



Universidad de Sevilla

Facultad de Farmacia

Bioplásticos: obtención y aplicaciones de polihidroxialcanoatos

Laura Álvarez da Silva



Universidad de Sevilla

Facultad de Farmacia. Grado en Farmacia

Trabajo Fin de Grado

Revisión Bibliográfica

**“BIOPLÁSTICOS: OBTENCIÓN Y APLICACIONES DE
POLIHIDROXIALCANOATOS”**

Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica

Tutores: Bueno Martínez, Manuel
Molina Pinilla, Inmaculada

Álvarez da Silva, Laura

Sevilla, diciembre de 2016.

RESUMEN

Los problemas derivados de la acumulación de residuos plásticos procedentes del petróleo, y la dependencia de recursos no renovables para su producción, ha llevado a la búsqueda de nuevos polímeros como los polihidroxicanoatos (PHAs), que pueden ser una alternativa a los plásticos convencionales. Los PHAs son biopolímeros sintetizados y acumulados en forma de gránulos intracelulares por numerosos microorganismos, y han adquirido un gran interés debido a que se obtienen de fuentes renovables, son biodegradables, biocompatibles, y además, presentan características similares a los plásticos derivados del petróleo. Sin embargo, aunque los PHAs son buenos candidatos como sustitutos de los plásticos convencionales, aún tienen un coste elevado en comparación con estos. En la actualidad, se está realizando un considerable esfuerzo en conocer los factores que influyen en su obtención, para poder mejorar el rendimiento de producción y disminuir los costes, abarcando así un mayor rango de aplicaciones.

Los monómeros constituyentes de PHA pueden tener estructuras muy diversas, existiendo por tanto una gran variedad de PHAs. La producción de estos biopolímeros se lleva a cabo principalmente a partir de bacterias mediante procesos de fermentación, utilizando diferentes rutas biosintéticas dependiendo de las fuentes de carbono utilizadas. Los PHAs pueden ser producidos por una gran variedad de microorganismos y el número de productores está en aumento debido a los avances científicos, pudiendo ser producido actualmente por plantas transgénicas. Los polímeros de PHAs una vez extraídos y purificados, presentan propiedades que los hace útiles en un amplio rango de aplicaciones, pudiendo ser utilizados en campos muy diversos como: medicina, farmacia, o la industria agroalimentaria, entre otras.

En este trabajo se presenta una revisión bibliográfica sobre las investigaciones relacionadas con PHAs, la biosíntesis y los organismos productores, así como los métodos de producción y las aplicaciones de estos biopolímeros.

Palabras Clave: Polihidroxicanoatos, síntesis, aplicaciones, biopolímeros, bioplásticos.

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS	6
1.- INTRODUCCIÓN	7
2.- OBJETIVOS.....	9
3.- METODOLOGÍA.....	10
4.-RESULTADOS Y DISCUSIÓN	12
4.1. BIOPOLÍMEROS Y POLÍMEROS BIODEGRADABLES.....	12
4.2. ESTRUCTURA Y CLASIFICACIÓN DE PHAs.....	14
4.3. OBTENCIÓN	17
4.3.1. BIOSÍNTESIS DE PHAs	17
4.3.2. PRODUCCIÓN DE PHAs.....	22
4.3.3. ORGANISMOS PRODUCTORES DE PHAs.....	25
4.4. APLICACIONES.....	26
5.- CONCLUSIONES	32
6.- BIBLIOGRAFÍA.....	34

LISTA DE ABREVIATURAS

(R)-HA	ácido (R)-hidroxicarboxílico
(R)-HA-CoA	(R)-hidroxialcanoil-CoA
3HB	ácido 3-hidroxibutírico
3HHx	ácido 3-hidroxihexanoico
3HO	ácido 3-hidroxi octanoico
3HP	ácido 3-hidroxipropiónico
3HV	ácido 3-hidroxivalérico
4HB	ácido 4-hidroxibutírico
4HV	ácido 4-hidroxivalérico
ACP	proteína transportadora de acilo (<i>acyl carrier protein</i>)
AMP	adenosín monofosfato
ATP	adenosín trifosfato
CoA	coenzima A
ICI	Imperial Chemical Industries
NADP ⁺	nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (forma oxidada)
NADPH	nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (forma reducida)
P(3HB)	poli(3-hidroxibutirato)
P(3HB-co-3HHx)	poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxihexanoato)
P(3HB-co-3HV)	poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato)
P(3HHx)	poli(3-hidroxihexanoato)
P(3HO)	poli(3-hidroxi octanoato)
P(3HV)	poli(3-hidroxivalerato)
P(4HB)	poli(4-hidroxibutirato)
PHA	polihidroxialcanoato
PHA-scl	polihidroxialcanoato de cadena corta (<i>short-chain length</i> PHA)
PHA-mcl	polihidroxialcanoato de cadena media (<i>medium-chain length</i> PHA)
PHB	polihidroxibutirato
PHBV	polihidroxibutirato-co-valerato
PLA	poli(ácido láctico)
PPi	pirofosfato inorgánico

1.- INTRODUCCIÓN

Los plásticos derivados del petróleo tienen cualidades altamente versátiles como ligereza, robustez, durabilidad y resistencia a la degradación. Se han convertido en materiales valiosos para la vida moderna, sustituyendo con éxito a otros muchos materiales en una amplia gama de aplicaciones en diversos campos como: el doméstico, médico, e industrial, en forma de engranajes desechables, envases, muebles, marcos de maquinaria o accesorios en general (Khanna y Srivastava, 2009).

Sin embargo, la enorme expansión en la producción de plásticos convencionales procedentes de fuentes petroquímicas, y los residuos que su consumo producen, están teniendo un impacto muy significativo tanto visible como invisible en el medio ambiente y la sociedad. La eliminación inadecuada de los plásticos ha amenazado el entorno natural en todo el mundo desde hace mucho tiempo (Webb y cols., 2012).

Los métodos utilizados para la eliminación de materiales plásticos son un reto y todavía se está a la espera de encontrar la solución ideal. Se ha intentado atacar la problemática de la acumulación de plásticos en el medio ambiente a través de procesos de incineración, reciclaje, fotodegradación o reúso. Sin embargo estas medidas presentan ciertas desventajas por lo que no se consideran totalmente efectivas (Khanna y Srivastava, 2005). Así, en los vertederos, las tasas de degradación son tremendamente lentas, mientras que la incineración genera subproductos tóxicos y es costosa. El reciclaje se puede hacer, pero es un proceso que consume mucho tiempo y también causa alteración en las propiedades de los materiales plásticos. La clasificación de una amplia gama de material plástico desechado es muy difícil. Además, la presencia de aditivos tales como revestimientos, cargas y pigmentos limita el uso de material reciclado (Castilho y cols., 2009).

Desde hace ya algunas décadas los problemas relacionados con la acumulación de plásticos no biodegradables procedentes del petróleo en el medio ambiente, y el rápido agotamiento de los recursos naturales que se utilizan en su producción, han motivado la investigación de alternativas a los polímeros no degradables. En tal escenario, los plásticos biodegradables ofrecen la mejor solución al peligro ambiental planteado por los plásticos convencionales (Muhammadi y cols., 2015).

Entre los plásticos biodegradables, los polihidroxicanoatos (PHA) son uno de los más prometedores, debido a que presentan características muy interesantes como biodegradabilidad, sostenibilidad y respeto con el medio ambiente (Salehizadeh y Van Loosdrecht, 2004). Son completamente degradados a agua y dióxido de carbono en condiciones aeróbicas y a metano bajo condiciones anaeróbicas por microorganismos del suelo, mar, agua de lagos y aguas residuales (Khanna y Srivastava, 2005).

El interés sobre los PHA ha aumentado enormemente durante la última década debido a que, además de ser biodegradables y biocompatibles, se pueden obtener a partir de recursos renovables (Harding y cols., 2007).

Los PHA son polímeros de ácidos hidroxicanoicos que algunas bacterias, arqueas y microalgas sintetizan y acumulan intracelularmente como material de reserva, para usarlo posteriormente como fuente de carbono y energía. Estos polímeros se acumulan en forma de gránulos en el citoplasma microbiano, y una vez extraídos y purificados presentan propiedades físicas similares a los plásticos derivados del petróleo. Los plásticos preparados a partir de PHA son, por lo tanto, plásticos biodegradables de origen microbiano, similares a los derivados del petróleo pero producidos a partir de fuentes de carbono renovables, y que tienen un gran potencial de uso en aplicaciones que van desde la manufactura de productos desechables de uso común, hasta la de productos biomédicos y farmacéuticos de alto valor añadido (González y cols., 2013).

