

**ESTUDIO DEL DESARROLLO INDUSTRIAL EN LA PRODUCCIÓN DE  
POLIHIDROXIALCANOATOS EN LA PRIMERA DECADA DEL SIGLO XXI.**

**DIANA PAOLA SALAZAR MARTÍNEZ.**

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
CARRERA DE MICROBIOLOGIA INDUSTRIAL  
BOGOTA D.C  
2010**

**ESTUDIO DEL DESARROLLO INDUSTRIAL EN LA PRODUCCIÓN DE  
POLIHIDROXIALCANOATOS EN LA PRIMERA DECADA DEL SIGLO XXI.**

**DIANA PAOLA SALAZAR MARTÍNEZ**

**TRABAJO DE GRADO**

**Presentado como requisito parcial**

**para optar al título de**

**Microbióloga Industrial**

**Mbio. Luis David Gómez Méndez. MSc. Director**

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
CARRERA DE MICROBIOLOGIA INDUSTRIAL  
BOGOTA D.C**

**2010**

**ESTUDIO DEL DESARROLLO INDUSTRIAL EN LA PRODUCCIÓN DE  
POLIHIDROXIALCANOATOS EN LA PRIMERA DECADA DEL SIGLO XXI.**

**DIANA PAOLA SALAZAR MARTÍNEZ**

**APROBADO**

---

**Nombre, Titulo Profesional**  
**Decano Académico**

---

**Nombre, Titulo Profesional**  
**Director de Carrera**

**ESTUDIO DEL DESARROLLO INDUSTRIAL EN LA PRODUCCIÓN DE  
POLIHIDROXIALCANOATOS EN LA PRIMERA DECADA DEL SIGLO XXI.**

**DIANA PAOLA SALAZAR MARTÍNEZ**

**APROBADO**

---

**Nombre, Título Profesional  
Director**

---

**Nombre, Título Profesional  
Jurado**

**NOTA DE ADVERTENCIA:**

Artículo 23 de la Resolución N° 13 de Julio de 1946

“La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Solo velará porque no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y por que las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vea en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia”.

## **AGRADECIMIENTOS.**

Este trabajo representa la conclusión de una parte muy importante de mi vida y el inicio de otras etapas que me van a fortalecer como ser humano y como profesional.

Agradezco a mi padre Mauricio Salazar con todo mi corazón ya que su apoyo, su amor y su comprensión me permitieron recorrer este largo camino, por ser quien ha estado a mi lado en todo momento dándome fuerza para romper todas las barreras que se presentaron y acompañándome para continuar luchando día tras día y seguir adelante.

Agradezco a mi madre Jeannette Martínez, a toda mi familia y amigos por su apoyo, compañía incondicional, por la fuerza y templanza que me dieron.

Agradezco a Fhiboo Daniel Salazar por su apoyo, amor, compañía, y por las largas horas que compartió a mi lado en la realización de este trabajo.

Agradezco a Carlos Alberto Quijano por sus consejos, regaños, alegrías y por las enseñanzas que siempre ha dejado en mi vida.

Agradezco a los docentes Luis David Gómez, Rafael C. S. Rocha, Gabriel Padilla, José Gregorio C. Gómez y Janeth Arias por su labor educativa, por las innumerables enseñanzas que aportaron a mi vida, por su gran espíritu y por ser una gran inspiración durante mi proceso educativo.

## TABLA DE CONTENIDO.

Resumen	vii
Introducción	vii
Formulación del Problema y Justificación	viii
Marco Teórico y Revisión de Literatura	ix
Polihidroxialcanoatos	ix
Figura 1	ix
Aplicación de los PHA	x
Metabolismo de los PHA	xi
Figura 2	xi
Objetivos	xiii
Objetivo General	xiii
Objetivos Específicos	xiii
Metodología	xiii
Obtención de la Información	xiii
Población universo	xiii
Muestra	xiii
Organización de la Información	xiii
Interpretación de Resultados	xiii
Exposición de Resultados	xiii
Resultados y Discusión	xiv
Figura 3	xviii
Figura 4	xxii
Conclusiones	xxv
Referencias	xxvii

## **RESUMEN.**

Los PHAs son biopolímeros acumulados y almacenados por varios tipos de microorganismos bajo condiciones de crecimiento limitadas. Su importancia radica en que sus propiedades son similares a las de los plásticos de origen químico, pudiendo ser una solución a los problemas ambientales que los plásticos tradicionales ocasionan. Muchos países han centrado gran parte de sus investigaciones en desarrollar métodos más económicos y viables para la producción de estos biopolímeros con el fin de mejorar la calidad de vida de la población mundial. Este trabajo es una recopilación de información publicada en algunas revistas científicas a partir del 2000 hasta el 2010 con el fin de mostrar la trayectoria en el desarrollo de la producción de PHAs a nivel mundial. Se realizó un trabajo investigativo en el cual la información fue organizada en orden cronológico mostrando los avances a través de los últimos 10 años, centrado en producción de PHAs, y abarcando de forma muy básica avances en cuanto a identificación, extracción, metabolismo y por último aplicaciones de estos en la industria.

### **1. Introducción.**

Los numerosos residuos ocasionados por los plásticos derivados del petróleo, la producción de los mismos a partir de una fuente no renovable, la difícil y lenta degradación de estos compuestos, los altos niveles de contaminación ocasionados por los plásticos desde su producción hasta su degradación en donde se producen gran cantidad de toxinas y en general la destrucción del ecosistema que estos causan, han obligado a los científicos a buscar nuevas alternativas que sean más amigables con el ambiente. La síntesis de polímeros naturales ha llamado mucho la atención a nivel industrial ya que comparten características semejantes con los plásticos tradicionales pero sin todos los daños colaterales que estos representan, además de sus innumerables usos a nivel industrial, médico, genético, etc.

Los polihidroxicanoatos (PHA) producidos a partir de bacterias, son poliésteres de 2 a 6-hidroxiácidos que se producen a nivel intracelular en el microorganismo en la forma de gránulos. Estas acumulaciones son reservas de carbono y energía, que se dan cuando la fuente de carbono está en exceso y otro nutriente como nitrógeno, fosfato, sulfuro, hierro, magnesio, potasio u oxígeno está limitado en el medio. Cuando se suple la limitación de nutrientes, el PHA es polimerizado y metabolizado como fuente de carbono y energía (Kessler, 2000)

El 3-hidroxiocanoato (PHB) fue uno de los primeros PHA descubierto siendo el primer ejemplo de polímero con variedad de monómeros. Los PHA pueden estar compuestos básicamente de cuatro monómeros, 3-hidroxi butirato (3HB), 3-hidroxi valerato (3HV), 3-hidroxi-2-metilvalerato (3HMV) y 3-hidroxi-2metilbutirato (3HMB).

Desde que se identificaron estos biopolímeros los aspectos referentes al aislamiento, producción, procesos fermentativos, extracción, caracterización físico-química entre otras han sido ampliamente estudiados. Debido a sus altos costos de producción, su uso ha sido limitado por lo que muchos estudios se han centrado en encontrar formulas que disminuyan considerablemente los costos de producción, además de la optimización de procesos, la búsqueda de sustratos más económicos, la selección de nuevas cepas con mayores rendimientos, la manipulación de cepas con el fin de mejorar la productividad y la incansable búsqueda de mejorar las condiciones ambientales tan desfavorables a las que se enfrenta el mundo en la actualidad.

## **2. Formulación del problema y Justificación**

Los Polihidroxialcanoatos (PHA) son poliésteres acumulados por diversas bacterias en la forma de gránulos intracelulares que pueden corresponder hasta el 80% de la masa celular seca. En la actualidad son considerados una posible solución a problemas ambientales causados por plásticos tradicionales, derivados del petróleo, ya que sus propiedades son similares a estos. Son biopolímeros termoplásticos que pueden ser degradados totalmente por bacterias, algas y hongos, y aunque son evidentes sus ventajas al compararlos con plásticos, los altos costos de producción limitan notablemente su uso.

El objetivo de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica sobre los avances a nivel industrial en la producción de polihidroxialcanoatos en la primera década del siglo XXI , teniendo como referencia las principales bases de datos con reconocimiento científico.

