

UNIVERSIDAD PRIVADA DE TACNA

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AMBIENTAL



TESIS

"EVALUACIÓN DEL POLIETILENO COMO ALIMENTO DE LA *GALLERIA MELLONELLA* COMO ALTERNATIVA EN LA BIODEGRADACIÓN"

PARA OPTAR:

TITULO PROFESIONAL DE INGENIERO AMBIENTAL

PRESENTADO POR:

Bach. CLAUDIA ANDREA MILAGROS CALIZAYA SILVA

TACNA – PERÚ

2019

Página de jurados

UNIVERSIDAD PRIVADA DE TACNA
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AMBIENTAL
TESIS

**'EVALUACIÓN DEL POLIETILENO COMO ALIMENTO DE LA GALLERIA
MELLONELLA COMO ALTERNATIVA EN LA BIODEGRADACIÓN'**

Tesis sustentada y aprobada el 07 de diciembre de 2019; estando el jurado calificador integrado por:

PRESIDENTE:



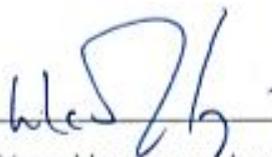
Dr. Richard Sabino Lazo Ramos

SECRETARIO:



Mtra. Milagros Herrera Rejas

VOCAL:



Mtro. César Huanacuni Lupaca

ASESOR:



Biol. Claudia Vanessa Clavijo Koc

DECLARACIÓN JURADA DE ORIGINALIDAD

Yo Claudia Andrea Milagros Calizaya Silva en calidad de bachiller de la Escuela de Ingeniería Ambiental de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Privada de Tacna, identificado(a) con DNI 70477042

Declaro bajo juramento que:

1. Soy autor (a) de la tesis titulada:

“EVALUACIÓN DEL POLIETILENO COMO ALIMENTO DE LA GALLERIA MELLONELLA COMO ALTERNATIVA EN LA BIODEGRADACIÓN”

La misma que presento para optar el:

Título Profesional de Ingeniero Ambiental

2. La tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente, para la cual se han respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas.

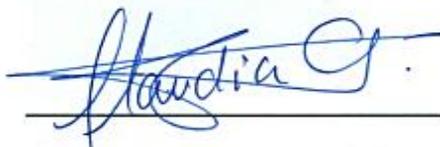
3. La tesis presentada no atenta contra derechos de terceros.

4. La tesis no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.

5. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falsificados, ni duplicados, ni copiados.

Por lo expuesto, mediante la presente asumo frente a LA UNIVERSIDAD cualquier responsabilidad que pudiera derivarse por la autoría, originalidad y veracidad del contenido de la tesis, así como por los derechos sobre la obra y/o invención presentada. En consecuencia, me hago responsable frente a LA UNIVERSIDAD y a terceros, de cualquier daño que pudiera ocasionar, por el incumplimiento de lo declarado o que pudiera encontrar como causa del trabajo presentado, asumiendo todas las cargas pecuniarias que pudieran derivarse de ello en favor de terceros con motivo de acciones, reclamaciones o conflictos derivados del incumplimiento de lo declarado o las que encontrasen causa en el contenido de la tesis, libro y/o invento. De identificarse fraude, piratería, plagio, falsificación o que el trabajo de investigación haya sido publicado anteriormente; asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven, sometiéndome a la normatividad vigente de la Universidad Privada de Tacna.

Tacna, 07 de diciembre del 2019



Bach. Claudia Andrea Milagros Calizaya Silva

DNI 70477042

DEDICATORIA

Al Señor creador de todo, el que me ha dado la fuerza para continuar cuando estuve a punto de rendirme; por eso con toda la humildad que pueda existir en mí, dedico primeramente mi trabajo a Dios.

Así también, dedico esta tesis a mi madre, que siempre ha estado conmigo en el momento indicado para extenderme su mano, por escucharme y siempre tener algo que decirme, por prestarme tus brazos para desahogarme en llanto, por ser mi cómplice en todo, por formarme junto a mi padre con buenos sentimientos, hábitos y valores, lo cual me ha ayudado a salir adelante en momentos bastante difíciles.

A mi padre que a pesar de la distancia siempre me apoyó y ayudó con todo lo que yo necesitara, sé que esto es tan especial para ti como lo es para mí, gracias por creer en mí y brindarme todo tu amor, por hacer todo lo que está a tu alcance para verme feliz.

A mi Pacho que me cuida desde el cielo, siento que estás conmigo siempre, y aunque nos faltaron muchas cosas por vivir juntos sé que este hubiera sido el mayor orgullo para ti, siempre quisiste verme ya toda una profesional y mira... ¡Lo logré!

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por protegerme durante todo mi camino y darme fuerza siempre para superar cualquier obstáculo.

Agradezco también la confianza y el apoyo brindado por mi madre y mi padre que sin duda alguna en el transcurso de mi vida me han demostrado su amor incondicional, corrigiendo mis faltas y celebrando mis triunfos.

El presente trabajo debe mucho a la colaboración y apoyo de la Blga. Claudia Clavijo Koc quien con su paciencia, experiencia y conocimiento logró en mi a que pueda terminar esta etapa tan importante en mi vida, gracias por ser parte de este gran logro.

A mis docentes por toda la información brindada a lo largo de la carrera.

Y por último a la Universidad Privada de Tacna por darme la oportunidad de estudiar y ser una profesional.

CONTENIDO

DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO	vi
CONTENIDO	vii
ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT	xiv
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
1.1 Descripción del problema	2
1.2 Formulación del problema	3
1.2.1 Formulación del problema general	3
1.2.2 Formulación del problema específicos	3
1.3 Justificación e importancia de la Investigación.....	3
1.4 Objetivos	5
1.4.1 Objetivo general	5
1.4.2 Objetivos específicos	5
1.5 Hipótesis.....	5
1.5.1 Hipótesis general.....	5
1.5.2 Hipótesis específica	5
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	7
2.1 Antecedentes.....	7

2.1.1	Antecedentes internacionales.....	7
2.1.2	Antecedentes Nacionales.....	8
2.2	Bases teóricas.....	10
2.2.1	Galleria mellonella.....	10
2.2.2	Polietileno.....	11
2.3	Definición de términos.....	12
CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO.....		14
3.1	Tipo y diseño de la investigación.....	14
3.2	Población y/o muestra de estudio.....	14
3.3	Operacionalización de variables.....	14
3.3.1	Variable independiente:.....	14
3.3.2	Variables dependientes:.....	14
3.4	Técnicas e instrumentos para la recolección de datos.....	14
3.5	Procesamiento y análisis de datos.....	21
CAPÍTULO IV: RESULTADOS.....		22
4.1	Prueba de Hipótesis.....	22
4.2	Datos de la larva Galleria mellonella:.....	28
4.3	Datos del polietileno.....	33
4.4	Observación de la degradación del polietileno mediante microscopía óptica por efecto a la exposición de un homogenizado de cabezas de Galleria mellonella.	37
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN.....		38
CONCLUSIONES.....		42
RECOMENDACIONES.....		43

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44
ANEXOS.....	47

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Prueba de Normalidad Shapiro-Wilk	22
Tabla 2. Prueba de Homogeneidad de la varianza según Levene	22
Tabla 3. Contrastación de la Hipótesis.....	23
Tabla 4. Grupos Homogéneos de las medias	23
Tabla 5. Pruebas de normalidad	24
Tabla 6. Prueba de homogeneidad de varianza	24
Tabla 7. Análisis de varianza de la diferencia de pesos de <i>Galleria mellonella</i>	25
Tabla 8. Porcentaje de pérdida de peso de <i>Galleria mellonella</i> en los tratamientos	26
Tabla 9. Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk.....	26
Tabla 10. Prueba de homogeneidad de varianzas	27
Tabla 11. Análisis de varianza de la pérdida de peso del polietileno	27
Tabla 12. Peso inicial de las larvas <i>Galleria mellonella</i>	28
Tabla 13. Peso final de las larvas <i>Galleria mellonella</i>	29
Tabla 14. Diferencia de peso final e inicial de las larvas	30
Tabla 15. Porcentaje de promedio de pérdida de peso en gramos de <i>Galleria mellonella</i>	31
Tabla 16. Supervivencia de larvas	32
Tabla 17. Prueba de múltiples rangos.....	33
Tabla 18. Contraste	33
Tabla 19. Peso inicial de las bolsas de polietileno del tratamiento 1 y tratamiento 2	33
Tabla 20. Peso final de las bolsas de polietileno del tratamiento 1 y tratamiento 2	34
Tabla 21. Diferencial del peso de la bolsa de polietileno del tratamiento 1 y tratamiento 2 por efecto de la larva <i>Galleria mellonella</i>	35
Tabla 22. Porcentaje de degradación por efecto de la larva <i>Galleria mellonella</i>	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Visita a las chacras	16
Figura 2. Parte de la colmena	16
Figura 3. Galleria Mellonella.....	16
Figura 4. Línea de tiempo de las pruebas realizadas.....	17
Figura 5. Primer Tratamiento	18
Figura 6. Segundo Tratamiento	18
Figura 7. Tercer tratamiento.....	18
Figura 8. (tratamiento 1)	19
Figura 9. (Tratamiento 2)	19
Figura 10. Bolsa degradada	19
Figura 11. <i>Galleria mellonella</i>	19
Figura 12. Proceso de las pruebas	20
Figura 13. Peso en gramos de las larvas <i>Galleria mellonella</i>	29
Figura 14. Peso final en gramos de las larvas <i>Galleria mellonella</i>	30
Figura 15. Promedio de la pérdida de peso de las larvas de <i>Galleria mellonella</i>	31
Figura 16. Porcentaje de promedio de pérdida de peso en gramos de Galleria Mellonella	31
Figura 17. Tasa de sobrevivencia de las larvas <i>Galleria mellonella</i> en los 3 tratamientos.....	32
Figura 18. Peso inicial en gramos del polietileno del tratamiento 1 y tratamiento 2	34
Figura 19. Peso final en gramos del polietileno del tratamiento 1 y tratamiento 2 ..	35
Figura 20. Diferencial de peso en gramos del polietileno del tratamiento 1 y tratamiento 2.....	36
Figura 21. Promedio del porcentaje de pérdida de peso de las bolsas de polietileno	37

Figura 22. Polietileno expuesto a homogenizado de cabeza de *Galleria mellonella*
..... 37

