1) sin agua durante 15 días. En las larvas se extrajo el contenido intestinal, se diluyó, se maceró, se centrifugó y en el sobrenadante se realizó la caracterización molecular. El mayor consumo de PS (23 %) se alcanzó con la dieta 1 y la mayor tasa de sobrevivencia de las larvas con la dieta 3. En la primera generación de larvas el mayor número de bacterias correspondió a la dieta 2 seguida de la dieta 3 y en la segunda generación con las tres dietas predominaron *Erwinia olea*, *Lactococcus lactis* y *L. garvieae*. Los recuentos de hongos fueron mínimos y a diferencia de las bacterias no se observó relación entre el PS y la dieta, predominando *Sporobdomyces roseus*, *Alternaria alternata* y *Aspergillus versicolor*. Las bacterias *Erwinia olea*, *L. lactis* y *L. garvieae* se consideraron degradadoras de PS.

Vera et al. (2021) aislaron bacterias de larvas de *T. molitor* para investigar la degradación del PS bajo condiciones de laboratorio. Las larvas se desinfectaron con etanol 75 %, se enjuagaron en solución salina, se extrajo el intestino, se homogenizó en 0,2 mL de agua peptonada al 10 % y usando el vortex por 30 segundos se separaron los microorganismos de las paredes del intestino. El contenido intestinal se sembró en agar sangre, Chromagar y se subcultivó en agar telurito para diferenciar los enterococos degradadores de esculina. Se identificó *E. faecalis*. El consumo del PS se determinó por diferencia gravimétrica y en las excretas de las larvas no se encontraron trazas del polímero, evidenciando su mineralización. La composición química de las excretas, determinada por espectrometría demostró oxígeno, nitrógeno, fósforo y potasio provenientes de la degradación del PS. *E. faecalis* demostró potencial para la degradación del PS.

Lou et al. (2020) investigaron el efecto de la suplementación del PS y PE en la microbiota intestinal de larvas de *Galleria mellonella*. Los tratamientos fueron: inanición (T1), salvado (T2), cera de abejas (T3), PS (T4), PS + salvado (T5), PS + cera (T6), PE (T7), PE + salvado (T8) y PE + cera (T9). Después de 15 días de alimentación se seleccionaron 15 larvas para extraer y analizar el ADN del microbioma del intestino. Las larvas se alimentaron del PS y PE con pérdidas de peso de los polímeros de 0,88 y 1,95 g por larva, respectivamente. Los índices de Shannon y Simpson mostraron que la riqueza microbiana se incrementó con el salvado y la cera de abeja. El microbioma fue similar en las larvas con T4 y T6, así como con T7 y T8. En las larvas alimentadas

con PE predominó el género *Serratia* y en las larvas con PS *Bacillus* spp. Se concluyó que el suplemento alimenticio influyó en el microbioma del intestino de las larvas de *G. mellonella*.

Urbanek et al. (2020) identificaron la diversidad del microbioma intestinal en larvas de *T. molitor* alimentadas con diversos tipos de PS. Las dietas fueron: PS (T1), PS extruido, PSr (T2), PS disponible en el comercio, PSp (T3), PS expandido, EPS (T4), inanición (T5) y avena como control (T6). Después de 21 días se determinó que las larvas no comieron ni degradaron el PS y su biomasa disminuyó entre 10 a 20 g en comparación con el control en el que aumentó 36 g. El mayor número de bacterias correspondió a T3 y el más bajo a T1. El 99,9 % de la microbiota en todas las larvas correspondió al reino Bacteria, con predominio de los Phylum Proteobacteria (68,8 %) y Firmicutes (30,97 %). La especie predominante fue *Enterobacter hormaechei* (32,65 %). En el control y T3 predominaron *E. hormaechei* y *Lactococcus garvieae*. Otras especies identificadas fueron *E. avium*, *L. lactis*, *Klebsiella oxytoca*, *Serratia marcescens* y *P. aeruginosa*. La microbiota intestinal cambió en función de la dieta alimentaria.

## 2.2 Bases teóricas

Los plásticos se agrupan en las categorías primaria y secundaria. Los plásticos primarios son manufacturados como ingredientes de jabones para manos, limpiadores, pasta de dientes y productos biomédicos. Presentan en promedio 1 - 5  $\mu\text{m}$  de diámetro y son esféricos, elaborados con polipropileno (PP), poliestireno (PS) o polietileno (PE). Los plásticos secundarios se forman por la fragmentación de los plásticos primarios (radiación ultravioleta) en los océanos y en el suelo y son denominados mesopartículas, macropartículas y micropartículas (Hwang et al., 2020).

El PS fue sintetizado por primera vez en Alemania en 1930. Es un termoplástico que deja pasar la luz y se puede colorear sin alterar su estructura. Es ligeramente frágil y se puede reblandecer a menos de 100°C. Es utilizado en el recubrimiento de metales para reducir la corrosión, en la construcción de sensores de humedad para uso agrícola, para el empaque de alimentos, producción de vasos y platos descartables, en la construcción para aligerar las losas de los techos y en el sector ambiental para la absorción de metales pesados. Asimismo, las microfibras de PS se utilizan como biomateriales citocompatibles para el tratamiento de malformaciones en los huesos, como acarreadores de medicamentos y transporte de partículas a través de la barrera placentaria (Segovia et al., 2019).

El PS se usa en cuatro tipos de productos: poliestireno de uso general (GPPS), poliestireno de alto impacto (HIPS), espuma de poliestireno (PS) y poliestireno expandido (EPS). El GPPS se utiliza para utensilios, platos, recipientes, cuchillos y cucharas; el HIPS para envases de yogurt, cremas, tasas para bebidas frías, envases de condimentos; la espuma de PS para embalaje, loncheras, envases para huevos, frutas y vegetales y el EPS para contenedores, enfriadores y sistemas de paneles aislados (Ho et al., 2018). Las espumas de PS, así como las de polietileno (PE) tienen impacto negativo debido a 1) su lenta degradación, 2) generación de residuos, 3) utilización del petróleo como materia prima no renovable y de 4) insumos químicos tóxicos para los seres vivos. El PS es reciclable, no obstante, el proceso no tiene rentabilidad económica porque se requiere mucha energía y tecnología e insumos tóxicos (Arthuz y Pérez, 2019).

Los insectos degradadores del polímero constituyen una alternativa para la degradación del PS, considerándose *T. molitor* L. “escarabajo amarillo” (Tsochatzis et al., 2021; Yang et al., 2018a), *T. obscurus* F. “escarabajo negro” (Peng et al., 2019), *T. castaneum* H. “escarabajo castaño” (Wang et al., 2020), *Zophobas atratus* F. “escarabajo gigante” (Jiang et al., 2021), *Z. morio* “supergusano” (Tan et al., 2021a), *Galleria mellonella* (Lou et al., 2020) y *Alphitobius diaperinus* “gusano menor de la harina” (Cucini et al., 2022). Las larvas de los insectos fragmentan el PS y lo interiorizan al intestino donde microorganismos especializados mineralizan el contaminante, al utilizarlo como fuente de carbono y energía (Bilal et al., 2021). Los microorganismos degradadores de PS son bacterias en su mayoría, aunque también se han reportado algunos hongos como *Alternaria alternata*, *Aspergillus versicolor* y *Sporobdomyces roseus* (Brandon et al., 2021).

Entre las bacterias degradadoras de PS se encuentran especies de las familias Lactobacillaceae, Bacillaceae, Spiroplasmataceae, Enterobacteriaceae, Enterococcaceae, Streptococcaceae, Leuconostocaceae, Clostridiaceae, Flavobacteriaceae, Pseudomonadaceae, Ruminoicoccaceae y Xanthomonadaceae, con predominio de *Spiroplasma* sp., *Erwinia olea*, *Lactococcus lactis*, *L. garviae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecium*, *Weissella cibaria* (Tsochatzis et al., 2021), *Bacillus megaterium* (Tan et al., 2021b), *Klebsiella* sp., *Pseudomonas* sp., *Stenotrophomonas* sp. (Cucini et al., 2022), *Serratia*, *Xanthomonas*, *Sphingobacterium*, *Rhodococcus*, *Microbacterium*, *Paenibacillus*, *Staphylococcus*, *Exiguobacterium*, *Enterobacter*, *Alcaligenes* y *Brevundimonas* (Ho et al., 2018), *Citrobacter freundii*,

*Serratia marcescens*, *Klebsiella aerogenes* (Brandon et al., 2021) y *K. oxytoca* (Machona et al., 2022).

El monómero estireno, constituyente del PS es degradado por dos vías metabólicas microbianas: aerobia y anaerobia. En ambas rutas, el oxígeno sea molecular o proveniente del agua es usado por los microorganismos para la activación del estireno, que luego es oxidado hasta acetofenona (Tsochatzis et al., 2021). Existen varias vías para el catabolismo del estireno, pero la predominante involucra su oxidación hasta fenilacetato, que luego es metabolizado por el ciclo de Krebs. Los intermediarios de la degradación del PS son el estireno, óxido de estireno, fenil acetaldehído, ácido fenilacético y fenilacético coenzima A, compuestos sobre los que actúan las enzimas estireno monooxigenasa (SMO), estireno óxido isomerasa (SOI), fenilacetaldehído deshidrogenasa (PAALDH) y fenilacetil coenzima A ligasa, PACoA (Ho et al., 2018).

El procedimiento analítico para monitorear la biodegradación del PS incluye la observación visual (arrugamiento, agujeros, grietas, cambio de color, colonias microbianas superficiales), cambios en las propiedades mecánicas y masa molar (fuerza de tensión, elongación al quiebre), disminución del peso molecular, pérdida de peso en el polímero residual, evolución de los gases generados (dióxido de carbono, metano), consumo de oxígeno, formación de halos claros alrededor de las colonias por despolimerización del polímero y radiomarcado (Ho et al., 2018).

### III. DISEÑO METODOLÓGICO

#### 3.1 Diseño de contrastación de hipótesis

Se realizó una investigación aplicada con un enfoque descriptivo y un diseño de investigación observacional o no experimental.

#### 3.2 Población y muestra

La población estuvo constituida por las bacterias del intestino de las larvas de *T. molitor* y se trabajó con una muestra no probabilística y por conveniencia de 483 bacterias aisladas en el periodo septiembre – diciembre de 2022. Se excluyeron las bacterias no provenientes del intestino de las larvas de *T. molitor*

#### 3.3 Técnica, instrumentos, equipos y materiales

**3.3.1 Técnica:** Cuantitativa observacional

**3.3.2 Instrumento:** Ficha de registro de datos

**3.3.3 Materiales:** Larvas de *T. molitor* comercializadas por Kuru Wasi y bacterias aisladas del intestino de las larvas.

#### 3.4 Procedimiento

En el intestino de larvas de *T. molitor* se aislaron bacterias cultivables, se seleccionaron las degradadoras de EPS, se identificaron fenotípicamente y se comparó la eficiencia en la degradación del polímero por cinco bacterias seleccionadas.

##### 3.4.1 Cuantificación de las bacterias cultivables asociadas al intestino de larvas de *T. molitor*, Lambayeque 2022

El número de unidades formadoras de colonias (UFC g<sup>-1</sup>) de bacterias del contenido intestinal se determinó en 60 larvas de *T. molitor* provenientes del centro de comercialización online Kuru Wasi en Lima (LCC), de una crianza en laboratorio con dieta mixta de salvado de trigo y EPS (LCDM) y de una crianza con dieta única de EPS (LCEPS) durante 21 días (Tan et al., 2021a). (Figura 1, anexos 1,2).

**Figura 1**

*Larvas de T. molitor* provenientes del centro de comercialización (a), de una crianza en laboratorio con dieta mixta de salvado de trigo y EPS (b) y con dieta única de EPS (c), Lambayeque 2022.



Las larvas (20 LCC, 20 LCDM y 20 LCEPS) se llevaron a - 4 °C durante 15 minutos para su inactivación (Vera et al., 2021), se desinfectaron por inmersión en etanol 70 % por 1 minuto, seguido de enjuague en solución NaCl 0,85 % (p/v) por dos veces consecutivas (Tan et al., 2021a) y secado con papel filtro esterilizado (Figura 2). A continuación cada larva se depositó en placas de Petri y con ayuda de dos pinzas se presionó la zona anal de la larva para extraer el intestino (0,05 g), el cual se depositó en un tubo con 0,95 mL de solución NaCl 0,85 % (p/v), con una jeringa se homogenizó cuatro veces consecutivas, con una ansa estéril se extrajeron los residuos de tejido remanentes, se realizaron diluciones decimales hasta  $10^{-4}$  (Figura 3), se sembraron por triplicado mediante la técnica de placa vertida en agar para recuento (Plate Count), se incubaron en aerobiosis a 30 °C por 24 horas y se contaron las UFC  $g^{-1}$  (Urbanek et al., 2020).

### **3.4.2 Selección de las bacterias degradadoras de EPS emulsionado, según el tiempo requerido para la utilización del polímero como fuente de carbono y energía, Lambayeque 2022**

El aislamiento de las bacterias se realizó con la dilución  $10^{-1}$  del contenido intestinal de cada larva de *T. molitor* (obtenido para la cuantificación de las bacterias cultivables) con y sin enriquecimiento. Para el enriquecimiento (Tan et al., 2021 b) de la dilución  $10^{-1}$  se tomaron 0,5 mL y se depositaron en tubos con 4,5 mL de caldo mínimo basal libre de carbono (Anexo 3) y un fragmento (1  $cm^2$ ) de una lámina de EPS emulsionado y se incubaron a 30 °C por 7 días y 25 °C durante 21 días.

Para obtener la emulsión de EPS, en un vaso de precipitación se depositaron 3 g de EPS, se disolvieron con 97 mL de solvente diclorometano (Spectrum), la disolución se transfirió a una botella de color ámbar (250 mL de capacidad), se dejó en reposo a 4 °C por 48 horas y el contenido se repartió en bases de placas de Petri que se llevaron a la campana extractora (ESCO) para volatilizar el diclorometano durante 30 minutos (Figura 4). Las láminas de EPS emulsionado adheridas a las bases de las placas de Petri se retiraron en forma cuidadosa, se fragmentaron (1 $cm^2$ ) y se depositaron en los tubos con el caldo mínimo basal libre de carbono (Tan et al., 2021b, modificado por los autores).

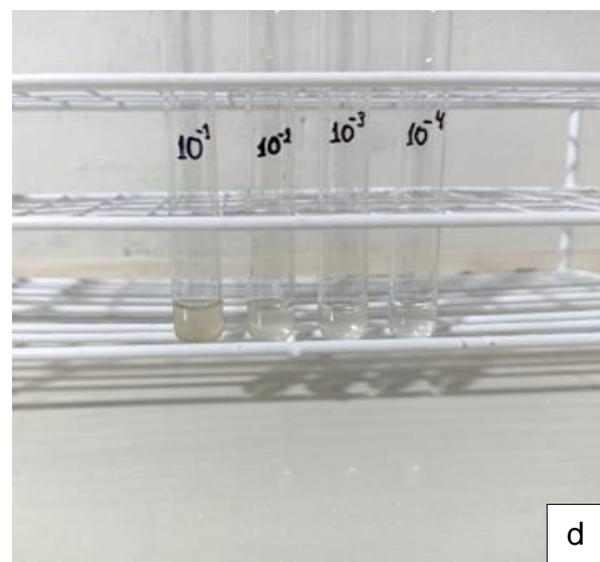
**Figura 2**

*Proceso de desinfección de larvas de *T. molitor*, inactivación (a), inmersión en etanol (b), enjuague con solución salina (c), secado (d), Lambayeque 2022.*



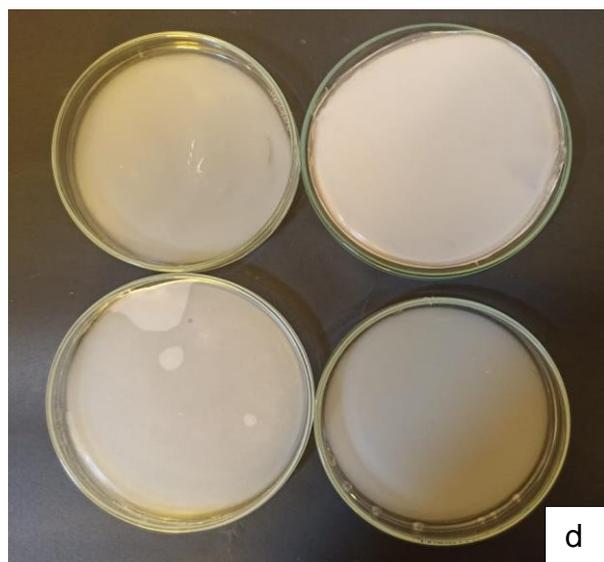
**Figura 3**

*Tratamiento del contenido intestinal de T. molitor: larva desinfectada (a), extracción del intestino (b), homogenización (c), diluciones del contenido intestinal (d), Lambayeque 2022.*



**Figura 4**

*Obtención de láminas de poliestireno expandido emulsionado, pesado (a), adición de solvente (b), en frasco ámbar (c), láminas en placas de Petri (d), Lambayeque 2022.*



En las diluciones  $10^{-1}$  del contenido intestinal de cada larva de *T. molitor* enriquecidas y no enriquecidas se tomaron alícuotas para sembrarlas por agotamiento y estría en agar nutritivo y Mc Conkey. Después de la incubación a 30 °C por 48 horas se seleccionaron los morfotipos de colonias representativas, se cultivaron en agar Tripticasa soya (TSA) por duplicado, se realizaron coloraciones de Gram y estos cultivos puros se guardaron en refrigeración a 4 °C.

