

Prospección de enzimas microbianas para la biodegradación de plásticos de un tiradero de plásticos en Tepic, Nayarit.

Prospection of microbial enzymes for plastic biodegradation from plastic dumpsite in Tepic, Nayarit, Mexico.

Casas-Godoy, L.¹, Ávila-López, Y.², Saldierna-Gómez A.², Sumaya-Martínez, MT.²,
Kirchmayr, M.³, Campos-Valdez, A.³, Robles-Machuca, M.^{2*}

¹ SECIHTI- Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, Unidad Zapopan, Camino Arenero 1227, El Bajío, 45019, Zapopan, Jalisco, México.

² Unidad de Tecnología de Alimentos, Secretaría de Investigación y Posgrado, Universidad Autónoma de Nayarit, Ciudad de la Cultura s/n, C.P. 63000, Tepic, Nayarit, México.

³ Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, Unidad Zapopan, Camino Arenero 1227, El Bajío, 45019, Zapopan, Jalisco, México.



Please cite this article as/Como citar este artículo: Casas-Godoy, L., Ávila-López, Y., Saldierna-Gómez A., Sumaya-Martínez, MT., Kirchmayr, M., Campos-Valdez, A., Robles-Machuca, M. (2025). Prospection of microbial enzymes for plastic biodegradation from plastic dumpsite in Tepic, Nayarit, Mexico. *Revista Bio Ciencias*, 12, e1913. <https://doi.org/10.15741/revbio.12.e1913>

Article Info/Información del artículo

Received/Recibido: February 24th 2025.

Accepted/Aceptado: March 27th 2024.

Available on line/Publicado: March 31th 2025.

RESUMEN

El impacto ambiental de los plásticos ha impulsado la búsqueda de estrategias biotecnológicas para su degradación. En este estudio se aislaron y caracterizaron microorganismos con actividad enzimática hidrolítica y oxidoreductasa de un sitio contaminado en Nayarit, México, denominado "Arena Cora". Se recolectaron 23 muestras de residuos plásticos, aislando 172 cepas. Se realizó un primer cribado por halos en medio sólido a 30 °C por 48h para identificar enzimas extracelulares, seguido de una cuantificación por fermentación sumergida a 30 °C, 150 rpm por 72h, ambos con inductores. La identificación de microorganismos se realizó por MALDI Biotyper (espectrometría de masas MALDI-TOF-MS) para identificar las firmas proteómicas. El cribado enzimático en medio sólido identificó 22 cepas con actividad relevante, destacando los géneros *Bacillus* (76.4 %) y *Pseudomonas* (11.8 %). Las actividades más frecuentes fueron esterasa/lipasa e hidrolasa, con 48 y 34 cepas positivas, respectivamente. Un 6.4 % de las cepas alcanzó el nivel más alto de ambas actividades. Además, se identificaron cinco cepas con actividad cutinasa y 15 con lacasa. La fermentación sumergida confirmó la producción de enzimas hidrolíticas y oxidoreductasas extracelulares. *B. subtilis* (A55A) tuvo la mayor actividad inducida con tributirina y aceite mineral, alcanzando más de 120 U/mL a las 24h. *B. cereus* (A41C) presentó la mayor actividad cutinasa (17.05 U/mL a las 72 h). Para lacasas, la mayor producción se obtuvo en la cepa A46E (10.3 U/mL a las 72 h). *P. koreensis* (A58F), sin antecedentes en la degradación de plásticos, mostró actividad lipasa a las 24h. Estos resultados evidencian el potencial de microorganismos nativos en la biodegradación de plásticos y su posible aplicación en biorremediación.

PALABRAS CLAVE: Contaminación, plásticos, prospección, microorganismos, enzimas extracelulares, biodegradación.

*Corresponding Author:

María-Marcela Robles-Machuca. Unidad de Tecnología de Alimentos, Secretaría de Investigación y Posgrado, Universidad Autónoma de Nayarit, Ciudad de la Cultura s/n, C.P. 63000, Tepic, Nayarit, México. E-mail: marcela.robles@uan.edu.mx

ABSTRACT

The environmental impact of plastics has promoted the search for biotechnological strategies for their degradation. This study isolated and characterized microorganisms with hydrolytic and oxidoreductase enzymatic activity from a contaminated site called “Arena Cora” in Nayarit, Mexico. 23 plastic waste samples were collected, isolating 172 strains. A preliminary screening of halo formation in a solid medium at 30 °C for 48h was performed to identify extracellular enzymes, followed by quantification through submerged fermentation at 30 °C, 150 rpm for 72h, both with inducers. Microorganisms were identified using MALDI-TOF Biotyper (MALDI-TOF-MS mass spectrometry) to identify the proteomic signature. The enzymatic screening in solid medium identified 22 strains with relevant activity, with *Bacillus* (76.4%) and *Pseudomonas* (11.8%) being the most prevalent genera. The most frequent activities were esterase/lipase and hydrolase, with 48 and 34 positive strains, respectively. 6.4% of these strains reached the highest of both activity levels. Furthermore, five strains with cutinase activity and 15 with laccase activity were identified. Submerged fermentation confirmed the production of hydrolytic and oxidoreductase extracellular enzymes. *B. subtilis* (A55A) exhibited the highest induced activity with tributyrin and mineral oil, reaching over 120 U/mL at 24h. *B. cereus* (A41C) showed the highest cutinase activity (17.05 U/mL at 72h). The highest laccase production was observed in strain A46E (10.3 U/mL at 72h). *P. koreensis* (A58F), with no prior records of plastic degradation, displayed lipase activity at 24h. These results highlight the potential of native microorganisms in plastic biodegradation and their potential application in bioremediation strategies.

KEY WORDS : Pollution, plastics, prospection, microorganisms, extracellular enzymes, biodegradation.

Introducción

El uso extensivo de plásticos ha aumentado de manera exponencial desde la segunda mitad del siglo XX (Geyer *et al.*, 2017). Gracias a la maleabilidad y versatilidad de los plásticos, cuentan con múltiples aplicaciones desde el sector alimentario hasta la industria farmacéutica. Se estima que la producción mundial de plásticos es mayor a 460 millones de toneladas anuales (Ritchie *et al.*, 2023), de las cuales apenas el 9 % se recicla, agravando la acumulación de desechos y sus efectos ambientales (Griffin & Karaski, 2022).

Alrededor de ocho millones de toneladas de plástico llegan a los océanos cada año (Stanley *et al.*, 2025) en gran parte por la gestión inadecuada de residuos urbanos, los vertidos industriales

y la insuficiencia de sistemas de recolección y disposición en zonas costeras. Esto los convierte en agentes contaminantes, muchos vienen acompañados con pesticidas, detergentes y químicos industriales, entre otros, que afectan la fauna marina y pueden dañar la salud humana al ser ingeridos (Landrigan *et al.*, 2020). Asimismo, el proceso de fragmentación genera microplásticos (<5 mm) (Acosta González *et al.*, 2022) y nanoplasticos (<1000 nm) (Morillo-Velarde Martínez, 2021), presentes incluso en agua embotellada y en tejidos de organismos marinos.

En la actualidad, se han identificado más de un centenar de tipos de plásticos, agrupados tradicionalmente en siete categorías principales. Entre los más utilizados se hallan el tereftalato de polietileno (PET), el polietileno de alta (HDPE) y baja densidad (LDPE), el policloruro de vinilo (PVC), poliestireno (PS) y el polipropileno (PP). Frente a la escasez de métodos eficientes para gestionar y disponer de estos polímeros se requieren nuevas alternativas para su degradación y potencial reutilización.