El poli(3-hidroxibutirato) conocido como polihidroxibutirato (PHB), fue el primer PHA en ser identificado en 1926 por Maurice Lemoigne en la bacteria *Bacillus megaterium*, que mostró gránulos intracelulares. El PHB fue el primer PHA en ser descubierto y también el más ampliamente estudiado y mejor caracterizado (Khanna y Srivastava, 2005).

Hoy en día hay aproximadamente 150 monómeros, con estructuras muy diversas, constituyentes de polihidroxicanoatos. Se han documentado más de 90 géneros (Zinn y cols., 2001) y más de 300 especies de microorganismos productores de PHA, principalmente bacterias, que emplean como fuente de carbono para dicha producción sustratos que van desde carbohidratos, lípidos y proteínas, hasta compuestos aromáticos, residuos agroindustriales y gases (González y cols., 2013).

2.- OBJETIVOS

El propósito de este trabajo de revisión bibliográfica ha sido aportar una visión actual acerca de los conocimientos existentes sobre los polihidroxialcanoatos desde el punto de vista de su obtención y aplicaciones. Así, los objetivos generales de este trabajo de fin de grado son:

- Conocer cómo y de dónde se pueden obtener los polihidroxialcanoatos.
- Conocer las aplicaciones actuales de los polihidroxialcanoatos y su potencial en aplicaciones futuras.

Para ello fue necesario establecer unos objetivos específicos, que son:

- Conocer los principales tipos de PHAs y sus estructuras.
- Estudiar las principales rutas biosintéticas y los factores influyentes en la biosíntesis de los PHAs.
- Estudiar cómo se lleva a cabo la producción de PHAs.
- Conocer los organismos capaces de producir PHAs.

3.- METODOLOGÍA

La metodología seguida para la elaboración del presente trabajo de revisión bibliográfica consistió en la recopilación de información, analizándola y seleccionándola acorde a los objetivos del trabajo. A continuación, se organizó y sintetizó la información con el fin de proporcionar una visión más clara y concisa, a la vez que crítica y reflexiva, de la obtención y aplicaciones de los polihidroxicanoatos.

En cuanto a la búsqueda y a la localización de la información científica, se han utilizado recursos electrónicos multidisciplinares como Fama, Google académico y Scopus; y recursos especializados como la base de datos especializada en ciencias de la salud PubMed, y la base de datos especializada en química Scifinder.

Para la recopilación de dicha información, se utilizaron palabras claves en inglés con el fin de concretar el rango de búsqueda. Las palabras clave utilizadas fueron: “polyhydroxyalkanoates”, “synthesis”, “application”, y “bioplastics”. En el recurso electrónico Scopus, por ejemplo, inicialmente se buscaron publicaciones mediante la opción que viene por defecto: título del artículo, resumen, palabras claves; y no se limitó en ningún rango de fechas. Con las primeras búsquedas se obtuvieron las siguientes cifras de documentos publicados:

Palabras usadas en la búsqueda	Resultados de la búsqueda
Polyhydroxyalkanoates	2644
Synthesis polyhydroxyalkanoates	707
Application polyhydroxyalkanoates	581
Bioplastics	138

Las búsquedas posteriores se filtraron por fechas con el fin de reducir el número de documentos encontrados, prestando especial atención a las publicaciones comprendidas en los últimos cinco años. Asimismo, la revisión bibliográfica que se presenta en este TFG se complementa con la información encontrada en los

antecedentes comentados en las referencias bibliográficas que se utilizaron como relevantes, útiles o interesantes de las publicaciones encontradas en la búsqueda.

Principalmente se han estudiado aquellos documentos relacionados con los temas centrales del trabajo, obtención y aplicaciones de los polihidroxicanoatos. Lo que conllevó a estudiar las publicaciones científicas relacionadas con los microorganismos implicados en su síntesis, los diferentes sustratos empleados, rutas de biosíntesis, métodos de producción y extracción, y las aplicaciones que estos bioplásticos tienen actualmente en el mercado o podrían tener en el futuro. Además, se consideró importante, al ser un tema de investigación actual, obtener una visión de la evolución histórica sobre el interés que ha suscitado este tipo de bioplástico. A continuación, a modo de ejemplo, se muestra una gráfica en la que se representa el número de publicaciones sobre polihidroxicanoatos por año, desde el año 1990 hasta el año 2016. Puede observarse que el número de publicaciones sobre polihidroxicanoatos ha ido progresivamente en aumento, concentrándose el mayor número de ellas en los últimos 7 años, alcanzando su punto álgido en el año 2014 con 302 publicaciones (Figura 1).

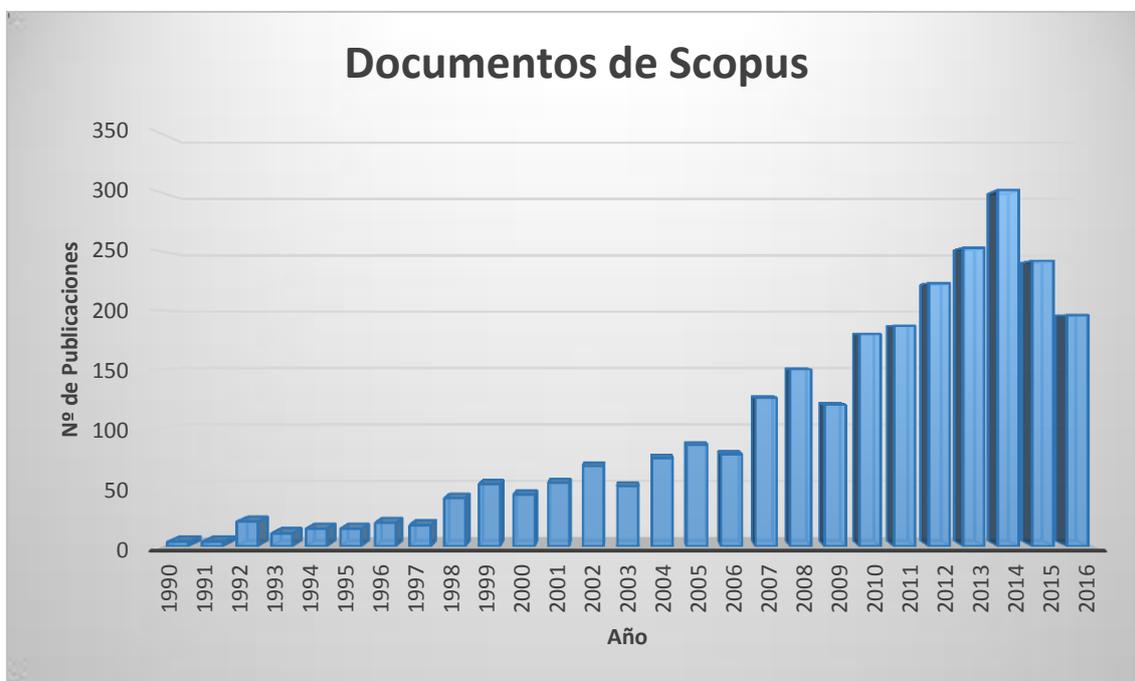


Figura 1. Número de publicaciones sobre polihidroxicanoatos por año en el recurso electrónico Scopus.

4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. BIOPOLÍMEROS Y POLÍMEROS BIODEGRADABLES

La progresiva acumulación de desechos sólidos es un problema global que comenzó a advertirse en el siglo pasado. Uno de los materiales de desecho más persistentes son los plásticos, que pueden permanecer en la superficie terrestre, prácticamente inalterables, durante muchos años. La actual preocupación por los problemas ambientales, y en particular los causados por la acumulación de plásticos procedentes del petróleo, ha contribuido al desarrollo de alternativas para su reducción, como es la sustitución de éstos por polímeros biodegradables.

Los polímeros biodegradables pueden clasificarse de acuerdo con su origen en: (a) Polímeros sintéticos, (b) Polímeros naturales, y (c) Polímeros microbiológicos. Los polímeros de origen sintético son obtenidos por reacciones de polimerización de monómeros procedentes de derivados del petróleo o de fuentes naturales renovables. Ofrecen ciertas ventajas sobre los polímeros naturales al poseer una mayor versatilidad en sus propiedades físicas, así como en la velocidad de degradación. Son susceptibles al ataque enzimático o microbiano, pero sus propiedades, en general, no se ajustan a las propiedades que presentan los materiales plásticos convencionales, por lo que, no suelen ser comercialmente viables como sustitutos de los plásticos derivados del petróleo. Por otro lado, los polímeros de origen natural y los polímeros de origen microbiológico son muy interesantes debido, entre otras características, a su excelente biocompatibilidad, aunque también pueden presentar propiedades indeseables como por ejemplo, la antigenicidad y variación en los lotes.

