

Trabajo Fin de Grado

Javier Martínez Delgado

Estudio de la similitud de las propiedades
degradativas de los organismos capaces de utilizar
tereftalato de polietileno para la obtención de energía
y su impacto en el medio ambiente

Similarity study of the degradation properties of
organisms capable of using polyethylene
terephthalate for energy obtention and its impact on
the environment

Número de TFG: 383

Convocatoria: 30 de Junio de 2020



Grado en Biología

Facultad de Biología

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

Abstract

In this work, we will see the problem of plastic waste in the marine environment due to its accumulation caused by the low degradation rate. We will look at the types of plastics, including the potential alternatives that might be used, the effects on the environment and biota, their ability to transport toxic substances and microorganisms and the effects of additives that are applied to them. Finally, we will see the degradation mechanism of polyethylene terephthalate, the structure of the enzyme capable of performing the degradation and the comparison of the enzyme in different species.

Resumen

En este trabajo, veremos la problemática de los residuos plásticos en el medio marino debido a una acumulación por la baja tasa de degradación. Veremos los tipos de plásticos, entre ellos las alternativas que se podrían utilizar, los efectos que produce sobre el medio ambiente y los animales, su capacidad de transporte de sustancias tóxicas y microorganismos y efectos de los aditivos que se les ponen. Finalmente, veremos el mecanismo de degradación del tereftalato de polietileno, la estructura de la enzima capaz de llevar a cabo esta degradación y la comparación de la enzima en distintas especies.

Indice

1.-Declaración de objetivos.....	1
2.-Métodos.....	1
3.-Los plásticos: Problemática de los plásticos en el medio ambiente y tipos de plásticos	1
3.1.-Problemática de los plásticos en el medio ambiente.....	1
3.2.-Tipos de plásticos.....	2
4.-Efecto ambiental del plástico	4
4.1.-Efecto en animales	5
4.2.-Transporte de productos tóxicos	6
4.3.-Transporte de organismos	6
4.4.-Efecto de aditivos.....	6
5.-Degradación del PET	7
5.1.-Función y estructura de la PETasa.....	7
5.2.-Función del puente disulfuro en la cinética enzimática	11
5.3.-Catálisis del PET.....	11
6.-Problemática del tratamiento biológico de los residuos y vistas de futuro.....	12
7.-Conclusión	13
8.-Bibliografía	13
ANEXO 1: Recopilación de las secuencias de las proteínas analizadas y sus PDB ID.....	22

1.-Declaración de objetivos

El objetivo de este proyecto es ampliar nuestra idea acerca de la problemática de los residuos plásticos especialmente en el medio marino e intentaremos analizar la forma de degradación de las enzimas más efectivas en la degradación de tereftalato de polietileno (PET), analizando la estructura de la enzima que lo permite y compararemos esta estructura con otras enzimas similares degradadoras de PET.

2.-Métodos

En la segunda parte del proyecto, he analizado la similitud entre las enzimas de las diferentes especies degradadoras de PET. Para esto, he obtenido las secuencias de aminoácidos de dichas enzimas a través del PDB [1] y una vez reunidas las secuencias he realizado un alineamiento de las secuencias a través de un alineamiento de tipo Clustal Omega a través de EMBOSS y con los parámetros por defecto [2]. Una vez obtenido el alineamiento, he realizado un árbol filogenético en MEGA X a través del método de máxima verosimilitud con los parámetros por defecto [3] y he hecho el cálculo de las distancias filogenéticas en MEGA-X. Con el alineamiento, he realizado el logo en WebLogo 3 [4] para poder observar las regiones conservadas de las secuencias entre las distintas especies.

3.-Los plásticos: Problemática de los plásticos en el medio ambiente y tipos de plásticos

3.1.-Problemática de los plásticos en el medio ambiente

Los plásticos son polímeros de alto peso molecular derivados de petroquímicos. Sus características químicas los hacen ligeros, resistentes, duraderos y su fabricación es de bajo coste por lo que se vuelven idóneos para la producción, pero también los hace peligrosos para el medio ambiente [5], [6]. Los gránulos y plásticos de menor tamaño, denominados nanoplásticos, microplásticos o mesoplásticos en función de su tamaño, se generan a partir de la degradación o rotura mecánica de un fragmento mayor de plástico [7]. En este proyecto, me centraré en el tereftalato de polietileno (PET), dado que es el plástico no degradable más usado en la fabricación de embalaje, botellas y en menor medida, de fibras textiles. La mayoría del PET que se utiliza en la fabricación de textiles y botellas tiene una cristalinidad alta, entre 30-40% mientras que el que se utiliza para materiales de embalaje presenta una cristalinidad menor [8].

Los microplásticos se pueden clasificar en dos tipos: primarios y secundarios. Los microplásticos primarios son aquellos que se han fabricado directamente de ese tamaño, como es el caso de los gránulos de plástico [9], [10], usados en cosmética a modo de cremas exfoliantes [11]–[14] y fibras textiles provenientes de las plantas de tratamiento de aguas residuales [15]. Los microplásticos

secundarios se desprenden de plásticos de mayor tamaño mediante oxidación o abrasión mecánica [7], [16], [17].

Estos pequeños fragmentos son la forma más común de desecho marino generado por el ser humano y, su tamaño, les permite introducirse en los sedimentos marinos y costeros pudiendo cambiar sus propiedades físicas [18]. Estos microplásticos, a su vez, se pueden degradar formando nanoplásticos que son mucho más peligrosos dado que pueden atravesar las membranas [16], [19] y, en ocasiones, ser usado por el metabolismo de los microorganismos [20]. Los mesoplásticos son fragmentos de plástico entre 5mm-20cm mientras que los microplásticos son fragmentos entre 300μ-5mm [21].

3.2.-Tipos de plásticos

La resistencia y durabilidad que caracteriza a los plásticos, al igual que la hidrofobicidad del ácido tereftálico (TPA), hace que su degradación sea muy lenta [22] y se acumule mayoritariamente en los medios marinos donde la degradación es aún menor que en los medios terrestres [23], [24]. La mayoría de los plásticos que usamos día a día presentan una cadena de carbono resistente a la degradación hidrolítica y enzimática por lo que no podrán ser asimilados ni mineralizados por los microorganismos y sólo podrán ser degradados en unas condiciones químicas en las que se necesita ácidos y altas temperaturas [25]–[28]. La degradación puede ser por mecanismos químicos, mecánicos, mecanismos de fotodegradación y de biodegradación [29].

Los plásticos no degradables son los que se suelen utilizar día a día y presentan una cadena de carbono que no les permite ser degradados. Este grupo de plásticos se encuentra formado por: polietileno (PE), polipropileno (PP), poliestireno (PS), policloruro de vinilo (PVC) y tereftalato de polietileno (PET) [27]. Estos plásticos se pueden encontrar alterados en el caso de que contengan moléculas de almidón en su estructura. El hecho de añadir almidón a la composición del plástico hace que absorba agua permitiendo alcanzar las condiciones óptimas para la colonización bacteriana que degradará el almidón rompiendo así el polímero [29], [30].

Los plásticos biodegradables son los que pueden ser degradados por degradación hidrolítica o enzimática debido a que presentan heteroátomos en su cadena y actúan de sitios de hidrólisis o de reacciones enzimáticas reduciendo el peso molecular del polímero [27]. El plástico biodegradable más representativo es el Ácido poliláctico (PLA). La demanda de plásticos biodegradables es cada vez mayor. La industria sigue creando plásticos no biodegradables debido a que son más baratos pero están comenzando a producir plásticos biodegradables [25]. La biodegradación aeróbica tiene lugar en la naturaleza y se mineralizan los monómeros a CO₂ y H₂O. La biodegradación anaeróbica tiene lugar en vertederos y sedimentos y genera CO₂, H₂O y CH₄. También existe la degradación parcial

que tendría lugar en tierra y compost [7], [20], [25], [27], [31]. La movilidad, cristalinidad, peso molecular, grupos funcionales y aditivos afectan a la degradación [24], [32]. Una vez las hidrolasas han despolimerizado el plástico y generado los monómeros, hay especies como *Pseudomonas putida* que pueden generar bioplásticos como el PHA [33]. El PLA es un poliéster alifático lineal que se genera por la condensación natural del ácido láctico que se obtiene de la fermentación del almidón, coproducto de la molienda del maíz [20]. Se usa para vasos, embalajes de comida, cajas, películas de acolchado y bolsas de compost [20]. El uso de las hidrolasas para degradar los plásticos sería una forma respetuosa para el medio ambiente de reciclar el plástico [34].

Los bioplásticos están compuestos por biomasa renovable. En el caso del PET, el EG proviene del etanol sacado de la caña de azúcar [35] y el TPA de la remolacha azucarera [36], [37]. El 20% del PET que se produce tiene base biológica [25]. La armada estadounidense está trabajando en la creación de un biopolímero para utilizar en sus buques pero todavía se está investigando si los monómeros en los que se descompone son peligrosos para el medio ambiente [38].

Los plásticos fotobiodegradables son plásticos a los que se les ha incorporado aditivos sensibles a la luz que se comienzan a degradar gracias a los rayos UV creando fragmentos de menor tamaño que serían degradados por estrés físico de las olas y rocas [20], [27]. El fototrófico más importante no es un eucarionte sino que es una cianobacteria [21].

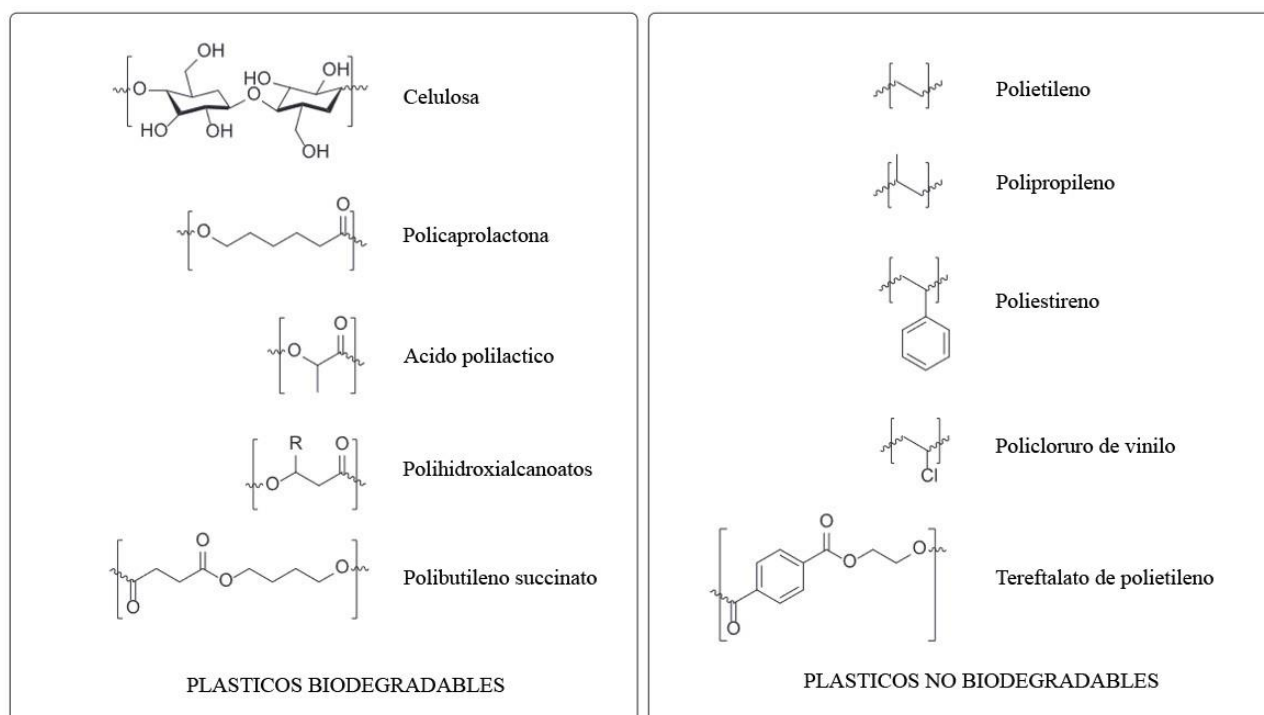


Figura 1: Estructura química de los plásticos biodegradables y no biodegradables [27].

