

## ESTRATEGIAS DE FERMENTACIONES APLICADAS AL MEJORAMIENTO DE LA PRODUCCIÓN DE BIOPOLÍMEROS DEL TIPO PHA

Wilman Alcaraz Zapata<sup>1\*</sup>, Alejandro Acosta Cárdenas<sup>1</sup>, Andrés F. Villa Restrepo<sup>1</sup>

1: Grupo de Biotransformación, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia

\* E-mail: wilman.alcaraz@udea.edu.co

### RESUMEN

Los polihidroxicanoatos (PHA) son biopolímeros biodegradables sintetizados de forma natural por una gran variedad de bacterias y reciben una atención especial, debido a que sus características físico-químicas son similares a las propiedades de los materiales plásticos convencionales derivados del petróleo. A pesar de las semejanzas, las ventajas ambientales y el amplio campo de aplicación que poseen los PHA frente a los plásticos de origen petroquímico, su uso se ve limitado por los altos costos de producción alcanzando valores entre 2,0-5,0 €/kg, comparado con los precios de los polímeros derivados del petróleo para los que se estima un costo menor a 1,0 €/kg, impidiendo que sean económicamente competitivos [1-4]. En este sentido, es indispensable el desarrollo de mejores procesos productivos que integren la utilización de sustratos no convencionales, la implementación de estrategias de cultivo y la utilización de cepas silvestres productoras que permitan de forma conjunta mejorar e incrementar la producción de estos biopolímeros.

Los sistemas de cultivo que permiten obtener mayores productividades en la producción de PHA, son los cultivos por lote alimentado. El objetivo principal de este sistema de cultivo, es aumentar la biomasa. Esto se logra controlando la alimentación intermitente de los nutrientes al medio para evitar la inhibición del sustrato sin afectar el crecimiento del microorganismo [5]. Por tal motivo, este estudio se enfocó en la evaluación de la producción de PHA a partir de una cepa bacteriana silvestre productora del polímero denominada SB-34, empleando un medio de cultivo basado en hidrolizado de harina de yuca como sustrato, a través de una estrategia de alimentación predictiva derivada de balances de masa.

Esta estrategia se realizó con el fin de controlar la concentración de sustrato residual y garantizar que este no alcance concentraciones inhibitorias. La cantidad de sustrato alimentada se estableció por intervalos de tiempo de 1 hora en los cuales se adicionó volúmenes cambiantes de medio. La estimación del flujo se hizo con base en el comportamiento de la cinética del cultivo a partir del monitoreo de la biomasa y con la tendencia del crecimiento presentado en el intervalo de tiempo inmediatamente anterior. A partir del supuesto de que en un mismo periodo de tiempo se obtendría igual cantidad de biomasa, se predijo la cantidad de sustrato necesaria a alimentar a partir de la siguiente ecuación:

$$F(t) = \left( \frac{\Delta x * V}{Y_{x/s} * S * t} \right) \quad (1)$$

Donde:

F(t): Flujo de sustrato durante el periodo de alimentación (ml/min).

$Y_{x/s}$ : Rendimiento de sustrato en biomasa (g/g).

V: Volumen parcial del cultivo al final del periodo de alimentación (L).

$\Delta x$ : Biomasa formada durante el periodo de alimentación (g/L).

t: Tiempo del periodo de alimentación (h).

S: Concentración de sustrato de la alimentación (g/L).

