

**UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA**

**FACULTAD DE CIENCIA Y FILOSOFÍA**

**“ALBERTO CAZORLA TALLERÍ”**



**BIODEGRADACIÓN DE POLIESTIRENO CON *TENEBRIO MOLITOR*  
PARA LA SOSTENIBILIDAD DE EMPRESAS**

**TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL PARA OPTAR EL  
TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

**AUTOR:**

**FRANCO RODRIGO PORTOCARRERO ESTRADA**

**ASESOR(ES):**

**OSCAR ENRIQUE AGUINAGA VARGAS**

**LIMA – PERÚ**

**2021**

## TABLA DE CONTENIDOS

<b>RESUMEN</b>	3
<b>ANTECEDENTES</b>	4
<b>DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA ABORDADO</b>	5
<b><i>TENEBRIO MOLITOR</i></b>	7
<b><i>TENEBRIO MOLITOR: ¿PLAGA U OPORTUNIDAD DE DESARROLLO?</i></b>	8
<b><i>TENEBRIO MOLITOR Y LOS OBJETIVOS DEL DESARROLLO SOSTENIBLE</i></b>	9
<b>CONTEXTO DE LA NECESIDAD CORPORATIVA DEL PLÁSTICO</b>	10
<b>IMPACTO DEL TRABAJO EN LA EMPRESA O INSTITUCIÓN DONDE SE VA A REALIZAR EL TSP</b>	11
<b>OBJETIVOS</b>	12
<b>Objetivo General</b>	12
<b>Objetivos Específicos</b>	12
<b>METODOLOGÍA A EMPLEAR</b>	12
<b>RESULTADOS</b>	13
<b>Caracterización biológica de <i>Tenebrio molitor</i></b>	13
<b>¿Por qué realizar una caracterización biológica de <i>Tenebrio molitor</i>?</b>	13
<b>Caracterización biológica de <i>Tenebrio molitor</i></b>	14
<b>Estadios de desarrollo de <i>Tenebrio molitor</i></b>	21
<b>Ensayo de biodegradación de plásticos con estadio larvario de <i>T. molitor</i></b>	31
<b>Resultados del proceso de biodegradación de plástico</b>	37
<b>Definición de indicadores de eficiencia de la degradación de plástico</b>	44
<b>Definición de indicadores de variación de biomasa</b>	45
<b>Definición de indicadores de productividad de heces</b>	48
<b>Influencia de la mortalidad de <i>Tenebrio molitor</i></b>	51
<b>El problema del Hexabromociclododecano</b>	52
<b>CONCLUSIONES</b>	55
<b>RECOMENDACIONES</b>	56
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	60

## RESUMEN

El poliestireno es un material muy útil para la cadena de valor de las empresas, ya que es ampliamente utilizado en los procesos de aislamiento térmico, protección sanitaria, transporte y almacenamiento ordenado de productos alimenticios. No obstante, es un elemento que forma parte de las mermas en los procesos industriales y un residuo muy común del consumidor final. El presente trabajo, mediante el análisis e interpretación de información científica, presenta una revisión metodológica de elementos relevantes para la biodegradación del poliestireno a través de larvas de *Tenebrio molitor*, una especie de coleóptero con la capacidad de digerir el plástico. La revisión tiene como objetivo principal buscar un sustento científico que permita la aplicación de futuras propuestas de mejora, para la disposición sostenible de los residuos sólidos plásticos, a empresas del rubro de alimentos y bebidas, entre otros, que incluyan el análisis de un proceso de biodegradación de plástico utilizando al coleóptero *Tenebrio molitor* y al mismo tiempo cumplir los Objetivos del Desarrollo Sostenible (ODS) 3 (Salud y Bienestar), 6 (Agua y Saneamiento) y 12 (Producción y Consumo Responsable) al implementar un proceso de disposición de residuos plásticos que no genere contaminantes al aire, agua o suelo. Finalmente, una vez revisados diversos elementos relevantes para la biodegradación de poliestireno por parte de *Tenebrio molitor*, el trabajo concluyó e hizo recomendaciones relacionadas a líneas de investigación y el direccionamiento de futuros esfuerzos científicos para contribuir al desarrollo tecnológico del uso de *Tenebrio molitor* para la biodegradación de plásticos, buscando así ser un elemento de valor para las estrategias de las empresas que tengan como finalidad el cumplimiento de los ODS.

**Palabras clave:** Poliestireno, *Tenebrio molitor*, Gestión de residuos, Biotecnología, Biodegradación sostenible.

## **ANTECEDENTES**

El ser humano es parte de un entorno en el cual desarrolla sus actividades cotidianas desde hace cientos de años y, a su vez, se encuentra ligado al mismo bajo una relación dependiente ya que requiere de, y se relaciona con, los recursos provistos por el ambiente, el cual contiene elementos físicos, químicos y biológicos (Gómez, 2016). Es factible asumir que, al encontrarse en íntima, y constante, relación con las afectaciones que pueden ocurrirle al ambiente es, en consecuencia, el ser humano quien debe encargarse de buscar la resolución a los problemas ambientales, de tal modo que contribuyan a minimizar los impactos ambientales.

Es así que, al referirnos a la relación entre ser humano-ambiente, es inadmisibile el no hablar del problema de la contaminación ambiental, la cual se entiende por la inclusión de sustancias, formas de energía u organismos que no son parte del ambiente en cantidades superiores a las que el mismo sistema puede soportar, por ser elementos que interfieren en la salud de diversos organismos, involucran el daño de bienes naturales y afectan el equilibrio del espacio en el que se encuentran estos elementos (Albert, 2011).

Los polímeros no son una invención humana. El mundo natural está lleno de polímeros. Algunos ejemplos son la celulosa, la seda, el caucho, la fibra muscular, el cuerno, el cabello y el ADN. Un polímero es una molécula grande que consiste en muchas subunidades iguales o similares unidas entre sí. La palabra polímero se deriva del griego πολύς, que significa "muchos", y "ο", que significa "parte".

Los plásticos, por otro lado, si forman parte de la invención humana. El plástico es un término resumido que se utiliza normalmente para los polímeros artificiales, es decir, sintéticos. El primer polímero artificial todavía no era completamente sintético. En la década de 1850, el metalúrgico e inventor inglés Alexander Parkes trató la celulosa con ácido nítrico y así creó la nitrocelulosa termoplástica (Freinkel 2011).

El plástico es un importante material que ha mostrado ser de gran utilidad al estilo de vida moderno, puede salvar vidas en la medicina, añade seguridad a los coches o protege los alimentos de ser desperdiciados. El plástico ha revolucionado la electrónica en la que confiamos todos los días (Geyer, 2020). Sin duda, estamos hablando de un material que ha traído consigo innegables ventajas debido a que es un material ligero, fácil y de bajo costo de fabricación, además ser altamente permanente en el tiempo. Lamentablemente, estas mismas características hacen que se convierta en un importante contaminante. Su precio ocasiona que el humano se deshaga rápidamente del plástico, al mismo tiempo de que es producido en grandes cantidades; su larga permanencia hace que perdure en el ambiente durante largos periodos de tiempo, en los que puede causar graves daños. (Freinkel 2011).

## **DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA ABORDADO**

Al mismo tiempo, el plástico es una de las amenazas más agresivas para nuestros océanos. Pero hay más de lo que se ve a simple vista, como, por ejemplo, los casi invisibles, micro plásticos. Sin embargo, los micro plásticos han permeado las fuentes de agua a través del planeta desde los ríos hasta las profundidades de los océanos y en el hielo marino ártico (De-La-Torre, et al. 2019). Estudios recientes

muestran que el micro plástico también se encuentra en el agua potable y los mariscos. (Paredes, et al., 2019)

De acuerdo con lo anteriormente establecido, es importante mencionar que la cantidad de plástico que se libera a los océanos está aumentando a una frecuencia de 10 millones de toneladas por año (Castillo et al., 2018). Estos residuos están formados por minúsculos fragmentos de plástico, que se encuentran en suspensión en la profundidad del mar afectando directamente a los organismos acuáticos que ingieren dichos micro plásticos al ser confundidos como alimento y de esa forma los organismos son dañados severamente, por ejemplo, las tortugas de mar no pueden distinguir entre una medusa, la cual es parte de su dieta, y una bolsa de plástico causándose, a sí misma, un bloqueo del sistema digestivo y posteriormente su deceso (Matiddi, 2019). Así también se ha registrado que, por causa del plástico, cien mil mamíferos y tortugas marinas mueren cada año, y es por ello que el hombre, quien se encuentra en la escala más alta de la cadena trófica, no es ajeno a los peligros que implica esta grave contaminación. (Nieto y Montoto, 2017).

La Unión Europea se ha comprometido a luchar contra los plásticos en el océano y ha tomado varias iniciativas. Entre los ejemplos más destacados se encuentran los siguientes (Geyer, 2020):

- La Estrategia Europea para el Plástico en una Economía Circular, que promueve nuevos modelos de negocio circulares;
- La Directiva sobre los plásticos de un solo uso, que reduce el uso de los mismos, incluidas los plásticos utilizados en las actividades de pesca, que contaminan las playas y los mares de Europa;

- La nueva Directiva sobre las instalaciones de recepción portuaria, que ofrece un incentivo para llevar a tierra todos los residuos de los buques;

### ***TENEBRIO MOLITOR***

El “Escarabajo Molinero” o también “Gusano de la Harina”, dependiendo de la fase de crecimiento en el que se encuentre, (*Tenebrio molitor*) es un escarabajo de color marrón oscuro, con una longitud corporal de 15 mm, que pertenece a la familia oscura (Tenebrionidae). Es considerada una plaga de productos a base de cereales, y en el medio natural se le puede encontrar en nidos de aves y bajo cortezas de árbol (Nawrot, 2001). Este insecto, debido a su alto contenido en proteínas, puede utilizarse como alimento para animales (Ramos-Elorduy et al., 2002, Weiner et al., 2018) y como fuente alternativa de proteína para los seres humanos (Siemianowska et al., 2013; Fialkowski 2016). Las larvas de este escarabajo, al igual que su forma adulta, se pueden alimentar de cereales y otros productos naturales, pero también son capaces de sobrevivir con una dieta compuesta de materiales sintéticos, por ejemplo, el poliestireno, el cual pueden descomponer en componentes biodegradables (Drahl, 2015). El primer paso de este proceso consiste en la fragmentación del poliestireno por larvas mediante masticación, lo que aumenta la superficie adecuada del material y mejora el contacto de este material con enzimas y microorganismos que habitan en el sistema digestivo del insecto. Una vez que el poliestireno y la microbiota intestinal del insecto interactúan, se secretan enzimas producidas por los microorganismos intestinales. Así, se produce una reacción que conduce a la descomposición del poliestireno bajo la influencia de las enzimas. La energía generada a partir de la descomposición del poliestireno es utilizada por las larvas para sus procesos vitales. Durante la reacción de la descomposición del

poliestireno, aparte de la energía que alimenta los procesos de vida larvaria, se produce dióxido de carbono y moléculas no digeridas, siendo esta última excretada por larvas como heces (Yang et al., 2015).

### ***TENEBRIO MOLITOR*: ¿PLAGA U OPORTUNIDAD DE DESARROLLO?**

Con respecto al riesgo de incidentes por plagas ocasionado por escape de individuos *Tenebrio molitor* en proceso de crianza para fines de investigación, se ha revisado lo referente a Roberson (2005) y Nawrota (2001) quienes establecen que estos coleópteros son considerados plagas que atacan los almacenes de granos de trigo, sin embargo en otros ambientes, este insecto es visto como un recurso. Las larvas se producen en masa como alimento para aves, reptiles, anfibios y peces utilizando salvado, un subproducto agrícola, como alimento principal. Asimismo, el excremento generado por los gusanos de la harina se vende como fertilizante. Los investigadores han concluido que las larvas de *Tenebrio molitor* son una fuente más sostenible de proteínas comestibles para los seres humanos que la leche, el pollo, el cerdo o la carne de res (Ooninex et al., 2012) y algunos han propuesto su uso como suministro de alimento para astronautas en sistemas de soporte vital biorregenerativos (Li et al., 2013). Estudios previos indican que las larvas son una fuente alternativa adecuada de proteínas para los pollos de engorde. (Bovera et al. 2015). Además, las larvas tienen altos contenidos de ácido oleico, el cual tiene la capacidad de disminuir la lipoproteína de baja densidad (LDL) y aumentar los niveles de lipoproteína de alta densidad (HDL) en la sangre (Yoo et al., 2013). Asimismo, un ejemplo muy interesante es la empresa peruana Ento Piruw, la cual en una combinación entre innovación y sostenibilidad crea “Demolitor”, una barra energética que contiene cacao, tarwi, kiwicha, miel de abeja y larvas de *Tenebrio*

*molitor* molidas (los cuales proporcionando al producto el doble de proteína y ocho veces más hierro que las carnes rojas) (Zhao et. al, 2016), siendo estas últimas un elemento que brinda el enfoque sostenible al producto. (Holguín, 2019).

Por consiguiente, y para culminar este subtítulo, las crías de *T. molitor* no representarían un riesgo de plaga en un ambiente de ensayo ya que en los procesos de crianza y crecimiento se encuentran dentro de celdas de vidrio o plástico de alta densidad con paredes internas de superficie lisa que impiden el ascenso de las larvas al exterior. Además, su adquisición involucra una baja inversión económica, con efectos nocivos mínimos sobre el medio ambiente (Wang et al., 2012). Por estas razones, muchos estudios se han realizado en *T. molitor* para determinar sus usos potenciales (Park, 2014).