La selección de las bacterias degradadoras de EPS se realizó cultivándolas por duplicado en caldo mínimo basal libre de carbono con un fragmento (1 cm<sup>2</sup>) de lámina de EPS emulsionado como fuente de carbono y 1 % de glucosa como control positivo. Después de la incubación a 30 °C por 7 días se determinó la densidad óptica en el espectrofotómetro de luz visible (Modelo Tenso Med NV-203) a 600 nm, considerando como blanco los medios con EPS y glucosa no inoculados.

Las diez bacterias aisladas en agar nutritivo y diez aisladas en agar Mc Conkey que alcanzaron los mayores valores en la densidad óptica del caldo mínimo basal libre de carbono con EPS como fuente de carbono, se seleccionaron para sembrarlas en 5 mL del mismo caldo con EPS y 20 µL de una solución de cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC) al 1 % como indicador de la viabilidad. La incubación se realizó a 30 °C y cada 12 horas se observaron los tubos para determinar el cambio de color del indicador al grosella lo que evidenció la actividad metabólica y por tanto la utilización del EPS como fuente de carbono y energía (Tan et al., 2021b).

### **3.4.3 Identificación fenotípica del género de las bacterias degradadoras de EPS emulsionado asociadas al intestino de larvas de *Tenebrio molitor*, Lambayeque 2022**

Para la identificación fenotípica del género de las bacterias se realizaron las pruebas de coloración de Gram, catalasa, oxidasa, coagulasa, producción de gas, sulfuro de hidrógeno, fermentación de azúcares en agar TSI, producción de acetoina en agar Voges Proskauer, reducción de nitratos, utilización de citrato en agar Citrato de Simmons, descarboxilación de la lisina en agar LIA, hidrólisis de úrea en agar urea, movilidad, indol y descarboxilación de la ornitina en agar MIO (Szafranec et al., 2020; Zhao et al., 2022; Wu et al., 2020; Rahman et al., 2019).

### 3.4.4 Comparación de la eficiencia en la degradación del EPS emulsionado por las bacterias seleccionadas

La eficiencia de la degradación de EPS por las bacterias seleccionadas se determinó de manera indirecta con la turbidez generada en el medio de cultivo, la cual está relacionada con el crecimiento microbiano y de manera directa mediante la determinación del peso perdido del polímero o sustrato consumido (Maroof et al., 2021), la tasa de reducción (k) y la vida media del EPS residual ( $t_{1/2}$ ) según Auta et al. (2017). Para determinar la turbidez, 1 mL del cultivo bacteriano de 12 horas se inoculó en 50 mL de medio mínimo basal y un fragmento (10 cm<sup>2</sup>) de una lámina de EPS emulsionado, se incubaron a 30 °C y se determinó la absorbancia en el espectrofotómetro de luz visible a 600 nm, cada 12 horas durante 72 horas, comparando con el control no inoculado y un control con glucosa como fuente de carbono (Tang et al., 2017).

El peso perdido del polímero se determinó cultivando las bacterias seleccionadas por triplicado en matraces con 100 mL de medio mínimo basal y 0,36 – 0,48 g de EPS emulsionado (peso inicial). Transcurrida la incubación a 28 °C por 104 días el polímero se extrajo, se lavó con agua destilada, se deshidrató a 60 °C por tiempo suficiente hasta alcanzar un peso constante (peso final) y se calculó el porcentaje de peso perdido (Maroof et al., 2021):

$$\text{Peso perdido (\%)} = \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso final}}{\text{Peso inicial}} \times 100$$

La tasa de reducción (k) se calculó utilizando el peso perdido (Auta et al., 2017):

$$K = -\frac{1}{t} \left( \ln \frac{W}{W_0} \right)$$

Donde  $W_0$  = Peso inicial y  $W$  = Peso final

La vida media del EPS residual ( $t_{1/2}$ ) se calculó (Auta et al., 2017):

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k}$$

### 3.5 Procesamiento y análisis de datos

Los valores del conteo de bacterias cultivables asociadas al intestino de larvas de *T. molitor*, el peso perdido, tasa de reducción y la vida media del polímero residual para la utilización del EPS como fuente de carbono y energía se analizaron con la estadística no paramétrica mediante las medidas de centralización y dispersión de datos: promedio y desviación estándar (Hernández et al., 2014).

## IV. RESULTADOS

### 4.1 Número de bacterias cultivables asociadas al intestino de larvas de *Tenebrio molitor*, Lambayeque 2022

El rango de microorganismos cultivables asociados al intestino fue de  $1,0 \times 10^5 - 9,9 \times 10^7$  UFC g<sup>-1</sup> en las larvas procedentes del centro de comercialización y de la crianza con dieta mixta y de  $1,0 \times 10^5 - 9,9 \times 10^6$  UFC g<sup>-1</sup> en las larvas de la crianza con EPS. En el mayor porcentaje del intestino de las larvas del centro de comercialización (60 %), crianza con dieta mixta (65 %) y crianza con EPS (85 %) se cuantificaron  $1,0 - 9,9 \times 10^5$  UFC g<sup>-1</sup> (Figura 5, tabla 1, anexo 4).

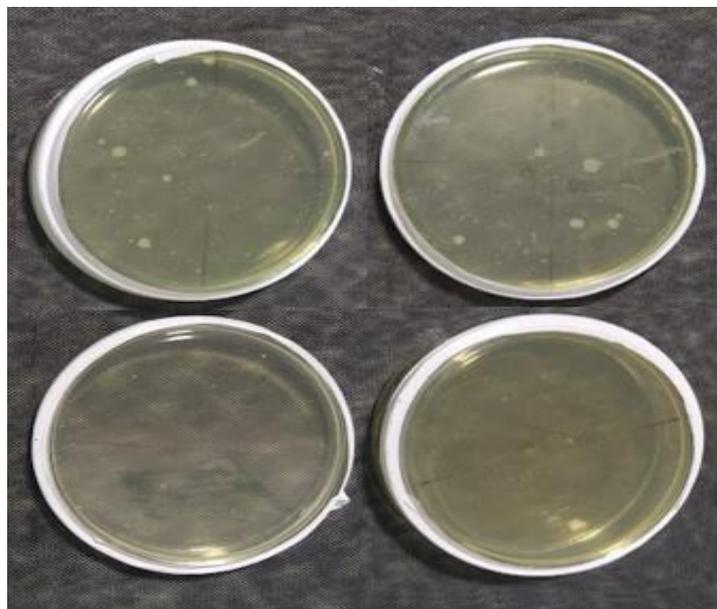
### 4.2 Bacterias degradadoras de EPS emulsionado seleccionadas según el tiempo requerido para la utilización del polímero como fuente de carbono y energía, Lambayeque 2022

El rango de morfotipos de las colonias bacterianas desarrolladas en agar nutritivo fue de 1 – 4 y se obtuvieron 131 cultivos puros a partir del intestino sin enriquecimiento y 136 a partir del intestino con enriquecimiento (Tabla 2, anexos 5 a 10). En agar Mc Conkey el rango de morfotipos de las colonias fue de 1 – 5 y se obtuvieron 102 cultivos puros a partir del intestino sin enriquecimiento y 114 a partir del intestino con enriquecimiento (Tabla 3, anexos 5 a 10).

En agar nutritivo se obtuvieron 267 cultivos de bacterias y en agar Mc Conkey 216 cultivos bacterianos. Entre las 483 bacterias cultivables asociadas al intestino de larvas de *T. molitor* el 61,28 % (296) correspondió a las formas Gram negativas y el 38,72 % (187) a las formas Gram positivas (Figura 6). Las bacterias cultivables aisladas en agar nutritivo fueron Gram positivas (70 %) y Gram negativas (30 %) y en agar Mc Conkey todas (100 %) fueron Gram negativas (Tabla 4). En el caldo mínimo basal libre de carbono con un fragmento (1 cm<sup>2</sup>) de EPS emulsionado creció el 95,13 % (254) de las bacterias aisladas en agar nutritivo y el 86,57 % (187) de las bacterias aisladas en agar Mc Conkey. En este contexto el 91,30 % (441) de las bacterias creció con el EPS, entre las cuales 59,64 % (263) correspondió a formas Gram negativas y el 40,36 % (178) a formas Gram positivas (Tabla 5). Entre estas bacterias se seleccionaron las 20 (diez de cada agar de aislamiento) que alcanzaron los mayores valores en la densidad óptica (Tabla 6, anexos 11, 12).

**Figura 5**

*Colonias de bacterias del contenido intestinal de Tenebrio molitor desarrolladas en agar para recuento, Lambayeque 2022.*

**Tabla 1**

*Rango de UFC g<sup>-1</sup> de microorganismos cultivables asociados al intestino de larvas de Tenebrio molitor según procedencia, Lambayeque 2022*

| Procedencia de larvas      | Rango<br>UFC g <sup>-1</sup> | Intestino de larvas |    |
|----------------------------|------------------------------|---------------------|----|
|                            |                              | N°                  | %  |
| Centro de comercialización | 1,0 – 9,9 x 10 <sup>5</sup>  | 12                  | 60 |
| Centro de comercialización | 1,0 – 9,9 x 10 <sup>6</sup>  | 7                   | 35 |
| Centro de comercialización | 1,0 – 9,9 x 10 <sup>7</sup>  | 1                   | 5  |
| Crianza con dieta mixta    | 1,0 – 9,9 x 10 <sup>5</sup>  | 13                  | 65 |
| Crianza con dieta mixta    | 1,0 – 9,9 x 10 <sup>6</sup>  | 6                   | 30 |
| Crianza con dieta mixta    | 1,0 – 9,9 x 10 <sup>7</sup>  | 1                   | 5  |
| Crianza con EPS            | 1,0 – 9,9 x 10 <sup>5</sup>  | 17                  | 85 |
| Crianza con EPS            | 1,0 – 9,9 x 10 <sup>6</sup>  | 3                   | 15 |

**Tabla 2**

*Rango de morfotipos de colonias bacterianas aisladas en agar nutritivo a partir del intestino de larvas de Tenebrio molitor, Lambayeque 2022*

| Tratamientos                        | Rango de morfotipos bacterianos | Cultivos puros bacterianos |
|-------------------------------------|---------------------------------|----------------------------|
| <b>Sin enriquecimiento</b>          |                                 |                            |
| Intestino de larvas comerciales     | 1 – 3                           | 40                         |
| Intestino de larvas con dieta mixta | 1 – 4                           | 48                         |
| Intestino de larvas con EPS         | 1 – 4                           | 43                         |
| <b>Con enriquecimiento</b>          |                                 |                            |
| Intestino de larvas comerciales     | 1 – 3                           | 43                         |
| Intestino de larvas con dieta mixta | 1 – 4                           | 50                         |
| Intestino de larvas con EPS         | 1 – 3                           | 43                         |

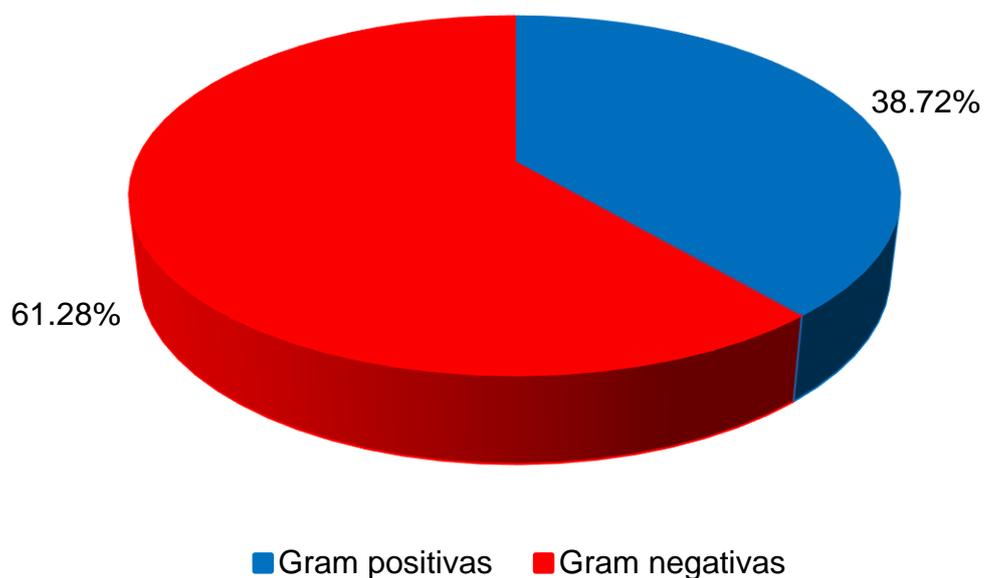
**Tabla 3**

*Rango de morfotipos de colonias bacterianas aisladas en agar Mc Conkey a partir del intestino de larvas de Tenebrio molitor, Lambayeque 2022*

| Tratamientos                        | Rango de morfotipos bacterianos | Cultivos puros bacterianos |
|-------------------------------------|---------------------------------|----------------------------|
| <b>Sin enriquecimiento</b>          |                                 |                            |
| Intestino de larvas comerciales     | 1 – 4                           | 23                         |
| Intestino de larvas con dieta mixta | 1 – 3                           | 32                         |
| Intestino de larvas con EPS         | 1 – 4                           | 47                         |
| <b>Con enriquecimiento</b>          |                                 |                            |
| Intestino de larvas comerciales     | 1 – 4                           | 30                         |
| Intestino de larvas con dieta mixta | 1 – 4                           | 41                         |
| Intestino de larvas con EPS         | 1 – 5                           | 43                         |

**Figura 6**

*Frecuencia de bacterias Gram positivas y Gram negativas aisladas del intestino de larvas de Tenebrio molitor, Lambayeque 2023.*

**Tabla 4**

*Bacterias Gram positivas y Gram negativas según el agar de aislamiento a partir del intestino de larvas de Tenebrio molitor, Lambayeque 2023*

| Agar de aislamiento | Cultivos de bacterias |    |                |     |
|---------------------|-----------------------|----|----------------|-----|
|                     | Gram positivas        |    | Gram negativas |     |
|                     | N°                    | %  | N°             | %   |
| Agar nutritivo      | 187                   | 70 | 80             | 30  |
| Agar Mc Conkey      | 0                     | 0  | 216            | 100 |

**Tabla 5**

*Número de cultivos de bacterias según la densidad óptica en el caldo mínimo basal libre de carbono con EPS emulsionado y glucosa como fuentes de carbono, Lambayeque 2023*

| Fuente de carbono | Rango densidad óptica (600 nm) | Agar de aislamiento | Cultivos puros<br>N° |
|-------------------|--------------------------------|---------------------|----------------------|
| EPS               | 0,001 – 0,141                  | Agar nutritivo      | 254                  |
| Control glucosa   | 0,147 – 0,386                  |                     |                      |
| EPS               | 0,001 – 0,155                  | Agar Mc Conkey      | 187                  |
| Control glucosa   | 0,151 – 0,296                  |                     |                      |

**Tabla 6**

*Bacterias seleccionadas por alcanzar la mayor densidad óptica en el caldo mínimo basal con EPS emulsionado como fuente de carbono, Lambayeque 2023*

| Bacterias<br>Código | Agar de aislamiento | Densidad óptica (600 nm) |                  |
|---------------------|---------------------|--------------------------|------------------|
|                     |                     | Glucosa (control)        | EPS* emulsionado |
| 250                 | Agar Mc Conkey      | 0,181                    | 0,155            |
| 267                 | Agar nutritivo      | 0,182                    | 0,141            |
| 367                 | Agar nutritivo      | 0,157                    | 0,138            |
| 277                 | Agar nutritivo      | 0,173                    | 0,137            |
| 320                 | Agar nutritivo      | 0,174                    | 0,130            |
| 416                 | Agar nutritivo      | 0,166                    | 0,129            |
| 219                 | Agar Mc Conkey      | 0,169                    | 0,129            |
| 198                 | Agar Mc Conkey      | 0,177                    | 0,128            |
| 135                 | Agar nutritivo      | 0,169                    | 0,126            |
| 204                 | Agar Mc Conkey      | 0,154                    | 0,126            |
| 364                 | Agar nutritivo      | 0,158                    | 0,124            |
| 85                  | Agar Mc Conkey      | 0,192                    | 0,123            |
| 355                 | Agar nutritivo      | 0,190                    | 0,120            |
| 206                 | Agar Mc Conkey      | 0,161                    | 0,120            |
| 175                 | Agar nutritivo      | 0,184                    | 0,119            |
| 228                 | Agar Mc Conkey      | 0,176                    | 0,119            |
| 215                 | Agar Mc Conkey      | 0,173                    | 0,118            |
| 184                 | Agar nutritivo      | 0,164                    | 0,117            |
| 45                  | Agar Mc Conkey      | 0,168                    | 0,117            |
| 221                 | Agar Mc Conkey      | 0,189                    | 0,116            |

\*EPS = Poliestireno expandido emulsionado

En el 65 % (13) de los caldos cultivados con las bacterias (7 de agar nutritivo y 6 de agar Mc Conkey) se observó la reducción del indicador TTC evidenciado por la aparición de una coloración grosella estable a las 36 – 228 horas de incubación. En el control glucosa la reducción del indicador se observó a las 24 – 72 horas. Entre las bacterias reductoras del TTC se seleccionaron las cinco bacterias con 36 horas de tiempo requerido para la reducción del TTC durante la utilización del EPS emulsionado como fuente de carbono y energía (Figuras 7, 8, tabla 7).