En este contexto, diversos estudios resaltan la capacidad de las bacterias de hidrolizar y mineralizar los polímeros plásticos mediante rutas enzimáticas especializadas. *Ideonella sakaiensis* 201-F6, es capaz de descomponer láminas de PET, en aproximadamente seis semanas, gracias a dos enzimas la PETasa y la MHETasa (Yoshida *et al.*, 2016). Estos hallazgos evidencian el potencial de una biorremediación industrial enzimática, aunque aún existen desafíos significativos relacionados con la optimización de enzimas, la escalabilidad del proceso y la adaptación a las condiciones ambientales variables (Dhali *et al.*, 2024).

Existen otras enzimas como las hidrolasas, esterasas (EC 3.1.1.1), lipasas (EC 3.1.1.3) y cutinasas (EC 3.1.1.74) que han mostrado eficacia en la ruptura de enlaces éster, generando monómeros o fragmentos de menor complejidad, factibles de ser asimilados por microorganismos (Charnock, 2021; Rueda Rueda *et al.*, 2020). Además, las lacasas (EC 1.10.3.2) tienen la capacidad de oxidar los enlaces poliméricos de plásticos con grupos aromáticos, oxigenados o insaturados, generando especies reactivas que, a su vez rompen las largas cadenas del polímero, facilitando su degradación en fragmentos más pequeños (Brugnari *et al.*, 2021; Kumar *et al.*, 2016).

La búsqueda de microorganismos en áreas con altos niveles de desechos poliméricos permite aislar cepas con actividades enzimáticas afines a la degradación. Bhardwaj *et al.* (2012) proponen un mecanismo de biodegradación dividido en dos etapas: la adhesión de la enzima al sustrato polimérico, seguido de la hidrólisis para la formación de compuestos más simples. Otro modelo, descrito en cinco pasos, incluye la adhesión microbiana, el biodeterioro, la biofragmentación, la asimilación y la mineralización (Méndez, 2024). Regiones con altos niveles de contaminación plástica, se convierten en un escenario idóneo para aislar bacterias nativas capaces de secretar enzimas hidrolíticas de interés. Las actividades agroindustriales, el turismo y la gestión deficiente de residuos contribuyen a la acumulación de desechos, generando áreas donde se concentran grandes cantidades de plásticos sólidos.

El objetivo del presente trabajo es el aislamiento de microorganismos de zonas contaminadas por plástico en un tiradero clandestino en Tepic, Nayarit. Este trabajo se centra en determinar la capacidad de los microorganismos para secretar enzimas de tipo hidrolasas

y oxidoreductasas que se han asociado a la degradación de plástico. La identificación y caracterización de tales cepas contribuirían al desarrollo de estrategias de remediación ambiental y a la implementación de métodos sostenibles de gestión de residuos, tanto en el ámbito local como en el global.

Material y Métodos

Reactivos

Ácido 2,2'-acino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS), ácido alfa-ciano-4-hidroxycinámico (HCCA), acetato de sodio, ácido acético, aceite mineral, ácido fórmico, ácido tricloroacético (TCA), caseinato de potasio, fructosa, glicerol, glicina, p-nitro fenil butirato (p-NPB), p-nitro fenol (p-NP) tributirina, ninhidrina, Tween 80, fosfato de potasio monobásico, yodato de potasio, fosfato de sodio dibásico pentahidratado, fosfato de sodio, cloruro de sodio y fosfato de sodio monobásico fueron adquiridos de Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA) y con una pureza mayor al 98%. El aceite de linaza extra virgen fue adquirido de un supermercado local. El agar nutritivo, agar bacteriológico, extracto de levadura, peptona de caseína y glucosa fueron adquiridos de MCD LAB (Tultitlán, Edomex, MX).

Medios de cultivo

Agar nutritivo (AN, agar nutritivo 23 g/L, agar bacteriológico 5 g/L), agar YPD (agar bacteriológico 20 g/L, extracto de levadura 10 g/L, peptona de caseína 20 g/L, dextrosa 20 g/L), medio nutritivo (extracto de levadura 10 g/L, peptona caseína 20 g/L), medio YPD (extracto de levadura 10 g/L, peptona de caseína 20 g/L, dextrosa 20 g/L).

Sitio de muestreo y recolección de muestras

El sitio denominado "Arena Cora" corresponde a un tiradero clandestino en la localidad de Camichín de Jauja, Tepic, Nayarit, México. Sus coordenadas son 21°29'33.558" latitud norte y 104°47'35.07" longitud oeste, tiene ocho años de antigüedad y es cercano a la zona industrial (Figura 1). Se recolectaron 23 muestras utilizando un diseño de bloques al azar para asegurar una cobertura representativa. El área de 10 m de largo por 2 m de ancho se dividió en cinco bloques de 2 m², definidos con base en la ubicación geográfica rectangular. Dentro de cada bloque, se seleccionaron de forma aleatoria 4-5 muestras con evidente grado de degradación abiótica espaciadas con 1 metro entre sí, para minimizar sesgos en la recolección de datos. Cada muestra incluía pequeños fragmentos de materiales plásticos, entre ellos PS, PP, PET, PUR, LDPE y HDPE, todos con signos visibles de degradación. Las muestras se colocaron en bolsas de plástico etiquetadas y se mantuvieron a 4 °C hasta su análisis.



Figura 1. Tiradero clandestino de basura en Tepic, Nayarit, México.

A) imagen aérea de la ubicación de la ciudad de Tepic tomada de Google Maps. B) imagen de la ubicación del tiradero clandestino tomada de Google Maps. C-D) imagen de la zona con plásticos con mayor grado de degradación.

Aislamiento de microorganismos

3 g de muestra que contempla 2 g de plástico más 1 g de sedimento, fueron suspendidas en 30 mL de agua destilada estéril. Para cada suspensión se realizaron diluciones de 10^{-10} a 10^{-25} . 100 μ L de cada dilución se sembraron por extensión en AN y YPD agar, incubando por 24 h a 30 °C. Colonias con morfología distinta, se sembraron por estría cruzada en el medio de origen hasta la obtención de cepas puras.

Cribado enzimático en medio sólido

Las cepas aisladas fueron evaluadas en cuatro actividades enzimáticas con diferentes inductores: esterasa/lipasa, hidrolasas de aceite mineral, cutinasa y lacasa. (1) Medio esterasa/lipasa (g/L): triptona 10, extracto de levadura 5, agar bacteriológico 20, emulsión de tributirina (TB) 10. (2) Hidrolasas de aceite mineral (g/L): triptona 10, extracto de levadura 5, agar bacteriológico 20, emulsión de aceite mineral (AM) 10. (3) Cutinasas (g/L): NaNO_3 3, K_2HPO_4 1, KCl 0.5, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01, agar bacteriológico 20, emulsión de aceite de linaza (AL) 15. (4) Lacasa (g/L): agar nutritivo 23, agar bacteriológico 5, ABTS 1 mM. Los medios fueron esterilizados por autoclave a 121 °C por 15 min. Las emulsiones, ABTS y leche en polvo se agregaron a los medios correspondientes antes de preparar las cajas, las cuales se almacenaron a 4 °C hasta su uso. 172 cepas se sembraron e incubaron en los cinco medios a 30 °C con monitoreos a 24, 48 y 72h. Se estableció un sistema de puntaje para evaluar las cepas en el cribado en medio sólido de la siguiente manera: nivel 0, sin crecimiento; nivel 1, poco crecimiento, sin halo; nivel 2, crecimiento alto, sin halo; nivel 3, crecimiento medio con poco halo (< 1 mm); y nivel 4, crecimiento alto con halo medio (> 1, < 3 mm); 5, crecimiento alto, halo alto (> 3 mm). Las cepas clasificadas como nivel 4 y 5 que expresan enzimas extracelulares asociadas a la degradación de plásticos fueron identificadas por MALDI-TOF. Aquellas clasificadas como nivel 5 fueron evaluadas en producción de enzimas en medio líquido.