### **TENEBRIO MOLITOR Y LOS OBJETIVOS DEL DESARROLLO SOSTENIBLE**

Los Objetivos de Desarrollo Sostenible, también conocidos por sus siglas ODS, son una iniciativa impulsada por la Organización Nacional de las Naciones Unidas para dar continuidad a la agenda de desarrollo tras los Objetivos de Desarrollo del Milenio.

La propuesta de emplear a *Tenebrio molitor* como un elemento biodegradador de residuos sólidos plásticos, específicamente poliestireno, es una alternativa complementaria a la disposición de estos residuos, además del envío al relleno sanitario. En ese sentido, la alternativa contribuye al cumplimiento de hasta tres (3) ODS, los cuales son, y cito textualmente, (Fuente: PNUD, 2020):

**Objetivo 3:** “Salud y bienestar”

**Meta 3.9:** “Para 2030, reducir sustancialmente el número de muertes y enfermedades producidas por productos químicos peligrosos y la contaminación del aire, el agua y el suelo.”

**Objetivo 6:** “Agua limpia y saneamiento”

**Meta 6.4:** “De aquí a 2030, aumentar considerablemente el uso eficiente de los recursos hídricos en todos los sectores y asegurar la sostenibilidad de la extracción y el abastecimiento de agua dulce para hacer frente a la escasez de agua y reducir considerablemente el número de personas que sufren falta de agua.”

**Objetivo 12:** “Producción y consumo responsable”

**Meta 12.4:** “De aquí a 2020, lograr la gestión ecológicamente racional de los productos químicos y de todos los desechos a lo largo de su ciclo de vida, de conformidad con los marcos internacionales convenidos, y reducir significativamente su liberación a la atmósfera, el agua y el suelo a fin de minimizar sus efectos adversos en la salud humana y el medio ambiente.”

**Meta 12.5:** “De aquí a 2030, reducir considerablemente la generación de desechos mediante actividades de prevención, reducción, reciclado y reutilización.”

## **CONTEXTO DE LA NECESIDAD CORPORATIVA DEL PLÁSTICO**

La necesidad del plástico en la cadena de valor de las empresas ha ido incrementando desde la inclusión de este material en diversas industrias, y al mismo tiempo los residuos plásticos, a manera de merma industrial y por eliminación doméstica, han aumentado en generación por la creciente demanda de diversos productos, principalmente, del sector de alimentos y bebidas u otros. Si a ello adicionamos que en nuestro país el principal método de disposición de residuos

plásticos es el almacenamiento en rellenos sanitarios, nos encontramos frente a un panorama de aumento de gases de efecto invernadero generados no solo en los rellenos con fallas mecánicas en su construcción sino también en los botaderos, ilegales, que son destinos comúnmente utilizados por sectores poblacionales con deficiente educación ambiental. Esto es negativamente complementado por la contaminación de los lixiviados, generados por los residuos dispuestos, a cuerpos de agua y suelo.

En acción hacia esta realidad, existen empresas (las cuales tienen al plástico como un elemento parte de su cadena de valor) que están comprometidas con los Objetivos del Desarrollo Sostenible (ODS) como parte de sus estrategias o políticas de sostenibilidad, e incluyen en sus metas u objetivos la implementación de planes de mejora, propuestos de manera interna o a través de consultores externos.

De acuerdo a mi línea profesional y mi trabajo como consultor en una empresa encargada de brindar herramientas de gestión de indicadores de sostenibilidad y sus reportes, así como también encargada de brindar propuestas de mejora ambiental, social o financiera enfocadas en el cumplimiento de los ODS, es que desarrollo el presente Trabajo de Suficiencia Profesional (TSP).

### **IMPACTO DEL TRABAJO EN LA EMPRESA O INSTITUCIÓN DONDE SE VA A REALIZAR EL TSP**

Como se expuso previamente, el *core* de la consultora en la cual desarrollo mis actividades profesionales, y en donde he puesto a disposición mis aptitudes de egresado de la carrera de Biología, es la propuesta de indicadores de sostenibilidad y generación de propuestas de solución a solicitud de nuestros clientes. Es por ello que, la Dirección de la empresa consultora ha considerado apropiada la

implementación de nuevas propuestas de mejora para disposición de residuos sólidos plásticos como el poliestireno, no obstante están deberán contar con estudios de factibilidad científica. En respuesta a ello, se ha desarrollado el presente Trabajo de Suficiencia Profesional, el cual suplirá el requerimiento de estudios científicos previos a través de la revisión y discusión de diversas metodologías científicas publicadas en artículos indexados y tesis en universidades licenciadas.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

Discutir el proceso de biodegradación de plástico realizado por las larvas de *Tenebrio molitor* que pueda servir de base científica para la creación de una propuesta de implementación de manejo responsable de residuos de poliestireno, como parte de los servicios de una empresa consultora en sostenibilidad.

### **Objetivos Específicos**

1. Discutir la caracterización biológica de *Tenebrio molitor*.
2. Discutir la biodegradación del poliestireno expandido a través de la las larvas de *Tenebrio molitor*.
3. Vincular la tecnología a los indicadores de eficiencia de la degradación del poliestireno
4. Presentar puntos fundamentales para el establecimiento de una propuesta de mejora para la disposición de residuos de poliestireno basado en modelos de biodegradación a través de *Tenebrio molitor*.

## **METODOLOGÍA A EMPLEAR**

Se desarrollará una revisión sistemática comparando entre distintos métodos de biodegradación de poliestireno por *Tenebrio molitor*, desarrollados por diferentes

autores, evaluando sus resultados. Para ello, se consideraron como criterios de inclusión para la elección de los artículos de referencia, lo siguiente: 1) Los artículos deberán de haber sido publicados en una revista indexada o ser trabajos de tesis de universidades licenciadas; 2) Los artículos deberán ser relevantes para los procesos de crecimiento de *Tenebrio molitor* y/o relevantes para el proceso de degradación de plásticos por *Tenebrio molitor*.

Luego, se discutirán y/o vinculará la tecnología a tópicos relacionados con 1) La caracterización biológica de *Tenebrio molitor*; 2) Ensayos de biodegradación del poliestireno por larvas de *Tenebrio molitor*; 3) Indicadores de eficiencia en la biodegradación del poliestireno; 4) Microbiota intestinal de *Tenebrio molitor* y su relación con la biodegradación del poliestireno.

Finalmente, se definirán las recomendaciones finales desde el punto de vista como egresado de la carrera de biología, así como la formulación de propuestas complementarias que aborden los temas: 1) Líneas de desarrollo y 2) El futuro en la implementación de *Tenebrio molitor*.

## **RESULTADOS**

### **Caracterización biológica de *Tenebrio molitor***

#### **¿Por qué realizar una caracterización biológica de *Tenebrio molitor*?**

Se considera que la caracterización de *T. molitor*, para cada proceso que quiera determinar su capacidad como biodegradador del poliestireno, es altamente relevante ya que permitirá conocer características particulares del ciclo de vida del organismo que serán importantes a considerar para un eficaz proceso de biodegradación del poliestireno. Para ello, se evaluaron los estudios realizados por

Álvarez y Botache (2019) en el que se identificó los estadios de desarrollo y crecimiento de *T. molitor*. Asimismo, los autores reconocieron y comprendieron las características morfológicas presentadas en cada estadio del coleóptero. Y es gracias a la caracterización biológica de esta especie, que se han determinado las condiciones apropiadas para el correcto desarrollo de estos organismos, las cuales deben ser consideradas al momento de realizar ensayos piloto de crianza de estos coleópteros. Es por ello que, con la caracterización biológica se podrán determinar las condiciones óptimas para el desarrollo del ciclo de vida de *Tenebrio molitor*. Finalmente, el proceso de caracterización biológica incluirá el establecer un correcto procedimiento para la identificación del sexo de los individuos con los que se desee trabajar cualquier proyecto de biodegradación del poliestireno con *Tenebrio molitor*.

### **Caracterización biológica de *Tenebrio molitor***

Como procedimiento experimental a revisar, se evaluó la metodología de Alvarez y Botache (2019), quienes adquirieron 180 larvas para iniciar un proceso de crianza, ya que las crías de las mismas serán las que ejecutarán el ensayo de biodegradación, el cual discutiremos más adelante. Ahora, un factor importante a destacar es la fuente de proveniencia de las larvas, las cuales fueron adquiridas por una empresa especializada en la crianza y comercialización de *Tenebrio molitor* saludables para fines tanto de investigación como de alimentación de avifauna, por lo que para futuras investigaciones la fuente de procedencia de los individuos es un factor de alta relevancia. Los 180 individuos de *T. molitor* se fueron adquiridos al final de un mes “cero” y tras su compra los investigadores iniciaron la caracterización biológica.

Un elemento altamente relevante a destacar son las condiciones para el almacenamiento de las larvas adquiridas al proveedor. En el caso de Alvarez y Botache (2019) estas larvas fueron depositadas en una vidriera de 10 centímetros x 10 centímetros (observar imagen 1) y se mantuvieron en un ambiente que contaba con un rango de temperatura entre 19.3°C y 23.2°C (ver tabla 1) y un rango de humedad de 48.37% y 52.62% (ver tabla 2). Las paredes internas de las vidrieras son lisas y no permiten la fuga de las larvas, ya que estas no pueden escalar superficies verticales como el vidrio (Webster et al., 2000). Asimismo, y según periodo del ciclo de vida de *Tenebrio molitor*, va a depender del entorno ambiental, siendo parámetros óptimos una temperatura entre 25°C a 27°C y una humedad del 70% al 80% aproximadamente.

**Tabla 2.** Rango de Temperaturas recomendado para el proceso de crianza de *T. molitor*, según Alvarez y Botache (2019).

<b>Fecha relativa</b>	<b>Máxima temperatura recomendada (°C)</b>	<b>Mínima temperatura recomendada (°C)</b>
Quincena del mes “cero”	23	19,2
Final del mes “cero”	22,9	18,9
Quincena del primer mes	23,2	20,2
Final del primer mes	23,9	20,9
Quincena del segundo mes	24	20,7

Final del segundo mes	23,8	19,4
Quincena del tercer mes	22,7	17,6
Final del tercer mes	22,5	17,5

**Tabla 3.** Humedad máxima y mínima del proceso de cría de *Tenebrio molitor*, según Alvarez y Botache (2019).

<b>Fecha relativa</b>	<b>Máxima humedad recomendada (%)</b>	<b>Mínima humedad recomendada (%)</b>
Quincena del mes “cero”	53	48
Final del mes “cero”	52	47
Quincena del primer mes	53	50
Final del primer mes	54	51
Quincena del segundo mes	56	50
Final del segundo mes	54	49
Quincena del tercer mes	50	46
Final del tercer mes	49	46

Se ha revisado que el tiempo de vida de *Tenebrio molitor* puede variar en función de las condiciones ambientales, pero también va a depender de las condiciones nutritivas que se les brinde durante la crianza (Mondragón y Contreras, 2015). Es correcto inferir que el tiempo de vida que tuvieron los organismos en esta investigación estuvo cercanamente relacionado con las condiciones brindadas de temperatura (rango entre 23,2°C y 19,3°C en promedio) y una humedad promedio entre 52,62% y 48,37%, siendo estas condiciones las de un ambiente natural de acuerdo a los sustentos de Mondragón y Contreras (2015) y las que finalmente pueden mantener una duración de fases desde huevo hasta adulto de *Tenebrio molitor* entre 6 y 12 meses.

Finalmente, la vidriera fue cubierta con una bolsa negra para evitar la exposición de las larvas a la luz y ante la presencia de la misma, el individuo busca esconderse, lo cual tiene relación con lo expuesto por Sarmiento (2018) quien reportó que *Tenebrio molitor* busca permanecer oculto a la luz. A los 180 individuos se les proporcionó una dieta de salvado de trigo, papa y zanahoria; acompañados de algodones humedecidos que serán parte del suministro de agua de las larvas.

**Imagen 1:** Instalación de las larvas de *T. molitor* en la vidriera.



**Fuente revisada:** Álvarez, N. y Botache, L. (2019).

La dieta es un elemento importante que contribuirá no solo a la buena nutrición del individuo, sino también al éxito de la biodegradación de poliestireno. Alvarez y Botache (2019), llevaron a cabo un proceso de crianza con 180 larvas de *Tenebrio molitor* los cuales consumieron una dieta que consistía en salvado de trigo, trozos de zanahoria y papa. Ahora, ¿por qué la nutrición es relevante para la crianza *Tenebrio molitor*? Está claro la alimentación es necesaria para todos los seres vivos. Pero, refiriéndonos específicamente a *T. molitor*, existen dietas más eficientes que otras, como se ve en el estudio de Castro León et al., (2017) quienes evaluaron la eficiencia de diferentes dietas y demostraron que las larvas de *T. molitor*, criadas con una dieta basada en salvado de trigo (sustrato) y trozos de papa (complemento alimenticio húmedo) contienen el mayor porcentaje de proteína y minerales, y en una dieta basada en mezcla de pan duro molido con tortilla de maíz triturada (sustrato) y trozos de manzana, papa y zanahoria (complemento alimenticio húmedo) las larvas contendrán un mayor contenido de grasa.

