



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**EVALUACIÓN DE LA TERMODEGRADACIÓN Y TOXICIDAD
DEL PLÁSTICO NO BIODEGRADADO PRESENTE EN
COMPOSTA**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA DE ALIMENTOS**

PRESENTA

JULIETA ELIZABETH JIMÉNEZ CASTILLO

MÉXICO, D.F.

2015





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: Pedro Valle Vega
VOCAL: Profesor: Guillermo Amado Molina Gómez
SECRETARIO: Profesor: María Teresa Orta Ledesma
1er. SUPLENTE: Profesor: Miguel Ángel Hidalgo Torres
2° SUPLENTE: Profesor: Juan Diego Ortiz Palma Pérez

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

**LABORATORIO DE INGENIERÍA AMBIENTAL, EDIFICIO 5, INSTITUTO DE
INGENIERÍA, UNAM**

ASESOR DEL TEMA:

DRA. MA. TERESA ORTA LEDESMA

SUPERVISOR TÉCNICO:

M en C. ISAURA YAÑEZ NOGUEZ

SUSTENTANTE (S):

JULIETA ELIZABETH JIMÉNEZ CASTILLO

VI CONGRESO INTERAMERICANO
DE
RESIDUOS SÓLIDOS DE LA ASOCIACION INTERAMERICANA DE INGENIERIA SANITARIA Y AMBIENTAL



Este trabajo fue presentado en el “VI CONGRESO INTERAMERICANO DE RESIDUOS SÓLIDOS DE LA ASOCIACIÓN INTERAMERICANA DE INGENIERÍA SANITARIA Y AMBIENTAL”, realizado del 19 al 22 de mayo de 2015 en San Salvador, El Salvador.

ÍNDICE

	Página
RESUMEN	III
INTRODUCCIÓN	V
1.0 CAPÍTULO 1 ANTECEDENTES	1
1.1 Plásticos	1
1.1.1 Polietileno	2
1.1.2 Películas de polietileno	5
1.1.3 Polímeros biodegradables	7
1.1.4 Degradación de polímeros	8
1.1.4.1 Termo-degradación	9
1.1.4.2 Biodegradación	9
1.2 Compostaje	11
1.2.1 Proceso de compostaje	12
1.2.2 Técnicas de compostaje	13
1.2.3 Materia orgánica	13
1.2.4 pH	14
1.2.5 Normativa mexicana	15
1.3 Toxicidad de películas de polietileno	16
1.3.1 Metales pesados	16
1.3.1.1 Cobalto	17
1.3.1.2 Manganeso	17
1.3.2 Clase de pruebas de toxicidad	18
1.3.3 Ensayos de toxicidad según su respuesta	18
1.3.4 Ensayos de toxicidad según su técnica	19
1.3.5 Curva dosis-respuesta	19
1.3.6 Modelos de estudio. Bioensayo fitotoxicidad	20
1.3.6.1 Germinación de las plantas	21
1.3.6.2 Lechuga	22
2.0 CAPÍTULO 2 METODOLOGÍA	27
2.1 Biodegradación de películas de polietileno termo-degradadas en reactores aerobios	28
2.1.1 Obtención de películas de polietileno con aditivos pro-oxidantes	28
2.1.2 Recolección de composta y montaje de reactores	28

2.1.3	Biodegradación en reactores	30
2.1.3.1	Producción de CO ₂	30
2.1.3.2	Caracterización de la composta después de la biodegradación	32
2.1.3.2.1	Humedad	32
2.1.3.2.2	pH	33
2.1.3.2.3	Materia orgánica	33
2.2	Pruebas de fitotoxicidad	35
2.2.1	Homogeneización de composta con 2.9% de pLDPE	37
2.2.2	Mezcla de composta sola y con 2.9% de pLDPE y tierra negra	37
2.2.3	Siembra de semillas de lechuga	37
2.2.4	Incubación	38
2.2.5	Evaluación de los efectos tóxicos	39
2.2.5.1	Porcentaje de inhibición de la germinación	39
2.2.5.2	Porcentaje de inhibición de la elongación de la radícula e hipocótilo	39
2.2.5.3	Índice de germinación	40
2.2.6	Análisis estadístico	40
3.0	CAPÍTULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	42
3.1	Biodegradación de películas plásticas termo-degradadas en reactores aerobios	42
3.1.1	Producción de CO ₂	42
3.1.2	Caracterización final de parámetros fisicoquímicos	43
3.1.2.1	Porcentaje de humedad	43
3.1.2.2	pH	44
3.1.2.3	Materia orgánica	44
3.2	Pruebas de fitotoxicidad	46
3.2.1	Evaluación de efectos tóxicos	46
3.2.1.1	Porcentaje de inhibición de la germinación	46
3.2.1.2	Porcentaje de inhibición de la elongación del hipocótilo	47
3.2.1.3	Índice de germinación	49
3.3	Uso recomendado de la composta	51
	CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	53
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
	APÉNDICE A ÍNDICE DE FIGURAS	62
	APÉNDICE B ÍNDICE DE TABLAS	64

RESUMEN

Actualmente, la problemática con los polímeros plásticos se ha incrementado por el uso excesivo que tienen y por su gran persistencia en el ambiente. Se han buscado alternativas más amigables con el ambiente para evitar o disminuir la contaminación. Entre ellas se encuentra la introducción al mercado de materiales oxo-biodegradables. Se trata de polímeros como el polietileno de baja densidad (LDPE por sus siglas en inglés, *Low Density Polyethylene*) adicionados con agentes pro-oxidantes (conformados por sales de metal). La presencia de los metales, acelera la degradación del polímero pero puede el suelo. Existen estudios acerca del efecto de dichas sales en la foto- y termo-degradación de películas de polietileno de baja densidad (pLDPE), sin embargo, no se ha estudiado el efecto en condiciones de compostaje.

El presente estudio se enfoca en la evaluación de la toxicidad de los aditivos pro-oxidantes: estearato de cobalto (Co) y estearato de manganeso (Mn) en composta, después de un proceso de biodegradación de pLDPE con dichas sales. La toxicidad fue evaluada mediante un bioensayo usando semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) como organismo de prueba. La evaluación fue hecha con composta de poda proveniente de la planta de composta de la UNAM. Se sintetizaron pLDPE adicionadas con las sales de metal y tuvieron un tratamiento de termo-degradación durante 16 días (pLDPE+Mn1, pLDPE+Mn2, pLDPE+Co1) y 21 días (pLDPE+Co2). Después se colocaron en reactores aerobios con composta para la biodegradación y posteriormente se realizaron las pruebas de toxicidad. Las variables de respuesta fueron: inhibición de la germinación (%), inhibición de la elongación del hipocótilo (%) e índice de germinación (IG). Se construyeron curvas dosis-respuesta para las variables: inhibición de la germinación (%) y elongación del hipocótilo (%). Se calculó la concentración inhibitoria media (CI_{50}) de cada composta con pLDPE. Se concluyó que la producción de CO_2 fue mayor en PeCo1 y PeCo1 lo que indica que la reacción de oxidación fue más agresiva que en PeMn1 y PeMn2. Respecto a las pruebas de fitotoxicidad no se observó efecto toxico en la germinación de *L. sativa* L. en ninguno de los casos. La composta con una proporción 75.89-24.11%

(composta-tierra negra) conteniendo pLDPE+Co2 (termo-degradada previamente por 21 días), presentó efecto tóxico en la elongación del hipocótilo y además se determinó que no cumple con NADF-020-AMBT-2011, la cual indica que con un IG mínimo de 60% la composta puede ser usada. pLDPE+Co2 tuvo un IG de 54.66 ± 3.89 (%), esto se traduce en que la pLDPE+Co2 aporta sustancias tóxicas, particularmente cobalto a la composta por lo que no es recomendable usarla. La composta conteniendo pLDPE+Co1 y pLDPE+Mn1 y 2 (16 días termodegradadas), sí cumplen con la normativa y pueden ser usadas en paisajes, áreas verdes urbanas y reforestación, ya que no se encontraron sustancias tóxicas o están presentes en muy bajas concentraciones.

INTRODUCCIÓN

Problemática y justificación

A pesar de ser indispensables para la humanidad, los plásticos como el polietileno y polipropileno plantean una grave amenaza para el medio ambiente una vez que se disponen como residuos sólidos urbanos (RSU). Con el uso excesivo del plástico y la poca atención respecto a su manejo, ha surgido la necesidad de producir alternativas biodegradables y materiales que sean amigables con el ambiente y que tengan las mismas propiedades y características funcionales de sus contrapartes convencionales (Mumatz et al, 2010).

Los plásticos han alcanzado un lugar irremplazable en la industria de los empaques y embalajes. El polietileno es prácticamente omnipresente y debido a su alto peso molecular junto con su carácter hidrófobo hacen que la degradación sea prácticamente nula y muy lenta creando un problema ambiental. Polímeros degradables son deseables en diversas aplicaciones especialmente en el sector agricultor y en envases. Han pasado alrededor de 50 años desde el primer desarrollo de un plástico degradable. Desde entonces el estudio de aditivos pro-oxidantes foto- y termo- degradantes ha captado la atención de los investigadores. Varias técnicas han sido desarrolladas para lograr hacer al polietileno una estructura más degradable en un tiempo menor, siendo lo más común, la incorporación de ciertos metales de transición durante su procesamiento (Roy et al, 2006).

Actualmente podemos encontrar en el mercado productos elaborados a partir de polímeros con aditivos pro-oxidantes (estearato de manganeso y de cobalto), etiquetados como biodegradables, oxo-degradables, oxo-biodegradables, 100% degradables y/o 100% biodegradables, dando la apariencia de ser materiales amigables con el ambiente. Existen estudios sobre el efecto del estearato de manganeso y de cobalto en la foto y termo degradación de las películas de polietileno, sin embargo, no se ha estudiado la cuantificación de la biodegradación del polietileno con aditivos pro-oxidantes en condiciones de compostaje. Por lo anterior, ha surgido la necesidad de evaluar si los aditivos de estearato de manganeso y de cobalto contribuyen a la biodegradación de películas de polietileno

durante el proceso de compostaje y evaluar el efecto del material biodegradado (liberación de cobalto y manganeso) en la composta con pruebas de fito-toxicidad con semillas de lechuga.

OBJETIVOS

Objetivo general:

Evaluar la toxicidad de películas de polietileno de baja densidad (pLDPE) termodegradadas presentes en composta, mediante una prueba de germinación de semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) en condiciones controladas de laboratorio.

Objetivos específicos

- Someter el plástico termodegradado a condiciones controladas a nivel laboratorio dentro de reactores aerobios para acelerar la biodegradación de dichos plásticos.
- Evaluar la oxidación de las películas plásticas con aditivos pro-oxidantes termodegradadas y sometidas a biodegradación en composta mediante la cuantificación de CO₂.
- Realizar la caracterización de la composta con películas plásticas termo- y biodegradadas para determinar su mejor uso.
- Evaluar el efecto de los metales de los aditivos pro-oxidantes de las películas plásticas termodegradadas y sometidas a un proceso de biodegradación utilizando pruebas de fitotoxicidad en la composta con germinación de semillas de lechuga (*L. sativa*).
- Determinar la toxicidad de la composta a través de un análisis estadístico (ANOVA y comparación de medias con el método de Tukey) del CI₅₀ de las variables de respuesta: porcentaje de germinación y elongación del hipocótilo así como del IG de semillas de lechuga (*L. sativa*).

HIPÓTESIS

Los metales liberados durante la biodegradación de plástico sometido a un proceso de compostaje controlado (composta+2.9% de pLDPE), presentan un efecto potencialmente tóxico en las semillas de lechuga *L. sativa* L.

CAPITULO 1 ANTECEDENTES

1. 1 Plásticos

Durante las últimas décadas, el aumento de la población mundial junto con la demanda de insumos y la necesidad de adoptar mejores condiciones de vida han llevado a un dramático aumento en el consumo de polímeros (principalmente plásticos) que en nuestros días se han convertido en materiales indispensables, sustituyendo a los naturales en diversas áreas. En 2003 en Europa se estimó un consumo de 48.8 millones de toneladas de productos plásticos correspondiente a 98 kg *per cápita* que es aproximadamente el doble de la cantidad reportada en 1993 que fue de 64 kg *per cápita*. Más del 78% de esos productos plásticos corresponden a los termoplásticos más conocidos: polietileno de baja y alta densidad, polipropileno y poliuretanos. Puesto que la duración de vida útil de los desechos plásticos es muy pequeña hay un vasto flujo de residuos que ha generado un grave problema ambiental (Achilias *et al*, 2007).

Los plásticos son sustancias de origen orgánico formadas por largas cadenas que contienen en su estructura carbono e hidrógeno principalmente. Se obtienen mediante reacciones químicas y es posible moldearlos mediante procesos de transformación aplicando calor y presión. Las poliolefinas convencionales siguen siendo la primera opción para su aplicación en diferentes campos ya que el polietileno y el polipropileno son baratos, fáciles de procesar, mecánicamente resistentes e inertes (Pérez-Aguilar, 2001).

Durante el año 2011 el continente asiático destacó debido a la gran producción que tuvo, 36% del total mundial (Japón, China y resto de Asia). El continente Europeo participó con un 25% de la producción mundial quedando en segundo lugar, y en tercero, los países que se incluyen en el Tratado de Libre Comercio de América del Norte (TLCAN) o NAFTA (por sus siglas en inglés *North American Free Trade Agreement*), México, Estados Unidos y Canadá. En México se produjeron 5.3 millones de toneladas (MTon) de plásticos, lo que representó el 2% de la producción total mundial de ese año (figura 1.1).

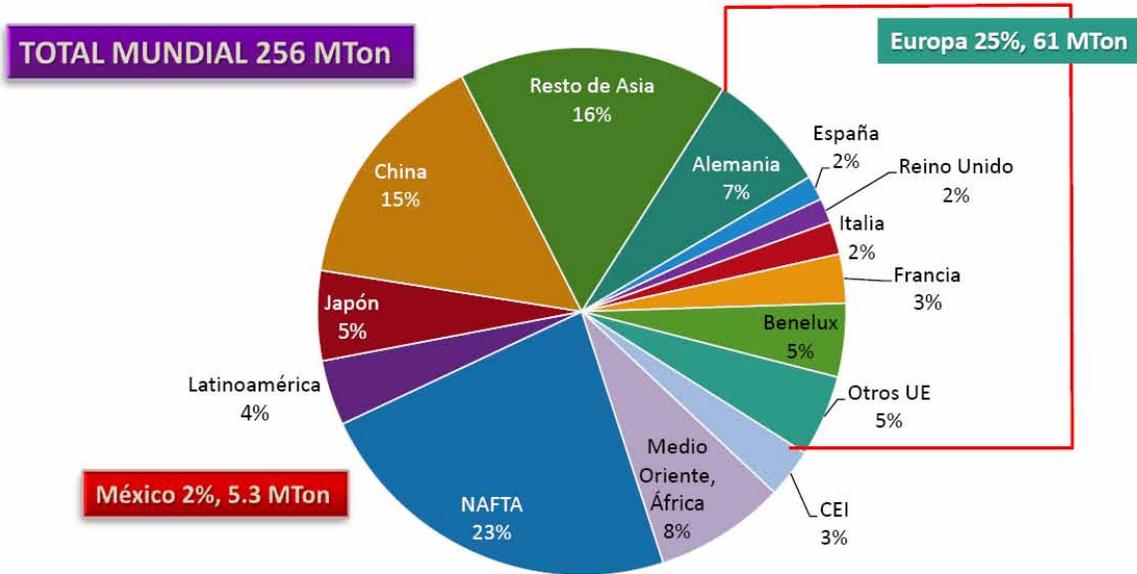


Figura 1.1 Producción mundial de plásticos por país y región en 2011. Fuente: <http://www.ptq.pemex.gob.mx/>

1.1.1 Polietileno

El polietileno es el polímero más empleado y, sin duda es el más popular en todo el mundo. En 1953 Karl Ziegler, en Alemania, descubrió la forma de organizar las moléculas de etileno durante la polimerización (figura 1.2), mediante el uso de un catalizador, logrando además, utilizar menor presión y temperatura en la reacción, de esta manera las moléculas de etileno reaccionan entre sí por simple adición sin formación de agua o de otros subproductos para formar una cadena de polímero que contiene únicamente uniones carbono-carbono.

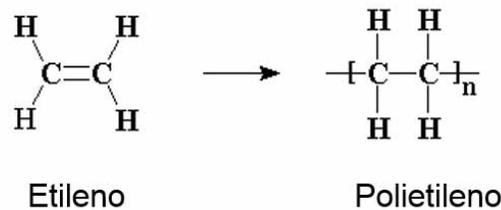


Figura 1.2 Conversión de la molécula de etileno al polímero de polietileno. Fuente: <http://www.pslc.ws/spanish/synth.htm>

Los polietilenos son polímeros termoplásticos producidos por procesos de alta y baja presión usando varios sistemas de catalizadores.

El polietileno puede encontrarse de dos maneras dependiendo del acomodo de las cadenas moleculares (Díaz-Labastida, 2007).

- Polietileno de alta densidad (figura 1.3): Forma cadenas largas con pocas cadenas laterales, la densidad se encuentra entre $0.941-0.965 \text{ g/cm}^3$ a 20°C . Se utiliza para fabricar un gran número de artículos por soplado y moldeado por inyección, recipientes para gasolina o aceite y para la extrusión de tubos.

Figura 1.3. Estructura de un Polietileno de alta densidad. Fuente: Fundamentals of Plastics,



Penton Education Division, 1983.