Identificación por MALDI-TOF

La identificación de los microorganismos aislados se realizó por espectrometría de masas usando el equipo Bruker Daltonik MALDI Biotyper (Bremen, Alemania). Biomasa fresca de colonias aisladas fue colocada por duplicado en una placa de acero inoxidable con 96 pocillos, cubierta con 1 µL de ácido fórmico (70% v/v) y 1 µL de solución matriz de HCCA saturada, dejando secar entre adiciones. Se utilizó el programa Flexcontrol v3.4 con las condiciones del método MBT_FC.par.

Producción enzimática en medio líquido.

Las cepas con mayor halo en los cribados en medio sólido fueron seleccionadas para la producción de enzimas extracelulares en medio líquido. Para cada cepa se preparó un cultivo de 30 mL en medio nutritivo o medio YPD, en un matraz de 250 mL, incubando a 30 °C por 24 h a 150 rpm. A las 24 h se determinó la densidad óptica a 600 nm (Synergy HT Biotek, 270223), recuperando el volumen necesario para iniciar un cultivo de 30 mL a una DO_{600} de 0.6. El volumen calculado se centrifugó para desechar el sobrenadante y resuspender en 5 mL del medio correspondiente (esterasa/lipasa, cutinasa, poliesterasa, lacasa o proteasa) y generar el inóculo. Las fermentaciones se realizaron en matraces bafleados de 125 mL, con 25 mL de medio con inductor y 5 mL de inóculo. Los cultivos se realizaron a 150 rpm por 72 h a 30 °C. Se cuantificó el crecimiento y la actividad enzimática cada 24h, durante tres días, tomando 1 mL de muestra.

Para la producción de carboxilesterasas se preparó un medio mínimo (MM) compuesto de (g/L): $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.001, KCl 0.5, NaNO_3 3, extracto de levadura, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5, K_2HPO_4 1, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1, triptona 20, dextrosa 5, $\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.0001 y emulsión del inductor 10 g/L. Para esterases/lipasas, hidrolasas de aceite mineral y cutinasas los inductores fueron tributirina, aceite mineral y aceite de linaza respectivamente, adicionadas al inocular en forma de emulsión (200g/L, 1% v/v Tween 80). Para la producción de lacasas, se utilizó medio nutritivo (8 g/L) y $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (2mM) como inductor.

Crecimiento bacteriano

350 μL del cultivo se depositaron en una microplaca de 96 pozos y se leyó la absorbancia a 600 nm. El medio con emulsión se utilizó como blanco de lectura.

Actividad enzimática

Los extractos enzimáticos se recuperaron centrifugando cada muestra a 10,000 *g* durante 2 min a 24 °C y se conservaron a 4 °C. Cada medición se realizó por triplicado y se presentan las media y desviaciones estándar.

Actividad carboxilesterasa. Se realizó para los cultivos inducidos con tributirina, aceite mineral y aceite de linaza, utilizando p-nitro fenil butirato (p-NPB) como sustrato y adaptando el método reportado por Casas-Godoy *et al.* (2023). Se colocaron 20 μL del extracto enzimático, 125 μL de buffer salino (NaH_2PO_4 , NaCl 100 mM, pH 7.2) y 5 μL de p-NPB 40mM en 2M2B. La medición se realizó a 37 °C, durante 20 min, con lecturas cada 30 segundos a 405 nm. Una unidad de actividad enzimática se define como la cantidad de enzima necesaria para liberar 1 μmol de pNP por minuto bajo las condiciones evaluadas.

Actividad lacasa. La cuantificación se basó en el trabajo de Kumar *et al.* (2016) con algunas modificaciones. 20 μL del extracto enzimático se mezclaron 180 μL de la solución de ABTS 1 mM en buffer de acetatos 0.1 M (pH 4.5). La reacción fue monitoreada a 30 °C, durante 15 min a 436 nm. Para calcular la actividad se tomó como referencia $\epsilon = 2.9 \times 10^4 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ (Kumar *et al.*, 2016). Una unidad de actividad enzimática se define como la cantidad de enzima necesaria para oxidar 1 μmol de ABTS por minuto bajo las condiciones experimentales.

Resultados y Discusión

Aislamiento de especies cultivables del sitio Arena Cora

Un sitio se considera contaminado cuando la presencia de sustancias alcanza niveles que afectan la salud humana, la fauna y el medio ambiente (De Jesus & Ruiz, 2012). En el sitio “Arena Cora” (Tepic), se presenta la acumulación de polímeros sintéticos, lo cual genera cambios en la diversidad y abundancia de bacterias, hongos y levaduras en comparación con otros ambientes

no contaminados. La biodegradación de plásticos como PET, HDPE, LDPE, PS y PP ocurre mediante enzimas extracelulares con actividad hidrolítica sobre su superficie (Mohanani *et al.*, 2020). Distintos factores ambientales pueden favorecer la actividad microbiana, permitiendo el aislamiento y estudio de microorganismos potencialmente degradadores de plásticos.

De las 23 muestras recolectadas siete fueron de PET, cinco de LDPE, cuatro de PS, una del PP y seis cuya naturaleza de las muestras son una combinación de plásticos. La distribución de estos plásticos en el entorno del sitio, en su mayoría envases de primer uso, corresponden al tipo de plástico que se utiliza en las zonas metropolitanas para consumo humano. El aislamiento de bacterias en medios no selectivos como AN y YPD permitió obtener variabilidad morfológica de colonias cultivables en ambos medios. Un total de 172 cepas fueron aisladas y utilizadas para el cribado enzimático en medio sólido donde las cepas positivas formaron halos de aclaramiento o de cambio de coloración.

Este cribado buscó evaluar la capacidad para producir enzimas con potencial para degradar plástico. Tal es el caso de la actividad carboxilesterasas utilizando tributirina, aceite mineral y aceite de linaza como inductores. Además, se evaluó la actividad lacasa utilizando ABTS. La asignación de valores de acuerdo con los criterios previamente presentados se muestra en la Figura 2.

Los resultados del cribado muestran que las actividades esterasa/lipasa y las hidrolasas de aceite mineral tienen el mayor número de cepas positivas con un total de 48 (27.9%) y 34 (19.8%), respectivamente. Sin embargo, solo un 6.4% de estas cepas, para ambos inductores, fueron clasificadas como nivel 5, es decir un crecimiento y un halo de degradación alto. Otros inductores que han sido considerados para la búsqueda de actividades asociadas a la degradación de plásticos son el PET y el PCL (Danso *et al.*, 2019).

En el caso de las cutinasas, se identificaron cinco cepas positivas, de las cuales solo dos (2.91%) fueron consideradas nivel 5. En estudios previos, durante un cribado de cutinasas utilizando aceite de linaza, solo el 4.75% de 400 cepas fueron positivas (Adiguzel & Tuncer, 2017). Finalmente, de las lacasas se identificaron 15 cepas positivas, tres de ellas clasificadas como nivel 5.