En el presente trabajo de fin de grado, estamos particularmente interesados en los poli(hidroxicanoatos) (PHAs) que son un tipo de polímero que está clasificado dentro de los llamados biopolímeros. Un biopolímero es un polímero obtenido a partir de materiales renovables de origen biológico, siendo polimerizado bien por métodos químicos o biológicos. Así, los biopolímeros los podemos dividir en tres grandes grupos: (a) Polímeros bio-quimiosintéticos, (b) Polímeros biosintéticos, (c) Polímeros naturales modificados (**Tabla 1**).

Tabla 1. Tipos de biopolímeros

Categoría	Ejemplos	Obtención	Biodegradabilidad
POLÍMEROS BIO- QUIMIOSINTÉTICOS	<ul style="list-style-type: none"> • Poli(ácido láctico) (PLA) • Poli (succinato de butileno) • Alcohol polivinílico • Poli(ácido glicólico) • Politioésteres 	Síntesis del monómero biológica y polimerización química	Degradación hidrolítica. Excepciones: <ul style="list-style-type: none"> • PLA cristalino • Politioésteres
POLÍMEROS BIOSINTÉTICOS	<ul style="list-style-type: none"> • Polihidroxicanoatos 	Biosíntesis del polímero por microorganismos	Degradación enzimática y/o hidrolítica
POLÍMEROS NATURALES MODIFICADOS	<ul style="list-style-type: none"> • Polímeros a base de almidón • Derivados de celulosa • Proteínas 	Modificación química del polímero natural	Degradación enzimática Excepciones: <ul style="list-style-type: none"> • Derivados de celulosa

Son polímeros bio-quimiosintéticos, por ejemplo, el poli(ácido láctico) (PLA), poli (succinato de butileno), alcohol polivinílico, poli(ácido glicólico) y politioésteres. En los polímeros bio-quimiosintéticos, los monómeros se sintetizan biológicamente y se polimerizan químicamente. En el caso del PLA, los monómeros de ácido láctico son producidos por fermentación microbiana, y son polimerizados químicamente en PLA. Los polímeros biosintéticos son los llamados bioplásticos o polímeros de origen natural, como son los PHAs. Los PHAs son producidos completamente por procesos biológicos, ya que, todo el proceso de biosíntesis, tanto la producción de monómeros como la polimerización, se produce en las células microbianas. A diferencia de los anteriores, los polímeros naturales tales como polímeros a base de almidón y derivados de celulosa, necesitan ser modificados químicamente y/o físicamente para mejorar tanto la estructura del polímero, como las propiedades térmicas y mecánicas (Hoover y cols. 2010).

Sin embargo, no todos los biopolímeros son biodegradables. Algunos de los biopolímeros tales como PLA cristalino, derivados de celulosa, y polioésteres no son biodegradables (Sudesh e Iwata, 2008). Los polímeros biodegradables pueden ser degradados por hidrólisis y/o enzimáticamente, produciéndose la rotura de los enlaces que mantienen unidos los monómeros en el polímero (Nair y Laurencin, 2007).

Los plásticos biodegradables a partir de almidón están formados por una mezcla de almidón y de plástico, por ejemplo almidón-polietileno. Los microorganismos del suelo degradan el almidón fácilmente, rompiendo así la matriz polimérica y reduciendo significativamente el tiempo de degradación. Sin embargo, este tipo de plástico es sólo parcialmente degradable, ya que los compuestos que quedan después de la degradación del almidón son recalcitrantes y permanecen en el medio ambiente durante un largo periodo de tiempo (Khanna y Srivastava, 2005).

Los PHAs son los únicos polímeros 100% biodegradables. Pueden ser biodegradados por una amplia variedad de microorganismos ubicuos en muchos ecosistemas, tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas, sin formar productos tóxicos (González y cols., 2013).

Los PHAs se presentan como una buena alternativa a los plásticos derivados del petróleo debido a que, pueden ser obtenidos a partir de materias primas renovables, y posteriormente, pueden ser degradados por completo tanto por los propios organismos que los producen, como por otras bacterias, algas y hongos. Además, los PHAs son polímeros termoplásticos que tienen propiedades similares a los plásticos clásicos derivados del petróleo, de manera que pueden ser utilizados en su lugar.

4.2. ESTRUCTURA Y CLASIFICACIÓN DE PHA

Como ya se ha mencionado previamente, los polihidroxialcanoatos son polímeros de ácidos (*R*)-hidroxialcanoicos ((*R*)-HA) que numerosos microorganismos acumulan intracelularmente como material de reserva de carbono, energía y poder reductor (Khanna y Srivastava, 2005).

Los polímeros PHAs se forman por la acción de enzimas intracelulares y son acumulados en el citoplasma microbiano en forma de gránulos insolubles en agua,

líquidos y móviles de diferentes tamaños. Como puede apreciarse en la **Figura 2**, los gránulos de PHA se encuentran rodeados de una membrana consistente en una monocapa de fosfolípidos que contiene enzimas polimerasas y despolimerasas (Wang y Lee, 1997).

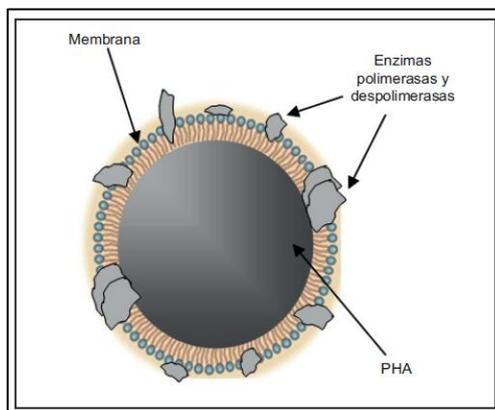


Figura 2. Esquema del gránulo de PHA.

La polimerización se produce por reacción de la función ácido carboxílico de un monómero de ácido hidroxialcanoico con la función hidroxilo del monómero siguiente, formando un enlace tipo éster. Por ello, estos polímeros también son conocidos como poliésteres, concretamente como biopoliésteres (Khanna y Srivastava, 2005). La estructura general de la unidad repetitiva de estos polímeros se muestra en la **Figura 3**.

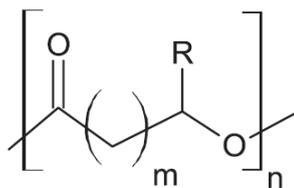


Figura 3. Unidad repetitiva general de los PHAs.

Actualmente, podemos encontrar alrededor de 150 monómeros distintos en las estructuras de los polihidroxialcanoatos. Pueden poseer estructuras muy diversas como: lineal, ramificada, saturada, insaturada y aromática (Zinn y cols., 2001).

En la **Tabla 2** se muestran algunos ejemplos de la variedad de monómeros que pueden presentar los PHAs. Se indica el nombre y la abreviatura que recibe el monómero, el número de átomos de carbono por los que están constituidos y los valores de “m” y del grupo radical (R) en la unidad repetitiva general (Lee, 1996).

Tabla 2. Algunos monómeros constituyentes de PHAs.

Abreviatura	Nombre del monómero	m	R	Tamaño de la cadena (Nº de carbonos)
3HP	Ácido 3-hidroxiopropiónico	1	Hidrógeno	3
3HB	Ácido 3-hidroxiбутírico	1	Metilo	4
3HV	Ácido 3-hidroxiivalérico	1	Etilo	5
3HHx	Ácido 3-hidroxihexanoico	1	Propilo	6
3HO	Ácido 3-hidroxiocetanoico	1	Pentilo	8
4HB	Ácido 4-hidroxiбутírico	2	Hidrógeno	4
4HV	Ácido 4-hidroxiivalérico	2	Metilo	5

Los PHAs pueden ser homopolímeros, si están constituidos por el mismo monómero, o copolímeros si están formados por dos o más unidades monoméricas distintas.

Los polihidroxicanoatos se clasifican tradicionalmente, de acuerdo con el número de carbonos que componen la unidad repetitiva, en PHA de cadena corta y PHA de cadena media. Los PHAs de cadena corta o PHA-scl (“short-chain length PHA”) son polímeros formados por unidades monoméricas de 3 a 5 átomos de carbono, mientras que los PHAs de cadena media o PHA-mcl (“medium-chain length PHA”) proceden de unidades monoméricas de 6 a 14 átomos de carbono. También existen PHA mixtos o híbridos que comprenden unidades monoméricas tanto de cadena corta como de cadena media (Anderson y Dawes, 1990).

Algunos ejemplos de PHAs de cadena corta son los homopolímeros poli(3-hidroxiбутirato) P(3HB), poli(3-hidroxiivalerato) P(3HV), y poli(4-hidroxiбутirato) P(4HB), obtenidos por polimerización de los monómeros 3HB, 3HV, y 4HB, respectivamente (**Figura 4**). También es un PHA de cadena corta el copolímero poli(3-hidroxiбутirato-co-3-hidroxiivalerato) P(3HB-co-3HV) preparado por copolimerización de los monómeros 3HB y 3HV.

