INFORME FINAL

Programa Universitario de Investigación en Recursos Naturales y Ambiente –PUIRNA–
Programa universitario de investigación de la Digi

Producción de plásticos biodegradables en Guatemala (fase III): Optimización de la biosíntesis de polihidroxialcanoatos por bacterias nativas utilizando suero lácteo.

nombre del proyecto de investigación

4.8.63.0.39

Partida presupuestaria

DES11-2022

código del proyecto de investigación

Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas –IIQB–, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

unidad académica o centro no adscrito a unidad académica avaladora

Lcda. María del Carmen Bran González – coordinadora M.A. Ricardo Andrés Figueroa Ceballos

nombre del coordinador del proyecto y equipo de investigación contratado por Digi

Guatemala, 30 de enero de 2022

lugar y fecha

Dirección General de Investigación -DIGI-

Contraportada

Autoridades

Dra. Alice Burgos Paniagua Directora General de Investigación

Ing. Agr. MARN Julio Rufino Salazar Coordinador General de Programas

M.Sc. Andrea Rodas Coordinadora de Programa Universitario de Investigación en Recursos Naturales y Ambiente.

Autores

Lcda. María del Carmen Bran González – coordinadora

M.A. Ricardo Andrés Figueroa Ceballos

Colaboradores:

Lic. Osberth Morales Esquivel – Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala

Ing. Agr. Gustavo Álvarez – Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala

Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación (Digi), 2022. El contenido de este informe de investigación es responsabilidad exclusiva de sus autores.

Esta investigación fue cofinanciada con recursos del Fondo de Investigación de la Digi de la Universidad de San Carlos de Guatemala a través de la partida presupuestaria 4.8.63.0.39 con código DES11-2022 en el Programa Universitario de Investigación en Recursos Naturales y Ambiente.

Los autores son responsables del contenido, de las condiciones éticas y legales de la investigación desarrollada.

Dirección General de Investigación –DIGI-



Universidad de San Carlos de Guatemala Dirección General de Investigación



Informe Final

1 Índice general

2	Resumen y palabras claves	4
3	Introducción	5
4	Planteamiento del problema	8
5	Delimitación en tiempo y espacio	9
6	Marco teórico	10
7	Estado del arte	14
8	Objetivos	16
9	Hipótesis	16
10	Materiales y métodos	16
11	Resultados y discusión	23
12	Conclusiones	27
13	Referencias	28
14	Apéndice	33
15	Aspectos éticos y legales	34
16	Vinculación	34
17	Estrategia de difusión, divulgación y protección intelectual	35
18	Aporte de la propuesta de investigación a los ODS:	36
19	Orden de pago final	39
20	Declaración del Coordinador(a) del proyecto de investigación	39
21 inve	Aval del Director(a) del instituto, centro o departamento de investigación o Coordinador destigación del centro regional universitario	
22	Visado de la Dirección General de Investigación	40

Dirección General de Investigación - DIGI-

2 Resumen y palabras claves

Los polihidroxialcanoatos (PHA) son polímeros biodegradables que podrían llegar a reemplazar a los plásticos producidos a base de petróleo, en especial por sus múltiples propiedades, como la biodegradabilidad, biocompatibilidad, su no toxicidad y termoplasticidad. No obstante, a pesar de sus beneficios, su utilización a gran escala está limitada por deficiencias en los procesos de producción tales como los costos asociados con las materias primas. Se ha estimado que la mejora en el proceso de producción de PHA a través de la utilización de residuos que representen materiales de desecho, tales como el suero lácteo o los desechos agroindustriales pueden reducir significativamente el costo de producción hasta en un 50%. En este proyecto de investigación se propuso establecer el potencial biotecnológico de bacterias nativas para la producción de PHA, esto se logró utilizando suero lácteo como sustrato para fermentación, la metodología de cloroformo-hipoclorito para la extracción de los biopolímeros y la determinación de los PHA por espectrofotometría. Se encontró que 28 cepas de 40 evaluadas son capaces de utilizar el suero lácteo como sustrato, asimismo se estableció que las mejores condiciones de fermentación se dieron al utilizar pH 7, temperatura de 37 °C y agitación constante a 150 RPM. Las condiciones de fermentación probadas en esta investigación podrían ser aplicadas a escalas superiores para la producción de PHA, principalmente por la similitud de rendimiento de producción del biopolímero que se obtiene respecto a medios químicamente definidos y la reducción de costos que aportaría la utilización de subproductos de la industria láctea.

Palabras clave

Biopolímeros, plásticos biodegradables, reutilización de desechos

Abstract and keyword

Polyhydroxyalkanoates (PHA) are biodegradable polymers that could eventually replace petroleum-based plastics, especially due to their multiple properties, such as biodegradability, biocompatibility, non-toxicity, and thermoplasticity. However, despite its benefits, its large-scale use is limited by deficiencies in production processes such as the costs associated with raw materials. It has been

Dirección General de Investigación - DIGI-

estimated that the improvement in the PHA production process through the use of residues that represent waste materials, such as whey or agro-industrial waste, can significantly reduce production costs by up to 50%. In this research project, it was proposed to establish the biotechnological potential of native bacteria for the production of PHA, this was achieved using whey as a substrate for fermentation, the chloroform-hypochlorite methodology for the extraction of biopolymers and the determination of PHA by spectrophotometry. It was found that 28 strains out of 40 evaluated are capable of using whey as a substrate, likewise it was established that the best fermentation conditions occurred when using pH 7, temperature of 37 °C and constant stirring at 150 RPM. The fermentation conditions tested in this research could be applied to higher scales for the production of PHA, mainly due to the similarity of production yield of the biopolymer that is obtained with respect to chemically defined media and the cost reduction that the use of by-products of the dairy industry would provide.

Keywords

Biopolymers, biodegradable plastics, waste reuse

3 Introducción

Gran parte de los plásticos producidos a partir de derivados del petróleo no son biodegradables y generan serios problemas ambientales, tales como la acumulación de millones de toneladas en el medio ambiente y la liberación de sustancias tóxicas cuando son incinerados o expuestos a temperaturas elevadas (Masood et al., 2015). También, los desechos plásticos que llegan a los ecosistemas marinos se disgregan en pequeñas partículas conocidas como microplásticos y causan impacto negativo en la vida marina y en consecuencia también en el ser humano. Estos hechos han estimulado la búsqueda y producción de polímeros biodegradables menos nocivos que permitan reducir el impacto tanto ecológico como ambiental (Zhang et al., 2020).