- Polietileno de baja densidad (figura 1.4). Forma moléculas muy ramificadas que impiden un empaquetamiento organizado, obligando a ocupar más espacio, lo que implica que tenga una menor densidad. Esta se encuentra en el rango de $0.910-0.940 \text{ g/cm}^3$ a 20°C . Se utiliza como bolsas, películas para envasado de productos alimenticios, como revestimiento de papel y hojas de aluminio y como material de aislamiento eléctrico.

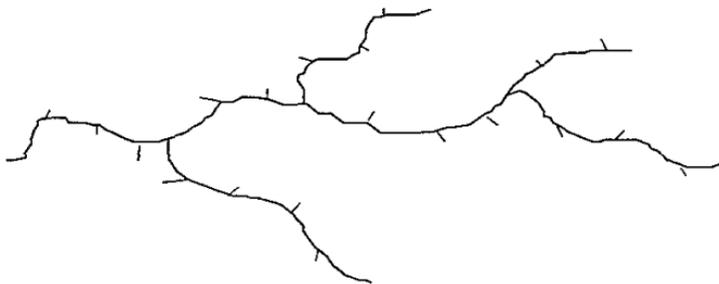


Figura 1.4. Estructura de un Polietileno de baja densidad. Fuente: Fundamentals of Plastics,
Penton Education Division, 1983.

- Polietileno de baja densidad lineal (figura 1.5). la estructura de este polímero puede tener densidad desde 0.905-0.941 g/cm³. Se usa en forma de películas, películas de plástico soplado, rotomoldeo, moldeado por inyección y se usa en embalaje para alimentos, envase de alimentos congelados, tubos para calefacción del suelo, tubos cosméticos y farmacéuticos. Tiene más ramificaciones que el polietileno de alta densidad, sin embargo es más rígido que el polietileno de baja densidad.



Figura 1.5. Estructura de un Polietileno de baja densidad lineal. Fuente: <http://www.resinex.es>

En 2011, la producción de polietilenos fue del 35% considerando los de alta y baja densidad, así como el de baja densidad lineal. En segundo lugar se encuentra la producción de polipropileno, un plástico de estructura más rígida (figura 1.6).

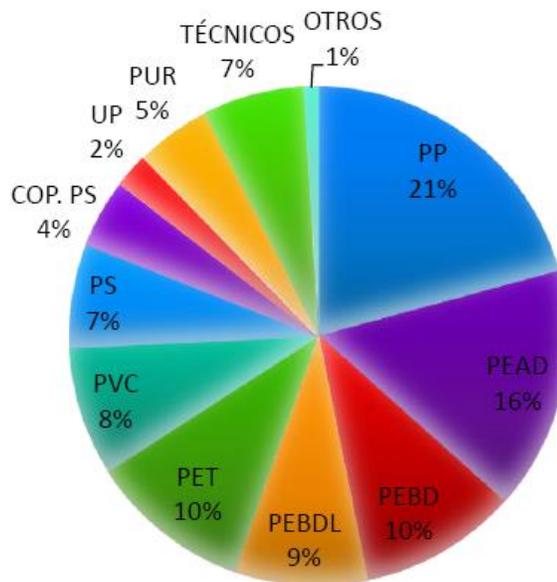


Figura 1.6 Segmentación de la producción en México por tipo de plástico en 2011. Fuente: <http://www.ptq.pemex.gob.mx/>

1.1.2 Películas de polietileno

Durante los últimos veinte años las películas de polietileno de baja densidad (pLDPE) han sido extensamente usadas como material de empaque y embalaje de alimentos, productos textiles y como bolsas para cargar (Mumatz, 2010). También tienen una importante uso en la agricultura, donde se usan películas para protección del suelo en las zonas de cultivo, éstos se recubren, modificando así el microambiente del suelo controlando de esta forma la humedad y la temperatura, se reduce la evaporación del agua, protegiendo contra la erosión y previniendo el crecimiento de hiervas indeseables así como el uso excesivo de pesticidas (Kyrikou *et al*, 2011).

En 2011 prácticamente la mitad de la producción mexicana de envases destinados principalmente a la industria alimentaria fue de películas plásticas (figura 1.7). En esta industria las pLDPE son ampliamente usadas como empaques de productos congelados, de panificación; como recubrimiento de latas de aluminio que evitan el contacto directo del metal con el alimento, recubrimiento en los envases tetrapack, y como tapas flexibles y botellas. Por su punto de fusión elevado es conveniente usarlo cuando se necesita un sellado térmico (Pérez-Nava, 2008).

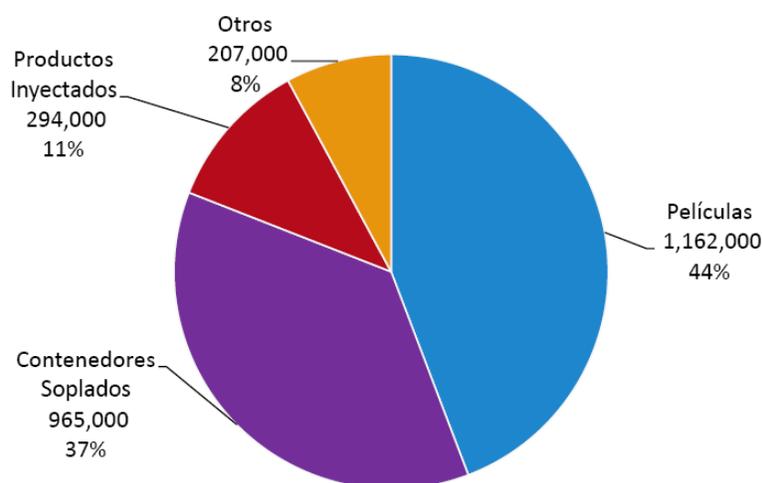


Figura 1.7 Producción de envases por tipo de producto en 2011. Fuente: <http://www.ptq.pemex.gob.mx/>

El polietileno de baja densidad tiene las siguientes características, mismas que lo hacen adecuado para el uso en alimentos: (Pérez-Aguilar, 2001):

- No tóxico
- Flexible
- Resiste solventes, ácidos y bases
- Impermeable al agua
- Poco permeable al vapor de agua y gases
- Económico

A pesar de las muchas ventajas y diversas aplicaciones de los plásticos, se tienen también efectos secundarios que afectan al ser humano, animales y medio ambiente. Cuando no se realiza una gestión adecuada de los residuos, aumenta el riesgo de que estos lleguen a los ecosistemas. Los plásticos representan un problema grave de disposición, pues su ligereza y facilidad de transporte en el aire o el agua. Su presencia en la naturaleza puede ocasionar efectos indeseables (Rios *et al*, 2007).

Los plásticos pueden formar una barrera física que altera el crecimiento o el metabolismo de los seres vivos, ocasionando asfixia o estrangulamientos. Esto ha sido ampliamente documentado y tiene consecuencias graves tanto en plantas como en numerosas especies de aves, peces y mamíferos. Otro problema es que se ha comprobado que las partículas de polietileno dispersos en el mar pueden tener adheridos, hidrocarburos, pesticidas y otros contaminantes persistentes e hidrofóbicos, así los plásticos pueden convertirse en vehículos de ingreso de los contaminantes cuando son ingeridos por animales y llegar al ser humano (Rios *et al*, 2007).

En algunos países como República de Bangladesh el uso del LDPE fue prohibido por su impacto negativo en la salud y medio ambiente ya que se consideró que el mal manejo provocaba la obstrucción del alcantarillado y disminución de la permeabilidad al agua en el subsuelo (Mumatz, 2010) por lo que es cada vez más común encontrar empaques con la leyenda “biodegradable”.

1.1.3 Polímeros biodegradables

La definición más simple de los polímeros biodegradables es que son polímeros degradados a productos compostables en condiciones ambientales normales (aerobias y anaerobias) en un periodo de tiempo aceptable después de su vida útil. Existen varias definiciones en la literatura, por ejemplo, en la definición de la ASTM D 6400-99 los polímeros deben ser degradados por acción de microorganismos como hongos, bacterias y algas propios del lugar de desecho. En compostaje producen CO₂ y H₂O, compuestos inorgánicos y biomasa. De acuerdo con las normas ISO, un polímero biodegradable es un material que sufre un cambio químico y es hecho por microorganismos. Las normas DIN por otro lado, exigen la conversión de polímeros en productos del metabolismo microbiano (Karak, 2012).

Los polímeros biodegradables pueden ser divididos en dos grupos: aquellos que son intrínsecamente biodegradables, cuya estructura química lo permite por la acción directa de las enzimas tales como la amilasa y aquellos que se convierten en biodegradables después de uno o más procesos físicos o químicos, como hidrólisis, fotólisis o pirolisis (Álvarez, 2014).

En éste contexto se ha estudiado la adición de aditivos pro-oxidantes con la cual se pretende generar una fragmentación acelerada del material plástico con el objetivo de disminuir su peso molecular, el tamaño de las cadenas del polímero, su carácter hidrófobo y para la formación de compuestos más livianos y lábiles a la acción de los microorganismos y del medio ambiente. Como resultado, las macromoléculas de desechos presentes en suelo se degradan normalmente y forman microgrietas en la superficie del material. Debido al aumento de la superficie de contacto, hay una actividad de intensa fragmentación del polímero debido a los procesos de oxidación que hay en la biodegradación y finalmente se presenta en teoría la descomposición del material (Lomakin *et al*, 2011).

Éstos materiales se degradan por una reacción en cadena donde es primordial el oxígeno del aire. Los productos primarios son peróxidos que se convierten en hidroperóxidos y siguiendo con las reacciones mostradas en la figura 1.8 en una termo- y foto-degradación, se rompen las cadenas poliméricas resultando en productos con menor peso molecular como ácidos carboxílicos, alcoholes, cetonas

e hidrocarburos pequeños que pueden ser posteriormente metabolizados por microorganismos. La velocidad de degradación depende del tipo de polímero, tipo y cantidad de aditivos, posibles pre-tratamientos a bajas temperaturas y otras condiciones (Kyrikou *et al*, 2011).

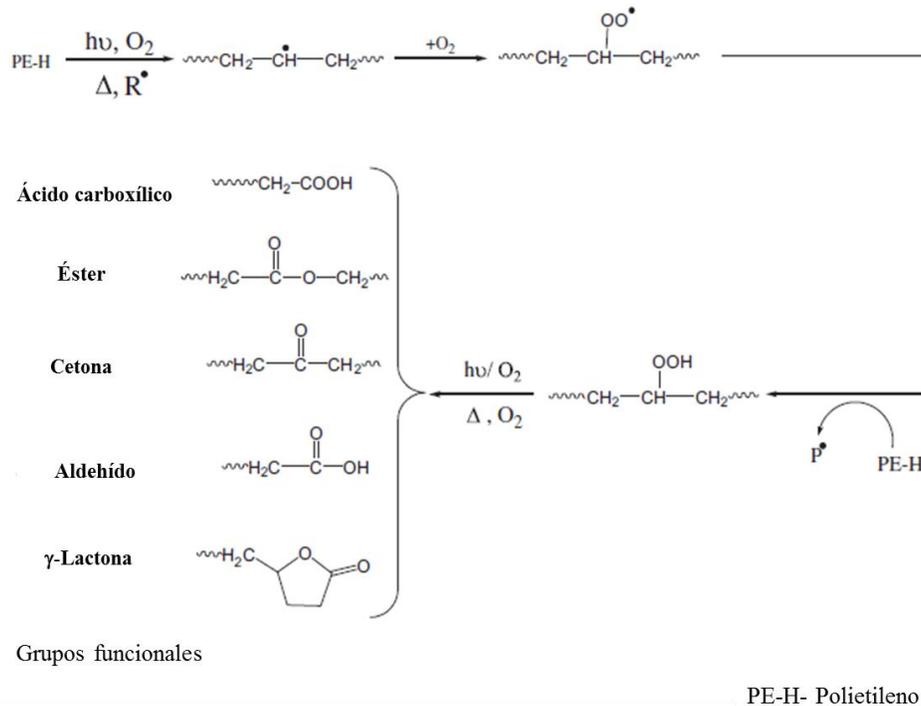


Figura 1.8. Reacción de oxidación de polímeros oxo-degradables y subproductos formados.
Fuente: Abrusci *et al*, 2013

1.1.4 Degradación de polímeros

La degradación puede ser considerada como el resultado de varias reacciones provocadas por el estrés en un ambiente natural (luz, humedad, temperatura) o artificial. Estos procesos promueven cambios en las propiedades funcionales de los polímeros causando el rompimiento de enlaces lo que lleva a transformaciones químicas. La degradación se observa en el deterioro de propiedades físicas como la mecánica, óptica, color, formación de grietas y propiedades químicas que incluyen el rompimiento de la cadena polimérica y la formación de nuevos grupos funcionales. Así, cuando la degradación se origina por energía térmica se le denomina termo-degradación; si es por energía de radiación ultravioleta se le

denomina foto-degradación; y si es por acción de los microorganismos se le denomina biodegradación, (Bussiere *et al*, 2014).

1.1.4.1 Termo-degradación

La degradación térmica de los polímeros es un proceso de deterioro molecular que resulta del calentamiento a altas temperaturas, donde los componentes de la cadena polimérica comienzan a separarse y reaccionar entre sí. Estas reacciones químicas que se producen provocan cambios tanto físicos como químicos de las propiedades originales. En la degradación térmica el calor afecta propiedades mecánicas, químicas, físicas y reológicas como peso molecular, cambios de color y fracturas (Olayan, 1996).

1.1.4.2 Biodegradación

La biodegradación puede definirse como la conversión hecha por microorganismos de un material orgánico a biomasa, CO₂, agua y trazas de productos inorgánicos (minerales) bajo condiciones aerobias y la transformación a CH₄ y CO₂ en condiciones anaerobias sin dejar compuestos tóxicos que puedan ser persistentes ni fragmentos después de un tiempo. Este proceso representa un fenómeno complejo de medir. Un material se considera biodegradable bajo ciertas condiciones que deben mostrar que es degradado totalmente (o al menos 60%) por microorganismos y que es seguro para el medio ambiente (Kyrikou *et al*, 2011).

Los materiales pueden ser considerados como biodegradables si cumplen con los criterios estandarizados en las organizaciones de normalización, como las ISO, ASTM, DIN y OCDE. En la tabla 1.1 se presentan algunos procedimientos internacionales para la medición de la biodegradabilidad de un material.

Tabla 1.1 Técnicas aceptadas internacionalmente para la medición de la biodegradabilidad de un material. Fuente: Kapanen, 2012

Ambiente	Ensayos para la evaluación de la biodegradabilidad	
Acuático	ISO 14852:1999	Determination of the ultimate aerobic biodegradability of plastic materials in an aqueous medium – Method by analysis of evolved carbon dioxide
	ISO 14851:1999	Determination of the ultimate aerobic biodegradability of plastic materials in an aqueous medium – Method by analysis of evolved carbon dioxide
	ISO 14853:2005	Determination of the ultimate aerobic biodegradability of plastic materials in an aqueous medium – Method by analysis of evolved carbon dioxide
	EN 14047:2003	Packaging. Determination of the ultimate aerobic biodegradability of packaging materials in an aqueous medium. Method by analysis of evolved carbon dioxide
	EN 14048:2003	Packaging. Determination of the ultimate aerobic biodegradability of packaging materials in an aqueous medium. Method by measuring the oxygen demand in a closed respirometer
	ASTM D6691-01	Standard Test Method for Determining Aerobic Biodegradation of Plastic Materials in the Marine Environment by a Defined Microbial Consortium
Composta	ISO 14855-1:2005	Determination of the ultimate aerobic biodegradability of plastic materials under controlled composting conditions – Method by analysis of the evolved carbon dioxide
	EN 14046:2003	Packing. Evaluation of the ultimate aerobic biodegradability of packing materials under controlled composting conditions. Method by analysis of released carbon oxide
	EN 14045:2003	Packing. Evaluation of the disintegration of packing materials in practical oriented tests under defined composting conditions
	EN 14806:2005	Packaging. Preliminary evaluation of the disintegration of packaging materials under simulated composting conditions in a laboratory scale test
	ASTM D5338-98	Standard Test Method for Determining Aerobic Biodegradation of Plastic Materials Under Controlled Composting Conditions
	ASTM D5929-96	Standard Test Method for determining Biodegradability of Materials Exposed to Municipal Solid Waste Composting Conditions by Compost Respirometry
	ASTM D5951-96	Standard Practice for Preparing Residual Solids Obtained After Biodegradability Standard Methods for Plastics in Solid Waste for Toxicity and Compost Quality Testing
	ASTM D6340-98	Standard Test Methods for Determining Aerobic Biodegradation of Radiolabeled Plastic Material in an Aqueous or Compost Environment
Suelo	ISO 17556:2003	Plastics-Determination of the ultimate aerobic biodegradability in soil by measuring the oxygen demand in a respirometer or the amount of carbon dioxide evolved
	ASTM D5988-96	Standard Test Method for Determining Aerobic Biodegradation in Soil of Plastic Materials or Residual Plastic Materials After Composting
Lodos	ASTM D5210-92	Standard Test Method for Determining the Anaerobic Biodegradation of Plastic Materials in the Presence of Municipal Sewage Sludge

1.2 Compostaje

Uno de los problemas ambientales de las explotaciones agrícolas y de las ciudades son los desechos sólidos orgánicos que se generan (restos de poda, cosecha, post-cosecha, pasto, fruta, residuos urbanos) y con frecuencia son la causa de graves problemas para el medio ambiente y la salud. En estos materiales, se incluyen los residuos sólidos orgánicos los cuales representan una amenaza potencial de contaminación al medio ambiente si no se les aplica un tratamiento que los haga más seguros ya que debido al desconocimiento, falta de espacio adecuado, o de tiempo, las prácticas habituales son la quema, enterramiento o el abandono a la intemperie para su pudrición. En consecuencia, es importante encontrar un tratamiento para la protección del medio ambiente (Román *et al*, 2013).