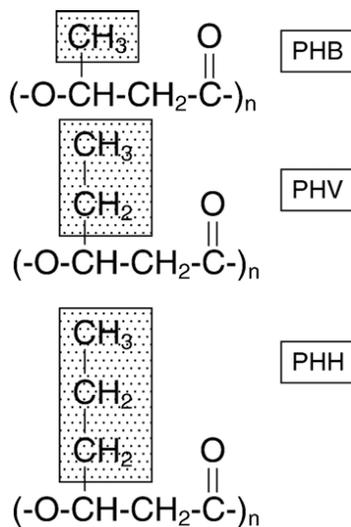
**Palabras clave:** polihidroxialcanoatos, plásticos, problemas ambientales.

### 3. Marco Teórico y Revisión de Literatura.

#### 3.1. Polihidroxicanoatos.

Polihidroxicanoatos (PHA) son poliésteres acumulados por diversas bacterias en la forma de gránulos intracelulares que pueden corresponder hasta el 80% de la masa seca celular (Anderson & Dawes, 1990). El acumulo de estos polihidroxicanoatos en bacterias no afecta la presión osmótica de las células (Kessler, 2000). Esta clase de biopolímeros despertó el interés industrial debido a sus propiedades termoplásticas semejantes a los polímeros de origen químico, además presentan una alternativa para minimizar los serios problemas ambientales causados por los polímeros petroquímicos (Gomez & Bueno Netto, 1997; Silva *et al.*, 2007). La síntesis de PHA normalmente ocurre cuando hay exceso de una fuente de carbono en el medio de cultivo y la limitación de al menos un nutriente esencial para el crecimiento (N,P, O<sub>2</sub>, etc) (Kessler., 2000).

Los PHAs están compuestos de monómeros de ácidos grasos 3-hidroxi con forma lineal. Se producen generalmente como un polímero de 103 a 104 monómeros, que se acumulan como inclusiones de 0.2 a 0.5 micras de diámetro. La estructura, composición del monómero, las propiedades físico químicas, el tamaño y numero de gránulos es variable de acuerdo al microorganismo.



**Figura 1.** Estructura química de los PHA. Se muestran estructuras con diferentes radicales. PHB (R= metil), PHV (R= etílico) y PHH (R= propilo). (Kojima, 2004)

Actualmente, son conocidos cerca de 150 diferentes monómeros constituyentes de polihidroxicanoatos y son producidos por diferentes bacterias bajo diferentes condiciones de cultivo a partir de diferentes fuentes de carbono. De acuerdo con el largo de la cadena carbónica principal del monómero, los PHA son clasificados en PHA<sub>sc</sub> y PHA<sub>mc</sub>. Los PHA<sub>sc</sub> (short chain lenght)

son los PHA que contienen cadenas cortas de monómeros, es decir, monómeros de 3 a 5 átomos de carbono y son encontrados en diferentes especies bacterianas (*Ralstonia eutropha*, *Rhodococcus ruber*, entre otras). Los PHA<sub>mcl</sub> (medium chain length) contienen monómeros de cadena media, es decir, de 6 a 16 átomos de carbono y son encontrados en *Pseudomonas sp.* (*Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas oleovorans*, *Pseudomonas putida*) (Rehm, 2003). De los 150 diferentes monómeros detectados en bacterias, cerca del 90% pertenecen a la clase de los PHA<sub>mcl</sub> (Rehm & Steinbuchel, 1999). La composición monomérica de los PHA, como el peso molecular y la distribución del peso molecular les confieren diferentes propiedades físicas y mecánicas. Así, estos biopolímeros se podrán constituir en un futuro muy próximo en polímeros hechos sobre medida para las diferentes aplicaciones (Kim *et al.*, 2007).

Dentro de los polihidroxicanoatos más estudiados, se destaca el homopolímero de cadena corta poli-3-hidroxibutirato (P3HB). En Brasil este biopolímero (P3HB) ya es producido en escala industrial por la PHB Industrial S.A utilizando tecnología desarrollada por la Universidad de Sao Paulo, por el Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de Sao Paulo S.A y por el Centro de Tecnología de Copersucar (CTC)(Nonato *et al.*, 2001).

Los polihidroxicanoatos que contienen monómeros de cadena media (PHA<sub>mcl</sub>) poseen características distintas de aquellas que contienen monómeros de cadena corta (HA<sub>scl</sub>). En cuanto a los PHA<sub>scl</sub> que se asemejan a los plásticos como el polietileno, los PHA<sub>mcl</sub> presentan propiedades elastomérica semejantes al caucho (Kim *et al.*, 2007).

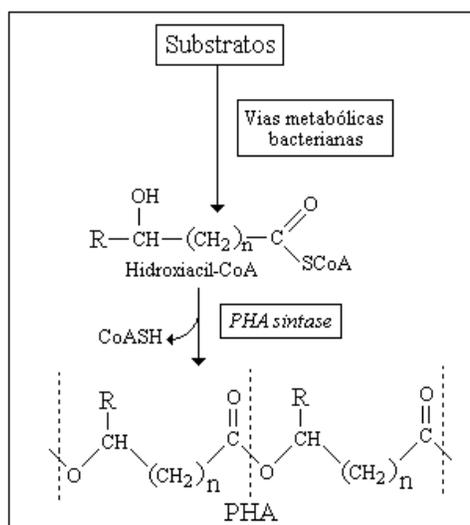
### **3.2. Aplicaciones de los PHA**

Aunque aun no son comercializados los PHA<sub>mcl</sub>, algunas aplicaciones industriales ya fueron descritas, entre ellas a confección de películas de recubrimiento; agentes ligantes en formulaciones de tintas a base de agua; como fuente de monómeros quirales para la síntesis de compuestos activos (Withol & Kessler, 1999) y como soporte para ingeniería de tejidos e implantes médicos temporarios (Zinn *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2002; Misra *et al.*, 2006; Kim *et al.*, 2007).

Babu *et al.*, 1997, evaluó la utilización de PHA<sub>mcl</sub> como componentes de adhesivos sensibles a presión en comparación con a 3M Company (St Paul, MN, USA). Las formulaciones que presentaron mejores resultados contenían en su composición monómeros con número par de carbonos (HAp) y monómeros con número de carbonos impar (HAi) o entonces HAp saturados. Para la obtención de estos polímeros, fueron utilizados mezclas de los ácidos nonanoico o 10-undecenoico con ácido octanoico. Aunque los resultados presentados por varios autores son interesantes, ya que demuestran la posibilidad de obtener PHA<sub>mcl</sub> con aplicación industrial importante, se debe resaltar que las fuentes de carbono utilizadas son a elevados costos, representando un impedimento en la producción de estos polímeros con un costo compatible para la aplicación deseada.

### 3.3. Metabolismo PHA

En la biosíntesis de PHA, un factor que contribuye para el surgimiento de diferentes monómeros es la fuente de carbono utilizada, la cual será convertida en un hidroxiacil-CoA por medio de las vías metabólicas existentes en cada cepa bacteriana (Fig. 1). Steinbüchel & Lütke-Eversloh (2003) destacan también que además del sustrato, la capacidad de producir monómeros de cadena media y larga en una misma cadena polimérica está relacionada con la especificidad de la PHA sintetasa. Las PHA sintetasa son enzimas claves en el proceso de síntesis de polihidroxialcanoatos y cataliza las ligaciones de los monómeros formados por trans-esterificación (Satoh, 2002). Las PHA sintetasa son agrupadas en 4 clases que se diferencian por la especificidad en incorporar polímeros de cadena corta o larga (Rhem, 2003). El género *Pseudomonas* abraja la clase II de PHA sintetasa. Esta clase está constituida por un único polipéptido que presenta especificidad para HA<sub>mcl</sub>, difícilmente incorporando HA<sub>scl</sub> (Rhem, 2003).



**Figura 2.** Metabolismo de síntesis de PHA en bacterias (Gomez & Bueno Netto, 2001)

Está claro que dependiendo del tipo de sustrato utilizado, diferentes monómeros serán generados e incorporados al PHA. (Tajima, 2003) proponen las tres principales vías metabólicas involucradas en la síntesis de PHA<sub>mcl</sub>. La primera vía genera 3-hidroxiacil-CoA por la vía de biosíntesis de ácidos grasos cuando se proporcionan carbohidratos. A partir de la condensación de diversas moléculas de Acetil-CoA (vía malonil-CoA) es generado el 3-hidroxiaido que será incorporado al polímero (Steinbüchel & Hein, 2001). La segunda vía consiste en la oxidación de alcanos, alcoholes o ácidos carboxílicos por intermedio de la β-oxidación (Lageveen *et al.*, 1988; Brandl *et al.*, 1988). Cuando a la célula se le suministra ácido hexanoico como única fuente de carbono, se observa la presencia de monómeros que contiene dos carbonos mas, así la condensación de Acetil-CoA con otros Acil-CoA intermediarios de la β-oxidación también deben ocurrir.