En este proyecto nos centraremos en el tereftalato de polietileno (PET) que puede ser utilizado en la fabricación de botellas, fibras sintéticas y contenedores [8]. Según la EPA (United States Environmental Protection Agency), de los 2,1 millones de toneladas de plásticos recogidos al año, tan solo el 31% es reciclado mientras que el resto es descartado como residuo [39]. El PET se produce a partir de petroquímicos como el ácido tereftálico (TPA) y etilenglicol (EG) [40]. Se calcula que a final de año superará los 70 millones de toneladas de residuos de PET a nivel mundial [40].

4.-Efecto ambiental del plástico

En 2012 se produjo 288 millones de toneladas de plástico en todo el mundo [41]. Se estima que el 8% de la producción mundial acaba en el océano [42]. El 80% de los residuos plásticos en el medio acuático proviene de fuentes terrestres [7]. Los microplásticos forman el 92% de estos residuos plásticos [43]. Estos microplásticos pueden ser primarios si provienen de pinturas, productos médicos, abrasivos industriales, electrónica o cosmética [12], [44], o secundarios si provienen de la degradación de fragmentos plásticos de mayor tamaño [45]–[47]. Estos microplásticos llegan a los mares por escorrentía [7] y sistemas de saneamiento municipales [6], [48]–[50]. En la superficie de estos plásticos hay microorganismos productores de oxígeno que son de vital importancia ya que la oxidación de los polímeros que tiene lugar durante la degradación, consume el oxígeno [41], [51]. Los residuos plásticos en el medio marino también tienden a concentrarse cerca de la superficie, en las columnas de agua y en los giros oceánicos [10] como en el caso de la isla de plástico situada en el giro oceánico del Pacífico norte [52]. La descomposición plástica en los océanos es muy baja por lo que podría llegar a tardar cientos de años [53].

El 95% de los residuos plásticos que pasan por las plantas de tratamiento de aguas residuales se adhieren a biosólidos [54] y son utilizados en la agricultura para la irrigación y fertilización [55], [56]. Esta descarga de microplásticos es lo suficientemente grande como para crear una película de plástico en la tierra [27] acumulando pesticidas [57], manteniendo la humedad, aumentando la temperatura del suelo e inhibiendo las semillas [29].

Los barcos mercantes arrojan al océano 639 mil piezas de plástico cada día en el mundo [58]. La pesca recreativa y barcos pequeños también arrojan una gran cantidad de plástico [38]. En medios urbanos, como el caso de Canadá, el 62% de los residuos plásticos del medio marítimo proviene de fuentes terrestres y portuarias [59], mientras que en lugares más remotos, como el caso de Alaska, la mayoría de los residuos plásticos del medio marítimo proceden de la pesca [38]. Por esto, se elaboró el protocolo MARPOL en 1978 para controlar la contaminación por residuos plásticos que producen los barcos [60]–[62] aunque la mayoría de empresas no siguen el protocolo debido a que conllevaría una pérdida económica.

Los residuos plásticos llegan a las playas donde se someten a altas temperaturas debido a la arena, acelerando la degradación oxidativa iniciada por los rayos UV [7]. La degradación de la superficie del plástico la hace susceptible a romperse por estrés por humedad, cambios de temperatura o abrasión con la arena liberando microplásticos al medio [63]. Los plásticos que se encuentran en la superficie del agua o en la columna de agua, estarán sometidos a una menor temperatura, no les llegarán los rayos UV de igual manera y habrá menos oxígeno disponible debido a que la concentración de oxígeno en el agua es mucho menor a la concentración de oxígeno en el aire [64], [65]. En el caso de los plásticos opacos, la degradación oxidativa solo se daría en las capas superficiales porque los rayos UV no llegarían a las capas más internas [66]. Por todo esto, las playas son los lugares donde más microplásticos se generan por lo que es de vital importancia su limpieza [7].

4.1.-Efecto en animales

Al estar los plásticos suspendidos en el agua, muchos organismos pueden interactuar con ellos. Hay casos de microplásticos y nanoplásticos que entran en las células de microalgas [67], [68], filtradores de ecosistemas terrestres o marinos [69]–[71], filtradores de agua dulce [72], peces que confunden los microplásticos con algas [73], mamíferos marinos [74], cetáceos [75], [76], tortugas [77], [78], zooplancton [7] y aves que confunden los plásticos por el tamaño y color con sus presas [79].

Más del 80% del impacto en la fauna silvestre es producido por los residuos plásticos [80]. Por ejemplo, al menos el 44% de las aves marítimas ingieren plástico como el albatros de patas negras que, como otras aves adultas, pueden regurgitar los plásticos y alimentan a sus crías con plásticos [5], [81], [82]. Las crías de *Diomedea immutabilis* no pueden regurgitar los plásticos por lo que los tendrán que llevar toda su vida en el interior [82]. La acumulación de plásticos reduce la forma física del animal por lo que tiene que consumir más energía para sus desplazamientos [83].

En algas, los plásticos producen inhibición física de la fotosíntesis y parálisis. En los animales, producen: falsa saciedad, estrés patológico, fallo reproductivo [84], reducción de la tasa de crecimiento [85], estrés oxidativo, inflamación del hígado, ovulación retardada, bloqueo de las secreciones enzimáticas [86], toxicidad del hígado, necrosis celular [87] y bloqueo intestinal [70], [87]–[91]. La ingesta de agua en el humano, además de los problemas relacionados con los contaminantes unidos a los microplásticos, los propios microplásticos en sí podrán ser absorbidos por el intestino y dirigirse a órganos secundarios produciendo estrés oxidativo que causará inflamación crónica, un aumento de la respuesta inmune y daño en el tejido [92].

4.2.-Transporte de productos tóxicos

El aumento de la cantidad de residuos plásticos puede ser un riesgo para la salud de las personas [93]. Esto se debe a que en las playas y aguas recreativas hay patógenos y heces de animales que se pueden adherir a los plásticos y ser transportados por viento o marea [94]–[96]. Los microplásticos también pueden adherirse a metales pesados [7] y a contaminantes orgánicos persistentes (COPs) haciendo de vectores de éstos y contaminando el medio ambiente [97].

En cierta forma se podría decir que al recoger los contaminantes orgánicos persistentes del agua, “limpian” el agua de los químicos contaminantes disueltos en ella [98]. Los microplásticos contaminados pueden ser ingeridos entrando en la cadena alimentaria, ascendiendo a niveles tróficos superiores [7], [44], [99]. Esto provoca en los animales estrés hepático, ovulación retardada, alteración endocrina e incluso la muerte [100].

4.3.-Transporte de organismos

En ecosistemas acuáticos los microplásticos se comportan como hábitat de algas, dinoflagelados y gusanos marinos [101]. También lo son para los microorganismos que forman un hábitat capaz de soportar otras comunidades [102]–[104]. El proceso de degradación puede provocar rugosidad en la superficie, ya que se distribuyen de forma irregular [105], lo que hace que se unan más bacterias y diatomeas [106]. También pueden hacer que el fragmento sea ingerido o provocar su hundimiento debido al peso [107], [108].

También se produce el transporte de hongos en los fragmentos duros [109]. Los microorganismos unidos al plástico están expuestos. Se les unen más microorganismos y van secretando enzimas [20], [110] degradando el plástico y mineralizándolo [24].

Estos hechos podrían conllevar a que los residuos plásticos formen un hábitat idóneo para algas nocivas, potenciales invasores o incluso microorganismos patógenos que normalmente forman biofilms [105], [111]–[115]. Debido a esto, los microplásticos se convierten en un serio problema para la fauna y flora autóctona de cada zona [116], [117].

4.4.-Efecto de aditivos

Los aditivos no están químicamente unidos al plástico. Están unidos físicamente por lo que pueden desprenderse del plástico contaminando el medio [118]. La mayoría son tóxicos, por lo que pueden ser peligrosos para los organismos si son ingeridos [73], [118]. Debido a los aditivos plastificantes, un plástico que normalmente dura de 3 a 10 años, podría durar de 30 a 50 años [119].

Aditivo	Función	Efecto
Retardante de llama bromado	Reduce combustibilidad de plásticos	Alterador endocrino
Ftalatos	Plastificante	Alterador endocrino
Bisfenol A	Plastificante y antioxidante	Alterador endocrino
Nonilfenoles	Plastificante y antioxidante	Alterador endocrino
Antioxidantes	Antioxidante	Alterador endocrino

Figura 2: Aditivos comunes utilizados en los plásticos y sus efectos [118]

5.-Degradación del PET

Los poliésteres aromáticos son muy resistentes a la degradación enzimática [120], [121]. El bloque aromático TPA le da la rigidez característica del PET [122], [123]. Los plásticos se pueden tratar de varias formas. Se pueden tratar físicamente, pero generarían subproductos tóxicos [124]. Se pueden tratar químicamente, que no generarían productos tóxicos, pero no se podría realizar a gran escala y los químicos utilizados podrían ser peligrosos [125], [126]. También se podría tratar biológicamente, que se podría realizar a gran escala y no generaría subproductos tóxicos [127].

Los factores que afectan a la degradación de los plásticos son: composición química, peso molecular, aditivos, efecto de tracción y de compresión, carácter hidrofóbico, grosor, densidad, morfología, capacidad de absorción de agua y aspereza [27], [127]–[129].