Figura 23. Control negativo, polietileno expuesto a bacterias de Leche..... 37

RESUMEN

Este trabajo de tesis se realizó para evaluar al polietileno como alimento de la larva *Galleria mellonella* como alternativa en la biodegradación, la investigación constó de tres (03) tratamientos y 6 repeticiones, y un tratamiento para determinar la posible función de las cabezas de la *Galleria mellonella* como biodegradantes del plástico, el tratamiento 1 constó de bolsas de polietileno y larvas, el tratamiento 2 fue de bolsas de polietileno más sustrato y larvas, el tratamiento 3 de larvas y bolsas de polietileno; en donde se obtuvo que el porcentaje de sobrevivencia de *Galleria mellonella* utilizando como único sustrato el polietileno es del 56% comparado con el segundo y tercer tratamiento que fue del 100%, la pérdida de peso del polietileno no tuvo diferencia significativa en los 2 tratamientos, que fue de 7,71 % y 5,11 respectivamente, lo cual evidencia la necesidad de *Galleria mellonella* de romper la bolsa de polietileno como mecanismo de huida mas no de alimento, se observó también un daño en el polietileno producto del homogenizado de cabezas de *Galleria mellonella* utilizando un microscopio óptico a 100 aumentos y se evidenció un daño en el polietileno comparado con otra fuente proteica (leche evaporada), esto podría indicar que existen sustancias que afectan la estructura del polietileno en la mandíbula de la larva de *Galleria mellonella*. El estudio concluye que la larva de *Galleria mellonella*, no es capaz de utilizar el polietileno como alimento, esto limitaría su uso inmediato como un agente biodegradador de polietileno

Palabras clave: Biodegradación, bolsa plástica, *Galleria mellonella*, larvas, polietileno de baja densidad,

ABSTRACT

This thesis work was done to evaluate polyethylene as a food of the larva *Galleria mellonella* as an alternative in biodegradation, the research consisted of three (03) treatments and 6 repetitions, and a treatment to determine the possible function of the heads of the *Galleria mellonella* as biodegradants of plastic, treatment 1 consisted of polyethylene bags and larvae, treatment 2 was of polyethylene bags plus substrate and larvae, the treatment 3 of larvae and polyethylene bags; where it was obtained that the survival percentage of *Galleria mellonella* using as the only substrate polyethylene is 56% compared to the second and third treatment which was 100%, the weight loss of polyethylene did not have a significant difference in the 2 treatments, which was 7.71% and 5.11 respectively, which shows *Galleria mellonella*'s need to break the polyethylene bag as an escape mechanism but not food, also observed a damage to the polyethylene resulting from the homogenization of heads of *Galleria mellonella* using an optical microscope at 100magnifications and a damage to polyethylene was shown compared to another protein source (evaporated milk), this could indicate that there are substances that affect the structure of polyethylene in the jaw of the galleria's larva mellonella. The study concludes that the larva of *Galleria mellonella*, is not able to use polyethylene as food, this would limit its immediate use as a biodegrading agent of polyethylene.

Key Words: Biodegradation, *Galleria mellonella*, larvae, low density polyethylene, plastic bag,

INTRODUCCIÓN

El plástico es un polímero sintético que se deriva del petróleo fósil. Es resistente a la biodegradación. Cerca del noventa y dos por ciento del plástico pertenecen a polietileno (PE) y polipropileno (PP). Ambos se utilizan en gran medida en envases. La producción de plástico ha aumentado exponencialmente en los últimos años. Se requieren urgentemente soluciones innovadoras y respetuosas con el ambiente para la degradación del plástico. La creciente contaminación del agua y la contaminación del suelo han llevado a la preocupación por los plásticos. Con el uso excesivo de plásticos y la creciente presión sobre las capacidades disponibles para la eliminación de residuos plásticos, la necesidad de plásticos biodegradables y biodegradación de los desechos plásticos ha adquirido una gran importancia en los últimos años. La concienciación sobre el problema de los residuos y su impacto en el medio ambiente ha despertado un nuevo interés en el área de los polímeros degradables. El interés por las cuestiones ambientales está creciendo y hay crecientes demandas para desarrollar material que no agote significativamente al medio ambiente. Según la investigación de (Bombelli, Howe, & Bertocchini, 2017) los gusanos de cera metabolizan las películas de plástico de polietileno en etilenglicol, un compuesto que se biodegrada rápidamente. Esta inusual capacidad de digerir la materia clásicamente considerada como no comestible puede originarse con la capacidad del gusano de cera para digerir la cera, es por eso que se realiza la presente investigación para determinar si el polietileno puede ser considerado como alimento de la *Galleria mellonella* como alternativa en la biodegradación.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción del problema

Como sabemos los residuos plásticos son un gran problema actualmente ya que vivimos en un planeta donde las personas tienen poco o nada de conciencia e interés ambiental, lo que ocasiona un impacto negativo al ambiente.

El polietileno (PE), el plástico a base de petróleo más común, es ampliamente utilizado en la vida cotidiana, con una producción mundial anual de aproximadamente 140 millones de toneladas. Sin embargo, el evidente contraste entre la notable durabilidad y el corto tiempo de servicio de los productos de PE conduce a la acumulación de residuos de PE en el medio ambiente, lo que ha generado preocupación internacional. Yang, Yang, Wu, Zhao, y Jiang (2014).

Los desechos plásticos son un problema global, ya que es un producto fácil y económico para su fabricación y dura demasiado. Es por eso que las personas solo lo usan una vez, lo tiran y compran otro sin darse cuenta de que así es como comienza la contaminación, debido al largo período que lleva degradarse, causando daños incluso a la fauna y las aves marinas, porque los animales lo confunden con comida diaria.

Los desechos plásticos causan problemas estéticos y también presentan un peligro para las actividades marítimas, incluidas la pesca. Los desechos plásticos flotantes pueden ser rápidamente colonizados por organismos marinos y dado que pueden persistir en la superficie del mar durante períodos sustanciales, posteriormente pueden facilitar el transporte de especies no nativas o 'extrañas'. Sin embargo, los problemas que atraen la mayoría de la atención pública y de los medios son los que resultan en la ingestión y el enredo de la vida silvestre. Se ha informado

que más de 260 especies, incluidos invertebrados, tortugas, peces, aves marinas y mamíferos, ingieren o se enredan en desechos plásticos, lo que da como resultado un movimiento y alimentación deteriorados, una producción reproductiva reducida, laceraciones, úlceras y muerte. Los datos de monitoreo limitados que tenemos sugieren que las tasas de enredos han aumentado con el tiempo. Thompson, Moore, Vom Saal y Swan (2009).

1.2 Formulación del problema

1.2.1 Formulación del problema general

¿Cuál es la capacidad de *Galleria mellonella* para utilizar como alimento el polietileno?

1.2.2 Formulación del problema específicos

¿Cuál es el porcentaje de sobrevivencia de *Galleria mellonella* utilizando como único sustrato el polietileno comparado con un sustrato orgánico?

¿*Galleria mellonella* aumenta o disminuye de peso utilizando como único sustrato el polietileno comparado con un sustrato orgánico?

¿Cuál es el porcentaje de pérdida de peso del polietileno en los diferentes tratamientos?

¿Existe evidencia de degradación utilizando solo las cabezas de las larvas *Galleria mellonella*?

1.3 Justificación e importancia de la Investigación

El plástico ha facilitado la vida desde que se introdujo por primera vez a nuestro medio, desde envases de alimentos y bebidas hasta envases de productos, juguetes y productos electrónicos, el plástico parece estar siempre presente en

nuestra vida cotidiana, el mayor inconveniente es el impacto que el plástico tiene en el medio ambiente una vez que hemos terminado con él. La mayoría de los proveedores de basura no tienen la capacidad de reciclar plástico o al menos en nuestra ciudad no, lo que significa que gran parte termina en el botadero o, lo que es peor, contamina los océanos y las costas del mundo.

Para 2050, se estima que habrá más plástico que pescado continúa de la misma manera en que se desechan y hacen las cosas hoy en día. Los efectos perjudiciales del plástico se evidencian por su papel en la asfixia de la fauna marina, así como en la liberación de sustancias químicas tóxicas en el agua. La contaminación marina también está teniendo un efecto cada vez más dañino en los humanos a medida que los desechos no utilizados se abren paso a través de los ecosistemas marinos y, finalmente, en nuestros alimentos.

Se usó a la *Galleria mellonella* para poder biodegradar el polietileno de baja densidad (bolsas plásticas). Para así lograr reducir los residuos plásticos y que éstos no sigan contaminando al ambiente, ya que las bolsas plásticas junto al resto de residuos son llevadas al botadero, generando daños en la población como también al ambiente.

El conocer los porcentajes de eficiencia de la *Galleria mellonella* va a permitir que se logren nuevas investigaciones con el fin de mejorar el proceso o técnica aplicada, y así poder tener los medios más favorables para los tratamientos y elemento a tratar. Con la finalidad de manifestar que podemos agilizar la degradación del polietileno de baja densidad que se halla en el ambiente, se espera calcular la eficacia a fin de hacer investigación en base a problemas ambientales reales, ya sea en cuerpos de agua contaminados o en botaderos informales; para así comparar otros trabajos referidos a la biodegradación del plástico como estudios anteriores hechos para biodegradar el plástico con microorganismos u hongos y la *Galleria*

mellonella o el gusano de cera ya que se dice posee mayor eficiencia por el tamaño que ésta posee.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo general

Evaluar la capacidad de *Galleria mellonella* para utilizar el polietileno como fuente de alimento como alternativa en la biodegradación.

1.4.2 Objetivos específicos

- Comparar la tasa de sobrevivencia de *Galleria mellonella* en sustratos orgánicos y de polietileno.
- Comparar el peso de *Galleria mellonella* en sustratos orgánicos y de polietileno.
- Determinar la pérdida de peso del polietileno en los distintos tratamientos.
- Determinar la capacidad de degradación de las cabezas de *Galleria mellonella* en el polietileno.

1.5 Hipótesis

1.5.1 Hipótesis general

H: *Galleria mellonella* no tiene la capacidad de utilizar el polietileno como alimento.

1.5.2 Hipótesis específica

H: El porcentaje de sobrevivencia de *Galleria mellonella* utilizando como único sustrato el polietileno es menor comparado con un sustrato orgánico.

H: El descenso de peso de *Galleria mellonella* utilizando como único sustrato el polietileno es mayor en un 2% comparado con un sustrato orgánico.