El composteo es uno de los procesos más efectivos en el reciclaje de desechos orgánicos debido a que proporciona la posibilidad de transformar de manera segura los residuos orgánicos en insumos. La FAO define como compostaje a la mezcla de materia orgánica en descomposición en condiciones aeróbicas que se emplea para mejorar la estructura del suelo y proporcionar nutrientes (FAO, 2015). Es un proceso de degradación bioquímica, de un sustrato orgánico, sólido y heterogéneo, en condiciones aerobias. Los desechos orgánicos son estabilizados, los nutrientes se hacen disponibles para las plantas, se destruyen los organismos patógenos y se abaten malos olores (Román *et al*, 2013). Su objetivo principal es garantizar un producto final con características homogéneas, que sea no solo seguro para un uso agrícola sino también de un alto valor fertilizante.

Algunas ventajas del uso del compostaje son las siguientes:

- Cierre del ciclo de la materia orgánica
- Recuperación y reciclaje de nutrientes
- Reducción de la cantidad de residuos sólidos urbanos destinados a rellenos sanitarios e incineración, evitando problemas de contaminación de suelos y mantos acuíferos por lixiviados, además de la prevención de emisiones de gases de descomposición de los residuos en los rellenos al ambiente.

- El compost es un producto de alto contenido nutritivo, protector contra la erosión y es un mejorador de suelo ya que es un fertilizante natural (Herrera-López, 2001).

1.2.1 Proceso de compostaje

Las fases por la que los residuos sólidos pasan hasta convertirse en composta son las siguientes:

- Etapa mesófila. Es la primera etapa del proceso de composteo en la cual la temperatura de los residuos aumenta hasta 40°C debido a la actividad de los microorganismos presentes que se reproducen y colonizan la superficie del sustrato iniciando su degradación. La descomposición de compuestos solubles, como azúcares, produce ácidos orgánicos por lo que el pH puede bajar hasta 4.
- Etapa termófila. En esta fase, la temperatura aumenta de 40 hasta 70°C aproximadamente y las bacterias mesófilas que iniciaron el proceso empiezan a ser reemplazadas por bacterias termófilas que facilitan la degradación de fuentes más complejas de carbono como la celulosa y la lignina y se destruyen la mayoría de patógenos como *E. coli* y *Salmonella spp.* así como huevos de helminto. Las bacterias termófilas transforman el nitrógeno en amoníaco por lo que el pH del sustrato se vuelve alcalino.
- Etapa de enfriamiento y maduración. Son las últimas fases del proceso, la actividad biológica de microorganismos termófilos disminuye paulatinamente al agotarse las fuentes de carbono y en especial de nitrógeno, de material fácilmente degradable, la temperatura desciende hasta los 40°C y se produce un segundo reemplazo de microorganismos por los que son capaces de degradar la celulosa y otros polímeros, pueden aparecer hongos a simple vista, y los mesófilos reinician su actividad, el pH se mantiene alcalino. Después de esto empieza la maduración de la composta a temperatura ambiente en la cual existen reacciones de polimerización de compuestos carbonados para la formación de ácidos húmicos (Román *et al*, 2013).

1.2.2 Técnicas de compostaje

Existen diferentes técnicas de compostaje, la elección se basa en el factor económico, disponibilidad de espacio y producción. A continuación se presentan las más comunes según Galicia-Martínez, 2014.

- Compostaje en montón: Se basa en la construcción de un montón formado por las diferentes materias primas y en el que es importante realizar una mezcla correcta.
- Compostaje en silos: Se emplea en la fabricación de composta poco voluminosa. Los materiales se introducen en un silo vertical de dos o tres metros de altura, redondo o cuadrado, cuyos lados están calados para permitir la aireación.
- Compostaje en superficie: Consiste en esparcir sobre el terreno una delgada capa de material orgánico finamente dividido, dejándolo descomponerse y penetrar poco a poco en el suelo. Este material sufre una descomposición aerobia que asegura la cobertura y protección del suelo
- Pilas aireadas estáticas: Este sistema consta de pilas formadas por residuos orgánicos, mezclados con residuos de jardinería para que se formen espacios de aireación. Las pilas formadas no se mezclan ya que cuentan con una red de tubería que permite una aireación forzada necesaria para la conservación biológica de residuos.

1.2.3 Materia orgánica

La materia orgánica del suelo está conformada por dos grandes grupos. La fracción viva que incluye raíces, microorganismos y fauna del suelo que participan en la descomposición y transformación de los residuos orgánicos. Y la fracción no viva que incluye hojarasca superficial, raíces muertas, metabolitos microbianos y sustancias húmicas. Los residuos húmicos son polímeros aromáticos condensados resistentes a una mayor descomposición y comúnmente se estabilizan en el suelo. La fracción de la materia orgánica que llega a ser estabilizada mediante mineralización, libera nutrientes minerales que pueden ser absorbidos por las raíces de las plantas. Una vez que un suelo es cultivado, los niveles originales de

materia orgánica van disminuyendo paulatinamente, es por esto que la composta es una gran fuente de materia orgánica (Julca *et al*, 2006).

La materia orgánica tiene importancia fundamental en la fertilidad del suelo, sus principales funciones son:

- Aportación de macronutrientes como: nitrógeno, fósforo, potasio, azufre, calcio, sodio y magnesio
- Aportación de micronutrientes como: hierro, zinc, cobre, cobalto, boro y manganeso
- Reguladora de pH
- Al biodegradarse forma CO_2 que actúa impartiendo propiedades físicas óptimas para los suelos
- Al descomponerse produce ácidos orgánicos y CO_2 que permiten la disolución de minerales como el potasio, dejándolo disponible a la vegetación
- El humus, impide la lixiviación de los fertilizantes amoniacales, reteniendo el amonio para uso de la planta.
- Es alimento de organismos indispensables en el suelo como lombrices y hormigas (Julca *et al*, 2006).

1.2.4 pH

El pH del suelo puede modificarse durante un periodo de tiempo relativamente corto, por ejemplo, un año. Suelos excesivamente ácidos (debajo de 5.5) presentan poca disponibilidad de nutrientes como fósforo, calcio, magnesio, potasio y molibdeno y aumenta la solubilización de zinc, cobre, hierro, manganeso y aluminio, que en función al manejo del suelo y fertilizantes aplicados pueden alcanzar niveles tóxicos para las plantas. En pH de 7.8 o más, el calcio y el magnesio son abundantes, cuando el pH está por encima de 8.6 el sodio está presente. La acidez o alcalinidad, dependen de varios factores, en sistemas naturales, el pH es afectado por la precipitación, erosión, vegetación aporte de materia orgánica, prácticas agrícolas, fertilización (Porta *et al*, 2008).

La producción de composta proveniente de residuos agrícolas, industriales y municipales constituye una fuente importante de recuperación de materia orgánica

y un método esencial de tratamiento de residuos. La composta o compost se aplica a tierras de cultivo para mantener y mejorar la estructura del suelo y la nutrición de las plantas, sin embargo la presencia de metales pesados, es la principal causa de los efectos adversos a la salud animal y humana a través de la cadena alimentaria desde el suelo, aguas subterráneas y plantas (Zeng-Yei, 2004).

1.2.5 Normativa mexicana

En México la única norma referente a la composta es la NADF-020-AMBT-2011 que establece los requerimientos necesarios para la producción de composta. Se especifican los tipos de residuos adecuados para fungir como materias primas, el proceso de compostaje a partir de residuos orgánicos, la ubicación e instalaciones básicas en plantas de composta y las características de la composta terminada así como su uso recomendado y algunos métodos de prueba. La tabla 1.2 muestra las características que debe tener la composta para ser utilizada.

Tabla 1.2. Características generales que deben de cumplir los tipos de composta según la NADF-020-AMBT-2011

Parámetro	Tipo de composta		
	A	B	C
Uso recomendado	Sustrato en viveros y sustituto de tierra para maceta	Agricultura ecológica y reforestación	Paisaje, áreas verdes urbanas y reforestación
Humedad	25-35 % en peso		25 – 45% en peso
pH	6.7 - 7.5	6.5 – 8	
Conductividad eléctrica	< 4 dS/m	< 8 dS/m	< 12 dS/m
Materia orgánica	>20 % MS		>25% MS
Carbono total	Debe indicarse en la etiqueta el resultado del último análisis realizado		
Nitrógeno total % MS			
Relación C/N	<15	<20	<25
Macronutrientes (NKP) en % MS	De 1% a 3% en cualquiera de ellos y su suma ≤7% portará la leyenda "Compostamejorador de suelos". Si cualquiera excede 3% o la suma es mayor a 7% Debe portar la leyenda "Composta para nutrición vegetal" y se indicarán las cantidades para cada macronutriente.		
Granulometría	≤10mm	≤30mm	
Fitotoxicidad (IG)	IG≥85%	IG≥75%	IG≥60%
Diferencia de temperatura con el ambiente medida a una profundidad ≥50 cm	≤10°C		≤15°C

1.3 Toxicidad de películas de polietileno

La toxicología es definida como el estudio de los efectos adversos de agentes químicos o físicos en un organismo y se divide en tres grandes áreas: Descriptiva, Mecánica y Regulatoria, de éstas tres nos concierne para este estudio la Toxicología Descriptiva que se relaciona directamente con pruebas de toxicidad que proveen información para la evaluación de riesgos a los seres humanos y al medio ambiente debido a la exposición de productos químicos específicos. En estas pruebas se usan modelos animales, vegetales y cultivos celulares (Klaassen, 2008).

El estudio de la toxicidad de los plásticos se ha enfocado en analizar la posibilidad de que los aditivos que contienen se liberen y provoquen algún efecto dañino en los seres vivos. Los aditivos que no están incorporados en la cadena del polímero pueden migrar en el material. En el caso de aditivos pro-oxidantes (sales de metal) que se encuentran dentro de la cadena del polímero, pueden bajo ciertas condiciones (biodegradación), liberar los metales pesados que contienen durante su disposición cuando son desechados (compostaje) y causar un efecto adverso (Teuten *et al*, 2009) así como el plástico no biodegradado en la composta.

1.3.1 Metales pesados

Los metales pesados son abundantes en residuos industriales y por el cambio de estilo de vida, esto ocasiona una acumulación de ellos en el suelo. Una vez acumulado el metal, puede ser transferido a niveles elevados en la cadena alimenticia y puede terminar en problemas de salud en los humanos. El problema ambiental con los metales pesados es que durante la degradación de residuos orgánicos no se ven afectados y a la larga se presentan efectos adversos sobre los organismos si se superan los límites permitidos en cada país. La exposición a estos agentes puede causar enfermedades en huesos y sangre, daño neurológico y daño renal. El contenido del metal aumenta cuando el volumen se reduce durante la biodegradación, es decir, se concentra, por lo que es necesario hacer pruebas de toxicidad al producto terminado (Romeela *et al*, 2014).

1.3.1.1 Cobalto

El cobalto (Co) es un elemento de origen natural y está ampliamente distribuido en rocas, suelos, el agua y vegetación. Es esencial en cantidades traza para los seres humanos y otros mamíferos ya que es un componente integral de la vitamina B12, a pesar de eso, en dosis excesivas resultan una variedad de respuestas adversas que llegan a ser tóxicas para los humanos, animales acuáticos y terrestres.

Las plantas pueden acumular pequeñas cantidades de cobalto proveniente del suelo y aunque generalmente la acumulación se da en las raíces, también es posible encontrar depósitos en otras partes que son consumidas como los frutos, granos o semillas. Esta acumulación puede potencialmente resultar en concentraciones suficientemente tóxicas para causar efectos adversos en aves y mamíferos. Este fenómeno se conoce como envenenamiento secundario. El cobalto interactúa con otros elementos formando complejos con la actividad cito- y fitotóxica, por ejemplo, altos niveles de Co^{2+} inducen la deficiencia de hierro en plantas y suprime la absorción de cadmio en las raíces (Gál *et al*, 2008).

1.3.1.2 Manganeso

El manganeso (Mn) es un elemento esencial en cantidades traza y es requerido para el desarrollo de procesos fisiológicos. Funciona como cofactor de enzimas, entre ellas, la glutamina sintetasa y la superóxido dismutasa, necesarias para la actividad neuronal. También es importante en el crecimiento de huesos, desarrollo de cartílago y tejido conectivo. Normalmente los mecanismos regulatorios se encargan de mantener niveles adecuados de manganeso en el cuerpo. Sin embargo una exposición excesiva puede alterar estos mecanismos, lo que conlleva a la acumulación del metal en huesos, hígado, riñón y páncreas (O'Neal *et al*, 2014).

Existen seis formas en las que el manganeso se encuentra en el suelo: a) Mn soluble que puede ser fácilmente absorbido por las plantas, b) Mn intercambiable que se adsorbe a los coloides del suelo y puede ser sustituido por otros cationes y así es liberado y absorbido por las plantas en solución del suelo, c) ligado orgánicamente como Mn disponible, d) Mn fácilmente reducible, e) relativamente inactivo e

insoluble como parte de los óxidos e hidróxidos y finalmente f) como complejos organometálicos insolubles (Chatzistathis *et al*, 2015).

1.3.2 Clases de pruebas de toxicidad

Las pruebas de toxicidad son clasificadas según el objetivo que se busque con ellas, el área de estudio y el espacio que se limite para las mismas, como se muestra a continuación:

1.3.3 Ensayos de toxicidad según su respuesta:

- **Pruebas de toxicidad aguda**

Generalmente la primera prueba de toxicidad realizada a un producto es la toxicidad aguda, determinada a partir de una sola exposición. Los objetivos de estas pruebas son la estimación de la toxicidad intrínseca de la sustancia, muchas veces expresado como una dosis letal aproximada. Proporciona información sobre órganos diana y otras manifestaciones de toxicidad, identifica las diferencias entre especies y las especies sensibles, establece la reversibilidad de la respuesta tóxica y proporciona información que apoyará en la selección para un diseño de estudios crónicos y subcrónicos si se desean realizar (Klaassen, 2008).

- **Pruebas de toxicidad subcrónica**

En estas pruebas de toxicidad se obtiene información sobre la toxicidad de un xenobiótico después de una administración repetida. La exposición subcrónica puede llevarse a cabo en diferentes periodos de tiempo, lo más común es usar test desde 15 hasta 90 días. El principal objetivo es establecer el NOAEL (no observed adverse effect level) y la identificación y caracterización del órgano diana u órganos afectados durante y al término del ensayo. También puede calcularse el LOAEL (lowest observed adverse effect level) dependiendo de las dosis aplicadas. Ambos, (NOAEL y LOAEL) tienen numerosas implicaciones regulatorias como el cálculo de la dosis de referencia el cual se utiliza para establecer valores aceptables de contaminantes (Klaassen, 2008).

- **Pruebas de toxicidad crónica**

Estas pruebas de toxicidad son muy similares a los estudios subcrónicos excepto que el periodo de la prueba es mucho mayor a 3 meses. En algunas especies como los ratones se hacen test desde 6 meses hasta 2 años. El objetivo es hacer un estudio que cubra, al menos una generación del organismo de prueba. Permiten evaluar la exposición continua al tóxico y los efectos subletales que puedan presentarse, tales como reducción de crecimiento o reproducción y sus resultados se expresan en niveles NOEC (*no observed effect concentration*) y LOEC (*lowest observed effect concentration*) (Klaassen, 2008).

1.3.4 Ensayos de toxicidad según su técnica (Escobar et al, 2009):

- **Ensayos estáticos**

En ellos las soluciones que se utilizan en los ensayos y los organismos a examinar se colocan en cámaras de prueba o montajes.

- **Ensayos semi-estáticos**

En ellos se renueva periódicamente el medio de ensayo. Por ejemplo, una vez cada 24 horas.

- **Ensayos de Flujo Continuo**

En los que existe una renovación continua del medio de ensayo

- **Ensayos de reproducción**

El periodo de exposición sobre, al menos, tres generaciones de los organismos prueba. Permiten evaluar el comportamiento reproductivo como consecuencia de la exposición al tóxico.

- **Ensayos de Recuperación**

En los que el periodo de exposición es seguido por la transferencia y la observación de los organismos de prueba en un medio no tóxico.

1.3.5 Curva dosis-respuesta

La relación dosis-respuesta es la medida de la proporción de una población que experimenta efectos adversos como consecuencia de la exposición a un tóxico.

La obtención de la curva dosis-respuesta descansa en una serie de supuestos básicos, el primero de los cuales es que la respuesta observada es consecuencia de la exposición al agente químico administrado, es decir, que existe una asociación causal entre ambas. Por otra parte, la magnitud de la respuesta debe depender de la dosis, lo que implica la existencia de un receptor o receptores moleculares con los que el agente administrado interacciona para desencadenar la respuesta tóxica, de forma que la magnitud de la respuesta dependerá de la concentración alcanzada por el agente en el tejido donde se encuentra el receptor; concentración que a su vez depende de la dosis administrada. El último requisito para obtener la relación dosis-respuesta es definir un método para cuantificar y expresar de forma precisa la toxicidad. (Moreno, 2003)

Cuando no es posible trabajar con dosis como en el caso del análisis de suelos, se construyen curvas concentración-respuesta, con las mismas características de una con dosis. Generalmente se calcula la concentración inhibitoria media (CI_{50}), definida como la concentración del material en agua, suelo o sedimento que se estima, afecta al 50% de los organismos de ensayo. Esta concentración y sus límites de confianza (95%) son usualmente derivados de análisis estadístico (Ronco et al, 2004). Este parámetro tiene la utilidad de dar información rápida y sencilla de entender sobre la toxicidad de un xenobiótico. Entre más pequeño sea el valor de CI_{50} , la toxicidad del xenobiótico estudiado será mayor.