Los polihidroxialcanoatos (PHA) son uno de estos polímeros biodegradables que podrían llegar a reemplazar a los plásticos producidos a base de petróleo, en especial por sus múltiples propiedades, como la biodegradabilidad, biocompatibilidad, su no toxicidad y termoplasticidad, además de sus

Dirección General de Investigación -DIGI-

posibles aplicaciones en la producción de envases, en la industria farmacéutica y en medicina. No obstante, a pesar de sus beneficios, su utilización a gran escala está limitada por deficiencias en los procesos de producción tales como los costos asociados con las materias primas, bajos rendimientos de generación del polímero o falta de microorganismos que se adapten a condiciones de fermentación específicas y que estén fácilmente disponibles para el sector productivo (Pagliano et al., 2021).

En este sentido, gran parte de los procesos biotecnológicos basados en microorganismos han resultado no ser lo suficientemente competitivos ya que también tienen una alta demanda de energía asociada a procesos de esterilización, presentan gran consumo de agua dulce y los diseños de fermentación son normalmente por lote en lugar de continuos. Asimismo, la producción a gran escala de productos biotecnológicos industriales muchas veces consume cantidades considerables de recursos agrícolas que podrían ser utilizados como alimentos, lo que también genera dilemas éticos (Kalia et al., 2021). Por lo tanto, es importante basar la biotecnología industrial en procesos enfocados al ahorro de energía, de procesamiento continuo, que no dependan del agua potable y que no utilicen sustratos alimentarios como materia prima. Así pues, los avances en este tipo de tecnologías permitirían que la biotecnología pueda coexistir con las industrias ya establecidas para suministrar materiales y combustibles a una sociedad más sostenible (Wen et al., 2012).

A pesar de los beneficios que los PHA podrían aportar como sustitutos de los plásticos convencionales, la producción a gran escala es limitada debido en parte a los costos de los sustratos y a la poca optimización de los procesos de producción y recuperación. En los últimos años se han realizado estudios enfocados en la disminución de los costos de producción de los PHA, se han probado diversos residuos de la industria agrícola, ricos en compuestos de carbono, como la celulosa, lignocelulosa y almidones, también se ha utilizado como materia prima a algas marinas, efluentes de la industria del biodiésel ricos en glicerol y de la industria de alimentos, donde pueden encontrarse residuos con altos contenidos lipídicos con potencial a transformarse en biopolímeros biodegradables (Pérez et al., 2019).

Se ha estimado que la mejora en el proceso de producción de PHA a través de la utilización de residuos que representen materiales de desecho puede reducir significativamente el costo de producción hasta en un 50%. Sin embargo, aunque se han realizado estudios relacionados con los sustratos más baratos

Dirección General de Investigación -DIGI-

y que producen los mayores rendimientos, esto también está asociado con la disponibilidad y accesibilidad de estas materias primas para las industrias locales de cada país. Asimismo, los microorganismos utilizados también son fundamentales no solo para mejorar los costos sino también en la creación de procesos fermentativos eficientes ya que tanto la capacidad de almacenamiento de gránulos de PHA y la forma de polimerizar será determinante en las propiedades fisicoquímicas de los productos finales (Sathya et al., 2018).

La optimización también resulta ser de gran relevancia para la reducción de costos, la creación de procesos fermentativos eficientes implica que las cepas microbianas tengan las condiciones nutricionales de carbono, nitrógeno y fósforo en las proporciones adecuadas, asimismo el pH, la temperatura y la aireación van a influenciar directamente en el rendimiento de producción de PHA. Las proporciones de nutrientes juegan un papel esencial en la acumulación de PHA, al utilizar procesos que utilicen como materia prima los productos de desecho de la industria, debe preverse que aporten condiciones limitadas de fósforo y nitrógeno y que sean abundantes en compuestos de carbono, además, como parte del diseño de fermentación los demás parámetros tienen que ser adaptados y específicos para cada cepa microbiana, por lo que es de importancia determinar cuáles son las condiciones óptimas que permiten el desarrollo de las mismas y a su vez favorezcan la acumulación de PHA (Mahenshwari et al., 2018).

En este proyecto de investigación se propuso establecer el potencial biotecnológico de bacterias nativas para la producción de polihidroxialcanoatos (PHA) utilizando suero lácteo como sustrato y optimizando las condiciones de temperatura y pH. Por ello la importancia de esta investigación se fundamenta en dar a conocer no solo el potencial biotecnológico de las bacterias nativas sino también su potencial como microorganismos capaces de generar un valor agregado a los desechos de la industria láctica, así también reducir los costos de producción de los PHA y establecer parámetros de fermentación que sean aplicables a escalas mayores.

Dirección General de Investigación - DIGI-

4 Planteamiento del problema

Desde la mitad del siglo pasado los plásticos sintéticos o petroquímicos se han convertido en uno de los materiales más necesarios en nuestra vida diaria. Estos plásticos son extremadamente estables frente a condiciones adversas tales como la exposición a productos químicos o la descomposición microbiana, por lo que son bastante duraderos, muy resistentes y tienen una vida útil muy larga en el medio ambiente (Kaur et al., 2021). Debido a sus excelentes propiedades físicas y químicas, estos plásticos sintéticos han dominado el mercado de productos básicos desde hace mucho tiempo. Sin embargo, a pesar de sus cualidades útiles, los plásticos petroquímicos no son biodegradables y múltiples estudios han reportado los crecientes problemas ambientales asociados a ellos. Asimismo, el aumento de la conciencia ambiental en la población mundial ha llevado a los científicos a estudiar polímeros alternativos que suplan esas necesidades básicas sin ocasionar daños ecológicos y ambientales (Mannina et al., 2020).

La contaminación por plásticos petroquímicos se puede prevenir mediante el uso de biopolímeros ecológicos que pueden ser producidos naturalmente por microorganismos. Los biopolímeros tienen numerosas ventajas medioambientales sobre los plásticos sintéticos, como la biodegradabilidad y la biocompatibilidad. En comparación con las plantas y otros sistemas microbianos, las bacterias pueden acumular una gran cantidad de polihidroxialcanoatos (PHA). Sin embargo, el principal obstáculo en la producción de PHA bacterianos es su baja rentabilidad debido a los costos asociados con la fermentación y la baja eficiencia de los procesos (Kumar et al., 2020).

El proceso de fermentación para la producción de PHA se ve afectado por distintos parámetros que repercuten en los costos del producto final. Uno de los aspectos más importantes a considerar es el sustrato empleado como materia prima ya que este representa hasta un 50% del costo del producto final. Asimismo, las condiciones para el desarrollo de los microorganismos determinan la forma en que se desarrollará la fermentación, la velocidad de generación del biopolímero, el rendimiento y la complejidad para la purificación por lo que su optimización también es de suma importancia para la reducción de costos (Kumar et al., 2018).

Dirección General de Investigación - DIGI-

Por otra parte, el mantenimiento de los microorganismos en cultivo puro requiere de procesos de esterilización con altas demandas de energía, donde también juegan un papel importante la caracterización de parámetros que favorezcan a los microorganismos de interés y que a la vez sean factores de control de otros microorganismos no deseados. Entre estos parámetros se encuentra el pH, la temperatura y la concentración de nutrientes. El adecuado control de estas condiciones permite reducir el gasto de energía y por ende aumentar la rentabilidad (Nielsen et al., 2017).