H: La tasa de pérdida de peso del polietileno en los diferentes tratamientos es menor de 10%

H: La degradación del polietileno por acción de las cabezas de la *Galleria mellonella* es visible mediante microscopía óptica.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

2.1.1 Antecedentes internacionales

En el estudio realizado por Jun Yang et al. (2014) encontraron que los gusanos de cera, o los balos de harina indios (las larvas de *Plodia interpunctella*), eran capaces de masticar y comer películas de PE. Dos cepas bacterianas capaces de degradar la PE fueron aisladas del intestino de este gusano, *Enterobacter asburiae* y *Bacillus sp.* Durante un período de incubación de 28 días de las dos cepas en películas de PE, se formaron biopelículas viables y la hidrofobicidad de las películas de PE disminuyó. Se observaron daños evidentes, incluyendo fosas y cavidades (0,3 x 0,4 m de profundidad), en las superficies de las películas de PE. Los cultivos de suspensión fueron capaces de degradar seis aproximadamente 6,1 a 0,3% y 10,7 a 0,2% de las películas de PE (100 mg), respectivamente, durante un período de incubación de 60 días.

Según Deras (2018) el polietileno de baja densidad en la dieta con 10% dieta artificial y 90% polietileno de baja densidad disminuye la ganancia de peso de las larvas de *G. mellonella* criadas en condiciones laboratorio. El exponer a las larvas de *G. mellonella* a una sustitución mayor al 70% de residuos de polietileno de baja densidad como única fuente de alimento, afecta negativamente el crecimiento y supervivencia, por lo cual no es posible considerar las larvas utilizadas en el experimento como una alternativa para la gestión de residuos plásticos.

En el artículo presentado por Bombelli, Howe y Bertochinni(2017), alrededor de 100 gusanos de cera habían masticado su camino para salir de una bolsa de polietileno en unos 40 minutos. La bolsa fue significativamente destrozada en un

lapso de sólo 12 horas. Los investigadores querían asegurarse de si los gusanos estaban masticando a través del plástico o comiéndolo realmente. Por lo tanto, rompieron los gusanos y hundieron el plástico con la pasta para la observación. Se dieron cuenta de que alrededor del 13% del plástico había desaparecido después de 14 horas. Esto llevó a los científicos a creer que había algún compuesto en el sistema digestivo de los gusanos que permitía la digestión del plástico.

Según Rodrigues, De Castro, Minoru, y Bernardino (2018), al principio del experimento, se utilizaron cuatro polillas en la etapa adulta y dos en la etapa larval, sin embargo, en la segunda semana hubo una mortalidad expresiva de las polillas en la etapa adulta, entre las cuatro, sólo dos sobrevivieron. De esta manera, la miel se utilizó en experimentos para alentar tanto a la polilla como a la larva a comer polietileno. Hubo consumo de polietileno por las larvas, ya que la cantidad consumida de la primera a la cuarta semana fue de 0,0219 g. en total.

2.1.2 Antecedentes Nacionales

En la investigación hecha por Revilla (2018) Los resultados que obtuvo acepta la hipótesis que *Galleria mellonella* es eficiente en la biodegradación de dos tipos de Polietileno de baja densidad, film y bolsa plástica”. Demostrándose en algunos casos estados más óptimos que otros tomando en cuenta los volúmenes aplicados de 5 ml, 7.5 ml y 10ml. La eficacia del homogenizado que se aplicó al tipo bolsas plásticas fue de 0.64%, 3.36% y 9.79% cada uno. La eficacia del homogenizado aplicado al tipo film, es de 9.70%, 11.02% y 16.13% en cada uno a los tres volúmenes aplicados.

En la tesis presentada por Velasco (2017), se tuvo como población todas las bolsas plásticas, que estuvieron expuestas a dos temperaturas diferentes 25°C y 35°C. En el ejemplar se trabajó con 20 bolsas plásticas. Se utilizó la técnica de observación y también los instrumentos, registros de biodegradación para el polietileno, cuadro para conocer la temperatura adecuada de biodegradación por

medio del uso del lepidóptero. Se obtuvo como conclusión que el lepidóptero *Gallería mellonella* si degrada la bolsa plástica.

Según Rodríguez (2015), fijó el objetivo general de determinar el ciclo biológico de *Galleria mellonella* Linnaeus. Para conseguir este objetivo, usa las ideas propuestas por Lloret sobre el ciclo biológico de *Galleria mellonella*. Finalmente, concluyó que el progreso total de la media de las tres reproducciones que fueron experimentadas es de al menos 50.4 días y un máximo de 55.2 días, teniendo en consideración la duración. Su trabajo nos da la posibilidad de entender cómo se lleva a cabo el ciclo biológico de *Galleria mellonella*.

2.1.3 Antecedentes locales

No se registraron estudios relacionados con el tema de investigación.

2.2 Bases teóricas

2.2.1 *Galleria mellonella*: es la principal plaga destructiva y económicamente importante del panal de cera debido a sus hábitos de alimentación y túnel a través de los panales (Kwadha, Ong'amo, Endegwa, Suresh, y Raina, 2017).

Morfología:

- a. Huevo: Los huevos de polilla de cera varían en tamaño, con una longitud media y una anchura de 0,478 mm y 0,394 mm, respectivamente. El huevo es de forma esferoidal con líneas onduladas intercaladas que le da una textura rugosa (Kwadha, Ong'amo, Endegwa, Suresh y Raina, 2017).
- b. Larva: Tras la eclosión, las larvas de polilla de cera tienen aproximadamente 1-3 mm de longitud y 0,12–0,15 mm de diámetro. Antes de la pupación, tienen una longitud de aproximadamente 25-30 mm y 5-7 mm de diámetro (Kwadha, Ong'amo, Endegwa, Suresh y Raina, 2017).
- c. Pupa: La pupa de polilla de cera mayor tiene un promedio de 12-20 mm de longitud y 5-7 mm de diámetro. Las pupas femeninas son normalmente más largas que los machos (Kwadha, Ong'amo, Endegwa, Suresh y Raina, 2017).
- d. Adulto: La polilla de cera mayor adulta exhibe un distinto dimorfismo sexual. La polilla de cera hembra tiene un promedio de 15-20 mm de longitud corporal, 31 mm en envergadura de las alas y 169 mg de peso. El macho es considerablemente más pequeño y de color menos oscuro en comparación con las hembras (Kwadha, Ong'amo, Endegwa, Suresh, y Raina, 2017).

2.2.2 **Polietileno:** El polietileno es un polímero termoplástico con estructura cristalina variable y una gama extremadamente grande de aplicaciones dependiendo del tipo particular. Es uno de los plásticos más producidos en el mundo (Rogers, 2015).

Tipos:

- a. El polietileno de baja densidad (LDPE) es un material muy flexible con propiedades de flujo muy únicas que lo hace particularmente adecuado para aplicaciones de película plástica como bolsas de compras. LDPE tiene alta ductilidad, pero baja resistencia a la tracción que es evidente en el mundo real por su propensión a estirarse cuando se esfuerza (Rogers, 2015).
- b. El polietileno lineal de baja densidad (LLDPE) es muy similar al LDPE con la ventaja añadida de que las propiedades de LLDPE se pueden alterar ajustando los componentes de la fórmula y que el proceso de producción general para LLDPE suele ser menos intensivo en energía que LDPE (Rogers, 2015).
- c. El polietileno de alta densidad (HDPE) es un plástico fuerte, de alta densidad y moderadamente rígido con una estructura altamente cristalina. Se utiliza con frecuencia como plástico para cajas de leche, detergente para ropa, cubos de basura y tablas de cortar. (Rogers, 2015)

- d. El polietileno de peso molecular ultraalto (UHMW) es una versión extremadamente densa de polietileno con pesos moleculares típicamente un orden de magnitud mayor que el HDPE. Se puede hilar en hilos con resistencias a la tracción muchas veces mayores que el acero y con frecuencia se incorpora en equipos de alto rendimiento como chalecos antibalas. (Rogers, 2015)

2.3 Definición de términos

- **Biodegradación:** La biodegradación es el proceso mediante el cual las sustancias orgánicas se descomponen mediante microorganismos (principalmente bacterias aeróbicas) en sustancias más simples como el dióxido de carbono, el agua y el amoníaco (OECD, 2002).
- **Bolsa de polietileno:** están hechas de un tipo de plástico llamado polietileno, una resina sintética resistente, ligera y flexible, que se produce a partir de la polimerización del etileno (ONU, 2018).
- **Dieta artificial:** Dieta artificial para insectos, es un alimento que no es la dieta natural de los insectos, que se ha sido formulado, sintetizado, procesado y/o manufacturado por el hombre el cual el insecto en cautiverio puede desarrollarse total o parcialmente (Infante, 1994).
- **Degradación:** Pérdida de las características originales, o debilitamiento de un elemento por erosión; una desintegración de la pintura por calor, humedad, luz solar o desgaste natural (Companies, 2019).
- *Galleria mellonella:* Llamada también polilla de cera de abeja, cuya larva es conocida como gusano de cera, es una especie de insecto lepidóptero del suborden glossata y del clado ditrysia (Ivanovic, 1991).
- **Gusano de cera:** También se conoce como gusano de la miel, es un insecto lepidóptero que puede llegar a medir tres centímetros en su fase larvaria. Se alimentan de la miel y la cera de las colmenas de las abejas (Bromwich, 2017).

- **Larva:** La forma temprana de un animal que al nacer o eclosionar es fundamentalmente diferente de su padre y debe metamorfosear antes de asumir los caracteres adultos (Webster, 2019).
- **Polietileno:** El polietileno (PE) es químicamente el polímero más simple, Es uno de los plásticos más comunes debido a su bajo precio y simplicidad en su fabricación (Valderrama, 2001).
- **Residuos plásticos:** Material omnipresente en la sociedad, sin embargo, tiene dos principales problemas, es de origen fósil y es difícil de reciclar mecánicamente (recuperar materialmente) la totalidad de estos residuos que se generan a nivel global (Elias y Jurado, 2012).
- **Sustrato orgánico:** Es el material que es distinto al suelo natural puede ser pura o mezclada, permite anclar el sistema radicular de la planta, desempeñando, por tanto, un papel de soporte en beneficio para la planta(Escriva, 2011).

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1 Tipo y diseño de la investigación

Cuantitativa -cuasiexperimental

3.2 Población y/o muestra de estudio

- Larvas de la ciudad de Tacna
- Bolsas de plástico de baja densidad

3.3 Operacionalización de variables

3.3.1 Variable independiente:

- *Galleria mellonella*

3.3.2 Variables dependientes:

- Peso de la larva
- Supervivencia de la larva
- Peso del polietileno
- Biodegradación del polietileno

3.4 Técnicas e instrumentos para la recolección de datos

La presente investigación se realizó en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Privada de Tacna, en un periodo de 7 semanas.