Identificación por MALDI-TOF

A partir del cribado enzimático, 22 cepas clasificadas como nivel 5 en alguna de las actividades fueron seleccionadas para su identificación por MALDI-TOF. El análisis permitió identificar 17 de las cepas, de las cuales todas fueron bacterias con el 76.4% del género *Bacillus* y 11.8% del género *Pseudomonas* (Tabla 1).

Entre las cepas identificadas destacan *Bacillus cereus* (A39H, A46B, A57C, A58A) y *Bacillus subtilis* (A55A) las cuales presentaron alta actividad en presencia de tributirina y aceite mineral como inductores. Se ha reportado que *B. cereus* es capaz de degradar diversos polímeros incluyendo PE, PET, PS, HDPE y LDPE (Gambarini *et al.*, 2022). La degradación de

HDPE por esta especie fue confirmada por ensayos de monitoreo de pérdida de peso (Gupta *et al.*, 2023). Además, su capacidad de degradar microplásticos de PET, PS y PE, fue documentada por espectroscopía infrarroja y microscopía electrónica de barrido (SEM) (Auta *et al.*, 2017). Por otra parte, *B. cereus* fue aislada de muestras de LDPE, y se le asocia una tasa de degradación del $35.7 \pm 4.0\%$ en este polímero (Muhonja *et al.*, 2018).

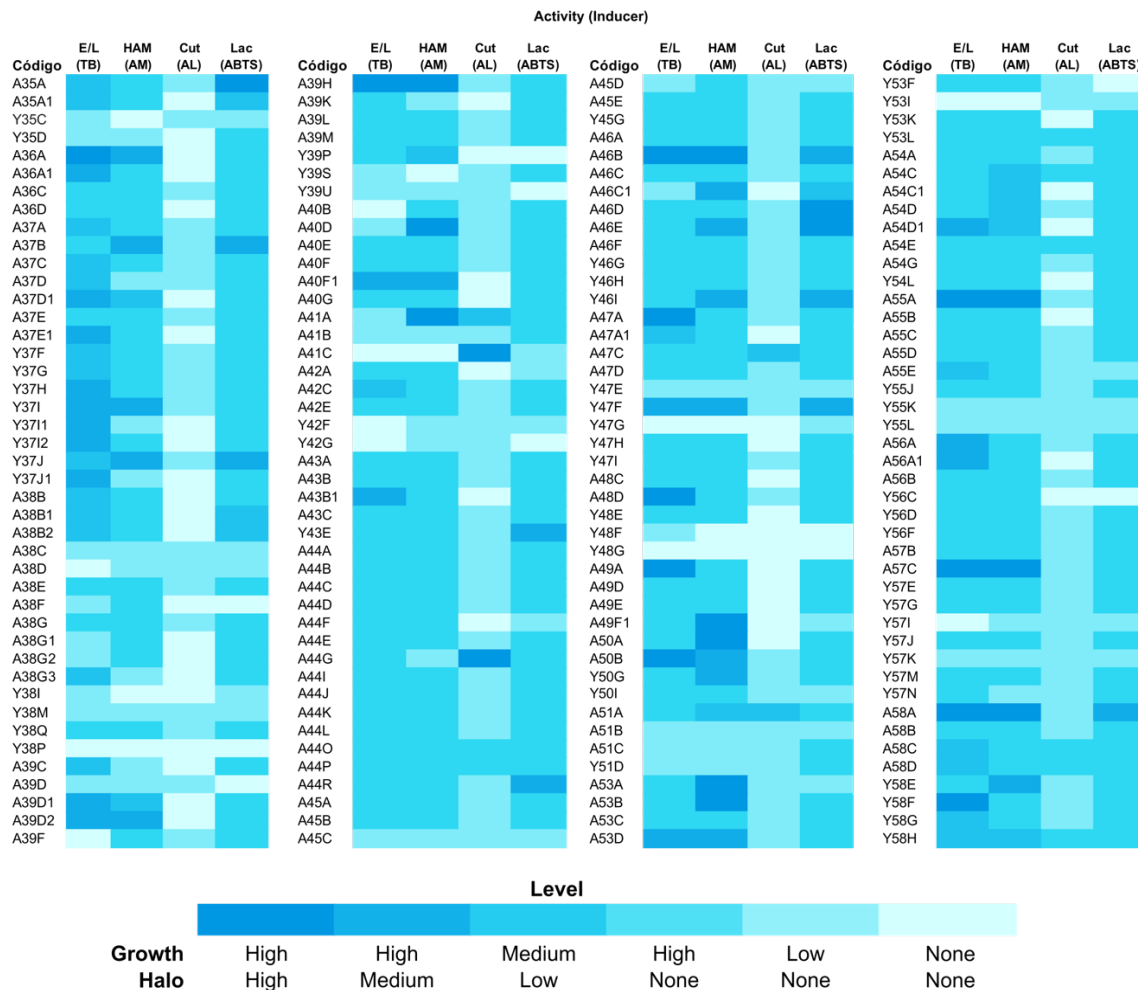


Figura 2. Cribado enzimático de cepas aisladas del sitio “Arena Cora”.

E/L: esterasa/lipasa, inductor tributirina (TB); HAM: hidrolasas de aceite mineral, inductor aceite mineral (AM); CUT: cutinasas, inductor aceite de linaza (AL); Lac: lacasas, inductor ABTS.

B. subtilis es eficiente en la degradación de HDPE. En un estudio realizado en India, con muestras de una zona costera, se demostró su capacidad degradativa mediante la pérdida de peso, viabilidad y espectroscopía infrarroja (Sangeetha Devi *et al.*, 2019). Además, en combinación con *Bacillus flexus*, lograron una reducción de 1.5% del peso del PP pretratado con luz UV (Aravinthan *et al.*, 2016). Por otro lado, *B. subtilis* degradó 16.1% de tiras de LDPE en un periodo de cuatro meses (Pathak & Navneet, 2023), y *Bacillus thuringiensis* causa daños en la superficie de PE (Yun *et al.*, 2023).

Dentro del género de *Pseudomonas*, *Pseudomonas chlororaphis* es la única especie identificada con reportes en cuanto a la degradación de polímeros. Su potencial fue evaluado clonando y expresando dos genes codificantes para dos de sus lipasas intracelulares en *Escherichia coli*. La actividad enzimática fue evaluada usando suspensiones de polímeros polihidroxialcanoatos, demostrando su capacidad para hidrolizar polímeros como PLA, PHA, PES, y PCL (Mohanani *et al.*, 2022).

Tabla 1. Cepas identificadas por MALDI-TOF.

Código	Microorganismo	Código	Microorganismo
A35A	<i>Pseudomonas taiwanensis</i>	A48D	<i>Bacillus cereus</i>
A36A	<i>Bacillus cereus</i>	A49A	Sin identificar
A39H	<i>Bacillus cereus</i>	A49F	Sin identificar
A40D	<i>Bacillus amyloliquefaciens ssp. plantarum</i>	A50A	<i>Glutamicibacter mysorens</i>
A41A	Sin identificar	A50B	<i>Bacillus thuringiensis</i>
A41C	<i>Bacillus cereus</i>	A53A	<i>Bacillus marisflavi</i>
A44G	<i>Klebsiella oxytoca</i>	A53B	Sin identificar
A46B	<i>Bacillus cereus</i>	A55A	<i>Bacillus subtilis</i>
A46D	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	A57C	<i>Bacillus cereus</i>
A46E	Sin identificar	A58A	<i>Bacillus cereus</i>
A47A	<i>Bacillus cereus</i>	Y58F	<i>Bacillus subtilis</i>

Además, en un estudio realizado por (Howard *et al.*, 1999), *P. chlororaphis* fue cultivada en una solución con Impranil (poliuretano de poliéster alifático) como única fuente de carbono para determinar la capacidad degradadora en poliuretano (PU). Se observó un aclaramiento del medio de cultivo y se determinó la actividad enzimática de proteínas secretadas durante el proceso (Howard *et al.*, 1999).