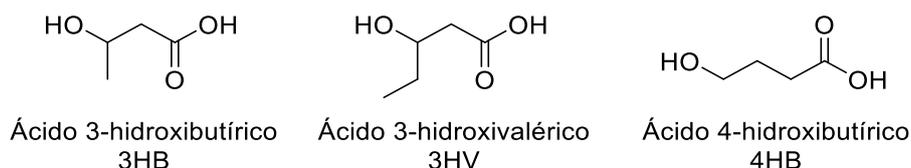


Figura 4. Estructuras químicas de diferentes monómeros constituyentes de PHAs de cadena corta.

Los homopolímeros poli(3-hidroxihexanoato) P(3HHx), y poli(3-hidroxi octanoato) P(3HO), cuyas unidades monoméricas se muestran en la **Figura 5**, son ejemplos de PHAs de cadena media.

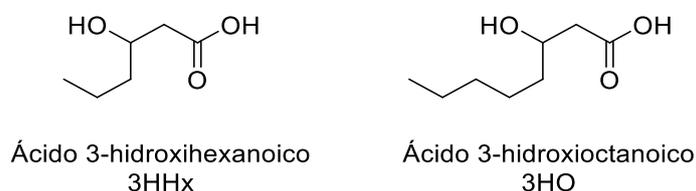


Figura 5. Algunos monómeros constituyentes de PHAs de cadena media.

Como se ha mencionado anteriormente también existen PHAs híbridos, este es el caso del copolímero poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxihexanoato) P(3HB-co-3HHx). Este polímero se ha preparado por copolimerización del monómero 3HB de cadena corta (**Figura 4**) con el monómero 3HHx de cadena media (**Figura 5**). El que se forme un tipo de PHA u otro, dependerá del microorganismo en cuestión, la mayoría producirán PHAs de cadena corta o PHAs de cadena media, y solo una pequeña parte será capaz de producir PHAs mixtos. La formación de homopolímeros o copolímeros también dependerá del microorganismo del que se trate y de las fuentes de carbono empleadas (Anderson y Dawes, 1990).

4.3. OBTENCIÓN

4.3.1. BIOSÍNTESIS DE PHAs

Los organismos capaces de sintetizar PHAs también son capaces de degradarlos para usarlos como fuente de carbono y energía. Como se ha dicho anteriormente, los

gránulos de PHAs contienen enzimas polimerasas y despolimerasas. De manera que estos organismos presentan vías de síntesis y de degradación de PHAs, y además presentan vías para su utilización, existiendo así un ciclo de PHA (**Figura 6**). La PHA sintasa o polimerasa de PHA es la enzima clave responsable de la polimerización de monómeros de (*R*)-hidroxialcanoil-CoA ((*R*)-HA-CoA), con la correspondiente liberación de una molécula de coenzimaA (CoA).

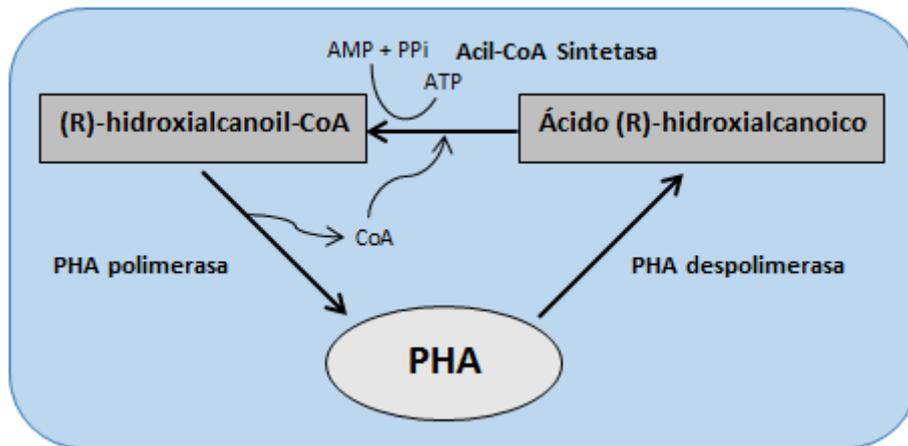


Figura 6. Ciclo del PHA.

Hay diferentes sintasas de PHA diferenciándose por su estructura primaria, composición de las subunidades y especificidad de sustrato. Existen cuatro clases de PHA sintasas (**Tabla 3**). Las clases I y II son enzimas que consisten en una única subunidad (PhaC). Según su especificidad de sustrato, la sintasa de clase I polimeriza preferentemente monómeros de cadena corta, de 3 a 5 átomos de carbono, mientras la de clase II polimeriza monómeros de cadena media, de 6 a 14 átomos de carbono. La PHA sintasa de clase III posee dos tipos de subunidades diferentes la PhaC y la PhaE, y generalmente tiene preferencia por monómeros de cadena corta. La PHA sintasa de clase IV también posee la subunidad PhaC, pero en lugar de la PhaE como las de clase III, presentan la PhaR, y muestran una preferencia de sustrato similar a las de clase III (Rehm, 2003). Que esté presente una clase u otra de PHA sintasa dependerá del tipo de microorganismo del que se trate.

Tabla 3. Tipos de PHAs Sintetas.

Clase	Subunidad	Preferencia de sustrato
I	PhaC	Monómeros de cadena corta
II	PhaC	Monómeros de cadena media
III	PhaC, PhaE	Monómeros de cadena corta
IV	PhaC, PhaR	Monómeros de cadena corta

Habitualmente para la biosíntesis de PHA se utilizan azúcares y ácidos grasos como fuentes de carbono. En función de la fuente de carbono utilizada, hay varias rutas biosintéticas de PHA. Las más conocidas son tres rutas que provienen de tres vías metabólicas de la célula: degradación de carbohidratos, degradación de ácidos grasos o β -oxidación, y/o biosíntesis de ácidos grasos.

En general, el proceso metabólico para la síntesis de PHA de cadena corta comienza a partir del Acetil-CoA en una secuencia de tres reacciones, donde están implicadas las enzimas: (a) β -cetotiolasa, (b) acetoacetyl-CoA reductasa, (c) PHA sintasa. Esta ruta I es la más conocida entre las vías de biosíntesis de PHA, y se basa en la vía de degradación de carbohidratos a partir de la cual se obtiene acetil-CoA (**Figura 7**).

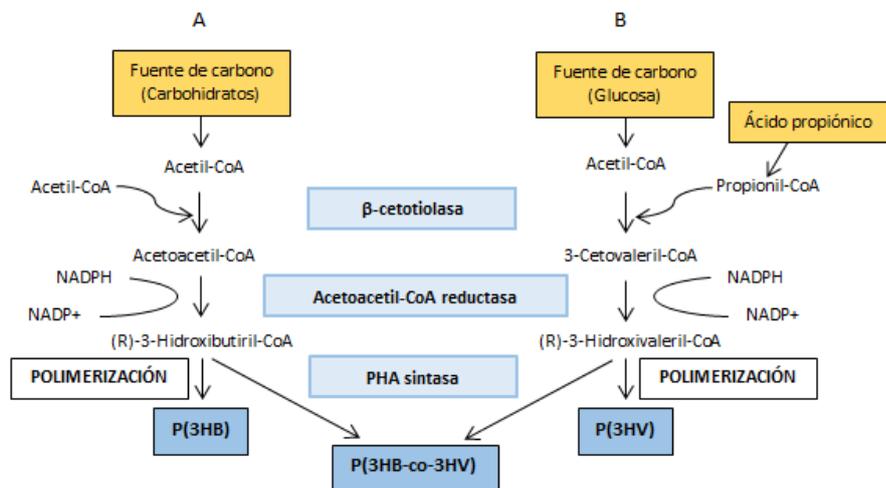


Figura 7. Ruta I. Síntesis de PHAs de cadena corta.

Como se indicó previamente, el P(3HB) es el PHA más estudiado, y por ello su ruta de biosíntesis ha sido descrita en detalle. A través de esta ruta, la enzima β -cetotiolasa condensa dos moléculas de acetil-CoA para formar acetoacetil-CoA. La enzima acetoacetil-CoA reductasa dependiente de NADPH actúa sobre el acetoacetil-CoA para formar (*R*)-3-hidroxiacil-CoA. Por último, la PHA sintasa cataliza la polimerización a través de la esterificación de monómeros de (*R*)-3-hidroxiacil-CoA en P(3HB) (Anjum y cols., 2016). Las tres enzimas implicadas en la síntesis de P(3HB) se encuentran en el citosol de la célula donde se produce la acumulación de este biopolímero (Anderson y cols., 1990).