Según Yang et al.,(2015) la larva de *T. molitor* puede consumir estireno como parte de una dieta estricta y, de acuerdo con Edney (1957), *Tenebrio molitor* posee una gran resistencia y pueden vivir con alimentos que contengan hasta un 1 % de agua y en condiciones con baja humedad si bien pierden masa, estos conservan el agua en su metabolismo para recompensar el agua metabólica por la evaporación y de esa manera, la proporción de agua permanece constante, además que no excretan no excretan para evitar perder agua y mantener un nivel de humedad.

Se considera importante, para esta revisión, justificar el canibalismo en estas especies, así como su fotosensibilidad observada en los estados de larva y adulto, siendo estos últimos consumidores de pupas, lo cual coincide con lo planteado por

Dossey et al (2016) y Daviran (2017). Asimismo, Sarmiento (2018) expuso que estos organismos buscan evitar la luz en todos sus estados de desarrollo, con alta preferencia por lugares oscuros, lo cual también se pudo observar en el presente estudio.

Entonces, ¿la nutrición es relevante para la crianza de *Tenebrio molitor*? Para un sentido estricto de ensayos de biodegradación, ¡sí! Esto se debe a que, de acuerdo con Daviran (2017), las larvas de *Tenebrio molitor* recurren al canibalismo para mantener sus niveles de agua constantes, por lo tanto al haber menos larvas por causa del canibalismo entre ellas, esto podría influir en el proceso de biodegradación.

Volviendo al proceso de desarrollo de *Tenebrio molitor*, de acuerdo a la metodología empleada por Alvarez y Botache (2019), a los 21 días se podrán observar diferencias en las larvas que fueron colocadas en las vidrieras, se podrán observar tejido remanente de las mudas y presencia de pupas. Es importante realizar la observación respectiva de los procesos de cambio de los individuos para comprender el crecimiento y desarrollo de *Tenebrio molitor*, el cual realiza un proceso de metamorfosis completa, el cual incluye dado que pasa por el estadio de huevo, luego a larva (con cambio de mudas), pupa y finalmente, adulto, el cual por pertenecer a la familia Tenebrionidae, posee tonalidades de color oscuro y marrones en su fase adulta (Susana & Jacobo, 2020). Esto concuerda con los resultado de Daviran (2017) que reconoce que *Tenebrio molitor* lleva a un proceso de metamorfosis completa, la cual incluye el estadio de huevo, larva, pupa y adulto (de color negro y marrón) con presencia de cambio de mudas en el estadio de larva.

**Imagen 2:** Estadios de *Tenebrio molitor* observados por Alvarez y Botache (2019).



**Fuente revisada:** Álvarez, N. y Botache, L. (2019).

De acuerdo a los resultados observados de Alvarez y Botache (2019) se requirió de aproximadamente cinco meses, desde la adquisición de las larvas y su instalación en las vidrieras, para conocer los estadios de *T. molitor* y sus comportamientos en población. Sin embargo los resultados de Daviran (2017) muestran que la duración del ciclo de vida de estos coleópteros dura entre seis a siete meses, lo cual comprende unos 200 días para completar el ciclo de vida. En los resultados de Alvarez y Botache (2019), una vez concluidos los cinco meses, se pudo observar que la mayoría de los organismos se encontraban en estado adulto y otros en estado de descomposición. Asimismo, las pupas que quedaron, al no contar con capacidades de desplazamiento, y al encontrarse en un estado de latencia, quedan

vulnerables al ataque de los organismos en fase adulta (imágenes 3 y 4), dado que el canibalismo es una conducta común en *Tenebrio molitor*, según los resultados de Alvarez y Botache (2019).

**Imagen 3:** Grupo de *Tenebrio molitor* adulto alimentándose de una pupa.



**Fuente revisada:** Álvarez, N. y Botache, L. (2019).

**Imagen 4:** Grupo de *Tenebrio molitor* adulto alimentándose de una pupa.



**Fuente revisada:** Álvarez, N. y Botache, L. (2019).

**Estadios de desarrollo de *Tenebrio molitor***

Ahora, en condiciones de vida libre una hembra puede colocar aproximadamente 580 huevos durante su vida (Meléndez-Guerrero, 2001); aunque su período de ovoposición es variable, ya que depende de las condiciones del entorno y del alimento, teniendo el periodo una variación entre 25 y 140 días (Meléndez-Guerrero, 2001). Los huevos son colocados por grupos y, de acuerdo a los resultados de Alvarez y Botache (2019), tienen un coloración blanca (ver imagen 5) y miden 2 milímetros de alto y 1,5 milímetros de ancho de forma de frijol, aunque Meléndez-Guerrero (2001) describe una medida de 1.8 mm de largo. Estos huevos están cubiertos de una sustancia pegajosa que permite adherencia al sustrato de alimentación (Meléndez-Guerrero, 2001). El período de incubación tarda entre 5 y 20 días dependiendo de la temperatura (5 días a 24°C y 20 días a 15°C) (Meléndez-Guerrero, 2001). En referencia al estadio de huevo, es relevante indicar que los resultados del estudio coinciden con lo referido por Daviran (2017) y Díaz (2014) quienes mencionan que los huevos de *Tenebrio molitor* tienen un color blanquecino y poseen una forma de riñón.

**Imagen 5:** Huevo de *Tenebrio molitor*:



**Fuente revisada:** Álvarez, N. y Botache, L. (2019).

Las larvas recién eclosionadas son activas, consumen harina y se desplazan libremente; adquieren su máximo desarrollo entre los 89 y 100 días, después de

mudar entre 9 y 18 veces; en este estado permanecen activas consumiendo sustrato (Meléndez-Guerrero, 2001). Según los estudios de Alvarez y Botache (2019) en esta fase de desarrollo se puede apreciar que la forma de las larvas de *Tenebrio molitor* son cilíndricas, de color blanco al eclosionar del huevo y progresivamente irán cambiando a un color marrón con tonalidades amarillas (ver imagen 6), presentando 6 propatas en los primeros segmentos del cuerpo las cuales brindan a la larva una significativa capacidad de desplazamiento y además empezarán a consumir el alimento provisto. Es de esperar poder apreciar un exoesqueleto duro que irán mudando a lo largo de las siguientes fases de crecimiento, siendo en la última sub fase larvaria el paso al estado de pupa. Toda la fase larvaria tendrá una duración aproximada de 03 meses según los estudios de Alvarez y Botache (2019).

**Imagen 6:** Larvas de *Tenebrio molitor* y cambio de muda



**Fuente revisada:** Álvarez, N. y Botache, L. (2019).

Con respecto al estadio larvario, se observó que los resultados obtenidos sobre las características de las larvas, mantienen relación con lo expuesto por Argueta y Ramos (2013) dado que se indica que los individuos larvarios son pequeños con forma cilíndrica de color blanco, el cual progresivamente cambiando a un color amarillo-marrón. En adición a ello, los resultados mostraron que el estadio larvario tuvo una duración de aproximadamente tres meses, lo cual también concuerda con

Argueta y Ramos (2013), quienes enunciaron que las larvas llegan a su desarrollo máximo entre los 89 y 100 días, luego de mudar entre 9 a 18 veces.

El estadio de pupa tiene una duración de 01 semana y según los estudios de Alvarez y Botache (2019) en el estadio de pupa se podrá evidenciar que el organismo adquiere una forma curva y un color blanco el cual cambiará progresivamente a un color marrón claro (ver imagen 8). Esta fase presentará escasa movilidad, especialmente en la parte caudal del cuerpo el cual precede el paso a la fase adulta. Asimismo, en esta fase se podrán apreciar, junto al cambio de color marrón claro, la aparición de protuberancias (ver imagen 7), las cuales se convertirán en las patas y alas de *T. molitor* cuando pase a la fase adulta.

**Imagen 7:** Protuberancias en el estadio de pupa de *T. molitor*



**Fuente revisada:** Álvarez, N. y Botache, L. (2019).

**Imagen 8:** Se puede apreciar el cambio de coloración y aparición de las propatas en las pupas de *T. molitor* al extremo derecho de la fotografía.



**Fuente revisada:** Álvarez, N. y Botache, L. (2019).

Giudice et al. (2016) nos mencionan que, en cuanto al estado de pupa, estos se caracterizan por tener poca movilidad, una forma curvada y un color blanquecino, el cual progresivamente irá cambiando al marrón; presentando protuberancias que son los inicios de lo que se convertirán en patas funcionales y alas. Con respecto al tiempo de duración del estadio pupa, los resultados de la investigación concuerdan con Giudice (2016) quien establece que el estadio en cuestión tiene una duración de 7 a 9 días.

De acuerdo a los estudios de Alvarez y Botache (2019) el estadio adulto de *Tenebrio molitor* posee 18 milímetros de largo y 4 milímetros de ancho. Al emerger de la pupa deberá presentar un exoesqueleto suave de color blanquecino, el cual posteriormente deberá de irse endureciendo a la vez que adquiere una coloración marrón oscura en la parte superior del cuerpo y rojiza con negro en la zona inferior, presentando alas no funcionales para volar (ver imagen 9 y 10).

**Imagen 9:** Cambio progresivo de la coloración en las sub fases adultas de *T.*

*molitor*



**Fuente revisada:** Álvarez, N. y Botache, L. (2019).

Es de esperar, también, que los individuos adultos presenten fotosensibilidad al igual que los individuos en la fase larvaria, ya que de acuerdo a los resultados de

Alvarez y Botache (2019), tanto larvas como adultas buscan constantemente lugares oscuros sin presencia de luz. Asimismo, se reitera que los adultos desarrollan canibalismo, pues se tienen a alimentar de las pupas que puedan estar presentes en la zona de crianza. Finalmente, de acuerdo a los estudios de Alvarez y Botache (2019) el organismo en fase adulta vivió por 3 meses.

**Imagen 10:** Individuos en fase adulta de *Tenebrio molitor* después de una semana de haber emergido del estadio pupa.



**Fuente revisada:** Álvarez, N. y Botache, L. (2019).

Es importante considerar que cuando los individuos adultos adquieran una tonalidad negra de la quitina (ver imagen 11), que compone su exoesqueleto, les será posible iniciar el proceso de cópula, en el cual se observará bastante competencia entre los adultos (ver imagen 12). El macho perseguirá a la hembra hasta que logre posarse encima de ella, la cual permanecerá inmóvil (ver imagen 13), mientras el macho enrollará su cola por debajo de la zona inferior de la hembra para luego introducir su micropene para así realizar la cópula.

**Imagen 11:** Adultos en etapa madura de *Tenebrio molitor*



**Fuente revisada:** Álvarez, N. y Botache, L. (2019).

**Imagen 12:** Monta del macho, en donde se aprecia el enrollamiento de la parte caudal, exponiendo el micropene para la copulación.



**Fuente revisada:** Álvarez, N. y Botache, L. (2019).

Es importante mencionar que, en el proceso de reproducción de *T. molitor* se podrá apreciar que estos individuos poseen sexos diferenciados, difícilmente de observar. Es pertinente mencionar, que dentro del proceso de reproducción de estos organismos se evidenciará una reproducción sexual con sexos diferenciados y esto, aunque difícil de percibir a simple vista, se puede observar a través de un estereoscopio en la cara ventral posterior de la zona abdominal en donde se verán unas aberturas entre los *esternitos* que permitirán la identificación del sexo, el cual para el caso de la hembra se verá poca separación entre los *esternitos* a diferencia

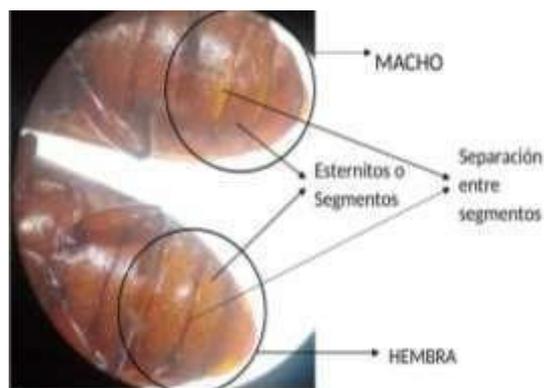
del macho, en el cual la separación es más visible además de que el último segmento es redondeado, a diferencia de la hembra el cual posee dicho sector ligeramente puntiagudo (ver imagen 14).

**Imagen 13:** Hembra y macho en conducta sexual.



**Fuente revisada:** Álvarez, N. y Botache, L. (2019).

**Imagen 14:** Observación de los *esternitos* o segmentos para la diferenciación del sexo a partir de la separación de los mismos.



**Fuente revisada:** Álvarez, N. y Botache, L. (2019).

Diaz et al. (2014) indican que las hembras de *T. molitor* pueden depositar entre 250 a 1000 huevos durante su ciclo de vida. No obstante, es importante aclarar que este proceso está relacionado con las condiciones ambientales, en los cuales la

temperatura resulta un factor relevante en la cantidad de crías de *Tenebrio molitor* (Arana, 2018).