Aunque en Guatemala se han encontrado cepas nativas capaces de producir polihidroxialcanoatos y se han utilizado algunos residuos agrícolas como la pulpa de café, cascaras de plátanos y salvado de trigo, aun hacían falta estudios para establecer las condiciones óptimas de fermentación que permitan no solo producir biopolímeros sino que hacerlo de una forma económicamente rentable para que los PHA puedan ser utilizados como un sustituto viable a los plásticos sintéticos y de esta forma reducir el impacto ecológico y ambiental que estos generan.

5 Delimitación en tiempo y espacio

5.1 Delimitación en tiempo

El estudio se realizó en el periodo comprendido entre febrero a diciembre de 2022. Se inició con la revitalización de las bacterias y la elaboración de los medios de cultivo con suero lácteo, posteriormente se tamizó a las cepas capaces de producir polihidroxialcanoatos en dicho medio y se realizó la determinación de la proporción entre el peso seco de las bacterias y los PHA entre los meses de febrero a mayo. Luego se optimizaron las condiciones de temperatura y pH para cada cepa bacteriana. Finalmente, en el mes de noviembre se realizó el análisis de los datos.

5.2 Delimitación espacial

Este estudio no contempló muestreos de campo, las pruebas se realizaron a nivel de laboratorio.

Dirección General de Investigación - DIGI-

6 Marco teórico

Los bioplásticos son biopolímeros ecológicos que pueden ser utilizados en un amplio rango de situaciones, por ejemplo, en la producción de empaques, en la industria farmacéutica, en la medicina e incluso en la industria alimentaria. Estos biopolímeros poseen propiedades fisicoquímicas y mecánicas similares a las de los plásticos sintéticos y no causan ningún tipo de contaminación cuando son descartados, no obstante, una de las mayores limitantes es su elevado costo de producción. Esto se puede minimizar por medio del aislamiento y selección de microorganismos con capacidades elevadas de acumulación de polihidroxialcanoatos (PHA) así como a través de la selección de materias primas económicas y renovables, la optimización de los procesos de fermentación y la utilización de procesos continuos en lugar de por lote. Los PHA tienen aplicación en las industrias principalmente como materiales de empaque debido a su similitud con los plásticos convencionales y a sus propiedades fisicoquímicas que les permite tener una gran diversidad de funciones (Tripathi et al., 2021).

Propiedades fisicoquímicas de los PHA

Los PHA son biopolímeros que se producen mayoritariamente en bacterias como cuerpos de inclusión, varían entre las diferentes especies y también por las condiciones de fermentación. Estos biopolímeros son reconocidos como una alternativa a los plásticos sintéticos debido a sus propiedades fisicoquímicas. Los PHA han sido reportados como biocompatibles y no tóxicos, además entre sus propiedades fisicoquímicas también se ha encontrado que son termoplásticos, biodegradables e insolubles en agua, pero solubles en hidrocarburos clorados como el cloroformo. Asimismo, se ha determinado que tienen poca resistencia a los ácidos y a las bases. Aunque los PHA comparten las características antes mencionadas, también se puede encontrar diferencias entre los distintos tipos de polímeros que sintetizan los microorganismos debido a variaciones en la composición química. Otra característica que ha resultado de interés es que son resistentes a los rayos UV en comparación con otros bioplásticos que no lo son, tales como el ácido poliláctico (Sharma et al., 2017).

Dirección General de Investigación -DIGI-

Caracterización de los PHA según su composición química

Dependiendo de la longitud de su cadena, los PHA se pueden clasificar en tres categorías principales, de cadena corta (SCL) que poseen de 3 a 5 átomos de carbono; de cadena media (MCL) con 6 a 14 átomos de carbono; y de cadena larga (LCL) de no menos de 14 átomos de carbono. El tamaño del PHA depende de la enzima PHA sintasa que posea el microorganismo y de la materia prima que se utilice como sustrato, asimismo la diferencia en la longitud de la cadena de los PHA se debe al grupo alquilo lateral e influye en las propiedades fisicoquímicas de los polímeros. Los principales PHA de SCL están formados por monómeros del 3-hidroxibutirato y forman cadenas poliméricas, otros PHA de SCL son el poli(4-hidroxibutirato), poli(3-hidroxivalerato) y el poli(3-hidroxibutirato-co-3hidroxivalerato) (Wang et al., 2016). Algunos copoliésteres de SCL, por ejemplo, los que tienen grandes segmentos de poli(3-hidroxivalerato) o poli(4-hidroxibutirato) presentan propiedades fisicoquímicas más elásticas que los homopoliésteres de SCL como el polihidroxibutirato (PHB) (Gopi et al., 2018).

Por otra parte, los MCL normalmente son heteropolímeros con bajos niveles de cristalinidad, entre ellos se encuentra el poli(3-hidroxihexanoato) y el poli(3-hidroxioctanoato). Otros ejemplos de MCL son el poli(3-hidroxiheptanoato), poli(3-hidroxinonanoato), poli(3-hidroxidocanoato), poli(3-hidroxitridecanoato) y el poli(3-hidroxitetradecanoato). Múltiples microorganismos son capaces de sintetizar MCL, algunos estudios reportan rendimientos de hasta 0.37 g de PHA de MCL por gramo de ácido octanoíco al utilizar *Pseudomonas putida*. Los MCL en comparación con los SCL muestran propiedades fisicoquímicas muy distintas principalmente en cuanto a cristalización y elasticidad. Finalmente, algunos ejemplos de LCL son el poli(3-hidroxipentadecanoato) y el poli(3-hidroxihexadecanoato) (Gopi et al., 2018).

Copolímeros de los polihidroxialcanoatos

En la actualidad se conocen más de 150 monómeros distintos de PHA. La producción de uno u otro monómero, como se mencionó anteriormente, está influenciada por la cepa bacteriana y sus condiciones de fermentación. Asimismo, los PHA pueden clasificarse como homopolímeros o copolímeros, por ejemplo, el poli(3-hidroxibutirato) (PHB) es el primer homopolímero conocido y

Dirección General de Investigación -DIGI-

está formado únicamente por un tipo de monómero. Por otra parte, cuando se unen monómeros distintos se obtienen los copolímeros por ejemplo el poli(3-hidroxialcanoato-co-3-hidroxivalerato) y el poli(3-hidroxibutirato-co-4-hidroxibutirato). Los copolímeros muestran condiciones fisicoquímicas distintas a las de sus monómeros, se ha encontrado que los que están formados por PHA de MCL se vuelven quebradizos. Sin embargo, otros como los de un PHA de SCL con un MCL han sido reportados como bioplásticos con buenas propiedades fisicoquímicas, como altos potenciales de alargamiento (Elbanna et al., 2004).