La estructura del monómero depende de los sustratos empleados como fuente de carbono. Las variaciones en las fuentes de carbono pueden dar lugar a la síntesis de diferentes monómeros de cadena corta, formando así PHA distintos. Por ejemplo, un copolímero compuesto de 3HB y 3HV [P(3HB-*co*-3HV)] se puede obtener por adición de ácido propiónico en medios conteniendo glucosa. En esta ruta biosintética, la β -cetotiolasa media la condensación de propionil-CoA con acetil-CoA en 3-cetovaleril-CoA, que se reduce a continuación a (*R*)-3-hidroxiacil-CoA mediante la enzima acetoacetil-CoA reductasa. Finalmente, se produce la copolimerización dando P(3HB-*co*-3HV) (Poirier, 2002).

A través de las vías involucradas en el metabolismo de los ácidos grasos, pueden sintetizarse PHAs de cadena media. Las rutas biosintéticas II y III (**Figura 8**) generan, mediante la β -oxidación y la biosíntesis de ácidos grasos respectivamente, intermediarios de los cuales se obtienen monómeros, que pueden polimerizarse en PHA de cadena media. En la ruta II, la enzima enoil-CoA hidratasa (*R*) específica cataliza la hidratación del intermediario (*R*)-2-enoil-CoA, para formar (*R*)-3-hidroxiacil-CoA, que posteriormente se polimeriza en P(3HHx). En la ruta III, el intermediario (*R*)-3-hidroxiacil-ACP, por la acción de la enzima acil-ACP-CoA transacilasa, se convierte en (*R*)-3-hidroxiacil-CoA, que es polimerizado en P(3HHx). A partir de estas rutas también puede sintetizarse el copolímero P(3HB-*co*-3HHx) (Tsuge y cols., 2003).

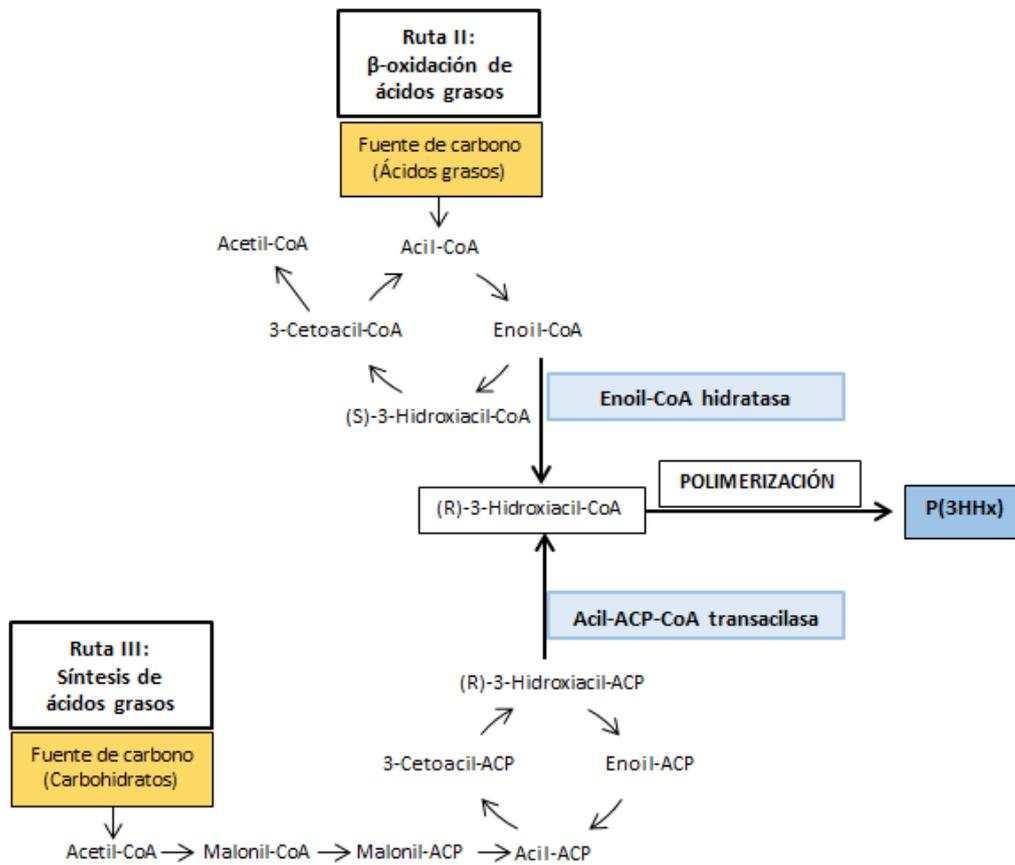


Figura 8. Ruta II y ruta III para la síntesis de PHAs de cadena media.

Las rutas biosintéticas de monómeros de PHA dependen y/o compiten con vías metabólicas importantes de la célula tales como el Ciclo de Krebs, biosíntesis de ácidos grasos y β-oxidación de ácidos grasos (**Figura 9**). Las rutas biosintéticas de PHAs necesitan precursores, como metabolitos centrales tales como acetil-CoA y cofactores como NADPH. El destino del acetil CoA es importante en la síntesis de PHA, pudiendo ser utilizado como sustrato para la síntesis del polímero o bien oxidado vía el ciclo de Krebs. Normalmente, la síntesis y la acumulación de estos biopolímeros se producen durante la limitación de un nutriente esencial y en presencia de una fuente de carbono en exceso. Estas condiciones no son favorables para el crecimiento de la célula, por ello se sintetizan y acumulan estos polímeros como material de reserva. Cuando hay limitación de algún nutriente, diferente al carbono, el acetil-CoA es dirigido hacia la biosíntesis de PHA. Sin embargo, durante el crecimiento la Co-A libre inhibe a la enzima β-cetotiolasa y el flujo de acetil-CoA se favorece hacia el ciclo de Krebs (Ratledge y Kristiansen, 2001). Asimismo, como se ha mencionado anteriormente, los intermediarios para la biosíntesis de PHA de cadena media provienen de las vías de

biosíntesis de ácidos grasos y β -oxidación de ácidos grasos, por lo que pueden ser utilizados en estas vías o para la síntesis de PHAs.

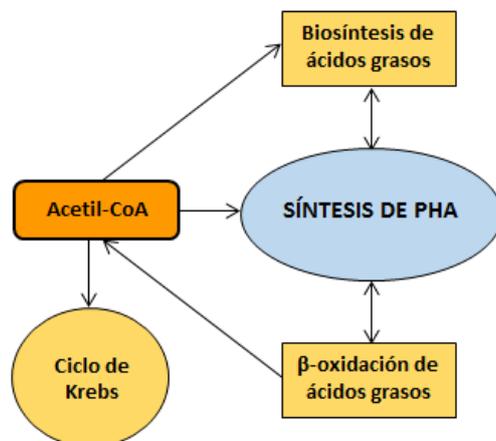


Figura 9. Relación entre vías importantes de la célula y la síntesis de PHA.

En la biosíntesis de PHA intervienen diversos factores que determinan la composición monomérica. La composición de los monómeros varía en función de la clase de PHA sintasa que contenga el microorganismo empleado, y de los precursores, que a su vez dependen de los sustratos utilizados como fuentes de carbono y de las vías metabólicas activas en la célula. Por lo tanto, estos factores van a determinar el tipo de PHA producido.

4.3.2. PRODUCCIÓN DE PHAs

En general, la producción de los PHAs consiste en tres etapas: (a) Fermentación, (b) Extracción o recuperación, (c) Purificación. En el proceso de fermentación se produce el crecimiento de la biomasa y se sintetiza y acumula el polímero. Posteriormente, se extrae y recupera el polímero de las células, y finalmente se lleva a cabo la purificación del mismo.

Son muchas las bacterias capaces de sintetizar y acumular estos biopolímeros, por ello numerosas investigaciones se han centrado en estudiar los procesos y sistemas de cultivo de éstas, y las influencias de diversos factores tales como la temperatura óptima, pH, sustrato y medio de crecimiento, con el fin de aumentar los rendimientos en el proceso de fermentación. La estrategia de alimentación es muy importante para obtener una alta densidad celular y una alta producción de PHA.