La composición de los PHA<sub>mcl</sub> obtenidos a partir de carbohidratos no puede ser alterada significativamente, debido a que los sustratos son inicialmente convertidos en Acetil-CoA y los monómeros sintetizados a partir de este intermediario metabólico por la vía de biosíntesis de ácidos grasos.

Es evidente que el consumo de plásticos a nivel mundial se ha incrementado de manera importante, según Rosalia Morales y otros miembros de Lauder Class 2010, el consumo anual de plásticos en el mundo se ha multiplicado por veinte desde los años 50, superando en la actualidad las 150 millones de toneladas. Se estima que la producción de 1 kilo del plástico más común precisa energía equivalente a 2 kilos de petróleo y materias primas; además, emite aproximadamente 6 kilogramos de dióxido de carbono.

Por estas razones los biopolímeros juegan un papel ambiental de gran importancia, debido a que pueden contrarrestar todos estos efectos negativos, como lo mencionan directivos de Braskem, el fabricante petroquímico y de plásticos líder en Latinoamérica, cuando dicen que los bioplásticos pueden además de prevenir el efecto invernadero producto del calentamiento global, evitar el agotamiento de recursos como el petróleo.

Los bioplásticos son a partir de materias primas renovables, son reciclables y tienen las mismas características que los plásticos químicos.

Otra gran ventaja como señala Jeffrey Wooster, gestor de la cadena de valor en Dow Chemical, el mayor fabricante de plásticos del mundo cuando dice: “al final se trata de las emisiones de carbono”, es que los bioplásticos tienen un efecto positivo sobre el carbono al absorber el CO<sub>2</sub> durante la fotosíntesis que se da en los campos de caña de azúcar, cuando por cada kilo de bioplástico que es manufacturado se retiran entre 2,1 y 2,5 kilos de CO<sub>2</sub> a diferencia de los polímeros derivados del petróleo que emiten grandes cantidades de dióxido de carbono a la atmosfera.

## **4. Objetivos.**

### **4.1. Objetivo General.**

Realizar una revisión bibliográfica enfocada en los avances a nivel industrial en la producción de polihidroxialcanoatos a nivel mundial en la primera década del siglo XXI.

### **4.2. Objetivos Específicos.**

A partir de bases de datos, realizar una recopilación de información de los últimos diez años en referencia a los avances en la producción de polihidroxialcanoatos.

Organizar la información recogida durante la búsqueda de tal forma que se pueda mostrar las áreas más desarrolladas en la producción de polihidroxicanoatos a nivel mundial con datos registrados en la primera década del siglo XXI.

## **5. Metodología.**

**5.1. Obtención de la información:** Se realizó una revisión bibliográfica en bases de datos.

**5.2. Población Universo:** Artículos científicos sobre producción de polihidroxicanoatos

**5.3. Muestra:** Se realizó un proceso de selección bajo los criterios: fechas de publicación entre los años 2000 a 2010, calidad del documento teniendo en cuenta la cantidad de veces que ha sido citado y tema específico (producción de polihidroxicanoatos).

**5.4. Organización de la Información:** Se trabajó la información en orden cronológico de tal forma que se facilitó su entendimiento para eventualmente organizar los datos de la monografía.

**5.5. Interpretación de Resultados:** Se obtuvo datos aproximados del desarrollo en la producción de polihidroxicanoatos a nivel mundial según los datos encontrados en los artículos.

**5.6. Exposición de los resultados:** Sustentación del trabajo.

## **6. Resultados y Discusión.**

Es evidente que gran parte de la industrialización mundial se debió a los combustibles fósiles, a las fuentes de energía que estas representan en la producción de materias primas y en general en todas las utilidades que se obtienen a partir de ellos. El gran problema que surge de esto es que dichos recursos no son renovables, es decir, su uso en algún momento va a estar limitado, más aun con la explotación que han tenido a lo largo de la historia y las altas tasas de utilización que se generan diariamente en todo el mundo. En el 2007 las estadísticas mostraron que aproximadamente en el mundo se consumían anualmente 140 millones de toneladas de plástico, para producir estas exorbitantes cantidades de plástico se necesitan aproximadamente 150 millones de toneladas de combustibles fósiles, cuya sustitución es casi imposible y además de ser un problema económico mundial importante, demuestra que somos dependientes del petróleo (Suriyamongkol, 2007), estas y muchas otras razones revelan un atractivo panorama a futuro en la producción de PHA, representando un gran desafío industrial y científico en la búsqueda de nuevas fuentes de energía sostenibles. Los gránulos de PHAs fueron observados por primera vez en 1888 por Beijerinck (reported in Chowdhury, 1963) y la composición de los mismos fue descrita por Lemoigne quien lo

clasifico como material desconocido en forma de homopolíester de los ácidos 3-hidroxibutírico llamado polihidroxibutirato (PHB) (Lemoigne, 1926, 1927). La primera vez que se reportó alguna función para los PHB fue en 1958 por Macrae y Wilkinson quienes observaron la fácil y rápida degradación de estos biopolímeros producidos por *Bacillus megaterium* y *Bacillus cereus* y degradados por los mismos (Macrae y Wilkinson, 1958) de aquí en adelante las investigaciones no se han detenido, los científicos entendieron la gran importancia que puede representar a futuro la producción a gran escala de estos bioplásticos y su potencial uso a niveles inimaginables, por lo tanto en algunos países no se han escatimado recursos para el desarrollo de novedosas estrategias en la producción, manejo, degradación y sobre todo disminución de los altos costos que representa la obtención de estos compuestos a partir de microorganismos.

Aunque antes del año 2000 los PHAs eran investigados y producidos industrialmente, su mayor auge ha sido en el siglo XXI debido a la concientización que se ha tenido a nivel mundial de los problemas ambientales a los que nos enfrentamos y que podrían ser fatales para nuestro planeta, por lo tanto se han venido buscando diferentes alternativas para solucionar algunos de los problemas más evidentes, dentro de los cuales está el uso de nuevas materias primas que reemplacen los productos derivados del petróleo, fuente de energía y base de múltiples materiales de gran importancia en la vida cotidiana.

En el año 2000 no se conocía mucho sobre la regulación metabólica de PHAs, solo se tenía algunas tentativas de lo que ocurre a nivel de metabolismo celular, lo único claro era la gran diversidad de mecanismos de regulación para la acumulación eficiente de PHAs, los científicos sabían que adquirir y desarrollar estos conocimientos sería una herramienta muy valiosa para optimizar la producción a nivel industrial (Kessler, 2000)

Estudios referentes a la producción de PHAs, en los que los autores jugaban con los factores físicos y químicos de los ensayos muestran que en general las células cultivadas bajo condiciones físicas óptimas controladas automáticamente de temperatura y pH en fermentador en procesos aerobios, presentan una mayor tasa de crecimiento que en los ensayos con agitación en matraz, debido a que estos no tienen las condiciones óptimas, produciendo modificaciones constantes en los medios de cultivo y en la célula, la utilización de la fuente de carbono y por lo tanto la acumulación del biopolímero. También se comprobó que al adicionar diferentes clases de sustratos o al realizar mezclas de los mismos al medio de cultivo, la composición de los PHAs era diferente significativamente, probablemente por la facilidad de absorción y asimilación de los componentes o por el tiempo de utilización de los mismos, por lo tanto se cree que la formación de copoliéster es al azar. (Do Young Kim, 2001).

Además de representar una gran ventaja al tener características similares a los plásticos tradicionales, los PHAs han sido producidos a partir de residuos industriales, como lodos de aguas

residuales, lo que contribuirá de forma importante en el manejo de desechos con fines ecológicos y también disminuirá los elevados costos que conlleva la producción de estos biopolímeros a nivel industrial.

El departamento de ingeniería química de Hong Kong University of Science & Technology, publicó un estudio sobre la producción de PHAs a partir de aguas residuales ricas en almidón tratadas en un reactor UASB. Los ácidos obtenidos en el proceso de degradación del almidón, ácido butírico y ácido propiónico, son utilizados después de una microfiltración como enriquecimiento para el microorganismo, *Alcaligenes eutrophus*, produciendo el PHA con un rendimiento comparable al obtenido con los ácidos puros. (Jian Yu, 2001)

Algunos microorganismos que son capaces de acumular PHAs han sido aislados de suelo y aunque en laboratorio se dificulta cumplir con las condiciones de crecimiento que presenta el suelo, ha sido exitoso el aislamiento y los rendimientos obtenidos por estos microorganismos al aportarles a los medios fuentes de carbono que después de estudios resultan específicos para estos y permiten su crecimiento y producción de PHAs. *Bacillus sp.* es una de las cepas conocidas como potencial acumulador de PHAs intracelularmente en condiciones físicas y de cultivo específicas (Tajima, 2002). Muchas de las cepas aisladas después de ensayos bioquímicos y/o específicos permiten hacer una relación de las cepas del suelo con cepas ya conocidas y estandarizadas lo que facilita su manejo en el laboratorio.