Actividad enzimática mediante fermentación sumergida.

Inducción con tributirina

Las esterases y lipasa son hidrolasas capaces de romper ésteres carboxílicos, capacidad que les permite participar en la degradación de diversos poliésteres (Tchigvintsev *et al.*, 2015). La producción de estas enzimas fue evaluada para 11 cepas, inducida con tributirina y cuantificada cada 24 h por un periodo de 72 h (Tabla 2). La actividad más alta fue obtenida con las cepas A55A (127.0 ± 2.4 U/mL) a las 24 h y A58A ($51.8 \text{ U/mL} \pm 5.4$) a las 72 h.

La Figura 3 muestra las cinéticas de actividad para las cepas A55A y A58A tras la inducción con tributirina, junto con la estimación de crecimiento por turbidez a $\text{DO}_{600\text{nm}}$. La Figura 3 a, muestra para *B. subtilis* (A55A) una etapa estacionaria con expresión enzimática constante entre las 24 y 72h, con un punto máximo de actividad esterasa/lipasa a las 24h. Por otro lado, la Figura 3 b muestra para *B. cereus* (A58A) un aumento progresivo en la expresión enzimática entre las 24 y las 72 h con un crecimiento máximo a las 24h. Estas especies del género *Bacillus* han sido ampliamente asociadas a la degradación de diferentes plásticos poliésteres. *B. cereus* (Auta *et al.*, 2017) y *B. subtilis* (Maheswaran *et al.*, 2023) han sido estudiadas en la degradación de PET.

Tabla 2. Evaluación de la actividad enzimática esterasa/lipasa.

Cepa	Bacteria	Actividad enzimática (U/mL)
A36A	<i>Bacillus cereus</i>	$15.3^a \pm 6.7$
A39H	<i>Bacillus cereus</i>	$10.8^c \pm 1.9$
A46B	<i>Bacillus cereus</i>	$13.1^c \pm 1.5$
A47A	<i>Bacillus cereus</i>	$37.2^a \pm 2.2$
A48D	<i>Bacillus cereus</i>	$30.7^b \pm 2.3$
A49A	Sin identificar	$11.9^b \pm 4.8$
A50B	<i>Bacillus thuringiensis</i>	$14.6^c \pm 4.4$
A55A	<i>Bacillus subtilis</i>	$127.0^a \pm 2.4$
A57C	<i>Bacillus cereus</i>	$7.6^c \pm 3.1$
A58A	<i>Bacillus cereus</i>	$51.8^c \pm 5.4$
Y58F	<i>Pseudomonas koreensis</i>	$27.6^a \pm 6.5$

Actividad enzimática máxima cuantificada a las 24 h (a); 48 h (b); 72 h (c).

De interés particular encontramos a *P. koreensis* ya que actualmente, no existen reportes que la asocien a la degradación de plásticos o donde se indique actividad esterasa. No obstante, Anbu (2014) reportó actividad de una lipasa extracelular cuya preferencia se observó para

ácidos grasos de cadena media y larga TG (10:0 – 18:0). En este estudio, *P. koreensis* mostró una actividad y crecimiento constante hasta las 72h, con una expresión máxima a las 24 h con tributirina como inductor (Figura 3 c) lo que la convierte en un candidato para la degradación de plásticos poliésteres.

Inducción con aceite mineral

El aceite mineral está compuesto por alcanos derivados del petróleo crudo, por lo que fue utilizado como inductor para evaluar la producción de enzimas capaces de degradar hidrocarburos. La inducción se evaluó para 11 cepas cuantificando su actividad cada 24 h por 72 h (Tabla 3). Las mayores actividades enzimáticas se obtuvieron a las 24 h para la cepa A55A (*B. subtilis*) con 129.8 U/mL, seguido de la cepa A41A (Sin identificar) con 85.9 U/mL.

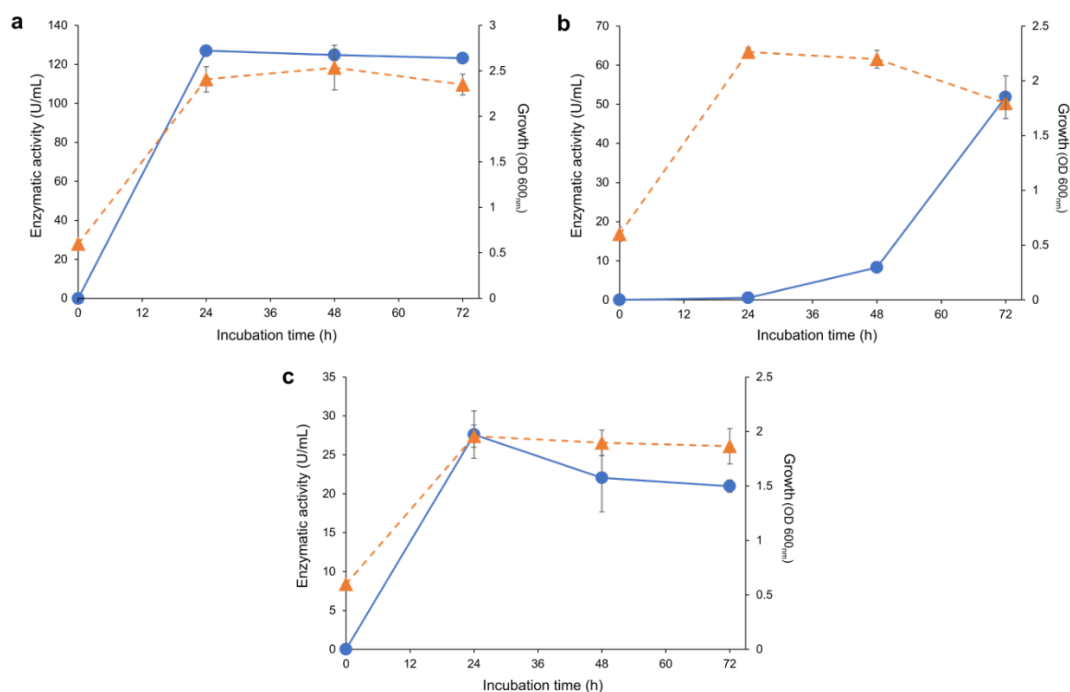


Figura 3. Cinéticas de actividad esterasa/lipasa (●) y crecimiento (▲) de bacterias inducidas con tributirina.

a) *B. subtilis* (55A), b) *B. cereus* (58A), c) *P. koreensis* (58F).

Tabla 3. Evaluación de la actividad enzimática inducida con aceite mineral.