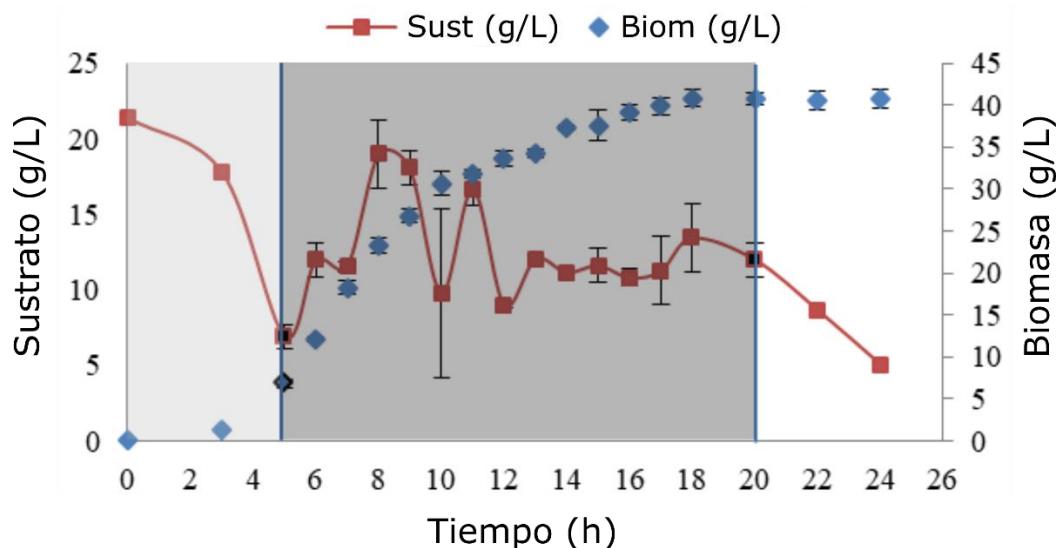
A su vez, el volumen parcial del cultivo estuvo definido por la siguiente expresión:

$$V = V_i + F * t \quad (2)$$

Donde:

$V_i$ : Volumen del reactor al inicio de cada periodo de alimentación (L)

Los resultados obtenidos (Figura 1) muestran que el medio de cultivo basado en hidrolizado de harina de yuca como sustrato, permite el crecimiento adecuado de esta bacteria. Además, la estrategia de alimentación empleada permitió mantener la concentración de azúcar residual por debajo de la concentración inhibitoria durante todo el cultivo. Bajo estas condiciones, se obtuvo una concentración de biomasa al final del proceso de 41 g/L aproximadamente. En cuanto a la producción de PHA, se logró obtener  $24,1 \pm 1,14$  g/L de polímero y una productividad de PHA de  $1,01 \pm 0,047$  g/L.h (Tabla 1). En cuanto a rendimientos, el  $Y_{p/s}$  obtenido fue de  $0,59 \pm 0,012$ , equivalente a un porcentaje de acumulación de PHA cercano al 60%.

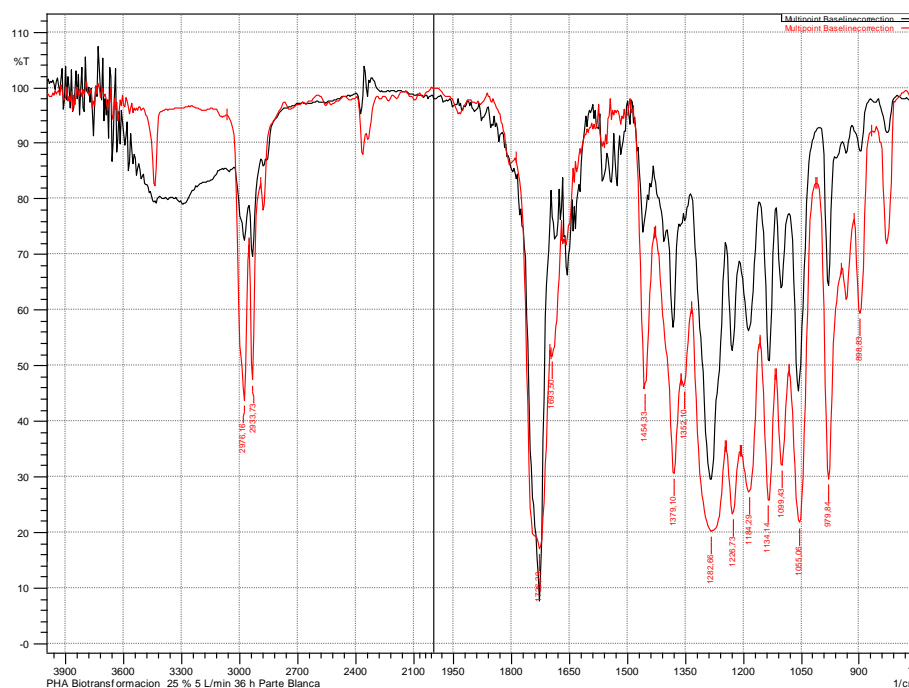


**Figura 1.** Cinética de crecimiento y perfil de sustrato en el cultivo del aislado SB-34 empleando alimentación predictiva por pulsos. La zona gris claro indica la etapa de lote y la gris oscuro la etapa de alimentación.