Luego, es relevante resaltar otro factor que definirá la oviposición, y en consecuencia la cantidad de crías, el cual es la conducta de competencia reproductiva presentada en los individuos machos, en concordancia con lo planteado por Palomino et al. (1994) y Arana (2018) donde se evidencia que la competencia entre machos para el apareamiento dependerá de la dispersión de las hembras, así como la competencia de esperma, la cual se refiere al comportamiento de los machos para prevenir fecundaciones posteriores al mismo tiempo que desplazan o evitan fecundaciones previas a través de comportamientos como: 1. Sujetar a la hembra y evitar su desplazamiento.; 2) impregnación de la hembra con una feromona que evite el acercamiento de otros machos; 3) cierre de la cloaca de la hembra al culminar la cópula y 4) Desplazar la esperma del macho anterior, previa copulación con la hembra. (Arana, 2018)

Todos los comportamientos previamente expuestos, normalmente ocasionan que la esperma del último macho en copular sea la que finalmente fertilice a la hembra, por lo cual esta conducta competitiva es comúnmente observada. (Arana, 2018)

Es importante también el señalar que en el momento del apareamiento, la feromona 4-metil-1-nonanol es emitida por las hembras de *T. molitor* para atraer a los machos (Ruiz-Guzmán et al., 2020). Esto fue confirmado por un estudio que indicó que los machos malinterpretaron una varilla de vidrio que había sido recubierta con 4-metil-1-nonanol como hembra, y en consecuencia mostraron comportamientos de apareamiento (Kivleniece et. al, 2010). Asimismo, la temperatura óptima para la

reproducción de *T. molitor* es de 25-27,5 °C (Bjørge, 2018), mientras que el tiempo total de desarrollo es de 80,0-83,7 días (Park et al., 2012).

Diversos estudios sobre los aspectos de madurez sexual han encontrado que la edad de los padres influye en el desarrollo de las larvas; los padres jóvenes están asociados con las tasas más altas de eclosión de huevos (Priest et. al, 2002).

Asimismo, el tiempo de duración del individuo adulto coincide con lo planteado por Azagoth et. al (2016), Makkar et. al (2014), y Medrano (2019) en donde se enuncia, que, en el estadio adulto, *Tenebrio molitor* puede vivir entre dos a tres meses. En adición a ello, es importante comentar que, en esta fase de desarrollo, el individuo es un escarabajo de exoesqueleto blanco y suave, el cual progresivamente se irá endureciendo y tomando un color negro-marrón en la parte superior y negra-rojiza en la parte inferior de su cuerpo, según lo indicado por Medrano (2019).

Luego, ya se ha observado que estos organismos poseen una reproducción sexual y poseen sexos diferenciados, los cuales se pueden determinar en el estadio de pupa o en su fase adulta. Por lo tanto, es importante señalar que la determinación del sexo en la pupa implica la visualización de las genitales en desarrollo, las cuales se ubicarán en la zona ventral casi caudal del esternito, en donde la hembra presenta una inflamación mayor que se separa en dos papilas, mientras que, en el macho, esta inflamación es de menor tamaño y las dos papilas no se separan ni sobresalen (Argueta y Ramos, 2013). No obstante, en la investigación realizada no se pudo observar o determinar el sexo en el estadio pupa, realizándose la determinación recién en los individuos adultos, en donde se observó que en la cara ventral posterior de la zona abdominal existen unas aberturas entre los esternitos que hacen posible identificar el sexo; en el caso de la hembra se observó poca separación entre los

esternitos posteriores, mientras que en el macho la separación de esternitos es más visible, presentando una coloración clara. Asimismo, el último esternito o segmento es redondo en el macho y puntiagudo en el caso de la hembra (Bhattacharya, 1970) (Argueta y Ramos, 2013).

Finalmente, y contrario a lo que se podría pensar, esta especie en cualquier etapa de desarrollo (huevo, larva, pupa y adulto) posee un alto grado de dificultad en relación su crianza debido a su comportamiento natural y a componentes ambientales que actúan directamente sobre ellas, afectando el crecimiento y la expansión las mismas (natalidad, mortalidad, migraciones, tamaño etc.) (Hopley, 2016).

### **Ensayo de biodegradación de plásticos con estadio larvario de *T. molitor***

Se escogió como estudio de referencia a evaluar, la investigación de Alvarez y Botache (2019), por ser un proceso sencillo para la aplicación a escala piloto sin emplear muchos recursos o activos, esto es muy relevante en termino de factibilidad debido a que en el contexto de crisis sanitaria en el que nos encontramos actualmente, he presenciado desde mi posición como consultor en sostenibilidad que el presupuesto de las empresas está más enfocado en temas relacionados a Salud y Seguridad en el Trabajo mientras que procesos de mejora continua enfocado a la reducción de impactos ambientales, ha quedado en un segundo plano.

El procedimiento que se revisó para llevar a cabo el ensayo incluyó la recolección de individuos obtenidos a partir de la fase de cría que revisamos en la caracterización biológica, y fueron utilizados para dar inicio al proceso de biodegradación de muestras de plástico, a estos organismos se les registró el peso y medida; y fueron divididos en cinco muestras de 25 a 30 individuos con diferentes dietas, siendo dos muestras con dieta a base de poliestireno expandido y dos

muestras con dieta a base de polietileno de baja densidad (bolsa plástica), así como una muestra control a la cual se le suministrará, como dieta, trozos de papa y zanahoria (Ver tabla 3).

**Tabla 3.** Definición y características de las muestras para los ensayos

<b>Numero de muestra</b>	<b>Cantidad de <i>Tenebrio molitor</i></b>	<b>Características de la Dieta</b>	<b>Dieta</b>
1	25	Poliestireno expandido	04 unidades de poliestireno expandido de 2 centímetros de alto y 2 centímetros de largo.
2	30	Poliestireno expandido	04 unidades de poliestireno expandido de 2 centímetros de alto y 2 centímetros de largo.
3	25	Polietileno de baja densidad	04 unidades de Polietileno de Baja Densidad de 2

			centímetros de alto y 2 centímetros de largo
<b>4</b>	30	Polietileno de baja densidad	04 unidades de Polietileno de Baja Densidad de 2 centímetros de alto y 2 centímetros de largo
<b>5</b>	30	Papa y zanahoria	Trozos de papa y zanahoria

De acuerdo con los resultados de Alvarez y Botache (2019), en la última semana del segundo mes de crianza se realizó la recolección de las larvas obtenidas durante el proceso de crianza. Las larvas tuvieron en un peso promedio de 0,013 gramos y una medida de 1,3 centímetros.

Se realizó la separación de las larvas, sectorizándolas en 4 recipientes cilíndricos (muestras) y colocando entre 25 a 30 individuos por cada recipiente. Es importante recordar que las paredes internas de los recipientes deben ser de superficie lisa para que las larvas no escapen del recipiente (ver imagen 15).

**Imagen 15:** Recipientes cilíndricos para la división de organismos e incorporación de las dietas.



**Fuente revisada:** Álvarez, N. y Botache, L. (2019).

En dos muestras se colocó el primer tipo de plástico, en las otras dos muestras se colocó el segundo tipo de plástico y una muestra fue utilizada como control. Para el proceso de biodegradación, la dieta a suministrar para las larvas de *T. molitor* consistió en rodajas de papa y zanahoria; y dos tipos diferentes de plástico, los cuales fueron poliestireno y polietileno de baja densidad. Asimismo, es importante recordar que los organismos que se colocaron en el recipiente se mantuvieron previamente en un tiempo de fotoperiodo de aproximadamente 10 horas y que las 5 muestras recibieron una dieta de papa y zanahoria por un estimado de una semana para que puedan desarrollar una flora intestinal. Asimismo, las condiciones ambientales de temperatura y humedad deben permanecer en un rango óptimo para que contar con una producción de heces activa y un adecuado crecimiento y desarrollo de los organismos.

**Imagen 16:** Dieta del grupo control a base de rodajas de zanahoria y papa



**Fuente revisada:** Álvarez, N. y Botache, L. (2019).

Seguidamente, a dos (2) muestras, de 25 y 30 larvas respectivamente, se les suministrará como dieta 4 trozos de poliestireno expandido de 2 centímetros de ancho, 2 centímetros de largo y 0,013 gramos de peso aproximadamente. Luego, a las 2 muestras restantes, también de 25 y 30 larvas, se les suministrará como dieta 4 trozos de polietileno de baja densidad, los cuales deberán medir 2 centímetros de largo y 2 centímetros de ancho, con un peso de 0,013 gramos. Finalmente al grupo control se le suministrará como dieta, rodajas de papa y zanahoria, la cual deberá ser renovada cada 3 días para evitar su descomposición.

**Imagen 17:** Trozo de poliestireno expandido consumido por larva de *Tenebrio molitor*



**Fuente revisada:** Álvarez, N. y Botache, L. (2019).

Es importante, de acuerdo a la metodología de Álvarez y Botache (2019) el realizar un conteo, de la población de cada muestra, cada 15 días para evaluar si hay disminución de la misma, así como prestar atención a las características físicas de las larvas, al mismo tiempo que se evalúa la tasa de consumo de los plásticos incluidos en la dieta.

**Imagen 18:** Evidencia del consumo de poliestireno expandido por *Tenebrio molitor*



**Fuente revisada:** Álvarez, N. y Botache, L. (2019).

**Imagen 18:** Evidencia del consumo del polietileno de baja densidad



**Fuente revisada:** Álvarez, N. y Botache, L. (2019).

**Resultados del proceso de biodegradación de plástico**

De acuerdo a los resultados de Álvarez y Botache (2019), se evidenció, a los 60 días, que el consumo y biodegradación de plástico fue mayor en los recipientes (muestras de 25 a 30 larvas) con poliestireno expandido, a diferencia del polietileno de baja densidad el cual tuvo un nivel de degradación menor.

Con respecto a la producción específica, la cual representa al sustrato consumido por los meses destinados para realizar el ensayo (2 meses), que brindó como resultado en el recipiente 1 (muestra 1) , el cual contenía poliestireno expandido junto a 25 larvas, una productividad de 0,05, equivalente a un porcentaje de productividad específica del 5% y el recipiente 2 (muestra 2), el cual contenía también poliestireno expandido junto a 30 larvas, una productividad de 0,08, equivalente a un porcentaje de productividad específica del 8%.

Para el caso de la biodegradación del polietileno de baja densidad, la producción específica obtenida en el recipiente 3 (muestra 3), que contenía 25 larvas, fue de 0,05, equivalente a un porcentaje de productividad específica del 5% y en el recipiente 4 (muestra 4), que

contenía 30 larvas, los resultados de Álvarez y Botache (2019) fueron de 0,011 que equivalen a un porcentaje de productividad específica de 1,1%.

Es por ello que los autores de esta metodología determinaron que las larvas de *Tenebrio molitor* biodegradan en mayor cantidad el poliestireno expandido en comparación con el polietileno de baja densidad.

Con respecto al proceso de biodegradación llevado a cabo por las larvas de *Tenebrio molitor*, se pudo ver en los resultados que es el poliestireno expandido el plástico biodegradado en mayor cantidad, lo cual tiene relación con lo establecido por Molina et al. (2016), quienes indicaron que en 45 días, las larvas de *T. molitor* biodegradaron 84% del poliestireno, a diferencia del polietileno de baja densidad, del cual fue degradado solo un 64%. Los autores indicaron que esta diferencia en la biodegradación de ambos tipos de plástico puede deberse por variaciones en la temperatura o humedad y por la presencia de canibalismo.

Los efectos de la temperatura sobre las tasas de supervivencia y las tasas de degradación del poliestireno se explican mejor por las limitaciones conocidas de la temperatura en la fisiología del gusano de la harina, con un rango óptimo informado de 25 a 28 ° C y por su incapacidad para tolerar temperaturas superiores a 30° C (Roberson, 2005).

Durante el desarrollo de este estudio, se realizaron ensayos con *Tenebrio molitor* los cuales fueron empleados como individuos de prueba para evidenciar el consumo de poliestireno expandido y polietileno de baja densidad y, tal como expone Contero (2006) estos ensayo son estudios las respuesta poblacionales o fisiológicas de organismos escogidos que permitirán evaluar mediante la experimentación el efecto de agentes contaminantes en una muestra. Asimismo, establece que la periodicidad de estos ensayos permitirá detectar la disminución, aumento, presencia, nivel de adversidad o concentración que le esté ocasionando un agente externo a los organismos con los que se realizará el estudio. De

acuerdo a ello, se expone la relevancia del uso de estos ensayos en la parte experimental del presente estudio y se resalta la importancia que esto tiene para la investigación, debido que en el desarrollo del ensayo se observaron respuestas fisiológicas y poblacionales que presentaron *Tenebrio molitor* durante el proceso de biodegradación de plástico.

Luego, dentro de este procedimiento experimental además de seleccionar los organismos que deban ser utilizados como individuos de prueba, es importante tener en cuenta que los organismos deben ser obtenidos, de preferencia, a partir de cultivos controlados en laboratorio, con el fin de garantizar el desarrollo de la especie de estudio, además de ser un material biológico de buena calidad (Uc-Peraza y Delgado, 2012).

Bozek et al., (2017) llevó a cabo un ensayo de biodegradación con 5 grupos paralelos (20 especímenes cada uno) en el cuál las variantes utilizadas en las pruebas fueron las siguientes: 1) larvas que comen avena a gusto (control); 2) larvas que comen poliestireno (PS) en forma de placas de 1 mm de espesor fabricadas en el laboratorio (materia prima); 3) larvas que comen polilactida (PLA) en forma de placas de 1 mm de espesor fabricadas en el laboratorio (materia prima); 4) larvas que comen cloruro de polivinilo (PVC) con fines médicos, como tubos disponibles comercialmente para el suministro de oxígeno cortado en piezas de 10 mm; 5) larvas hambrientas. Los resultados muestran el mayor cambio de masa (19%), de plástico a degradar, para larvas estudiadas alimentadas con PVC, seguido por el poliestireno PS. Esto hace considerar al cloruro de polivinilo como un interesante *target* para la biodegradación de *Tenebrio molitor*.