5.1.-Función y estructura de la PETasa

La mayoría de las enzimas degradadoras de PET que se conocen provienen de organismos termófilos [130]. La enzima clave en la biorremediación de PET es secretada por *Ideonella sakaiensis* 201-F6 (se trata de una PETasa) es capaz de utilizar PET como su fuente principal de carbono [40]. Además, esta enzima, puede actuar a una temperatura normal, entre 20° y 30° y no necesita una temperatura alta como sus homólogos [130]. Alcanza una actividad enzimática máxima a menores concentraciones de sustrato que sus homólogos por lo que tendría una mejor afinidad enzima sustrato también [130], [131] lo que hace que tenga una eficiencia muchísimo mayor [132]. La estructura cristalina de la PETasa indica que es un miembro de la familia de las cutinasas, lo que concuerda con la carencia de una tapa que recubra el sitio activo, aunque hay una serie de diferencias: la PETasa presenta un sitio activo mayor que el de otras cutinasas (Círculos rojos representados en la figura 3) y regiones hidrofóbicas alrededor del sitio catalítico para favorecer el acoplamiento del sustrato [8].

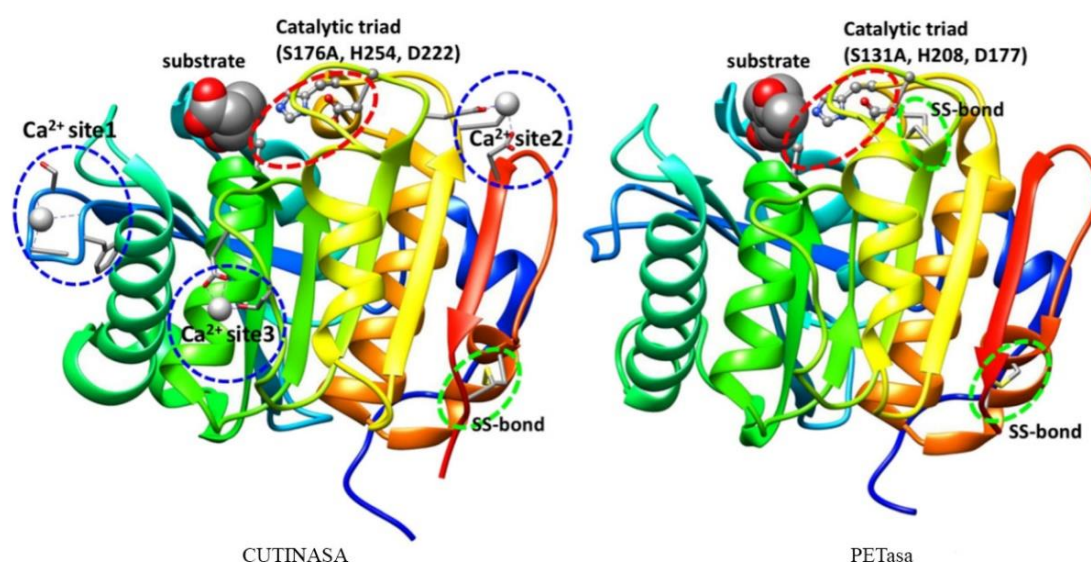


Figura 3: Diferencias entre las estructuras cristalinas de cutinasas y de PETasas [8].

La PETasa ha sido modificada genéticamente en varias ocasiones en busca de una mejora en la actividad catalítica y termoestabilidad [133]. Debido a esto, se ha detectado que una reducción de la hendidura a través de mutación, mejora la degradación de PET, lo que nos indica que la PETasa no se encuentra optimizada para la degradación de PET todavía [8].

Debido a este aumento de actividad catalítica en una hendidura reducida, a su termoestabilidad y a que aumenta su actividad catalítica con la unión de Ca^{2+} , los microorganismos más eficaces en la producción de PETasas son los actinomicetos termófilos [8].

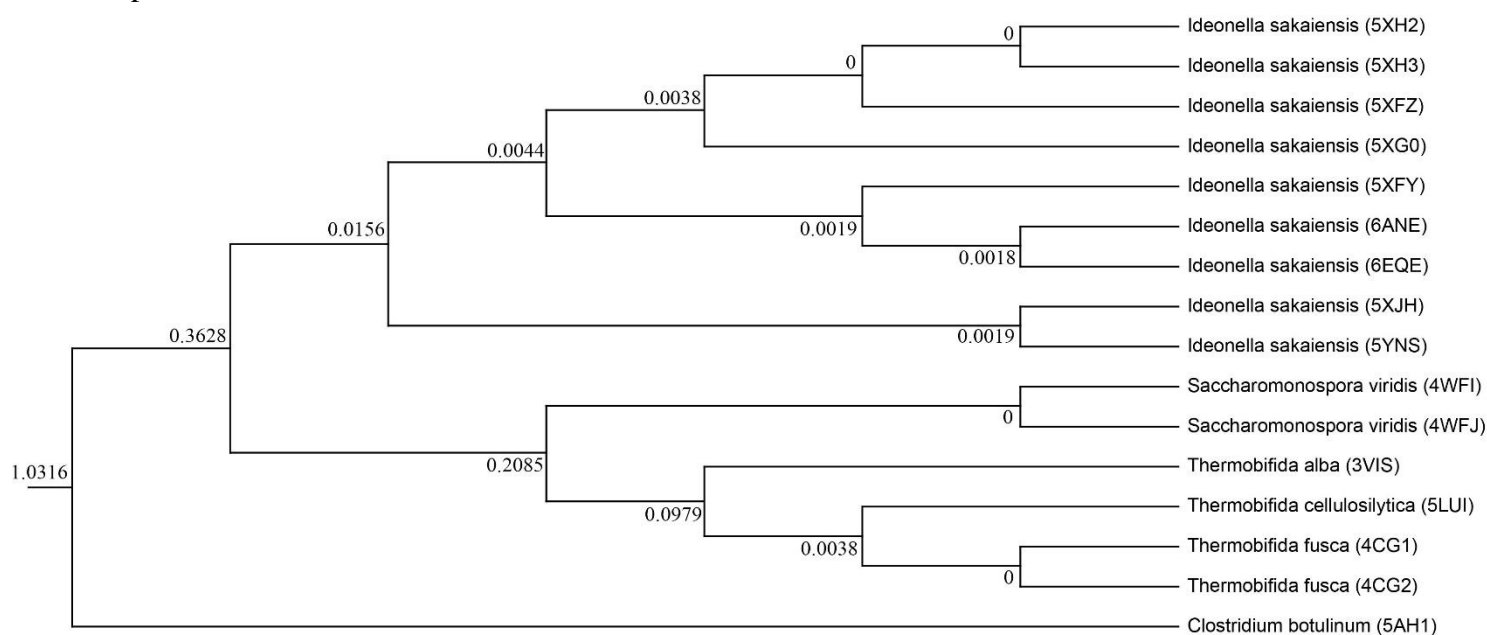


Figura 4: Árbol filogenético y distancias filogenéticas entre las especies degradadoras de PET más conocidas (véase Anexo 1). Para esto he utilizado MEGA X realizando el árbol filogenético por el método de máxima verosimilitud con los parámetros por defecto y los números representan la distancia filogenética entre las secuencias de proteínas

La PETasa de *Ideonella sakaiensis* (IsPETasa), puede degradar el PET liberando los monómeros BHET MHET TPA y EG [131]. Los productos intermedios de la hidrólisis: BHET y MHET, inhiben la actividad de la hidrolasa y cutinasa llevando a cabo una retroalimentación negativa sobre la enzima [134]. *Ideonella sakaiensis* expresa un camino enzimático completo compuesto por dos enzimas: PETasa y MHETasa que descomponen el PET dando lugar a sus monómeros, sin liberar al medio los compuestos intermedios [22], [40].

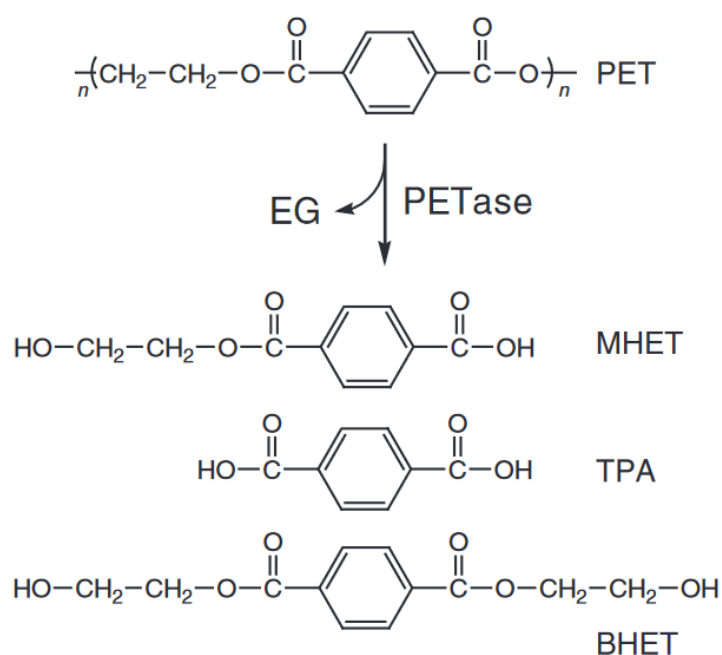


Figura 5: Degradación de la PETasa formando monómeros [135].

Una vez obtenidas las secuencias de las 16 especies, las alineamos y creamos el árbol filogenético con las respectivas distancias filogenéticas y creamos un logo para poder determinar las regiones conservadas entre las diferentes secuencias de aminoácidos a través del alineamiento.

Las hidrolasas y cutinasas de las especies degradadoras de PET degradan el PET atacando la parte amorfa y no la cristalina [23], [136], [137]. Esto se debe a que al aumentar la cristalinidad, se limita el movimiento de las cadenas del polímero y disminuye la disponibilidad de las cadenas para el ataque enzimático [8]. Debido a esto, la degradación del polímero se limita a la disponibilidad de la superficie del sustrato y este ataque a la región amorfa hace que, de momento, no se pueda utilizar para la degradación de botellas de PET dada su alta cristalinidad [8].



Figura 6: Logo del alineamiento de las secuencias de las especies para determinar las regiones conservadas entre las diferentes especies.

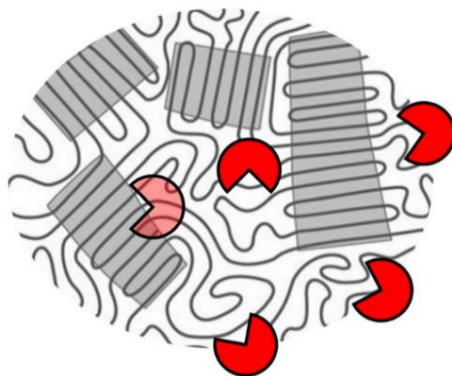


Figura 7: Catálisis enzimática sobre las regiones amorfas del PET [23]. En esta imagen se puede apreciar como la PETasa degradará las regiones amorfas del PET (rojo fuerte) mientras que no podrá degradar las regiones cristalinas (rojo transparente)

La enzima adopta un pliegue α/β -Hidrolasa convencional [135], [138], [139] al igual que todas las enzimas degradadoras de plástico conocidas hasta la fecha [22]. Presenta tres cadenas polipeptídicas S131-H208-D177 [135]. Según los estudios realizados, es S131 la que actúa como neutrófilo [135]. El sitio de unión de la enzima se encuentra formando una hendidura de gran tamaño y profundidad en forma de “L” [132]. Este sitio de unión se divide en dos partes: el subsitio 1 que se une a una molécula de MHET, y el subsitio 2 que se une a tres moléculas de MHET debido a su mayor dimensión [132]. A su vez, el subsitio 2 se divide en tres partes: Ila, IIb, IIc. El subsitio 1 es idéntico en casi todas las especies degradadoras de PET mientras que las diferencias entre las especies se encuentran en el subsitio 2 [132].