1.3.6 Modelos de estudio. Bioensayo Fitotoxicidad

Un Bioensayo es un término abreviado para designar a los ensayos biológicos. Éstos se llevan a cabo para medir los efectos de una sustancia sobre la vida de un organismo, incluyendo animales, microorganismos y plantas. Generalmente es un método sencillo y práctico para detectar sustancias tóxicas aunque la sensibilidad no sea la misma que la detección con métodos instrumentales (Hodgson, 2004).

Los bioensayos han sido utilizados para diversos propósitos incluyendo la medición de actividad farmacológica, grado de toxicidad de medicamentos, la evaluación de la cantidad de contaminantes liberados por una fuente en particular, como aguas residuales, residuos urbanos y la evaluación de la mutagenicidad de las sustancias

químicas presentes o algún otro efecto que puedan tener en los organismos de prueba y el riesgo que puede ocasionar en los humanos (Shibamoto *et al*, 2009).

Los vegetales juegan un rol fundamental, tanto en ecosistemas acuáticos como en terrestres, por su importancia en la productividad primaria y en el reciclado de nutrientes, además de proporcionar alimento y hábitat para otros organismos (Margalef, 1983).

Las pruebas de fitotoxicidad y crecimiento se realizan *in vitro*. En compostas, éstas pruebas son usadas para detectar la presencia de sustancias tóxicas que han sido generadas por un procesamiento deficiente de los residuos y las condiciones no han sido muy adecuadas (carencia de oxígeno, deficiencia de homogeneización de la masa, corto tiempo de maduración). Las sustancias tóxicas, tanto minerales (amonio, ácido sulfhídrico, sulfatos) como orgánicas (ácidos grasos volátiles, fenoles, etc.) llegan a ser inhibidores específicos y por esto, son índices importantes del desarrollo del proceso, en otras palabras, la presencia de sustancias tóxicas significa una insuficiente estabilización de la composta (Herrera-López, 2001).

1.3.6.1 Germinación de las plantas

La germinación puede ser definida como una serie de eventos desencadenada por la absorción de agua en una semilla en reposo y concluye con el alargamiento del eje embrionario (radícula). La semilla funciona como recipiente de almacenamiento del embrión y contiene los primeros nutrimentos con los cuales se desarrollará en el inicio. El signo visible de que la germinación se ha completado es el crecimiento de la radícula. En suelos, crecen al mismo tiempo el epicotilo en forma ascendente, lo que permite dar forma a la planta en su parte exterior (inicio del tallo) y el hipocótilo que se desarrolla de forma descendente formando en un futuro la raíz de la planta (Sánchez-Ortiz, Sánchez-Melo, 2009).

Para llegar a esta etapa se deben pasar por las siguientes fases (figura 1.9):

- Fase de hidratación o imbibición (I): La absorción de agua es el primer paso de la germinación, sin el cual el proceso no puede iniciar. Durante esta fase se produce una intensa absorción de agua por parte de los distintos tejidos

que forman la semilla. Dicho incremento va acompañado de un aumento en la actividad respiratoria y permite que se reactiven las enzimas y estructuras necesarias para el reinicio del metabolismo.

- Fase de germinación *sensu stricto* (II): Esta fase la germinación verdadera y en ella se producen las transformaciones metabólicas, necesarias para el correcto desarrollo de la plántula. En esta fase la absorción de agua y la respiración se reducen significativamente. Durante esta fase ocurre la síntesis, a partir de las reservas disponibles, de nuevas estructuras y compuestos necesarios para las fases siguientes del desarrollo. Esta etapa es principalmente anabólica, es decir, se consume energía disponible.
- Fase de crecimiento (III): Es la última fase de la germinación y se asocia con la emergencia de la radícula (cambio morfológico visible). Esta fase se caracteriza porque la absorción de agua vuelve a aumentar, así como la actividad respiratoria (Herrera *et al*, 2006).

La aparición de la radícula a través de las estructuras que rodean al embrión es el evento que determina el término de la germinación y marca el inicio de crecimiento de la planta. La elongación de la radícula es un proceso asociado con el aumento de la turgencia celular.

1.3.6.2 Lechuga

- **Características**

Lactuca sativa, pertenece a la familia *Compositae*, tribu *Cicoreae*. Es una hortaliza de climas frescos. Existen evidencias en tumbas egipcias de pinturas que datan del año 4500 A.C con forma de lechuga, es posible que haya sido originada en Asia menor a partir de un antecesor similar a *L. serriola* L. la cual era cultivada para forraje animal. Para el año 500 A.C era ya muy conocida en provincias griegas y romanas (Pink, 1993).

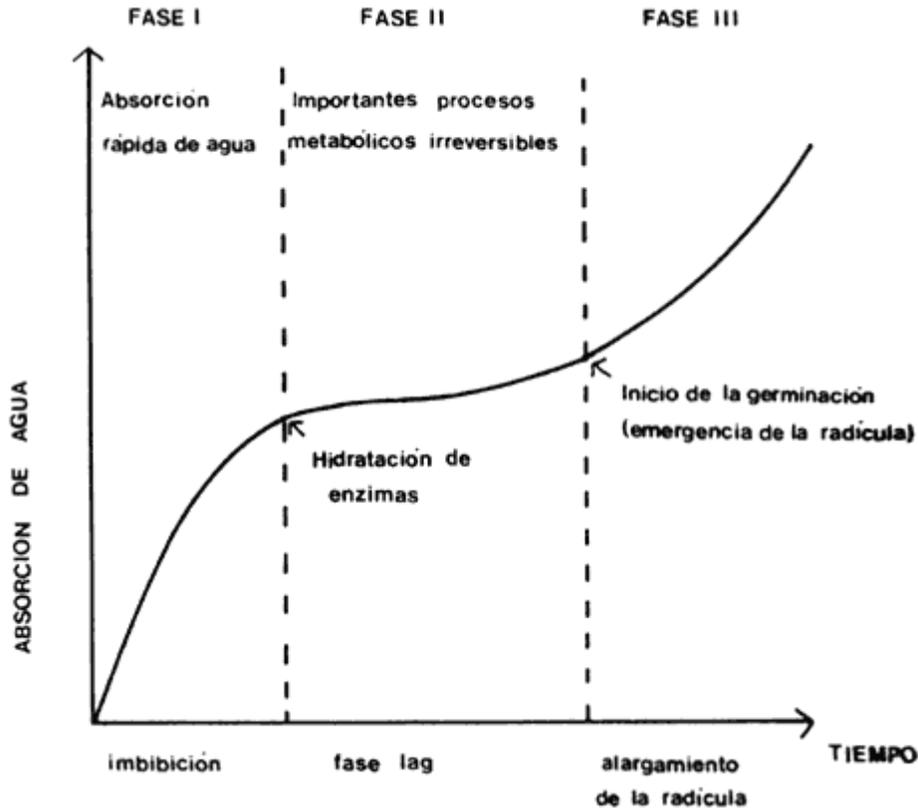


Figura 1.9. Etapas de la germinación que conducen a la emergencia de la radícula. Se inicia con la absorción de agua y la activación metabólica del embrión. Fuente: Herrera *et al*, 2006

La lechuga es uno de los vegetales más consumidos a nivel mundial, contiene macrominerales (K, Na, Ca y Mg) y trazas de elementos (Fe, Mn, Cu, Zn, Se) que son esenciales para la nutrición humana. Es sabido que sus compuestos como la clorofila y los carotenoides tienen un beneficio nutricional y tienen un rol importante en la prevención de algunas enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo. La lechuga obtenida en campos de agricultura presenta en algunas ocasiones elementos tóxicos no esenciales como Sb, As, cd, Pb, Ni y U por debajo de los límites permisibles. Sin embargo, aun cuando se cultiva en suelos no contaminados **algunas cantidades de elementos tóxicos se pueden acumular en las raíces ya que su absorción depende factores de transferencia en suelos. Esta propiedad hace a las lechugas muy sensibles y aptas para pruebas toxicológicas por la sensibilidad de elementos traza.** (Pinto *et al*, 2014)

Dentro de su taxonomía se identifican:

- Raíz: Es la primera de las partes embrionarias que se desarrollan durante la germinación de las semillas, se distingue primero con una porción poco diferenciada llamada radícula que forma la raíz en su parte inicial.
- Hojas: Órgano de las plantas especializado en la fotosíntesis que crece en el tallo, generalmente de color verde, ligera, plan y delgada. Su forma depende de la especie.
- Tallo: Tiene una forma cilíndrica y ramificada de poca longitud debido a la parte genética de la especie.
- Semillas: Es la pepita cuyo nombre es espermatofitas las cuales están provistas con todo el material genético que debe emplear el desarrollo de una planta (Sánchez-Ortiz, Sánchez-Melo, 2009).

- **Ensayo de toxicidad con semillas de *Lactuca sativa* L.**

Durante el periodo de germinación y los primeros días de desarrollo de la plántula ocurren numerosos procesos fisiológicos en los que la presencia de una sustancia tóxica puede interferir alterando la supervivencia y el desarrollo normal de la planta, siendo entonces una etapa de gran sensibilidad frente a factores externos adversos. La respuesta de la semilla de lechuga y su conversión a plántula se considera representativa del efecto en otras especies vegetales por los diversos procesos fisiológicos similares entre sí (figura 1.10) (Bowers *et al*, 1997).

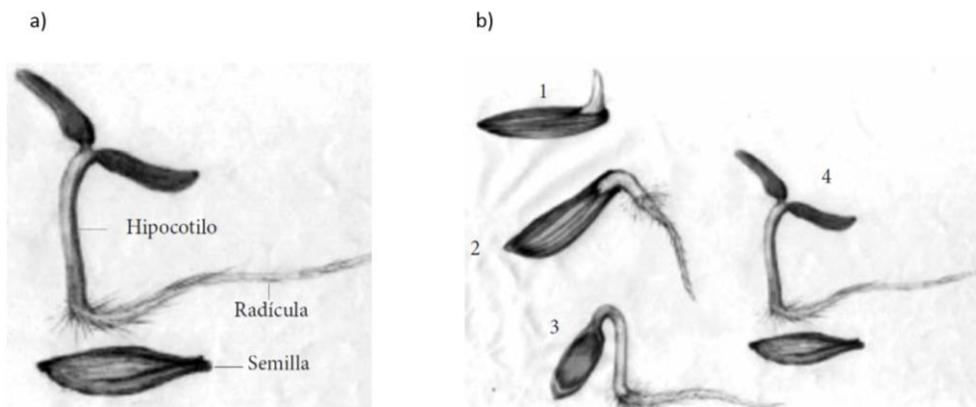


Figura 1.10. a) Morfología de semilla y plántula de lechuga. b) Etapas que atraviesa la semilla *L. sativa* durante el ensayo de germinación y elongación Fuente. Sobero *et Ronco*, 2008.

El bioensayo con semillas de lechuga es una prueba estática de toxicidad aguda en el que se pueden evaluar los efectos tóxicos de compuestos en el proceso de germinación de las semillas y en el desarrollo de las plántulas durante los primeros días de crecimiento. La evaluación abarca la inhibición en la germinación y la inhibición en la elongación de la radícula y del hipocótilo (Sobero et Ronco, 2008).

La evaluación de la radícula e hipocótilo constituyen indicadores representativos para determinar la capacidad de establecimiento y desarrollo de la planta. La evaluación del efecto en la elongación de la radícula y del hipocótilo de las plántulas permite ponderar el efecto tóxico de compuestos solubles presentes en niveles de concentración tan bajos que no son suficientes para inhibir la germinación, pero que pueden retardar o inhibir completamente los procesos de elongación de la radícula o del hipocótilo, dependiendo ello del modo y sitio de acción del compuesto. Este ensayo puede ser aplicado para la evaluación de la toxicidad de compuestos puros solubles, de aguas superficiales (lagos, ríos), aguas subterráneas, aguas para consumo humano, aguas residuales domésticas e industriales, además de lixiviados de suelos, sedimentos, lodos y otras matrices sólidas (Sobero et Ronco, 2008).

Las ventajas de esta prueba con semillas de lechuga son las siguientes:

- Reducido tiempo de exposición de la prueba (120 h).
- No requiere equipamiento sofisticado.
- Bajos costos.
- Es sensible a deficiencias de nitrógeno y fósforo así como agua. También se usa en diversas pruebas de fitotoxicidad por su sensibilidad a xenobióticos tóxicos.
- Es de rápido crecimiento (en 2 meses puede incluso, alcanzar un tamaño comercial).

La selección de una semilla adecuada para bioensayos rutinarios depende de varios factores (Díaz *et al*, 2004):

- La semilla debe ser sensible a los factores ambientales o materiales en cuestión.
- Su distribución tiene que ser amplia y su disponibilidad.

- Debe ser importante desde el punto de vista económico, recreativo o ecológico, tanto su es local como nacional.
- Se debe poder cultivar fácilmente en el laboratorio.
- Tiene que hallarse en buenas condiciones, libre de parásitos o enfermedades.
- Debe ser compatible con las técnicas de bioensayo.

CAPITULO 2 METODOLOGÍA

La metodología de esta investigación consta de 2 etapas principales (Figura 2.1). La primera es la biodegradación de películas de polietileno de baja densidad con aditivos pro-oxidantes en una composta bajo condiciones controladas de laboratorio, la segunda es una prueba de fitotoxicidad de la composta después de la biodegradación usando semillas de lechuga (*L. sativa* L.) como organismo de prueba.

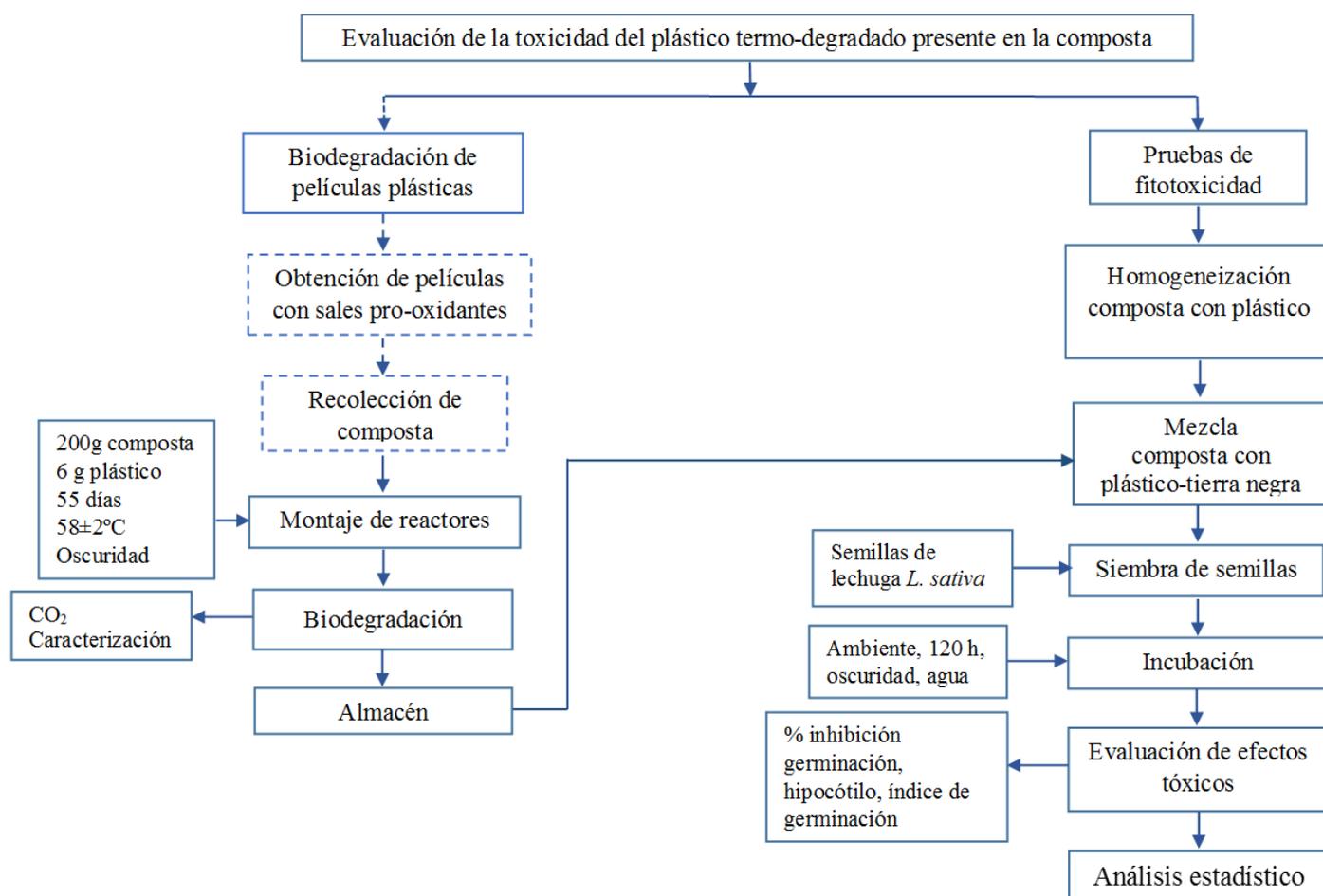


Figura 2.1. Diagrama de flujo de la investigación. Las líneas punteadas indican las etapas que fueron necesarias en la experimentación total y que fueron realizadas en experimentos anteriores pero que no se incluyen debido a que dichas actividades no se hicieron durante la realización de esta tesis.