Cepa	Bacteria	Actividad enzimática (U/mL)
A39H	<i>Bacillus cereus</i>	14.2 ^c ± 5.4
A40D	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> spp. <i>plantarum</i>	27.7 ^a ± 2.6
A41A	Sin identificar	85.9 ^a ± 9.3
A46B	<i>Bacillus cereus</i>	7.8 ^a ± 0.6
A49F	Sin identificar	22.5 ^c ± 6.9
A50B	<i>Bacillus thuringiensis</i>	13.6 ^c ± 3.5
A53A	<i>Bacillus marisflavis</i>	14.4 ^c ± 4.3
A53B	Sin identificar	12.0 ^c ± 6.0
A55A	<i>Bacillus subtilis</i>	129.8 ^a ± 3.6
A57C	<i>Bacillus cereus</i>	6.5 ^c ± 3.3
A58A	<i>Bacillus cereus</i>	23.7 ^c ± 1.7

Actividad enzimática máxima cuantificada a las 24 h (a); 48 h (b); 72 h (c).

La expresión enzimática de *B. subtilis* en presencia de aceite mineral (Figura 4 a) mostró una reducción del 61% después de su punto máximo a las 24h, tiempo en el cual llegó a su fase estacionaria de crecimiento. *B. subtilis* ha demostrado ser eficiente en la degradación de hidrocarburos saturados e insaturados, mediante la producción de alcano hidrolasas, enzimas que rompen los enlaces de los hidrocarburos (Darsa et al., 2014; Parthipan et al., 2017).

Por otro lado, la Figura 4b muestra la cepa A41A cuyo crecimiento se ve relacionado con su expresión enzimática. Además de *B. subtilis*, existen diversas bacterias reportadas con capacidad de degradar hidrocarburos derivados del petróleo, como *Pseudomonas aeruginosa*, *Alcanivorax borkumensis*, *Rhodococcus erythropolis*, *Achromobacter xylosoxidans* y *Burkholderia cepacia*. Estas especies han mostrado la habilidad de producir una variedad de enzimas como oxidasas, deshidrogenasas, oxigenasas y alcano hidrolasas (Kadri et al., 2018; Lin et al., 2024). El estudio de la expresión enzimática en presencia de alcanos de bajo peso molecular es un método rápido para evaluar la degradación de plásticos.

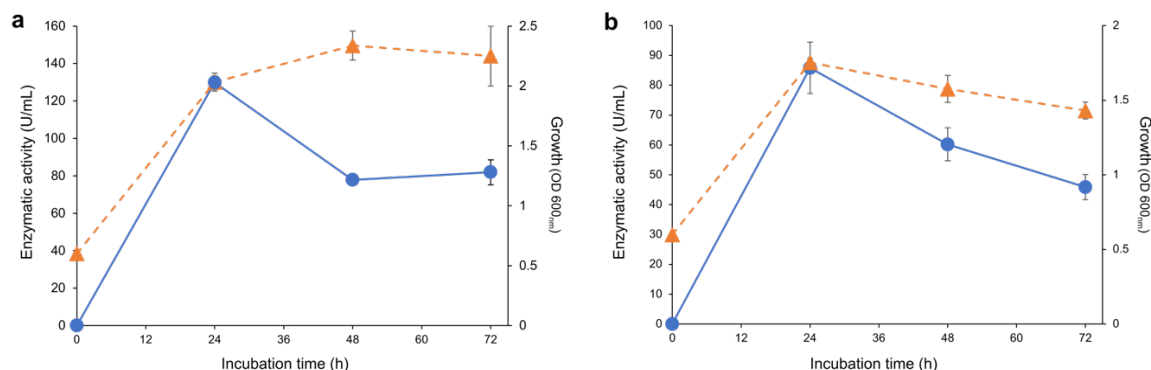


Figura 4. Cinéticas de actividad hidrolítica (●) y crecimiento (▲) de bacterias inducidas con aceite de mineral para las cepas a) *B. subtilis* (A55A), b) Sin identificar (A41A).

Inducción con aceite de linaza

La actividad de las cutinasas ha sido relacionada con la degradación de plásticos debido a sus similitudes estructurales y catalíticas con otras hidrolasas como las PETasas, lipasas y esterasas (Retnadhas *et al.*, 2024). Estas enzimas han sido aisladas en hongos, bacterias y plantas. En este trabajo, se utilizó el aceite de linaza para inducir la producción de cutinasas. De las cuatro cepas positivas en medio sólido, se seleccionaron las dos cepas nivel 5 (Figura 2) para evaluar su producción enzimática extracelular. Ambas cepas mostraron actividad a partir de las 48h; sin embargo, *B. cereus* (A41C) alcanzó su máxima actividad (17.05 U/mL) a las 72 h (Tabla 4).

Tabla 4. Evaluación de actividad enzimática inducida con aceite de linaza

Cepa	Bacteria	Actividad enzimática (U/mL)
A41C	<i>Bacillus cereus</i>	17.1 ^a ± 3.2
A44G	<i>Klebsiella oxytoca</i>	4.2 ^b ± 4.1

Actividad enzimática máxima cuantificada a las 24 h (a); 48 h (b); 72 h (c).

El género *Bacillus*, tiene capacidad para la producción de cutinasas, con actividades de 15 U/mL en un periodo de 4 días usando cutina de manzana (Adiguzel & Tuncer, 2017); mientras

que, *Klebsiella oxycota* solo se ha asociado a la degradación de hidrocarburos como el petróleo (Rabelo Florez & Márquez Gómez, 2022).

Actividad Lacasa

Las lacasas son enzimas polifenol oxidasas que contienen iones cobre en su estructura, lo que les permite catalizar la oxidación de una amplia variedad de sustratos fenólicos y aminas aromáticas, reduciendo el oxígeno molecular a agua (Lin et al., 2023). Estas enzimas han sido ampliamente estudiadas y aisladas de diferentes fuentes biológicas como plantas, insectos, bacterias y principalmente hongos.

Cruz Pérez (2016) propuso una ruta metabólica en la que ciertos hongos emplean lacasa y lignina peroxidasa para la degradación del LDPE, utilizando mediadores e inductores. Este mecanismo inicia con la oxidación del ABTS por la lacasa, seguido de la acción de la manganoso peroxidasa que utiliza iones cúpricos y peróxido de hidrogeno para debilitar los enlaces del polímero. Finalmente, interviene la lignina peroxidasa que convierte la molécula en oligómeros.

De las 15 cepas positivas en el cribado en medio sólido para actividad lacasa (Figura 5), se evaluaron tres en fermentación sumergida durante 72 h (Tabla 5). La mayor producción enzimática se obtuvo con la cepa A46E a las 72 h con 10.3 U/mL. Existen pocos reportes de lacasas bacterianas, sin embargo, la lacasa de *Acinetobacter baumannii* clonada y expresada en *E. coli* produce 0.159 U/mL (Zhang et al., 2022), siendo menor el valor de actividad enzimática que el obtenido en la cepa A46E. Se puede observar que, a pesar de ser cepas positivas en medio sólido, la cepa A46D tuvo una actividad extracelular baja, mientras que no fue detectada con la cepa A35A.

Tabla 5. Evaluación de actividad enzimática lacasa.

Cepa	Bacteria	Actividad enzimática (U/mL)
A35A	<i>Pseudomonas taiwanensis</i>	NC
A46D	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0.2° ± 0.06
A46E	Sin identificar	10.3° ± 0.28

Actividad enzimática máxima cuantificada a las 24 h (a); 48 h (b); 72 h (c).