En el 2002 surgió un proyecto muy interesante elaborado por el Departamento de Biotecnología de la Escuela de Ingeniería de Osaka University Yamadaoka en Japón, que propuso el desarrollo de un controlador de modelo predictivo, con el fin de controlar las concentraciones de etanol y n-pentanol además de la fracción molar en la producción de PHAs. Este modelo fue exitoso controlando la tasa de consumo y la concentración de entrada y salida de alcohol en cultivos discontinuos, lo cual era de gran importancia ya que se podía predecir los requerimientos del cultivo tanto al inicio como al final del crecimiento. (Chanprateep, 2001)

Al transcurrir los años los investigadores no solo procuran producir PHAs sino también optimizar los procesos, metodologías y materiales necesarios en esta industria con el fin de evitar errores y desperdicios prediciendo los requerimientos del microorganismo y del cultivo para aumentar los rendimientos en producción.

Las investigaciones y los avances a nivel industrial en la producción de PHAs a través de los años, arrojaron resultados que comprobaron que muchos microorganismos eran capaces de sintetizar y almacenar dichos biopolímeros, algunos en mayores porcentajes que otros.

Algunos autores sugieren la producción de PHA a partir de fuentes de carbono renovables con el fin de reducir los altos costos que requieren los procesos para la producción de estos biopolímeros a

nivel industrial. La producción de PHA puede ser constantemente optimizada, si se evalúan los factores fundamentales e influyentes que determinan la velocidad de síntesis del biopolímero por parte de las cepas. Las cepas más utilizadas en la producción de PHA debido a su fácil manejo, gran conocimiento de sus rutas metabólicas y en general de todas sus funciones son *Escherichia coli* genéticamente modificada y *Pseudomonas sp.*, estas cepas presentan alta actividad en la acumulación de PHA y al ser modificadas genéticamente se pueden mejorar notablemente sus rendimientos, obteniendo mejores resultados. (Taguchi, 2002)

En el año 2003 el Departamento de Microbiología de Alimentos, Central Food Technological Research Institute, en la India, publicó un estudio sobre cepas de *Rhizobium meliloti* aisladas de plantas de legumbres capaces de sintetizar a partir de sucrosa, como fuente de carbono, del 10-30% más PHA que otras cepas de *Rhizobium spp.* que almacenaban del 27-57% de PHA de su biomasa celular. Los científicos trataron esta cepa con 4'-N-piperidinobutil-2-clorofenoxazina obteniendo mutantes capaces de sintetizar hasta 69% de PHA con un rendimiento mejorado de 11 a 47% dependiendo de las diferentes proporciones de carbono y nitrógeno en comparación con la cepa madre (Lakshman, 2006). Lo que estos trabajos aportan a la industria es la posibilidad de manipular las cepas con el fin de mejorar la productividad y los rendimientos de los procesos biotecnológicos, mejorar las cepas para poder aprovechar sus mecanismos al máximo y obtener en mayor cantidad el producto deseado. Al jugar con las fuentes de carbono, sometiendo las cepas a estrés por limitación de nutrientes y otras variables fisicoquímicas permiten poner a prueba la máxima capacidad de los microorganismos de producir PHA, ya que es bien sabido que estos polímeros son acumulados como reserva por algunos microorganismos en condiciones adversas al crecimiento normal. (Lakshman, 2003)

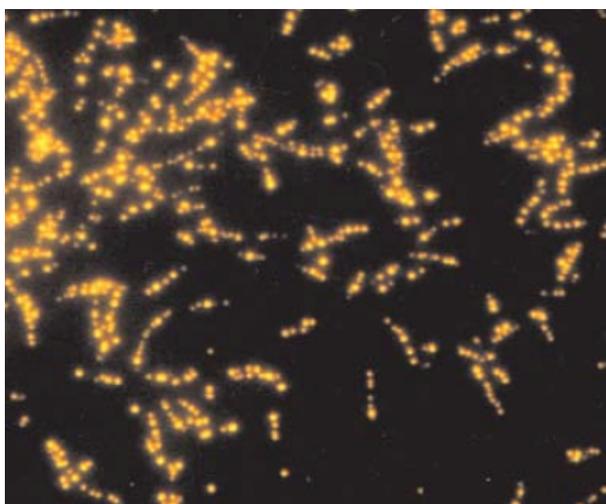
Son evidentes las ventajas que presenta la producción de PHAs, primero porque son sintetizados por numerosos géneros bacterianos que en condiciones de crecimiento con limitación de nutrientes como fósforo, nitrógeno entre otros y exceso en la fuente de carbono acumulan estos polímeros en la forma de gránulos intracelulares. El microorganismo los puede biodegradar mediante PHA depolimerasas y PHA hidrolasas extracelulares hasta CO<sub>2</sub> y agua, usándolos eventualmente como fuente de carbono en situaciones de escasez de nutrientes, representando un rol fundamental en la supervivencia microbiana, lo cual a nivel industrial representa una gran ventaja debido a que estos biopolímeros pueden ser degradados por las bacterias que los produjeron, por otras bacterias e incluso por hongos a diferencia de los residuos plásticos que se acumulan en grandes cantidades en el ambiente y cuya degradación es lenta. Segundo pueden ser producidos a partir de fuentes renovables, a diferencia de los producidos de petróleo. Además de esto, son termoplásticos y comparten propiedades similares a la de los plásticos tradicionales, pudiéndolos reemplazar fácilmente.

Debido a los altos costos de producción, su uso ha sido muy limitado, por lo tanto desde que se identificaron estos compuestos producidos por microorganismos, los laboratorios han iniciado una

laboriosa investigación para la formulación de nuevos procesos, la investigación de nuevas cepas, la optimización de bioprocesos con el fin de disminuir costos y aumentar productividad.

Según un artículo publicado por la Universidad de Buenos Aires en el 2004, existen posibilidades de producir PHA con costos competitivos, entre las cuales plantean: la producción de PHA en plantas, debido a que se pueden cultivar en grandes cantidades utilizando tan solo la luz solar. El problema de esta producción radica en la poca cantidad producida de PHA y en algunos casos se puede ver afectado el crecimiento de la planta debido al metabolismo vegetal compartimentalizado; producción de PHA en microorganismos optimizando el rendimiento, teniendo en cuenta que la purificación sea fácil para no incrementar costos y buscar sustratos económicos, por ejemplo en Brasil se producen a partir de melaza de caña y en Corea y Estados Unidos a partir de sustratos de origen vegetal. (Aleida, 2004)

Los PHA se depositan intracelularmente como cuerpos de inclusión y en algunos casos han llegado a representar más del 90% del peso seco celular (Fig. 3).



**Figura 3.** Células de *Pseudomonas putida* con gránulos de PHA. Microscopia de fluorescencia. (Aleida, 2004)

A medida que las investigaciones van avanzando, la propuesta de nuevos sustratos va surgiendo y el mejoramiento en los controles durante el proceso de fermentación permite un mejor monitoreo del proceso y de esta forma un mejor rendimiento. En el College of Food Science, South China Agricultural University usaron un medidor de potencial de oxido reducción con el fin de regular y monitorear el proceso fermentativo para la producción de PHAs a partir de lodos activados, reemplazando el medidor de oxígeno disuelto, permitiendo una mayor precisión. Se encontraron resultados importantes que demuestran que al ajustar los rangos de las fuentes de carbono y controlar el oxígeno disuelto por medio del medidor de potencial oxido reducción se puede tener

control sobre la composición de los PHAs, por lo tanto el oxígeno disuelto juega un papel importante en la composición de los copolímeros de PHA. Este estudio muestra la posibilidad de producir PHAs a partir de lodos provenientes de aguas residuales, disminuyendo los costos, el tiempo y los procesos para el tratamiento de estos lodos, además plantea la posibilidad de trabajar con componentes como el lodo activo proveniente de aguas residuales sin necesidad de tratamiento de esterilización, ni conservación de cepas puras, resultando en una disminución significativa de los costos de producción de PHA. (W.F. Hu, 2005)