2.1 Biodegradación de películas de polietileno termo-degradadas en reactores aerobios

2.1.1 Obtención de pLDPE con aditivos pro-oxidantes

Las pLDPE oxo-biodegradables utilizadas en este experimento fueron sintetizadas en el Instituto en Investigaciones en Materiales de la UNAM y en la empresa Plásticos del Futuro S.A. de C.V. (PLAFUSA). Se adicionaron como aditivos pro-oxidantes, las sales metálicas en dos concentraciones diferentes: estearato de cobalto (Co1 y Co2) y estearato de manganeso (Mn1 y Mn2) a polietileno de baja densidad. Las sales de metal se mezclaron con gránulos de polietileno de baja densidad y posteriormente la mezcla se extrudió para obtener así las películas. El proceso de fabricación y las concentraciones utilizadas, se encuentran en solicitud de patente, es por esto que esos datos no se incluyen en este trabajo.

Como una etapa adicional, las pLDPE fueron sometidas a un tratamiento térmico para iniciar la termo-degradación y reducir el peso molecular de las cadenas de polietileno. Las pLDPE+Mn1, pLDPE+Mn2 y pLDPE+Co1 durante 16 días y pLDPE+Co2 durante 21 días. Las pLDPE se cortaron en cuadros de 2x2 cm y fueron sometidas a las condiciones indicadas en la tabla 2.1 en un horno marca Felisa modelo: FE-291^a a 50°C. Después de esto se inició el proceso de biodegradación en composta y con condiciones controladas.

2.1.2 Recolección de composta y montaje de reactores

La composta fue seleccionada de la planta de composta de la UNAM con aproximadamente 3 meses de maduración y todo el experimento fue llevado a cabo en las instalaciones del edificio 8 del Instituto de Ingeniería UNAM.

Los reactores montados fueron frascos de vidrio con capacidad de 1 L. En cada reactor se colocaron 200 g de composta (base seca) y 6 g de pLDPE con aditivos

pro-oxidantes (estearato de manganeso y de cobalto), por lo que cada reactor tuvo 2.9% de pLDPE (base seca) oxo-biodegradable.

En la tabla 2.1 se muestra la nomenclatura de los reactores usados en la experimentación y el tipo de aditivo presente en las películas de polietileno, así mismo se muestran los controles usados y también se indica el tratamiento térmico que tuvieron las películas antes de colocarse en los reactores.

Tabla 2.1. Reactores aerobios con películas de polietileno con agentes pro-oxidantes.

Código del reactor	Aditivo pro-oxidante presente en la pLDPE	Tratamiento térmico	
pLDPE+Co1 R1	Estearato de cobalto	50°C / 16 días	1
pLDPE+Co1 R2	Estearato de cobalto	50°C /16 días	2
pLDPE+Co2 R1	Estearato de cobalto	50°C /21 días	3
pLDPE+Co2 R2	Estearato de cobalto	50°C /21 días	4
pLDPE+Mn1 R1	Estearato de manganeso	50°C /16 días	5
pLDPE+Mn1 R2	Estearato de manganeso	50°C /16 días	6
pLDPE+Mn2 R1	Estearato de manganeso	50°C /16 días	7
pLDPE+Mn2 R2	Estearato de manganeso	50°C /16 días	8
Comp R1	Control de composta sin plástico		9
Celulosa	Control de celulosa		10
Aire 1	Control para la producción de CO ₂ del aire		11
Aire 2	Control para la producción de CO ₂ del aire		12

2.1.3 Biodegradación en reactores

La técnica descrita a continuación se llevó a cabo conforme a la ASTM D 5338-98. Standard Test Method for Determining Aerobic Biodegradation of Plastic Materials Under Controlled Composting Conditions. Se trata de un método de biodegradación acelerada mediante el aumento de temperatura en el compostaje.

Durante 55 días los reactores con composta estuvieron en un baño de agua construido de acrílico y de dimensiones 180 cm x 100 cm, en el cual fueron colocadas 3 resistencias de 1000 W para regular la temperatura a $58 \pm 2^\circ\text{C}$ que ayudara a la biodegradación del material presente. A las películas de polietileno se les monitoreó la cantidad de CO_2 generado por la biodegradación de microorganismos presentes en la composta.

Se inyectó aire con una bomba ELITE 802 marca Hagen con capacidad de flujo de aire de 1500 cc/minuto. El aire inyectado se purgó del CO_2 ambiental pasando por frascos con agua y luego frascos con sílica. Posteriormente el aire que llegaba al reactor con composta, arrastró el CO_2 producido a partir de la biodegradación y además se conservaron las condiciones aerobias. Finalmente el aire con CO_2 fue conducido mediante mangueras de plástico a recipientes con 700 mL de una solución de NaOH 0.1 N donde se burbujeó y atrapó el gas para la cuantificación diaria. Por cada reactor hubo 3 frascos de NaOH (Figura 2.2).

Diariamente se les agregó a los reactores una cantidad de agua destilada con la finalidad de mantener la humedad en 50% aproximadamente, ya que con la temperatura del baño, el agua de los reactores se evaporaba continuamente. Al final del experimento, la composta se dejó secar en el baño de agua para poder almacenarla.

2.1.3.1 Producción de CO_2

La medición y cálculos de la producción diaria de CO_2 se hicieron también conforme la ASTM D 5338-98.

El fundamento de esta técnica es el burbujeo de CO₂ en una solución de NaOH donde reaccionan como lo indica la figura 2.3.

De esta manera la concentración inicial de NaOH disminuyó y el residuo que no reaccionó se cuantificó mediante una titulación con HCl 0.4 N, usando fenolftaleína como indicador.

Por diferencia se calculó la cantidad de mol de NaOH que sí reaccionó con el CO₂ y por lo tanto la cantidad de éste último. Las titulaciones se hicieron diariamente.

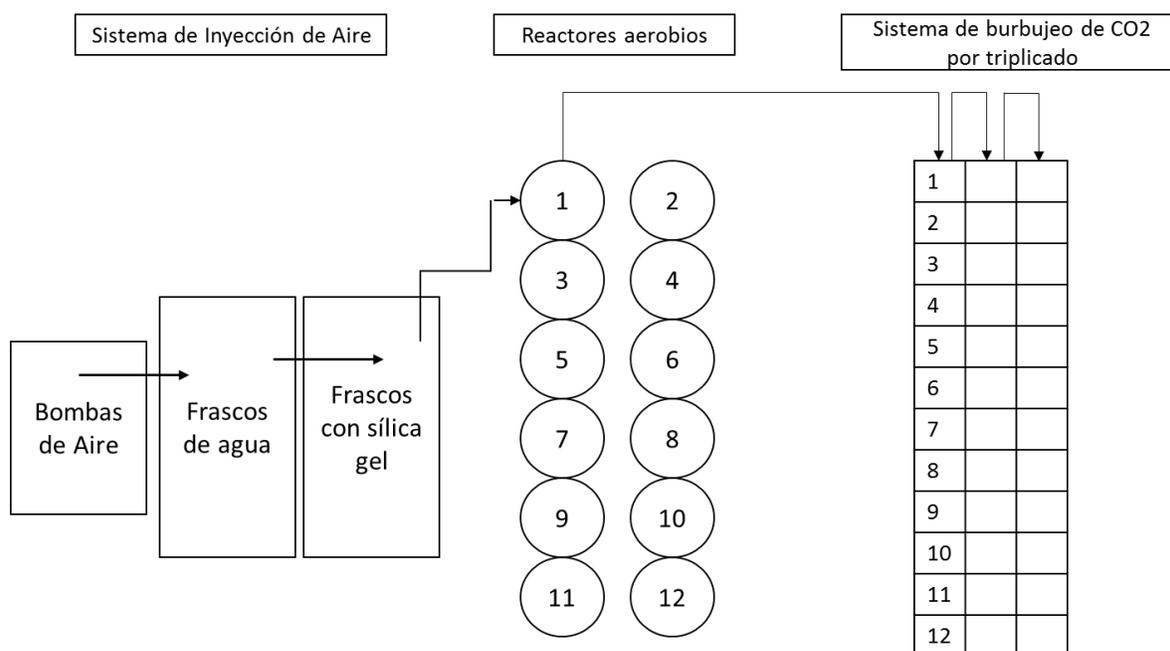


Figura 2.2. Esquema del montaje de reactores aerobios y sistema de burbujeo de CO₂ los números de los reactores corresponden a la nomenclatura de la tabla 2.1.

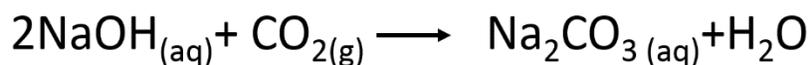


Figura 2.3. Reacción dentro de los frascos con NaOH donde se burbujó el CO₂ producido en la biodegradación

Los reactores identificados como "Aire" se usaron como un control con el que se calculó el CO₂ que no se purgó del aire y esa cantidad se restó a los reactores

aerobios, de esta manera se evitaron sesgos en los resultados finales. También se tuvo un reactor con celulosa, control positivo de biodegradación.

La cuantificación de la cantidad de mol de CO₂ se llevó a cabo a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{mol de CO}_2 = \frac{\text{mol de NaOH} - \text{mol de HCl}}{2}$$

Terminada esta etapa, se almacenaron los reactores para la siguiente fase donde se realizaron pruebas de fitotoxicidad con el material resultante de la biodegradación durante 55 días a 58 ± 2°C (Composta+2.9% de pLDPE inicial)

2.1.3.2 Caracterización de la composta después de la biodegradación

Terminado el tiempo de la biodegradación acelerada (55 días a 58 ± 2°C) de la composta+2.9% de pLDPE, se realizó una caracterización con el objetivo de conocer las propiedades finales y dictaminar un uso recomendable. La caracterización incluyó las siguientes determinaciones: humedad, pH y materia orgánica.

La mayoría de los reactivos utilizados fueron de la marca J. T. Baker, el óxido de selenio de la marca Merck Schuchardt y el dicromato de potasio marca Química Meyer.

2.1.3.2.1 Humedad

La cuantificación de la humedad se realizó con tres réplicas por muestra. Se pesaron 0.5 g de muestra y se dejaron secar por 24 h en una estufa a 110°C (Figura 2.4) de acuerdo a lo establecido por la NMX-AA-16-1984. Terminando este tiempo las muestras se colocaron dentro de un desecador hasta peso constante a temperatura ambiente y se pesaron en una balanza analítica. El cálculo de la pérdida de agua se hizo por diferencia de peso.



Figura 2.4. Charolas en estufa de convección para determinación de humedad.

El cálculo del porcentaje de humedad se hizo mediante la siguiente ecuación:

$$\% = \frac{W_{\text{charola con muestra seca}} - W_{\text{charola sin muestra}}}{W_{\text{charola con muestra húmeda}} - W_{\text{charola sin muestra}}} \times 100$$

Donde:

W= Masa de la muestra.

2.1.3.2.2. pH

Esta determinación se realizó conforme la NMX-AA-025-1984 de la siguiente forma: Con una relación 10:90 se pesaron 5 g de muestra y se adicionaron 45 mL de agua destilada agitando por 10 minutos y pasado este tiempo se midió el pH con un equipo Thermo Orion 420 A previamente calibrado. Por cada reactor se hicieron 3 repeticiones y por cada repetición se hicieron 3 mediciones de pH.

2.1.3.2.3 Materia orgánica

La determinación de Materia orgánica se realizó con base en la Norma Mexicana, NMX-AA-021-1985 con el siguiente procedimiento:

Se pesó 0.1 g de muestra y se agregaron 10 mL de dicromato de potasio 1N y 20 ml de ácido sulfúrico concentrado en un matraz Erlenmeyer de 250 mL. La mezcla de dejó reposar 30 minutos (Figura 2.5).

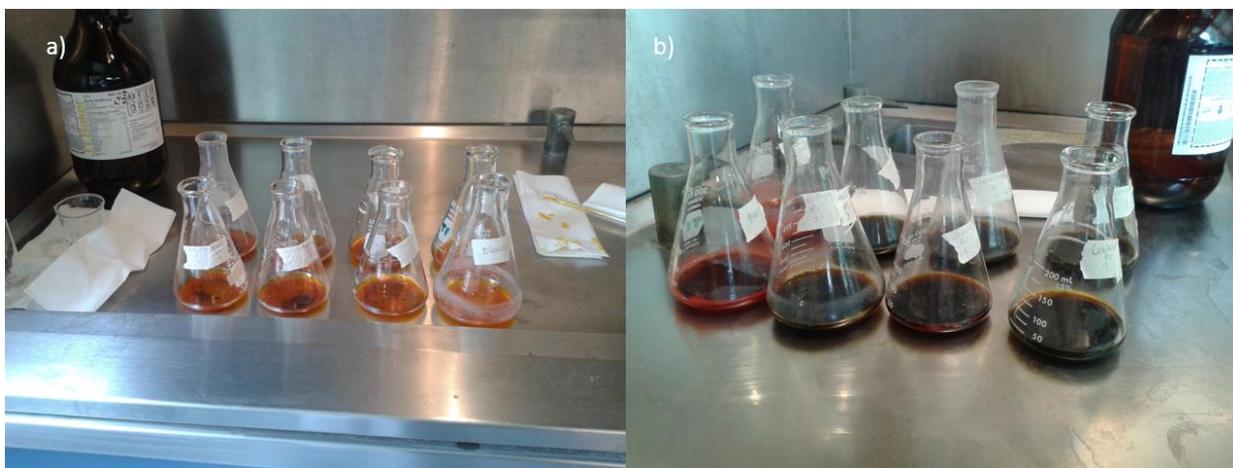


Figura 2.5. a) Adición de 10 mL de $K_2Cr_2O_7$ b) Adición de 20 mL de H_2SO_4 a la muestra.

Después de este tiempo, se agregaron 100 mL de agua, 10 mL de ácido fosfórico y se añadió 0.5 mL de indicador difenilamina.

La titulación se realizó con sulfato ferroso 0.5 N hasta el cambio de color violeta oscuro a verde.

Por cada lote de muestras se preparó un blanco para obtener un factor de corrección (Figura 2.6) y por cada muestra se hicieron 3 repeticiones.

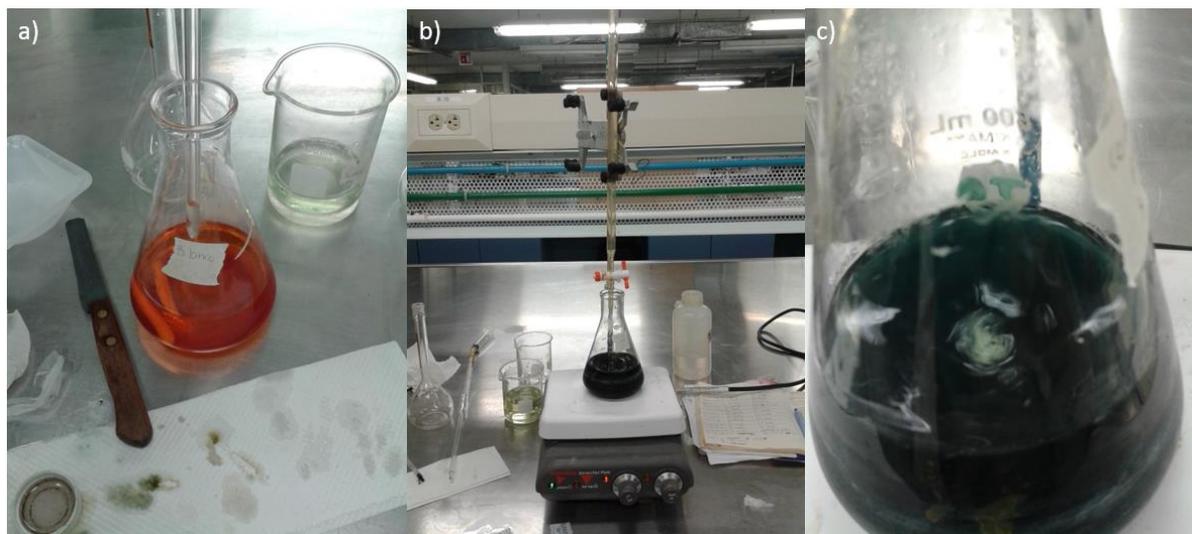


Figura 2.6. a) Adición de reactivos para la titulación. b) Titulación de la muestra con $FeSO_4$. c) Vire de color en la titulación con $FeSO_4$.

El cálculo del porcentaje de materia orgánica se realizó de acuerdo a la NMX-AA-021-1985.

$$\% \text{Materia orgánica} = \frac{(V_1 N_1 - V N F) K}{P}$$

V_1 = Volumen de solución de $K_2Cr_2O_7$ en mL

N_1 = Normalidad de solución de $K_2Cr_2O_7$

V = Volumen de solución de $FeSO_4$ en mL

N = Normalidad de solución de $FeSO_4$

P = Peso en gramos de las muestras

$K = 0.69 = 0.003 \frac{1.72}{0.74} \times 100$; en donde

0.003= Miliequivalente del carbono.

0.74= Factor de recuperación.