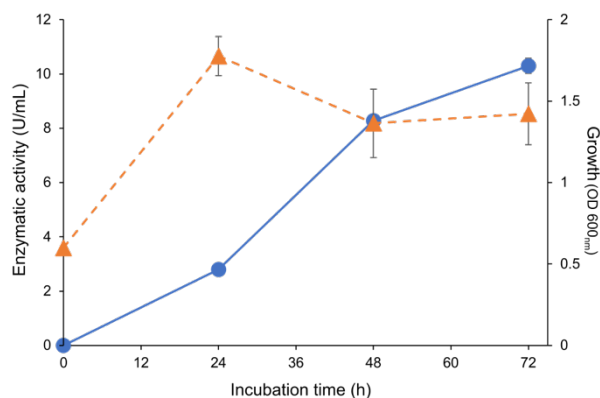


Figura 5. Cinéticas de actividad lacasa (●) y crecimiento (▲) para la bacteria A46E.

Conclusiones

El presente estudio permitió el aislamiento y caracterización de microorganismos con potencial para la degradación de plásticos a partir de un sitio altamente contaminado en Tepic, Nayarit, México. Se identificaron 172 cepas, de las cuales 22 presentaron actividad enzimática relevante, destacando especies del género *Bacillus* y *Pseudomonas*. Las pruebas de cribado enzimático en medio sólido revelaron que las actividades de esterasa/lipasa e hidrolasas de aceite mineral fueron las más frecuentes, en las cepas aisladas. En cuanto a las cutinasas y lacasas, solo un pequeño porcentaje mostró actividad elevada.

El análisis en fermentación sumergida confirmó la producción de enzimas hidrolíticas y oxidoreductasas con potencial para la degradación de plásticos poliésteres. *B. cereus* y *B. subtilis* mostraron una producción significativa de esterasas y cutinasas; mientras que, *P. koreensis*, sin reportes previos en la degradación de plásticos, exhibió actividad lipasa inducida por tributirina, lo que sugiere su posible papel en la degradación de polímeros.

Los resultados obtenidos confirman la importancia de explorar entornos contaminados para la identificación de microorganismos. La cepa con mayor actividad enzimática, *B. subtilis* (A55A), es una candidata prometedora para el desarrollo de estrategias biotecnológicas en la gestión de residuos plásticos. Sin embargo, se requieren estudios adicionales para caracterizar a nivel molecular los mecanismos enzimáticos involucrados y evaluar su eficiencia en condiciones de degradación a mayor escala.

Contribución de los autores

Conceptualización del trabajo, LCG, MRM; desarrollo de la metodología, YAL; manejo de software, LCG, MK y ACV; validación experimental, MTSM, MRM; análisis de resultados, YAL, ASG, MRM; manejo de datos, YAL, MRM.; escritura y preparación del manuscrito, LCG, YAL, ASG, MRM.; redacción, revisión y edición, LCG, ASH y MRM.; administrador de proyectos, LCG, MRM; adquisición de fondos, LCG, MRM.

Todos los autores de este manuscrito han leído y aceptado la versión publicada del mismo.

Financiamiento

Esta investigación fue financiada por CONAHCYT, proyecto FORDECYT-PRONACES/1727997/2020.

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Referencias

- Acosta González, G., Carrillo Rosales, D. V., & Caballero Vásquez, A. (2022). Microplásticos en agua y en organismos. *Revista de La Academia Mexicana de Ciencias*, 73, 14-21.
- Adiguzel, A. O., & Tuncer, M. (2017). Purification and characterization of cutinase from *Bacillus* sp. KY0701 isolated from plastic wastes. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 47(9), 925-933. <https://doi.org/10.1080/10826068.2017.1365245>
- Anbu, P. (2014). Characterization of an extracellular lipase by *Pseudomonas koreensis* BK-L07 isolated from soil. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 44(3), 266-280. <https://doi.org/10.1080/10826068.2013.812564>
- Aravinthan, A., Arkatkar, A., Juwarkar, A. A., & Doble, M. (2016). Synergistic growth of *Bacillus* and *Pseudomonas* and its degradation potential on pretreated polypropylene. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 46(2), 109-115. <https://doi.org/10.1080/10826068.2014.985836>
- Auta, H. S., Emenike, C. U., & Fauziah, S. H. (2017). Screening of *Bacillus* strains isolated from mangrove ecosystems in Peninsular Malaysia for microplastic degradation. *Environmental Pollution*, 231(Pt 2), 1552-1559. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.09.043>
- Bhardwaj, H., Gupta, R., & Tiwari, A. (2012). Communities of microbial enzymes associated with biodegradation of plastics. *Journal of Polymers and the Environment*, 21(2), 575-579. <https://doi.org/10.1007/s10924-012-0456-z>
- Brugnari, T., Braga, D. M., Dos Santos, C. S. A., Torres, B. H. C., Modkovski, T. A., Haminiuk,

- C. W. I., & Maciel, G. M. (2021). Laccases as green and versatile biocatalysts: from lab to enzyme market-an overview. *Bioresources and Bioprocessing*, 8(1), 131. <https://doi.org/10.1186/s40643-021-00484-1>
- Casas-Godoy, L., Gonzalez-Escobar, J. L., Mathis, A. G., & Barrera-Martínez, I. (2023). Revalorization of untreated Brewer's spent grain: novel and versatile feedstock to produce cellulases, lipases, and yeast biomass in a biorefinery approach. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 13(3), 1659-1670. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-01157-3>
- Charnock, C. (2021). Norwegian Soils and Waters Contain Mesophilic, Plastic-Degrading Bacteria. *Microorganisms*, 9(1). <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010094>
- Cruz Pérez, L. C. (2016). *Degradacion de polietileno de baja densidad a partir de hongos de podredumbre blanca: revision sistematica de la literatura*. Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias]. <https://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/57936>
- Danso, D., Chow, J., & Streit, W. R. (2019). Plastics: Environmental and Biotechnological Perspectives on Microbial Degradation. *Applied and Environmental Microbiology*, 85(19). <https://doi.org/10.1128/AEM.01095-19>
- Darsa, K. V., Thatheyus, A. J., & Ramya, D. (2014). Biodegradation of Petroleum Compound Using the Bacterium *Bacillus subtilis*. *Science International*, 2(1), 20-25. <https://doi.org/10.17311/sciintl.2014.20.25>
- De Jesus, E., & Ruiz, U. (2012). La remediación y reutilización de sitios contaminados. Orientaciones para personal técnico de instituciones públicas de gobierno, pequeñas y medianas empresas e instituciones de educación superior. <https://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/Libros2011/CD001405.pdf>
- Dhali, S. L., Parida, D., Kumar, B., & Bala, K. (2024). Recent trends in microbial and enzymatic plastic degradation: a solution for plastic pollution predicaments. *Biotechnology for Sustainable Materials*, 1(1). <https://doi.org/10.1186/s44316-024-00011-0>
- Gambarini, V., Pantos, O., Kingsbury, J. M., Weaver, L., Handley, K. M., & Lear, G. (2022). PlasticDB: a database of microorganisms and proteins linked to plastic biodegradation. *Database*, 2022. <https://doi.org/10.1093/database/baac008>
- Geyer, R., Jambeck, J. R., & Law, K. L. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances*, 3(7), e1700782. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1700782>
- Griffin, M., & Karaski, R. (2022). Plastic pollution policy country profile: Mexico. Nicholas Institute for Environmental Policy Solutions, Duke University. <https://nicholasinstitute.duke.edu/sites/default/files/projects/Plastic-Pollution-Policy-Country-Profile-Mexico.pdf>
- Gupta, K. K., Sharma, K. K., & Chandra, H. (2023). Utilization of *Bacillus cereus* strain CGK5 associated with cow feces in the degradation of commercially available high-density polyethylene (HDPE). *Archives of Microbiology*, 205(3), 101. <https://doi.org/10.1007/s00203-023-03448-5>
- Howard, G. T., Ruiz, C., & Hilliard, N. P. (1999). Growth of *Pseudomonas chlororaphis* on apolyester–polyurethane and the purification and characterization of a polyurethanase–esterase enzyme. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 43(1-2), 7-12. [https://doi.org/10.1016/s0964-8305\(98\)00057-2](https://doi.org/10.1016/s0964-8305(98)00057-2)
- Kadri, T., Rouissi, T., Magdouli, S., Brar, S. K., Hegde, K., Khiari, Z., Daghrir, R., & Lauzon, J. M. (2018). Production and characterization of novel hydrocarbon degrading enzymes from *Alcanivorax borkumensis*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 112, 230-240.