#### **4.3 Géneros de bacterias degradadoras de EPS emulsionado asociadas al intestino de larvas de *T. molitor*, Lambayeque 2022**

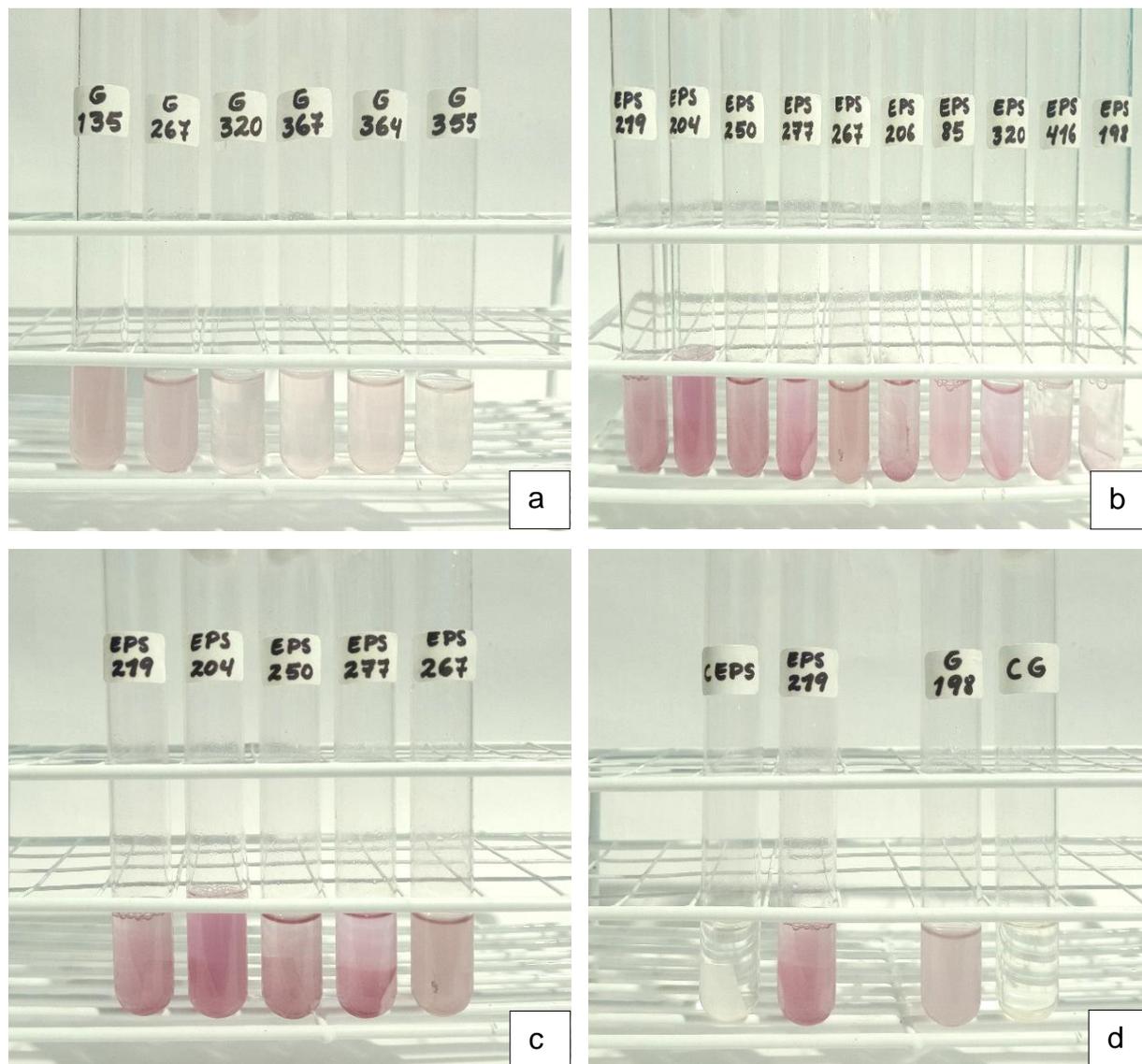
Las bacterias degradadoras de EPS emulsionado identificadas fueron *Staphylococcus* sp. 267, *Citrobacter* sp. 277, *Citrobacter* sp. 250, *Enterobacter* sp. 204 y *Shigella* sp. 219 (Anexos 13, 14).

#### **4.4 Comparación de la eficiencia en la degradación del EPS emulsionado por bacterias seleccionadas, Lambayeque 2022**

La densidad óptica (600 nm) de los caldos cultivados con las bacterias degradadoras del EPS emulsionado como fuente de carbono y energía se incrementó gradualmente hasta alcanzar el valor máximo a las 60 horas y luego disminuyó. El tiempo fue similar en las bacterias cultivadas en el control glucosa, Los valores en la densidad óptica a las 60 horas oscilaron entre 0,130 a 0,147 con EPS y 0,156 a 0,178 con glucosa. Los mayores valores en la densidad óptica correspondieron a *Staphylococcus* sp. 267 con EPS y glucosa como fuentes de carbono y energía (Figuras 9, 10, anexo 15). La eficiencia en la degradación del EPS expresada como porcentaje de peso perdido por las bacterias degradadoras fue de 12,68 % con *Citrobacter* sp. 250 a 5,55 % con *Shigella* sp. 219 (Tabla 8). La tasa de reducción del polímero (K) fue de 0,0013 g día<sup>-1</sup> por *Citrobacter* sp. 250 a 0,0005 g día<sup>-1</sup> (*Shigella* sp. 219). La vida media del EPS residual ( $t_{1/2}$ ) fue de 1386,20 días (*Shigella* sp. 219) a 533,15 días (*Citrobacter* sp. 250) o tiempo requerido por las bacterias investigadas para reducir el peso del polímero a la mitad (Tabla 9).

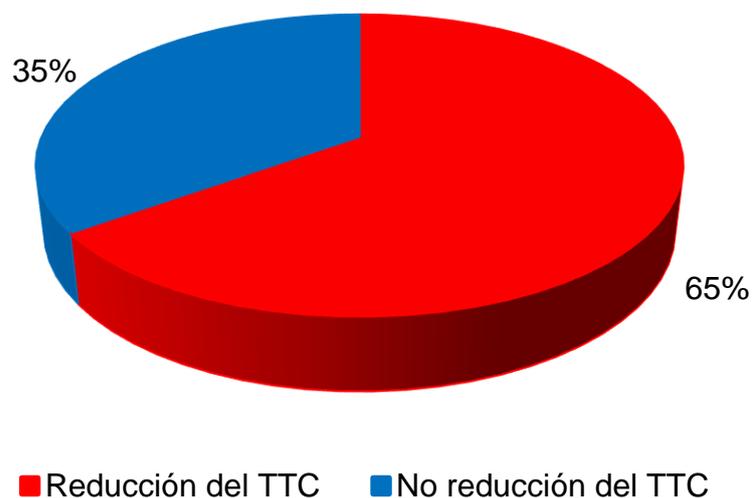
**Figura 7**

Coloración observada por la reducción del indicador TTC por bacterias cultivadas con glucosa (a) y EPS emulsionado (b, c, d) como fuente de carbono y energía, Lambayeque 2023.



**Figura 8**

Porcentaje de bacterias reductoras del indicador cloruro de 2,3,5 – trifeniltetrazolio en caldo mínimo basal libre de carbono con EPS como fuente de carbono y energía durante 10 días, Lambayeque 2023.

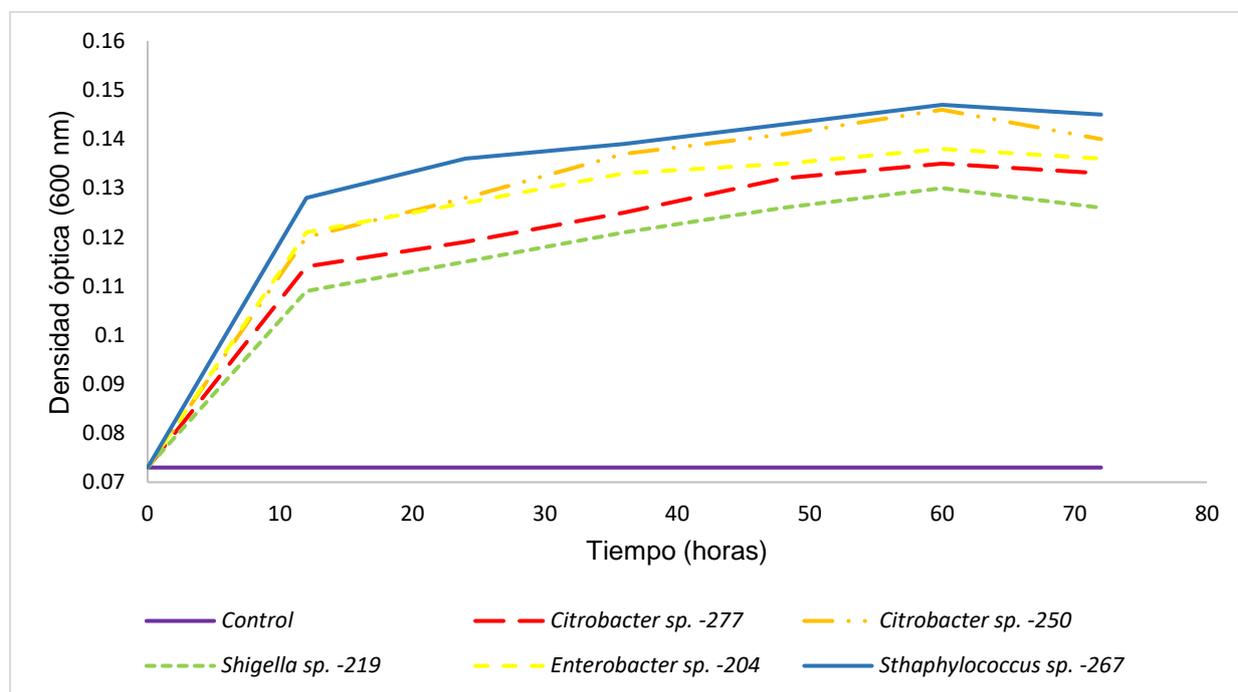
**Tabla 7**

Tiempo requerido para la reducción del indicador por bacterias cultivadas con caldo mínimo basal libre de carbono con EPS y glucosa como fuentes de carbono y energía, Lambayeque 2023

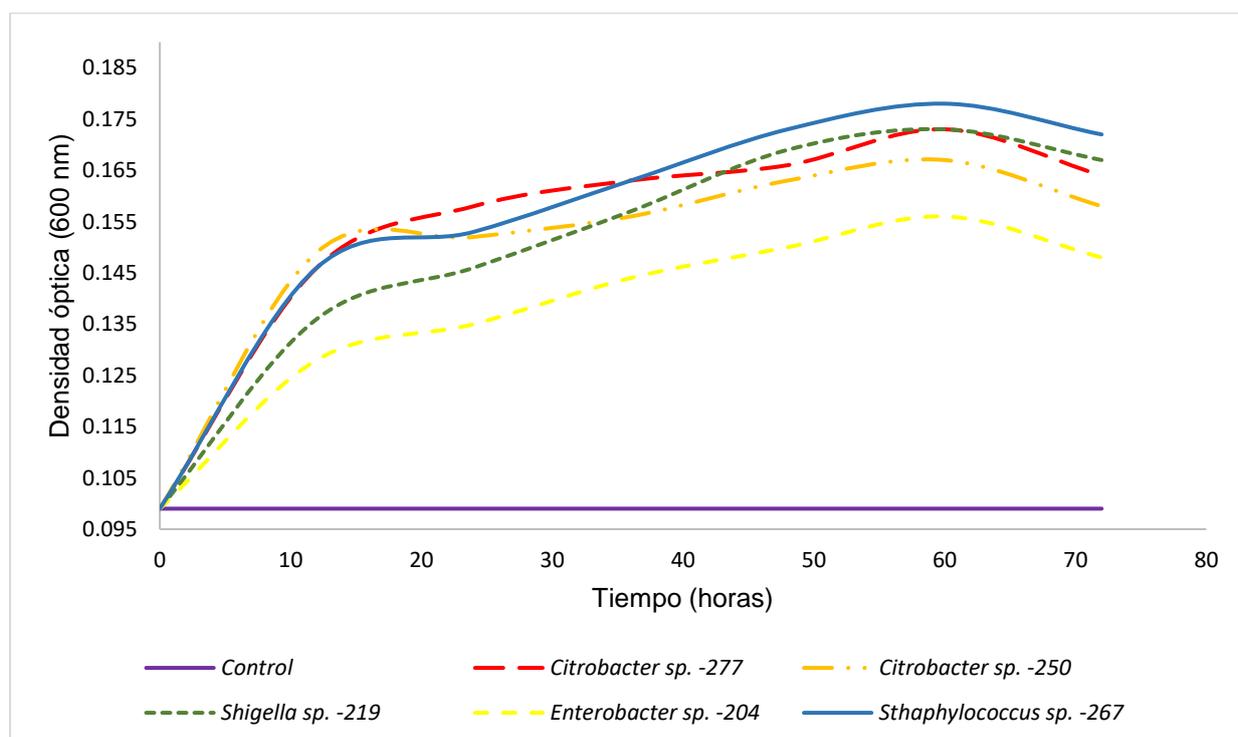
| Bacterias | Agar de aislamiento | Tiempo requerido para la reducción del indicador (horas) |     |
|-----------|---------------------|--|-----|
|           |                     | Control glucosa  | EPS |
| 277       | Agar nutritivo      | 24   | 36  |
| 267       | Agar nutritivo      | 24   | 36  |
| 250       | Agar Mc Conkey      | 24   | 36  |
| 219       | Agar Mc Conkey      | 24   | 36  |
| 204       | Agar Mc Conkey      | 24   | 36  |
| 198       | Agar Mc Conkey      | 24   | 48  |
| 85        | Agar Mc Conkey      | 24   | 48  |
| 367       | Agar nutritivo      | 36   | 60  |
| 320       | Agar nutritivo      | 36   | 60  |
| 206       | Agar Mc Conkey      | 48   | 60  |
| 416       | Agar nutritivo      | 48   | 72  |
| 364       | Agar nutritivo      | 48   | 228 |
| 135       | Agar nutritivo      | 72   | 228 |

**Figura 9**

Densidad óptica del caldo mínimo basal con EPS emulsionado como fuente de carbono utilizado por bacterias intestinales de *Tenebrio molitor*, Lambayeque 2023.

**Figura 10**

Densidad óptica del caldo mínimo basal con glucosa como fuente de carbono utilizado por bacterias intestinales de *Tenebrio molitor*, Lambayeque 2023.



**Tabla 8**

*Porcentaje de disminución del peso del EPS emulsionado utilizado como fuente de carbono por cinco bacterias intestinales de Tenebrio molitor, Lambayeque 2023*

| Bacterias                     |    | EPS emulsionado  |                |                  | Promedio peso perdido(%)<br>desviación estándar |
|-------------------------------|----|------------------|----------------|------------------|---|
|                               |    | Peso inicial (g) | Peso final (g) | Peso perdido (%) |   |
| <i>Citrobacter</i> sp. 250    | r1 | 0,42             | 0,37           | 11,90            | 12,68 ± 0,72                                    |
|                               | r2 | 0,39             | 0,34           | 12,82            |   |
|                               | r3 | 0,45             | 0,39           | 13,33            |   |
| <i>Citrobacter</i> sp. 277    | r1 | 0,44             | 0,40           | 9,09             | 9,22 ± 0,97                                     |
|                               | r2 | 0,39             | 0,35           | 10,26            |   |
|                               | r3 | 0,36             | 0,33           | 8,33             |   |
| <i>Enterobacter</i> sp. 204   | r1 | 0,48             | 0,45           | 6,25             | 6,31 ± 1,34                                     |
|                               | r2 | 0,39             | 0,36           | 7,69             |   |
|                               | r3 | 0,40             | 0,38           | 5,00             |   |
| <i>Staphylococcus</i> sp. 267 | r1 | 0,47             | 0,44           | 6,38             | 6,13 ± 1,15                                     |
|                               | r2 | 0,42             | 0,39           | 7,14             |   |
|                               | r3 | 0,41             | 0,39           | 4,88             |   |
| <i>Shigella</i> sp. 219       | r1 | 0,47             | 0,45           | 4,26             | 5,55 ± 1,36                                     |
|                               | r2 | 0,43             | 0,40           | 6,98             |   |
|                               | r3 | 0,37             | 0,35           | 5,41             |   |

**Tabla 9**

*Peso perdido, tasa de reducción y vida media del EPS residual utilizado como fuente de carbono por cinco bacterias intestinales de Tenebrio molitor, Lambayeque 2023*

| Bacterias                     | Peso perdido<br>% | Tasa de reducción (K)<br>g día <sup>-1</sup> | Vida media del EPS residual (t <sub>1/2</sub> )<br>días |
|-------------------------------|-------------------|--|---|
| <i>Citrobacter</i> sp. 250    | 12,68             | 0,0013                                       | 533,15  |
| <i>Citrobacter</i> sp. 277    | 9,22              | 0,0009                                       | 770,11  |
| <i>Enterobacter</i> sp. 204   | 6,31              | 0,0006                                       | 1155,17   |
| <i>Staphylococcus</i> sp. 267 | 6,13              | 0,0006                                       | 1155,17   |
| <i>Shigella</i> sp. 219       | 5,55              | 0,0005                                       | 1386,20   |

## V. DISCUSIÓN

El número de bacterias fue menor en el intestino de las larvas de *T. molitor* alimentadas con EPS en comparación con las larvas procedentes del centro de comercialización y las alimentadas con dieta mixta. Este resultado coincide con el reporte de Tsochatzis et al. (2021) quienes demostraron que el número de bacterias del intestino de larvas de *T. molitor* alimentadas con una dieta de salvado: PS en una relación de 4:1 fue de 81,188 número menor que 103,953 alcanzado con una dieta de salvado (control). Esta diferencia fue atribuida al efecto bacteriostático causado por los productos de la degradación del PS como son el estireno y los oligómeros de estireno. A su vez, Urbanek et al. (2020) demostraron que el mayor número de unidades formadoras de colonias de bacterias correspondió al intestino de las larvas del control y el número varió según el tipo de PS, siendo mayor ( $44,325 \times 10^6$ ) con el PS utilizado para empaques (PSP) en comparación con el EPS que tiene un MFR 3,5 veces mayor.