La investigación constó de tres (03) tratamientos, se añadió un tratamiento extra para descartar la posible función de las cabezas de la *Galleria mellonella* como

biodegradantes del plástico, en los tres tratamientos se colocaron 20 larvas respectivamente y completamente al azar.

Primer tratamiento:

En este primer tratamiento se observó el estadio de las larvas *Galleria mellonella* dentro de las bolsas de polietileno para determinar si éstas la usaban como alimento o sólo la rompían con el fin de liberarse.

Segundo tratamiento:

En el segundo tratamiento se observó la acción de las larvas dentro del polietileno ofreciéndoles por fuera la dieta artificial, que es un alimento preparado donde se determinó su preferencia alimenticia entre la bolsa de polietileno y un alimento preparado.

Tercer tratamiento:

Como tercer tratamiento se colocó a la *Galleria mellonella* con dieta artificial, sin polietileno.

Cuarto tratamiento:

En este tratamiento extra se puso solo las cabezas de las larvas aplastadas para descartar que sea una enzima de su propia cabeza la que biodegrade el polietileno.

Proceso del desarrollo de la investigación

Para empezar con la investigación me apersoné a las chacras y se logró contactar a los dueños que distribuían la miel de abeja, conversando sobre lo que necesitaba procedieron a brindarme las larvas.



Figura 1. Visita a las chacras

Fuente: Elaboración propia



Figura 2. Parte de la colmena

Fuente: Elaboración propia



Figura 3. Galleria Mellonella

Fuente: Elaboración propia

Una vez identificadas las larvas se procedió a elaborar 3 acuarios pequeños para realizar ahí los tratamientos, junto a ello adquirí las bolsas de polietileno, guantes e ingredientes para la dieta artificial y así poder empezar con la primera prueba. Posterior a esto se acondicionó un ambiente en el laboratorio de microbiología de la Universidad Privada de Tacna para poner los tres acuarios con los respectivos tres tratamientos.

Inicio de pruebas

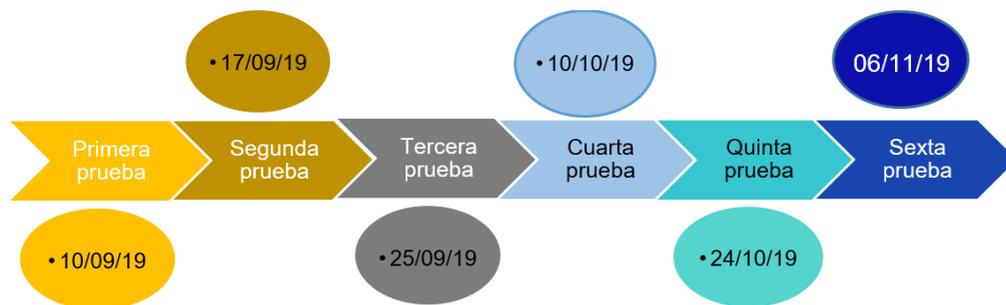


Figura 4. Línea de tiempo de las pruebas realizadas

Fuente: Elaboración propia

Empezando con la primera prueba se realizó el peso inicial de las larvas como de las bolsas plásticas para cada tratamiento, una vez terminado se procedió a colocar las larvas con el polietileno en el primer tratamiento, las larvas con polietileno y dieta artificial en el segundo y por último las larvas con solo la dieta en el tercer tratamiento. Teniendo en cuenta que se realizó un control diario para ver cuantas larvas salen de las bolsas, si alguna muere o surge algún cambio en ellas.



Figura 5. Primer Tratamiento



Figura 6. Segundo Tratamiento



Figura 7. Tercer tratamiento

Fuente: Elaboración propia

Pasada una semana se procedió a tomar el peso final de las larvas y bolsas de cada tratamiento.

El procedimiento se repitió en todas las pruebas realizadas, durante el control de la segunda prueba se observó como las larvas en el tratamiento 1 salieron de la bolsa, permaneciendo en el acuario, se observó también que en tratamiento 2 en su mayoría se encontraban en el sustrato y la minoría permanecía en la bolsa.



Figura 8. Tratamiento 1

Fuente: Elaboración propia



Figura 9. Tratamiento 2

Fuente: Elaboración propia

Realizando el control de la tercera prueba se observó la degradación del plástico por acción de *Galleria mellonella* en el tratamiento 1, se pudo apreciar también en el tratamiento 2 como la larva salió de la bolsa para quedarse en la dieta artificial.



Figura 10. Bolsa degradada

Fuente: Elaboración propia



Figura 11. Galleria mellonella

Fuente: Elaboración propia

El proceso a realizar para las seis pruebas fue el siguiente:



Figura 12. Proceso de las pruebas

Fuente: Elaboración propia

Pesado inicial:

- Se realizó el pesado inicial de las larvas *Galleria mellonella* para el primer, segundo y tercer tratamiento respectivamente. (Tabla N°12).
- Se tomó el peso inicial del polietileno en el primer y segundo tratamiento (Tabla N°19).

Pesado final:

- Se realizó el pesado final de las larvas *Galleria mellonella* para el primer, segundo y tercer tratamiento respectivamente. (Tabla N°13).
- Se tomará el peso final del polietileno en el primer y segundo tratamiento (Tabla N°14).

3.5 Procesamiento y análisis de datos

La información generada en el laboratorio se recopiló y procesó con el uso de Microsoft Excel 2016, Stathgraphics, y SPSS para sacar los cálculos y datos necesarios, se aplicó la prueba de hipótesis y comparación de medias.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1 Prueba de Hipótesis

Hipótesis Específica N° 01: El porcentaje de sobrevivencia de *Galleria mellonella* utilizando como único sustrato el polietileno es menor comparado con un sustrato orgánico.

Tabla 1.
Prueba de Normalidad Shapiro-Wilk

Tratamientos		Pruebas de normalidad		
		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Supervivencia larvas	solo_polietileno	0.867	6	0.215
	polietileno_sustrato		6	
	sólo sustrato		6	

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Fuente: Elaboración propia

En la prueba de normalidad se utilizó Shapiro-Wilk, teniendo una significancia mayor a 0.05 esto quiere decir que los datos tienen una distribución normal.

Tabla 2.
Prueba de Homogeneidad de la varianza según Levene

		Prueba de homogeneidad de varianza			
		Estadístico			Sig.
		Levene	gl1	gl2	
Supervivencia larvas	Se basa en la media	30.250	2	15	0.000
	Se basa en la mediana	20.862	2	15	0.000
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	20.862	2	5.000	0.004
	Se basa en la media recortada	30.250	2	15	0.000

Fuente: Elaboración propia

Con los datos presentados se evalúan que tan homogéneas son las varianzas, siendo éstas menores a 0.05 no son homogéneas.

Realizando las pruebas de normalidad y la homogeneidad de la varianza de los estadísticos utilizados, éstos no serán paramétricos.

Tabla 3.
Contrastación de la Hipótesis

Prueba de Kruskal-Wallis		
	Tamaño de Muestra	Rango Promedio
Polipropileno	6	5.5
Polipropileno sustrato	6	11.5
Sustrato	6	11.5
Estadístico = 9,54386 Valor-P = 0,00846403		

Fuente: Elaboración propia

Tabla 4.
Grupos Homogéneos de las medias

Tratamientos	Casos	Media	Grupos Homogéneos
1	6	0.875	a
3	6	1	b
2	6	1	b

Método: 95,0 porcentaje
Duncan
Fuente: Elaboración propia

$$H_0 : \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$$

$$H_1 : \mu_1 \neq \mu_2 = \mu_3$$

Siendo p valor menor a 0.05, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, se llega a la conclusión que las medias de los tratamientos con sustrato y con solo polietileno son diferentes significativamente.

Hipótesis Específica N° 02: El descenso de peso de *Galleria mellonella* utilizando como único sustrato el polietileno es mayor en un 2% comparado con un sustrato orgánico

Tabla 5.
Pruebas de normalidad

Tratamientos		Pruebas de normalidad		
		Shapiro-wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Diferencia	1	0.915	6	0.471
peso	2	0.952	6	0.753
	3	0.878	6	0.262

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Fuente: Elaboración propia

En la prueba de normalidad se puede apreciar que la significancia es mayor a 0.05 por lo tanto tienen una distribución normal.

Tabla 6.
Prueba de homogeneidad de varianza

		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Diferencia de peso	Se basa en la media	0.660	2	15	0.531
	Se basa en la mediana	0.608	2	15	0.557
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	0.608	2	13.645	0.559
	Se basa en la media recortada	0.654	2	15	0.534

Fuente: Elaboración propia

Realizando las pruebas de normalidad y la homogeneidad de la varianza se obtiene que los estadísticos utilizados serán paramétricos.

Contrastación de hipótesis

Estadístico t calculado = 4.13479

Valor-P = 0.00101431

Se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05 y se acepta la hipótesis alternativa

$$H_0: \mu_1 - \mu_2 \leq 2.0$$

$$H_1: \mu_1 - \mu_2 > 2.0$$

Tabla 7.
Análisis de varianza de la diferencia de pesos de Galleria mellonella

Anova					
Diferencia_peso	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	4678.399	2	2339.200	9.668	0.002
Dentro de grupos	3629.313	15	241.954		
Total	8307.712	17			

Fuente: Elaboración propia

Se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, donde el promedio de peso de las larvas con dieta artificial es mayor en 2% a las larvas con polietileno solo.