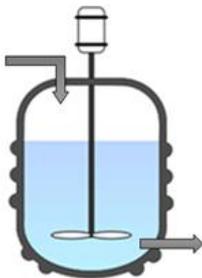
La elección de fuentes de carbono adecuadas es un factor importante que determina el rendimiento global del proceso de fermentación e influye significativamente en el coste del producto final. Por lo tanto, lo recomendable es elegir sustratos baratos, fácilmente disponibles y renovables, y que a su vez apoyen el crecimiento microbiano de manera eficiente. Son muchas las investigaciones respecto a los posibles sustratos que pueden utilizarse para la producción de PHAs. Se han utilizado una amplia gama de sustratos tales como subproductos industriales, productos de residuos agrícolas y domésticos, materias primas lignocelulósicas, grasas y aceites, glicerol, azúcares y aguas residuales (Anjum y cols., 2016).

Como se ha comentado previamente, generalmente para la síntesis de PHA las bacterias necesitan la limitación de un nutriente esencial como nitrógeno, fósforo, azufre, magnesio u oxígeno, y un exceso de fuente de carbono. El agotamiento del nutriente actúa como un desencadenante para el cambio metabólico hacia la biosíntesis de PHA. Algunos ejemplos son las bacterias *Ralstonia eutropha*, *Pseudomonas extorquens* y *Pseudomonas oleovorans*. (Khanna y Srivastava, 2005).

Sin embargo, aunque es menos frecuente, también hay bacterias que no requieren limitación de nutrientes para la síntesis de PHA y que son capaces de acumular el polímero durante el crecimiento de las células. En este grupo se incluyen *Alcaligenes latus*, *Azotobacter vinelandii* recombinante y *E. coli* recombinante, entre otras (Braunegg y cols., 1998).

Se ha observado que puede alcanzarse una alta producción de PHA mediante *cultivo continuo* o *cultivo por lote alimentado*. En el cultivo continuo hay una entrada continua de nutrientes y un flujo salida continuo, en cambio en el cultivo por lote alimentado hay una entrada continua de nutrientes, pero no un flujo de salida continuo (**Figura 10**). El método más empleado es el cultivo por lote alimentado. En el cultivo de bacterias con producción de PHA asociada al crecimiento, se utiliza un sistema de lote alimentado en una sola etapa

A: Cultivo continuo



B: Cultivo por lote alimentado

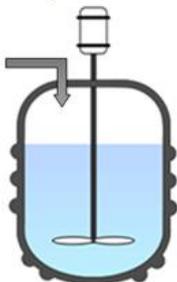


Figura 10.
Esquema de cultivos

en la que se proporciona un medio enriquecido en nutrientes. En cambio para el cultivo de bacterias que requieren la limitación de algún nutriente esencial, el método más empleado es el cultivo por lote alimentado en dos etapas. La primera etapa se lleva a cabo en un medio enriquecido en nutrientes para favorecer el crecimiento celular, y en la segunda etapa se limita la concentración total o parcial de un nutriente esencial para promover la síntesis de PHA. En esta segunda etapa, el incremento en biomasa se debe a la acumulación intracelular del polímero (Khanna y Srivastava, 2005).

También se han estudiado métodos de cultivos mixtos por lote alimentado en dos etapas, en los que se usan dos tipos de microorganismos diferentes. Uno de los microorganismos transforma la fuente de carbono barata en sustratos asimilables para que el otro microorganismo los utilice para producir PHA (Tanaka y cols., 1993)

Después del proceso de fermentación, para la recuperación de la biomasa, el caldo de cultivo se centrifuga y la biomasa precipitada se filtra. Para la extracción del polímero del interior de las células se usan normalmente disolventes clorados, especialmente por reflujo con cloroformo. Debido a que los disolventes clorados son altamente agresivos para el medio ambiente y para la salud humana, se han desarrollado otros procesos de extracción basados en el uso de carbonato de etileno o de propileno, así como metodologías de digestión química que se basan en la liberación del polímero mediante la ruptura de las células usando soluciones de hipoclorito de sodio, ácidos o bases. Una vez añadido el disolvente, la solución resultante se centrifuga y se filtra para eliminar restos de células. Posteriormente, el PHA se precipita normalmente en metanol o etanol y se recupera el polímero por evaporación del disolvente (Fiorese y cols., 2009) **(Figura 11)**.



Figura 11. Trozos de PHB extraído de cultivos bacterianos.

4.3.3. ORGANISMOS PRODUCTORES DE PHAs

Se conocen al menos 75 géneros diferentes de bacterias gram positivas y gram negativas capaces de sintetizar PHAs (Reddy y cols., 2003). Una de las cepas más estudiadas es *Cupriavidus necator*, antes conocida como *Wautersia eutropha*, *Ralstonia eutropha* o *Alcaligenes eutrophus* (Figura 12).

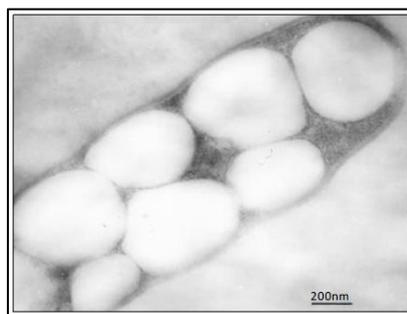


Figura 12. Gránulos de PHB en la bacteria *C. necator*.

Sin embargo, algunas bacterias no son adecuadas para la producción de PHA a escala industrial. Algunas de ellas presentan un crecimiento lento durante el proceso de fermentación o necesitan la utilización de fuentes de carbono concretas, y además poseen vías de degradación y utilización de PHA. Por ello, se están desarrollando cepas genéticamente modificadas para maximizar la producción de estos polímeros y disminuir los costes. Una de las opciones consiste en la introducción de genes de utilización de sustratos de un productor natural de PHA. Otra opción es la introducción de genes de biosíntesis de PHA de una cepa productora en una cepa no productora, pero que es capaz de usar fuentes de carbono renovables eficientemente. Este es el caso de cepas de *E. coli* recombinante con genes de síntesis de PHA de *C. necator* (Lee, 1996). *E. coli* no es capaz de sintetizar ni degradar PHAs, pero puede alcanzar una alta densidad celular en un corto periodo de tiempo, y puede usar una gran variedad de fuentes de carbono (Madison y Huisman, 1999). Por lo tanto, el uso de cepas de *E. coli* recombinante podría generar un mayor rendimiento en la producción de PHA ya que le permitiría acumular grandes cantidades de polímero en menor tiempo y con la posibilidad de usar fuentes de carbono renovables baratas.

Aun así, el coste de producción de PHAs sigue siendo elevado en comparación con los plásticos derivados del petróleo. Es por eso que recientemente se está estudiando

la producción metabólica de PHAs en plantas. La idea es comercialmente atractiva, ya que las plantas podrían ser los candidatos más económicos y respetuosos con el medio ambiente para la producción en masa de PHAs. Las plantas son ecológicamente importantes para mantener el equilibrio de dióxido de carbono atmosférico, y estas podrían usarlo como fuente de carbono para la síntesis de PHAs.

Naturalmente, las plantas superiores no pueden acumular este polímero debido a la ausencia de las enzimas claves involucradas en la biosíntesis de PHA. Sin embargo, en la actualidad es posible producir P(3HB) en plantas transgénicas tales como *Arabidopsis thaliana*, *Gossypium hirsutum* (algodón) y *Zea mays* (maíz) (Hahn y cols., 1995). Se cree que en las plantas transgénicas podrían desarrollarse sistemas de producción de PHA comercialmente viables en el futuro.

Actualmente, los microorganismos proporcionan muchas más posibilidades en cuanto a la variedad en la composición monomérica y en las propiedades de los PHAs. Además, el entorno controlado en un biorreactor, la facilidad de manipulación genética microbiana y la opción de utilizar fuentes de carbono externas distintas del dióxido de carbono, son claras ventajas.

Por otra parte, también se considera de interés, el uso de algas y cianobacterias para la producción de PHAs. Algunas cianobacterias poseen enzimas implicadas en la biosíntesis de PHA y lo acumulan como un producto de almacenamiento de fijación de CO₂. Hay cianobacterias como *Spirulina platensis* que tienen un alto valor nutricional, lo que sugiere que la biomasa celular residual obtenida después de la purificación de PHA puede usarse como alimento para animales (Belay y cols., 1996). Sin embargo, el contenido de PHA encontrado en las cianobacterias es bastante bajo.