Bae et al. (2021) demostraron que la composición microbiana del intestino de larvas alimentadas con EPS presentó diferencias significativas frente al grupo control. En el primer grupo se identificaron 15 especies de bacterias y en el control 7 especies, diferencia explicada por la simplicidad química del EPS. La densidad poblacional fue similar en ambos grupos; no obstante, el índice de diversidad Shannon fue de 1,691 (control) y 0,731 (EPS). La diversidad disminuyó en el intestino de las larvas alimentadas con EPS, con dos especies predominantes (*Lactococcus garvieae* y *Cronobacter sakazakii*) y más de cuatro especies (*Bacillus alkalinitrilus*, *Pediococcus pentosaceus*, *Lactobacillus* spp. y *Clostridium oryzae*) en las larvas control. Por su parte, *Spiroplasma velocicrescens* se mantuvo en los dos grupos de larvas lo que demostró que esta especie es necesaria para el normal funcionamiento del sistema digestivo de las larvas (Bae et al., 2021). De igual manera, Tsochatzis et al. (2021) reportaron que en el intestino de larvas alimentadas sin y con PS se identificaron los géneros *Spiroplasma*, *Klebsiella*, *Erwinia*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Weissella*, *Clostridium*, *Chryseobacterium*, *Pseudomonas*, *Faecalibacterium*, *Proteus* y *Stenotrophomonas*. Con todos los géneros, a excepción de *Erwinia*, *Lactococcus* y *Enterococcus* el número de bacterias fue mayor en las larvas alimentadas con dieta normal sin PS, por tanto, se evidenció el potencial de estos tres últimos géneros bacterianos como degradadores del polímero.

El aislamiento de bacterias en el intestino de larvas de *T. molitor* coincide con Machona et al. (2022). La técnica del enriquecimiento se utilizó porque permite seleccionar microorganismos con mayor eficiencia en la degradación del PS (Brandon et al., 2021). Las bacterias asociadas al intestino de las larvas de *T. molitor* en su mayoría fueron Gram negativas, al igual que los reportes de Machona et al., (2022) y Bae et al. (2021). En el microbioma intestinal de larvas de *T. molitor* predominan los Phylum Proteobacteria y Firmicutes con un porcentaje muy bajo de Acidobacteria y Bacteroidetes. Las seis familias predominantes son Enterobacteriaceae, Streptococcaceae, Bacillaceae, Enterococcaceae, Lactobacillaceae y Leuconostocaceae. En cuanto a las especies del phylum Firmicutes (Bacillaceae, Enterococcaceae, Lactobacillaceae y Streptococcaceae) no se encontraron diferencias significativas entre larvas alimentadas con PS y el control (salvado). Respecto al phylum Proteobacteria, la familia Enterobacteriaceae alcanzó 33,7 % de abundancia en el control; 64,6 % en las larvas alimentadas con PS y 50,25 % en las larvas alimentadas con dieta mixta de PS más salvado (Urbanek et al., 2020).

Respecto a las bacterias Gram negativas en el contenido intestinal de larvas de *T. molitor* se han identificado *Enterobacter* spp. (Urbanek et al., 2020), *Klebsiella oxytoca* (Machona et al., 2022), *Cronobacter sakazakii* (Bae et al., 2021) y *Erwinia* spp. (Yang et al., 2018b). En cuanto a las bacterias Gram positivas se han identificado *Enterobacter faecalis* (Vera et al., 2021), *Lactococcus garvieae*, *L. lactis*, *Streptococcus gallinaceus*, *Enterococcus gallinarum* (Urbanek et al., 2020), *B. alkalinitrilus*, *P. pentosaceus*, *Clostridium oryzae* (Bae et al., 2021) y *B. megaterium* (Tan et al., 2021b).

Las bacterias (91,30 %) que crecieron utilizando el EPS como fuente de carbono se calificaron como degradadoras del polímero. El proceso biodegradativo de los plásticos se inicia con el crecimiento de los microorganismos sobre la superficie del polímero, donde secretan enzimas para degradarlo a pequeños fragmentos denominados oligómeros e inclusive unidades monoméricas. Las vías del catabolismo del estireno o componentes del EPS son diversas; no obstante, la más frecuente es la oxidación del estireno hasta fenilacetato mediante el ciclo del ácido cítrico. En el proceso degradativo se han identificado el óxido de estireno, el fenilacetaldehído, el ácido fenilacético y el fenilacetilo coenzima A. Las enzimas involucradas son estireno monoxigenasa (SMO), óxido estireno isomerasa (SOI), fenilacetaldehído deshidrogenasa, PAALDH y fenilacetilo coenzima A ligasa, PACoA (Ho et al., 2018).

Se hipotetiza que las bacterias degradadoras de PS son capaces de secretar enzimas oxidativas extracelulares que fragmentan las cadenas del PS y generan intermediarios con enlaces C=O. Se requiere la identificación de las enzimas clave involucradas en la despolimerización y degradación del PS; no obstante, las evidencias sugieren que las bacterias degradadoras de EPS incluyen Gram negativas de la familia Enterobacteriaceae y Gram positivas de los géneros *Clostridium* y *Bacillus*. En un ambiente donde el PS es la única fuente de carbono, las bacterias degradadoras puede usar el polímero como fuente de carbono para su crecimiento; no obstante, si se encuentran otras fuentes de carbono además del PS, la tasa de degradación del contaminante disminuye, desventaja que evidencia el requerimiento de investigación relacionada con las enzimas involucradas en el proceso y que puedan ser comercializadas para su uso comercial (Ho et al., 2018).

El 8,70 % de las bacterias asociadas al intestino de larvas de *T. molitor* no crecieron en el EPS como única fuente de carbono, coincidiendo con Brandon et al. (2021), quienes determinaron que *Serratia marcescens*, *Klebsiella* sp. y *Pseudomonas aeruginosa* fueron aisladas del intestino de larvas degradadoras, pero fueron incapaces de degradar el PS en cultivos axénicos. Este resultado demostró que, para utilizar el PS como fuente de carbono, estas bacterias dependen de los factores secretados por las larvas.

La reducción del 2,3,5 trifeniltetrazolio (TTC) por las bacterias degradadoras del PS también fue demostrada por Tan et al (2021a) con bacterias aisladas del intestino de larvas de *Zophobas morio*. Los investigadores observaron la reducción del TTC desde las 24 hasta las 96 horas de incubación y este resultado fue considerado como un “tamizado” primario de la viabilidad y actividad metabólica. En una segunda etapa, se caracterizó la superficie del polímero degradado mediante microscopía electrónica de barrido y se evaluaron los cambios en la estructura mediante FTIR. La reducción del TTC y como consecuencia la observación del color grosella es un indicador del metabolismo celular en los estudios microbiológicos. Es una prueba rápida y efectiva que verifica la degradación del PS al ser utilizado como fuente de carbono por las bacterias. El indicador TTC que inicialmente es incoloro es reducido al compuesto coloreado trifenil-formazan (TPF) en el sistema de transporte de electrones. Se postula que el TTC es un aceptor artificial de electrones y es reducido en el sistema aerobio de citocromos hasta formar el compuesto insoluble en agua y coloreado denominado formazan (Tan et al., 2021b).

El tiempo requerido para la reducción del TTC por las bacterias intestinales de larvas de *T. molitor* en el caldo con EPS (36 - 228 horas) fue mayor que en los caldos con glucosa como fuente de carbono (24 - 72 horas). Esta diferencia de tiempo también fue observada por Tan et al. (2021b) con *B. megaterium* degradador de PS, concluyendo que el polímero requiere de un mayor tiempo para ser fragmentado en monómeros cortos que puedan ingresar a la célula bacteriana y ser utilizados como fuente de carbono durante el crecimiento.

Las bacterias de los géneros *Citrobacter* y *Enterobacter* de la familia Enterobacteriaceae predominaron entre las degradadoras de EPS identificadas en la presente investigación. Especies de esta familia están involucradas en la degradación de EPS, se han identificado en larvas alimentadas con EPS y entre ellas se encuentran *Citrobacter* spp. (Brandon et al., 2018), *Cronobacter sakazakii* (Bae et al., 2021), *Aeromonas* sp., *Klebsiella pneumoniae* (Tang et al., 2017), *K. oxytoca* (Machona et al., 2022) y *Enterobacter* spp. (Urbanek et al., 2020).

En cuanto a *Enterobacter* spp. en el intestino de larvas alimentadas con PS se han identificado *E. ludwigii*, *E. amnigenus*, *E. hormaechei*, *E. soli*, *E. aerogenes* y *E. asburiae*. A diferencia de los géneros *Klebsiella* y *Serratia* que se identificaron en el microbioma intestinal de todas las larvas, *E. hormaechei* predominó entre las bacterias de larvas alimentadas con tres tipos de PS: PSp, PSr y EPS, concluyéndose que tiene potencial para la degradación del polímero contaminante (Urbanek et al., 2020). Respecto a *Citrobacter* spp., se coincide con Brandon et al. (2021), quienes reportaron a *C. freundii* como la especie prevalente en el contenido intestinal de larvas de *T. molitor* previamente enriquecidas con EPS por 3 meses. Por su parte, Brandon et al. (2018) demostraron que *Citrobacter* sp. está asociada en forma significativa con el microbioma intestinal de larvas de *T. molitor* alimentadas con poliestireno y polietileno y Paranjli et al. (2016) reportaron que las enzimas de diferentes especies de *Citrobacter* se utilizan para la degradación de p O-fenilendiamina.

Respecto a *Shigella* sp., se coincide con la investigación de Jiang et al. (2021), quienes estudiaron el contenido intestinal de larvas de *T. molitor* y determinaron que la alimentación con PS induce el enriquecimiento en algunos microorganismos del intestino que pueden ser responsables de la degradación del polímero, como *Enterococcus* spp., *Escherichia-Shigella* y *Lactococcus* spp. En cuanto a *Staphylococcus* sp. se coincide con Ho et al. (2018), quienes demostraron en este microorganismo la capacidad para degradar el PS.

El peso del EPS perdido fue de 5,55 – 12,68 % por efecto de la degradación del polímero por bacterias calificadas como degradadoras. Los valores reportados en la literatura son diversos y oscilan entre 7,40 – 12,97 % (Jiang et al. 2021; Yang et al. 2015). La degradación del EPS por los microorganismos, es analizada mediante la observación microscópica de los cambios en la estructura superficial, presencia de rajaduras, grietas, agujeros, cambios del color y formación de biopelícula sobre el polímero. Asimismo, se detectan los cambios en las propiedades mecánicas mediante las pruebas de tensión (resistencia a la tracción, elongación a la ruptura y límite de elasticidad) que evidencian los primeros estados en el proceso degradativo. La ruptura del polímero se determina con la disminución del peso molecular y la ampliación de la distribución del peso molecular. La pérdida del peso del polímero (gravimetría) demuestra la biodegradación en forma directa; no obstante, pueden existir problemas con la limpieza incorrecta de la muestra o con la pérdida de peso por volatilización de componentes intermediarios e impurezas solubles (Ho et al., 2018).

El peso perdido del polímero durante la degradación por *Citrobacter* sp. 250 alcanzó 12,68 %, valor superior a 7,46 % reportado por Auta et al., (2017) para *Bacillus cereus*; no obstante, la tasa de reducción fue de 0,0019 g día<sup>-1</sup> y la vida media del polímero residual de 363,16 días. En la presente investigación la tasa de reducción fue de 0,0013 g día<sup>-1</sup> con una vida media de 533,15 días, diferencia que puede ser explicada porque estos investigadores utilizaron PS irradiado con luz ultravioleta durante 25 días, proceso que aumenta los índices carbonilo y los dobles enlaces terminales y por tanto acelera la tasa de reducción y degradación microbiana y disminuye la vida media del polímero residual.

## VI. CONCLUSIONES

6.1 El rango de microorganismos cultivables asociados al intestino de *T. molitor* fue de  $1,0 \times 10^5 - 9,9 \times 10^7$  UFC g<sup>-1</sup> en las larvas procedentes del centro de comercialización y de la crianza con dieta mixta y de  $1,0 \times 10^5 - 9,9 \times 10^6$  UFC g<sup>-1</sup> en las larvas de la crianza con EPS.

6.2 El 95,13 % de las bacterias aisladas en agar nutritivo y el 86,57 % de las bacterias aisladas en agar Mc Conkey desarrollaron con EPS emulsionado como fuente de carbono y energía y se seleccionaron las cinco bacterias que utilizaron el polímero después de 36 horas de incubación con el indicador de reducción TTC.

6.3 Las bacterias degradadoras de EPS seleccionadas se identificaron como *Staphylococcus* sp. 267, *Citrobacter* sp. 277, *Citrobacter* sp. 250, *Enterobacter* sp. 204 y *Shigella* sp. 219.

6.4 La eficiencia en la degradación del EPS expresada como porcentaje de peso perdido por las bacterias degradadoras alcanzó 12,68 % con *Citrobacter* sp. 250, con una tasa de reducción 0,0013 g día<sup>-1</sup> y una vida media del polímero residual de 533,15 días.

## VII. RECOMENDACIONES

Caracterizar a nivel molecular *Staphylococcus* sp. 267, *Citrobacter* sp. 277, *Citrobacter* sp. 250, *Enterobacter* sp. 204 y *Shigella* sp. 219.

Utilizar la técnica de espectroscopía infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR) para caracterizar el EPS degradado por las bacterias.

Utilizar la microscopía electrónica de rastreo para determinar los cambios en la superficie del EPS degradado por las bacterias.

## VIII. REFERENCIAS

- Amato, L., dos Santos, L., de Weger, L., Hiemstra, P., Vijver, M., y Mauad, T. (2020). An emerging class of air pollutants: potential effects of microplastics to respiratory human health?. *The Science of the Total Environment*, 749, 141676. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141676>
- Arthuz, L., y Pérez, W. (2019). Alternativas de bajo impacto ambiental para el reciclaje del poliestireno expandido a nivel mundial. *Informador Técnico*, 83(2), 209-219. <https://doi.org/10.23850/22565035.1638>
- Auta, H., Emenike, C., y Fauziah, S. (2017). Screening of Bacillus strains isolated from mangrove ecosystems in Peninsular Malaysia for microplastic degradation. *Environmental Pollution*, 231(2), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.09.043>
- Bae, J., Cho, H., Jung, H., Park, J., Yun, S., Ha, S., Lee, Y., y Kim, T. (2021). Changes in intestinal microbiota due to the expanded polystyrene diet of mealworms (*Tenebrio molitor*). *Indian Journal of Microbiology*, 61(2), 130–136. <https://doi.org/10.1007/s12088-021-00922-w>
- Bilal, H., Raza, H., Bibi, H., y Bibi, T. (2021). Plastic biodegradation through insects and their symbionts microbes: a review. *Journal of Bioresource Management*, 8 (4), 95–103. <https://doi.org/10.35691/JBM.1202.0206>
- Brandon, A., Gao, S., Tian, R., Ning, D., Yang, S., Zhou, J., Wu, W., y Criddle, C. (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. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b02301>
- Brandon, A., Garcia, A., Khlystov, N., Wu, W., y Criddle, C. (2021). Enhanced bioavailability and microbial biodegradation of polystyrene in an enrichment derived from the gut microbiome of *Tenebrio molitor* (mealworm larvae). *Environmental Science & Technology*, 55(3), 2027–2036. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c04952>
- Cucini, C., Funari, R., Mercati, D., Nardi, F., Carapelli, A., y Marri, L. (2022). Polystyrene shaping effect on the enriched bacterial community from the plastic-eating *Alphitobius diaperinus* (Insecta: Coleoptera). *Simbiosis*. <https://doi.org/10.1007/s13199-022-00847-y>

- Dioses, D., Pizarro, C., y De la Torre, G. (2020). A methodological approach of the current literature on microplastic contamination in terrestrial environments: current knowledge and baseline considerations. *The Science of the Total Environment*, 730, 139164. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139164>
- Hernández, R., Fernández, C., y Baptista, M. (2014). *Metodología de la investigación*. Mc Graw Hill. <https://www.uca.ac.cr/wp-content/uploads/2017/10/Investigacion.pdf>
- Ho, B., Roberts, T., y Lucas, S. (2018). An overview on biodegradation of polystyrene and modified polystyrene: the microbial approach. *Critical Reviews in Biotechnology*, 38(2), 308–320. <https://doi.org/10.1080/07388551.2017.1355293>
- Hwang, J., Choi, D., Han, S., Jung, S., Choi, J., y Hong, J. (2020). Potential toxicity of polystyrene microplastic particles. *Scientific Reports*, 10(1), 7391. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64464-9>
- Jiang, S., Su, T., Zhao, J., y Wang, Z. (2021). Biodegradation of polystyrene by *Tenebrio molitor*, *Galleria mellonella*, and *Zophobas atratus* larvae and comparison of their degradation effects. *Polymers*, 13(20), 3539. <https://doi.org/10.3390/polym13203539>
- Kundungal, H., Synshiang, K., y Devipriya, S. (2021). Biodegradation of polystyrene wastes by a newly reported honey bee pest *Uloma* sp. larvae: an insight to the ability of polystyrene-fed larvae to complete its life cycle. *Environmental Challenges*, 4, 100083. <https://doi.org/10.1016/j.envc.2021.100083>
- Lian, J., Liu, W., Meng, L., Wu, J., Chao, L., Zeb, A., y Sun, Y. (2021). Foliar-applied polystyrene nanoplastics (PSNPs) reduce the growth and nutritional quality of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Environmental Pollution*, 280, 116978. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116978>
- Lou, Y., Ekaterina, P., Yang, S., Lu, B., Liu, B., Ren, N., Corvini, P., y Xing, D. (2020). Biodegradation of polyethylene and polystyrene by greater max moth larvae (*Galleria mellonella* L.) and the effect of co-diet supplementation on the core gut microbiome. *Environmental Science & Technology*, 54(5), 2821–2831. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b07044>
- Machona, O., Chidzondo, F., y Mangoyi, R. (2022). *Tenebrio molitor*: possible source of polystyrene-degrading bacteria. *BMC Biotechnology*, 22(1), 2. <https://doi.org/10.1186/s12896-021-00733-3>