Tabla 8.
Porcentaje de pérdida de peso de *Galleria mellonella* en los tratamientos

Método: 95.0 porcentaje Duncan			
	Casos	Media	Grupos Homogéneos
C.Polietileno	6	-38.6848	a
Polietileno y Sustrato	6	-13.3373	b
C.Sustrato	6	0.213527	b

Fuente: Elaboración propia

Se puede observar ganancia de peso en el tercer tratamiento, pero según la estadística no hay diferencia significativa

Hipótesis 3: La tasa de pérdida de peso del polietileno en los diferentes tratamientos es menor de 10%

Tabla 9.
Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk

Pruebas de normalidad				
		Shapiro-Wilk		
Tratamiento		Estadístico	Gl	Sig.
Peso polietileno	Polietileno	0.862	6	0.195
	Polietileno sustrato	0.889	6	0.315

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

A. Corrección de significación de Lilliefors

Fuente: Elaboración propia

En el análisis de la normalidad, la significancia es mayor a 0.05 por lo tanto tienen una distribución normal

Tabla 10.
Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba de homogeneidad de varianzas					
		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Peso polietileno	Se basa en la media	1.967	1	10	0.191
	Se basa en la mediana	1.621	1	10	0.232
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	1.621	1	9.590	0.233
	Se basa en la media recortada	1.948	1	10	0.193

Fuente: Elaboración propia

Las homogeneidades de la varianza y la prueba de normalidad son mayores a 0.05 por lo tanto se trabaja con estadísticos paramétricos

Tabla 11.
Análisis de varianza de la pérdida de peso del polietileno

ANOVA					
Peso polietileno					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	20.228	1	20.228	1.009	0.339
Dentro de grupos	200.378	10	20.038		
Total	220.606	11			

Fuente: Elaboración propia

Pruebas de Hipótesis

Hipótesis Nula: diferencia entre medias = 10.0

Alternativa: diferencia menor que 10

Estadístico t calculado = -2.20857

Valor-P = 0.0258429

Rechazar la hipótesis nula para alfa = 0.05.

$H_0: \mu_1 - \mu_2 \geq 10.0$

$H_1: \mu_1 - \mu_2 < 10.0$

Se acepta la hipótesis alternativa que la diferencia de las medias es menor al 10% en el peso de las bolsas de polietileno.

4.2 Datos de la larva *Galleria mellonella*:

Tabla 12.
Peso inicial de las larvas Galleria mellonella

Peso inicial de larvas	T1	T2	T3
P1	1.3279	1.5857	1.4687
P2	0.6978	0.5644	0.4848
P3	0.8135	0.6937	0.635
P4	0.6591	0.7457	0.6309
P5	0.6877	0.8242	0.6091
P6	0.6591	0.9202	0.6142
Promedio	0.808	0.88898333	0.74045
Desv. Estandar	0.2612598	0.36183021	0.36111432

Fuente: Elaboración propia

En la presente tabla se observa el peso de las larvas antes de empezar con los tratamientos para las 6 pruebas realizadas.

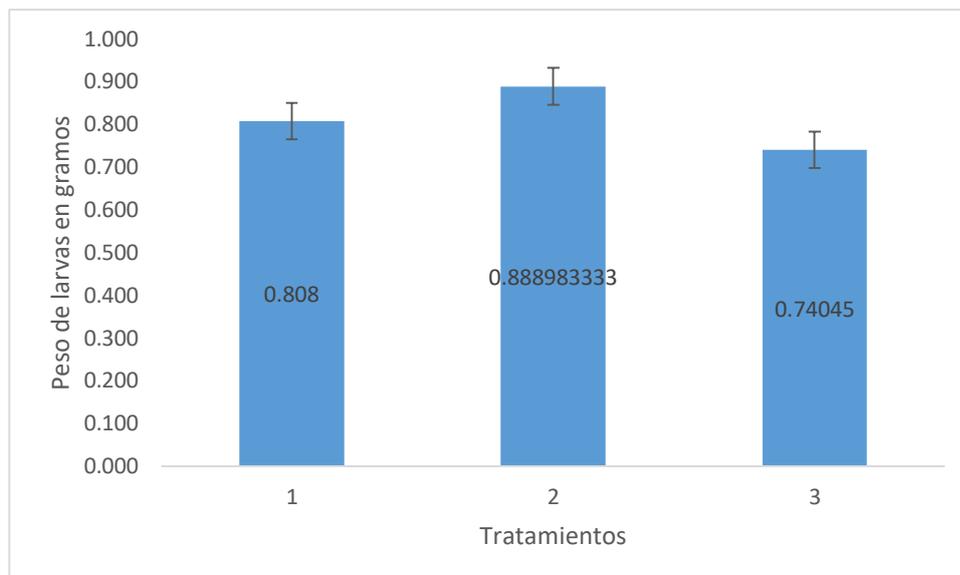


Figura 13. Peso en gramos de las larvas *Galleria mellonella*

Fuente: Elaboración propia

Tabla 13.
Peso final de las larvas *Galleria mellonella*

	T1	T2	T3
P1	0.7798	1.2668	1.2106
P2	0.4287	0.491	0.4358
P3	0.3571	0.5116	0.5932
P4	0.4177	0.5018	0.651
P5	0.4287	0.9537	0.8057
P6	0.5149	0.8865	0.6147
Promedio	0.48781667	0.76856667	0.7185
Desv. Estandar	0.15164467	0.31958055	0.26859498

Fuente: Elaboración propia

La tabla contiene el peso final de las larvas luego de ser expuestas a los diferentes tratamientos en el periodo de una semana para cada una de las 6 pruebas

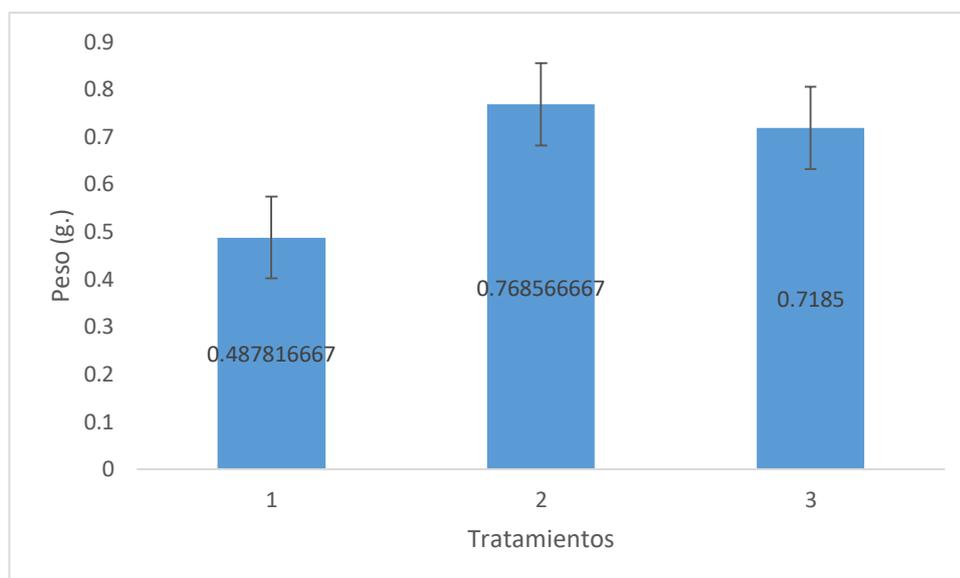


Figura 14. Peso final en gramos de las larvas *Galleria mellonella*

Fuente: Elaboración propia

Tabla 14.
Diferencia de peso final e inicial de las larvas

Diferencia	T1	T2	T3
P1	-0.5481	-0.3189	-0.2581
P2	-0.2691	-0.0734	-0.049
P3	-0.4564	-0.1821	-0.0418
P4	-0.2414	-0.2439	0.0201
P5	-0.259	0.1295	0.1966
P6	-0.1442	-0.0337	0.0005
Promedio	-0.3197	0.1204166	-0.02195
Desv.Estandar	0.15	0.16	0.15
varianza	0.022	0.023	0.02

Fuente: Elaboración propia

La diferencia de peso final e inicial de las larvas evidencian que la pérdida de peso más significativa es la del primer tratamiento comparado con el segundo y tercer tratamiento.

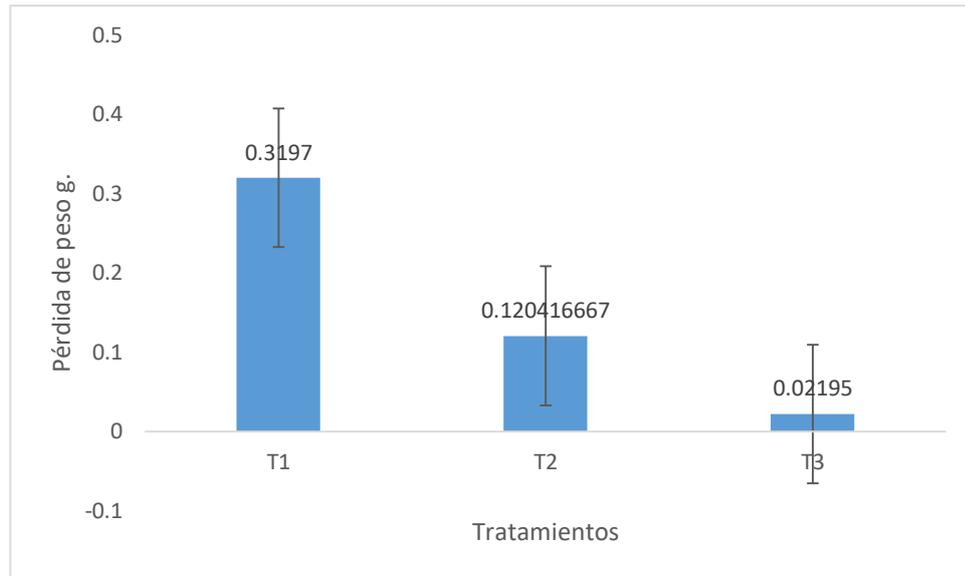


Figura 15. Promedio de la pérdida de peso de las larvas de *Galleria mellonella*

Fuente: Elaboración propia

Tabla 15.
Porcentaje de promedio de pérdida de peso en gramos de *Galleria mellonella*

T1	T2	T3
32%	12%	2%

Fuente: Elaboración propia

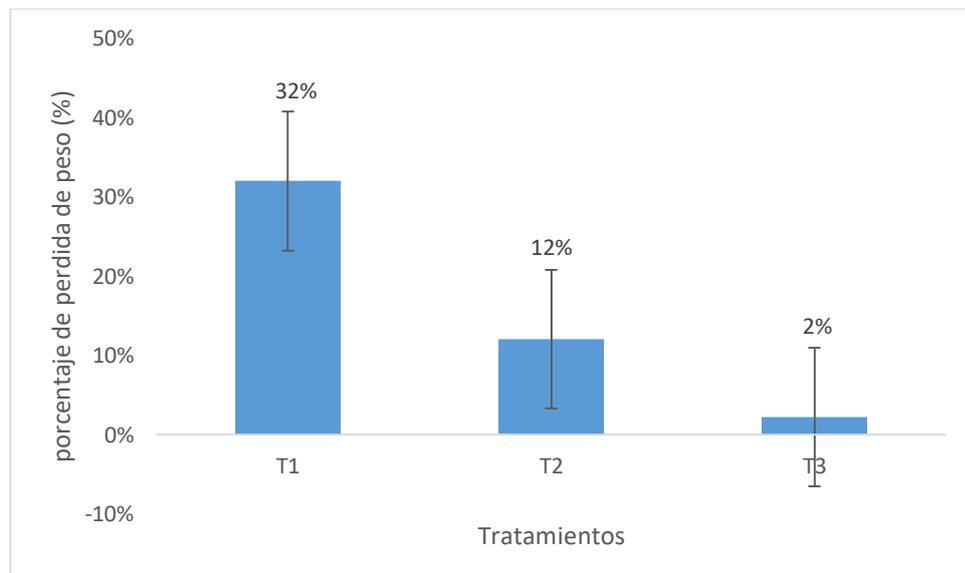


Figura 16. Porcentaje de promedio de pérdida de peso en gramos de *Galleria Mellonella*

Fuente: Elaboración propia

Tabla 16.
Sobrevivencia de larvas

	T1	T2	T3
P1	80%	100%	100%
P2	80%	100%	100%
P3	90%	100%	100%
P4	85%	100%	100%
P5	100%	100%	100%
P6	100%	100%	100%
Promedio	89%	100%	100%

Fuente: Elaboración propia

La sobrevivencia de las larvas disminuye en el primer tratamiento en comparación con los otros dos tratamientos realizados.