**Tabla 1.** Parámetros calculados para el cultivo del aislado SB-34 con alimentación predictiva de sustrato.

Parámetro	Valor
Biomasa (g/L)	40,9 ± 1,12
PHA (g/L)	24,1 ± 1,14
$Y_{p/x}$ (g/g)	0,59 ± 0,012
Prod (g/L.h)	1,01 ± 0,047

La Figura 2 muestra el espectro del polímero producido por este aislado. En la región del espectro de 1740  $\text{cm}^{-1}$  y 2970  $\text{cm}^{-1}$  se forman picos correspondientes a los grupos funcionales C=O y CH<sub>3</sub>, respectivamente, característicos del monómero de PHB. Este patrón de bandas es similar al estándar comercial de polihidroxibutirato (PHB) de Sigma-Aldrich, lo cual indica que el polímero producido con esta cepa es del tipo PHB [6,7].



**Figura 2.** Espectro del polímero producido con el aislado SB-34 (línea negra) empleando como sustrato hidrolizados de harina de yuca, comparado con un patrón Sigma de polihidroxibutirato (PHB)(línea roja), por medio de Espectroscopía Infrarroja (IR).

Estos resultados indican que el aislado SB-34 posee potencial para la producción de PHA a partir de hidrolizado de harina de yuca como sustrato y, por lo tanto, representa una buena alternativa microbiana para la obtención de este biopolímero. La estrategia de alimentación predictiva propuesta por esta investigación, se convierte en una buena alternativa para el control de la alimentación de sustrato en cultivos en lote alimentado, ya que por su simplicidad no requiere de

equipos robustos para su aplicación, sin embargo, se requiere de la cuantificación permanente del sustrato durante el cultivo.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Colciencias por el soporte económico con el proyecto con código 111556934853.

## REFERENCIAS

- [1] Ali, I., Jamil, N. Polyhydroxyalkanoates: Current applications in the medical field. *Front. Biol.*, vol 11, no 1, pp. 19–27, 2016.
- [2] Anjum, A., Zuber, M., Zia, K.M., Noreen, A., Anjum, M.N., Tabasum, S. Microbial production of polyhydroxyalkanoates (PHAs) and its copolymers: A review of recent advancements. *International Journal of Biological Macromolecules*, vol 89, pp. 161–174, 2016.
- [3] Chanprateep, S. Current trends in biodegradable polyhydroxyalkanoates. *Journal of Bioscience and Bioengineering*; vol 110, no 6, pp. 621-632, 2010.
- [4] Posada, J.A., Naranjo, J.M., López, J.A., Higueta, J.C. Cardona, C.A. Design and analysis of poly-3-hydroxybutyrate production processes from crude glycerol. *Process Biochemistry*; vol 46, pp. 310–317, 2011.
- [5] Girdhar, A., Bhatia, M., Nagpal, S., Kanampalliwar, A., Tiwari, A. *Petroleum & Environmental Biotechnology*, 4 ed, 2013.
- [6] Aarthi, N., Ramana, K.V. Identification and Characterization of Polyhydroxybutyrate producing *Bacillus cereus* and *Bacillus mycoides* strains. *International Journal of Environmental Sciences*, vol 1, no 5, 2011.
- [7] Shamala, T.R., Vijayendra, S.V., Joshi, G.J. Agroindustrial residues and starch for growth and coproduction of polyhydroxyalkanoate copolymer and  $\alpha$ -amylase by *Bacillus* sp. CFR-67. *Brazilian Journal of Microbiology*; vol 43, pp. 1094-1102, 2012.