- Maroof, L., Khan, I., Yoo, H., Kim, S., Park, H., Ahmad, B., y Azam, S. (2021). Identification and characterization of low density polyethylene-degrading bacteria isolated from soils of waste disposal sites. *Environmental Engineering Research*, 26(3), 1-9. <https://doi.org/10.4491/eer.2020.167>
- Mohan, A., Sekhar, V., Bhaskar, T., y Nampoothiri, K. (2016). Microbial assisted high impact polystyrene (HIPS) degradation. *Bioresource Technology*, 213, 204–207. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.03.021>
- Paranji, S., Rajasekaran, M., y Ganesan, S. (2016). Biodegradation of the endocrine disrupting chemical o-phenylenediamine using intracellular enzymes from *Citrobacter freundii* and its kinetic studies. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 91(1), 171-183. <https://doi.org/10.1002/jctb.4558>
- Peng, B., Su, Y., Chen, Z., Chen, J., Zhou, X., Benbow, M., Criddle, C., Wu, W., y Zhang, Y. (2019). Biodegradation of polystyrene by dark (*Tenebrio obscurus*) and yellow (*Tenebrio molitor*) mealworms (Coleoptera: Tenebrionidae). *Environmental Science & Technology*, 53(9), 5256–5265. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b06963>
- Pitt, J., Kozal, J., Jayasundara, N., Massarsky, A., Trevisan, R., Geitner, N., Wiesner, M., Levin, E., y Di Giulio, R. (2018). Uptake, tissue distribution, and toxicity of polystyrene nanoparticles in developing zebrafish (*Danio rerio*). *Aquatic Toxicology*, 194, 185–194. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.11.017>
- Rahman, M., Haque, A., Ahmad, T., Mahmud, S., Sohana, S., Hossain, M., Barman, N., Badiruzzaman, M., Hossain, T., Haque, M., Uddin, E., y Ahmed, R. (2019). Isolation, identification and antibiotic sensitivity pattern of *Salmonella* spp from locally isolated egg samples. *American Journal of Pure and Applied Biosciences*, 1(1), 1-11. <https://doi.org/10.34104/ajpab.019.019111>
- Rodríguez, A., Ortiz, Y., Hernández, C., y Figueroa, C. (2021). Biodegradación de espumas plásticas por larvas de insectos: ¿una estrategia sustentable?. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 24(1), 1-10. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2021.311>
- Segovia, J., Narro, R., Avalos, F., y Sáenz, A. (2019). Poliestireno, innovaciones emergentes y daños a la salud: dos caras de la misma moneda. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 20(1), 13-20. <https://reviberpol.files.wordpress.com/2019/02/2019-20-1-13-20-segovia-y-col..pdf>

- Sekhar, V., Nampoothiri, K., Mohan, A., Nair, N., Bhaskar, T., y Pandey, A. (2016). Microbial degradation of high impact polystyrene (HIPS), an e-plastic with decabromodiphenyl oxide and antimony trioxide. *Journal of Hazardous Materials*, 318, 347–354. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.07.008>
- Song, Y., Hong, S., Eo, S., Han, G., y Shim, W. (2020). Rapid production of micro- and nanoplastics by fragmentation of expanded polystyrene exposed to sunlight. *Environmental Science & Technology*, 54(18), 11191–11200. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c02288>
- Szafraniec, G., Szeleszczuk, P., y Dolka, B. (2020). A review of current knowledge on *Staphylococcus agnetis* in poultry. *Animals*, 10(8), 1421. <https://doi.org/10.3390/ani10081421>
- Tan, K., Mohd, N., Mohd, A., Razak, A., y Kamarudin, K. (2021a). Isolation and identification of polystyrene degrading bacteria from zophobas morio's gut. *Walailak Journal of Science and Technology*, 18(8), 9118. <https://doi.org/10.48048/wjst.2021.9118>
- Tan, K., Mohd, A., Razak, A., y Mohd, N. (2021b). *Bacillus megaterium*: a potencial and an efficient bio-degrader of polystyrene. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 64, 1-12. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2021190321>
- Tang, Z., Kuo, T., y Liu, H. (2017). The study of the microbes degraded polystyrene. *Advances in Technology Innovation*, 2(1), 13-17. <https://ojs.imeti.org/index.php/AITI/article/view/204>
- Tsochatzis, E., Berggreen, I., Tedeschi, F., Ntrallou, K., Gika, H., y Corredig, M. (2021). Gut microbiome and degradation product formation during biodegradation of expanded polystyrene by mealworm larvae under different feeding strategies. *Molecules*, 26(24), 7568. <https://doi.org/10.3390/molecules26247568>
- United States Agency International Development [USAID]. (2020). *Estudio de caso: los desechos plásticos en el mar y la gestión de residuos sólidos en Perú*. [https://urban-links.org/wp-content/uploads/Peru\\_Marine\\_Plastics\\_CS\\_Spanish.pdf](https://urban-links.org/wp-content/uploads/Peru_Marine_Plastics_CS_Spanish.pdf)
- Urbanek, A., Rybak, J., Wróbel, M., Leluk, K., y Mirończuk, A. (2020). A comprehensive assessment of microbiome diversity in *Tenebrio molitor* fed with polystyrene waste. *Environmental Pollution*, 262, 114281. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114281>

- Vera, V., Choque, B., Soto, K., Solórzano, G., y Huayllani, B. (2021). Aislamiento de enterobacterias de *Tenebrio molitor* (coleoptera: tenebrionidae) como organismos degradadores del poliestireno expandido bajo condiciones de laboratorio. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 5(6), 11169-11185. [https://doi.org/10.37811/cl\\_rcm.v5i6.1160](https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v5i6.1160)
- Wang, Z., Xin, X., Shi, X., y Zhang, Y. (2020). A polystyrene-degrading *Acinetobacter bacterium* isolated from the larvae of *Tribolium castaneum*. *The Science of the Total Environment*, 726, 138564. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138564>
- Wu, W., Feng, Y., y Zong, Z. (2020). Precise species identification for *Enterobacter*: a genome sequence-based study with reporting of two novel species, *Enterobacter quasiroggenkampii* sp. nov. and *Enterobacter quasimori* sp. nov. *Msystems*, 5(4), e00527-20. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00527-20>
- Xu, M., Halimu, G., Zhang, Q., Song, Y., Fu, X., Li, Y., Li, Y., y Zhang, H. (2019). Internalization and toxicity: a preliminary study of effects of nanoplastic particles on human lung epithelial cell. *The Science of the Total Environment*, 694, 133794. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133794>
- Yang, S., Brandon, A., Xing, D., Yang, J., Pang, J., Criddle, C., Ren, N., y Wu, W. (2018a). Progresses in polystyrene biodegradation and prospects for solutions to plastic waste pollution. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 150, 012005. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/150/1/012005>
- Yang, S., Wu, W., Brandon, A., Fan, H., Receveur, J., Li, Y., Wang, Z., Fan, R., McClellan, R., Gao, S., Ning, D., Phillips, D., Peng, B., Wang, H., Cai, S., Li, P., Cai, W., Ding, L., Yang, J., Zheng, M., Ren, J., Zhang, Y., Gao, J., Xing, D., Ren, N., Waymouth, R., Zhou, J., Tao, H., Picard, C., Benbow, M., y Criddle, C. (2018b). Ubiquity of polystyrene digestion and biodegradation within yellow mealworms, larvae of *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae). *Chemosphere*, 212, 262-271. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.08.078>
- Yang, Y., Yang, J., Wu, W., Zhao, J., Song, Y., Gao, L., Yang, R., y Jiang, L. (2015). Biodegradation and mineralization of polystyrene by plastic-eating mealworms: part 2. role of gut microorganisms. *Environmental Science & Technology*, 49(20), 12087-12093. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b02663>
- Zhao, C., Wen, H., Huang, S., Weng, S., y He, J. (2022). A novel disease (water bubble disease) of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* caused

by *Citrobacter freundii*: antibiotic treatment and effects on the antioxidant enzyme activity and immune responses. *Antioxidants*, 11(8), 1491.  
<https://doi.org/10.3390/antiox11081491>

# ANEXOS

## Anexo 1

### ***Metodología de crianza de larvas de *T. molitor* en condiciones de laboratorio (Machona, 2022 modificado por los autores).***

En el centro de comercialización Kuru Wasi se adquirieron 300 larvas que se llevaron al laboratorio (CIFOS) y se acondicionaron en tres contenedores de vidrio transparente (40 cm largo x 15 cm ancho) cuyas paredes se cubrieron externamente con cartulina negra y encima se cubrieron con tul negro. Estos presentaron cuatro divisiones y en cada una de ellas se colocaron 25 larvas.

Las larvas del primer contenedor se alimentaron con rodajas (4 cm diámetro) de papa, zanahoria (4 cm largo y 1.5 cm ancho) y 15.96 g de salvado de trigo, con cambio de la papa y zanahoria cada 48 horas durante 21 días. Las larvas de segundo contenedor se alimentaron con dieta mixta de papa, zanahoria, salvado de trigo y poliestireno expandido, EPS (1:1:2:2), con cambio de la papa y zanahoria cada 48 horas durante 21 días. Las larvas del tercer contenedor se alimentaron con poliestireno expandido, EPS (1.61 g) y papa y zanahoria para mantener la humedad.

Transcurridos los 21 días en cada contenedor se seleccionaron 20 larvas para el aislamiento de bacterias. La temperatura promedio durante la crianza de larvas de *T. molitor* fue de 21 – 29 °C y la humedad relativa de 53 – 69 °C.

### Anexo 2

***Temperatura y humedad relativa en el laboratorio de crianza de larvas *T. molitor*,  
setiembre – octubre 2022***

| Días de crianza | Temperatura (°C) | Humedad relativa (%) |
|-----------------|------------------|----------------------|
| 1               | 24,4             | 68                   |
| 2               | 26,7             | 64                   |
| 3               | 21,8             | 62                   |
| 4               | 25,7             | 65                   |
| 5               | 22,4             | 65                   |
| 6               | 23,4             | 68                   |
| 7               | 26,0             | 61                   |
| 8               | 25,3             | 61                   |
| 9               | 22,2             | 69                   |
| 10              | 24,6             | 66                   |
| 11              | 22,1             | 67                   |
| 12              | 24,2             | 69                   |
| 13              | 26,5             | 63                   |
| 14              | 27,0             | 63                   |
| 15              | 24,1             | 63                   |
| 16              | 28,7             | 61                   |
| 17              | 26,4             | 54                   |
| 18              | 28,9             | 53                   |
| 19              | 29,0             | 53                   |
| 20              | 27,2             | 53                   |
| 21              | 29,0             | 65                   |

### Anexo 3

**Caldo mínimo basal libre de carbono (Liquid Carbon Free Basal Medium, LCFBM):**  
American Society for Testing and Materials ASTM (Tan at al., 2021 b).

## Anexo 4

Número de UFC g<sup>-1</sup> de microorganismos cultivables asociadas al intestino de larvas de *Tenebrio molitor*, Lambayeque 2022

| Larvas | 10 <sup>-2</sup> |             |             | 10 <sup>-3</sup> |             |             | 10 <sup>-4</sup> |     |     | UFC g <sup>-1</sup>    |
|--------|------------------|-------------|-------------|------------------|-------------|-------------|------------------|-----|-----|------------------------|
|        | r1               | r2          | r3          | r1               | r2          | r3          | r1               | r2  | r3  |                        |
| 1      | 235              | 231         | 233         | 24               | 22          | 23          | 1                | 0   | 2   | 2,33 × 10 <sup>5</sup> |
| 2      | Incontables      | Incontables | Incontables | 287              | 280         | 284         | 27               | 25  | 26  | 2,84 × 10 <sup>6</sup> |
| 3      | 378              | 371         | 375         | 45               | 42          | 44          | 4                | 3   | 5   | 4,40 × 10 <sup>5</sup> |
| 4      | 376              | 368         | 372         | 43               | 41          | 42          | 3                | 2   | 4   | 4,20 × 10 <sup>5</sup> |
| 5      | Incontables      | Incontables | Incontables | 133              | 132         | 135         | 14               | 15  | 13  | 1,33 × 10 <sup>6</sup> |
| 6      | 299              | 263         | 281         | 30               | 26          | 28          | 2                | 1   | 3   | 2,81 × 10 <sup>5</sup> |
| 7      | 154              | 147         | 150         | 15               | 14          | 13          | 1                | 0   | 3   | 1,50 × 10 <sup>5</sup> |
| 8      | 574              | 589         | 586         | 51               | 58          | 55          | 2                | 5   | 6   | 5,50 × 10 <sup>5</sup> |
| 9      | Incontables      | Incontables | Incontables | 160              | 174         | 167         | 15               | 17  | 16  | 1,67 × 10 <sup>6</sup> |
| 10     | Incontables      | Incontables | Incontables | Incontables      | Incontables | Incontables | 124              | 134 | 129 | 1,29 × 10 <sup>7</sup> |
| 11     | 288              | 208         | 248         | 21               | 29          | 25          | 3                | 2   | 1   | 2,48 × 10 <sup>5</sup> |
| 12     | Incontables      | Incontables | Incontables | 245              | 296         | 271         | 28               | 24  | 26  | 2,71 × 10 <sup>6</sup> |
| 13     | 192              | 175         | 184         | 20               | 18          | 19          | 0                | 0   | 2   | 1,84 × 10 <sup>5</sup> |
| 14     | Incontables      | Incontables | Incontables | 112              | 138         | 125         | 14               | 12  | 13  | 1,25 × 10 <sup>6</sup> |
| 15     | 142              | 123         | 133         | 12               | 14          | 13          | 2                | 0   | 1   | 1,33 × 10 <sup>5</sup> |
| 16     | 240              | 298         | 269         | 27               | 25          | 23          | 3                | 2   | 2   | 2,69 × 10 <sup>5</sup> |
| 17     | Incontables      | Incontables | Incontables | 263              | 271         | 267         | 26               | 28  | 27  | 267 × 10 <sup>6</sup>  |
| 18     | Incontables      | Incontables | Incontables | 287              | 296         | 291         | 29               | 27  | 28  | 2,91 × 10 <sup>6</sup> |
| 19     | 112              | 120         | 116         | 9                | 11          | 10          | 1                | 0   | 0   | 1,16 × 10 <sup>5</sup> |
| 20     | 106              | 124         | 115         | 11               | 10          | 12          | 0                | 1   | 0   | 1,15 × 10 <sup>5</sup> |

Continuación...

| Larvas | 10 <sup>-2</sup> |             |             | 10 <sup>-3</sup> |             |             | 10 <sup>-4</sup> |     |     | UFC g <sup>-1</sup>    |
|--------|------------------|-------------|-------------|------------------|-------------|-------------|------------------|-----|-----|------------------------|
|        | r1               | r2          | r3          | r1               | r2          | r3          | r1               | r2  | r3  |                        |
| 21     | Incontables      | Incontables | Incontables | 87               | 96          | 92          | 7                | 3   | 5   | 9,20 × 10 <sup>5</sup> |
| 22     | 175              | 199         | 187         | 19               | 18          | 20          | 3                | 1   | 0   | 1,87 × 10 <sup>5</sup> |
| 23     | Incontables      | Incontables | Incontables | 250              | 239         | 245         | 23               | 24  | 19  | 2,45 × 10 <sup>6</sup> |
| 24     | 284              | 273         | 279         | 26               | 25          | 24          | 3                | 1   | 2   | 2,79 × 10 <sup>5</sup> |
| 25     | Incontables      | Incontables | Incontables | 210              | 254         | 232         | 23               | 21  | 22  | 2,32 × 10 <sup>6</sup> |
| 26     | Incontables      | Incontables | Incontables | Incontables      | Incontables | Incontables | 130              | 155 | 143 | 1,43 × 10 <sup>7</sup> |
| 27     | 281              | 270         | 276         | 24               | 27          | 25          | 2                | 3   | 2   | 2,76 × 10 <sup>5</sup> |
| 28     | 251              | 232         | 242         | 22               | 23          | 21          | 3                | 2   | 3   | 2,42 × 10 <sup>5</sup> |
| 29     | 136              | 112         | 124         | 15               | 11          | 13          | 1                | 0   | 0   | 1,24 × 10 <sup>5</sup> |
| 30     | Incontables      | Incontables | Incontables | 296              | 280         | 288         | 27               | 25  | 26  | 2,88 × 10 <sup>6</sup> |
| 31     | 128              | 132         | 130         | 11               | 9           | 10          | 0                | 0   | 0   | 1,30 × 10 <sup>5</sup> |
| 32     | 271              | 265         | 268         | 22               | 23          | 26          | 3                | 3   | 2   | 2,07 × 10 <sup>5</sup> |
| 33     | 397              | 386         | 392         | 38               | 36          | 37          | 2                | 3   | 4   | 3,70 × 10 <sup>6</sup> |
| 34     | 216              | 220         | 218         | 20               | 19          | 17          | 1                | 2   | 1   | 2,18 × 10 <sup>5</sup> |
| 35     | 395              | 400         | 399         | 35               | 38          | 37          | 2                | 5   | 3   | 3,70 × 10 <sup>6</sup> |
| 36     | 183              | 194         | 189         | 19               | 15          | 14          | 2                | 1   | 2   | 1,89 × 10 <sup>5</sup> |
| 37     | 293              | 272         | 283         | 26               | 27          | 23          | 2                | 2   | 3   | 2,82 × 10 <sup>5</sup> |
| 38     | Incontables      | Incontables | Incontables | 235              | 213         | 224         | 20               | 24  | 23  | 2,24 × 10 <sup>6</sup> |
| 39     | 214              | 228         | 221         | 23               | 20          | 19          | 2                | 3   | 1   | 2,21 × 10 <sup>5</sup> |
| 40     | 272              | 251         | 262         | 26               | 25          | 24          | 2                | 2   | 1   | 2,62 × 10 <sup>5</sup> |
| 41     | 193              | 168         | 181         | 17               | 19          | 16          | 1                | 2   | 0   | 1,81 × 10 <sup>5</sup> |
| 42     | 145              | 157         | 151         | 15               | 14          | 13          | 1                | 0   | 0   | 1,51 × 10 <sup>5</sup> |