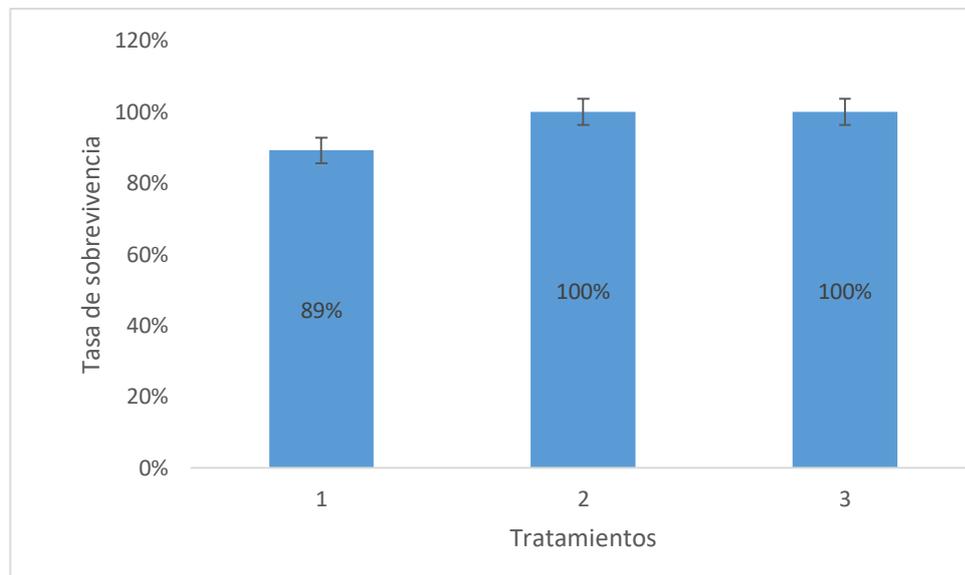


Figura 17. Tasa de sobrevivencia de las larvas *Galleria mellonella* en los 3 tratamientos

Fuente: Elaboración propia

Tabla 17.
Prueba de múltiples rangos

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
T1 solo pp	6	-0.3197	a
T2 pp + sust	6	-0.120417	b
T3 sin bolsa	6	-0.02195	b

Fuente: Elaboración propia

Tabla 18.
Contraste

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
T1 solo pp - T2 pp + sust	*	-0.199283	0.188405
T1 solo pp - T3 sin bolsa	*	-0.29775	0.188405
T2 pp + sust - T3 sin bolsa		-0.0984667	0.188405

* indica una diferencia significativa.

Fuente: Elaboración propia

4.3 Datos del polietileno

Tabla 19.
Peso inicial de las bolsas de polietileno del tratamiento 1 y tratamiento 2

Peso de la bolsa inicial	T1	T2
P1	1.032	0.944
P2	1.0324	0.9564
P3	0.992	1.024
P4	1.0309	0.9899
P5	0.912	0.9014
P6	0.9715	0.847
Promedio	1.00175	0.8955
Desv. Estandar	0.04797231	0.06306195

Fuente: Elaboración propia

En la tabla podemos observar el peso inicial de las bolsas para los tratamientos 1 y 2 respectivamente, teniendo un promedio de 1.00 g. para el primer tratamiento y de 0.89 g. para el segundo.

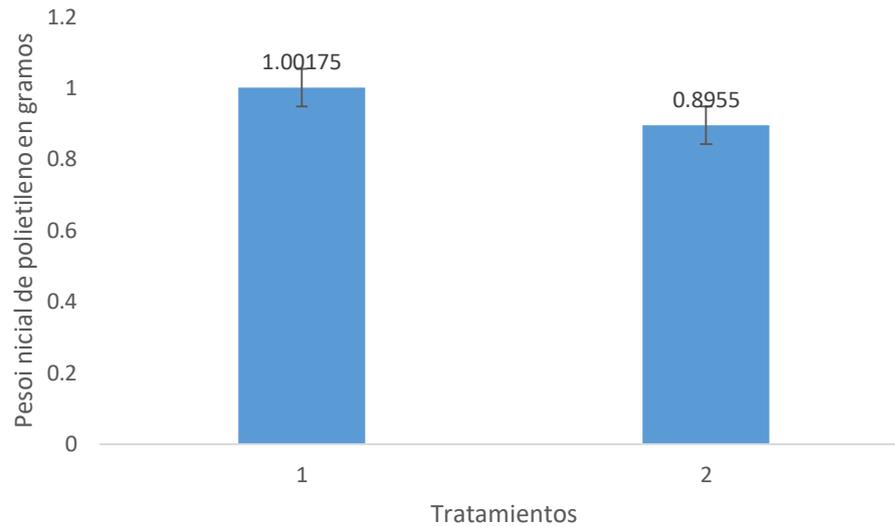


Figura 18. Peso inicial en gramos del polietileno del tratamiento 1 y tratamiento 2

Fuente: Elaboración propia

Tabla 20.

Peso final de las bolsas de polietileno del tratamiento 1 y tratamiento 2

Peso final	T1	T2
P1	0.9019	0.882
P2	1.0096	0.8982
P3	0.8676	0.9225
P4	0.9171	0.9322
P5	0.9083	0.8914
P6	0.8993	0.8373
Promedio	0.9173	0.89393333
Desv. Estandar	0.0482319	0.03362961

Fuente: Elaboración propia

Se observa el peso final de las bolsas de polietileno con un promedio de 0.91 g. para el primer tratamiento y 0.89 para el segundo.

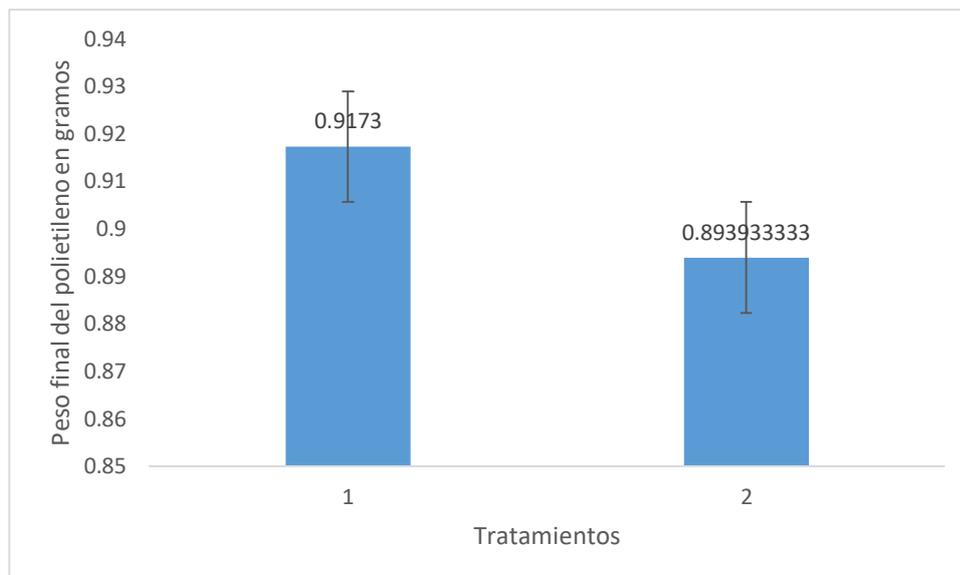


Figura 19. Peso final en gramos del polietileno del tratamiento 1 y tratamiento 2

Fuente: Elaboración propia

Tabla 21.

Diferencial del peso de la bolsa de polietileno del tratamiento 1 y tratamiento 2 por efecto de la larva Galleria mellonella

Diferencia	T1	T2
P1	0.1301	0.062
P2	0.0228	0.0582
P3	0.1244	0.1015
P4	0.1138	0.0577
P5	0.0037	0.01
P6	0.0722	0.0097
promedio	0.077833333	0.04985
Desv. Estándar	0.05431393	0.03506205
varianza	0.00245834	0.00102446

Fuente: Elaboración propia

Se evidencia mayor degradación en la bolsa del primer tratamiento debido a que estas larvas no tenían otro alimento al que recurrir, sin embargo, el segundo tratamiento dio un promedio de 0.04g. por debajo del 0.07g. del primer tratamiento.

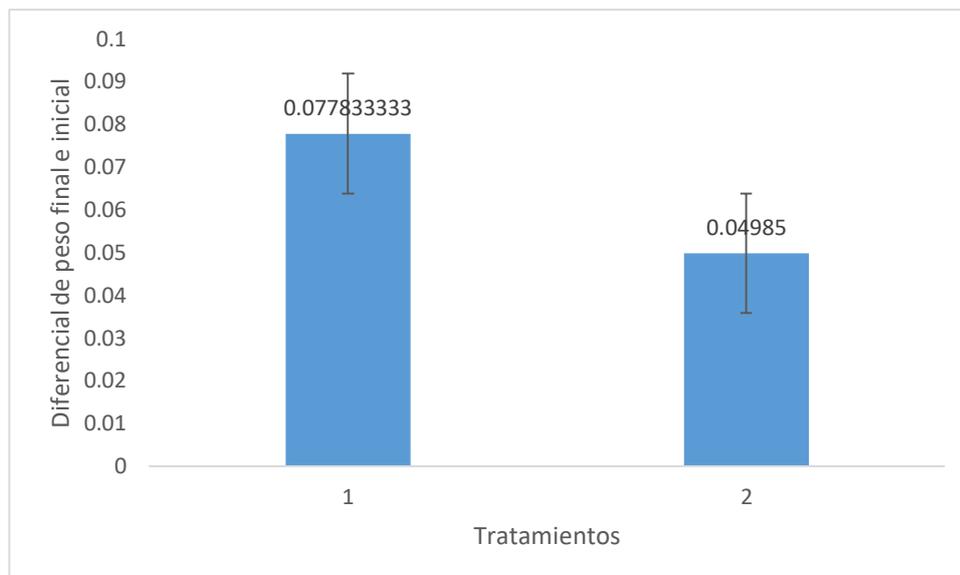


Figura 20. Diferencial de peso en gramos del polietileno del tratamiento 1 y tratamiento 2

Fuente: Elaboración propia

Tabla 22.