Rutas biosintéticas de PHA por microorganismos

En los últimos años los PHA se han estado produciendo a partir de materias primas sostenibles y a temperaturas de entre 25 a 37 °C. Las rutas biosintéticas que siguen las bacterias para la utilización de dichas materias primas se clasifican en dos, la primera es la que no está asociada al crecimiento, en esta los microorganismos deben estar bajo condiciones de estrés, con nutrientes limitados y con exceso de carbono. Algunos microorganismos que se ha encontrado pertenecen a este grupo son *Pseudomonas oleovorans* y *Cupriavidus necátor*. La otra ruta es la que está asociada al crecimiento, en esta los microorganismos acumulan PHA durante su fase logarítmica de replicación, algunos ejemplos de microorganismos pertenecientes a este grupo son *Escherichia coli*, *Alcaligenes latus*, *Azotobacter vinelandii* y *Actinobacillus* sp. (Tripathi et al., 2021).

Producción de PHA utilizando residuos agrícolas como sustrato

Los residuos agrícolas son materias primas potenciales para la síntesis microbiana de PHA. Dichos residuos poseen composiciones complejas y por lo tanto deben romperse mediante diferentes pretratamientos para que los organismos productores de PHA puedan utilizarlos como sustrato (Koller, 2018). Luego de realizar los procesos de hidrólisis de los residuos agrícolas como melazas, residuos ricos en almidón o aceites, legumbres y residuos del procesamiento de la caña de azúcar, se liberan compuestos de carbono que pueden ser utilizados directamente por las bacterias. Los desechos ricos en aceites como los de la palma, de girasol, o de maíz pueden ser utilizados por microorganismos como *Pseudomonas* sp. y *Cupriavidus necátor*. Se ha reportado también que las cepas extremófilas

Dirección General de Investigación -DIGI-

del género *Halomonas* son capaces de utilizar aceite de desecho para la síntesis de PHA, los residuos de procesadoras de alimento como el aceite de freír, o de la agroindustria como del procesamiento del girasol también pueden ser sustrato para PHA y han reportado rendimientos de aproximadamente 62% de PHB de peso seco celular a partir de *Halomonas hydrothermalis* (Pernicova et al., 2019). Los residuos agrícolas ricos en lignocelulosa como el bagazo de caña, el salvado de trigo y el salvado de arroz también son materias primas importantes para la producción de PHA. Sin embargo, para la utilización de desechos lignocelulósicos, se requiere un tratamiento previo para hidrolizar la estructura compleja en azúcares simples (Lam et al., 2017).

Productos de desecho de la industria de lácteos

El sector lácteo es el de más rápido crecimiento de entre todas las industrias alimentarias, ya sea teniendo en cuenta sus ventas o su productividad (Lokuruka, 2016). En países como India, la producción total de leche abarca al rededor del 17% de total en el mundo, de esto, el 8% corresponde a leche de vaca. En Asia se producen aproximadamente 113.340 millones de toneladas de lácteos cada año, de las cuales se genera una gran cantidad de suero como subproducto. Por otra parte, en África y América, la fabricación de lácteos produce aproximadamente un millón de toneladas de suero y el 47% de este se vierte en desagües y ríos, lo que genera contaminación y problemas relacionados con la salud. De estos desechos se logran aprovechar aproximadamente 50 mil toneladas para la producción de lactosa y proteínas como suplementos alimenticios (Uwineza & Waśkiewcz, 2020).

La industria láctea genera otros residuos además del suero, por ejemplo, en la elaboración de la leche en polvo o por la formación de lodos durante el procesamiento de quesos, asimismo los efluentes que resultan de la limpieza de las plantas son ricos en lactosa (Arefin et al., 2020). También, el sedimento de mantequilla clarificada se considera un desecho y es un producto con alto contenido en ácidos grasos y proteínas que podría servir como materia prima para otros procesos. Cada año, aproximadamente entre 4 y 11 millones de toneladas de desechos del procesamiento de productos lácteos se descargan en el medio ambiente, lo que causa graves impactos ecológicos y ambientales. La mayoría de los desechos liberados por el procesamiento de productos lácteos se vierten al agua e incluyen grasas, cloruros, lactosa, sulfatos, partículas sólidas y compuestos orgánicos que forman una

Dirección General de Investigación -DIGI-

capa sobre la superficie de las aguas y reducen el nivel de oxígeno, lo que da como resultado una

interrupción en la supervivencia de plantas y animales acuáticos (Coats et al., 2016).

Producción de PHA a partir de suero lácteo

Los residuos del procesamiento de la industria de lácteos tales como el suero son una alternativa

fermentativa eficaz para la producción de PHA debido a su composición única de grasas, proteínas y

lactosa como principales constituyentes, además de micronutrientes que facilitan el desarrollo de los

microorganismos (Bosco & Chiampo, 2010). Asimismo, algunos autores han reportado que el suero

de leche no requiere de ningún método de pretratamiento para su utilización en el proceso de

fermentación como la hidrólisis mediante el uso de métodos ácidos o a través de enzimas que es

utilizada con los residuos de la agroindustria (Nielsen et al., 2017).

7 Estado del arte

Disminución de los costos en la producción de PHA

A pesar de las propiedades tan versátiles y benéficas de los PHA, los costos de producción todavía no

son comparables con los de los plásticos a base de petróleo debido a las dificultades para su producción

que incrementan el valor en 5 a 10 veces más que los plásticos convencionales como el polietileno.

En los últimos años se ha encontrado que el costo de las materias primas es el factor principal que

determina hasta un 50% del valor total de los PHA. Por lo tanto, el interés de la investigación mundial

se ha centrado en reducir los costos de producción utilizando diferentes materiales de desecho como

fuente de carbono (Chen et al., 2020).

Fuentes de carbono prometedoras: suero lácteo, trigo y salvado de arroz

El suero es un subproducto de la industria del queso y la caseína que representa hasta el 90% del

volumen de leche procesada. La mitad de este suero se convierte en productos utilizables para humanos

y animales y el resto generalmente se desecha al medio ambiente. Se han estado haciendo

14

Dirección General de Investigación -DIGI-

investigaciones para intentar utilizar suero de leche como fuente de carbono para el crecimiento bacteriano y como un sustrato barato para la producción de PHA. Algunos estudios han reportado rendimientos de 1,27 g/L al utilizar a *Pseudomonas hydrogenovora* (Amaro et al., 2019).