Continuación...

| Larvas | $10^{-2}$   |             |             | $10^{-3}$ |     |     | $10^{-4}$ |    |    | UFC g <sup>-1</sup> |
|--------|-------------|-------------|-------------|-----------|-----|-----|-----------|----|----|---------------------|
|        | r1          | r2          | r3          | r1        | r2  | r3  | r1        | r2 | r3 |                     |
| 43     | 221         | 248         | 235         | 24        | 22  | 23  | 1         | 3  | 2  | $2,35 \times 10^5$  |
| 44     | Incontables | Incontables | Incontables | 291       | 273 | 282 | 27        | 26 | 25 | $2,82 \times 10^6$  |
| 45     | Incontables | Incontables | Incontables | 159       | 168 | 164 | 13        | 15 | 14 | $1,64 \times 10^6$  |
| 46     | 282         | 261         | 272         | 27        | 28  | 25  | 3         | 2  | 1  | $2,72 \times 10^5$  |
| 47     | 279         | 275         | 277         | 26        | 24  | 23  | 2         | 2  | 1  | $2,77 \times 10^5$  |
| 48     | 204         | 205         | 203         | 18        | 17  | 16  | 1         | 1  | 0  | $2,04 \times 10^5$  |
| 49     | 124         | 145         | 135         | 11        | 12  | 13  | 0         | 0  | 0  | $1,35 \times 10^5$  |
| 50     | 286         | 278         | 282         | 25        | 27  | 26  | 2         | 3  | 3  | $2,82 \times 10^5$  |
| 51     | Incontables | Incontables | Incontables | 103       | 97  | 100 | 9         | 6  | 7  | $1,00 \times 10^6$  |
| 52     | 182         | 198         | 190         | 16        | 18  | 19  | 1         | 2  | 2  | $1,90 \times 10^5$  |
| 53     | 165         | 173         | 169         | 12        | 14  | 13  | 0         | 1  | 0  | $1,69 \times 10^5$  |
| 54     | 208         | 215         | 212         | 19        | 17  | 15  | 2         | 1  | 1  | $2,12 \times 10^5$  |
| 55     | 122         | 127         | 125         | 11        | 12  | 10  | 1         | 0  | 0  | $1,25 \times 10^5$  |
| 56     | Incontables | Incontables | Incontables | 131       | 145 | 138 | 12        | 14 | 15 | $1,38 \times 10^5$  |
| 57     | 210         | 232         | 221         | 18        | 20  | 19  | 0         | 2  | 1  | $2,21 \times 10^5$  |
| 58     | 151         | 164         | 158         | 15        | 14  | 16  | 1         | 3  | 5  | $1,58 \times 10^5$  |
| 59     | 195         | 210         | 203         | 18        | 19  | 17  | 1         | 1  | 0  | $2,03 \times 10^5$  |
| 60     | 228         | 231         | 230         | 21        | 20  | 22  | 2         | 1  | 2  | $2,30 \times 10^5$  |

### Anexo 5

*Morfotipos de bacterias aisladas del intestino de larvas comerciales de Tenebrio molitor, Lambayeque 2022*

| Larvas | Agar nutritivo |    |    |       | Agar Mc Conkey |    |    |       |
|--------|----------------|----|----|-------|----------------|----|----|-------|
|        | r1             | r2 | r3 | Total | r1             | r2 | r3 | Total |
| 1      | 1              | 1  |    | 2     |                |    |    | 0     |
| 2      | 1              | 1  |    | 2     | 1              | 2  | 1  | 4     |
| 3      | 1              |    |    | 1     |                |    |    | 0     |
| 4      | 1              | 1  |    | 2     |                |    |    | 0     |
| 5      | 1              | 1  |    | 2     | 1              |    |    | 1     |
| 6      | 1              | 1  |    | 2     | 1              |    |    | 1     |
| 7      | 1              | 1  | 1  | 3     | 1              |    |    | 1     |
| 8      | 1              | 1  |    | 2     |                |    |    | 0     |
| 9      | 1              | 1  | 1  | 3     | 1              | 1  | 1  | 3     |
| 10     | 1              | 1  |    | 2     | 1              |    |    | 1     |
| 11     | 1              | 1  | 1  | 3     | 1              | 1  |    | 2     |
| 12     | 1              | 1  | 1  | 3     | 1              | 1  |    | 2     |
| 13     | 1              | 1  | 1  | 3     | 1              |    |    | 1     |
| 14     |                |    |    | 0     | 1              |    |    | 1     |
| 15     | 1              | 1  |    | 2     | 1              |    |    | 1     |
| 16     | 1              | 1  |    | 2     | 1              |    |    | 1     |
| 17     | 1              | 1  |    | 2     | 1              | 1  |    | 2     |
| 18     | 1              | 1  |    | 2     | 1              |    |    | 1     |
| 19     | 1              |    |    | 1     | 1              |    |    | 1     |
| 20     | 1              |    |    | 1     |                |    |    | 0     |
| Total  |                |    |    | 40    |                |    |    | 23    |

**Anexo 6**

*Morfotipos de bacterias aisladas del intestino de larvas de Tenebrio molitor alimentadas con dieta mixta durante 21 días, Lambayeque 2022*

| Larvas       | Agar nutritivo |    |    |           | Agar Mc Conkey |    |    |           |
|--------------|----------------|----|----|-----------|----------------|----|----|-----------|
|              | r1             | r2 | r3 | Total     | r1             | r2 | r3 | Total     |
| 21           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              |    |    | 1         |
| 22           | 1              | 1  |    | 2         | 1              | 1  |    | 2         |
| 23           | 1              | 1  |    | 2         | 1              |    |    | 1         |
| 24           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              |    |    | 1         |
| 25           | 1              |    |    | 1         | 1              |    |    | 1         |
| 26           | 1              | 1  |    | 2         | 1              |    |    | 1         |
| 27           | 1              |    |    | 1         | 1              |    |    | 1         |
| 28           | 1              |    |    | 1         | 1              | 1  |    | 2         |
| 29           | 1              | 1  | 1  | 3         |                |    |    | 0         |
| 30           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              |    |    | 1         |
| 31           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              | 1  | 1  | 3         |
| 32           | 1              | 1  |    | 2         | 1              | 1  |    | 2         |
| 33           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              | 1  | 1  | 3         |
| 34           | 1              | 1  |    | 2         | 1              | 1  | 1  | 3         |
| 35           | 1              | 1  |    | 2         | 1              | 1  | 1  | 3         |
| 36           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              |    |    | 1         |
| 37           | 2              | 1  | 1  | 4         | 1              | 1  | 1  | 3         |
| 38           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              |    |    | 1         |
| 39           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              |    |    | 1         |
| 40           | 1              | 1  |    | 2         | 1              |    |    | 1         |
| <b>Total</b> |                |    |    | <b>48</b> |                |    |    | <b>32</b> |

**Anexo 7**

*Morfotipos de bacterias aisladas del intestino de larvas de Tenebrio molitor alimentadas solo con EPS, Lambayeque 2022*

| Larvas       | Agar nutritivo |    |    |           | Agar Mc Conkey |    |    |           |
|--------------|----------------|----|----|-----------|----------------|----|----|-----------|
|              | r1             | r2 | r3 | Total     | r1             | r2 | r3 | Total     |
| 41           | 2              | 1  | 1  | 4         | 1              | 1  | 1  | 3         |
| 42           | 1              | 2  | 1  | 4         | 1              | 1  | 1  | 3         |
| 43           |                |    |    | 0         | 1              | 1  | 1  | 3         |
| 44           |                |    |    | 0         | 1              |    |    | 1         |
| 45           | 1              | 1  |    | 2         | 1              | 1  | 1  | 3         |
| 46           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              | 1  |    | 2         |
| 47           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              | 1  | 1  | 3         |
| 48           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              | 2  | 1  | 4         |
| 49           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              | 1  | 1  | 3         |
| 50           |                |    |    | 0         | 1              | 1  | 1  | 3         |
| 51           |                |    |    | 0         | 1              |    |    | 1         |
| 52           | 1              | 1  |    | 2         |                |    |    | 0         |
| 53           | 1              | 1  | 1  | 3         |                |    |    | 0         |
| 54           | 1              |    |    | 1         |                |    |    | 0         |
| 55           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              | 1  |    | 2         |
| 56           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              | 1  | 1  | 3         |
| 57           | 1              |    |    | 1         | 1              | 1  | 1  | 3         |
| 58           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              | 1  | 1  | 3         |
| 59           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              | 1  | 1  | 3         |
| 60           | 1              | 1  |    | 2         | 2              | 1  | 1  | 4         |
| <b>Total</b> |                |    |    | <b>43</b> |                |    |    | <b>47</b> |

### Anexo 8

*Morfotipos de bacterias aisladas del intestino de larvas de Tenebrio molitor comerciales con enriquecimiento, Lambayeque 2022*

| Larvas | Agar nutritivo |    |    |       | Agar Mc Conkey |    |    |       |
|--------|----------------|----|----|-------|----------------|----|----|-------|
|        | r1             | r2 | r3 | Total | r1             | r2 | r3 | Total |
| 1      | 1              | 1  | 1  | 3     | 1              | 2  | 1  | 4     |
| 2      | 1              | 1  |    | 2     |                |    |    | 0     |
| 3      | 1              | 1  |    | 2     |                |    |    | 0     |
| 4      | 1              | 1  |    | 2     |                |    |    | 0     |
| 5      | 1              | 1  |    | 2     |                |    |    | 0     |
| 6      | 1              | 1  | 1  | 3     | 1              | 1  | 1  | 3     |
| 7      | 1              | 1  |    | 2     | 1              | 1  | 1  | 3     |
| 8      | 1              | 1  | 1  | 3     | 2              | 1  | 1  | 4     |
| 9      | 1              | 1  |    | 2     |                |    |    | 0     |
| 10     | 1              | 1  |    | 2     |                |    |    | 0     |
| 11     | 1              | 1  |    | 2     | 1              | 1  | 1  | 3     |
| 12     | 1              | 1  |    | 2     | 1              | 1  | 1  | 3     |
| 13     | 1              | 1  |    | 2     |                |    |    | 0     |
| 14     | 1              | 1  |    | 2     |                |    |    | 0     |
| 15     | 1              |    |    | 1     |                |    |    | 0     |
| 16     | 1              | 1  |    | 2     |                |    |    | 0     |
| 17     | 1              | 1  |    | 2     |                |    |    | 0     |
| 18     | 1              |    |    | 1     | 1              | 1  | 1  | 3     |
| 19     | 1              | 1  |    | 2     | 1              | 2  | 2  | 5     |
| 20     | 2              | 1  | 1  | 4     | 1              | 1  |    | 2     |
| Total  |                |    |    | 43    |                |    |    | 30    |

### Anexo 9

*Morfotipos de bacterias aisladas del intestino de larvas de Tenebrio molitor alimentadas con dieta mixta con enriquecimiento, Lambayeque 2022*

| Larvas       | Agar nutritivo |    |    |           | Agar Mc Conkey |    |    |           |
|--------------|----------------|----|----|-----------|----------------|----|----|-----------|
|              | r1             | r2 | r3 | Total     | r1             | r2 | r3 | Total     |
| 21           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              | 1  | 1  | 3         |
| 22           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              | 1  | 1  | 3         |
| 23           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              |    |    | 1         |
| 24           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              | 1  | 1  | 3         |
| 25           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              | 1  | 1  | 3         |
| 26           | 1              | 1  |    | 2         | 1              | 1  |    | 2         |
| 27           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              | 1  | 1  | 3         |
| 28           | 1              |    |    | 1         | 1              | 1  | 1  | 3         |
| 29           | 1              | 1  | 1  | 3         |                |    |    | 0         |
| 30           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              | 1  | 1  | 3         |
| 31           | 1              | 1  |    | 2         | 1              | 1  | 1  | 3         |
| 32           | 1              | 1  |    | 2         | 1              | 1  |    | 2         |
| 33           | 1              | 1  |    | 2         | 1              | 1  | 1  | 3         |
| 34           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              | 1  | 1  | 3         |
| 35           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              | 1  |    | 2         |
| 36           |                |    |    | 0         |                |    |    | 0         |
| 37           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              | 1  | 2  | 4         |
| 38           | 1              | 1  |    | 2         |                |    |    | 0         |
| 39           | 1              | 1  |    | 2         |                |    |    | 0         |
| 40           | 1              | 2  | 1  | 4         |                |    |    | 0         |
| <b>Total</b> |                |    |    | <b>50</b> |                |    |    | <b>41</b> |

**Anexo 10**

*Morfotipos de bacterias aisladas del intestino de larvas de T. molitor alimentadas solo con EPS con enriquecimiento, Lambayeque 2022*

| Larvas       | Agar nutritivo |    |    |           | Agar Mc Conkey |    |    |           |
|--------------|----------------|----|----|-----------|----------------|----|----|-----------|
|              | r1             | r2 | r3 | Total     | r1             | r2 | r3 | Total     |
| 41           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              | 1  |    | 2         |
| 42           | 1              | 1  |    | 2         | 1              | 1  |    | 2         |
| 43           |                |    |    | 0         | 1              | 1  | 1  | 3         |
| 44           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              |    |    | 1         |
| 45           | 1              | 1  |    | 2         |                |    |    | 0         |
| 46           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              | 1  |    | 2         |
| 47           | 1              | 1  |    | 2         | 1              | 1  | 1  | 3         |
| 48           | 1              | 1  |    | 2         | 1              | 1  |    | 2         |
| 49           |                |    |    | 0         | 1              |    |    | 1         |
| 50           | 1              | 1  |    | 2         | 1              |    |    | 1         |
| 51           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              | 1  |    | 2         |
| 52           |                |    |    | 0         | 2              | 1  | 1  | 4         |
| 53           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              | 2  | 1  | 4         |
| 54           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              | 1  | 1  | 3         |
| 55           | 1              | 1  | 1  | 3         |                |    |    | 0         |
| 56           | 1              | 1  |    | 2         | 1              | 1  | 1  | 3         |
| 57           | 1              | 1  |    | 2         | 1              | 1  |    | 2         |
| 58           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              | 1  |    | 2         |
| 59           | 1              | 1  | 1  | 3         | 1              | 1  |    | 2         |
| 60           | 1              | 1  |    | 2         | 1              | 2  | 1  | 4         |
| <b>Total</b> |                |    |    | <b>43</b> |                |    |    | <b>43</b> |

### Anexo 11

*Densidad óptica de las bacterias aisladas en agar nutritivo, Lambayeque 2023*

| Bacterias<br>Código | Densidad óptica corregida (600 nm) |                     |
|---------------------|------------------------------------|---------------------|
|                     | Caldo LCFBM + glucosa*             | Caldo LCFBM + EPS** |
| 267                 | 0,182                              | 0,141               |
| 367                 | 0,157                              | 0,138               |
| 277                 | 0,173                              | 0,137               |
| 320                 | 0,174                              | 0,130               |
| 416                 | 0,166                              | 0,129               |
| 135                 | 0,169                              | 0,126               |
| 364                 | 0,158                              | 0,124               |
| 355                 | 0,190                              | 0,120               |
| 175                 | 0,184                              | 0,119               |
| 184                 | 0,164                              | 0,117               |
| 361                 | 0,250                              | 0,115               |
| 417                 | 0,200                              | 0,113               |
| 286                 | 0,236                              | 0,112               |
| 386                 | 0,170                              | 0,111               |
| 415                 | 0,174                              | 0,110               |
| 181                 | 0,176                              | 0,109               |
| 412                 | 0,224                              | 0,109               |
| 153                 | 0,189                              | 0,108               |
| 353                 | 0,186                              | 0,107               |
| 190                 | 0,151                              | 0,106               |
| 357                 | 0,186                              | 0,106               |
| 328                 | 0,246                              | 0,105               |
| 350                 | 0,300                              | 0,105               |
| 360                 | 0,386                              | 0,104               |
| 346                 | 0,216                              | 0,102               |
| 173                 | 0,278                              | 0,101               |
| 323                 | 0,177                              | 0,101               |
| 276                 | 0,248                              | 0,100               |
| 351                 | 0,253                              | 0,098               |
| 177                 | 0,209                              | 0,097               |
| 389                 | 0,280                              | 0,096               |
| 423                 | 0,168                              | 0,096               |
| 130                 | 0,189                              | 0,095               |
| 410                 | 0,203                              | 0,094               |
| 134                 | 0,211                              | 0,093               |
| 129                 | 0,177                              | 0,092               |

Continuación...