Numerosos artículos han sido publicados, y las investigaciones en cuanto a la producción de PHAs cada vez son más frecuentes. Muchos factores físico-químicos han sido evaluados y puestos a prueba con el fin de conocer y establecer aquellos que influyen o interfieren en la producción de estos biopolímeros. En el 2006 en Tailandia Charuvan Kasemsap y Chalermraj Wantawin investigaron el efecto del pH en la productividad y el contenido intracelular de PHAs a partir de lodos activos provenientes de aguas residuales, encontrando que los rendimientos se podían comparar con los obtenidos a partir de cepas puras si el proceso tenía una fase anaerobia y un aumento en el pH, ya que de esta forma la célula necesita menos energía para la captación de acetato en su proceso metabólico anóxico, demostrando una vez más que la producción de PHAs a partir de lodos activados es una solución innovadora que reduce notablemente los costos de proceso, es amigable con el ambiente y puede manejar operaciones más flexibles. (Kasemap, 2006)

Por medio de diversos estudios fueron encontrándose nuevas cepas con capacidad de acumulación de PHA, uno de estos microorganismos fue *Micrococcus phosphovorans*, que produjo cantidades significativas de PHAs bajo diversas condiciones de crecimiento y diferentes fuentes de carbono. Una parte del experimento fue realizado en Batch, con un sistema de ciclos aerobios y anaerobios, mostrando que la producción de PHAs por parte de *M. phosphovorans* también ocurre en la fase anaerobia. Ya que en este caso la producción de PHAs se da en la fase anaerobia, observaron que al poner acetato como única fuente de carbono la acumulación de PHA ocurría, es decir que el microorganismo respiraba acetato durante la fase aerobia y cuando la fuente de carbono era glucosa el microorganismo no era capaz de sintetizar el biopolímero. Aunque estos resultados aportaban nuevos microorganismos productores de PHA, es evidente que los altos costos de las fuentes de carbono y los procesos utilizados no permiten ver este estudio como una solución viable porque a nivel industrial los costos serían muy altos. (Akar, 2006). Al evaluar los resultados de otra cepa, *Wautersia eutropha* creció bajo condiciones mixotróficas y con ácidos grasos de cadena impar, promoviendo la síntesis de cuatro y cinco componentes de PHA con hidroxibutirato e hidroxivalerato en mayor cantidad; hidroxihexanoato e hidroxioctanoato en menor cantidad. Cuando el número de carbonos de los ácidos grasos es par, los compuestos hidroxioctanoato y en menor cantidad hidroxihexanoato, junto con pequeñas cantidades de hidroxivalerato son acumuladas dentro del polímero. (Volova, 2006). Algunas bacterias fotosintéticas también pueden sintetizar el polímero. Un

estudio publicado en el año 2006 en Tailandia, muestra que la bacteria *Rhodobacter sphaeroides* es capaz de producir PHA mostrando un 60% de producción cuantificada en la masa seca celular. (Lorrunguang, 2006)

Otros sustratos han sido utilizados a lo largo de esta primera década del siglo XXI. Los residuos de procesos de agricultura como la cascarilla de arroz y residuos de almidón de maíz, han mostrado que el almidón de maíz no solo reduce los costos del material, sino que además incrementa la concentración celular y la acumulación de PHAs. En ensayos de laboratorio Huang y otros autores de este estudio encontraron que *Haloferax mediterranei* no puede crecer a partir de cascarilla de arroz en contraste con los sorprendentes resultados que se obtuvo al usar el almidón de maíz como sustrato, donde la concentración de PHA alcanzo el 77.8% g/L y un contenido de 55.6 del PHA del peso seco celular, representando más de dos veces la concentración celular y tres veces la concentración de PHA si se usa solo almidón de maíz, haciendo este proceso potencialmente viable a gran escala si se continua con el mismo modelo de fed-batch, y bajo los mismo parámetros utilizados a nivel de laboratorio.(Huang, 2006)

Una vez sintetizados los biopolímeros los científicos empezaron a darles múltiples usos como reemplazando plásticos, en líneas de pesca e innumerables usos en el campo de la medicina, entre otros. Debido a los altos costos mencionados a lo largo de este trabajo, los ingenieros metabólicos empezaron a intervenir con el fin de extraer las enzimas que participan en la producción de PHA y mejorar la actividad enzimática o también mejorar la especificidad por el sustrato con el fin de utilizar de forma más eficiente sustratos renovables y optimizar los procesos de producción (Nomura, 2006)

En el 2007 el Departamento de Química de la Universidad Nova de Lisboa, en Portugal, estandarizo un proceso de producción de PHAs a partir de caña de azúcar, con el fin de tener patrones a seguir tratando de disminuir los errores disminuyendo costos de producción. Encontraron que la influencia del pH durante el proceso determina la composición de los ácidos grasos volátiles producidos, afectando directamente la composición de los PHAs producidos; altas concentraciones de amonio son negativas en la producción de PHAs pero estimula el desarrollo de la acumulación de PHA por el microorganismo en el paso de selección; la acumulación estable de PHA se logro usando como materia prima melaza, con una baja carga orgánica y con alta concentración de amonio, proporcionando una presión selectiva para la acumulación (Albuquerque, 2007).

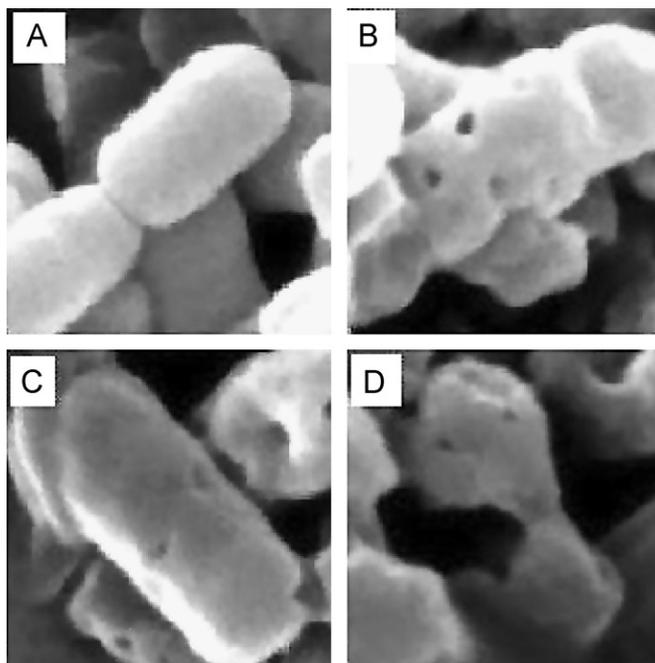
A medida que fueron tomando fuerza y siendo más conocidas las ventajas y propiedades de los PHAs, se fueron encontrando aplicaciones mas especificas. Un artículo publicado en Japón por la Universidad de Tokio, en el año 2007, apunto las investigaciones en la producción de PHAs para usos en ingeniería tisular. El experimento fue realizado en ratones, arrojando importantes resultados que mostraron que es posible utilizar los copolímeros de PHA como implantes subcutáneos. Estos implantes fueron tolerados en experimentos *in vivo*, además mantuvieron su estructura a lo largo del

experimento tanto *in vivo* como *in vitro*, no presentaron ningún tipo de daño ni cambio después de la esterilización, las propiedades mecánicas fueron similares a las de la piel humana proporcionando suficiente apoyo biomecánico, son biodegradables, flexibles y presentaron excelente biocompatibilidad mecánica. Al cambiar la fracción molar de los monómeros es posible crear implantes que satisfagan las necesidades de regeneración de las diferentes células (Ying Tang, 2007). Gracias a trabajos como este los biopolímeros cada vez van tomando más fuerza en la industria, además de ser una posible solución a problemas ambientales, se abren infinitas puertas en el uso de estos en otros campos de acción como la biomedicina, en este caso la ingeniería tisular, un campo de gran importancia en la regeneración de células de tejidos, para posibles aplicaciones en caso de quemaduras, infecciones, accidentes, entre otros, y en el cual los avances han sido muy lentos, porque se dificulta la obtención de materiales que cumplan las propiedades únicas de los tejidos vivos.