1.72= Factor para convertir el % de carbono en % de materia orgánica

F = Factor de corrección y se obtiene por la siguiente fórmula.

$$F = \frac{V_0 N_1}{V_B N}$$

donde:

V_0 =Volumen de solución de $K_2Cr_2O_7$ empleado en el blanco en mL

V_B = Volumen de $FeSO_4$ gastado en la titulación del blanco en mL

2.2 Pruebas de fitotoxicidad

La técnica realizada se basó en el documento “Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga *Lactuca sativa* L.” (Sobero et al, 2008) con el fin de construir una curva dosis-respuesta (usando proporciones de composta+2.9% de pLDPE-tierra negra) y posteriormente calcular la concentración inhibitoria media (CI_{50}), evaluando así la toxicidad de la composta+2.9% de pLDPE y composta sin plástico como control del compostaje controlado por 55 días en reactores aerobios.

Se construyó una curva dosis-respuesta por cada composta de los diferentes reactores, es decir, la composta+2.9% de pLDPE y control de composta sola y se evaluó el efecto tóxico en la germinación de semillas de lechuga y en la elongación de las plántulas.

En la tabla 2.2 se presenta el diseño de un solo factor para la construcción de la curva dosis-respuesta con la que se evaluó la toxicidad de la composta+2.9% de pLDPE. El diseño incluyó 4 proporciones de composta+2.9% de pLDPE-tierra negra (25-75, 50-50 75-25, 100-0%) para 9 reactores, lo cual resultó en 36 unidades experimentales, cada una con tres repeticiones indicadas como X en la tabla 2.2. Además se usó un control negativo de inhibición usando tierra negra solamente con el cuál compararon las variables de respuesta.

Tabla 2.2. Diseño de experimento para la elaboración de curva dosis-respuesta.

Tratamientos	Porcentaje de composta+2.9% de pLDPE			
	25%	50%	75%	100%
pLDPE+Co1 R1	XXX	XXX	XXX	XXX
pLDPE+Co1 R2	XXX	XXX	XXX	XXX
pLDPE+Co2 R1	XXX	XXX	XXX	XXX
pLDPE+Co2 R2	XXX	XXX	XXX	XXX
pLDPE+Mn1 R1	XXX	XXX	XXX	XXX
pLDPE+Mn1 R2	XXX	XXX	XXX	XXX
pLDPE+Mn2 R1	XXX	XXX	XXX	XXX
pLDPE+Mn2 R2	XXX	XXX	XXX	XXX
Composta	XXX	XXX	XXX	XXX

2.2.1 Homogeneización de composta+2.9% de pLDPE

La composta+2.9% de pLDPE y composta control resultante de la biodegradación acelerada se dejó secar a temperatura ambiente y se homogeneizó antes de llevar a cabo la mezcla con tierra negra.

2.2.2 Mezcla de composta+2.9% de pLDPE y tierra negra

Se pesaron las cantidades necesarias para tener las concentraciones apropiadas de composta+2.9% de pLDPE y tierra negra con sus réplicas (Tabla 2.3). Posteriormente se mezclaron en una bolsa de plástico que se agitó durante 20 segundos para homogeneizar. Finalmente en cajas Petri estériles se colocaron 10 g de cada mezcla codificadas previamente (Figura 2.7).

Tabla 2.3. Cantidades necesarias para obtener los porcentajes señalados en la tabla 2.2.

Porcentaje de composta para curva respuesta (%)	Composta+2.9% pLDPE (g)	de Tierra negra (g)
100	30	0
75	22.5	7.5
50	15	15
25	7.5	22.5
Control tierra negra	0	30

2.2.3 Siembra de semillas de lechuga

Una vez que en las cajas Petri se colocó la mezcla correspondiente, se humidificó con 10 mL de agua destilada y se sembraron cuidadosamente 20 semillas de lechuga *L. sativa* L. con ayuda de una pinza, dejando espacio suficiente para permitir la elongación de las raíces (Figura 2.7). Las semillas se obtuvieron de la

tienda comercial Wal-Mart sucursal Copilco, en sobres de 3 g de la marca “Rancho los molinos”. Se verificó la viabilidad de las semillas con pruebas preliminares concluyendo que el porcentaje de germinación era mayor al 90% por lo que eran adecuadas para realizar las pruebas.

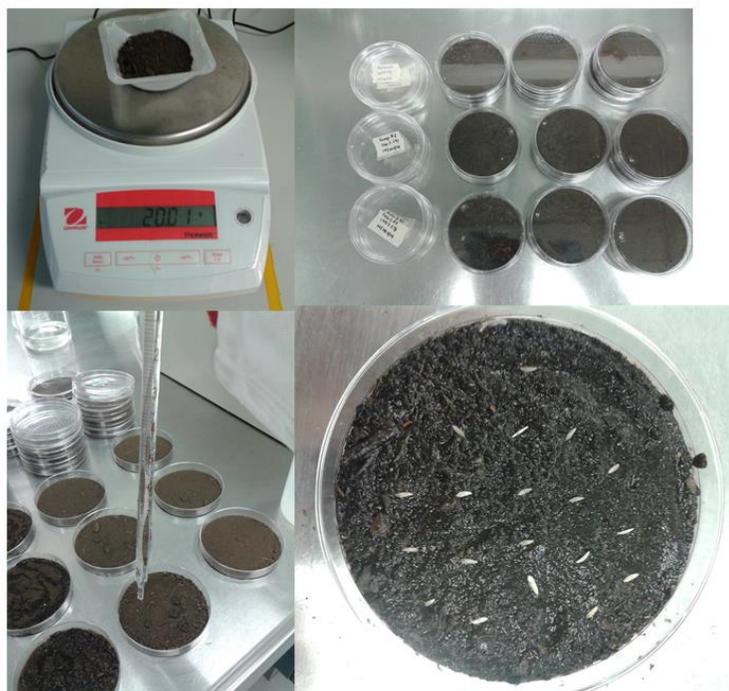


Figura 2.7. Pesado de composta+2.9% de pLDPE y tierra negra y colocación de mezcla en cajas Petri, humidificación y siembra de semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L).

2.2.4 Incubación

Ya sembradas las semillas, las cajas Petri se envolvieron en papel aluminio ya que es requisito de esta técnica conservar en oscuridad durante 120 horas (5 días). Se mantuvieron a temperatura ambiente que fue de $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y se procuró que la humedad no se perdiera (Figura 2.8).

Como variable de respuesta se contó el porcentaje de germinación de las semillas y también se midió la elongación del hipocótilo, para calcular el porcentaje de

inhibición de germinación y porcentaje de inhibición de la elongación del hipocótilo respecto a las semillas con 0% de composta.



Figura 2.8. Incubación de semillas de lechuga en cajas Petri en oscuridad.

2.2.5 Evaluación de los efectos tóxicos

2.2.5.1 Porcentaje de inhibición de la germinación

Pasado el tiempo de la prueba, se contaron las semillas que germinaron. La condición para esto fue que la radícula estuviera visible, significando que hubo desarrollo de la plántula. Se calculó el porcentaje de semillas inhibidas (que no germinaron) por cada tratamiento (Figura 2.9) y se construyó una curva dosis-respuesta para la germinación.

2.2.5.2 Porcentaje de inhibición de la elongación del hipocótilo

Una vez hecha la cuenta del porcentaje de germinación de semillas se procedió a medir el hipocótilo con una regla. Se construyó una curva dosis-respuesta para el porcentaje de inhibición de la elongación del hipocótilo (Figura 2.9).



Figura 2.9. Conteo de semillas germinadas y medición de la elongación de las raíces.

2.2.5.3 Índice de germinación

Con los datos obtenidos de las pruebas de fitotoxicidad se calculó el Índice de germinación (IG), útil para este estudio comparando con la normativa correspondiente.

El IG se determina con la relación del (PGR) y el (CRR) de la siguiente manera:

$$PGR = \frac{\text{No de semillas germinadas en la mezcla de tierra - composta}}{\text{No de semillas germinadas en el blanco}} \times 100$$

$$CRR = \frac{\text{Elongación de raíces en la mezcla de tierra - composta}}{\text{Elongación de raíces en el blanco}} \times 100$$

PGR: Porcentaje de Germinación Relativa

CRR: Crecimiento de Raíces Relativo

El índice de germinación (IG) se obtiene por la siguiente fórmula

$$IG = \frac{PGR \times CRR}{100}$$

2.2.6 Análisis estadístico

Como resultado de rechazar la hipótesis de que los porcentajes de composta+2.9% de pLDPE proporcionaron la misma concentración inhibitoria media mediante una ANOVA, se concluye que no hay igualdad entre las medias de los tratamientos, lo que permite hacer una comparación visual y estadística de las medias de germinación con el método de tuckey a un nivel de confianza del 95%, para saber cuáles tratamientos son diferentes entre sí.

Para los análisis estadísticos se usó el programa de cómputo Statgraphics Centurion XVI versión 16.2.04

CAPITULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se presentan los resultados de la investigación. En la primera parte se visualiza lo relacionado a la biodegradación acelerada de las películas plásticas, tanto la producción de CO₂ como los parámetros fisicoquímicos de la caracterización final de la composta. En la segunda parte se presenta todo lo relacionado a las pruebas de toxicidad realizadas a la composta+2.9% de pLDPE con *L. sativa* L. como organismo de prueba. Por último se muestra el uso recomendado de la composta después de la degradación de las pLDPE con aditivos pro-oxidantes estudiadas, de acuerdo a la normatividad mexicana.

3.1 Biodegradación de películas plásticas termo-degradadas en reactores aerobios

3.1.1 Producción de CO₂

En la figura 3.1 se muestra la producción acumulada de CO₂ promedio desde el día 1 hasta el día 55. La cuantificación se hizo en gramos de CO₂ (gCO₂) por kilogramo de materia seca inicial (kg MSI), es decir, la composta seca al empezar el experimento. Al inicio no parece haber diferencia de la producción entre los reactores debido a que el sistema debe estabilizarse durante un tiempo. Las diferencias aparecen alrededor del día 40.

Puede destacarse que los reactores pLDPE+Co1 y pLDPE+Co2 producen una mayor cantidad de CO₂ que pLDPE+Mn1 y pLDPE+Mn2. Dicho comportamiento puede explicarse con lo publicado en 2013 por Abrusci *et al*, quienes realizaron un estudio, reportando que el estearato de cobalto es mejor para la oxidación del polietileno aunque tiene la característica de ser más tóxico que el manganeso. Esto último se evaluará con las pruebas de toxicidad que se presentan más adelante.

Los reactores pLDPE+Co1 y pLDPE+Co2 siguieron una tendencia similar al de celulosa (control positivo de biodegradación). No se realizaron análisis estadísticos para estos datos por lo que no es posible afirmar si la degradación fue igual o diferente entre estos reactores

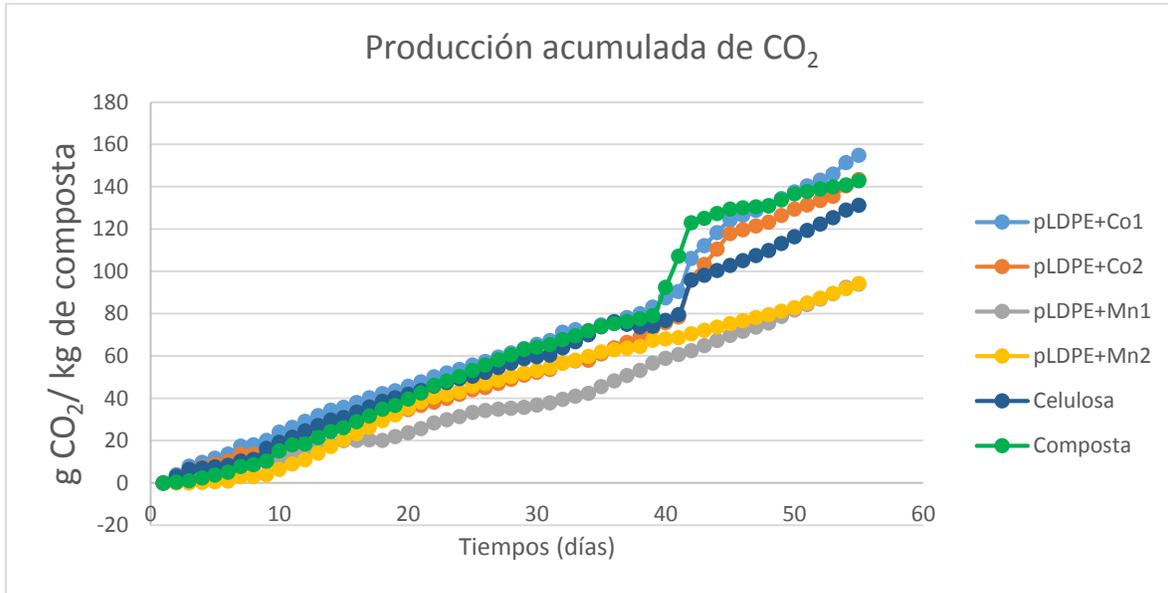


Figura 3.1. Producción acumulada de CO₂ en el proceso de compostaje durante los 55 días de estudio.

3.1.2 Caracterización final de parámetros fisicoquímicos

3.1.2.1 Porcentaje de Humedad

La humedad se mantuvo durante el experimento en 50% aproximadamente. Al terminar con el proceso de biodegradación, los reactores con composta se dejaron secar en baño de agua para poder almacenarlos y hacer las determinaciones fisicoquímicas. Los datos presentados en la tabla 3.1 son el porcentaje de humedad con el que se almacenó la composta y que se consideró en los análisis de materia orgánica. Como esta humedad no fue propia del proceso, puede ajustarse a los valores indicados en la NADF-020-AMBT-2011 y tener un uso.

Tabla 3.1. Caracterización final de la humedad de la composta+2.9% de pLDPE

Reactor	Humedad (%)
pLDPE+Co1	23.59±2.77
pLDPE+Co2	9.88±1.22
pLDPE+Mn1	24.58±2.70
pLDPE+Mn2	16.82±0.90
Composta	19.23±0.19

3.1.2.2 pH

El pH ligeramente alcalino de la composta en todos los reactores (Tabla 3.2) puede explicarse por la producción de amonio proveniente de la degradación de aminas provenientes de proteínas y bases nitrogenadas presentes en los residuos orgánicos. En 2006, Zenjari *et al* sugirieron que la estabilización del pH durante el compostaje se debe a la formación de sustancias húmicas las cuales actúan como amortiguadores de pH. Este humus se sintetiza durante la maduración de la composta y generalmente, el pH permanece estable y es óptimo entre 6 y 8.

Tabla 3.2. Caracterización final del pH de la composta+2.9% de plásticos

Reactor	pH
pLDPE+Co1	8.600±0.062
pLDPE+Co2	8.476±0.094
pLDPE+Mn1	8.554±0.052
pLDPE+Mn2	8.542±0.145
Composta	8.523±0.015

3.1.2.3 Materia orgánica

El suelo de Ciudad Universitaria de donde se obtuvo la composta para todos los reactores se considera volcánico. Después de la biodegradación, la composta+2.9% de pLDPE de todos los reactores tuvo un porcentaje mayor a 16.1% (tabla 3.3) por lo que se clasifica con contenido de materia orgánica muy alto según la NOM-021-RECNAT-2000 para este tipo de suelo (tabla 3.4).

El-Fels *et al*, mencionan que durante la fase termófila, el carbono total disminuye por la oxidación continua de compuestos orgánicos que agotan los compuestos fáciles de degradar, sin embargo en la etapa de maduración el contenido de carbono es relativamente estable por lo que las altas concentraciones de materia orgánica muestran la riqueza de la materia prima en compuestos de carbono.

Tabla 3.3. Caracterización final de la materia orgánica de la composta+2.9% de pLDPE.

Reactor	Materia orgánica (%)
pLDPE+Co1	33.865 ±1.95
pLDPE+Co2	41.641 ±2.20
pLDPE+Mn1	33.595 ±1.94
pLDPE+Mn2	34.408 ±2.03
Composta	37.052 ±1.80

También es mencionado por Vandecasteele *et al* en 2013 que el alto contenido de materia orgánica se debe a que durante el compostaje existe un pérdida de masa y agua lo que provoca una concentración de todo el material presente durante el experimento. Ya se ha mencionado que el agua añadida continuamente se evaporaba por lo que es probable que este fenómeno se haya dado.

Tabla 3.4. Interpretación de Resultados de Materia Orgánica según NOM-021-RECNAT-2000

Clase	Materia orgánica (%)	Materia orgánica (%)
	Suelos volcánicos	Suelos no volcánicos
Muy bajo	< 4.0	< 0.5
Bajo	4.1 – 6.0	0.6 – 1.5
Medio	6.1 – 10.9	1.6 – 3.5
Alto	11.0 – 16.0	3.6 – 6.0
Muy alto	> 16.1	> 6.0

Se considera que el compostaje es uno de los procesos de estabilización biológica de residuos urbanos más conocidos. En el proceso, la materia prima se transforma en material seguro y puede ser usado como fuente de nutrientes y acondicionador de suelos en aplicaciones agrícolas. **Sin embargo, en la práctica, es necesario hacer análisis toxicológicos para evaluar posibles efectos adversos que pudieran limitar el uso de las muestras de composta+2.9% de pLDPE que se usaron en este estudio.**

3.2 Pruebas de fitotoxicidad

3.2.1 Evaluación de efectos tóxicos

3.2.1.1 Porcentaje de inhibición de la germinación

A continuación se muestra la forma en que se calcularon los valores de CI_{50} de las pruebas de toxicidad de la composta+2.9% de pLDPE resultante del proceso de biodegradación. Se presenta como ejemplo la curva del control de composta sin películas plásticas, sin embargo se realizó así el cálculo para el porcentaje de inhibición de la germinación y el porcentaje de inhibición de la elongación del hipocótilo de la composta de todos los reactores.