| Bacterias<br>Código | Densidad óptica corregida (600 nm) |                     |
|---------------------|------------------------------------|---------------------|
|                     | Caldo LCFBM + glucosa*             | Caldo LCFBM + EPS** |
| 422                 | 0,199                              | 0,091               |
| 409                 | 0,198                              | 0,090               |
| 185                 | 0,162                              | 0,089               |
| 348                 | 0,249                              | 0,089               |
| 418                 | 0,188                              | 0,089               |
| 162                 | 0,207                              | 0,088               |
| 146                 | 0,182                              | 0,087               |
| 356                 | 0,268                              | 0,087               |
| 340                 | 0,168                              | 0,086               |
| 144                 | 0,184                              | 0,086               |
| 321                 | 0,209                              | 0,086               |
| 26                  | 0,152                              | 0,085               |
| 347                 | 0,178                              | 0,085               |
| 403                 | 0,180                              | 0,085               |
| 149                 | 0,255                              | 0,084               |
| 362                 | 0,156                              | 0,084               |
| 291                 | 0,232                              | 0,083               |
| 333                 | 0,155                              | 0,083               |
| 68                  | 0,206                              | 0,082               |
| 174                 | 0,178                              | 0,082               |
| 335                 | 0,217                              | 0,081               |
| 25                  | 0,165                              | 0,081               |
| 180                 | 0,208                              | 0,081               |
| 395                 | 0,185                              | 0,081               |
| 133                 | 0,254                              | 0,080               |
| 127                 | 0,237                              | 0,080               |
| 343                 | 0,165                              | 0,079               |
| 359                 | 0,233                              | 0,079               |
| 284                 | 0,277                              | 0,079               |
| 404                 | 0,197                              | 0,079               |
| 341                 | 0,246                              | 0,078               |
| 22                  | 0,173                              | 0,078               |
| 1                   | 0,194                              | 0,077               |
| 52                  | 0,156                              | 0,077               |
| 387                 | 0,214                              | 0,077               |
| 24                  | 0,179                              | 0,076               |
| 322                 | 0,265                              | 0,076               |
| 411                 | 0,178                              | 0,076               |
| 287                 | 0,186                              | 0,076               |

*Continuación...*

| Bacterias<br>Código | Densidad óptica corregida (600 nm) |                     |
|---------------------|------------------------------------|---------------------|
|                     | Caldo LCFBM + glucosa*             | Caldo LCFBM + EPS** |
| 5                   | 0,282                              | 0,075               |
| 413                 | 0,197                              | 0,075               |
| 269                 | 0,179                              | 0,075               |
| 274                 | 0,185                              | 0,075               |
| 278                 | 0,202                              | 0,075               |
| 399                 | 0,223                              | 0,075               |
| 72                  | 0,214                              | 0,074               |
| 164                 | 0,198                              | 0,074               |
| 136                 | 0,206                              | 0,073               |
| 156                 | 0,274                              | 0,073               |
| 283                 | 0,263                              | 0,072               |
| 390                 | 0,230                              | 0,072               |
| 27                  | 0,176                              | 0,072               |
| 179                 | 0,181                              | 0,072               |
| 288                 | 0,282                              | 0,072               |
| 385                 | 0,239                              | 0,072               |
| 345                 | 0,279                              | 0,071               |
| 64                  | 0,164                              | 0,071               |
| 397                 | 0,175                              | 0,070               |
| 157                 | 0,189                              | 0,070               |
| 170                 | 0,312                              | 0,069               |
| 280                 | 0,184                              | 0,069               |
| 131                 | 0,184                              | 0,069               |
| 56                  | 0,218                              | 0,068               |
| 4                   | 0,167                              | 0,068               |
| 285                 | 0,233                              | 0,068               |
| 326                 | 0,236                              | 0,068               |
| 419                 | 0,208                              | 0,068               |
| 126                 | 0,180                              | 0,067               |
| 318                 | 0,200                              | 0,067               |
| 352                 | 0,220                              | 0,067               |
| 138                 | 0,177                              | 0,066               |
| 407                 | 0,217                              | 0,066               |
| 349                 | 0,215                              | 0,066               |
| 426                 | 0,200                              | 0,066               |
| 29                  | 0,163                              | 0,065               |
| 67                  | 0,199                              | 0,064               |
| 125                 | 0,179                              | 0,064               |
| 358                 | 0,232                              | 0,064               |

Continuación...

| Bacterias<br>Código | Densidad óptica corregida (600 nm) |                     |
|---------------------|------------------------------------|---------------------|
|                     | Caldo LCFBM + glucosa*             | Caldo LCFBM + EPS** |
| 182                 | 0,163                              | 0,063               |
| 273                 | 0,207                              | 0,063               |
| 183                 | 0,181                              | 0,063               |
| 293                 | 0,176                              | 0,063               |
| 63                  | 0,161                              | 0,062               |
| 354                 | 0,184                              | 0,062               |
| 391                 | 0,224                              | 0,062               |
| 420                 | 0,211                              | 0,062               |
| 186                 | 0,164                              | 0,061               |
| 57                  | 0,171                              | 0,061               |
| 194                 | 0,377                              | 0,061               |
| 142                 | 0,202                              | 0,061               |
| 166                 | 0,179                              | 0,060               |
| 336                 | 0,206                              | 0,060               |
| 3                   | 0,176                              | 0,059               |
| 28                  | 0,177                              | 0,058               |
| 329                 | 0,185                              | 0,058               |
| 58                  | 0,184                              | 0,058               |
| 193                 | 0,188                              | 0,057               |
| 23                  | 0,165                              | 0,056               |
| 337                 | 0,214                              | 0,056               |
| 325                 | 0,229                              | 0,055               |
| 21                  | 0,157                              | 0,054               |
| 61                  | 0,195                              | 0,054               |
| 281                 | 0,192                              | 0,054               |
| 425                 | 0,169                              | 0,051               |
| 147                 | 0,207                              | 0,050               |
| 319                 | 0,183                              | 0,050               |
| 427                 | 0,225                              | 0,050               |
| 176                 | 0,185                              | 0,049               |
| 272                 | 0,175                              | 0,049               |
| 270                 | 0,181                              | 0,048               |
| 120                 | 0,166                              | 0,046               |
| 363                 | 0,270                              | 0,045               |
| 365                 | 0,225                              | 0,045               |
| 342                 | 0,163                              | 0,044               |
| 69                  | 0,206                              | 0,043               |
| 392                 | 0,198                              | 0,043               |
| 401                 | 0,187                              | 0,042               |

Continuación...

| Bacterias<br>Código | Densidad óptica corregida (600 nm) |                     |
|---------------------|------------------------------------|---------------------|
|                     | Caldo LCFBM + glucosa*             | Caldo LCFBM + EPS** |
| 324                 | 0,168                              | 0,041               |
| 266                 | 0,186                              | 0,041               |
| 330                 | 0,168                              | 0,040               |
| 414                 | 0,173                              | 0,040               |
| 167                 | 0,198                              | 0,040               |
| 168                 | 0,187                              | 0,040               |
| 275                 | 0,183                              | 0,040               |
| 122                 | 0,175                              | 0,039               |
| 388                 | 0,191                              | 0,038               |
| 2                   | 0,151                              | 0,037               |
| 402                 | 0,193                              | 0,037               |
| 405                 | 0,186                              | 0,037               |
| 408                 | 0,199                              | 0,037               |
| 123                 | 0,188                              | 0,036               |
| 268                 | 0,160                              | 0,035               |
| 189                 | 0,193                              | 0,035               |
| 292                 | 0,180                              | 0,035               |
| 121                 | 0,186                              | 0,034               |
| 424                 | 0,171                              | 0,034               |
| 421                 | 0,180                              | 0,033               |
| 60                  | 0,199                              | 0,032               |
| 140                 | 0,185                              | 0,031               |
| 19                  | 0,152                              | 0,031               |
| 7                   | 0,173                              | 0,030               |
| 8                   | 0,163                              | 0,029               |
| 161                 | 0,159                              | 0,029               |
| 169                 | 0,202                              | 0,029               |
| 191                 | 0,196                              | 0,029               |
| 9                   | 0,194                              | 0,028               |
| 20                  | 0,178                              | 0,028               |
| 188                 | 0,155                              | 0,028               |
| 128                 | 0,180                              | 0,028               |
| 294                 | 0,175                              | 0,028               |
| 396                 | 0,210                              | 0,028               |
| 148                 | 0,248                              | 0,027               |
| 165                 | 0,184                              | 0,027               |
| 290                 | 0,151                              | 0,027               |
| 406                 | 0,185                              | 0,027               |
| 141                 | 0,213                              | 0,026               |

Continuación...

| Bacterias<br>Código | Densidad óptica corregida (600 nm) |                     |
|---------------------|------------------------------------|---------------------|
|                     | Caldo LCFBM + glucosa*             | Caldo LCFBM + EPS** |
| 279                 | 0,197                              | 0,026               |
| 178                 | 0,179                              | 0,025               |
| 124                 | 0,187                              | 0,024               |
| 62                  | 0,183                              | 0,023               |
| 289                 | 0,189                              | 0,023               |
| 400                 | 0,162                              | 0,023               |
| 327                 | 0,174                              | 0,022               |
| 475                 | 0,179                              | 0,021               |
| 338                 | 0,206                              | 0,020               |
| 296                 | 0,176                              | 0,020               |
| 11                  | 0,160                              | 0,020               |
| 151                 | 0,295                              | 0,019               |
| 398                 | 0,192                              | 0,019               |
| 462                 | 0,149                              | 0,019               |
| 152                 | 0,173                              | 0,019               |
| 159                 | 0,157                              | 0,018               |
| 192                 | 0,182                              | 0,017               |
| 466                 | 0,174                              | 0,017               |
| 482                 | 0,159                              | 0,017               |
| 171                 | 0,166                              | 0,017               |
| 394                 | 0,174                              | 0,017               |
| 339                 | 0,242                              | 0,016               |
| 474                 | 0,181                              | 0,016               |
| 143                 | 0,178                              | 0,015               |
| 332                 | 0,152                              | 0,015               |
| 472                 | 0,172                              | 0,015               |
| 139                 | 0,221                              | 0,014               |
| 366                 | 0,286                              | 0,014               |
| 469                 | 0,189                              | 0,014               |
| 70                  | 0,164                              | 0,014               |
| 479                 | 0,158                              | 0,013               |
| 483                 | 0,150                              | 0,013               |
| 132                 | 0,174                              | 0,013               |
| 465                 | 0,156                              | 0,012               |
| 481                 | 0,163                              | 0,012               |
| 271                 | 0,157                              | 0,012               |
| 393                 | 0,194                              | 0,012               |
| 470                 | 0,183                              | 0,011               |
| 480                 | 0,155                              | 0,011               |

Continuación...

| Bacterias<br>Código | Densidad óptica corregida (600 nm) |                     |
|---------------------|------------------------------------|---------------------|
|                     | Caldo LCFBM + glucosa*             | Caldo LCFBM + EPS** |
| 344                 | 0,184                              | 0,010               |
| 65                  | 0,190                              | 0,009               |
| 71                  | 0,162                              | 0,009               |
| 137                 | 0,195                              | 0,009               |
| 55                  | 0,173                              | 0,008               |
| 464                 | 0,151                              | 0,008               |
| 478                 | 0,192                              | 0,008               |
| 150                 | 0,172                              | 0,007               |
| 471                 | 0,175                              | 0,007               |
| 145                 | 0,184                              | 0,006               |
| 54                  | 0,154                              | 0,005               |
| 59                  | 0,195                              | 0,005               |
| 461                 | 0,147                              | 0,005               |
| 282                 | 0,155                              | 0,004               |
| 473                 | 0,166                              | 0,004               |
| 12                  | 0,177                              | 0,003               |
| 463                 | 0,148                              | 0,003               |
| 477                 | 0,185                              | 0,003               |
| 187                 | 0,155                              | 0,002               |
| 18                  | 0,153                              | 0,002               |
| 467                 | 0,190                              | 0,002               |
| 468                 | 0,188                              | 0,001               |
| 476                 | 0,180                              | 0,001               |
| 6                   | 0,152                              | 0,000               |
| 10                  | 0,152                              | 0,000               |
| 53                  | 0,167                              | 0,000               |
| 66                  | 0,158                              | 0,000               |
| 154                 | 0,156                              | 0,000               |
| 155                 | 0,153                              | 0,000               |
| 158                 | 0,163                              | 0,000               |
| 160                 | 0,154                              | 0,000               |
| 163                 | 0,157                              | 0,000               |
| 172                 | 0,163                              | 0,000               |
| 295                 | 0,191                              | 0,000               |
| 331                 | 0,153                              | 0,000               |
| 334                 | 0,164                              | 0,000               |

\*Densidad óptica de control glucosa: 0,178

\*\*Densidad óptica de control EPS: 0,108

## Anexo 12

*Densidad óptica de las bacterias aisladas en agar Mc Conkey, Lambayeque 2023*

| Bacterias<br>Código | Densidad óptica corregida (600 nm) |                     |
|---------------------|------------------------------------|---------------------|
|                     | Caldo LCFBM + glucosa*             | Caldo LCFBM + EPS** |
| 250                 | 0,181                              | 0,155               |
| 219                 | 0,169                              | 0,129               |
| 198                 | 0,177                              | 0,128               |
| 204                 | 0,154                              | 0,126               |
| 85                  | 0,192                              | 0,123               |
| 206                 | 0,161                              | 0,120               |
| 228                 | 0,176                              | 0,119               |
| 215                 | 0,173                              | 0,118               |
| 45                  | 0,168                              | 0,117               |
| 221                 | 0,189                              | 0,116               |
| 452                 | 0,255                              | 0,114               |
| 226                 | 0,199                              | 0,113               |
| 75                  | 0,232                              | 0,112               |
| 372                 | 0,275                              | 0,112               |
| 82                  | 0,201                              | 0,111               |
| 110                 | 0,257                              | 0,111               |
| 118                 | 0,210                              | 0,110               |
| 311                 | 0,231                              | 0,109               |
| 371                 | 0,243                              | 0,109               |
| 368                 | 0,223                              | 0,108               |
| 73                  | 0,217                              | 0,105               |
| 369                 | 0,210                              | 0,101               |
| 88                  | 0,208                              | 0,099               |
| 254                 | 0,207                              | 0,098               |
| 436                 | 0,216                              | 0,097               |
| 456                 | 0,189                              | 0,096               |
| 430                 | 0,175                              | 0,093               |
| 440                 | 0,196                              | 0,091               |
| 79                  | 0,195                              | 0,091               |
| 256                 | 0,177                              | 0,090               |
| 444                 | 0,171                              | 0,090               |
| 381                 | 0,203                              | 0,090               |
| 263                 | 0,176                              | 0,085               |
| 429                 | 0,176                              | 0,084               |
| 247                 | 0,211                              | 0,083               |
| 305                 | 0,205                              | 0,083               |

Continuación...

| Bacterias<br>Código | Densidad óptica corregida (600 nm) |                     |
|---------------------|------------------------------------|---------------------|
|                     | Caldo LCFBM + glucosa*             | Caldo LCFBM + EPS** |
| 455                 | 0,193                              | 0,083               |
| 443                 | 0,217                              | 0,081               |
| 379                 | 0,213                              | 0,079               |
| 241                 | 0,257                              | 0,078               |
| 32                  | 0,181                              | 0,077               |
| 428                 | 0,207                              | 0,076               |
| 227                 | 0,172                              | 0,075               |
| 199                 | 0,199                              | 0,073               |
| 209                 | 0,174                              | 0,073               |
| 212                 | 0,159                              | 0,073               |
| 375                 | 0,189                              | 0,073               |
| 220                 | 0,167                              | 0,071               |
| 454                 | 0,215                              | 0,071               |
| 370                 | 0,241                              | 0,070               |
| 49                  | 0,203                              | 0,070               |
| 211                 | 0,171                              | 0,069               |
| 457                 | 0,248                              | 0,069               |
| 34                  | 0,218                              | 0,067               |
| 41                  | 0,186                              | 0,066               |
| 111                 | 0,196                              | 0,065               |
| 203                 | 0,168                              | 0,063               |
| 312                 | 0,194                              | 0,062               |
| 231                 | 0,197                              | 0,060               |
| 251                 | 0,195                              | 0,060               |
| 316                 | 0,171                              | 0,060               |
| 458                 | 0,182                              | 0,060               |
| 446                 | 0,233                              | 0,060               |
| 435                 | 0,183                              | 0,059               |
| 438                 | 0,174                              | 0,059               |
| 205                 | 0,183                              | 0,057               |
| 459                 | 0,172                              | 0,057               |
| 384                 | 0,216                              | 0,056               |
| 92                  | 0,184                              | 0,056               |
| 445                 | 0,166                              | 0,055               |
| 437                 | 0,169                              | 0,054               |
| 43                  | 0,209                              | 0,054               |
| 113                 | 0,195                              | 0,053               |
| 117                 | 0,153                              | 0,053               |
| 202                 | 0,185                              | 0,053               |

Continuación...

| Bacterias<br>Código | Densidad óptica corregida (600 nm) |                     |
|---------------------|------------------------------------|---------------------|
|                     | Caldo LCFBM + glucosa*             | Caldo LCFBM + EPS** |
| 218                 | 0,195                              | 0,053               |
| 230                 | 0,183                              | 0,051               |
| 310                 | 0,201                              | 0,051               |
| 235                 | 0,177                              | 0,049               |
| 431                 | 0,215                              | 0,049               |
| 47                  | 0,190                              | 0,048               |
| 382                 | 0,190                              | 0,047               |
| 439                 | 0,152                              | 0,047               |
| 95                  | 0,152                              | 0,046               |
| 304                 | 0,157                              | 0,046               |
| 33                  | 0,184                              | 0,046               |
| 201                 | 0,180                              | 0,046               |
| 442                 | 0,220                              | 0,046               |
| 94                  | 0,158                              | 0,045               |
| 309                 | 0,182                              | 0,044               |
| 236                 | 0,172                              | 0,044               |
| 460                 | 0,196                              | 0,044               |
| 35                  | 0,183                              | 0,043               |
| 222                 | 0,162                              | 0,043               |
| 313                 | 0,178                              | 0,043               |
| 434                 | 0,192                              | 0,043               |
| 257                 | 0,212                              | 0,042               |
| 252                 | 0,182                              | 0,042               |
| 207                 | 0,158                              | 0,041               |
| 217                 | 0,189                              | 0,039               |
| 225                 | 0,178                              | 0,039               |
| 441                 | 0,181                              | 0,039               |
| 80                  | 0,162                              | 0,037               |
| 232                 | 0,164                              | 0,037               |
| 213                 | 0,187                              | 0,036               |
| 109                 | 0,206                              | 0,036               |
| 104                 | 0,228                              | 0,035               |
| 239                 | 0,225                              | 0,035               |
| 240                 | 0,221                              | 0,035               |
| 42                  | 0,201                              | 0,035               |
| 233                 | 0,181                              | 0,034               |
| 299                 | 0,197                              | 0,034               |
| 300                 | 0,185                              | 0,033               |
| 229                 | 0,214                              | 0,033               |