Gao et al., (2010) quien trabajó con un diseño multinivel de un solo factor (tipo de alimento), investigó la degradación de espuma de poliestireno con cuatro tipos de dieta: el grupo A que sólo era alimentado con espuma, el grupo B con salvado de trigo, el grupo C con espuma mezclada con salvado de trigo y al grupo D se le mantuvo hambriento. Los resultados arrojaron que la espuma de poliestireno no se puede utilizar solo como dieta para las larvas de *Tenebrio molitor* más si se puede utilizar como elemento complementario

para mejorar la relación de utilización de salvado de trigo y la tasa de crecimiento de larvas, mejorando el rendimiento biodegradador de las mismas. Estos hallazgos son interesantes para reforzar una estrategia de utilización de suplementos alimenticios junto al poliestireno que se desea degradar.

Kiliç (2018) investigó la degradación de espuma de poliestireno con 4 grupos de 20 larvas, sin dieta particular a excepción de la espuma de poliestireno, obteniendo como resultado un 14,29% de degradación de poliestireno, ya que los 4 grupos tenían la misma dieta. Los resultados de Kiliç, permite afianzar el hecho de que la biodegradación de poliestireno por parte de larvas de *Tenebrio molitor* es completamente factible y posible.

Kosewska et al., (2019) llevó a cabo una investigación muy interesante que, para motivos del presente TSP, integra a la discusión la razón por la cual *Tenebrio molitor* tiene la capacidad de degradar el poliestireno. El experimento consistió en mantener larvas de *T. molitor* durante 10 semanas sobre sustratos nutritivos compuestos de poliestireno espumoso (el sustrato de control estaba compuesto de hojuelas de avena). Durante el experimento, se controló la masa de insectos y la masa del sustrato ingerido. Al terminar el cultivo, se diseccionó el tracto digestivo de las larvas para determinar la actividad enzimática de las células del sistema digestivo y demostró que debido a la actividad enzimática del tracto digestivo larval, y la de la microbiota intestinal, las larvas de *Tenebrio molitor* fueron capaces de digerir el poliestireno.

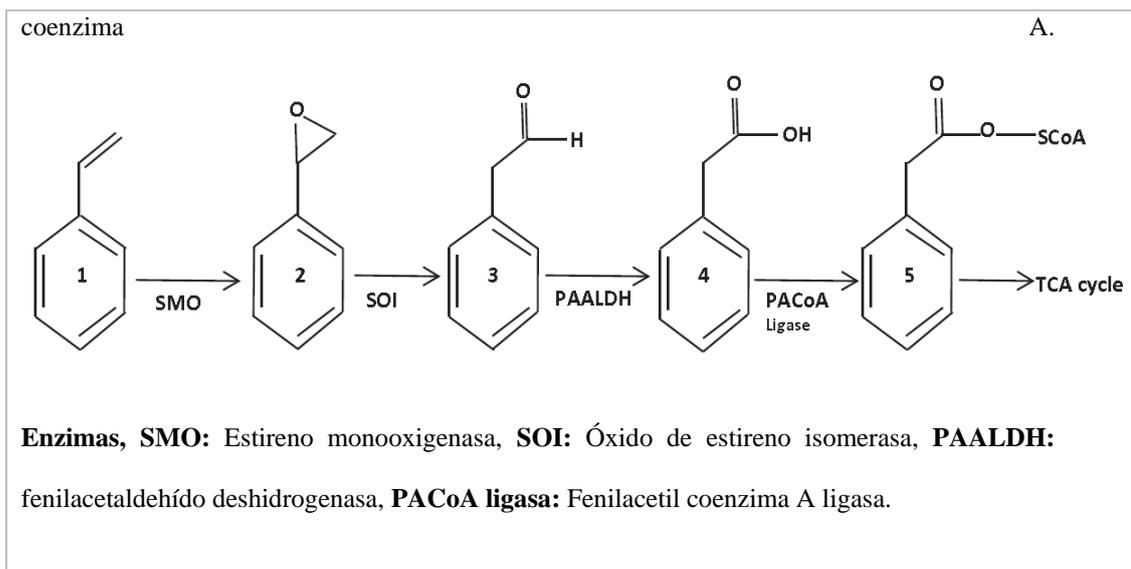
Se han considerado, como evidentes, las investigaciones para comprender si la microbiota intestinal también desempeña un papel en la biodegradación de los plásticos por otras larvas de insectos que se alimentan de plástico y los factores que influyen en las tasas de degradación. En el caso de las larvas de *Tenebrio molitor*, la degradación del poliestireno depende de su microbiota intestinal: los gusanos alimentados con el antibiótico gentamicina perdieron la capacidad de degradar el PS (Yang et al., 2015).

Ho et al., (2018) menciona que la biodegradación es compleja y comprendida completamente. Las investigaciones para aclarar la biodegradabilidad del poliestireno tienen dos estrategias diferentes. En el primer enfoque, se han realizado estudios de degradación utilizando cepas microbianas puras capaces de degradar el poliestireno. La gran ventaja de este enfoque, utilizando cepas puras de microorganismos, es que es una manera conveniente de investigar las vías metabólicas y evaluar el efecto de diferentes condiciones ambientales en la degradación. Sin embargo, una desventaja de este enfoque es que ignora la posibilidad de que la biodegradabilidad del poliestireno pueda ser el resultado de un proceso cooperativo de un consorcio microbiano que actúa como una cadena alimentaria o una red alimentaria. El segundo enfoque, según Ho et al. (2018), fue para superar la desventaja del primer enfoque. En este enfoque, las muestras de poliestireno se colocaron en diferentes condiciones ambientales como marino, suelo, agua, lodos o compost con el propósito de encontrar la capacidad de la biodegradación de poliestireno y/o encontrar microbios que digieran poliestireno. El enfoque de utilizar ambientes reales como el suelo, el agua del río y los lodos activados para la evaluación de la biodegradación del poliestireno también produjo resultados interesantes. En general, la biodegradación es a menudo baja y la tasa de biodegradación depende mucho del almidón presente en el ambiente. Otro inconveniente de estos estudios, que tienen como enfoque el uso de ambientes reales, es que los microorganismos responsables no se han caracterizado o identificado. Además, es difícil determinar la tasa de biodegradación de poliestireno en estos entornos. La mayoría de los estudios revisados por Ho et al., terminaron tempranamente, lo cual genera cuestionamientos sobre si el poliestireno está completamente degradado en un entorno real como el suelo, el vertedero y cuánto tiempo tomará dicha biodegradación en completarse.

No obstante, lo que si se ha determinado con objetividad es la ruta de degradación del estireno. La biodegradación de los plásticos es un proceso en el cual son degradados por las enzimas extracelulares o intracelulares de microorganismos (hongos, bacterias y

arqueas) quienes finalmente utilizan estos plásticos como sustrato para su crecimiento (Adamcova y Vaverkova, 2014) (Himani et al., 2013) (Zheng et al., 2005). La biodegradación del poliestireno comienza cuando los microorganismos comienzan a crecer en la superficie de ese plástico y secretan enzimas para degradar el polímero en fragmentos moleculares más pequeños llamados oligómeros y en unidades monoméricas. El propio estireno es capaz de ser utilizado como una fuente de carbono para el crecimiento por algunos microorganismos. *Rhodococcus ruber* se ha demostrado tener la capacidad de formar biopelículas en el poliestireno y degradarlo parcialmente (Mor y Sivan, 2008). Se ha demostrado que un biofiltro formado por *Brevibacillus sp.* Puede eliminar 3 kg de estireno en un día. Asimismo, la tasa de biodegradación depende del grosor y el peso molecular del plástico (Hwang et al., 2008). De hecho, un gran número de microorganismos pueden lograr la biodegradación del estireno (Baggi et al., 1983) (Warhurst et al., 1994). Hay varias rutas de catabolismo del estireno; sin embargo, una vía predominante es la que implica la oxidación del estireno a ácido fenilacético. El ácido fenilacético se activa a fenilacetil-coenzima A (CoA) por la enzima PACoA ligasa (Fenilacetil coenzima A ligasa) y luego se somete a  $\beta$ -oxidación para producir acetil-CoA la cual ingresa directamente en el Ciclo de Krebs (Danso et. al, 2019) en donde se juntará con el Oxalacetato para formar Ácido Cítrico, iniciando así el ciclo de Krebs para obtener energía a nivel mitocondrial.

**Ruta de degradación del estireno** (Mooney et al., 2009) (Tischler et al., 2006). Donde: **1-** Estireno, **2-** óxido de estireno, **3-** Fenil acetaldehído, **4-** Ácido fenilacético, **5-** Fenilacetil



Hemos revisado que existe microbiota con la capacidad de degradar poliestireno. Sin embargo, ¿Esta microbiota se encuentra dentro de *Tenebrio molitor* y es la que le confiere la capacidad de biodegradar el poliestireno? Quien escribe este TSP considera que hay una alta probabilidad de que la microbiota intestinal presente en *Tenebrio molitor* es quien le brinda la capacidad al mismo de degradar el poliestireno tal como lo haría en la intemperie. No obstante, considero que requiere más investigación al respecto que involucre, sobretodo, el aislamiento de la microbiota intestinal de larvas expuestas a ensayos de biodegradación del poliestireno, para posteriormente evaluar la capacidad de degradación de dichos microorganismos aislados mediante la utilización de biofiltros, tales como los empleados por Hwang et al., (2008).

Sin embargo, es altamente relevante destacar la investigación de Yang, Brandon y colaboradores (2018) Quienes, para entender mejor el mecanismo de degradación del poliestireno a partir de las larvas de *Tenebrio molitor*, estas fueron alimentadas con gentamicina, un antibiótico, para entender la actividad de las bacterias intestinales y el efecto sobre la despolimerización del poliestireno (Yang et al., 2015). Las larvas alimentadas con gentamicina durante 10 días mostraron

significativamente menos capacidad de despolimerización y mineralización (Yang et al., 2015), lo que sugiere que la degradación del poliestireno es probablemente dependiente de la microbiota intestinal. Una cepa (YT2) bacteriana degradante de poliestireno llamada *Exiguobacterium sp.* fue aislada de la porción intestinal de *Tenebrio molitor* (Yang et al., 2015). Un cultivo único de *Exiguobacterium sp.* YT2 eliminó poliestireno en un  $7,4 \pm 0,4\%$  en medio líquido que contenía piezas de poliestireno (2500 mg/L) durante un período de 60 días. El análisis de cromatografía de exclusión molecular (GPC) de poliestireno residual también confirmó la despolimerización de poliestireno por la cepa *Exiguobacterium sp.* YT2. Esto ha demostrado que los microorganismos degradantes del poliestireno están presentes en el intestino de los gusanos de harina y *Exiguobacterium sp.* es uno de ellos.

### **Definición de indicadores de eficiencia de la degradación de plástico**

Uno de los objetivos específicos de este TSP fue la obtención de indicadores de eficiencia para los ensayos de biodegradación de poliestireno. En ese sentido, se evaluó la metodología de Alvarez y Botache (2019) identificando a los siguientes indicadores a utilizar para evaluar la eficiencia del proceso:

- Peso inicial (gramos) de los trozos de poliestireno
- Peso final (gramos) de los trozos de poliestireno
- Consumo del poliestireno (gramos)
- Tiempo (meses)
- Productividad específica =  $\text{Sustrato consumido} / \text{mes}$
- Porcentaje de Productividad específica =  $(\text{Sustrato consumido} / \text{mes}) * 100 \%$

Nombre del Indicador	Descripción	Justificación
----------------------	-------------	---------------

<b>Peso inicial (gr) de poliestireno</b>	Define el gramaje de los trozos de poliestireno a usar como sustrato para el consumo de <i>Tenebrio molitor</i>	Llevar un control, del peso inicial de los trozos de poliestireno a ingerir por las larvas de <i>Tenebrio molitor</i>
<b>Peso final (gr) de poliestireno</b>	Define el gramaje de los trozos de poliestireno que no fueron consumidos por <i>Tenebrio molitor</i> tras un periodo de tiempo	Llevar el control del peso final de los trozos de poliestireno ingeridos por las larvas de <i>Tenebrio molitor</i> en un periodo de tiempo
<b>Consumo de poliestireno (gr)</b>	Es el consumo neto de poliestireno que se obtiene al restar peso final con el peso inicial	Definir el consumo neto de trozos de poliestireno en un tiempo determinado
<b>Tiempo (meses)</b>	Espacio de tiempo en el que se desarrolla el proceso del consumo del sustrato	Definir los tiempos para los cálculos de productividad del consumo de poliestireno
<b>Productividad específica</b>	Ratio que representa el poliestireno consumido por cada mes	Poder definir un ratio de poliestireno consumido en relación a los meses transcurridos
<b>Porcentaje de productividad específica</b>	Representación porcentual de la productividad específica	Llevar un control porcentual para fines comparativos con otros estudios

Es importante considerar de que al hablar de productividad específica de degradación, aún no se puede definir un estándar que defina qué porcentaje de productividad específica de poliestireno consumido es el óptimo, ya que diversos estudios definen la eficiencia de degradación de plástico en función del valor porcentual del mismo, por lo que a mayor cantidad porcentual de productividad específica, mejor será el ensayo de degradación de plástico por *Tenebrio molitor*.