La figura 3.2 representa la curva dosis-respuesta para el control de composta. En el eje de las ordenadas se coloca el porcentaje de inhibición de la germinación (en este caso) y en el de las abscisas las proporciones de composta+2.9% de pLDPE (25-75, 50-50 75-25, 100-0% composta+2.9 de pLDPE-tierra negra).

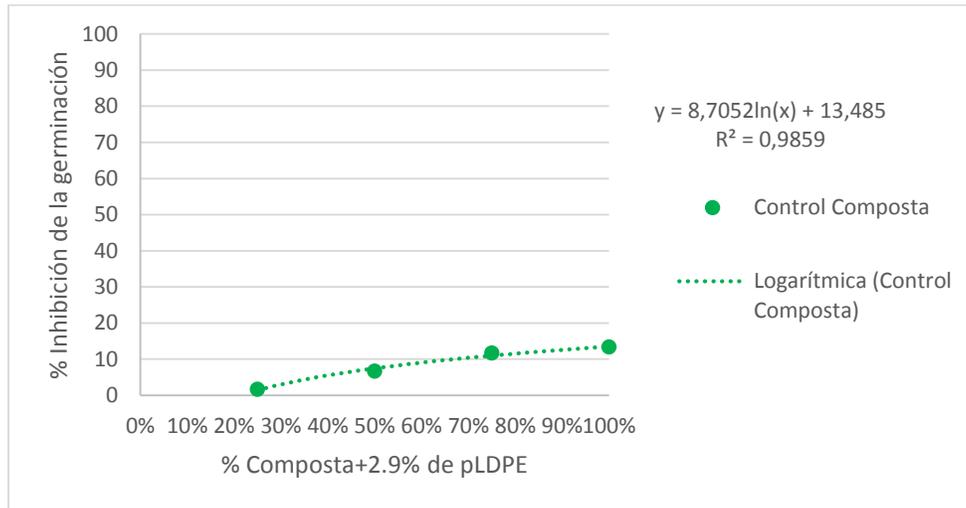


Figura 3.2 Curva dosis-respuesta de la germinación para el control de composta.

Una vez hecho esto, se obtuvo la ecuación que describe la tendencia de los datos (en escala logarítmica) y se calculó la concentración que produce el 50% de inhibición (CI_{50}) para cada composta+2.9% de pLDPE de los reactores aerobios y para el control sin LDPE. El valor de CI_{50} se calculó con la ecuación mostrada en la figura 3.2 donde se escribe en “y” el valor de 50 (media de la población), despejando

así “x” que corresponde a la concentración de composta+2.9% de pLDPE necesaria para inhibir al 50% de la población. Se construyó una curva dosis-respuesta para cada reactor de composta+2.9% de pLDPE. La tabla 3.5 muestra la ecuación de cada curva y los valores de CI₅₀ promedio de la composta de los reactores.

Tabla 3.5. Valores de CI₅₀ de la germinación

Reactor	Ecuación de la recta $y = m \ln(X)+b$	CI ₅₀ (%) germinación
pLDPE+Co1	$y = 8.15 \ln(X) + 16.905$	>100
pLDPE+Co2	$y = 19.89 \ln(X) + 32.584$	>100
pLDPE+Mn1	$y = 18.24 \ln(X) + 29.297$	>100
pLDPE+Mn2	$y = 10.39 \ln(X) + 24.898$	>100
Composta	$y = 8.71 \ln(X) + 13.485$	>100

En la tabla 3.5, se señala >100 para todas las muestras debido a que el valor calculado de CI₅₀ rebasa el 100%, es decir, sería necesario mezclar más del 100% de composta+2.9% de pLDPE para observar la inhibición del 50% de la población lo cual, físicamente no es posible. Se puede concluir que la composta después de someterse al proceso de biodegradación de pLDPE con agentes pro-oxidantes no presenta efecto tóxico en la germinación de *L. sativa L.*

3.2.1.2 Porcentaje de inhibición de la elongación del hipocótilo

Para esta variable de respuesta, la curva dosis-respuesta se construyó de la misma forma que la anterior, exceptuando que en el eje de las ordenadas, se grafica el porcentaje de inhibición en la elongación del hipocótilo. La tabla 3.6 presenta la ecuación de cada curva y los valores de CI₅₀ resultantes. Al igual que en la inhibición de la germinación, los resultados de CI₅₀ arriba de 100% no tienen significado físico y se indican como >100.

En este análisis se observa diferencia significativa entre las muestras (figura 3.3). La composta del reactor pLDPE+Co2 con película de polietileno que tuvo un pretratamiento de 21 días en termo-degradación, presentó un efecto tóxico en la

elongación de las plántulas con un CI_{50} promedio de 75.89%. Esto se debe a que posiblemente las cadenas de polietileno estuvieran más degradadas por el tiempo de pretratamiento y así, durante la biodegradación fue liberada una mayor cantidad de metal (Co) que en el caso de las películas con pretratamiento por 16 días. Recordando y complementando la información del apartado de materia orgánica, Vandecastleele, *et al* en 2013 mencionan que durante la pérdida de masa y agua durante el compostaje, se ha demostrado que las concentraciones de los metales también cambian y se concentran. Además de que en condiciones aerobias, durante el compostaje, aumenta la formación de complejos de metales pesados en los residuos orgánicos uniéndose fuertemente a la matriz y limitando su solubilidad. También se sabe (Gál *et al*, 2008) que el cobalto afecta el crecimiento y metabolismo de plantas en diferentes grados dependiendo de la concentración y estado del cobalto en suelo. Éste elemento interactúa con otros elementos para formar complejos con actividad fito- y citotóxica.

Tabla 3.6. Valores de CI_{50} de la elongación del hipocótilo

Reactor	Ecuación de la recta $y = m \ln(X)+b$	CI_{50} (%)
pLDPE+Co1	$y = 14.42 \ln(X) + 42.514$	>100
pLDPE+Co2	$y = 18.23 \ln(X) + 53.634$	75.89 ± 1.85
pLDPE+Mn1	$y = 15.50 \ln(X) + 46.449$	>100
pLDPE+Mn2	$y = 8.66 \ln(X) + 42.279$	>100
Composta	$y = 28.95 \ln(X) + 40.214$	>100

Este resultado concuerda con Abrusci *et al*, 2013 quien afirma que a pesar de que el estearato de cobalto es más efectivo en la oxidación del polietileno es potencialmente más tóxico que el de manganeso. Comparando éstos resultados con los correspondientes a la inhibición de la germinación, puede decirse que las cantidades metal liberadas durante el compostaje (Co, Mn) no fueron suficientes para inhibir la germinación (en todos los reactores), pero fueron suficientes para inhibir la elongación del hipocótilo (en pLDPE+Co2). En el caso del manganeso Chatzistathis *et al*, (2015), mencionan que a menudo la toxicidad de este elemento se manifiesta en pH ácido ($pH < 5$). En este estudio el pH fue mayor a 8 en todos los

casos por lo que la poca influencia pudo deberse a la alcalinidad de la composta, la poca solubilidad y disponibilidad del Mn, además de que las cantidades liberadas durante la termo- y biodegradación no fueran suficientes para causar un efecto tóxico.

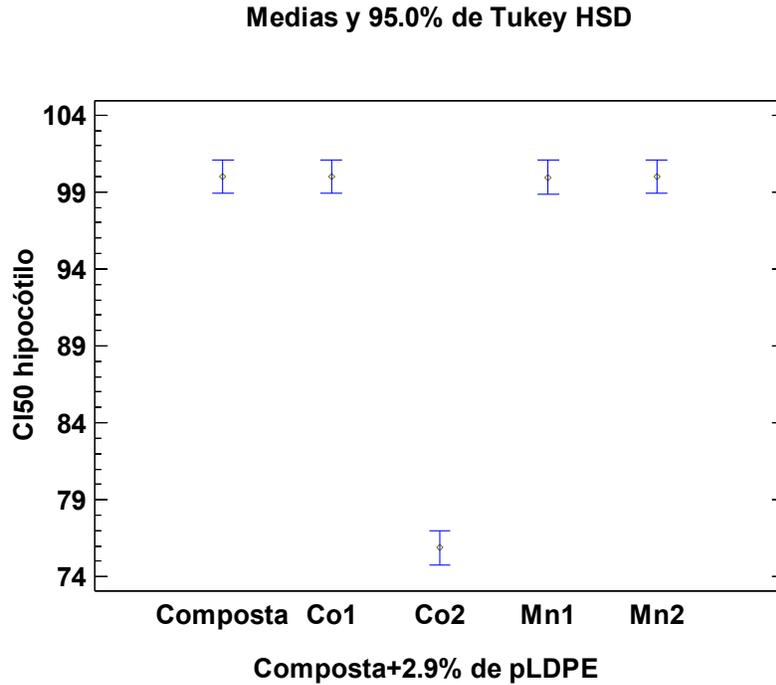


Figura 3.3 Comparación de Medias de la CI_{50} del hipocótilo vs Composta+2.9% de pLDPE.

3.2.1.3 Índice de germinación

El índice de germinación (IG) es una variable que conjunta el porcentaje relativo de germinación y porcentaje relativo de las raíces. En 2007 Varnero *et al* mencionaron que el IG es determinante para establecer niveles de fitotoxicidad y es de suma importancia cuando se incorpora la composta en pequeños contenedores (efecto maceta) ya que puede aumentar el potencial fitotóxico, también mencionan que es el indicador más completo para explicar el potencial tóxico de una sustancia. Los niveles de toxicidad se indican en la 3.7.

Tabla 3.7. Niveles de toxicidad respecto al IG

%IG	Interpretación
≥ 80	No hay sustancias tóxicas o bajas concentraciones
$50\% \leq IG \leq 80$	Presencia moderada de tóxicos
≤ 50	Fuerte presencia de sustancias tóxicas

Para esta variable en particular, el análisis estadístico se realizó con una mezcla 50-50 (composta+2.9% de pLDPE-tierra negra) debido a que, es la relación máxima usada por agricultores mexicanos. Se espera que si en esta mezcla, se cumple con la norma correspondiente, en concentraciones menores de composta suceda lo mismo y además se observe un incremento del IG. En la tabla 3.8 se muestran los resultados. Se observa que el control de composta tuvo un IG mayor que los reactores con composta+2.9% de pLDPE, este resultado era esperado.

En la figura 3.4 se observa que no hay diferencia significativa entre las muestras con Co y Mn, utilizando una proporción 50-50 (composta-tierra negra) y puede decirse que hay presencia moderada de tóxicos (dichos tóxicos se considera que son los metales pesados liberados de la biodegradación) ya que presentaron valores mayores a 50%. En el caso del control de composta no hay una presencia de dichos agentes con un IG de 85%.

Tabla 3.8. Índice de germinación de composta+2.9% de pLDPE con diferentes aditivos pro-oxidantes de la mezcla 50-50 composta+2.9% de pLDPE- tierra negra.

Reactor	IG (%)
pLDPE+Co1	60.30±3.70
pLDPE+Co2	54.66±3.89
pLDPE+Mn1	63.94± 5.92
pLDPE+Mn2	60.45 ±8.10
Composta	85.58±1.16

Podría decirse que hay una toxicidad potencial de los reactores con composta+2.9% de pLDPE.

Al respecto, cabe mencionar que la NADF-020-AMBT-2011 recomienda que con un IG mínimo de 60% la composta sea usada en áreas verdes urbanas. Se encontró que la composta del reactor pLDPE+Co2, donde la película se termo-degradó por 21 días, no cumple con dicha norma ya que se determinó un IG de 54.66±3.89%. Por otro lado, la composta de los reactores pLDPE+Co1, pLDPE+Mn1 y pLDPE+Mn2 con películas termo-degradadas por 16 días presentaron un IG de 60.30±3.70 % 63.94± 5.92 % y 60.45 ±8.10% respectivamente; lo que indica que si

cumplen con la normativa y pueden ser usadas en áreas verdes. La muestra control (composta-tierra negra 50-50) presentó un IG del 85.58 ± 1.16 (%).

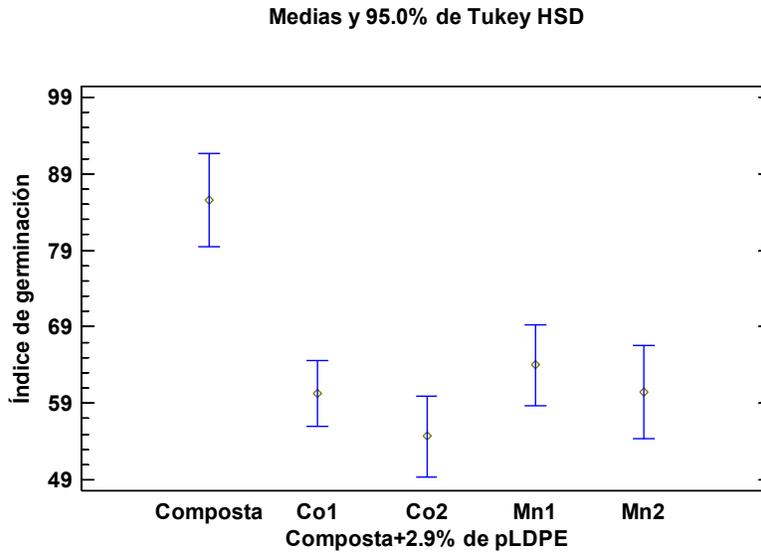


Figura 3.4 Comparación de Medias del índice de germinación vs Composta+2.9% de pLDPE.

3.3 Uso recomendado de la composta

Como punto final se presenta una tabla que compara los valores de la caracterización realizada en esta tesis con la normativa mexicana (Tabla 3.9). Las columnas en azul muestran los valores indicados en la NAD-020-AMBT-2011 que ayudan a determinar el mejor uso para la composta. En las columnas blancas se muestran los resultados de este estudio.

Como se mencionó en el apartado de resultados de humedad, es posible que aunque después del compostaje controlado la humedad resultante sea menor a la que indica la norma, se pueda ajustar para ser usada. Según el pH, la composta, bien podría ser usada para agricultura ecológica y reforestación o en paisajes, áreas verdes urbanas y reforestación, sin embargo los parámetros que definen el uso son el porcentaje de materia orgánica (que en todos los casos es mayor a 25%) y el índice de germinación (la composta del reactor pLDPE+Co2 no cumple, en los otros casos el IG está en el límite de la norma de 60%), por lo que la composta con películas de polietileno con aditivos pro-oxidantes después del proceso de

biodegradación de este experimento puede ser usada únicamente para Paisajes, áreas verdes urbanas y reforestación.

Tabla 3.9. Comparación de los parámetros estudiados en la composta y su posible uso según la NADF-020-AMBT-2011. *Indica que los valores mostrados no fueron propios del experimento por lo que se pueden ajustar para concordar con la norma.

Parámetro	NADF-020-AMBT-2011			Composta con 2.9% de pLDPE después de biodegradación			
	Tipo de composta			pLDPE+Co1	pLDPE+Co2	pLDPE+Mn1	pLDPE+Mn2
	A	B	C				
Humedad	23-35% en peso		25-45% en peso	23.59*	9.87*	24.58*	16.82*
pH	6.7-7.5	6.5-8		8.60	8.48	8.55	8.54
Materia orgánica	>20% MS		>25% MS	33.87	41.64	33.59	40.28
Fitotoxicidad (IG)	IG > 85%	IG > 75%	IG > 60%	60.30	54.66	63.94	60.45
Uso recomendado	Sustrato en viveros y sustituto de tierra para maceta	Agricultura ecológica y reforestación	Paisaje, áreas verdes urbanas y reforestación	Paisaje, áreas verdes urbanas y reforestación	No se debe utilizar	Paisaje, áreas verdes urbanas y reforestación	Paisaje, áreas verdes urbanas y reforestación

CONCLUSIONES

- Los reactores pLDPE+Co1 y pLDPE+Co2 producen mayor cantidad de CO₂ que pLDPE+Mn1 y pLDPE+Mn2. Lo que permite concluir que, la oxidación fue más agresiva en la composta que contenía películas de polietileno con estearato de cobalto.
- La composta con las películas de polietileno conteniendo aditivos pro-oxidantes estearato de manganeso y de cobalto, no inhiben la germinación de las semillas de lechuga *L. sativa* L, por lo tanto no hay efecto tóxico de los aditivos para esta variable.
- La composta que contenía pLDPE+Co2 (termo-degradada previamente por 21 días) presentó un efecto tóxico tanto para la elongación del hipocótilo con un CI₅₀ de 75.89% de composta como para el IG.
- La composta conteniendo pLDPE+Co2 no cumple con NADF-020-AMBT-2011, la cual indica que con un IG mínimo de 60% la composta puede ser usada en áreas verdes urbanas, ésta composta obtuvo un IG del 54.66±3.89 %, lo cual se traduce en que la pLDPE+Co2 aporta sustancias tóxicas, particularmente cobalto.
- La composta de poda conteniendo pLDPE+Co1 y pLDPE+Mn1 y 2 (16 días termodegradadas), sí cumplen con la normativa que establece los requerimientos (parámetros fisicoquímicos e IG) para la producción de composta a partir de la Fracción Orgánica de los Residuos sólidos Urbanos y pueden ser usadas en paisajes, áreas verdes urbanas y reforestación, ya que no se encontraron sustancias tóxicas o están presentes en muy bajas concentraciones.