Continuación...

| Bacterias<br>Código | Densidad óptica corregida (600 nm) |                     |
|---------------------|------------------------------------|---------------------|
|                     | Caldo LCFBM + glucosa*             | Caldo LCFBM + EPS** |
| 100                 | 0,208                              | 0,032               |
| 261                 | 0,195                              | 0,031               |
| 46                  | 0,177                              | 0,030               |
| 376                 | 0,250                              | 0,030               |
| 89                  | 0,244                              | 0,029               |
| 114                 | 0,179                              | 0,029               |
| 107                 | 0,217                              | 0,028               |
| 317                 | 0,192                              | 0,028               |
| 258                 | 0,289                              | 0,027               |
| 93                  | 0,197                              | 0,027               |
| 101                 | 0,188                              | 0,026               |
| 303                 | 0,165                              | 0,026               |
| 37                  | 0,162                              | 0,025               |
| 242                 | 0,153                              | 0,025               |
| 374                 | 0,168                              | 0,025               |
| 86                  | 0,190                              | 0,024               |
| 97                  | 0,185                              | 0,024               |
| 98                  | 0,159                              | 0,024               |
| 301                 | 0,170                              | 0,024               |
| 81                  | 0,242                              | 0,023               |
| 84                  | 0,229                              | 0,023               |
| 262                 | 0,166                              | 0,023               |
| 383                 | 0,156                              | 0,023               |
| 74                  | 0,164                              | 0,022               |
| 208                 | 0,175                              | 0,022               |
| 214                 | 0,187                              | 0,022               |
| 245                 | 0,162                              | 0,022               |
| 15                  | 0,157                              | 0,022               |
| 238                 | 0,178                              | 0,022               |
| 106                 | 0,189                              | 0,022               |
| 105                 | 0,204                              | 0,021               |
| 116                 | 0,208                              | 0,020               |
| 210                 | 0,177                              | 0,019               |
| 297                 | 0,179                              | 0,019               |
| 264                 | 0,191                              | 0,019               |
| 13                  | 0,190                              | 0,018               |
| 450                 | 0,184                              | 0,018               |
| 78                  | 0,184                              | 0,017               |
| 259                 | 0,180                              | 0,017               |

Continuación...

| Bacterias<br>Código | Densidad óptica corregida (600 nm) |                     |
|---------------------|------------------------------------|---------------------|
|                     | Caldo LCFBM + glucosa*             | Caldo LCFBM + EPS** |
| 433                 | 0,169                              | 0,017               |
| 248                 | 0,292                              | 0,016               |
| 103                 | 0,198                              | 0,015               |
| 453                 | 0,171                              | 0,015               |
| 265                 | 0,250                              | 0,013               |
| 302                 | 0,296                              | 0,013               |
| 14                  | 0,168                              | 0,013               |
| 224                 | 0,177                              | 0,013               |
| 432                 | 0,184                              | 0,013               |
| 451                 | 0,161                              | 0,013               |
| 108                 | 0,200                              | 0,012               |
| 200                 | 0,205                              | 0,011               |
| 380                 | 0,220                              | 0,011               |
| 17                  | 0,162                              | 0,011               |
| 115                 | 0,231                              | 0,010               |
| 119                 | 0,190                              | 0,010               |
| 378                 | 0,179                              | 0,010               |
| 31                  | 0,160                              | 0,009               |
| 51                  | 0,202                              | 0,009               |
| 448                 | 0,181                              | 0,009               |
| 306                 | 0,288                              | 0,008               |
| 96                  | 0,163                              | 0,007               |
| 16                  | 0,184                              | 0,006               |
| 253                 | 0,214                              | 0,006               |
| 30                  | 0,192                              | 0,005               |
| 216                 | 0,217                              | 0,005               |
| 87                  | 0,231                              | 0,004               |
| 260                 | 0,241                              | 0,004               |
| 449                 | 0,213                              | 0,004               |
| 246                 | 0,153                              | 0,003               |
| 249                 | 0,153                              | 0,003               |
| 44                  | 0,238                              | 0,001               |
| 99                  | 0,208                              | 0,001               |
| 223                 | 0,177                              | 0,001               |
| 36                  | 0,190                              | 0,000               |
| 38                  | 0,174                              | 0,000               |
| 39                  | 0,162                              | 0,000               |
| 40                  | 0,171                              | 0,000               |
| 48                  | 0,174                              | 0,000               |

Continuación...

| Bacterias<br>Código | Densidad óptica corregida (600 nm) |                     |
|---------------------|------------------------------------|---------------------|
|                     | Caldo LCFBM + glucosa*             | Caldo LCFBM + EPS** |
| 50                  | 0,158                              | 0,000               |
| 76                  | 0,151                              | 0,000               |
| 77                  | 0,187                              | 0,000               |
| 83                  | 0,201                              | 0,000               |
| 90                  | 0,209                              | 0,000               |
| 91                  | 0,151                              | 0,000               |
| 102                 | 0,219                              | 0,000               |
| 112                 | 0,209                              | 0,000               |
| 195                 | 0,166                              | 0,000               |
| 196                 | 0,205                              | 0,000               |
| 197                 | 0,223                              | 0,000               |
| 234                 | 0,199                              | 0,000               |
| 237                 | 0,187                              | 0,000               |
| 243                 | 0,156                              | 0,000               |
| 244                 | 0,204                              | 0,000               |
| 255                 | 0,223                              | 0,000               |
| 298                 | 0,190                              | 0,000               |
| 307                 | 0,156                              | 0,000               |
| 308                 | 0,171                              | 0,000               |
| 314                 | 0,163                              | 0,000               |
| 315                 | 0,157                              | 0,000               |
| 373                 | 0,165                              | 0,000               |
| 377                 | 0,162                              | 0,000               |
| 447                 | 0,164                              | 0,000               |

\*Densidad óptica de control glucosa: 0,178

\*\*Densidad óptica de control EPS: 0,108

### Anexo 13

*Características diferenciales de bacteria Gram positiva degradadora de EPS emulsionado, Lambayeque 2023*

| Pruebas diferenciales            | <i>Staphylococcus</i> sp. 267 |
|----------------------------------|-------------------------------|
| Forma de la célula               | Coco                          |
| Reacción a la coloración de Gram | Gram (+)                      |
| Disposición en racimos           | +                             |
| Movilidad                        | -                             |
| Catalasa                         | +                             |
| Coagulasa                        | -                             |
| Fermentación de la glucosa       | +                             |
| Producción de acetoina (VP)*     | +                             |
| Reducción de nitratos            | +                             |

\*Prueba de Voges Proskauer (VP)

### Anexo 14

#### Características diferenciales de bacterias Gram negativas degradadoras de EPS emulsionado, Lambayeque 2023

| Pruebas diferenciales                          | <i>Citrobacter</i> sp. 277 | <i>Citrobacter</i> sp. 250 | <i>Enterobacter</i> sp. 204 | <i>Shigella</i> sp. 219 |
|--|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|-------------------------|
| Forma de la célula                             | Bacilo                     | Bacilo                     | Bacilo                      | Bacilo                  |
| Reacción a la coloración de Gram               | Gram (-)                   | Gram (-)                   | Gram (-)                    | Gram (-)                |
| Catalasa                                       | +                          | +                          | +                           | +                       |
| Oxidasa  | -                          | -                          | -                           | -                       |
| Movilidad                                      | +                          | +                          | +                           | -                       |
| Utilización de citrato                         | +                          | +                          | +                           | -                       |
| Fermentación de azúcares (TSI)*                | A/A                        | A/A                        | A/A                         | K/A                     |
| Producción de gas                              | +                          | +                          | +                           | -                       |
| Descarboxilación de la lisina (LIA)**          | K/A                        | K/A                        | K/K                         | K/A                     |
| Indol  | -                          | -                          | -                           | -                       |
| Producción de acetoina (VP)***                 | -                          | -                          | +                           | -                       |
| Hidrólisis de úrea                             | -                          | -                          | -                           | -                       |
| Descarboxilación de la ornitina (Agar MIO)**** | +                          | +                          | +                           | +                       |

\*Agar Hierro triple azúcar (TSI): glucosa, lactosa, sacarosa

\*\*Agar Lisina hierro (LIA): lisina, glucosa, citrato de hierro y amonio

\*\*\*Voges Proskawer (VP): glucosa

\*\*\*\*Movilidad-Indol-Ornitina: glucosa, ornitina

### Anexo 15

*Densidad óptica del caldo mínimo basal con EPS como fuente de carbono utilizado durante 72 horas por bacterias intestinales de Tenebrio molitor, Lambayeque 2023*

| Horas | Control | <i>Citrobacter sp. 277</i> | <i>Citrobacter sp. 250</i> | <i>Shigella sp. 219</i> | <i>Enterobacter sp. 204</i> | <i>Sthaphylococcus sp. 267</i> |
|-------|---------|----------------------------|----------------------------|-------------------------|-----------------------------|--------------------------------|
| 0     | 0.073   | 0.073                      | 0.073                      | 0.073                   | 0.073                       | 0.073                          |
| 12    | 0.073   | 0.114                      | 0.120                      | 0.109                   | 0.121                       | 0.128                          |
| 24    | 0.073   | 0.119                      | 0.128                      | 0.115                   | 0.127                       | 0.136                          |
| 36    | 0.073   | 0.125                      | 0.137                      | 0.121                   | 0.133                       | 0.139                          |
| 48    | 0.073   | 0.132                      | 0.141                      | 0.126                   | 0.135                       | 0.143                          |
| 60    | 0.073   | 0.135                      | 0.146                      | 0.130                   | 0.138                       | 0.147                          |
| 72    | 0.073   | 0.133                      | 0.140                      | 0.126                   | 0.136                       | 0.145                          |

*Densidad óptica del caldo mínimo basal con glucosa como fuente de carbono utilizado durante 72 horas por bacterias intestinales de Tenebrio molitor, Lambayeque 2023*

| horas | Control | <i>Citrobacter sp. 277</i> | <i>Citrobacter sp. 250</i> | <i>Shigella sp. 219</i> | <i>Enterobacter sp. 204</i> | <i>Sthaphylococcus sp. 267</i> |
|-------|---------|----------------------------|----------------------------|-------------------------|-----------------------------|--------------------------------|
| 0     | 0.099   | 0.099                      | 0.099                      | 0.099                   | 0.099                       | 0.099                          |
| 12    | 0.099   | 0.146                      | 0.149                      | 0.136                   | 0.128                       | 0.146                          |
| 24    | 0.099   | 0.158                      | 0.152                      | 0.146                   | 0.135                       | 0.153                          |
| 36    | 0.099   | 0.163                      | 0.156                      | 0.157                   | 0.144                       | 0.163                          |
| 48    | 0.099   | 0.166                      | 0.163                      | 0.169                   | 0.150                       | 0.173                          |
| 60    | 0.099   | 0.173                      | 0.167                      | 0.173                   | 0.156                       | 0.178                          |
| 72    | 0.099   | 0.164                      | 0.158                      | 0.167                   | 0.148                       | 0.172                          |



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN



ACTA DE SUSTENTACIÓN



ACTA DE SUSTENTACIÓN N° 028-2024-FCCBB-UI



Siendo las 11:15 horas del día 3 de junio de 2024, se reunieron los Miembros del Jurado evaluador de la tesis titulada **Degradación de poliestireno expandido por bacterias cultivables asociadas al intestino de larvas de Tenebrio molitor (Coleoptera: Tenebrionidae), Lambayeque 2022** a cargo del Bachiller **Luis Miguel Caruajulca Marin** y la Bachiller **Katherin Yuliana Huamán Ventura** con la finalidad de evaluar y calificar la sustentación de la tesis antes mencionada, conformada por los siguientes docentes:

Dra. Graciela Olga Albino Cornejo  
Dra. Gianina Llontop Barandiarán  
Lic. Julio César Silva Estela  
Dra. Carmen Rosa Carreño Farfán

Presidenta  
Secretaria  
Vocal  
Asesora

Acto de sustentación fue autorizado por Resolución N° 174-2024-FCCBB/D, de fecha 31 de mayo de 2024.

La Tesis presentada y sustentada por el Bachiller **LUIS MIGUEL CARUAJULCA MARIN** y la Bachiller **KATHERIN YULIANA HUAMÁN VENTURA** tuvo una duración de 30 minutos. Después de la sustentación y absueltas las preguntas y observaciones de los miembros del jurados; se procedió a la calificación respectiva, otorgándole el calificativo de (**MUY BUENO**) ( 19 ) en la escala vigesimal.

Por lo que el Bachiller **LUIS MIGUEL CARUAJULCA MARIN** y la Bachiller **KATHERIN YULIANA HUAMÁN VENTURA** quedan **APTOS** para obtener el título profesional de Licenciado (a) en Biología - Microbiología - Parasitología de acuerdo con la Ley Universitaria 30220 y la normatividad vigente de la Facultad de Ciencias Biológicas y la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

Siendo las 13:00 horas se dio por concluido el presente acto académico, dándose conformidad al presente acto, con la firma de los miembros del jurado.

Firman:

  
Dra. Graciela Olga Albino Cornejo  
Presidenta

  
Lic. Julio César Silva Estela  
Vocal

  
Dra. Gianina Llontop Barandiarán  
Secretaria

  
Dra. Carmen Rosa Carreño Farfán  
Asesora

## CONSTANCIA DE APROBACIÓN DE ORIGINALIDAD DE TESIS

Yo, Carmen Rosa Carreño Farfán, asesora de Tesis, de la bachillera Katherin Yuliana Huamán Ventura y bachiller Luis Miguel Caruajulca Marin, titulada: Degradación de poliestireno expandido por bacterias cultivables asociadas al intestino de larvas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), Lambayeque 2022, luego de la revisión exhaustiva del documento constató que la misma tiene un índice de similitud de 9 % **verificable** en el reporte de similitud del programa Turnitin. La suscrita analizó dicho reporte y concluyó que cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio. A mi leal saber y entender la tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

Lambayeque, 24 de junio de 2024



---

Carmen Rosa Carreño Farfán  
DNI:16494424  
ASESORA




## Recibo digital

Este recibo confirma que su trabajo ha sido recibido por Turnitin. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega: Luis Miguel Caruajulca Marin Katherin Yuliana Huamán Ven...  
Título del ejercicio: Quick Submit  
Título de la entrega: Degradación de poliestireno expandido por bacterias cultiva...  
Nombre del archivo: INFORME\_DE\_TESIS\_26-12-2023\_-\_sin\_anexos.pdf  
Tamaño del archivo: 970.37K  
Total páginas: 48  
Total de palabras: 11,998  
Total de caracteres: 63,502  
Fecha de entrega: 26-dic.-2023 10:25p. m. (UTC-0500)  
Identificador de la entre... 2265011116



# Degradación de poliestireno expandido por bacterias cultivables asociadas al intestino de larvas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), Lambayeque 2022

## INFORME DE ORIGINALIDAD

|                     |                     |               |                         |
|---------------------|---------------------|---------------|-------------------------|
| 9%                  | 9%                  | 1%            | 1%                      |
| INDICE DE SIMILITUD | FUENTES DE INTERNET | PUBLICACIONES | TRABAJOS DEL ESTUDIANTE |

## FUENTES PRIMARIAS

|                        |   |      |
|------------------------|---|------|
| 1                      | <a href="https://hdl.handle.net">hdl.handle.net</a>                               | 5%   |
| Fuente de Internet     |   |      |
| 2                      | <a href="https://repositorio.unprg.edu.pe">repositorio.unprg.edu.pe</a>           | 2%   |
| Fuente de Internet     |   |      |
| 3                      | <a href="https://1library.co">1library.co</a>                                     | 1%   |
| Fuente de Internet     |   |      |
| 4                      | <a href="https://repositorio.ucv.edu.pe">repositorio.ucv.edu.pe</a>               | < 1% |
| Fuente de Internet     |   |      |
| 5                      | <a href="https://repositorio.unprg.edu.pe:8080">repositorio.unprg.edu.pe:8080</a> | < 1% |
| Fuente de Internet     |   |      |
| 6                      | <a href="https://eprints.ucm.es">eprints.ucm.es</a>                               | < 1% |
| Fuente de Internet     |   |      |
| 7                      | <a href="https://zagan.unizar.es">zagan.unizar.es</a>                             | < 1% |
| Fuente de Internet     |   |      |
| 8                      | Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga                    | < 1% |
| Trabajo del estudiante |   |      |

9 repositorio.unal.edu.co < 1 %  
ciencialatina.org

Fuente de Internet

10 Submitted to Universidad de las Islas Baleares < 1 %

Trabajo del estudiante

11 www.scielo.org.mx < 1 %

Fuente de Internet

12 repositorio.unac.edu.pe < 1 %

Fuente de Internet

13 < 1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias

< 15 words

Excluir bibliografía

Activo