Otro sustrato que ha tomado relevancia es el trigo, este se cultiva en todo el mundo en grandes cantidades. Entre sus partes se encuentra el salvado la cual es la capa exterior del grano de trigo que es dura y está formado por el pericarpio y la aleurona. Este salvado contiene proteínas, carbohidratos y otros minerales y su eliminación puede ser difícil. En los últimos años se han llevado a cabo estudios para la utilización de desechos de salvado de trigo como fuente de carbono para el crecimiento bacteriano y la producción de PHA cultivando a partir de *Halomonas boliviensis*, esto a resultado en rendimientos de hasta 3,19 g/L y una producción de PHB de 1,08 g/L. Por otro lado, el arroz es otro cultivo importante que se utiliza en todo el mundo. Se ha reportado rendimientos de hasta el 55.6% de PHA al utilizar salvado de arroz junto con almidón de maíz con *Haloferax mediterranei*. El uso de estos desechos puede ser una alternativa para producir PHA y volverlos económicamente rentables para la producción a gran escala (Aljuraifani et al., 2019).

Microorganismos productores de PHA a partir de aguas residuales

El aumento de la población mundial ha provocado la producción de grandes cantidades de residuos urbanos e industriales y la acumulación de sedimentos ricos en microorganismos que tienen la capacidad de degradar las sustancias orgánicas del agua residual. Los lodos activados podrían ser una alternativa a los cultivos puros para la producción de PHA debido a que poseen muchas bacterias capaces de generar estos biopolímeros. En el proceso de tratamiento de aguas residuales, los microorganismos del lodo activado muestran la capacidad de transformar fuentes de carbono biodegradables en PHA antes de usarlos para su propio desarrollo. Actualmente la producción de PHA a escala industrial se basa principalmente en sistemas de cultivo puro con materias primas refinadas y condiciones de cultivo estériles. Ambas características dan como resultado un alto consumo de energía, lo que aumenta considerablemente los costos de producción (Tu et al., 2019).

Dirección General de Investigación - DIGI-

8 Objetivos

General

 Establecer el potencial biotecnológico de bacterias nativas para la producción de polihidroxialcanoatos y optimizar las condiciones de fermentación utilizando suero lácteo como sustrato.

Específicos

- Determinar la producción de polihidroxialcanoatos por cepas nativas de bacterias utilizando como sustrato suero lácteo.
- Establecer la temperatura y pH en el cual las cepas nativas de bacterias logran la mayor producción de polihidroxialcanoatos a partir de suero lácteo.
- Determinar la producción de polihidroxialcanoatos cuando las cepas se desarrollan a una agitación de 150 rpm al utilizar suero lácteo como sustrato.

9 Hipótesis

- Al menos una de las cepas nativas de bacterias es capaz de producir polihidroxialcanoatos en suelo lácteo.
- Al menos una de las cepas nativas de bacterias aumenta la cantidad de polihidroxialcanoatos que produce al modificar las condiciones de temperatura y pH al utilizar suelo lácteo como sustrato.
- Al menos una de las cepas nativas de bacterias aumenta la cantidad de polihidroxialcanoatos que produce al mantener condiciones de agitación constante de 150 RPM.

10 Materiales y métodos

10.1 Enfoque de la investigación

Dirección General de Investigación -DIGI-

Este estudio posee un enfoque cuantitativo. Se realizaron mediciones espectrofotométricas para determinar la concentración de PHA por mililitro que producen las cepas bacterianas. Asimismo, se determinó el pH y la temperatura a la que las cepas bacterianas producen mayores concentraciones de PHA, finalmente también se obtuvieron mediciones sobre las mejores condiciones de producción del polímero.

12.2 Método

El método que se utilizó fue el experimental. Los ensayos se desarrollaron en los laboratorios de Microbiología de la Escuela de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Se utilizaron 40 cepas bacterianas aisladas de las fases I y II del proyecto "Producción de plásticos biodegradables en Guatemala", estas fueron obtenidas del cepario de bacterias del Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Las muestras fueron revitalizadas en agar tripticasa soya previo a su utilización. Posteriormente se inocularon en medios de cultivo con suero lácteo para determinar cuáles tenían la capacidad de producir polihidroxialcanoatos. Con las cepas que lograron producir PHA se modificaron los parámetros temperatura y pH para la determinación de las condiciones óptimas de fermentación.

12.3 Recolección de información

El universo fueron las bacterias aisladas en las fases I y II del proyecto "Producción de plásticos biodegradables en Guatemala", se incluyeron todas las cepas que han mostrado ser positivas para la producción de PHA cuando se ha utilizado como sustrato medios químicamente definidos. Para la recolección de los datos se utilizaron bitácoras donde se fueron anotando los resultados determinados en los equipos (espectrofotómetro, balanzas, entre otros). Los experimentos se llevaron a cabo en los laboratorios de Microbiología del Departamento de Microbiología de la Escuela de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Dirección General de Investigación -DIGI-

Las determinaciones fueron evaluadas a través de un análisis de varianza para encontrar las diferencias entre cada grupo. El diseño del experimento se realizó a través de bloques aleatorios donde la variable de bloqueo fueron las cepas microbianas.

12.4 Técnicas e instrumentos

Revitalización de las cepas bacterianas

A partir de las cepas de bacterias caracterizadas como positivas para la producción de polihidroxialcanoatos al utilizar medios químicamente definidos y que están almacenadas en el cepario del Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, se realizaron cultivos en agar tripticasa soya (TS). Estos fueron incubados por 48 h a 37 °C. Posteriormente se realizó un reaislamiento en agar TS y luego 10 subcultivos de cada una de las cepas bacterianas también en agar TS, estos sirvieron para las siguientes etapas de la metodología. Los cultivos para trabajo fueron almacenados a 4 °C hasta su utilización (Kourmentza et al., 2018).

Preparación de medios de cultivo con suero lácteo

Para la preparación de los medios de cultivo con suero lácteo (SL) se utilizó suero proveniente de los desechos de la producción de queso de la industria láctica de Guatemala. Dicho suero lácteo se acidificó con HCl 5 N hasta llegar a pH de 4.5, esto se realizó con el fin de precipitar las proteínas. Posteriormente la solución se esterilizó a 121 °C por 15 min, luego se dejó enfriar hasta alcanzar la temperatura ambiente, después fueron centrifugadas a 11,000 x g en tubos cónicos para remover los agregados proteicos. El sobrenadante de la solución anterior se hizo pasar por filtros de papel Whatman No. 3. A la solución filtrada se le ajustó nuevamente el pH con NaOH 5 N hasta alcanzar un pH de 7 y se le agregaron los componentes de un medio mínimo mineral (3.0 g/l (NH₄)₂SO₄, 3.2 g/l Na₂SO₄ x10H₂O, 0.1 g/l KCl, 0.05 g/L K₂HPO₄, 0.5 g/L MgSO₄ x7 H₂O, 0.01 g/L Ca(NO₃)₂) (Pantazaki et al., 2009).