### **Definición de indicadores de variación de biomasa**

- Promedio de peso inicial
- Promedio de peso final
- Producción de biomasa = Peso final promedio – Peso inicial promedio
- Tiempo (meses)
- Sustrato consumido (gramos)
- Productividad específica de biomasa = Producción de biomasa / mes

Nombre del Indicador	Descripción	Justificación
<b>Promedio de peso inicial</b>	Media del peso de todas las larvas que estarán realizando la ingesta de sustrato, antes del ensayo	Llevar un control, del peso inicial de los individuos, previo a la cuantificación de producción de biomasa
<b>Promedio de peso final</b>	Media del peso de todas las larvas que ha realizado la ingesta del sustrato, posterior a un tiempo determinado	Llevar un control, del peso final de los individuos, para cuantificación de producción de biomasa
<b>Producción de biomasa</b>	Diferencia entre el promedio de peso final y promedio inicial	Evaluar si se ha desarrollado un incremento de peso en referencia a al peso promedio de un grupo de larvas de <i>Tenebrio molitor</i>
<b>Tiempo (meses)</b>	Espacio de tiempo en el que se desarrolla el proceso del consumo del sustrato	Definir los tiempos para los cálculos de productividad específica de biomasa
<b>Sustrato consumido (gramos)</b>	Gramos de sustrato consumido	Cuantificar la cantidad de sustrato consumo por el grupo a analizar
<b>Productividad específica de biomasa</b>	Producción de biomasa por cada mes	Poder definir un ratio de producción de biomasa en relación a los meses transcurridos

Es relevante tomar en cuenta que al referirnos a un elemento como el crecimiento de la larva de *Tenebrio molitor*, y por lo tanto de su biomasa, este elemento puede tener dependencia en el tipo de sustrato consumido. Asimismo, no se tiene alguna evidencia sobre la relación entre el incremento del peso de la larva y la voracidad de la misma. Por lo tanto no se puede afirmar que exista un estándar para los indicadores referidos al incremento de la biomasa.

Álvarez y Botache (2019) afirmaron que a través de sus resultados se puede incidir la forma en la que *Tenebrio molitor* transforman el sustrato, siendo el 50% del plástico consumido transformado en CO<sub>2</sub> y el 50% restante es excretado como biomasa y fragmentos biodegradados.

La variación de biomasa (determinada por la ganancia de peso) de las larvas de *T. molitor*, de acuerdo a los resultados de Álvarez y Botache, fue de 0,015 gramos en el recipiente 1 (muestra 1 – M1) con una productividad específica de biomasa de 6,6 gramos. En el recipiente 2 (muestra 2 – M2) se registró 0,07 gramos de biomasa producida con una productividad específica de 2,3 gramos. En el recipiente 3 (muestra 3 – M3) presentó 0,07 gramos de biomasa con una productividad específica de 0,1 gramos y, finalmente, en el recipiente 4 (muestra 4 – M4) se evidenció, según los resultados de Alvarez y Botache (2019), una biomasa producida de 0,002 con una productividad específica de biomasa de 11 gramos.

El estudio infirió, a partir de los resultados presentados, que el consumo de poliestileno de baja densidad, y el expandido, no inciden de manera significativa en el desarrollo y crecimiento de *Tenebrio molitor*, dado que la variación de biomasa se da con un aumento de peso.

Asimismo, en la siguiente tabla de resultados, se puede apreciar que la muestra con la que se obtuvo una mayor cantidad de biomasa de *T. molitor* fueron la número 2 y 3, mientras que la muestra número 3 presentó un menor aumento de biomasa.

**Tabla 5. Productividad Especifica de Biomasa de las Larvas de *Tenebrio molitor***

<b>Muestra</b>	<b>Peso inicial promedio</b>	<b>Peso final promedio</b>	<b>Biomasa producida</b>	<b>Tiempo (meses)</b>	<b>Sustrato consumido (gramos)</b>	<b>Productividad Específica de Biomasa</b>
<b>M1 (25 larvas)</b>	0,01	0,025	0,015	2	0,1	6,6
<b>M2 (30 larvas)</b>	0,02	0,09	0,07	2	0,16	2,3
<b>M3 (25 larvas)</b>	0,01	0,08	0,07	2	0,01	0,1
<b>M4 (30 larvas)</b>	0,013	0,015	0,002	2	0,022	11

#### **Definición de indicadores de productividad de heces**

- Heces producidas
- Tiempo (meses)
- Sustrato consumido
- Productividad Específica de Heces =  $\text{Sustrato consumido} / \text{producción de heces}$
- Porcentaje de productividad específica =  $(\text{Sustrato consumido} / \text{producción de heces}) \times 100$

<b>Nombre del Indicador</b>	<b>Descripción</b>	<b>Justificación</b>
<b>Heces producidas</b>	Peso en gramos de heces producidas totales	Contar con un control de la cantidad de heces producidas por <i>Tenebrio molitor</i>

<b>Tiempo</b>	Cantidad de meses en los que se desarrolla un actividad	Definir los tiempos para cada recolección de heces y realización de cálculos de productividad específica
<b>Sustrato consumido</b>	Gramos de sustrato consumido	Contar con un control del sustrato consumido y poder utilizar dicho valor para los cálculos de productividad específica
<b>Productividad Específica de Heces</b>	Peso de sustrato consumido por Peso en gramos de heces producidas totales	Poder definir un ratio de consumo de sustrato en relación a la cantidad de heces producidas por <i>Tenebrio molitor</i>
<b>Porcentaje de productividad específica</b>	Representación porcentual de la productividad específica de heces	Llevar un control porcentual para fines comparativos con otros estudios.

No se puede contar con un estándar con respecto a la productividad específica de heces puesto a que estos indicadores solo buscar brindar un control para evaluar la relación entre el sustrato consumido y la cantidad de heces producidas, donde normalmente estas últimas son estudiadas para evidenciar presencia de elementos no asimilados por las larvas de *Tenebrio molitor*.

Alvarez y Botache (2019) destacan también que al referirse a la excreción de *Tenebrio molitor*, es importante mencionar que dentro de la investigación realizada, estas fueron recolectadas y se logró evidenciar un cambio en cuanto al color y la cantidad de las heces. Se procedió a recolectar y sumar las heces de las muestras 1 y 2 (consumo de poliestireno expandido) para ser comparadas con la suma de las heces recolectadas de las muestras 3 y 4, obteniendo los siguientes resultados:

**Tabla 6. Productividad de heces de *Tenebrio molitor***

	<b>Heces producidas (gramos)</b>	<b>Tiempo (meses)</b>	<b>Sustrato consumido (gramos)</b>	<b>Productividad Específica de Heces</b>	<b>Porcentaje de productividad específica</b>
<b>Poliestireno no expandido M1 + M2</b>	2	2	0,26	0,13	13
<b>Polietileno de baja densidad M3 + M4</b>	1	2	0,032	0,03	3

**Imagen 19:** Heces de *Tenebrio molitor* posterior al consumo de poliestireno expandido



**Fuente revisada:** Álvarez, N. y Botache, L. (2019).

**Figura 20.** Heces de *Tenebrio molitor* posterior al consumo de polietileno de baja densidad



**Fuente revisada:** Álvarez, N. y Botache, L. (2019).

De acuerdo a lo observado, se puede determinar que el cambio que se evidencia en la cantidad de heces, según lo establecido por Daviran (2017), tiene relación con la ingesta de plástico y con el consumo de las larvas que mueren o las muda que permanecen dentro de las muestras, las cuales se convierten en alimento para las demás larvas, a estos factores se suma la cantidad de heces producidas dado que las larvas no solo excretan una parte del plástico que consumen sino además, un porcentaje de larvas o mudas que no fueron totalmente digeridas.

### **Influencia de la mortalidad de *Tenebrio molitor***

Finalmente, Alvarez y Botache (2019) consideraron a la mortalidad como un factor importante, ya que influirá en el proceso de biodegradación del plástico, en sus resultados se ve que en los 2 meses de biodegradación de plástico, la tasa de mortalidad de las muestras 1, 2, 3 y 4 es muy similar a la del grupo control. Luego, los autores determinaron que el número de individuos disminuyó debido al canibalismo y restos de mudas consumidas por las demás larvas.

Se puede determinar que la cantidad de individuos en el estudio disminuyó debido a incidentes de canibalismo y restos de mudas consumidas por las demás larvas, esto tiene concordancia con lo expuesto por Darivan (2017) al enunciar que, el nivel de biodegradación puede verse afectado por el número de larvas, dado que se infiere que, a

mayor cantidad de larvas presentes, mayor será la biodegradación; así también, que la mortalidad puede verse relacionada con el canibalismo, ya que *Tenebrio molitor*, en su estado larval, requiere de niveles de agua constante, por lo cual tienen a consumir a otras larvas, obteniendo así, los niveles de agua necesarios para llevar a cabo procesos fisiológicos.

Como ya se había mencionado, *Tenebrio molitor* se esconde rápidamente en su sustrato cuando están expuestos a la luz, porque son criaturas con alta fotosensibilidad (Peng et. al, 2019). Y además, se encontró que, si bien, una disminución de la humedad era intrascendente para adultos, así como para larvas o pupas a una temperatura de 25°C, una temperatura de 10°C pero dará lugar a un aumento de la mortalidad (Allen et. al, 2012).

## **El problema del Hexabromociclododecano**

Los residuos plásticos son un contaminante ambiental generalizado y un creciente desafío de gestión de residuos. El poliestireno (PS), uno de los cinco termoplásticos más comunes, se utiliza normalmente para el envasado y el aislamiento, y se encuentra entre los plásticos menos sostenibles. (Andrady, 2005) (Geyer et al., 2017) Las espumas de poliestireno son de baja densidad y voluminosas, por lo que son difíciles y costosas de transportar y reciclar (Geyer et al., 2017). Debido a que los centros de reciclaje normalmente no aceptan desechos de poliestireno, por lo general se depositan en vertederos o se les permite escapar al medio ambiente donde persisten y pueden acumularse debido a la recalcitrancia (Geyer et al., 2017).

Los productos químicos añadidos que sirven para mejorar las propiedades de fabricación (por ejemplo, plastificantes o estabilizadores) o para disminuir la inflamabilidad de los productos plásticos, plantean una preocupación adicional de sostenibilidad (Andrady, 2005) (Beach et al., 2017) debido a que estos aditivos podrían bioacumularse en las cadenas alimentarias o en el medio ambiente (Beach et al., 2017) (Schechter et al., 2012). Para el

poliestireno, el retardante de llama más común es el hexabromociclododecano comercial (HBCD) (Birnbaum et al., 2004) (Schechter et al., 2012). HBCD es hidrófobo, lipofílico, persistente en el medio ambiente, y se capaz de bioacumularse en organismos marinos. (Birnbaum et al., 2004) (Covaci et al., 2006) (Jang et al., 2016) (Zegers et al., 2005). HBCD es también es un disruptor endocrino y potencialmente neurotóxico. (Birnbaum et al., 2004) (Covaci et al., 2006) (Jang et al., 2016). Debido a su naturaleza tóxica, HBCD es objeto de medidas reglamentarias en la Unión Europea (EU, 2016) y, en los Estados Unidos, el HBCD es actualmente objeto de una evaluación de riesgos por parte de la Agencia de Protección Ambiental (EPA, 2010). Por lo que, soluciones para abordar el problema que implican los HBCD en residuos de poliestireno, son requeridos (Brandon y Criddle, 2019).

Para los materiales plásticos, un factor limitante de velocidad es el acceso a la superficie. (Kruege et al., 2015) Los insectos que trituran e ingieren polímeros naturales, como la lignina y la cera, convierten fragmentos a escala macro en partículas a escala de micras, aumentando la superficie específica accesible para atacar por enzimas secretadas. (Oliveira et al., 2019) Dentro del intestino del insecto (p. ej., *Tenebrio molitor*, (Brandon et al., 2018) (Yang et al., 2018) *Plodia interpunctella*, (Yan et al., 2014) y *Galleria mellonella* (Kong et al., 2019) se concentran y ubican las enzimas secretadas y las partículas de plástico ingeridas, mejorando las tasas de biodegradación. De los insectos estudiados hasta la fecha, *Tenebrio molitor* es la especie más estudiada ya que puede degradar rápidamente el poliestireno y los residuos de polietileno. Además, *Tenebrio molitor* es actualmente considerado como una de las fuentes de proteína comestible más sostenible, y de bajas emisiones de gases de efecto invernadero, para los seres humanos (Oonincx y de Boer, 2012) (Miglietta et al., 2015).

La idea de la conversión de residuos plásticos en un valioso suplemento es atractiva, pero primero debe entenderse el destino de los aditivos plásticos, como el HBCD. Lo cual **nos enfrenta a dos posibilidades. 1)** Si el HBCD se acumula en los tejidos de *Tenebrio*

*molitor*, existe el riesgo de contaminación y bioacumulación en la cadena alimentaria. Por otro lado, 2) Si el HBCD no es asimilado por *Tenebrio molitor*, existe el riesgo de que el HBDC permanezca como un residuo restante en el excremento, creando una necesidad de mayor remediación de estas partículas, como la pirólisis de los excrementos. (Yang et al., 2019) (Yang et al., 2019b)

En el estudio realizado por Brandon (2019), se investigó cual fue el destino del HBCD dentro de *Tenebrio molitor* utilizando un análisis de balance de masas y carga corporal para evaluar la toxicidad y la bioacumulación del HBCD.