5.2.-Función del puente disulfuro en la cinética enzimática

Otra diferencia estructural entre la IsPETasa y las cutinasas es la presencia de un segundo puente disulfuro (DS2) entre los residuos de cisteína C176-C212 [130], [132], [135]. Este puente disulfuro se encuentra en el lado opuesto al sitio activo por lo que se podría pensar que no está relacionado con la actividad enzimática, pero se ha observado que al romper el puente disulfuro se compromete la actividad del centro activo por lo que se ha averiguado que el papel que lleva a cabo el puente disulfuro es la estabilidad térmica de la enzima [130], [132]. Aun teniendo un segundo puente disulfuro, sus homólogos presentan una estabilidad térmica mayor debido a que pertenecen a bacterias termófilas [132]

5.3.-Catálisis del PET

El PET entra en el sitio de unión de la enzima, situando al grupo carbonilo en el centro activo. Este grupo carbonilo es hidrolizado y se une al triptófano W156 de la enzima. El ácido benzoico resultante, se vuelve más plano y es inducido por el triptófano a girar apilándose sobre sí mismo [135]. Los factores necesarios para una degradación significativa del PET son: la hidrofobicidad, la cristalinidad, la topografía de la superficie y el tamaño del polímero [8].

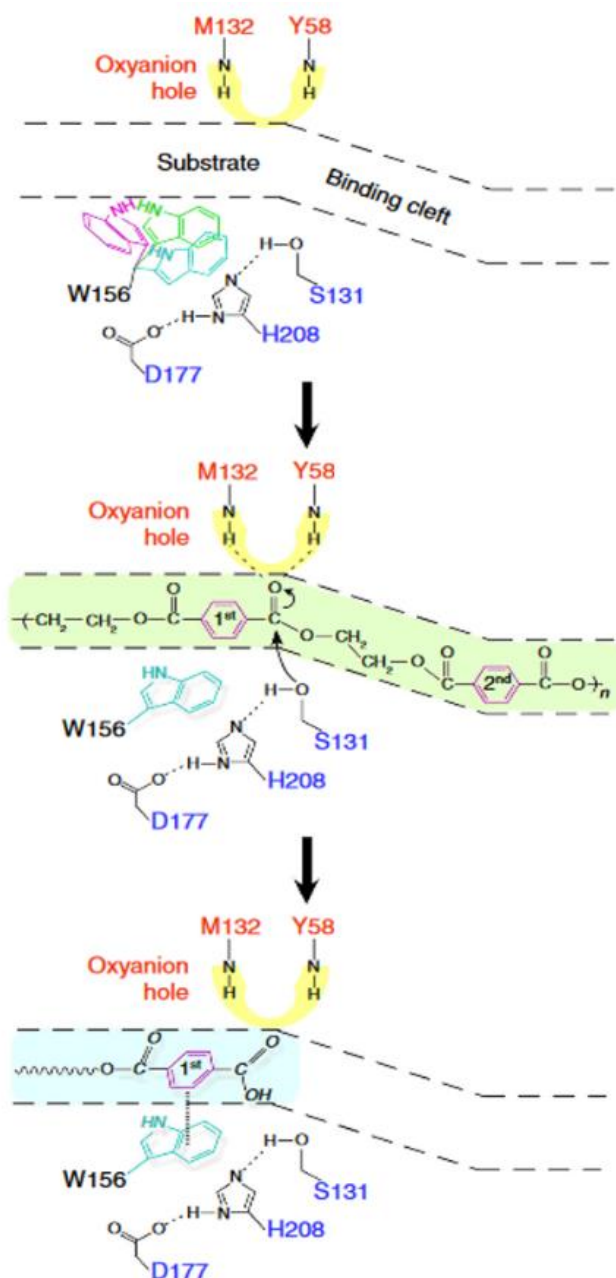


Figura 8: Catálisis enzimática del PET por la IsPETasa[135].

6.-Problemática del tratamiento biológico de los residuos y vistas de futuro

Como hemos dicho, la mejor opción para el tratamiento de residuos plásticos es el tratamiento biológico aunque se debe tener especial cuidado ya que los microorganismos son alterados genéticamente y se debe priorizar que la seguridad del ecosistema se encuentre equilibrada y que sea evaluada periódicamente [8].

En cuanto al futuro, se está investigando la diatomea *Phaeodactylum tricornutum* ya que al ser un microorganismo fotosintético se puede cultivar fácilmente y puede crecer de manera rápida en presencia de CO₂ y en un entorno marino, al contrario que la *Ideonella sakaiensis*, productora de

IsPETasa [40]. Tampoco requiere una suplementación con azúcares u otras fuentes de carbono por lo que puede tener un gran potencial en la biorremediación del agua marina contaminada con PET [40].

7.-Conclusión

En este trabajo hemos podido apreciar el impacto medioambiental que producen los residuos plásticos que entran en el medio marino, cómo se fragmentan estos plásticos en microplásticos y nanoplásticos y cómo afecta esto a los organismos marinos e incluso cómo podrían afectar, y afectan, a la salud humana. También hemos destacado el papel de las playas en la formación de estos microplásticos. Hemos visto las distintas alternativas del uso de los plásticos convencionales y las vías de degradación biológica para la biorremediación de los residuos plásticos. Por último, hemos visto la estructura de IsPETasa y su similitud con cutinasas homólogas en otras especies degradadoras de PET, hemos podido estudiar su filogenia, ver las secuencias conservadas entre las diferentes especies y hemos analizado el posible futuro de la biorremediación de los medios marinos.

8.-Bibliografía

- [1] H. Berman, K. Henrick, H. Nakamura, y J. L. Markley, «The worldwide Protein Data Bank (wwPDB): ensuring a single, uniform archive of PDB data», *Nucleic Acids Res.*, vol. 35, n.º Database, pp. D301-D303, ene. 2007, doi: 10.1093/nar/gkl971.
- [2] F. Madeira *et al.*, «The EMBL-EBI search and sequence analysis tools APIs in 2019», *Nucleic Acids Res.*, vol. 47, n.º W1, pp. W636-W641, jul. 2019, doi: 10.1093/nar/gkz268.
- [3] S. Kumar, G. Stecher, M. Li, C. Knyaz, y K. Tamura, «MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms», *Mol. Biol. Evol.*, vol. 35, n.º 6, pp. 1547-1549, jun. 2018, doi: 10.1093/molbev/msy096.
- [4] G. E. Crooks, «WebLogo: A Sequence Logo Generator», *Genome Res.*, vol. 14, n.º 6, pp. 1188-1190, may 2004, doi: 10.1101/gr.849004.
- [5] D. W. Laist, «Overview of the biological effects of lost and discarded plastic debris in the marine environment», *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 18, n.º 6, pp. 319–326, 1987, doi: 10.1016/s0025-326x(87)80019-x.
- [6] A. t. Pruter, «Sources, quantities and distribution of persistent plastics in the marine environment», *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 18, n.º 6, pp. 305–310, 1987, doi: 10.1016/s0025-326x(87)80016-4.
- [7] A. L. Andrady, «Microplastics in the marine environment», *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 62, n.º 8, pp. 1596–1605, 2011, doi: 10.1016/j.marpolbul.2011.05.030.
- [8] F. Kawai, T. Kawabata, y M. Oda, «Current knowledge on enzymatic PET degradation and its possible application to waste stream management and other fields», *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 103, n.º 11, pp. 4253-4268, jun. 2019, doi: 10.1007/s00253-019-09717-y.
- [9] D. K. A. Barnes, F. Galgani, R. C. Thompson, y M. Barlaz, «Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments», *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.*, vol. 364, n.º 1526, pp. 1985–1998, 2009, doi: 10.1098/rstb.2008.0205.
- [10] M. Cole, P. Lindeque, C. Halsband, y T. S. Galloway, «Microplastics as Contaminants in the Marine Environment : A review», *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 62, pp. 2588–2597, 2011.

- [11] M. Chang, «Reducing microplastics from facial exfoliating cleansers in wastewater through treatment versus consumer product decisions», *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 101, n.º 1, pp. 330–333, 2015, doi: 10.1016/j.marpolbul.2015.10.074.
- [12] L. S. Fendall y M. A. Sewell, «Contributing to marine pollution by washing your face: Microplastics in facial cleansers», *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 58, n.º 8, pp. 1225–1228, 2009, doi: 10.1016/j.marpolbul.2009.04.025.
- [13] I. E. Napper, A. Bakir, S. J. Rowland, y R. C. Thompson, «Characterisation, quantity and sorptive properties of microplastics extracted from cosmetics», *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 99, n.º 1-2, pp. 178–185, 2015, doi: 10.1016/j.marpolbul.2015.07.029.
- [14] V. Zitko y M. Hanlon, «Another source of pollution by plastics: Skin cleaners with plastic scrubbers», *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 22, n.º 1, pp. 41–42, 1991, doi: 10.1016/0025-326x(91)90444-w.
- [15] S. A. Carr, J. Liu, y A. G. Tesoro, «Transport and fate of microplastic particles in wastewater treatment plants», *Water Res.*, vol. 91, pp. 174–182, 2016, doi: 10.1016/j.watres.2016.01.002.
- [16] H. Bouwmeester, P. C. Hollman, y R. J. Peters, «Potential Health Impact of Environmentally Released Micro and Nanoplastics in the Human Food Production Chain: Experiences from Nanotoxicology», *Environ. Sci. Technol.*, vol. 49, pp. 8932–8947, 2015, doi: 10.1021/acs.est.5b01090.
- [17] S. Lambert y M. Wagner, «Characterisation of nanoplastics during the degradation of polystyrene», *Chemosphere*, vol. 145, pp. 265–268, 2016, doi: 10.1016/j.chemosphere.2015.11.078.
- [18] H. S. Carson, S. L. Colbert, M. J. Kaylor, y K. J. Mcdermid, «Small plastic debris changes water movement and heat transfer through beach sediments», *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 62, n.º 8, pp. 1708–1713, 2011, doi: 10.1016/j.marpolbul.2011.05.032.
- [19] A. E. Nel *et al.*, «Understanding biophysicochemical interactions at the nano-bio interface», *Nat.Mater.*, vol. 8, pp. 543–557, 2009.
- [20] A. A. Shah, F. Hasan, A. Hameed, y S. Ahmed, «Biological degradation of plastics: A comprehensive review», *Biotechnol. Adv.*, vol. 26, n.º 3, pp. 246–265, 2008, doi: 10.1016/j.biotechadv.2007.12.005.
- [21] D. Debroas, A. Mone, y A. T. Halle, «Plastics in the North Atlantic garbage patch: A boat-microbe for hitchhikers and plastic degraders», *Sci. Total Environ.*, vol. 599-600, pp. 1222–1232, 2017, doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.05.059.
- [22] G. J. Palm *et al.*, «Structure of the plastic-degrading Ideonella sakaiensis MHETase bound to a substrate», *Nat. Commun.*, vol. 10, n.º 1, p. 1717, dic. 2019, doi: 10.1038/s41467-019-09326-3.
- [23] R. Wei y W. Zimmermann, «Microbial enzymes for the recycling of recalcitrant petroleum-based plastics: how far are we?», *Microb. Biotechnol.*, vol. 10, n.º 6, pp. 1308–1322, 2017, doi: 10.1111/1751-7915.12710.
- [24] Y. Tokiwa, B. Calabia, C. Ugwu, y S. Aiba, «Biodegradability of Plastics», *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 10, n.º 9, pp. 3722–3742, 2009, doi: 10.3390/ijms10093722.
- [25] A. Prieto, «To be, or not to be biodegradable... that is the question for the bio-based plastics», *Microb. Biotechnol.*, vol. 9, n.º 5, pp. 652–657, 2016, doi: 10.1111/1751-7915.12393.
- [26] A. L. Andrady y M. A. Neal, «Applications and societal benefits of plastics», *Philos T R Soc B*, vol. 364, pp. 1977–1984, 2009.
- [27] E.-L. Ng *et al.*, «An overview of microplastic and nanoplastic pollution in agroecosystems», *Sci. Total Environ.*, vol. 627, pp. 1377–1388, 2018, doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.01.341.
- [28] F. Awaja y D. Pavel, «Recycling of PET», *EurPolym*, vol. 41, pp. 1453–1477, 2005.
- [29] Y. Orhan, J. Hrenovic, y H. Buyukgungor, «Biodegradation of plastic compost bags under controlled soil conditions», *Acta Chim. Slov.*, vol. 51, n.º 3, pp. 579–588, 2004.
- [30] J. L. Griffin, «Biodegradable Synthetic Resin Sheet Material Containing Starch and a Fatty Material», *Color. Ltd. Assignee C08 J 00320*, 1977.