Aunque Colombia junto con algunos países de Sur América no están muy avanzados en cuanto a producción de PHA se refiere, en el 2008 la Revista Colombiana de Biotecnología de la Universidad Nacional de Colombia publicó un artículo en el que planteaban una tecnología novedosa que permitía liberar toxinas de una cepa de *Bacillus thuringiensis* por medio del uso de gránulos de PHA, hallando una solución ambiental importante, ya que la toxina producida por este microorganismo sería inmovilizada dentro de gránulos, que eventualmente serían utilizados como control biológico de plagas, teniendo la posibilidad de alterar parámetros como el tamaño del gránulo e incrementar el contenido de toxina por gránulo debido a que las proteínas del insecticida estarían en un soporte biodegradable. (Rosas, 2008). Se puede observar que los PHA comienzan a ser importantes hasta en países en vías de desarrollo, y aunque su producción no sea tan viable y tal vez demoren muchos años en mejorar los procesos para poder comenzar a utilizarlos, comienzan a tomar fuerza en todos los tipos de mercado, o por lo menos se dan a conocer para en un futuro satisfacer las diferentes necesidades de cada país.

Los avances no se detuvieron y junto con ellos las técnicas para mejorar los rendimientos en la producción de PHA, en el año 2008 encontraron en la India una cepa de *Bacillus flexus* que al ser cultivada en sacarosa y sacarosa con aceite vegetal producía PHA y PHB con gran eficiencia, el procedimiento consistía en irradiar con rayos gamma de diferente intensidad las células, y observaron que se mejoraba la síntesis de gránulos intracelulares de PHA y su peso molecular incrementaba de forma considerable; aunque la célula sufría daños en su estructura (Fig. 4) cuando la irradiación era baja la célula seguía siendo funcional, además presentaba una mayor facilidad en la extracción del biopolímero, del 45% y 54% respecto al peso de biomasa. La calidad del PHA no se vio muy afectado después de la irradiación, pero la ventaja se presentó en el momento de cuantificar el peso molecular del PHB que se incrementó de  $1.5 \times 10^5$  a  $1.9 \times 10^5$  después de la

irradiación (10kGy), el incremento del PHA en el peso molecular fue de  $1.7 \times 10^5$  a  $2.3 \times 10^5$  con la misma irradiación. (Divyashree, 2008).



**Figura 4.** Micrografía electrónica *Bacillus flexus* expuesto a diferentes dosis de irradiación gamma. A = control; B = 10kGy; C = 20kGy y D = 40kGy. (Divyashree, 2008)

La producción de PHA usando desperdicios orgánicos una vez más se plantea como una solución ambiental importante y una reducción en los costos de producción.

A lo largo de los años las industrias han buscado soluciones que permitan el aprovechamiento de sus desechos. La producción de PHA se ha convertido en una posible salida, ya que dichos desechos pueden ser utilizados como fuente de carbono, planteando una solución eficiente y amigable con el ambiente.

En el 2008, científicos coreanos realizaron pruebas en las que se comprobó que al adicionar glucosa, extracto de levadura y sales orgánicas a desperdicios ricos en nutrientes provenientes de desechos de cerdos y utilizando *Azotobacter vinelandii*, se obtuvo un incremento considerable en el crecimiento celular 8,5 veces mayor y un aumento en la producción de PHA 7,0 veces (Ryu, 2008). Estos resultados son relevantes ya que representan un avance a nivel industrial de gran importancia planteando la posibilidad de reutilizar desechos orgánicos de forma natural y además producir a partir de estos y sin necesidad de procesos estériles, lo que implica grandes costos, PHA de forma eficiente, mas económica y sobre todo de forma amigable con el ambiente. Esta metodología es tan simple que cualquier país y cualquier industria podrían implementarla en sus procesos, optimizando los rendimientos, la producción y disminuyendo los costos significativamente.

Otra industria que ha concentrado sus investigaciones en el aprovechamiento de sus desechos ha sido la industria de lácteos. Se utilizó el suero hidrolizado con el fin de obtener lactosa, glucosa y galactosa. En un estudio publicado en el 2008 se utilizaron estos compuestos como fuente de carbono para *Pseudomonas hydrogenovora* que utilizó estos sustratos y se comparó los resultados con los obtenidos con sustratos puros de glucosa y galactosa limitando la fuente de nitrógeno, con el fin de predecir si los rendimientos eran mayores, menores o iguales que con los sustratos puros. Los resultados fueron satisfactorios, ya que sorprendentemente los rendimientos fueron más altos con el lactosuero como fuente de carbono en la producción de PHA (Koller, 2008), lo que representa una solución viable para la utilización de los desperdicios de la industria de lactosa que tantos problemas ambientales y económicos representa para este sector de la industria.

Debido a las características de los PHAs los científicos han buscado nuevas aplicaciones para estos, el Departamento de Ciencias Biológicas y Biotecnología de la Universidad de Beijing en China, publicó un estudio en el que se utilizaron PHA para producir vasos sanguíneos artificiales, se estudió si era posible que se formara elastina en estos soportes, además se evaluó la morfología celular que proliferaba en ellos y el crecimiento celular en los andamios del biopoliéster. Los resultados una vez más sorprendieron a los científicos ya que se comprobó que era posible la producción de elastina en el interior de estos, además presentan muy buena elasticidad sin perder la fortaleza necesaria para que soporte los flujos sanguíneos y el transporte de células sanguíneas (Cheng, 2008). Los PHA cada vez van tomando más importancia debido a sus innumerables aplicaciones, en este caso la posibilidad de ser utilizados en ingeniería de tejidos sanguíneos, útil en situaciones donde la regeneración no sea posible y necesite intervención médica, abriendo las puertas a un futuro en donde la biomedicina pueda suplir las necesidades de los pacientes de forma natural y segura.

Muchos autores coinciden a través de años de investigación en que el efecto de la fuente de carbono influye directamente sobre la cantidad y características del PHA sintetizado. La afinidad que tiene el microorganismo por el sustrato es de gran importancia y esto fue demostrado al mezclar fuentes de carbono sin obtener ningún incremento significativo en la acumulación de PHA (Pijuan, 2009). Al pretender biosintetizar PHA es importante conocer el metabolismo del microorganismo que se va a utilizar porque no todos los monómeros producidos tienen utilidad y este aspecto es muy importante sobre todo cuando se busca un resultado específico.

Innumerables especies de microorganismos han sido estudiadas para evaluar la producción de PHA y las diferencias económicas que representan dependiendo de los sustratos que utilizan para la síntesis de los mismos y lo que esto significa a nivel de costos en la producción. En 2009 se publicó un artículo sobre el uso de halófilos como *Haloferax mediterranei* que utilizan sales para la producción de PHA presentando un gran potencial a nivel industrial para la producción biotecnológica de PHA. Esta cepa acumula PHA utilizando glucosa, almidón e hidrolizado de suero de leche como fuentes de carbono, la composición química y el peso molecular del polímero puede ser modificado dependiendo

del sustrato utilizado, los rendimientos obtenidos en este estudio apuntan a uno de los más altos reportados hasta entonces (Quillaguaman, 2009), lo cual evidencia que el uso de cepas provenientes de ambientes marinos pueden significar una nueva alternativa ya que se amplían los horizontes en la búsqueda de nuevos y mejores organismos capaces de producir biopolímeros con mejores rendimientos y mayor productividad.

A nivel neurológico también pueden ser utilizados los PHA, un reporte realizado en el 2009, plantea los PHA como membranas que pueden ser utilizadas a nivel neuronal, benefician el transporte de nutrientes y productos metabólicos, además se puede controlar el comportamiento de las neuronas ajustando las características de la superficie de las películas de PHA y aunque presenta desventajas, al realizarle las modificaciones necesarias podrían ser funcionales y en algún momento poder realizar sinapsis y reemplazar estas células que no se regeneran de forma natural en el cuerpo (Yu Bo-Yi, 2009)

Algunas bacterias no han sido muy explotadas debido a su variabilidad en cuanto a actividad biológica y estructura se refiere, este es el caso de las cianobacterias, este grupo tiene gran especificidad por sustrato y condiciones de crecimiento específicas. En el 2010 se realizó un estudio que demostró que las cianobacterias pueden tener potencial produciendo PHA a partir de CO<sub>2</sub> como fuente de carbono y que los rendimientos se pueden incrementar de manera importante al crear condiciones de estrés. Este estudio mostro el incremento en la acumulación de PHA en la cepa de *Spirulina subsalsa* al incrementar las concentraciones de NaCl en el medio de cultivo. Análisis indican que el polímero tiene una estabilidad térmica superior a 200 °C lo que representa una ventaja a nivel industrial. Aunque la producción de PHA es relativamente baja, puede ser una valiosa opción para poder utilizar el CO<sub>2</sub>, ayudar al mejorar el ambiente y además producir compuestos alternativos, como los PHAs. (Shrivastav, 2010)

En actualidad siguen las investigaciones en cuanto a la aplicación de PHA en la medicina, cada día se van conociendo más ventajas y mejorando los procesos, evidentemente los países orientales llevan la delantera en cuanto a la producción de estos biopolímeros. Los usos a nivel medico son de gran importancia ya que pueden lograr avances inimaginables, pueden ser usados en la reparación de daños severos al sistema nerviosos central.