Porcentaje de degradación por efecto de la larva *Galleria mellonella*

Porcentaje de degradación de polietileno	T1	T2	
P1	12.61%	6.57%	
P2	2.21%	6.09%	
P3	12.54%	9.91%	
P4	11.04%	5.83%	
P5	0.41%	1.11%	
P6	7.43%	1.15%	
promedio	7.71%	5.11%	6.41%

Fuente: Elaboración propia

Según la tabla se observa que las bolsas de polietileno del primer tratamiento presencia mayor degradación en comparación con el tratamiento con sustrato orgánico, en promedio de los 2 tratamientos fueron degradadas un 6.41%.

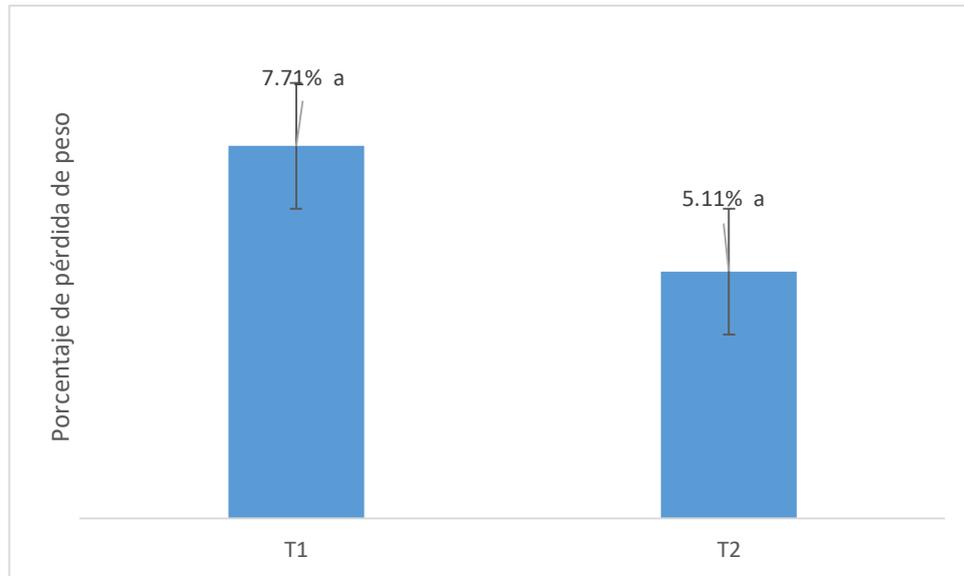


Figura 21. Promedio del porcentaje de pérdida de peso de las bolsas de polietileno

Fuente: Elaboración propia

4.4 Observación de la degradación del polietileno mediante microscopía óptica por efecto a la exposición de un homogenizado de cabezas de *Galleria mellonella*.



Figura 22. Polietileno expuesto a homogenizado de cabeza de *Galleria mellonella*.

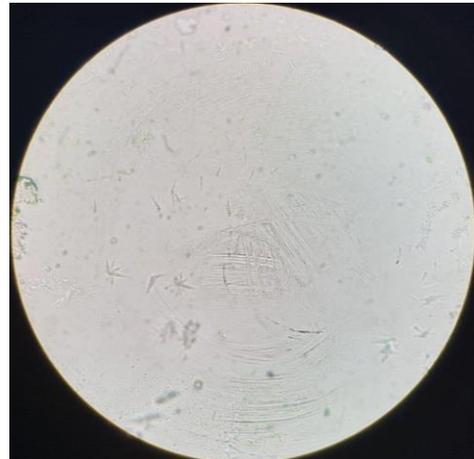


Figura 23. Control negativo, polietileno expuesto a bacterias de Leche.

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

Gallería mellonella, llega a ser una plaga agrícola en las colmenas de abejas melíferas; se alimenta de la cera o miel de éstas estudios han reportado la capacidad de degradar polietileno produciendo etilen glicol. Bombelli, Howe y Bertochinni (2017)

La supervivencia de *Galleria mellonella* en cautiverio ha sido reportada por Realpe, Bustillo y Juan(2007) teniendo una mortalidad de 71.5% en estado larvario.

El porcentaje de supervivencia que se obtuvo fue de 88 % en el primer tratamiento y en el segundo y tercer tratamiento la tasa de supervivencia fue de 100%, como se evidencia en la Figura N° 07, el tratamiento con sólo bolsas de polietileno no permitió la supervivencia total de las larvas *Galleria mellonella* durante una semana de evaluación como los reporta (Deras, 2018), sin embargo tampoco se evidencia toxicidad del polietileno a las larvas no se evidencia muerte en el tratamiento con sustrato y polietileno.

En cuanto a la comparación de peso de *Galleria mellonella* en el sustrato orgánico y en el polietileno, no existe diferencias significativas entre el peso del tratamiento 2 (sustrato orgánico con polietileno) y el tratamiento 3 (solo sustrato orgánico), como se observa en las tablas N° 17 y N° 18, esto indica que el polietileno no es tóxico para las larvas de *Galleria mellonella*, sin embargo se evidenció disminución de peso en ambos tratamientos, el tratamiento 1 (polietileno) registró la mayor disminución de peso de las larvas con una diferencia significativa con los tratamientos N° 2 y 3, esto nos indica que el polietileno no favorece el desarrollo de las larvas tal y como lo indica (Deras, 2018).

El crecimiento de las larvas depende de la humedad y la temperatura para permitir su desarrollo en cautiverio, se reporta la temperatura de 25° C aproximadamente

Se evidencia la pérdida de peso en los 3 tratamientos, no encontrando diferencias significativas entre ellos como se evidencia en la Tabla N° 21, la cantidad de peso perdido de las bolsas estuvo en un promedio de 0.078 g. para el tratamiento 1 y de 0.05 para el tratamiento 2, lo que equivale al porcentaje 6.41% de tabla N° 22, comparando con la investigación realizada por (Velasco, 2017) en la cual reporta una pérdida de peso de polietileno de 2.5% en promedio, tomando en cuenta que utilizó 10 larvas por tratamiento y en el respectivo trabajo se utilizaron 20 larvas.

Se realizó un homogenizado de cabezas de *Galleria mellonella* para evidenciar daño en la estructura del polietileno, la observación se realizó con un microscopio óptico marca Karl Zeiss con un aumento total de 100x, se evidenció un corrugado del polietileno en las muestras con el homogenizado de cabezas a diferencia del control que fue leche evaporada. Los trabajos evidencian que existe una degradación del polietileno por parte de *Galleria mellonella* haciendo los análisis de FTIR de polietileno degradado incluida la rotura de enlaces de carbono, los investigadores (Bombelli, Howe, y Bertocchini, 2017) indican que no está clara la actividad de digestión de los hidrocarburos por el gusano y si la degradación se debe al organismo o a la flora microbiana presente en su intestino. Cabe señalar que la disminución del peso indica que no hay un proceso digestivo de asimilación, por lo tanto, la pérdida de peso del polietileno se debe a una acción mecánica de rotura del plástico ayudado por enzimas bucales de la *Galleria mellonella*. La eficiencia de homogenizado aplicado al tipo bolsas plásticas es de 0.64%, 3.36% y 9.79% respectivamente. La eficiencia del homogenizado aplicado al tipo film, es de 9.70%, 11.02% y 16.13% respectivamente a los tres volúmenes aplicados (Revilla, 2018).

Yang, Yang, Wu, Zhao, y Jiang, (2014), reportaron la evidencia de bacterias degradadoras de polietileno en el homogenizado de intestino de *Galleria mellonella*,

Se aislaron ocho cepas bacterianas durante el enriquecimiento del intestino de los gusanos de cera que comen PE como única fuente de carbono, las bacterias más relevantes fueron identificadas con 16S rDNA como *Bacillus sp* y *Enterobacter asburiae*, las otras 6 cepas no reportaron acción biodegradadora.

En la correspondencia al artículo de Bombelli, Howe y Bertochinni (2017), reportaron una absorción infrarroja única a $3,300\text{ cm}^{-1}$ no es prueba suficiente para la presencia de etilenglicol, que también debe mostrar todas las demás características espectrales características de este compuesto, los investigadores creen que las señales infrarrojas en cuestión pueden más bien ser causado por la proteína residual contaminación en el polietileno superficie, que también podría explicar la rugosidad de la superficie adicional después de ser tratada con la cera de las polillas. (Weber, Pusch, y Opatz, 2017).

Bombelli, Howe y Bertochinni (2017) se dieron cuenta que alrededor del 13% del plástico había desaparecido después de 14 horas. Esto llevó a los científicos a creer que había algún compuesto en el sistema digestivo de los gusanos que permitía la digestión del plástico, pero no permite que el insecto pueda desarrollarse con polietileno como único sustrato, se evidencia que la pérdida de peso de las bolsas se deben a la necesidad del insecto por escapar de la bolsa de polietileno, estudios han evidenciado que existen bacterias en el tracto digestivo capaz de degradar el polietileno, Las glándulas de seda de las larvas de *Galleria mellonella* y *Malacosoma americana* contienen enzimas sedimentables que digieren el fosfato de paranitrofenilo, el β -glicerofosfato de sodio y los fosfatos de naftol a pH 5. Estas enzimas aumentan significativamente en cantidad, pero no alteran su distribución, ya que la larva pupa. (Aidells, Lockshin, y Cullin, 1971)

Deras (2018), en el estudio que evaluó el efecto del polietileno, mediante la prueba de Fisher, demostró que los mayores pesos se dieron en el día 15, en el trabajo realizado se evidenció que a partir de los tres días las larvas empezaban su metamorfosis a pupa.