4.4. APLICACIONES

La crisis petrolera de los años 70 motivó la investigación sobre los PHAs y la empresa Imperial Chemical Industries (ICI) de Reino Unido comenzó a estudiar su producción. La compañía británica estudió la síntesis de PHB en la bacteria *Ralstonia eutropha* y patentó un copolímero de 3HB y 3HV, el poli(3-hidroxiutirato-co-3-hidroxivalerato), comercializado bajo la marca *Biopol*. Posteriormente, la patente fue

vendida a otras compañías y también ha sido comercializado bajo el nombre de PHBV (Braunegg y cols., 1998). El *Biopol* cuenta con una amplia gama de aplicaciones que van desde objetos desechables de uso cotidiano tales como botellas de champú, vasos y cubiertos, maquinillas de afeitar, forros de pañales y envases en general, hasta productos médicos como suturas y clavos quirúrgicos, o parches de tejidos (**Figura 13**). Un PHA reciente es el *Nodax*, un copolímero formado por 3-hidroxi butirato y una pequeña cantidad de monómeros de cadena media como son 3-hidroxi hexanoato, 3-hidroxi octanoato y 3-hidroxi decanoato. El *Nodax* está disponible como espumas, fibras, películas y látex, entre otros. Otras marcas son *Degra Pol* un uretano-poliéster que contiene 3-hidroxi butirato, ϵ -caprolactona y glicolida, y el *Biogreen* producido de P(3HB) a partir de metanol (Anjum y cols., 2016).



Figura 13. Ejemplos de productos fabricados con *Biopol*.

Los PHAs son biopolímeros termoplásticos, biodegradables, elastoméricos, insolubles en agua e impermeables a gases, por lo que pueden ser usados para todo tipo de material biodegradable. Además de presentar estas características, los PHAs pueden ser obtenidos a partir de fuentes de carbono renovables, lo que hizo que inicialmente sus aplicaciones fueran orientadas a sustituir a los plásticos derivados del petróleo como materiales de empaque y como revestimiento. Propiedades como la baja difusividad de oxígeno y la resistencia al agua los hace útiles para aplicaciones en la industria de empaques y en la industria alimentaria para el envasado de alimentos y para la fabricación de botellas para bebidas, y además, también los hacen candidatos para otros mercados como los de materiales de pesca, construcción e industria agrícola. Debido a su alta resistencia al agua, es posible usarlos en forma de látex acuoso, consistente en una dispersión de partículas del polímero en agua, empleado en el recubrimiento de materiales como papel, cartón o en la fabricación de pinturas, para evitar el deterioro causado por la humedad (Babel y Steinbüchel, 2001) (**Figura 14**).



Figura 14. PHA en forma de látex para recubrimiento y fabricación de pinturas.

En cuanto a las aplicaciones en la industria alimentaria, los PHAs han sido utilizados como aditivos y sustitutos de crema de leche (Anjum y cols., 2016).

En la agricultura los PHA de cadena corta se utilizan en macetas biodegradables (**Figura 15**), tubos de irrigación y matrices para la liberación controlada de factores de crecimiento, pesticidas y plaguicidas, en forma de portadores biodegradables. Así, los compuestos introducidos en un portador de PHA se liberan gradual y lentamente sin sobretensiones, ya que el polímero se degrada poco a poco por la microflora del suelo. Una ventaja en este campo de aplicación es que no se requiere un grado de purificación muy alto del polímero, lo cual puede facilitar el proceso de extracción y hacerlo más económico (Babel y Steinbüchel, 2001).



Figura 15. Maceta biodegradable de PHB.

Una característica que hace a los PHAs muy interesantes es la biocompatibilidad que se caracteriza por la ausencia de compuestos tóxicos generados durante la degradación del polímero, así como por la forma y porosidad de la superficie del material (Anjum y cols., 2016). Muchos PHAs son biocompatibles, algunos productos de su degradación como los 3-hidroxiácidos se encuentran de manera natural en una amplia gama de organismos, desde bacterias hasta mamíferos. Se ha comprobado que el producto de degradación del PHB, el ácido (*R*)-3-hidroxibutírico, es un constituyente normal de la sangre y se encuentra en la membrana celular de Eucariotas. Debido a su

biocompatibilidad, actualmente los PHAs han sido usados como sistemas para la liberación controlada de fármacos y hormonas (Muhammadi y cols., 2015).

En el campo médico los PHAs tienen muy diversas aplicaciones. Los PHA pueden proporcionar un soporte tridimensional para el crecimiento celular y luego degradarse dejando tejido viable. Especialmente P(3HB), P(3HB-3HV), P(4HB), P(3HO) y P(3HB-3HHx) se utilizan con frecuencia en ingeniería de tejidos. También son usados como materiales de osteosíntesis en la estimulación del crecimiento óseo o de fijación para la formación de hueso. Cuando este material se implanta en el cuerpo se hidroliza en metabolitos biocompatibles. Así, se utilizan frecuentemente en el tratamiento dental, maxilofacial y en fracturas óseas en general, en forma de placas. También son ampliamente utilizados como suturas quirúrgicas, apósitos para heridas y conductos nerviosos artificiales, entre otros. La mayor contribución de los PHAs a la medicina ha sido en el área cardiovascular en forma de parches de reparación del pericardio y del tabique auricular, andamios para la regeneración de los tejidos arteriales, injertos vasculares, stents cardiovasculares y válvulas cardíacas (Anjum y cols., 2016). Se ha propuesto usarlos para fabricar jeringas desechables y lubricantes para guantes de cirugía, gasas y grapas.

La mayoría de los monómeros constituyentes de PHAs son quirales, es decir, presentan un carbono unido a cuatro grupos o sustituyentes diferentes, presentando la configuración R. Así, estos monómeros quirales pueden servir como materia prima en la industria farmacéutica como precursores quirales para la síntesis de nuevas moléculas. Por ejemplo, el ácido (*R*)-3-hidroxi-butírico se utiliza en la síntesis del fármaco anti-glaucoma "*Truspot*" (Merck Sharp y Dohme Limited) (**Figura 16**) y en combinación con (*R*)-1,3-butanodiol se utiliza en la síntesis de β -lactamas. Los PHA prometen ser una nueva fuente de moléculas ya que los monómeros obtenidos de su hidrólisis pueden convertirse en moléculas comercialmente atractivas tales como β -hidroxiácidos, ácidos 2-alquenoicos, β -hidroxialcanoles, β -aminoácidos y β -hidroxiácidos. En la actualidad, los β -hidroxiácidos reciben gran atención debido a las posibles aplicaciones como disolventes biodegradables o "disolventes verdes". La conversión de hidroxiácidos en compuestos como 1,3-butanodiol o lactonas, ayudaría

a mejorar el valor de mercado de los PHAs, ya que éstos tienen una gran demanda de mercado (Muhammadi y cols., 2015).

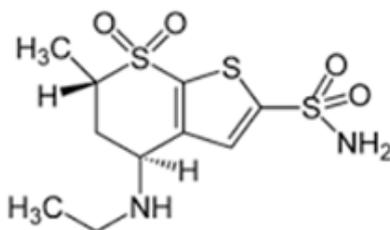


Figura 16. Estructura de la Dorzolamida, principio activo del fármaco *Truspot*.

Los PHA son capaces de absorber y retener aceites por lo que pueden tener aplicación comercial en las industrias de cosméticos y cuidado de la piel (Sudesh y cols., 2007).

Una aplicación prometedora de los PHAs es su uso como sustrato sólido para la desnitrificación del agua y de las aguas residuales. Debido a su capacidad de absorción de aceite, el PHB ha sido probado con éxito para la eliminación de los contaminantes orgánicos liposolubles en el tratamiento de aguas residuales (Muhammadi y cols., 2015).

Los PHAs también se consideran compuestos farmacológicamente activos y actualmente se investiga como posibles fármacos anti-VIH, fármacos contra el cáncer, antibióticos, entre otros (Tan y cols., 2014). Además, los PHA parecen ser potencialmente útiles en el control de patógenos bacterianos en ciertas aplicaciones de acuicultura, tales como en la cría de gambas y camarones (Muhammadi y cols., 2015).

Es posible utilizar PHAs como sensores piezoeléctricos para medir la presión de teclados, la aceleración de instrumentos, ensayos de materiales, detectores ultrasónicos, para la medición de presión de sonido para auriculares, micrófonos, altavoces, para la terapia ultrasónica y la atomización de líquidos (Anjum y cols., 2016).

Actualmente, sus aplicaciones se han centrado en áreas más especializadas como en medicina y farmacia, donde el precio que tienen los PHAs se hace más justificable. Aun así, la gran variedad de monómeros constituyentes de PHAs y los nuevos tipos de

PHA obtenidos por modificación química o física hace que estos posean propiedades tan diversas que los hacen buenos candidatos para un amplio abanico de posibles aplicaciones.

5. CONCLUSIONES

Los efectos nocivos relacionados con la acumulación de plásticos derivados del petróleo ha motivado la investigación sobre los PHAs. Los PHAs presentan ventajas respecto a otros biopolímeros debido a que todo el proceso de biosíntesis se da de manera natural en una gran variedad de microorganismos, son biodegradables, biocompatibles y poseen propiedades similares a plásticos derivados del petróleo. Sin embargo, la principal desventaja es su precio, que es superior al de los plásticos procedentes del petróleo. De este modo, hoy en día las investigaciones se centran en la búsqueda de nuevos PHAs, en reducir los costes de producción y en desarrollar aplicaciones de alto valor agregado.