A partir de PHA los científicos han creado nanofibras que imitan matrices extracelulares naturales. Presenta gran cantidad de ventajas ya que presentan gran resistencia, diferenciación celular; permiten sinapsis, sinaptogenesis, crecimiento celular, conexión, viabilidad, adhesión, además son biodegradables y lo más importante de todo son compatibles con las células del sistema nervioso (Xu Xian-Yi, 2010). Los alcances han sido tan perfectos que representan una posibilidad prometedora en la reparación de lesiones de medula espinal, un campo tan delicado e importante en la recuperación de pacientes con daños que a veces son considerados irreparables.

## **7. Conclusiones.**

Aunque los polihidroxicanoatos fueron descubiertos y descritos hace muchos años, hasta hace poco se han venido conociendo a fondo sus ventajas, su metabolismo y las diferentes aplicaciones que pueden tener.

Los PHA pueden ser una solución ambiental importante, pudiendo reemplazar los plásticos derivados del petróleo, pueden ser producidos a partir de sustratos renovables a diferencia de los plásticos tradicionales, además su degradación puede ser realizada por los mismos organismos que los producen e incluso por otros sin producir toxinas en este proceso como las que producen los plásticos y en un tiempo mucho menor.

Los altos costos de producción limitan el uso de los biopolímeros, pero se ha venido trabajando por mucho tiempo en la optimización de procesos y en la búsqueda de nuevas e innovadoras soluciones para disminuir notablemente estas cifras, e incrementar la producción y los rendimientos.

Muchos países están interesados en el desarrollo de esta industria biotecnológica, pero es evidente que la vanguardia la tienen los países orientales, las publicaciones son innumerables y los avances asombrosos e incluso algunos se salen del alcance de países en vías de desarrollo como Colombia.

Muchas aplicaciones se han encontrado para estos polímeros desde simples pegamentos, y fibras hasta en campos de ingeniería tisular, genética, ingeniería ambiental, medicina, entre otros. En un futuro el uso de PHA va a ser indispensable y sus alcances aun están fuera de la imaginación de los grandes científicos.

La estructura y composición de los PHA puede ser controlada, conociendo el metabolismo del organismo utilizado con el fin de poder jugar con los sustratos empleados, pudiendo predecir los resultados.

La modificación genética de los microorganismos presenta una herramienta importante en el incremento de la producción biotecnológica de estos PHA, ya que se puede transformar una cepa obligando a su maquinaria genética a producir y explotar sus capacidades al máximo, optimizando los procesos y disminuyendo los costos al aumentar la producción.

## 8. Referencias.

- Bretas, A.F.; Silva, L.F.; Gomez, J.G.C. Produção de polihidroxicanoatos com composição diferenciada por mutantes de *Pseudomonas putida* a partir de carboidratos e ácido propiônico. XXIII Congresso Brasileiro de Microbiologia, Santos, 2005.
- Du, G.C.; Chen, J.; Yu, J.; Lun, S. Feeding strategy of propionic acid production of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) with *Ralstonia eutropha*. Biochem. Engineer. J., 8:103-110, 2000.
- Gomez, J.G.C., Produção por *Pseudomonas* sp de polihidroxicanoatos contendo monômeros de cadeia média a partir de carboidratos: avaliação da eficiência, modificação da composição e obtenção de mutantes. Doutorado Microbiologia, USP-IPT-Butantã, 2000.
- Gomez, J.G.C.; Silva, L.F., Taciro, M.K.; Rodrigues, M.F.A.; Silva, E.S.; Bonomi, A.; Simões, D.A.; Bueno Netto, C.L.; Pradella, J.G.C. Production of biodegradable polymer from sugar cane in Brazil. 12<sup>th</sup> World Clean Air & Environment Congress and Exhibition. Korea, 2001.
- Italiani, V.S.C.; Zuleta, L.F.G.; Marques, M.V. The transcription termination factor Rho is required for oxidative stress survival in *Caulobacter crescentus*. Molecular Microbiology, 44(1):181-194, 2002.
- Kim, D.Y.; Kim, H.W.; Chung, M.G.; Rhee, Y.H. Biosynthesis, modification, and biodegradation of bacterial medium-chain-length polyhydroxyalkanoates. Journal of Microbiology. 45(2):87-97, 2007.
- Misra, S.K.; Valappil, S.P.; Roy, I.; Boccaccini, A.R. Polyhydroxyalkanoate (PHA)/Inorganic phase composites for tissue engineering applications. Biomacromol., 7(8):2249-2258, 2006.
- Nonato, R.V.; Mantelatto, P.E.; Rossell, C.E.V. Integrated production of biodegradable plastic, sugar and ethanol. Microbiologia. Biotechnology., 57:1-5, 2001.
- Rehm, B.H.A. Polyester synthases: natural catalysts for plastics, Biochemistry Journal, 376:15-33, 2003.
- Rocha, R.C.S.; Pereira, F.S.; Taciro, M.K.; Rodrigues, M.F.A.; Pradella, J.G.C. Controle da biossíntese de poli-hidroxicanoatos bacterianos através do fluxo de substratos. Químical. Nova, 30(1):53-55, 2007.
- Rocha, R.C.S.; Silva, L.F.; Taciro, M.K.; Pradella, J.G.C. Production of P(3HB-co-3HV) with a broad range of 3HV content at high  $Y_{3HV/prop}$  values by *Burkholderia sacchari* IPT 189. World Journal Microbiological. Biotechnology. 2007 *in press*.

Sánchez, R.J.; Schripsema, J.; Silva, L.F.; Taciro, M.K.; Pradella, J.G.C; Gomez, J.G.C. Medium-chain-length polyhydroxyalkanoic acids (PHA<sub>mcl</sub>) produced by *Pseudomonas putida* IPT046 from renewable sources. *European Polymeric Journal*, 39:1385-1394, 2003.

Silva, L.F.; Rocha, R.C.S.; Taciro, M.K.; Pradella, J.G.C.; Gomez, J.G.C. Produção biotecnológica de poli-hidroxiálcanoatos para a geração de polímeros biodegradáveis no Brasil. *Química Nova*, 2007 *in press*.

Silva-Queiroz, S.R. Biossíntese de polihidroxiálcanoatos de cadeia média (PHA<sub>mcl</sub>) por bactérias a partir de óleos vegetais. Mestrado Biotecnologia. USP-IPT-Butantã, 2003.

Steinbüchel, A. & Hein, S. Biochemical and molecular basis of microbial synthesis of polyhydroxyalkanoates in microorganisms. *Advances Biochemical Engineering Biotechnological*, 71:81-123, 2001.

Steinbüchel, A. & Lütke-Eversloh, T. Metabolic engineering and pathway construction for biotechnological production of relevant polyhydroxyalkanoates in microorganisms. *Biochemistry Engineering Journal*, 16:81-96, 2003.

Wang, Y.; Amer, G.A.; Sheppard, B.J. Langer, R. A tough biodegradable elastomer. *Nature Biotechnological*, 20(6):602-606, 2002.

Zinn, M.; Witholt, B.; Egli, T. Occurrence, synthesis and medical application of bacterial polyhydroxyalkanoate. *Advances Drug Del. Review.*, 53:5-21, 2001.

Zuleta, L.F.G.; Italiani, V.C.S.; Marque, N.M.V. Isolation and characterization of NaCl-sensitive mutants of *Caulobacter crescentus*. *Applied Environmental Microbiological*, 69:3029-3035, 2003.

Kenji Tajima, Takaaki Igari, Daisuke Nishimura, Maiko Nakamura, Yasuharu Satoh. Isolation and Characterization of *Bacillus* sp. INTO05 Accumulating Polyhydroxyalkanoate (PHA) from Gas Field Soil, *Journal of Bioscience and Bioengineering*. Vol. 95, No. 1, 77T81. 2003.

Kessler Birgit, Witholt Bernard. Factors involved in the regulatory network of polyhydroxyalkanoate metabolism, *Journal of Biotechnology* 86, 97-104. 2001.

Chanprteep Suchada, Kikuya Kensuke, Shimizu Hiroshi, Shioya Suteaki. Model predictive controller for biodegradable polyhydroxyalkanoate production in fed-batch cultura. *Journal of Biotechnology* 95, 157-169. 2002.