- [31] M. Knoll, T. M. Hamm, F. Wagner, V. Martinez, y J. Pleiss, «The PHA Depolymerase Engineering Database: A systematic analysis tool for the diverse family of polyhydroxyalkanoate (PHA) depolymerases», *BMC Bioinformatics*, vol. 10, n.º 1, p. 89, 2009, doi: 10.1186/1471-2105-10-89.
- [32] T. Artham y M. Doble, «Biodegradation of Aliphatic and Aromatic Polycarbonates», *Macromol. Biosci.*, vol. 8, n.º 1, pp. 14–24, 2008, doi: 10.1002/mabi.200700106.
- [33] N. Wierckx, M. A. Prieto, P. Pomposiello, V. D. Lorenzo, K. Oconnor, y L. M. Blank, «Plastic waste as a novel substrate for industrial biotechnology», *Microb. Biotechnol.*, vol. 8, n.º 6, pp. 900–903, 2015, doi: 10.1111/1751-7915.12312.
- [34] R. Wei y W. Zimmermann, «Biocatalysis as a green route for recycling the recalcitrant plastic polyethylene terephthalate», *Microb. Biotechnol.*, vol. 10, n.º 6, pp. 1302–1307, 2017, doi: 10.1111/1751-7915.12714.
- [35] I. Tsiropoulos, A. p. c. Faaij, L. Lundquist, U. Schenker, J. f. Briois, y M. k. Patel, «Life cycle impact assessment of bio-based plastics from sugarcane ethanol», *J. Clean. Prod.*, vol. 90, pp. 114–127, 2015, doi: 10.1016/j.jclepro.2014.11.071.
- [36] D. I. Collias, A. M. Harris, V. Nagpal, I. W. Cottrell, y M. W. Schultheis, «Biobased Terephthalic Acid Technologies: A Literature Review», *Ind. Biotechnol.*, vol. 10, n.º 2, pp. 91–105, 2014, doi: 10.1089/ind.2014.0002.
- [37] P. B. Smith, «Bio-Based Sources for Terephthalic Acid», *ACS Symp. Ser. Green Polym. Chem. Biobased Mater. Biocatal.*, pp. 453–469, 2015, doi: 10.1021/bk-2015-1192.ch027.
- [38] J. G. b Derraik, «The pollution of the marine environment by plastic debris: a review», *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 44, n.º 9, pp. 842–852, 2002, doi: 10.1016/s0025-326x(02)00220-5.
- [39] R. Leblanc, «Plastic recycling facts and figures», n.º Thebalancesmb, oct. 10, 2019.
- [40] D. Moog *et al.*, «Using a marine microalga as a chassis for polyethylene terephthalate (PET) degradation», *Microb. Cell Factories*, vol. 18, n.º 1, p. 171, dic. 2019, doi: 10.1186/s12934-019-1220-z.
- [41] A. Eich, T. Mildenerberger, C. Laforsch, y M. Weber, «Biofilm and Diatom Succession on Polyethylene (PE) and Biodegradable Plastic Bags in Two Marine Habitats: Early Signs of Degradation in the Pelagic and Benthic Zone?», *Plos One*, vol. 10, n.º 9, 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0137201.
- [42] J. R. Jambeck *et al.*, «Plastic waste inputs from land into the ocean», *Science*, vol. 347, pp. 768–771, 2015.
- [43] M. f. m. Santana, L. g. Ascer, M. r. Custódio, F. t. Moreira, y A. Turra, «Microplastic contamination in natural mussel beds from a Brazilian urbanized coastal region: Rapid evaluation through bioassessment», *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 106, n.º 1-2, pp. 183–189, 2016, doi: 10.1016/j.marpolbul.2016.02.074.
- [44] M. R. Gregory, «Plastic “scrubbers” in hand cleansers: a further (and minor) source for marine pollution identified», *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 32, pp. 867–871, 1996.
- [45] K. Duis y A. Coors, «Microplastics in the aquatic and terrestrial environment: sources (with a specific focus on personal care products), fate and effects», *Environ. Sci. Eur.*, vol. 28, n.º 1, 2016, doi: 10.1186/s12302-015-0069-y.
- [46] M. C. Rillig, «Microplastic in Terrestrial Ecosystems and the Soil?», *Environ. Sci. Technol.*, vol. 46, n.º 12, pp. 6453–6454, 2012, doi: 10.1021/es302011r.
- [47] C. Alomar, F. Estarellas, y S. Deudero, «Microplastics in the Mediterranean Sea: Deposition in coastal shallow sediments, spatial variation and preferential grain size», *Mar. Environ. Res.*, vol. 115, pp. 1–10, 2016, doi: 10.1016/j.marenvres.2016.01.005.
- [48] A. T. Williams y S. L. Simmons, «Estuarine litter at the river/beach interface in the Bristol Channel, United Kingdom», *J. Coast. Res.*, vol. 13, pp. 1159–1165, 1997.

- [49] A. R. McCormick, T. J. Hoellein, M. G. London, J. Hittie, J. W. Scott, y J. J. Kelly, «Microplastic in surface waters of urban rivers: concentration, sources, and associated bacterial assemblages», *Ecosphere*, vol. 7, n.º 11, 2016, doi: 10.1002/ecs2.1556.
- [50] F. Murphy, C. Ewins, F. Carbonnier, y B. Quinn, «Wastewater Treatment Works (WwTW) as a Source of Microplastics in the Aquatic Environment», *Environ. Sci. Technol.*, vol. 50, n.º 11, pp. 5800–5808, 2016, doi: 10.1021/acs.est.5b05416.
- [51] K. Cooksey y B. Wigglesworth-Cooksey, «Adhesion of bacteria and diatoms to surfaces in the sea: a review», *Aquat. Microb. Ecol.*, vol. 9, pp. 87–96, 1995, doi: 10.3354/ame009087.
- [52] D. Danso *et al.*, «New Insights into the Function and Global Distribution of Polyethylene Terephthalate (PET)-Degrading Bacteria and Enzymes in Marine and Terrestrial Metagenomes», *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 84, n.º 8, 2018, doi: 10.1128/aem.02773-17.
- [53] W. c. Li, H. f. Tse, y L. Fok, «Plastic waste in the marine environment: A review of sources, occurrence and effects», *Sci. Total Environ.*, vol. 566-567, pp. 333–349, 2016, doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.05.084.
- [54] S. Ziajahromi, P. A. Neale, y F. D. L. Leusch, «Wastewater treatment plant effluent as a source of microplastics: review of the fate, chemical interactions and potential risks to aquatic organisms», *Water Sci. Technol.*, vol. 74, n.º 10, pp. 2253–2269, 2016, doi: 10.2166/wst.2016.414.
- [55] L. Nizzetto, M. Futter, y S. Langaas, «Are Agricultural Soils Dumps for Microplastics of Urban Origin?», *Environ. Sci. Technol.*, vol. 50, n.º 20, pp. 10777–10779, 2016, doi: 10.1021/acs.est.6b04140.
- [56] D. P. Mohapatra, M. Cledon, S. K. Brar, y R. Y. Surampalli, «ChemInform Abstract: Application of Wastewater and Biosolids in Soil: Occurrence and Fate of Emerging Contaminants», *ChemInform*, vol. 47, n.º 28, 2016, doi: 10.1002/chin.201628296.
- [57] L. Ramos, G. Berenstein, E. A. Hughes, A. Zalts, y J. M. Montserrat, «Polyethylene film incorporation into the horticultural soil of small periurban production units in Argentina», *Sci. Total Environ.*, vol. 523, pp. 74–81, 2015, doi: 10.1016/j.scitotenv.2015.03.142.
- [58] D. g. Shaw, «Pelagic tar and plastic in the Gulf of Alaska and Bering Sea: 1975», *Sci. Total Environ.*, vol. 8, n.º 1, pp. 13–20, 1977, doi: 10.1016/0048-9697(77)90058-4.
- [59] J. b. Ross, R. Parker, y M. Strickland, «A survey of shoreline litter in Halifax Harbour 1989», *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 22, n.º 5, pp. 245–248, 1991, doi: 10.1016/0025-326x(91)90919-j.
- [60] S. A. Lentz, «Plastics in the marine environment: Legal approaches for international action», *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 18, n.º 6, pp. 361–365, 1987, doi: 10.1016/s0025-326x(87)80027-9.
- [61] E. Ninaber, «MARPOL Annex V, Commercial Ships, and Port Reception Facilities: Making It Work», *Springer Ser. Environ. Manag. Mar. Debris*, pp. 239–243, 1997, doi: 10.1007/978-1-4613-8486-1_20.
- [62] J. B. Pearce, «Marine vessel debris: A north American perspective», *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 24, n.º 12, pp. 586–592, 1992, doi: 10.1016/0025-326x(92)90277-d.
- [63] G. A. George, «Weathering of polymers», *Met. Forum*, vol. 19, pp. 145–161, 1995.
- [64] A. L. Andrady y J. E. Pegram, «Weathering of polyethylene (LDPE) and enhanced photodegradable polyethylene in the marine environment», *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 39, n.º 2, pp. 363–370, 1990, doi: 10.1002/app.1990.070390213.
- [65] J. E. Pegram y A. L. Andrady, «Outdoor weathering of selected polymeric materials under marine exposure conditions», *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 26, n.º 4, pp. 333–345, 1989, doi: 10.1016/0141-3910(89)90112-2.
- [66] A. v. Cunliffe y A. Davis, «Photo-oxidation of thick polymer samples—Part II: The influence of oxygen diffusion on the natural and artificial weathering of polyolefins», *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 4, n.º 1, pp. 17–37, 1982, doi: 10.1016/0141-3910(82)90003-9.