Dirección General de Investigación -DIGI-

Tamizaje de las cepas bacterias para determinar la producción de PHA en suero lácteo

La capacidad de las cepas bacterianas nativas para producir PHA fue evaluado a través de la utilización de medios de cultivo con SL. Se inoculó cada una de las cepas bacterianas revitalizadas en agar SL, luego se incubó a 37 °C por 72 h, posteriormente se realizaron tinciones de cada cultivo bacteriano con el colorante Negro de Sudan al 1%, esta tinción se llevó a cabo agregando el colorante a las láminas portaobjetos durante 10 min, luego aclarando con Xilol para eliminar el exceso de colorante y finalmente las preparaciones fueron observadas al microscopio para determinar la presencia de inclusiones de PHA en las bacterias (Gunaratne et al., 2004).

Determinación de la biomasa bacteriana

La concentración celular, definida como el peso seco de las células por litro de caldo de cultivo, se determinó tomando alícuotas de 150 ml del cultivo en crecimiento, se centrifugaron a 6000 x g, luego las células bacterianas se lavaron dos veces con una solución salina tamponada con fosfato. Las células lavadas se filtraron al vació utilizando filtros de 0.45 µm, posteriormente los filtros se secaron por 48 h a 80°C y finalmente se pesaron. Todos los cultivos y mediciones se realizaron con cinco repeticiones (Guzmán et al., 2017).

Producción de PHA en medios con suero lácteo

Las cepas bacterianas revitalizadas se inocularon en 10 ml del medio con suero lácteo y se incubaron a 37 °C por 24 h o hasta que alcanzaron una concentración de 0.5 en la escala de McFarland. Luego 5 ml del cultivo anterior fue inoculado en 145 ml de medio con suero lácteo y se incubó a 37 °C por 72 h con agitación constante de 150 rpm. Una vez finalizada la incubación se tomaron alícuotas de 150 ml en tubos cónicos, estos tubos se centrifugaron a 3000 rpm por 15 min. Al sedimento de bacterias se le realizaron dos lavados con agua desmineralizada, posteriormente se deshidrataron en el horno a 80°C por 48 h. Para la cuantificación de los PHA se utilizó la metodología de cloroformo-hipoclorito la cual consiste en agregar 10 ml de hipoclorito de sodio al sedimento y dejarlo reaccionar durante al menos 2 h, posteriormente se agrega cloroformo por 20 min, finalmente los tubos se centrifugan a 3500 rpm, se decantan y el sedimento se deja secar a 80° por 48 h para lograr evaporar el cloroformo y poder medir el peso seco (Gunaratne et al., 2004).

Dirección General de Investigación - DIGI-

Evaluación del efecto de la temperatura en el proceso de fermentación

Para evaluar el efecto de la temperatura, los cultivos de trabajo de las cepas bacterianas fueron inoculados en 10 ml del medio con suero lácteo y se incubaron a 37 °C por 24 h. Luego 5 ml de los cultivos anteriores fueron inoculados en 145 ml de medio SL y se incubó a 20 y 37 °C por 48 h con agitación constante de 150 rpm. Una vez finalizada la incubación se tomaron alícuotas de 50 ml en tubos cónicos, estos tubos se centrifugaron a 3000 rpm por 15 min. Al sedimento de bacterias se le realizaron dos lavados con agua desmineralizada, posteriormente se deshidrataron en el horno a 80°C por 48 horas. Para la cuantificación de los PHA se utilizó la metodología de cloroformo-hipoclorito (Guzmán et al., 2017).

Evaluación del efecto del pH en el proceso de fermentación

Una vez optimizadas las condiciones de temperatura, se optimizó el pH. Para ello los cultivos de trabajo de las cepas bacterianas fueron inoculados en 10 ml del medio SL y se incubaron a 37 °C por 24h. Luego 5 ml de los cultivos anteriores fueron inoculados en 145 ml de medio SL modificado a pH 4.5 y 7 y se incubaron a la temperatura que mostró el mayor rendimiento por 72 horas con agitación constante de 150 rpm. Una vez finalizada la incubación se cuantifico el contenido de PHA utilizando la metodología de cloroformo-hipoclorito (Guzmán et al., 2017).

12.5 Operacionalización de las variables o unidades de análisis

- Objetivo específico: Determinar la producción de polihidroxialcanoatos por cepas nativas de bacterias utilizando como sustrato suero lácteo.
 - Variables o unidades de análisis que fueron consideradas: Producción de polihidroxialcanoatos.
 - Forma en que se midieron: Proporción de peso seco de los gránulos extraídos entre el peso seco de las bacterias.
- Objetivo específico: Establecer la temperatura y pH en el cual las cepas nativas de bacterias logran la mayor producción de polihidroxialcanoatos a partir de suero lácteo.
 - Variables o unidades de análisis que fueron consideradas: Temperatura, pH, producción de polihidroxialcanoatos.

Dirección General de Investigación -DIGI-

- o Forma en que se midieron: La temperatura y el pH fueron variables fijas, los efectos en la producción de polihidroxialcanoatos se midieron con la proporción de peso seco de los gránulos extraídos entre el peso seco de las bacterias.
- Objetivo específico: Determinar la producción de polihidroxialcanoatos cuando las cepas se desarrollan a una agitación de 150 rpm al utilizar suero lácteo como sustrato.
 - Variables o unidades de análisis que fueron consideradas: Agitación, producción de polihidroxialcanoatos.
 - o Forma en que se midieron: La agitación fue la variable fija experimental y el efecto en la producción de polihidroxialcanoatos fue medido con la proporción del peso seco de los gránulos extraídos entre el peso seco de las bacterias.

12.6 Procesamiento y análisis de la información

Para los datos obtenidos a partir de cada objetivo específico, se realizó un análisis exploratorio de los resultados donde se determinó la media, mediana, varianza, desviación estándar y se observó el comportamiento de las variables en gráficos de cajas e histogramas, posteriormente se realizaron pruebas de normalidad con los estadísticos de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilks. Para probar la hipótesis igualdad o diferencia entre la producción de polihidroxialcanoatos a partir de suero lácteo y los efectos de la temperatura y pH y si se cumple con los supuestos de normalidad, independencia y homocedasticidad se realizó un Anova de un factor y una prueba posterior de Tukey con el 0.05 de significancia. Los registros de los resultados se llevaron en Microsoft Excel, los análisis estadísticos se realizaron con SPSS[®]. Todas las determinaciones se llevarán a cabo utilizando cinco repeticiones.