PERSPECTIVAS

- Termo-degradar pLDPE con manganeso durante 21 días para evaluar el efecto tóxico de este metal después de una biodegradación.

- Sembrar las semillas de lechuga y monitorear el crecimiento hasta la madurez, realizando análisis fisicoquímicos, para saber si el efecto adverso continúa en la planta madura y si hay absorción de metales así como la cantidad de éstos en raíces y hojas.
- Evaluar la toxicidad con diferentes organismos de prueba como distintos tipos de semillas, crustáceos del género *Daphnia* o lombrices.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrusci, C., Pablos, J.L., Marín, I, Espí, E, Corrales, T, Catalina, F. (2013). Comparative effect of metal stearates as pro-oxidant additives on bacterial biodegradation of thermal- and photo-degraded low density polyethylene mulching films. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 83, 25-32.
- Achilias, D.S., Roupakias, C., Megalokonomos, P., Lappas, A.A., Antonakou, E.V. (2007). Chemical recycling of plastic wastes made from polyethylene (LDPE and HDPE) and poly propylene (PP). *Journal of Hazardous Materials*. 149, 536-542.
- Álvarez, A. 2014. *Degradación de la película de polietileno con un aditivo pro-oxidante durante el compostaje*. Tesis para obtener el título de Maestro en Ingeniería. Instituto de Ingeniería. UNAM. México, D. F.
- ASTM. (2003). Standard Test Method for Determining Aerobic Biodegradation of Plastic Materials Under Controlled Composting Conditions.
- Bowers, N., Pratt, J., Beeson, D., Lewis, M. (1997). Comparative Evaluation of Soil Toxicity using Lettuce Seeds and Soil Ciliates. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 16: 207-2013.
- Bussiere. P., Gardette. J., Therias. S. (2014). Photodegradation of celluloid used in museum artifacts. *Polymer Degradation and Stability*. 104:246-254.
- Chatzistathis, T., Alifragis, D., Papaioannou, A. (2015). The influence of liming on soil chemical properties and on the alleviation of manganese and copper toxicity in *Juglans regia*, *Robinia pseudoacacia*, *Eucalyptus sp.* and *Populus sp.* plantations. *Journal of Environmental Management*. 150: 149-156.
- Choreño-García, J. 2013. *Oxo-degradación del polietileno de uso industrial con sales pro-oxidantes*. Tesis para obtener el título de Maestro en Ciencia e Ingeniería de Materiales. Instituto de Investigaciones en Materiales. UNAM. México, D. F.

- Díaz, M., Pica, Y, Sobero, M. 2004. Aseguramiento y control de calidad de bioensayos. En: Castillo, G. ed. *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones*. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. México, D.F. 125-140
- Díaz-Labastida, A. 2007. *El reciclado del polietileno en el contexto del desarrollo sustentable*. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. UNAM. México, D. F.
- DOF. 1984. *NMX-AA-16-1984*. Protección al ambiente. Contaminación del suelo. Residuos sólidos municipales. Determinación de humedad. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas. México D.F. México: Diario Oficial de la Federación. Poder Ejecutivo Federal.
- DOF. 1984. *NMX-AA-25-1984*. Protección al ambiente-Contaminación del suelo-Residuos sólidos municipales Determinación de pH. Método Potenciométrico. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas. México D.F. México: Diario Oficial de la Federación. Poder Ejecutivo Federal.
- DOF. 1985. *NMX-AA-21-1985*. Protección al ambiente-Contaminación del suelo-Residuos sólidos municipales. Determinación de materia orgánica. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas. México D.F. México: Diario Oficial de la Federación. Poder Ejecutivo Federal.
- DOF. 2000. *NOM-021-RECNAT-2000*. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. Normas Oficiales Mexicanas. Dirección General de Normas. México D.F. México: Diario Oficial de la Federación. Poder Ejecutivo Federal.
- DOF. 2011. *NADF-020-AMBT-2011*. Que establece los requerimientos mínimos para la producción de composta a partir de la Fracción Orgánica de los Residuos sólidos Urbanos, agrícolas, pecuarios y forestales, así como las especificaciones mínimas de calidad de la composta producida y/o distribuida en el Distrito Federal. Normas Oficiales Mexicanas. Dirección General de

Normas. México D.F. México: Diario Oficial de la Federación. Poder Ejecutivo Federal.

- El-Fels, L., Zamama, M., El-Asli, A., Hafidi, M. (2014). Assessment of biotransformation of organic matter during co-composting of sewage sludge-lignocelulosic waste by chemical, FTIR analyses, and phytotoxicity test. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 87: 128-137.
- Escobar, P., Londoño, R. 2009. *Manual práctico de ensayos de toxicidad en medio acuático con organismos del género Daphnia*. Colombia, Universidad de la Salle. Programa de Ingeniería Ambiental y Sanitaria.
- FAO. 2015. FAOTERM – Organic Agriculture, [En línea]
 Disponible en:
<http://www.fao.org/faoterm/en/> [Último acceso el 27 de febrero de 2015].
- Fundamentals of Plastics. 1983 Penton Education Division. USA.
- Gál, J., Hursthouse, A., Tatner, P., Stewart, F., Welton, R. (2008). Cobalt and secondary poisoning in the terrestrial food chain: Data review and research gaps to support risk assessment. *Environment International*. 34: 821-838.
- Galicia-Martínez. 2014. *Dimensionamiento de una planta de compostaje y centro de acopio para un parque ecológico*. Tesis de licenciatura. Facultad de Ingeniería. UNAM. México, D. F.
- Gigliotti, G., Proietti, P., Said-Pullicino, D., Nasini, L., Pezzolla, D., Rosati, L., Porceddu, P. (2012). Co-composting of olive husks with high moisture contents: Organic matter dynamics and compost quality. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 67:8-14
- Herrera-López. 2001. *Producción y uso de composta de lirio acuático (Eichhornia crassipes) como sustrato en la horticultura*. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. UNAM. México, D. F.

- Herrera, J., Alizaga, R., Guevara, E., Jiménez, V. 2006. *Germinación y crecimiento de la planta. Fisiología de la producción de los cultivos tropicales*. 1ª edición. San José, Costa Rica. Universidad de Costa Rica.
- Hodgson, E. 2004. *A Textbook of Modern Toxicology*. 3rd edición. Carolina del Norte. E. E. U. U. A John Wiley & Sons. INC. Publication.
- Julca, A., Meneses, L., Blas, S., Bello, A. 2006. *La materia orgánica, importancia y experiencias de su uso en la agricultura*. IDESIA. 24: 49-61.
- Kapanen, A. 2012. *Ecotoxicity assessment of biodegradable plastics and sewage sludge in compost and in soil*. Helsinki, Finland. VTT Technical Research Centre of Finland.
- Karak, N. 2012. Biodegradable polymers. En: Karak, N. ed. *Vegetable Oil-Based Polymers. Properties, Processing and Applications*, Tezpur, India, Woodhead Publishing. 31-53.
- Klaassen, C. 2008. *Casarett and Doull's Toxicology. The Basic Science of Poisons*. 7th edición. Kansas, E. E. U. U. McGraw Hill.
- Kyrikou, I., Briassoulis, D., Hiskakis, M., Babou E. (2001). Analysis of photochemical degradation behavior of polyethylene mulching film with prooxidants. *Polymer Degradation and Stability*. 96: 2237-2252.
- Lomakin, S., Rogovina, s., Grachev, A., Prut, E., Alexanyan, Ch. (2011). Thermal degradation of biodegradable blend of polyethylene with cellulose and ethylcellulose. *Thermochimica Acta*. 521: 66-73.
- Margalef, R. 1983. *Limnología*. Omega. Barcelona. 1010.
- Moreno, M. 2003. *Toxicología ambiental. Evaluación de riesgo para la salud humana, principios de toxicología*. España. Mc Graw-Hill.
- Mumatz, T., Khan, M., Hassan, M. (2010). Study of environmental biodegradation of LDPE films in soil using optical and scanning electron microscopy. *Micron*. 41: 430-438.

- O'Neal, S., Lee, J-W., Zheng, W., Cannon, J. (2014). Subacute manganese exposure in rats is a neurochemical model of early manganese toxicity. *NeuroToxicology*. 44: 303-313.
- Olayan H.B., Hamid H.S., Owen E.D. (1996). Photochemical and Thermal Crosslinking of Polymers. *Journal of Macromolecular Science*, 36, 671-719.
- PEMEX, PETROQUÍMICA, 2015. Presente Futuro de la Industria del Plástico en México 2012. [En línea] (Actualizado en 2012).

Disponible en:

<http://www.ptq.pemex.gob.mx/productosyservicios/eventosdescargas/Documents/Foro%20PEMEX%20Petroqu%C3%ADmica/2012/03%20Mercado%20pl%C3%A1sticos%202012.pdf>. [Último acceso el 17 de marzo de 2015].

- Pérez-Aguilar, V. 2001. *Nueva tecnología en la producción del polietileno aplicado en los empaques flexibles de la industria alimenticia*. Tesis de licenciatura. Facultad de Química. UNAM. México, D. F.
- Pérez-Nava, E. 2008. *Efecto de tres empaques de polietileno en la conservación de la calidad del frijol, infestado con Zabrotes subfasciatus (BOH)*. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Izcalli. UNAM. Estado de México.
- Pink, D., Keane, E. 1993. Lettuce. *Lactuca sativa L.* En: Kalloo, G. ed. *Genetic improvement of vegetable crops*. New York Pergamon Press. 543-571.
- Pinto, E., Almeida, A., Aguiar A., Ferreira, I. (2014). Changes in macrominerals, trace elements and pigments content during lettuce (*Lactuca sativa L.*) growth: Influence of soil composition. *Food Chemistry*. 152: 603-611.
- Porta, J., López, M., Poch, R. 2008. *Introducción a la edafología, uso y protección del suelo*. Cataluña. España. Mundi-Prensa.

- Rios, L., Moore, C., Jones, P. (2007). Persistent organic pollutants carried by synthetic polymers in the ocean environment. *Marine Pollution Bulletin*. 54: 1230-1237.
- Román. P., Martínez. M., Pantoja. A. 2013. *Manual de Compostaje del Agricultor. Experiencias en América Latina*. Santiago, Chile. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
- Romeela. M., Nuhaa S. (2014). Comparison of heavy metals content in compost against vermicopost of organic solid waste: Past and present. *Resources, Conservation and Recycling*. 92:206-213.
- Ronco, A., Díaz, M., Pica, Y. 2004. Conceptos generales. En: Castillo, G. ed. *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones*. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. México, D.F. 17-22.
- Roy, P., Surekha, P., Rajagopal, C., Chatterjee, S., Choudhary, V. (2006). Accelerated aging of LDPE films containing cobalt complexes as prooxidants. *Polymer Degradation and Stability*. 91: 1791-1799.
- Sánchez-Ortiz, K., Sánchez-Melo, L. 2009. *Determinación de la concentración de inhibición media (CE50-120) del bario, hierro y manganeso mediante bioensayos de toxicidad acuática sobre semillas de lechuga (Lactuca sativa L.)*. Tesis para obtener el título de Ingeniero Ambiental y Sanitario. Facultad de Ingeniería. Universidad de La Salle, Bogotá, Colombia.
- Shibamoto, T., Bjeldanes, L. 2009. *Introduction to Food Toxicology*. 2nd edition. E. E. U. U. Food Science and Technology International Series.
- Sobrero, M., Ronco, A. 2008. Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga *Lactuca sativa* L. En: Ramírez, P., Mendoza, A. eds. *Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo. La experiencia en México*. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Instituto Nacional de Ecología. México, D. F. 55-68.

- Teuten, E., Saquing, J., Knappe, D., Barlaz, M., Jonsson, S., Björn, A., Rowland, S., Thompson, R., Galloway, T., Yamashita, R., Ochi, D., Watanuki, Y., Moore, C., Viet, P., Tana, T., Prudente, M., Boonyatumanond, R., Zakaria, M., Akkhang, K., Ogata, Y., Hirai, H., Iwasa, S., Mizukawa, K., Hagino, Y., Imamura, A., Saha, M., Takada, H. (2009). Transport and release of chemicals from plastics to the environment and to wildlife. *Philosophical Transactions of the Royal Society Biological Sciences*. 364:2027-2045
- The University of Southern Mississippi. Polymer science learning center, 2015, Putting them together [En línea] (Actualizado en 2012).
Disponibile en: <http://www.pslc.ws/spanish/synth.htm>. [Último acceso el 17 de marzo de 2015].
- Vandecasteele, B., Willkwins, K., Zwervaegher, A., Degrande, L., Tack, F.M.G., Du Laing, G. (2013). Effect of composting on the Cd, Zn and Mn content and fractionation in feedstock mixtures with wood chips from a short-rotation coppice and bark. *Waste Management*. 33, 2195-2203.
- Varnero, M., Rojas A., Orellana, R. (2007). Índices de fitotoxicidad en residuos orgánicos durante el compostaje. *Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal*. 7: 28-37
- Zeng-Yei. H. (2004). Evaluating heavy metal contents in nine composts using four digestion methods. *Bioresource Technology*. 95:53-59.
- Zenjari, B., El-Hajjouji, H., Baddi, G., Bailly, J.-R., Revel, J.-C., Nejmeddine, A., Hafidi, M. (2006). Eliminating toxic compounds by composting olive mill wastewater-straw mixtures. *Journal of Hazardous Materials*. A138: 433-437.

APÉNDICE A ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1.1. Producción mundial de plásticos por país y región en 2011.	2
Figura 1.2. Conversión de la molécula de etileno al polímero de polietileno.	2
Figura 1.3. Estructura de un Polietileno de alta densidad.	3
Figura 1.4. Estructura de un Polietileno de baja densidad.	3
Figura 1.5. Estructura de un Polietileno de baja densidad lineal.	4
Figura 1.6. Segmentación de la producción en México por tipo de plástico en 2011.	4
Figura 1.7. Producción de envases por tipo de producto en 2011.	5
Figura 1.8. Reacción de oxidación de polímeros oxo-degradables y subproductos formados.	8
Figura 1.9. Etapas de la germinación que conducen a la emergencia de la radícula. Se inicia con la absorción de agua y la activación metabólica del embrión.	23
Figura 1.10. a) Morfología de semilla y plántula de lechuga. b) Etapas por las que atraviesa la semilla <i>L. sativa</i> durante el ensayo de germinación y elongación.	24
Figura 2.1. Diagrama de flujo de la investigación.	27
Figura 2.2. Esquema del montaje de reactores aerobio y sistema de burbujeo de CO ₂ . Los números de los reactores corresponden a la nomenclatura de la tabla 3.1.	31
Figura 2.3. Reacción dentro de los frascos con NaOH donde se burbujeó el CO ₂ producido en la biodegradación.	31
Figura 2.4. Charolas en estufa de convección para determinación de humedad.	33
Figura 2.5. a) Adición de 10mL de K ₂ Cr ₂ O ₇ b) Adición de 20 mL de H ₂ SO ₄ a la muestra.	34
Figura 2.6. a) Adición de reactivos para la titulación. b) Titulación de la muestra con FeSO ₄ . c) Vire de color en la titulación con FeSO ₄ .	34
Figura 2.7. Pesado de composta+2.9% de pLDPE y tierra negra y colocación de mezcla en cajas Petri, humidificación y siembra de semillas de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L).	38
Figura 2.8. Incubación de semillas de lechuga en cajas Petri en oscuridad.	39
Figura 2.9. Conteo de semillas germinadas y medición de la elongación de las raíces	40
Figura 3.1. Producción acumulada de CO ₂ en el proceso de compostaje durante los 55 días de estudio.	43
Figura 3.2. Curva dosis-respuesta de la germinación para el control de composta.	46
Figura 3.3. Comparación de Medias de la CI ₅₀ del hipocótilo vs Composta+2.9% de pLDPE.	49
Figura 3.4. Comparación de Medias del índice de germinación vs Composta+2.9% de pLDPE.	51

APÉNDICE B ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1.1. Técnicas aceptadas internacionalmente para la medición de la biodegradabilidad de un material.	10
Tabla 1.2. Características generales que deben de cumplir los tipos de composta según la NADF-020-AMBT-2011	15
Tabla 2.1. Reactores aerobios con películas de polietileno con agentes pro-oxidantes.	29
Tabla 2.2. Diseño de experimento para la elaboración de curva dosis-respuesta.	36
Tabla 2.3. Cantidades necesarias para obtener los porcentajes señalados en la tabla 2.2.	37
Tabla 3.1. Caracterización final de la humedad de la composta+2.9% de pLDPE.	43
Tabla 3.2. Caracterización final del pH de la composta+2.9% de pLDPE.	44
Tabla 3.3. Caracterización final de la materia orgánica de la composta+2.9% de pLDPE.	45
Tabla 3.4. Interpretación de Resultados de Materia Orgánica según NOM-021-RECNAT-2000.	45
Tabla 3.5. Valores de CI_{50} de la germinación.	47
Tabla 3.6. Valores de CI_{50} de la elongación del hipocótilo.	48
Tabla 3.7. Niveles de toxicidad respecto al IG.	49
Tabla 3.8. Índice de germinación de composta+2.9% de pLDPE con diferentes aditivos pro-oxidantes de la mezcla 50-50 composta+2.9% de pLDPE-tierra negra.	50
Tabla 3.9. Comparación de los parámetros estudiados en la composta y su posible uso según la NADF-020-AMBT-2011. *Indica que los valores mostrados no fueron propios del experimento por lo que se pueden ajustar para concordar con la norma.	52