- [67] P. Bhattacharya, S. Lin, J. P. Turner, y P. C. Ke, «Physical Adsorption of Charged Plastic Nanoparticles Affects Algal Photosynthesis», *J. Phys. Chem. C*, vol. 114, n.º 39, pp. 16556–16561, 2010, doi: 10.1021/jp1054759.
- [68] T. M. Nolte, W. J. g. m. Peijnenburg, A. Jan. Hendriks, y D. V. D. Meent, «Quantitative structure-activity relationships for green algae growth inhibition by polymer particles», *Chemosphere*, vol. 179, pp. 49–56, 2017, doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.03.067.
- [69] L. V. Cauwenberghe y C. R. Janssen, «Microplastics in bivalves cultured for human consumption», *Environ. Pollut.*, vol. 193, pp. 65–70, 2014, doi: 10.1016/j.envpol.2014.06.010.
- [70] S. L. Wright, R. C. Thompson, y T. S. Galloway, «The physical impacts of microplastics on marine organisms: A review», *Environ. Pollut.*, vol. 178, pp. 483–492, 2013, doi: 10.1016/j.envpol.2013.02.031.
- [71] M. A. Browne, A. Dissanayake, T. S. Galloway, D. M. Lowe, y R. C. Thompson, «Ingested Microscopic Plastic Translocates to the Circulatory System of the Mussel, *Mytilus edulis*(L.)», *Environ. Sci. Technol.*, vol. 42, n.º 13, pp. 5026–5031, 2008, doi: 10.1021/es800249a.
- [72] E. Besseling, B. Wang, M. Lüring, y A. A. Koelmans, «Correction to Nanoplastic Affects Growth of *S. obliquus* and Reproduction of *D. magna*», *Environ. Sci. Technol.*, vol. 48, n.º 23, pp. 14065–14065, 2014, doi: 10.1021/es5052028.
- [73] F. Faure, M. Corbaz, hadrien Baecher, y L. F. De Alencastro, «Pollution due to plastics and microplastics in Lake Geneva and in the Medirerranean Sea», *Arch. Sci.*, vol. 65, pp. 157–164, 2012.
- [74] D. W. Laist, «Impacts of Marine Debris: Entanglement of Marine Life in Marine Debris Including a Comprehensive List of Species with Entanglement and Ingestion Records», *Springer Ser. Environ. Manag. Mar. Debris*, pp. 99–139, 1997, doi: 10.1007/978-1-4613-8486-1_10.
- [75] P. J. Clapham, S. B. Young, y R. L. Brownell, «Baleen whales: conservation issues and the status of the most endangered populations», *Mammal Rev.*, vol. 29, n.º 1, pp. 37–62, 1999, doi: 10.1046/j.1365-2907.1999.00035.x.
- [76] M. c. Fossi *et al.*, «Are baleen whales exposed to microplastics threat? The case study of the Mediterranean Fin whale», *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.*, vol. 163, 2012, doi: 10.1016/j.cbpa.2012.05.080.
- [77] R. Mascarenhas, R. Santos, y D. Zeppelini, «Plastic debris ingestion by sea turtle in Paraíba, Brazil», *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 49, n.º 4, pp. 354–355, 2004, doi: 10.1016/j.marpolbul.2004.05.006.
- [78] L. Bugoni, K. Lígia, y P. M. Virgínia, «Marine Debris and Human Impacts on Sea Turtles in Southern Brazil», *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 42, n.º 12, pp. 1330–1334, 2001, doi: 10.1016/s0025-326x(01)00147-3.
- [79] M. L. Moser y D. S. Lee, «A Fourteen-Year Survey of Plastic Ingestion by Western North Atlantic Seabirds», *Colon. Waterbirds*, vol. 15, n.º 1, p. 83, 1992, doi: 10.2307/1521357.
- [80] M. A. Browne, M. G. Chapman, R. C. Thompson, L. A. A. Zettler, J. Jambeck, y N. J. Mallos, «Spatial and Temporal Patterns of Stranded Intertidal Marine Debris: Is There a Picture of Global Change?», *Environ. Sci. Technol.*, vol. 49, n.º 12, pp. 7082–7094, 2015, doi: 10.1021/es5060572.
- [81] L. M. Rios, C. Moore, y P. R. Jones, «Persistent organic pollutants carried by synthetic polymers in the ocean environment», *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 54, n.º 8, pp. 1230–1237, 2007, doi: 10.1016/j.marpolbul.2007.03.022.
- [82] D. M. Fry, S. I. Fefer, y L. Sileo, «Ingestion of plastic debris by Laysan Albatrosses and Wedge-tailed Shearwaters in the Hawaiian Islands», *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 18, n.º 6, pp. 339–343, 1987, doi: 10.1016/s0025-326x(87)80022-x.
- [83] S. Feldkamp, D. Costa, y G. K. DeKrey, «nergetics and behavioural effects of net entanglement on juvenile northern furseals *Callorhinus ursinus*.», *Fish. Bull.*, vol. 87, pp. 85–94, 1989.

- [84] D. S. Green, «Effects of microplastics on European flat oysters, *Ostrea edulis* and their associated benthic communities», *Environ. Pollut.*, vol. 216, pp. 95–103, 2016, doi: 10.1016/j.envpol.2016.05.043.
- [85] O. M. Lonnstedt y P. Eklov, «Environmentally relevant concentrations of microplastic particles influence larval fish ecology», *Science*, vol. 352, p. 6290, 2016.
- [86] M. Y. Azzarello y E. S. Van-Vleet, «Marine birds and plastic pollution», *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, vol. 37, pp. 295–303, 1987.
- [87] C. M. Rochman, E. Hoh, T. Kurobe, y S. J. Teh, «Ingested plastic transfers hazardous chemicals to fish and induces hepatic stress», *Sci. Rep.*, vol. 3, n.º 1, 2013, doi: 10.1038/srep03263.
- [88] M. R. Gregory, «Environmental implications of plastic debris in marine settings—entanglement, ingestion, smothering, hangers-on, hitch-hiking and alien invasions», *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.*, vol. 364, n.º 1526, pp. 2013–2025, 2009, doi: 10.1098/rstb.2008.0265.
- [89] O. Setälä, V. Fleming-Lehtinen, y M. Lehtiniemi, «Ingestion and transfer of microplastics in the planktonic food web», *Environ. Pollut.*, vol. 185, pp. 77–83, 2014, doi: 10.1016/j.envpol.2013.10.013.
- [90] H. Hirai *et al.*, «Organic micropollutants in marine plastics debris from the open ocean and remote and urban beaches», *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 62, n.º 8, pp. 1683–1692, 2011, doi: 10.1016/j.marpolbul.2011.06.004.
- [91] J. Oehlmann, U. Schulte, W. Kloas, O. Jagnytsch, I. Lutz, y K. O. Kusk, «A critical analysis of the biological impacts of plasticizers on wildlife», *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, vol. 364, pp. 2047–2062, 2009.
- [92] D. Eerkes-Medrano, H. A. Leslie, y B. Quinn, «Microplastics in drinking water: A review and assessment», *Curr. Opin. Environ. Sci. Health*, vol. 7, pp. 69–75, feb. 2019, doi: 10.1016/j.coesh.2018.12.001.
- [93] A. Keswani, D. M. Oliver, T. Gutierrez, y R. S. Quilliam, «Microbial hitchhikers on marine plastic debris: Human exposure risks at bathing waters and beach environments», *Mar. Environ. Res.*, vol. 118, pp. 10–19, 2016, doi: 10.1016/j.marenvres.2016.04.006.
- [94] T. A. Edge y S. Hill, «Multiple lines of evidence to identify the sources of fecal pollution at a freshwater beach in Hamilton Harbour, Lake Ontario», *Water Res.*, vol. 41, n.º 16, pp. 3585–3594, 2007, doi: 10.1016/j.watres.2007.05.012.
- [95] A. Wither, M. Rehfisch, y G. Austin, «The impact of bird populations on the microbiological quality of bathing waters», *Water Sci. Technol.*, vol. 51, n.º 3–4, pp. 199–207, 2005, doi: 10.2166/wst.2005.0592.
- [96] B. Lévesque, «Study of the bacterial content of ring-billed gull droppings in relation to recreational water quality», *Water Res.*, vol. 34, n.º 4, pp. 1089–1096, 2000, doi: 10.1016/s0043-1354(99)00266-3.
- [97] D. Brennecke, B. Duarte, F. Paiva, I. Cacador, y J. Canning-clode, «Microplastics as vectors for heavy metal contamination from the marine environment.», *EstuarCoast Shelf Sci*, pp. 1–7, 2016.
- [98] S. Endo *et al.*, «Concentration of polychlorinated biphenyls (PCBs) in beached resin pellets: Variability among individual particles and regional differences», *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 50, n.º 10, pp. 1103–1114, 2005, doi: 10.1016/j.marpolbul.2005.04.030.
- [99] A. Batel, F. Linti, M. Scherer, L. Erdinger, y T. Braunbeck, «Transfer of benzo[a]pyrene from microplastics to *Artemia nauplii* and further to zebrafish via a trophic food web experiment: CYP1A induction and visual tracking of persistent organic pollutants», *Environ. Toxicol. Chem.*, vol. 35, n.º 7, pp. 1656–1666, 2016, doi: 10.1002/etc.3361.
- [100] O. O. Solomon y T. Palanisami, «Microplastics in the Marine Environment: Current Status, Assessment Methodologies, Impacts and Solutions», *J. Pollut. Eff. Control*, vol. 04, n.º 02, 2016, doi: 10.4172/2375-4397.1000161.