Dirección General de Investigación –DIGI-

2.7 Coherencia de la propuesta de investigación

Tabla 1

Coherencia de la propuesta de investigación

Objetivos específicos	Métodos, técnicas, instrumentos	Resultados (1)
Determinar la producción de polihidroxialcanoatos por cepas nativas de bacterias utilizando como sustrato suero lácteo.	Preparación de medios de cultivo con suero lácteo, cultivos bacterianos, microscopía óptica (Tinción Negro Sudan), metodología cloroformohipoclorito para la extracción de los PHA	 Se determinó que cepas bacterianas nativas son capaces de producir PHA a partir de suero lácteo. Se estableció que cepas bacterianas nativas muestran los mayores rendimientos para la producción de PHA a partir de suero lácteo.
Establecer la temperatura y pH en el cual las cepas nativas de bacterias logran la mayor producción de polihidroxialcanoatos a partir de suero lácteo.	Preparación de medios de cultivo con suero lácteo, cultivos bacterianos, modificación de las condiciones de fermentación (temperatura: 20 y 37 °C y pH en el rango de 4.5 y 7), metodología cloroformo-hipoclorito para la extracción de los PHA	Parámetros de temperatura y pH optimizados para la producción de polihidroxialcanoatos por cepas de bacterias nativas a partir de suero lácteo.
Determinar la producción de polihidroxialcanoatos cuando las cepas se desarrollan a una agitación de 150 rpm al utilizar suero lácteo como sustrato.	Preparación de medios de cultivo con suero lácteo, cultivos bacterianos, metodología cloroformo-hipoclorito para la extracción de los PHA	Rendimiento de producción de polihidroxialcanoatos al utilizar una agitación constante de 150 RPM.

Dirección General de Investigación -DIGI-

11 Resultados y discusión

11.1 Resultados

Se encontró que 28 de las 40 cepas evaluadas producen polihidroxialcanoatos (PHA) al utilizar suero lácteo como sustrato (Tabla 1). Las cepas productoras de PHA encontradas fueron *Achromobacter* sp. (DES320), *Alcaligenes faecalis* (AP21-01, AP21-10, AP21-14, AP21-26 y AP21-30), *Bacillus* sp. (DES311, DES323 y DES328), *B. cereus* (DES325), *B. idriensi* (AP21-07), *B. megaterium* (AP21-04), *B. simplex* (DES314), *B. subtilis* (DES330 y DES309), *Exiguobacterium aurantiacum* (AP21-05), *Micrococcus luteus* (DES312), *Pantoea agglomerans* (DES316), *Proteus mirabilis* (DES319), *Pseudomonas cuatrocienegasensis* (AP21-16), *Staphylococcus* sp. (DES304), *S. capitis* (AP21-03), *S. pasteuri* (DES301 y DES307) y cuatro cepas de bacilos gram negativo (DES310, DES317, DES321 y DES327).

Luego de evaluar la capacidad para producción de polihidroxialcanoatos a 20 y 37 °C se encontró que las cepas AP21-01, AP21-03, AP21-04, AP21-05, AP21-10, AP21-14, AP21-16, AP21-30, DES301, DES304, DES307, DES309, DES311, DES314, DES316, DES317, DES319, DES321, DES325, DES327 y DES330 produjeron mayores concentraciones de PHA a 37 °C cuando se mantiene una agitación de 150 RPM. Asimismo, no se encontró diferencia significativa entre la cantidad de biopolímero producido por las cepas AP21-10 (1.41 [0.23] g/L) y DES304 (1.33 [0.03] g/L) que mostraron los valores más elevados de producción a 37° (Tabla 1).

Al evaluar la producción de PHA a pH 4.5 y 7 se encontró que las cepas AP21-03, AP21-04, AP21-05, AP21-07, AP21-10, AP21-14, AP21-16, AP21-26, AP21-30, DES301, DES304, DES307, DES309, DES310, DES311, DES312, DES314, DES316, DES317, DES319, DES320, DES321, DES323, DES325, DES327, DES328 y DES330 produjeron mayores concentraciones a pH 7, mientras que la cepa AP21-01 mostró mayor rendimiento a pH 4.5. No se encontró diferencia significativa entre las cepas AP21-03 (1.23 [0.02] g/L), AP21-10 (1.33 [0.12] g/L), y AP21-26 (1.36 [0.12] g/L) que mostraron los mayores rendimientos de producción a pH 7 (Tabla 1).

Dirección General de Investigación –DIGI-

Tabla 1 Producción de polihidroxialcanoatos utilizando suero lácteo a diferentes condiciones de temperatura y pH

Cepa	Producción a 20 °C,	Producción a 37°C,	Producción a pH 7,	Producción a pH 4.5,
	150 RPM $(g/L)^1$	150 RPM $(g/L)^1$	150 RPM, 37 °C (g/L) ¹	150 RPM, 37 °C (g/L) ¹
AP21-01	0.80 (0.18) ghi	0.83 (0.05) ghi	0.69 (0.12) h	0.73 (0.55) h
AP21-02	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
AP21-03	1.04 (0.30) hij	1.15 (0.03) k	1.23 (0.02) klm	0.90 (0.13) h
AP21-04	0.25 (0.11) abcde	0.37 (0.10) defg	0.35 (0.01) def	0.10 (0.20) abcde
AP21-05	0.43 (0.20) cdefg	0.47 (0.09) fg	0.48 (0.02) fg	0.35 (0.19) fgh
AP21-06	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
AP21-07	0.97 (0.12) hi	0.89 (0.05) hij	1.15 (0.04) ijk	0.81 (0.05) h
AP21-08	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
AP21-09	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
AP21-10	1.25 (0.35) j	1.41 (0.23) 1	1.33 (0.12) lm	0.80 (0.03) h
AP21-11	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
AP21-12	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
AP21-13	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
AP21-14	0.50 (0.12) defg	0.97 (0.24) j	0.57 (0.20) gh	0.25 (0.04) efg
AP21-15	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00a
AP21-16	0.49 (0.21) efg	0.82 (0.23) ghi	0.43 (0.15) efg	0.19 (0.03) bcedf
AP21-17	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
AP21-18	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
AP21-19	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
AP21-20	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
AP21-26	1.01 (0.31) hij	0.90 (0.25) ij	1.36 (0.12) m	0.48 (0.09) hi
AP21-30	1.00 (0.13) hij	1.15 (0.14) k	1.12 (0.23) ijk	0.36 (0.09) gh
DES301	0.80 (0.11) hi	0.97 (0.17) j	1.05 (0.07) ij	0.09 (0.01) abc
DES304	1.21 (0.18) ij	1.33 (0.03) 1	1.27 (0.04) klm	0.00 (0.00) a
DES307	0.67 (0.16) gh	0.78 (0.26) ghi	0.35 (0.07) def	0.00 (0.00) a
DES309	1.00 (0.18) hij	1.15 (0.04) k	1.15 (0.32) i	0.23 (0.03) cdefg
DES310	0.20 (0.18) abcdef	0.12 (0.09) ab	0.13 (0.17) ab	0.10 (0.01) abcd
DES311	0.30 (0.21) abcde	0.36 (0.02) def	0.10 (0.23) abc	0.00 (0.00) a
DES312	1.01 (0.14) hij	0.89 (0.06) hij	1.20 (0.15) jkl	0.02 (0.01) a
DES314	0.20 (0.12) abc	0.28 (0.02) cd	0.40 (0.09) def	0.00 (0.00) a
DES316	0.13 (0.10) ab	0.17 (0.01) bc	0.28 (0.07) cde	0.18 (0.01) bcedf
DES317	0.27 (0.18) abcde	0.35 (0.02) de	0.18 (0.36) a	0.15 (0.01) abcde
DES319	0.39 (0.36) abcde	0.48 (0.02) g	0.69 (0.12) gh	0.23 (0.01) cdefg
DES320	1.15 (0.22) ij	1.00 (0.02) j	1.26 (0.30) klm	0.25 (0.01) defg
DES321	0.09 (0.01) ab	0.19 (0.02) bc	0.18 (0.07) abc	0.10 (0.01) abcd
DES323	0.23 (0.08) abcd	0.15 (0.02) b	0.50 (0.10) fg	0.07 (0.01) ab
DES325	0.18 (0.03) abcd	0.36 (0.02) def	0.25 (0.02) bcd	0.06 (0.01) ab
DES327	0.57 (0.12) fgh	0.78 (0.02) gh	0.69 (0.02) h	0.15 (0.03) bcdef
DES328	0.36 (0.05) bcdefg	0.29 (0.02) cd	0.43 (0.01) efg	0.23 (0.02) cdefg
DES330	0.29 (0.01) abcdef	0.45 (0.02) efg	0.23 (0.01) bcd	0.18 (0.01) bcdef