Se evidencia mediante la evaluación, que el polietileno no alimenta al insecto ni permite su supervivencia, Weber, Pusch, y Opatz, (2017), recomiendan a los estudios futuros incluir experimentos de etiquetado de ^{13}C para investigar la formación de metabolitos marcados con ^{13}C en los gusanos resultantes de la digestión de ^{13}C -polietileno, idealmente en función del tiempo de tratamiento / exposición. La pérdida de peso por sí sola es claramente insuficiente para probar la biodegradación propuesta de polietileno.

CONCLUSIONES

- El porcentaje de sobrevivencia de *Galleria mellonella* utilizando como único sustrato el polietileno es del 88% comparado con la sobrevivencia en sustrato orgánico que es del 100%
- En todos los tratamientos se evidenció la pérdida de peso y fue significativa en el tratamiento con sólo polietileno como único sustrato, llegando a una pérdida de peso de 32% (Tabla N°15).
- La pérdida de peso del polietileno no tuvo diferencia significativa en los 2 tratamientos, lo cual evidencia la necesidad de *Galleria mellonella* de romper la bolsa de polietileno como mecanismo de huida mas no de alimento.
- Se evidenció daño en el polietileno producto del homogenizado de cabezas de *Galleria mellonella* utilizando un microscopio óptico a 100 aumentos.
- Se evidencia que *Galleria mellonella* no tiene la capacidad de utilizar como alimento el polietileno por tal motivo no sería una fuente de biodegradación de polietileno eficiente a gran escala.

RECOMENDACIONES

- Realizar un análisis de espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) para determinar el grado de biodegradación a nivel molecular del polietileno.
- Analizar las heces de la *Galleria mellonella* para determinar si el polietileno es degradado a nivel del intestino
- Realizar estudios genéticos en flora bacteriana y bucal de *Galleria mellonella* para determinar genes que sinteticen enzimas degradadoras del polietileno.
- Marcar con C13, los análisis de degradación del polietileno para evaluar la transformación química del polietileno.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aidells, B., Lockshin, R. A., y Cullin, A.-M. (1971). *Breakdown of the silk glands of Galleria mellonella—Acid phosphatase in involuting glands.*(pág.40) Editorial: Journal of Insect Physiology
- Bombelli, Howe, Bertocchini (2017). *Polyethylene bio-degradation by caterpillars of the wax moth Galleria mellonella.*(pág.1, 7, 38, 39, 40) Editorial: Current biology.
- Bromwich (2017). *A Very Hungry Caterpillar Eats Plastic Bags.*(pág. 12)
- Companies, The MckGraw-Hill (2019). *Dictionary of Architecture. Retrieved from The free dictionary.*(pág. 12)
- Deras (2018). *Efecto del consumo del polietileno de baja densidad en el desarrollo de la polilla de la cera (Galleria mellonella, Lepidóptera: Pyralidae)*(pág 7, 38, 41)Honduras
- Elias y Jurado (2012). *Los plasticos residuales y sus posibilidades valoracion.*(pág 13) Madrid.
- Escriva (2011). *Jardin Organico.* (pág. 13) Argentina, Buenos Aires.
- Infante (1994). *Investigaciones referentes al control biologico mediante la utilizacion de parasitoides de origen africano.* (pág. 12) Mexico.
- Ivanovic (1991). *Hormones and Metabolism in Insect Stress.* (pág. 12) Yuugoslavia.
- Kwadha, Ong'amo, Endegwa, Suresh, y Raina (2017). *The Biology and Control of the Greater Wax Moth, Galleria mellonella.*(pág.10) Nairobi, Kenia. Editorial:MDPI
- OECD(2002). *Biodégradation.* (pág. 12) Glossary of Environment Statistics, Studies in Methods.

ONU (2018). *Plásticos de un solo uso*. (pág 12)

Realpe, Bustillo, Lopez(2007). *Optimización de la cría de galleria mellonella para la producción de nematodos entomopatógenos parásitos de la broca del café*. (pág 38). Colombia

Revilla (2018). *Eficiencia del homogenizado proveniente del tracto digestivo de la galleria mellonella en la biodegradación de dos tipos de polietileno de baja densidad*. (pág. 8,39) Perú, Lima.

Rodrigues, De Castro, Bernardino (2018). *Biodegradação de polietileno de alta densidade por meio de larvas e insetos de Galleria mellonella*.(pág 8).
Revista Brasileira de Gestão Ambiental e Sustentabilidade.

Rodríguez (2015). *Ciclo biológico de Galleria mellonella Linnaeus*. (pág.8)
Perú, Ancash.

Rogers (2015). *Creative Mechanisms Blog*. Retrieved from Everything You Need To Know About Polyethylene.(pág. 11, 12) Perú.

Thompson, Charles, Moore, Vom Saal, (2009). *Plastics, the environment and human health*. (pág. 3)

Valderrama (2001). *Información Tecnológica*. (pág.4) Centro de información tecnológica.

Velasco (2017). *Biodegradación del polietileno de baja densidad, mediante el uso del lepidóptero Gallería mellonella bajo condiciones térmicas controladas*. (pág. 8, 39) Perú. Lima.

Verma, Punet (2017). *Analisis Descriptive*

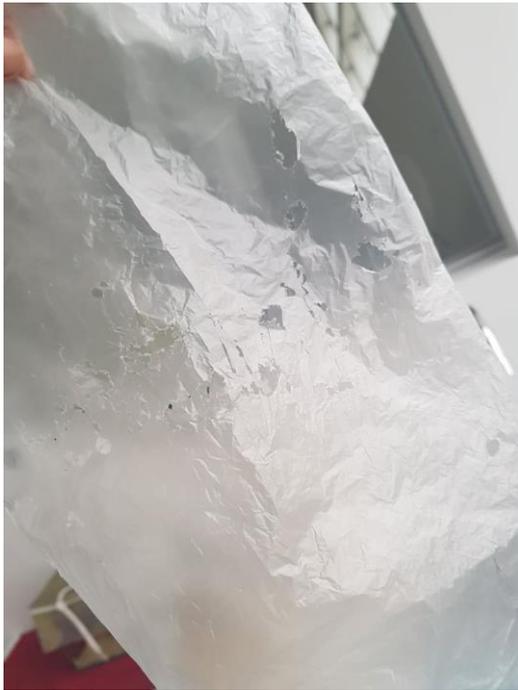
Webster(2019). *larva*. (pág. 13) Editorial: Dictionary The merriam

Yang Jun, Yang Yu,, Wu, Wei-Min, Zhao, Jiao, Jiang, Lei (2014). *Evidence of Polyethylene Biodegradation by Bacterial Strains from the Guts of Plastic-Eating Waxworms.* (pág. 2, 7, 40) Editorial: Environ. Sci. Technol.

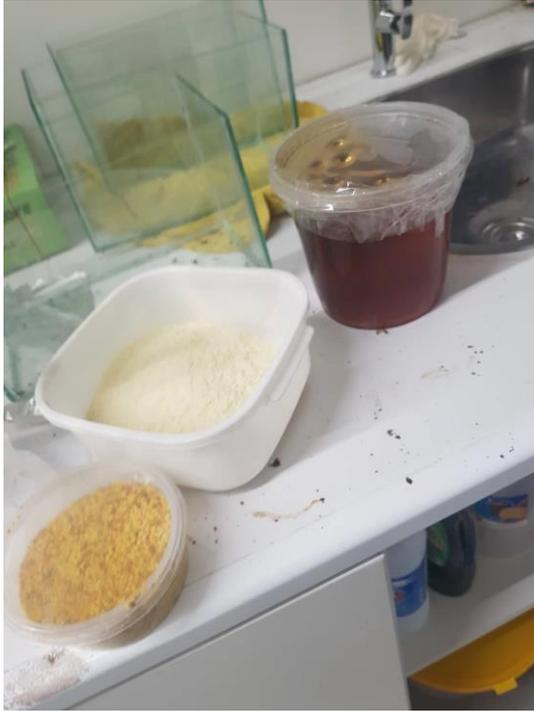
ANEXOS

Recopilación Fotográfica:









MATRIZ DE CONSISTENCIA

Planteamiento del problema	Hipótesis	Objetivo	Variable	Indicador	Métodos	Estadística
<p>Problema general: ¿Cuál es la capacidad de <i>Galleria mellonella</i> para utilizar como alimento el polietileno?</p>	<p>Hipótesis general: <i>Galleria mellonella</i> no tiene la capacidad de utilizar el polietileno como alimento.</p>	<p>Objetivo general: Evaluar la capacidad de <i>Galleria mellonella</i> para utilizar el polietileno como fuente de alimento en la biodegradación.</p>	Galleria mellonella	g.		Anova Estadística descriptiva SPSS
<p>Problemas específicos: ¿Cuál es el porcentaje de sobrevivencia de <i>Galleria mellonella</i> utilizando como único sustrato el polietileno comparado con un sustrato orgánico?</p>	<p>El porcentaje de sobrevivencia de <i>Galleria mellonella</i> utilizando como único sustrato el polietileno es menos comparado con un sustrato orgánico.</p>	<p>Objetivos específicos: Comparar la tasa de sobrevivencia de <i>Galleria mellonella</i> en sustratos orgánicos y de polietileno.</p>	<p>-Sobrevivencia de la larva. -Sustrato orgánico (dieta artificial)</p>	<p>-Días -g.</p>		Anova Estadística descriptiva SPSS

¿ <i>Galleria mellonella</i> aumenta o disminuye de peso utilizando como único sustrato el polietileno comparado con un sustrato orgánico?	El descenso de peso de <i>Galleria mellonella</i> utilizando como único sustrato el polietileno es mayor en un 2% comparado con un sustrato orgánico..	Comparar el peso de <i>Galleria mellonella</i> en sustratos orgánicos y de polietileno.	-Peso de la larva -sustrato orgánico (dieta artificial) -Peso del polietileno	-g. -g -g		Anova SPSS
¿Cuál es la tasa de pérdida de peso del polietileno en los diferentes tratamientos?	La tasa de pérdida de peso del polietileno en los diferentes tratamientos es menor de 10%	Determinar la pérdida de peso del polietileno en los distintos tratamientos.	-Peso del polietileno -Biodegradación del polietileno	-g. -g.		Anova SPSS
¿Cuál es el porcentaje de degradación utilizando solo las cabezas de las larvas <i>Galleria mellonella</i> ?	La degradación del polietileno por acción de las cabezas de <i>Galleria mellonella</i> es visible por microscopía óptica.	Determinar la capacidad de degradación de las cabezas de <i>Galleria mellonella</i> en el polietileno	Daño en el polietileno	Visual		