- [101] J. Reisser *et al.*, «Millimeter-Sized Marine Plastics: A New Pelagic Habitat for Microorganisms and Invertebrates», *PLoS ONE*, vol. 9, n.º 6, 2014, doi: 10.1371/journal.pone.0100289.
- [102] E. R. Zettler, T. J. Mincer, y L. A. Amaral-Zettler, «Life in the “Plastisphere”: Microbial Communities on Plastic Marine Debris», *Environ. Sci. Technol.*, vol. 47, n.º 13, pp. 7137–7146, 2013, doi: 10.1021/es401288x.
- [103] J. P. Harrison, M. Sapp, M. Schratzberger, y A. M. Osborn, «Interactions Between Microorganisms and Marine Microplastics: A Call for Research», *Mar. Technol. Soc. J.*, vol. 45, n.º 2, pp. 12–20, 2011, doi: 10.4031/mts.45.2.2.
- [104] L. A. Amaral-Zettler *et al.*, «The biogeography of the Plastisphere: implications for policy», *Front. Ecol. Environ.*, vol. 13, n.º 10, pp. 541–546, 2015, doi: 10.1890/150017.
- [105] H. S. Carson, M. S. Nerheim, K. A. Carroll, y M. Eriksen, «The plastic-associated microorganisms of the North Pacific Gyre», *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 75, n.º 1-2, pp. 126–132, 2013, doi: 10.1016/j.marpolbul.2013.07.054.
- [106] M. Bravo, J. Astudillo, D. Lancellotti, G. Luna-Jorquera, N. Valdivia, y M. Thiel, «Rafting on abiotic substrata: properties of floating items and their influence on community succession», *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, vol. 439, pp. 1–17, 2011, doi: 10.3354/meps09344.
- [107] K. Tanaka, H. Takada, R. Yamashita, K. Mizukawa, M. Fukuwaka, y Y. Watanuki, «Accumulation of plastic-derived chemicals in tissues of seabirds ingesting marine plastics», *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 69, pp. 219–222, 2013.
- [108] D. Lobelle y M. Cunliffe, «Early microbial biofilm formation on marine plastic debris», *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 62, n.º 1, pp. 197–200, 2011, doi: 10.1016/j.marpolbul.2010.10.013.
- [109] S. Oberbeckmann, A. M. Osborn, y M. B. Duhaime, «Microbes on a Bottle: Substrate, Season and Geography Influence Community Composition of Microbes Colonizing Marine Plastic Debris», *Plos One*, vol. 11, n.º 8, 2016, doi: 10.1371/journal.pone.0159289.
- [110] N. Lucas, C. Bieniaime, C. Belloy, M. Queneudec, F. Silvestre, y J.-E. Nava-Saucedo, «Polymer biodegradation: Mechanisms and estimation techniques – A review», *Chemosphere*, vol. 73, n.º 4, pp. 429–442, 2008, doi: 10.1016/j.chemosphere.2008.06.064.
- [111] R. R. Colwell, A. Huq, M. S. Islam, K. M. Aziz, M. Yunus, y N. H. Khan, «Reduction of cholera in Bangladesh villages by simple filtration», *Proc Natl Acad Sci*, vol. 100, pp. 1051–1055, 2003.
- [112] R. Danovaro, S. F. Umani, y A. Pusceddu, «Climate Change and the Potential Spreading of Marine Mucilage and Microbial Pathogens in the Mediterranean Sea», *PLoS ONE*, vol. 4, n.º 9, 2009, doi: 10.1371/journal.pone.0007006.
- [113] S. E. Bryan *et al.*, «Rapid, Long-Distance Dispersal by Pumice Rafting», *PLoS ONE*, vol. 7, n.º 7, 2012, doi: 10.1371/journal.pone.0040583.
- [114] T. E. Minchinton, «Rafting on wrack as a mode of dispersal for plants in coastal marshes», *Aquat. Bot.*, vol. 84, n.º 4, pp. 372–376, 2006, doi: 10.1016/j.aquabot.2006.01.007.
- [115] P. L. Jokiel, «Long-distance dispersal by rafting: reemergence of an old hypothesis», *Endeavour*, vol. 14, n.º 2, pp. 66–73, 1990, doi: 10.1016/0160-9327(90)90074-2.
- [116] M. R. Gregory, «The hazards of persistent marine pollution: driftplastics and conservation islands», *J. R. Soc. Of New Zealand*, vol. 21, pp. 83–100, 1991.
- [117] Gregory, «Plastics and South Pacific Island shores: environmental implications», *Ocean Coast. Manag.*, vol. 42, n.º 6-7, pp. 603–615, 1999, doi: 10.1016/s0964-5691(99)00036-8.
- [118] L. Hermabessiere *et al.*, «Occurrence and effects of plastic additives on marine environments and organisms: A review», *Chemosphere*, vol. 182, pp. 781–793, 2017, doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.05.096.
- [119] M. R. Gregory, «Accumulation and distribution of virgin plastic granules on New Zealand beaches», *N. Z. J. Mar. Freshw. Res.*, vol. 12, n.º 4, pp. 399–414, 1978, doi: 10.1080/00288330.1978.9515768.

- [120] F. Kawai, «Bacterial degradation of a new polyester, polyethylene glycol-phthalate polyester», *J. Environ. Polym. Degrad.*, vol. 4, n.º 1, pp. 21–28, 1996, doi: 10.1007/bf02083879.
- [121] R. J. Muller, I. Kleeberg, y W. D. Deckwer, «Biodegradation of polyesters containing aromatic constituents», *J Biotechnol*, vol. 86, pp. 87–95, 2001.
- [122] E. Marten, R.-J. Müller, y W.-D. Deckwer, «Studies on the enzymatic hydrolysis of polyesters I. Low molecular mass model esters and aliphatic polyesters», *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 80, n.º 3, pp. 485–501, 2003, doi: 10.1016/s0141-3910(03)00032-6.
- [123] E. Marten, R.-J. Müller, y W.-D. Deckwer, «Studies on the enzymatic hydrolysis of polyesters. II. Aliphatic–aromatic copolyesters», *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 88, n.º 3, pp. 371–381, 2005, doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2004.12.001.
- [124] R. K. Gilpin, D. J. Wagel, y J. G. Solch, «Production, Distribution, and Fate of Polychlorinated Dibenzo-p-Dioxins, Dibenzofurans, and Related Organohalogens in the Environment», *Dioxins Health*, pp. 55–87, 2005, doi: 10.1002/0471722014.ch2.
- [125] S. m. Al-Salem, P. Lettieri, y J. Baeyens, «Recycling and recovery routes of plastic solid waste (PSW): A review», *Waste Manag.*, vol. 29, n.º 10, pp. 2625–2643, 2009, doi: 10.1016/j.wasman.2009.06.004.
- [126] Y.-H. Lin y M.-H. Yang, «Tertiary recycling of commingled polymer waste over commercial FCC equilibrium catalysts for producing hydrocarbons», *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 94, n.º 1, pp. 25–33, 2009, doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2008.10.018.
- [127] R. V. Moharir y S. Kumar, «Challenges associated with plastic waste disposal and allied microbial routes for its effective degradation: A comprehensive review», *J. Clean. Prod.*, vol. 208, pp. 65–76, 2019, doi: 10.1016/j.jclepro.2018.10.059.
- [128] D. Hadad, S. Geresh, y A. Sivan, «Biodegradation of polyethylene by the thermophilic bacterium *Brevibacillus borstelensis*», *J. Appl. Microbiol.*, vol. 98, n.º 5, pp. 1093–1100, 2005, doi: 10.1111/j.1365-2672.2005.02553.x.
- [129] K. Yamada-Onodera, H. Mukumoto, Y. Katsuyaya, A. Saiganji, y Y. Tani, «Degradation of polyethylene by a fungus, *Penicillium simplicissimum* YK», *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 72, n.º 2, pp. 323–327, 2001, doi: 10.1016/s0141-3910(01)00027-1.
- [130] T. Fecker *et al.*, «Active Site Flexibility as a Hallmark for Efficient PET Degradation by *I. sakaiensis* PETase», *Biophys. J.*, vol. 114, n.º 6, pp. 1302–1312, 2018, doi: 10.1016/j.bpj.2018.02.005.
- [131] S. Yoshida, K. Hiraga, T. Takehana, I. Taniguchi, y H. Yamaji, «A bacterium that degrades and assimilate polyethylene terephthalate», *Science*, vol. 351, pp. 1196–1199, 2016.
- [132] S. Joo *et al.*, «Structural insight into molecular mechanism of poly(ethylene terephthalate) degradation», *Nat. Commun.*, vol. 9, n.º 1, 2018, doi: 10.1038/s41467-018-02881-1.
- [133] M. Furukawa, N. Kawakami, A. Tomizawa, y K. Miyamoto, «Efficient Degradation of Poly(ethylene terephthalate) with *Thermobifida fusca* Cutinase Exhibiting Improved Catalytic Activity Generated using Mutagenesis and Additive-based Approaches», *Sci. Rep.*, vol. 9, n.º 1, p. 16038, dic. 2019, doi: 10.1038/s41598-019-52379-z.
- [134] M. Barth, T. Oeser, R. Wei, J. Then, J. Schmidt, y W. Zimmermann, «Effect of hydrolysis products on the enzymatic degradation of polyethylene terephthalate nanoparticles by a polyester hydrolase from *Thermobifida fusca*», *Biochem. Eng. J.*, vol. 93, pp. 222–228, 2015, doi: 10.1016/j.bej.2014.10.012.
- [135] X. Han *et al.*, «Structural insight into catalytic mechanism of PET hydrolase», *Nat. Commun.*, vol. 8, n.º 1, 2017, doi: 10.1038/s41467-017-02255-z.
- [136] I. Donelli, P. Taddei, P. F. Smet, D. Poelman, V. A. Nierstrasz, y G. Freddi, «Enzymatic surface modification and functionalization of PET: A water contact angle, FTIR, and fluorescence spectroscopy study», *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 103, n.º 5, pp. 845–856, 2009, doi: 10.1002/bit.22316.

- [137] C. Gamerith *et al.*, «Enzymatic recovery of polyester building blocks from polymer blends», *Process Biochem.*, vol. 59, pp. 58–64, 2017, doi: 10.1016/j.procbio.2017.01.004.
- [138] S. Sulaiman *et al.*, «Isolation of a Novel Cutinase Homolog with Polyethylene Terephthalate-Degrading Activity from Leaf-Branch Compost by Using a Metagenomic Approach», *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 78, n.º 5, pp. 1556–1562, 2011, doi: 10.1128/aem.06725-11.
- [139] H. P. Austin *et al.*, «Characterization and engineering of a plastic-degrading aromatic polyesterase», *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 115, n.º 19, 2018, doi: 10.1073/pnas.1718804115.