- <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.177>
- Kumar, R., Kaur, J., Jain, S., & Kumar, A. (2016). Optimization of laccase production from *Aspergillus flavus* by design of experiment technique: Partial purification and characterization. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 14(1), 125-131. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2016.05.006>
- Landrigan, P. J., Stegeman, J. J., Fleming, L. E., Allemand, D., Anderson, D. M., Backer, L. C., Brucker-Davis, F., Chevalier, N., Corra, L., Czerucka, D., Bottein, M. D., Demeneix, B., Depledge, M., Deheyn, D. D., Dorman, C. J., Fenichel, P., Fisher, S., Gaill, F., Galgani, F.,... Rampal, P. (2020). Human Health and Ocean Pollution. *Annals of Global Health*, 86(1), 151. <https://doi.org/10.5334/aogh.2831>
- Lin, H., Yu, Z., Wang, Q., Liu, Y., Jiang, L., Xu, C., & Xian, M. (2023). Application of Laccase Catalysis in Bond Formation and Breakage: A Review. *Catalysts*, 13(4). <https://doi.org/10.3390/catal13040750>
- Lin, Z., Jin, T., Xu, X., Yin, X., Zhang, D., Geng, M., Pang, C., Luo, G., Xiong, L., Peng, J., & Fei, J. (2024). Screening and degradation characteristics of plastic-degrading microorganisms in film-mulched vegetable soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 186. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2023.105686>
- Maheswaran, B., Al-Ansari, M., Al-Humaid, L., Sebastin Raj, J., Kim, W., Karmegam, N., & Mohamed Rafi, K. (2023). *In vivo* degradation of polyethylene terephthalate using microbial isolates from plastic polluted environment. *Chemosphere*, 310, 136757. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136757>
- Méndez, S. (2024). Biorremediación para la degradación de plásticos de polietileno por microorganismos. Universidade da Coruña, Facultad de Ciencias. <https://www.udc.es/tfe/traballo/?codigo=37517>
- Mohanan, N., Montazer, Z., Sharma, P. K., & Levin, D. B. (2020). Microbial and Enzymatic Degradation of Synthetic Plastics. *Frontiers in Microbiology*, 11, 580709. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.580709>
- Mohanan, N., Wong, C. H., Budisa, N., & Levin, D. B. (2022). Characterization of Polymer Degrading Lipases, LIP1 and LIP2 From *Pseudomonas chlororaphis* PA23. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10, 854298. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.854298>
- Morillo-Velarde Martínez, L. (2021). *Efectos potenciales de los microplásticos en la salud humana*. [Tesis de grado] Universidad de Sevilla, Departamento de Química Inorgánica. <https://idus.us.es/items/c855e8e8-095d-4391-8835-14d7925d627b>
- Muhonja, C. N., Makonde, H., Magoma, G., & Imbuga, M. (2018). Biodegradability of polyethylene by bacteria and fungi from Dandora dumpsite Nairobi-Kenya. *PLoS One*, 13(7), e0198446. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198446>
- Parthipan, P., Preetham, E., Machuca, L. L., Rahman, P. K., Murugan, K., & Rajasekar, A. (2017). Biosurfactant and degradative enzymes mediated crude oil degradation by bacterium *Bacillus subtilis* A1. *Frontiers in Microbiology*, 8, 193. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00193>
- Pathak, V. M., & Navneet. (2023). Exploitation of bacterial strains for microplastics (LDPE) biodegradation. *Chemosphere*, 316, 137845. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.137845>
- Rabelo Florez, R. A., & Márquez Gómez, M. A. (2022). Bacterias Gram negativas biodegradadoras de hidrocarburos. *Revista de Ciencias*, 24(2). <https://doi.org/10.25100/rc.v24i2.9935>

- Retnadhas, S., Ducat, D. C., & Hegg, E. L. (2024). Nature-Inspired Strategies for Sustainable Degradation of Synthetic Plastics. *JACS Au*, 4(9), 3323-3339. <https://doi.org/10.1021/jacsau.4c00388>
- Ritchie, H., Samborska, V., & Roser, M. (2023). Plastic Pollution. Published online at OurWorldinData.org. <https://ourworldindata.org/plastic-pollution>
- Rueda Rueda, H. A., Jimenez-junca, C. A., & Prieto Correa, R. E. (2020). Cutinases obtained from filamentous fungi: comparison of screening methods. *Dyna*, 87(214), 183-190. <https://doi.org/10.15446/dyna.v87n214.83737>
- Sangeetha Devi, R., Ramya, R., Kannan, K., Robert Antony, A., & Rajesh Kannan, V. (2019). Investigation of biodegradation potentials of high density polyethylene degrading marine bacteria isolated from the coastal regions of Tamil Nadu, India. *Marine Pollution Bulletin*, 138, 549-560. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.12.001>
- Stanley, J., Culliton, D., Jovani-Sancho, A.-J., & Neves, A. C. (2025). The Journey of Plastics: Historical Development, Environmental Challenges, and the Emergence of Bioplastics for Single-Use Products. *Eng*, 6(1). <https://doi.org/10.3390/eng6010017>
- Tchigvintsev, A., Tran, H., Popovic, A., Kovacic, F., Brown, G., Flick, R., Hajighasemi, M., Egorova, O., Somody, J. C., Tchigvintsev, D., Khusnutdinova, A., Chernikova, T. N., Golyshina, O. V., Yakimov, M. M., Savchenko, A., Golyshin, P. N., Jaeger, K. E., & Yakunin, A. F. (2015). The environment shapes microbial enzymes: five cold-active and salt-resistant carboxylesterases from marine metagenomes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(5), 2165-2178. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-6038-3>
- Yoshida, S., Hiraga, K., Takehana, T., Taniguchi, I., Yamaji, H., Maeda, Y., Toyohara, K., Miyamoto, K., Kimura, Y., & Oda, K. (2016). A bacterium that degrades and assimilates poly(ethylene terephthalate). *Science*, 351(6278), 1196-1199. <https://doi.org/10.1126/science.aad6359>
- Yun, S.-D., Lee, C. O., Kim, H.-W., An, S. J., Kim, S., Seo, M.-J., Park, C., Yun, C.-H., Chi, W. S., & Yeom, S.-J. (2023). Exploring a new biocatalyst from *Bacillus thuringiensis* JNU01 for polyethylene biodegradation. *Environmental Science & Technology Letters*, 10(6), 485-492. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.3c00189>
- Zhang, A., Hou, Y., Wang, Q., & Wang, Y. (2022). Characteristics and polyethylene biodegradation function of a novel cold-adapted bacterial laccase from Antarctic sea ice psychrophile *Psychrobacter* sp. NJ228. *Journal of Hazardous Materials*, 439, 129656. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.129656>