De acuerdo a Brandon (2019), la tasa de supervivencia de *Tenebrio molitor* no se vio afectada, por la cantidad total de HBCD consumida en el poliestireno, durante en el transcurso del experimento. De igual manera, el HBCD presente en el poliestireno no afectó los patrones de consumo de *Tenebrio molitor*.

En resumen, estos resultados demostraron que el HBCD en el poliestireno comercial no era tóxica para los *Tenebrio molitor* y no afectaba la supervivencia del mismo ni el comportamiento de la fase de pupación. Los resultados sugieren que el HBCD total no se bioacumula dentro del tejido de gusanos de harina. Sin embargo, el análisis reveló que el HBCD se excretó rápidamente del cuerpo de la lombriz de harina (tejidos de todo el cuerpo, incluida la porción intestinal) cuando se sometió al *Tenebrio molitor* a depuración (es decir, inanición). Por lo que la investigación demostró que **estamos ante el panorama número 2: El HBCD no es asimilado por *Tenebrio molitor* y forma parte de su excreta.**

Esta investigación revisada muestra que al trabajar para abordar la cuestión de la contaminación plástica, es importante evitar crear una nueva preocupación a medida que las partículas de plástico residuales se hacen cada vez más pequeñas, concentrando cada vez más los contaminantes hidrófobos en las partículas. Por lo que, las investigaciones futuras deben centrarse en los impactos ambientales de estas partículas. Además, esta investigación demuestra la necesidad de materiales de reemplazo de plástico

biodegradables como parte de un proceso química industrial más “verde” para garantizar que los materiales y aditivos futuros no sean bioacumulativos, o que puedan afectar a cuerpos ambientales como el agua o el suelo, al no verse capaz de bioacumularse por parte de un biodegradador como *Tenebrio molitor*.

## CONCLUSIONES

1. La caracterización biológica de *Tenebrio molitor* resultará ser de gran importancia para la comprensión del ciclo de vida de este organismo y su respuesta ante condiciones ambientales tales como la temperatura o la humedad, las cuales determinarán su supervivencia.
2. Con referencia a la biodegradación del poliestireno expandido a través de las larvas de *Tenebrio molitor* podemos afirmar que las investigación sobre la biodegradación de este tipo de plástico ha avanzado considerablemente, sobre todo desde el enfoque de crianza y aplicación de insectos tales como *Tenebrio molitor* para la ingesta de residuos plásticos. No obstante, el uso de insectos puede presentar limitantes relacionados a temas como canibalismo, temperatura, humedad y dieta, los cuales pueden comprometer la eficiencia del proceso de degradación del poliestireno. Sin embargo, se ha buscado superar esta limitación a través del aislamiento de la microbiota ubicada en la porción intestinal de *Tenebrio molitor*. La biodegradación de poliestireno por parte de *Tenebrio molitor* o de su microbiota, es completamente factible, desde el punto de vista científico, de aplicar a empresas que consideren mejorar sus procesos de disposición de residuos plásticos a base de poliestireno como parte de su compromiso a los Objetivos del Desarrollo Sostenible 3, 6 y 12.
- 3.
4. Finalmente, dentro de los puntos fundamentales para el establecimiento de una propuesta de mejora de disposición de residuos de poliestireno, una principal preocupación viene a ser el hexabromociclododecano (HBCD), el cual es un

elemento que no se bioacumula en los tejidos de *Tenebrio molitor*, pero si posee una gran capacidad de permanencia en el ambiente, perjudicando al suelo y al agua, al poder bioacumularse en especies marinas. Esto nos pone al frente de un nuevo reto el cual se puede atacar desde 2 alternativas, la reutilización del HBCD posterior a la biodegradación del poliestireno o la aplicación de procedimientos de química industrial más eco amigables que no incluyan compuestos como HBCD en el poliestireno. Asimismo, se considera que la bibliografía y procesos revisados pueden ser tomados en cuenta como base científica para la creación de una propuesta de implementación de manejo responsable de residuos de poliestireno, como parte de los servicios de una empresa consultora en sostenibilidad.

## **RECOMENDACIONES**

- Considero que pese a la preocupación por la presencia del HBCD, la biodegradación de poliestireno por parte de *Tenebrio molitor* se puede aplicar a empresas que consideren mejorar o complementar sus procesos de disposición de residuos como parte de su estrategia de cumplimiento de los ODSs 3, 6 y 12, a través de aplicación de granjas de biodegradación de poliestireno utilizando *Tenebrio molitor* o a través de proyectos más complejos que involucren el aislamiento de microorganismos que pueda metabolizar el poliestireno y, mediante biofiltros o sistemas biológicos rotatorios en reactores, conseguir un proceso más tecnificado y estandarizado capaz de replicar en múltiples sectores empresariales, no solo el de alimentos y bebidas.
- Un cuestionamiento a plantear es que si bien se puede contar con un estudio de factibilidad científica que recopile una serie de investigaciones con respecto al uso de *Tenebrio molitor* para fines de biodegradación de poliestireno, la importancia de definir los costos de implementación para una granja de crianza de larvas para implementar un proceso piloto en empresas es un elemento muy importante a

considerar. Y esto estará definido bajo la frecuencia con la que los residuos de poliestireno se generan y además considerar un pre tratamiento a los residuos, haciéndolos más pequeños para facilitar la ingesta de los mismos por parte de *Tenebrio molitor*.

- No obstante, si bien se cuenta con numerosa bibliografía que evidencia la capacidad de ingesta, y biodegradación a nivel intestinal, del poliestireno por parte de *Tenebrio molitor*; no se ha visto algún proyecto, a escala piloto o industrial, en empresas peruanas que deseen biodegradar sus residuos en base a poliestireno utilizando a *Tenebrio molitor*.
- En ese sentido, si se desearía implementar un proceso de biodegradación de residuos de poliestireno se podrían realizar **dos acercamientos**. El **primero**, un proceso piloto utilizando 5 grupos de 50 larvas ( el costo aproximado por larva es de 5 a 7 céntimos de sol ), cada uno, de *Tenebrio molitor* dando un total de 250 larvas que deberán ser adquiridas de un criadero de confianza y colocadas en un entorno con una temperatura ambiente dentro del rango de 25°C y 27°C y un porcentaje de humedad dentro del rango 70% y 80%; para posteriormente evaluar su consumo de muestras de poliestireno a partir de la diferencia de peso de las mismas tras el transcurso de 3 meses y proporcionando a los 5 grupos suplementos dietéticos basados en salvado de trigo, rodajas de zanahoria y papa por una semana previo al inicio del proceso de ingesta de poliestireno, esto es para activar la microbiota presente en la porción intestinal. Es importante que, a partir de los 5 meses, se deba estar pendiente de la aparición de pupas, las cuales deberán ser retiradas y dispuestas en otro ambiente, de igual condición de temperatura y humedad que las larvas. Se debe procurar mantener a las larvas separadas de los individuos adultos que vayan emergiendo, los cuales deberán ser dispuestos en otro ambiente, de igual condición de temperatura y humedad que las larvas. La crianza

de los individuos adultos será crucial para la generación de nuevos huevos y larvas que podrán mantener el proceso de degradación del poliestireno. Es importante que, a partir de los 5 meses, se deba estar pendiente de la aparición de pupas, las cuales deberán ser retiradas y dispuestas en otro ambiente, de igual condición de temperatura y humedad que las larvas. Se debe procurar mantener a las larvas separadas de los individuos adultos que vayan emergiendo, los cuales deberán ser dispuestos en otro ambiente, de igual condición de temperatura y humedad que las larvas. La crianza de los individuos adultos será crucial para la generación de nuevos huevos y larvas que podrán mantener el proceso de degradación del poliestireno. Finalmente, es muy importante el mantenerse pendiente de los posibles ataques por entomopatógenos tales como los hongos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium brunneum*; las cuales causan la muerte y posterior esporulación externa en las larvas de *Tenebrio molitor*. Para prevenir el contagio por estos hongos se debe hacer una limpieza regular de las celdas de contención de larvas, así como también proceder con la eliminación de larvas muertas y colocar en cuarentena a las larvas que hayan sido infectadas, las cuales se pueden identificar por la coloración verdosa (en el caso de infección por *Metarhizium brunneum*) y blanca (en el caso de infección por *Beauveria bassiana*) en la cara externa de la piel de las larvas, producto de las esporas del hongo, las cuales proliferan fuera de la larva.

- El **segundo método** implica una mayor inversión de tiempo y dinero, ya que involucra la crianza de larvas de *Tenebrio molitor*, un posterior sacrificio de algunas larvas para luego aislar, de la microfauna intestinal del Tenebrio, un conglomerado bacteriano con la capacidad de degradar el estireno, utilizando un agar en base a poliestireno que permita el crecimiento selectivo del consorcio bacteriano que se desea aislar. Posteriormente, proceder a la caracterización de las

bacterias y luego, mediante un biofiltro, realizar ensayos de biodegradación de poliestireno en medio líquido.

- No obstante, la responsabilidad de la generación de los residuos de diversa naturaleza, no solo poliestireno, recae en los seres humanos y la **reducción del uso de productos a base de plástico**, en la medida de lo objetivamente posible, es una práctica que debe mantenerse y reforzarse más; y es un problema que debe atacarse **desde la fuente**.

## BIBLIOGRAFÍA

- Albert. (2011). Contaminación ambiental. Origen, clases, fuentes y efectos. In: ECO. Introducción a la toxicología ambiental. Metepec, ECO, cap. 4. p.37-52.
- Allen, J. L., Clusella-Trullas, S., & Chown, S. L. (2012). The effects of acclimation and rates of temperature change on critical thermal limits in *Tenebrio molitor* (Tenebrionidae) and *Cyrtobagous salviniae* (Curculionidae). *Journal of insect physiology*, 58(5), 669-678.
- Andrady, A. L. (2005) Common Plastics Materials. In *Plastics and Environment*; pp 77–121.
- Beach, E. S.; Weeks, B. R.; Stern, R.; Anastas, P. T. *Plastics Additives and Green Chemistry*. *Pure Appl. Chem.* 2013, 85 (8), 1611–1624.
- Birnbaum, L. S.; Staskal, D. F. Brominated Flame Retardants: Cause for Concern? *Environ. Health Perspect.* 2004, 112 (1), 9–17.
- Bjørge, J. D., Overgaard, J., Malte, H., Gianotten, N., & Heckmann, L. H. (2018). Role of temperature on growth and metabolic rate in the tenebrionid beetles *Alphitobius diaperinus* and *Tenebrio molitor*. *Journal of insect physiology*, 107, 89-96.
- Bovera, F., Piccolo, G., Gasco, L., Marono, S., Loponte, R., Vassalotti, G., Mastellone, V., Lombardi, P., Attia, Y.A., Nizza, A., (2015). Yellow mealworm larvae (*Tenebrio molitor*, L.) as a possible alternative to soybean meal in broiler diets. *Brit. Poultry Sci.* 56, 569-575.
- Brandon, A. M.; Criddle, C. S. (2019) Can Biotechnology Turn the Tide on Plastics? *Curr. Opin. Biotechnol.*, 57, 160–166.
- Brandon, A. M.; Gao, S.-H.; Tian, R.; Ning, D.; Yang, S.; Zhou, J.; Wu, W.-M.; Criddle, C. S. (2018) Biodegradation of Polyethylene and Plastic Mixtures in Mealworms (Larvae of *Tenebrio molitor*) and Effects on the Gut Microbiome. *Environ. Sci. Technol.*, 52 (11), 6526–6533.

- Brandon, Anja Malawi & Abbadi, Sahar & Ibekwe, Uwakmfon & Cho, YeoMyoung & Wu, Weimin & Criddle, Craig. (2019). The fate of hexabromocyclododecane (HBCD), a common flame retardant, in polystyrene-degrading mealworms: elevated HBCD levels in egested polymer but no bioaccumulation. *Environmental Science & Technology*. XXXX. 10.1021/acs.est.9b06501.
- Canteri de Souza, P., Custódio Caloni, C., Wilson, D., & Sergio Almeida, R. (2018). An invertebrate host to study fungal infections, mycotoxins and antifungal drugs: *Tenebrio molitor*. *Journal of Fungi*, 4(4), 125.
- Castillo, C. R. (2018). Dissolved organic carbon leaching from plastics stimulates microbial activity in the ocean. In *MICRO 2018. Fate and Impact of Microplastics: Knowledge, Actions and Solutions* (p. 243). MSFS-RBLZ.
- Covaci, A.; Gerecke, A. C.; Law, R. J.; Voorspoels, S.; Kohler, M.; Heeb, N. V.; Leslie, H.; Allchin, C. R.; De Boer, J. (2006) Hexabromocyclododecanes (HBCDs) in the Environment and Humans: A Review. *Environ. Sci. Technol.*, 40 (12), 3679–3688.
- Danso, D., Chow, J., & Streit, W. R. (2019). Plastics: environmental and biotechnological perspectives on microbial degradation. *Applied and Environmental Microbiology*, 85(19), e01095-19.
- De-La-Torre, G. E., Dioses-Salinas, D. C., Pérez-Baca, B. L., & Santillán, L. (2019). Microplastic abundance in three commercial fish from the coast of Lima, Peru. *Brazilian Journal of Natural Sciences*, 2(3), 171-171.
- Drahl, C. (2015). Plastics recycling with microbes and worms is further away than people think. <https://cen.acs.org/environment/sustainability/Plastics-recycling-microbes-worms-further/96/i25>. Access: 4.12.2018.
- Fialkowski, p. (2016). Robale w Robakowie pod Poznaniem - pierwsza w Polsce fabryka insektow. *Magazyn Poznanski*. <http://poznan.wyborcza.pl/poznan/1,105531,19477818,robaki-w-robakowie-pod-poznaniem-pierwsza-w-polsce-fabryka.html>. Access: 20.02.2019.