ANEXO 1: Recopilación de las secuencias de las proteínas analizadas y sus PDB ID

>3VIS | Esterasa | *Thermobifida alba*

HHHHHHMSVTPRRETSLLSRALRATAAAATAVVATVALAAPQAANPYERGNPTESMLEARSG
PFSVSEERASRFGADGFGGGTIYYPRENNTYGAIAISPGYTGTQSSIAWLGERIASHGFFVIAIDTNTT
LDQPDSRARQLNAALDYMLTDASSAVRNRIDASRLAVMGHSMGGGGTLRLASQRPDLKAAIPLTP
WHLNKS WRDITVPTLIIGAEYDTIASVTLHSKPFYNSIPSPTDKAYLELDGASHFAPNITNKTIGMYSV
AWLKRFVDEDTRYTQFLCPGPRTGLLSDVEEYRSTCPF

>4CG1 | Cutinasa | *Thermobifida fusca*

ANPYERGNPTDALLEARSGPFSVSEENVSRLSASGFGGGTIYYPRENNTYGAVAISPGYTGTGEASIA
WLGERIASHGFFVITIDTITTLTLDQPDSRAEQLNAALNHMINRASSTVRSRIDSSRLAVMGHSMGGGG
SLRLASQRPDLKAAIPLTPWHLNKNWSSVTVPPTLIIGADLDTIAPVATHAKPFYNSLPSSISKAYLELD
GATHFAPNIPNKIIGKYSVAWLKRFVDNDTRYTQFLCPGPRDGLFGEVEEYRSTCPFYPNSSSVDKL
AAALEHHHHHHH

>4CG2 | Cutinasa | *Thermobifida fusca*

ANPYERGNPTDALLEARSGPFSVSEENVSRLSASGFGGGTIYYPRENNTYGAVAISPGYTGTGEASIA
WLGERIASHGFFVITIDTITTLTLDQPDSRAEQLNAALNHMINRASSTVRSRIDSSRLAVMGHSMGGGG
SLRLASQRPDLKAAIPLTPWHLNKNWSSVTVPPTLIIGADLDTIAPVATHAKPFYNSLPSSISKAYLELD
GATHFAPNIPNKIIGKYSVAWLKRFVDNDTRYTQFLCPGPRDGLFGEVEEYRSTCPFYPNSSSVDKL
AAALEHHHHHHH

>4WFI | Cutinasa | *Saccharomonospora viridis*

MRGSHHHHHHGSNPYERGPDPTEDSIEAIRGPFSVATERVSSFASGFGGGTIYYPRETDEGTGFGAVA
VAPGFTASQGSMSWYGERVASQGFIVFTIDTNTRLDQPGQRGRQLLAALDYLVERSDRKVRERLDP
NRLAVMGHSMGGGGSLATVMRPSLKASIPLTPWNLDKTWGGVQVPTFIIGAELDTIAPVRTHAKP
FYESLPSSLPKAYMELDGATHFAPNIPNTTIKYVISWLKRFVDEDTRYSQFLCPNPTDRAIEEYRST
CPYKLN

>4WFJ | Cutinasa | *Saccharomonospora viridis*

MRGSHHHHHHGSNPYERGPDPTEDSIEAIRGPFSVATERVSSFASGFGGGTIYYPRETDEGTGFGAVA
VAPGFTASQGSMSWYGERVASQGFIVFTIDTNTRLDQPGQRGRQLLAALDYLVERSDRKVRERLDP
NRLAVMGHSMGGGGSLATVMRPSLKASIPLTPWNLDKTWGGVQVPTFIIGAELDTIAPVRTHAKP
FYESLPSSLPKAYMELDGATHFAPNIPNTTIKYVISWLKRFVDEDTRYSQFLCPNPTDRAIEEYRST
CPYKLN

>5AH1 | Lipasa | *Clostridium botulinum*

MAEPKAQGTQKVESSTTKKEVKDAEETIKIPTLEDIDNLIDSAAEVKSEEDINKMPPLKFPVEFPEVN
TRSIIGGNYPVLVHGMFGFRDELLGYKYWGGVVDLQEKLNASGHETYATATVGPVSSNWDRAC
ELYAYIVGGTVDYGEAHAKKFKHNRYGRTPGIYKNISNENKIHLIGHSMGGQTIRTLTQLLSEGSE
EEINCGQENISPLFEGGKHWHISVSTISTPNDGTTLSDLMPAKDLISYTFGLGTITGKNKLFSSYDL
KLDQWGLKKQNGESQRDIERYVLDSNIWNSTKDIAITYDLSTEGAQELNTWVKAQPDVYYFSWTTQ
ATKESILTGHSVAQIGPMNPIFYPTANLMGRYSRNQKDLPIIDKKWFPNDGVVNCISQDGPKLGSND
VIEQYNGGVKIGQWNAMPRIINTDHMDIVGTFGNVKDWYMDYASFLSNLSRALEHHHHHHH

>5LUI | Cutinasa | *Thermobifida cellulosilytica*

MANPYERGNPTDALLEASSGPFSVSEENVSRLSASGFGGGTIYYPRENNTYGAVAISPGYTGTGEASI
AWLGERIASHGFFVITIDTITTLTLDQPDSRAEQLNAALNHMINRASSTVRSRIDSSRLAVMGHSMGGG
GTLRLASQRPDLKAAIPLTPWHLNKNWSSVTVPPTLIIGADLDTIAPVATHAKPFYNSLPSSISKAYLE
LDGATHFAPNIPNKIIGKYSVAWLKRFVDNDTRYTQFLCPGPRDGLFGEVEEYRSTCPFALE

>5XFY | PETasa | *Ideonella sakaiensis* (strain 201-F6)

NPYARGPNPTAASLEASAGPFTVRSFTVSRPSGYGAGTVYYPTNAGGTVGAIIVPGYTARQSSIKW
WGPRLASHGFFVITIDTNTSLDQPSSRSSQMAALRQVASLNGTSSSPIYGKVD TARMGVMGWAM

GGGGSLISAANNPSLKAAAPQAPWDSSTNFSSVTVPTLIFACENDSIAPVNSSALPIYDSMSRNAKQF
LEINGGSHSCANSNGNSNQALIGKKGVAWMKRFMDNDTRYSTFACENPNSTRVSDFRTANCS

>5XFZ | PETasa | Ideonella sakaiensis (strain 201-F6)

MNPYARGPNPTAASLEASAGPFTVRSFTVSRPSGYGAGTVYYPTNAGGTVGAIAIVPGYTARQSSIK
WWGPRLASHGFVVITIDTNSTLDQPSSRSSQQMAALGQVASLNGTSSSPIYGKVD TARMGVMGWA
MGGGSLISAANNPSLKAAAPQAPWDSSTNFSSVTVPTLIFACENDSIAPVNSSALPIYDSMSRNAKQ
FLEINGGSHSCANSNGNSNQALIGKKGVAWMKRFMDNDTRYSTFACENPNSTRVSDFRTANCS

>5XG0 | PETasa | Ideonella sakaiensis (strain 201-F6)

GAGAGAMNPYARGPNPTAASLEASAGPFTVRSFTVSRPSGYGAGTVYYPTNAGGTVGAIAIVPGYT
ARQSSIKWWGPRLASHGFVVITIDTNSTLDQPSSRSSQQMAALRQVASLNGTSSSPIYGKVD TARMG
VMGWSMGGGSLISAANNPSLKAAAPQAPWDSSTNFSSVTVPTLIFACENDSIAPVNSSALPIYDSM
SRNAKQFLEINGGSHSCANSNGNSNQALIGKKGVAWMKRFMDNDTRYSTFACENPNSTRVSDFRTA
NCS

>5XH2 | PETasa | Ideonella sakaiensis (strain 201-F6)

MNPYARGPNPTAASLEASAGPFTVRSFTVSRPSGYGAGTVYYPTNAGGTVGAIAIVPGYTARQSSIK
WWGPRLASHGFVVITIDTNSTLDQPSSRSSQQMAALGQVASLNGTSSSPIYGKVD TARMGVMGWA
MGGGSLISAANNPSLKAAAPQAPWDSSTNFSSVTVPTLIFACENDSIAPVNSSALPIYDSMSRNAKQ
FLEINGGSHSCANSNGNSNQALIGKKGVAWMKRFMDNDTRYSTFACENPNSTRVSDFRTANCS

>5XH3 | PETasa | Ideonella sakaiensis (strain 201-F6)

NPYARGPNPTAASLEASAGPFTVRSFTVSRPSGYGAGTVYYPTNAGGTVGAIAIVPGYTARQSSIKW
WGPRLASHGFVVITIDTNSTLDQPSSRSSQQMAALGQVASLNGTSSSPIYGKVD TARMGVMGWAM
GGGSLISAANNPSLKAAAPQAPWDSSTNFSSVTVPTLIFACENDSIAPVNSSALPIYDSMSRNAKQF
LEINGGSHSCANSNGNSNQALIGKKGVAWMKRFMDNDTRYSTFACENPNSTRVSDFRTANCS

>5XJH | PETasa | Ideonella sakaiensis (strain 201-F6)

MGSSHHHHHSSGLVPRGSHMRGPNPTAASLEASAGPFTVRSFTVSRPSGYGAGTVYYPTNAGGTV
GAIAIVPGYTARQSSIKWWGPRLASHGFVVITIDTNSTLDQPSSRSSQQMAALRQVASLNGTSSSPIY
GKVD TARMGVMGWSMGGGSLISAANNPSLKAAAPQAPWDSSTNFSSVTVPTLIFACENDSIAPVN
SSALPIYDSMSRNAKQFLEINGGSHSCANSNGNSNQALIGKKGVAWMKRFMDNDTRYSTFACENPNS
TRVSDFRTANCSLEDPAANKARKEAELAAATAEQ

>5YNS | PETasa | Ideonella sakaiensis (strain 201-F6)

GSHMRGPNPTAASLEASAGPFTVRSFTVSRPSGYGAGTVYYPTNAGGTVGAIAIVPGYTARQSSIKW
WGPRLASHGFVVITIDTNSTLDQPSSRSSQQMAALRQVASLNGTSSSPIYGKVD TARMGVMGWSM
GGGSLISAANNPSLKAAAPQAPWDSSTNFSSVTVPTLIFACENDSIAPVNSSALPIYDSMSRNAKQF
LEINGGSHSCANSNGNSNQALIGKKGVAWMKRFMDNDTRYSTFACENPNSTAVSDFRTANCSLED

>6ANE | PETasa | Ideonella sakaiensis (strain 201-F6)

MQTNPYARGPNPTAASLEASAGPFTVRSFTVSRPSGYGAGTVYYPTNAGGTVGAIAIVPGYTARQSS
IKWWGPRLASHGFVVITIDTNSTLDQPSSRSSQQMAALRQVASLNGTSSSPIYGKVD TARMGVMGW
SMGGGSLISAANNPSLKAAAPQAPWDSSTNFSSVTVPTLIFACENDSIAPVNSSALPIYDSMSRNAK
QFLEINGGSHSCANSNGNSNQALIGKKGVAWMKRFMDNDTRYSTFACENPNSTRVSDFRTANCSLEH
HHHHH

>6EQE | PETasa | Ideonella sakaiensis (strain 201-F6)

MNFPRASRLMQAAVLGGLMAVSAAATAQTNPYARGPNPTAASLEASAGPFTVRSFTVSRPSGYGA
GTVYYPTNAGGTVGAIAIVPGYTARQSSIKWWGPRLASHGFVVITIDTNSTLDQPSSRSSQQMAALR
QVASLNGTSSSPIYGKVD TARMGVMGWSMGGGSLISAANNPSLKAAAPQAPWDSSTNFSSVTVP
TLIFACENDSIAPVNSSALPIYDSMSRNAKQFLEINGGSHSCANSNGNSNQALIGKKGVAWMKRFMD
NDTRYSTFACENPNSTRVSDFRTANCSLEHHHHHHH