Yasuharu Satoh, Norimasa Minamoto, Kenji Tajima and Masanobu Munekata. Polihidroxiálcanoate synthase from *Bacillus* sp. INTO05 is composed of PhaC and PhaR. *Journal of bioscience and bioengineering*. Vol 94, No 4,343-350. 2002.

Shrivastav Anupama, Mishra Sanjiv K., Mishra Sandhya. Polyhydroxyalkanoate (PHA) synthesis by *Spirulina subsalsa* from Gujarat coast of India. *International Journal of Biological Macromolecules* 46, 255-260. 2010.

Pijuan Maite, Casas Carles, Baeza Juan Antonio. Polyhydroxyalkanoate synthesis using different carbon sources by two enhanced biological phosphorus removal microbial communities. *Process biochemistry* 44, 97-105. 2009.

Rosas Garcia Ninfa Maria, Avances en el Desarrollo de Formulaciones Insecticidas a Base de *Bacillus thuringiensis*. *Revista colombiana de Biotecnología*, Universidad Nacional de Colombia. 0123-3475 paginas 49-63. 2008

Albuquerque M.G.E., Eiroa M., Torres C., Nunes B.R., Reis M.A.M. Strategies for the development of a side stream process for polyhydroxyalkanoate (PHA) production from sugar cane molasses. *Journal of Biotechnology* 130, 411-421. 2007.

Nomura T. Christopher, Taguchi Seiichi. PHA synthase engineering toward superbicatalysts for custom-made biopolymers. *Applied Microbiological Biotechnology* 73, 969-979. 2007

Huang Ting-Yen, Duan Kow-Jen, Huang Shih-Yow. Production of polyhydroxyalkanoates from inexpensive extruded rice bran and starch by *Haloferax mediterranei*. *Journal Ind Microbiological Biotechnology* 33. 701-706. 2006

Lorrungruang Chortip, Martthong Jeerapa, Sasaki Ken, Noparatnaraporn Napavarn. Selection of Photosynthetic Bacterium *Rhodobacter sphaeroides* 14F for Polyhydroxyalkanoate Production with Two-Stage Aerobic Dark Cultivation. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. Vol 102, No. 2, 128-131. 2006.

Volova T.G., Kalacheva G.S., Kozhevnikov I.V., and Steinbuchel A.. Biosynthesis of Multicomponent Polyhydroxyalkanoates by *Wautersia eutropha*. *Mikrobiologiya VOI* 76, No. 6, 797-804. 2007.

Akar Aygul, Ucisik EAsma, Yesuladali Koray, Celikyilmaz Gamze, entre otros. Accumulation of polyhydroxyalkanoates by *Microlunatus phosphovorus* under various growth conditions. *J Ind Microbiol Biotechnol* 33, 215-220. 2006 Kasemsap Charuvan, Wantawin Chalermraj. Batch production of polyhydroxyalkanoate by low-polyphosphate-content activated sludge at varying pH. *Bioresource Technology* 98, 1020-1027. 2007.

W.F. Hu, S.N. Sin, H. Chua, and P.H.F. Yu. Synthesis of Polyhydroxyalkanoate (PHA) from Excess Activated Sludge Under Various Oxidation-Reduction Potentials (ORP) by Using Acetate and Propionate as Carbon Sources. *Humana Press Inc.* 0273-2289/05/121-124/289-302/ 2005.

Almeida Alejandra, Ruiz Jimena A., Lopez Nancy I., Pettinari Julia M. Bioplásticos: una alternativa Ecológica. *Universidad de Buenos Aires ISSN (versión en línea):1666-7948.* 2004

Taguchi Seiichi, Nakamura Hirofumi, Kichise Tomoyasu, Tsuge Takeharu, entre otros. Production of polyhydroxyalkanoate (PHA) from renewable carbon sources in recombinant *Ralstonia eutropha* using mutants of original PHA synthase. *Biochemical Engineering Journal* 16, 107-113. 2003

Lakshman Kshama, Rastogi N.K., Shamala T.R. Simultaneous and comparative assessment of parent and mutant strain of *Rhizobium meliloti* for nutrient limitation and enhanced polyhydroxyalkanoate (PHA) production using optimization studies. *Process Biochemistry* 39, 1977-1983. 2004.

Lakshman Kshama, Shamala Ramachandrianh T. Extraction of polyhydroxyalkanoate from *Sinorhizobium meliloti* cells using *Microbispora* sp. culture and its enzymes. *Enzyme and Microbial Technology* 39, 1471-1475. 2006.

- Champrateep Suchada, Kikuya Kensuke, Shimizu Hiroshi, Shioya Suteaki. Model predictive controller for biodegradable polyhydroxyalkanoate production in fed-batch cultura. *Journal of Biotechnology* 95, 157-169. 2002.
- Tajima Kenji, Igari Takaaki, Nishimura Daisuke, entre otros. Isolation and Characterization of *Bacillus* sp. INTO05 Accumulating Polyhydroxyalkanoate (PHA) from Gas Field Soil. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. Vol. 95, No. 1, 77-81. 2003
- Yu Jian. Production of PHA from starchy wastewater via organic acids. *Journal of Biotechnology* 86, 105-112. 2001
- Kim Young Do, Jung Byel Saet, Choi Guk Gang, entre otros. Biosynthesis of polyhydroxyalkanoate copolyester containing cyclohexyl groups by *Pseudomonas oleorans*. *International Journal of Biological Macromolecules*. 29, 145-150. 2001
- Kessler Birgit, Witholt Bernard. Factors involved in the regulatory network of polyhydroxyalkanoate metabolism. *Journal of Biotechnology* 86, 97-104. 2001.
- Suriyamongkol Pornpa, Weselake Randall, entre otros. Biotechnological approaches for the production of polyhydroxyalkanoates in microorganisms and plants. *Biotechnology Advances* 25, 148-175. 2007.
- Ying Tang H., Ishii Daisuke, entre otros. Scaffolds from electrospun polyhydroxyalkanoate copolymers: Fabrication, characterization, bioabsorption and tissue response. *Biomaterials* 29, 1307-1317. 2008.
- Kojima Takaaki, Nishiyama Tatsuaki, entre otros. Expression Profiles of Polyhydroxyalkanoate Synthesis-Related Genes in *Paracoccus denitrificans*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. Vol 97, No. 1, 45-53. 2004.
- Divyashree M.S., Shamala T.R. Effect of gamma irradiation on cell lysis and polyhydroxyalkanoate produced by *Bacillus flexus*. *Radiation Physics and Chemistry* 78, 147-152. 2009.
- Ryu Wook Hee, Cho Suk Kyung, entre otros. Production of Polyhydroxyalkanoates by *Azotobacter vinelandii* UWD Using Swine Wastewater: Effect of Supplementing Glucose, Yeast Extract, and Inorganic Salts. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. 13, 651-658. 2008.
- Koller Martin, Bona Rodolfo, entre otros. Polyhydroxyalkanoate production from whey by *Pseudomonas hydrogenovora*. *Bioresource Technology* 99, 4854-4863. 2008.
- Cheng Shao-Ting, Chen Zhi-Fei, Chen Guo-Qiang. The expression of cross-linked elastin by rabbit blood vessel smooth muscle cells cultured in polyhydroxyalkanoate scaffolds. *Biomaterials* 29, 4187-4194. 2008.
- Quillanguaman Jorge, Guzman Hector, entre otros. Synthesis and production of polyhydroxyalkanoates by halophiles: current potential and future prospects. *Applied Microbiological Biotechnology*. 85, 1687-1696. 2009.
- Yu Bo-Yi, Chen Chi-Ruei, entre otros. The response of rat cerebellar granule neurons (rCGNs) to various polyhydroxyalkanoate (PHA) films. *Desalination* 245, 639-646. 2009.

Xu Xian-Yi, Li Xiao-Tao, entre otros. The behaviour of neural stem cells on polyhydroxyalkanoate nanofiber scaffolds. *Biomaterials* 31, 3967-3975. 2010.

Pagina web consultada el 14 de marzo 11:10pm  
<http://www.wharton.universia.net/index.cfm?fa=viewArticle&ID=1704>

Pagina web consultada el 6 de mayo 10:45pm  
[http://biomicrolab.web.ua.pt/tips/Abreviaturas\\_titulos\\_revistas.pdf](http://biomicrolab.web.ua.pt/tips/Abreviaturas_titulos_revistas.pdf)