- Freinkel S (2011) A brief history of plastic's conquest of the world. *Sci Am.* <https://www.scientificamerican.com/article/a-brief-history-of-plastic-world-conquest/>
- Geyer, R. (2020). A Brief History of Plastics. In *Mare Plasticum-The Plastic Sea* (pp. 31-47). Springer, Cham.
- Geyer, R.; Jambeck, J. R.; Law, K. L. (2017). Production, Use, and Fate of All Plastics Ever 383 Made. *Sci. Adv.*, 3 (7), e1700782.
- Gómez. (2016). Diagnóstico del impacto del plástico-botellas sobre el medio ambiente: Un estado de arte. (Tesis de grado). Universidad Santo Tomás. Facatativá-Cundinamarca.
- Holguín, H. (2019). Una Barra Energética Con Insectos Y Productos Andinos: El Emprendimiento Científico De Estos Jóvenes Peruanos | Video | CNN. [online] CNN. Available at: <<https://cnnespanol.cnn.com/video/demolitor-barra-energetica-insectos-peru-alimentos-larvas-cacao-alimentacion-pkg-digital-orig/>> [Accessed 29 November 2020].
- Jang, M.; Shim, W. J.; Han, G. M.; Rani, M.; Song, Y. K.; Hong, S. H. (2016) Styrofoam Debris as a Source of Hazardous Additives for Marine Organisms. *Environ. Sci. Technol.*, 50 (10), 4951–4960.
- Kilic, E. (2018). A environmental friendly insect is tenebrio molitor (Tenebrionidae: Cleoptere). *Science Stays True Here*, 58-62.
- Kivleniece, I., Krams, I., Daukšte, J., Krama, T., & Rantala, M. J. (2010). Sexual attractiveness of immune-challenged male mealworm beetles suggests terminal investment in reproduction. *Animal Behaviour*, 80(6), 1015-1021.
- Kong, H. G.; Kim, H. H.; Chung, J. hui; Jun, J. H.; Lee, S.; Kim, H. M.; Jeon, S.; Park, S. G.; Bhak, J.; Ryu, C. M. (2019) The *Galleria Mellonella* Hologenome Supports Microbiota-Independent Metabolism of Long-Chain Hydrocarbon Beeswax. *Cell Rep.*, 26 (9), 2451-2464.e5.

- Krueger, M. C.; Harms, H.; Schlosser, D. (2015) Prospects for Microbiological Solutions to Environmental Pollution with Plastics. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 99 (21), 429 8857–8874.
- Ley N° 30884. *Diario El Peruano*, Lima, Perú, 18 de diciembre de 2018.
- Li, L.Y., Zhao, Z.R., Liu, H., (2013). Feasibility of feeding yellow mealworm (*Tenebrio molitor* L.) in bioregenerative life support systems as a source of animal protein for humans. *Acta. Astronautica*. 92, 103-109.
- Matiddi, M., Delucia, G. A., Silvestri, C., Darmon, G., Tomás, J., Pham, C. K., ... & Kaberi, H. (2019). Data collection on marine litter ingestion in sea turtles and thresholds for good environmental status. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (147), e59466.
- Miglietta, P. P., De Leo, F., Ruberti, M., & Massari, S. (2015). Mealworms for food: a water footprint perspective. *Water*, 7(11), 6190-6203.
- Miglietta, P. P.; De Leo, F.; Ruberti, M.; Massari, S. (2015) Mealworms for Food: A Water Footprint Perspective. *Water (Switzerland)*.
- Molina Cerón, F., Flores Vásquez, K. P., & Hermosillo Ortíz, M. (2016). Degradación de Polimeros con *Tenebrio Molitor* SEGUNDA FASE INVESTIGACIÓN.
- Mooney A, Ward PG, O'Connor KE. (2006) Microbial degradation of styrene: biochemistry, molecular genetics, and perspective for biotechnical applications. *Appl Microbiol Biotechnol.*; 72:1–10.
- Nawrot, J. (2001). *Owady – szkodniki magazynowe*. Themar Import-Eksport, Warszawa, p. 149.
- Oliveira, M.; Ameixa, O. M. C. C.; Soares, A. M. V. M. (2019) Are Ecosystem Services Provided by Insects “Bugged” by Micro(Nano) Plastics? *TrAC Trends Anal. Chem.*, 111, 317–320.

- Oonincx, D.G., de Boer, I.J., (2012). Environmental impact of the production of mealworms as a protein source for humans-A life cycle assessment. PloS One 7(12), e51145.
- Paredes, M., Castillo, T., Viteri, R., Fuentes, G., & Boderó, E. (2019). Microplastics in the drinking water of the Riobamba city, Ecuador. Przegląd Naukowy. Inżynieria i Kształtowanie Środowiska, 28(4 [86]).
- Paredes, M., Castillo, T., Viteri, R., Fuentes, G., & Boderó, E. (2019). Microplastics in the drinking water of the Riobamba city, Ecuador. Przegląd Naukowy. Inżynieria i Kształtowanie Środowiska, 28(4 [86]).
- Park YK, Choi YC, Lee SH, Lee JS, Kang SH (2012) Fecundity, life span, developmental periods and pupal weight of *Tenebrio molitor* L.(Coleoptera: Tenebrionidae). J Seric Entomol Sci 50(2), 126-132.
- Park, J. B., Choi, W. H., Kim, S. H., Jin, H. J., Han, Y. S., & Kim, N. J. (2014). Developmental characteristics of *Tenebrio molitor* larvae (Coleoptera: Tenebrionidae) in different instars. International Journal of Industrial Entomology, 28(1), 5-9.
- Peng, B. Y., Su, Y., Chen, Z., Chen, J., Zhou, X., Benbow, M. E., ... & Zhang, Y. (2019). Biodegradation of polystyrene by dark (*Tenebrio obscurus*) and yellow (*Tenebrio molitor*) mealworms (Coleoptera: Tenebrionidae). Environmental science & technology, 53(9), 5256-5265.
- Priest, N. K., Mackowiak, B., & Promislow, D. E. (2002). The role of parental age effects on the evolution of aging. Evolution, 56(5), 927-935.
- Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo. (s. f.). Objetivo 12: Producción y consumo responsable | PNUD. UNDP. Recuperado 29 de noviembre de 2020, de <https://www.undp.org/content/undp/es/home/sustainable-development-goals/goal-12-responsible-consumption-and-production.html>.
- Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo. (s. f.-a). Objetivo 3: Salud y bienestar. www.undp.org. Recuperado 29 de noviembre de 2020, de

<https://www.undp.org/content/undp/es/home/sustainable-development-goals/goal-3-good-health-and-well-being.html>.

- Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo. (s. f.-a). Objetivo 6: Agua limpia y saneamiento. [www.undp.org](http://www.undp.org). Recuperado 29 de noviembre de 2020, de <https://www.undp.org/content/undp/es/home/sustainable-development-goals/goal-6-clean-water-and-sanitation.html>.
- Ramos-Elorduy, J., González, E.A., Hernández, A.R., Pino, J.M. (2002). Use of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) to Recycle Organic Wastes and as Feed for Broiler Chickens. *Journal of Economic Entomology* 2002; 95(1), pp. 214-220.
- Roberson, W.H., 2005. Urban insects and arachnids, a handbook of urban entomology. Cambridge University Press. Cambridge, UK, pp.126-127.
- Ruiz-Guzmán, G., Cordero-Molina, S., Krams, I., & Contreras-Garduño, J. (2020). Interactions between oxidative stress and attractiveness to mates and individual mate choice in the beetle *Tenebrio molitor*. *Ethology*.
- Schecter, A.; Szabo, D. T.; Miller, J.; Gent, T. L.; Malik-Bass, N.; Petersen, M.; Paepke, O.; Colacino, J.; Hynan, L. S.; (2012) Robert Harris, T.; et al. Hexabromocyclododecane (HBCD) Stereoisomers in U.S. Food from Dallas, Texas. *Environ. Health Perspect.*, 120 (9), 1260–1264.
- Siemianowska, E., Kosewska, A., Aljewicz, M., Skibiniewska, K., Polak-Jaszczuk, L., Jarocki, A., Jedras, M. (2013). Larvae od mealworm (*Tenebrio molitor* L.) as European novel food. *Agricultural Sciences*; 4(6), pp. 287-291.
- Susana, P. G. M., & Jacobo, P. Á. (2020). *Tenebrio molitor* (Linnaeus, 1758)(Coleoptera: Tenebrionidae): notas sobre su importancia e identificación taxonómica. Francisco Luis Gallego.
- Tischler D, Eulberg D, Lakner S, et al. (2009) Identification of a novel self-sufficient styrene monooxygenase from *Rhodococcus opacus* 1CP. *J Bacteriol.*;191: 4996–5009.

- Union, E. Commission Regulation (EU) 2016/293 Amending Regulation (EC) No 850/2004 of the European Parliament and of the Council on Persistent Organic Pollutants as Regards Annex I; 2016.
- United States Environmental Protection Agency. (2010) Hexabromocyclododecane (HBCD) Action Plan.
- Wang HC, Liao HY, Chen HL (2012) *Tenebrio* small-scale ecological farming feasibility study. *Adv Mat Res*, 267- 270.
- Weiner, A., Paprocka, I., Kwiatek, K. (2018). Wybrane gatunki owadów jako źródło składników odżywczych w paszach. *Zycie Weterynaryjne* 2018; 93(7), pp. 499-504.
- Yang Y, Yang J, Wu W M, Zhao J, Song Y L, Gao L C, Yang R F and Jiang L (2015) Biodegradation and Mineralization of Polystyrene by Plastic-Eating Mealworms: Part 1. Chemical and Physical Characterization and Isotopic Tests. *Environ. Sci. Technol.* 49 12080-12086.
- Yang, J.; Yang, Y.; Wu, W.-M.; Zhao, J.; Jiang, L. (2014) Evidence of Polyethylene Biodegradation by Bacterial Strains from the Guts of Plastic-Eating Waxworms. *Environ. Sci. Technol.*, 48 (23), 13776–13784.
- Yang, S. S.; Chen, Y. di; Zhang, Y.; Zhou, H. M.; Ji, X. Y.; He, L.; Xing, D. F.; Ren, N. Q.; Ho, S. H.; Wu, W. M. (2019b) A Novel Clean Production Approach to Utilize Crop Waste Residues as Co-Diet for Mealworm (*Tenebrio molitor*) Biomass Production with Biochar as Byproduct for Heavy Metal Removal. *Environ. Pollut.*, 252, 1142–1153.
- Yang, S.S., Brandon, A.M., Xing, D.F., Yang, J., Pang, J.W., Criddle, C.S., Ren, N.Q., Wu, W.M. (2018). Progresses in Polystyrene Biodegradation and Prospects for Solutions to Plastic Waste Pollution. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. Vol. 150, pp. 1-10.
- Yang, S.-S.; Brandon, A. M.; Andrew Flanagan, J. C.; Yang, J.; Ning, D.; Cai, S.-Y. Y.; Fan, H.-Q. Q.; Wang, Z.-Y. Y.; Ren, J.; Benbow, E.; et al. (2018) Biodegradation

of Polystyrene Wastes in Yellow Mealworms (Larvae of *Tenebrio molitor* Linnaeus): Factors Affecting Biodegradation Rates and the Ability of Polystyrene-Fed Larvae to Complete Their Life Cycle. *Chemosphere*, 191, 979–989.

- Yang, S.-S.; Chen, Y.; Kang, J.-H.; Xie, T.-R.; He, L.; Xing, D.-F.; Ren, N.-Q.; Ho, S.-H.; Wu, W.-M. (2019) Generation of High-Efficient Biochar for Dye Adsorption Using Frass of Yellow Mealworms (Larvae of *Tenebrio molitor* Linnaeus) Fed with Wheat Straw for Insect Biomass Production. *J. Clean. Prod.*
- Yang, Y., Yang, J., Wu, W.M., Zhao, J., Song, Y.L., Gao, L.C., Yang, R.F., Jiang, L., (2015b). Biodegradation and mineralization of polystyrene by plastic-eating mealworms: Part 2. Role of gut microorganisms. *Environ. Sci. Technol.* 49, 12087-12093.
- Yoo JM, Hwang JS, Goo TW, Yun EY (2013). Comparative analysis of nutritional and harmful components in Korean and Chinese mealworms (*Tenebrio molitor*). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42(2), 249-254.
- Zhao, X., Vázquez-Gutiérrez, J. L., Johansson, D. P., Landberg, R., & Langton, M. (2016). Yellow mealworm protein for food purposes-extraction and functional properties. *PLoS One*, 11(2), e0147791.