La búsqueda de nuevos tipos de PHAs se basa en la modificación química o física y en la combinación con otros polímeros, así como en el estudio del uso de las PHAs sintasas para la obtención de PHAs con diferentes estructuras.

Para disminuir los costes de producción, uno de los objetivos es maximizar el proceso de fermentación mediante el uso de microorganismos que puedan obtener una alta densidad celular en poco tiempo, puedan producir y acumular mayores cantidades del polímero, y puedan usar sustratos baratos. Por un lado, se está estudiando el metabolismo y las rutas biosintéticas de los microorganismos productores de PHA y llevando a cabo técnicas de recombinación genéticas. Y por otro lado, se están buscando nuevos organismos productores utilizando cepas y plantas genéticamente modificadas.

Los sustratos empleados como fuente de carbono influyen significativamente en el coste del producto final, por ello, son numerosas las investigaciones utilizando una amplia variedad de sustratos, preferiblemente baratos y fácilmente disponibles, sin que conlleve la necesidad de grandes desplazamientos para no aumentar su coste en el transporte.

Asimismo, también se han estudiado los procesos de extracción y purificación con el fin de obtener mayores cantidades del polímero y minimizar el uso de disolventes tóxicos y de alto coste.

Las aplicaciones de los PHAs se han centrado como material de embalaje y recubrimiento, y actualmente se están centrando más en medicina y farmacia. En medicina han sido ampliamente utilizados teniendo una gran contribución en el área cardiovascular, y en farmacia son utilizados como fuentes de moléculas y como matrices para la liberación controlada de fármacos, hormonas y antibióticos, entre otros. En la actualidad son muchas las investigaciones sobre los posibles usos de los PHAs, siendo estudiados como posibles cosméticos, principios activos, como fuentes de moléculas y para el tratamiento de aguas residuales, entre otros usos.

En definitiva, la obtención y aplicaciones de los PHAs son un tema de investigación actual que está en pleno avance, y si el precio de estos biopolímeros pudiera reducirse sus aplicaciones se verían aumentadas.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Anderson AJ, Dawes EA. Occurrence, metabolism, metabolic role, and industrial uses of bacterial polyhydroxyalkanoates. *Microbiol Rev.* (1990); 54(4): 450-472.
- Anderson AJ, Haywood GW, Dawes EA. Biosynthesis and composition of bacterial poly(hydroxyalkanoates). *Int J Biol Macromol.* (1990); 12(2): 102–105.
- Anjum A, Zuber M, Zia KM, Noreen A, Anjum MN, Tabasum S. Microbial production of polyhydroxyalkanoates (PHAs) and its copolymers: A review of recent advancements. *Int J Biol Macromol.* (2016); 89: 161-174.
- Babel W, Steinbüchel A. Biopolyesters. *Advances in Biochemical Engineering Biotechnology.* 1ª ed. Berlin: Springer-Verlag; 2001. p.342
- Belay A, Kato T, Ota Y. *Spirulina (Arthrospira)*: potential application as an animal feed supplement. *J Appl Phycol.* (1996); 8(4-5): 303-311.
- Braunegg G, Lefebvre G, Genser KF. Polyhydroxyalkanoates, biopolyesters from renewable resources: physiological and engineering aspects. *J Biotechnol.* (1998); 65(2): 127-161.
- Castilho LR, Mitchell DA, Freire DM. Production of polyhydroxyalkanoates (PHAs) from waste materials and by-products by submerged and solid-state fermentation. *Bioresour Technol.* (2009); 100(23): 5996-6009.
- Fiorese ML, Freitas F, Pais J, Ramos AM, de Aragão GM, Reis MA. Recovery of polyhydroxybutyrate (PHB) from *Cupriavidus necator* biomass by solvent extraction with 1, 2-propylene carbonate. *Eng Life Sci.* (2009); 9(6): 454-461.
- González García Y, Contreras Meza JC, González Reynoso O, Córdova López JA. Síntesis y biodegradación de polihidroxialcanoatos: plásticos de origen microbiano. *Rev Int Contam Ambie.* (2013); 29(1): 77-115.
- Hahn SK, Chang YK, Lee SY. Recovery and characterization of poly (3-hydroxybutyric acid) synthesized in *Alcaligenes eutrophus* and recombinant *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol.* (1995); 61(1): 34-39.
- Harding KG, Dennis JS, Von Blottnitz H, Harrison STL. Environmental analysis of plastic production processes: comparing petroleum-based polypropylene and polyethylene with biologically-based poly-β-hydroxybutyric acid using life cycle analysis. *J Biotechnol.* (2007); 130(1): 57-66.

- Hoover R, Hughes T, Chung HJ, Liu Q. Composition, molecular structure, properties, and modification of pulse starches: A review. *Food Res Int.* (2010); 43(2): 399-413.
- Khanna S, Srivastava AK. On-line characterization of physiological state in poly (β -hydroxybutyrate) production by *Wautersia eutropha*. *Appl Biochem Biotechnol.* (2009); 157(2): 237-243.
- Khanna S, Srivastava AK. Recent advances in microbial polyhydroxyalkanoates. *Process Biochem.* (2005); 40(2): 607-619.
- Lee SY. Bacterial polyhydroxyalkanoates. *Biotechnol Bioeng.* (1996); 49(1): 1-14.
- Madison LL, Huisman GW. Metabolic engineering of poly (3-hydroxyalkanoates): from DNA to plastic. *Microbiol Mol Biol Rev.* (1999); 63(1): 21-53.
- Muhammadi, Shabina, Afzal M, Hameed S. Bacterial polyhydroxyalkanoates-eco-friendly next generation plastic: Production, biocompatibility, biodegradation, physical properties and applications. *Green Chem Lett Rev.* (2015); 8(3-4): 56-77.
- Nair LS, Laurencin CT. Biodegradable polymers as biomaterials. *Prog Polym Sci.* (2007); 32(8): 762-798.
- Poirier Y. Polyhydroxyalkanoate synthesis in plants as a tool for biotechnology and basic studies of lipid metabolism. *Prog Lipid Res.* (2002); 41(2): 131-155.
- Ratledge C, Kristiansen B. *Basic Biotechnology*. 2^a ed. Cambridge University Press; 2001. p.325-348.
- Reddy CSK, Ghai R, Kalia V. Polyhydroxyalkanoates: an overview. *Bioresour Technol.* (2003); 87(2): 137-146.
- Rehm BHA. Polyester synthases: natural catalysts for plastics. *Biochem J.* (2003); 376(1): 15-33.
- Salehizadeh H, Van Loosdrecht MCM. Production of polyhydroxyalkanoates by mixed culture: recent trends and biotechnological importance. *Biotechnol Adv.* (2004); 22(3): 261-279.
- Sudesh K, Iwata T. Sustainability of biobased and biodegradable plastics. *Clean.* (2008); 36(5-6): 433-442.
- Sudesh K, Loo CY, Goh LK, Iwata T, Maeda M. The oil-absorbing property of polyhydroxyalkanoate films and its practical application: a refreshing new outlook for an old degrading material. *Macromol Biosci.* (2007); 7(11): 1199–1205.

- Tanaka K, Katamune K, Ishizaki A. Fermentative production of poly- β -hydroxybutyric acid from xylose by a two-stage culture method employing *Lactococcus lactis* IO-1 and *Alcaligenes eutrophus*. *Biotechnol Lett.* (1993); 15(12): 1217-1222.
- Tan GYA, Chen CL, Li L, Ge L, Wang L, Razaad IMN, et al. Start a research on biopolymer polyhydroxyalkanoate (PHA): a review. *Polym.* (2014); 6(3): 706-754.
- Tsuge T, Taguchi K, Taguchi S, Doi Y. Molecular characterization and properties of (*R*)-specific enoyl-CoA hydratases from *Pseudomonas aeruginosa*: metabolic tools for synthesis of polyhydroxyalkanoates via fatty acid β -oxidation. *Int J Biol Macromol.* (2003); 31(4): 195-205.
- Wang F, Lee SY. Production of poly (3-hydroxybutyrate) by fed-batch culture of filamentation-suppressed recombinant *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol.* (1997); 63(12): 4765-4769.
- Webb HK, Arnott J, Crawford RJ, Ivanova EP. Plastic degradation and its environmental implications with special reference to poly (ethylene terephthalate). *Polym.* (2012); 5(1): 1-18.
- Zinn M, Witholt B, Egli T. Occurrence, synthesis and medical application of bacterial polyhydroxyalkanoate. *Adv Drug Deliv Rev.* (2001); 53(1): 5-21.