¹Gramos por litro de polihidroxialcanoato. ^{a, b, c, d, e, f, g,} Letras distintas indican diferencia significativa, de acuerdo con la prueba de comparaciones múltiples de Tukey (p = .05).

Dirección General de Investigación -DIGI-

11.2 Discusión de resultados

Se encontró que 28 de las 40 cepas evaluadas resultaron positivas para la producción de polihidroxialcanoatos al desarrollarse en suero lácteo. Entre los géneros y especies capaces de utilizar dicho sustrato se encontró a *Achromobacter* sp., *Alcaligenes faecalis*, *Bacillus* sp., *B. cereus*, *B. idriensi*, *B. megaterium*, *B. simplex*, *B. subtilis*, *Exiguobacterium aurantiacum*, *Micrococcus luteus*, *Pantoea agglomerans*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas cuatrocienegasensis*, *Staphylococcus* sp., *S. capitis* y *S. pasteuri*. Asimismo, se encontraron mayores rendimientos de producción de PHA al cultivar las cepas bacterianas a 37 °C y a pH 7.0. Entre los mejores productores se encontraron las cepas AP21-03 (1.23 [0.02]), AP21-10 (1.33 [0.12]), y AP21-26 (1.36 [0.12]) al cultivarlas bajo las condiciones descritas anteriormente.

Entre las cepas que mayor rendimiento mostraron se encontró a *Staphylococcus* sp. y *S. capaitis*. En estudios realizados por Darshan y Nishith (2010) se reportó que distintas cepas de *Staphylococcus* muestran condiciones óptimas de producción de PHA al desarrollarse con agitación constante a 37 °C, asimismo, Marjadi y Dharaiya (2014) al utilizar aceite de sésamo lograron obtener ácido poli(3-hidroxibutírico) (PHB) a partir de *Staphylococcus epidermidis* en condiciones de incubación a 37 °C y agitación constante de 150 RPM. Las cepas encontradas en el presente estudio mostraron los mayores rendimientos al utilizar condiciones similares a las reportadas por Obruca y colaboradores (2011) que utilizaron suero lácteo y obtuvieron rendimientos de hasta 1.48 g/l de polihidroxialcanoatos luego de optimizar las condiciones de fermentación para *B. megaterium*.

En cuanto a las especies de *Bacillus* encontradas como productoras de polihidroxialcanoatos estas mostraron mayores rendimientos al mantener pH 7 y temperatura de 37°. Mohanrasu y colaboradores (2020) reportan haber optimizado las condiciones de fermentación para *B. megaterium* también utilizando pH 7 y además utilizando diferentes fuentes de carbono (arabinosa, glucosa, glicerol, lactosa, ácido láctico, manitol, acetato de sodio, almidón y sacarosa a concentraciones de 20 g/L) y de nitrógeno (cloruro de amonio, sulfato de amonio, glicina, nitrato de potasio, proteasa peptona y urea a concentraciones de 2 g/L), dichos autores lograron obtener rendimientos de hasta 2.74 g/L, los cuales son mayores a los de la cepa AP21-04 que en las condiciones descritas anteriormente

Dirección General de Investigación -DIGI-

produjo 0.35 (0.01) g/L de PHA. Cabe resaltar que no se optimizaron las fuentes de carbono y nitrógeno del sustrato evaluado en este estudio lo cual sería recomendable para incrementar el rendimiento.

Las cepas AP21-07 de *B. idriensi* y DES309 de *B. subtilis* produjeron 1.15 g/L de PHA sin diferencias significativas, dichos valores resultaron menores a los reportados por Rathika y colaboradores (2019) que optimizaron las condiciones de fermentación para *B. subtilis* utilizando diferentes concentraciones de melazas y obtuvieron rendimientos de 2.01 g/L a las 24 horas. Asimismo, dichos autores reportaron disminución en la concentración de PHA luego de 72 horas atribuyéndolo a la descomposición del sistema enzimático para la síntesis de PHA y al consumo intracelular de las inclusiones del biopolímero como fuente de energía y carbono. Por lo tanto, la disminución en los valores de rendimiento encontrados en las cepas AP21-07 y DES309 pudo ser debido al período de incubación de 72 horas al que fueron sometidas durante la fermentación.

En otro estudio realizado por Yasin y Mayly (2021) donde se evaluó el efecto de la concentración de carbono desde el 1% hasta 8%, tres pH 5, 7 y 9, distintos valores de temperatura, 25, 30, 35 y 40 °C y concentración de nitrógeno del 0.5 a 1.5 g/L, se encontró en *Bacillus cereus* cepa ARY73 rendimientos de 2.61 g/L al desarrollarse a 35° y pH 7, además se reportó disminución del rendimiento de producción de PHA en temperaturas superiores a los 37 °C. Dichos valores superan al rendimiento mostrado por la cepa DES325 por lo que se recomendaría controlar las concentraciones de carbono y nitrógeno en el medio de fermentación.

Respecto a la cepa AP21-01 correspondiente a *A. faecalis*, esta mostró un mayor rendimiento al cultivarse a pH 4.5. En estudios realizados por Kesik y colaboradores (2006) se encontró en especies de *Alcaligenes* una capacidad aumentada de producir compuestos nitrogenados al desarrollarse en condiciones de pH inferiores a 4. Asimismo, en un estudio realizado por Sayyed & Chincholkar (2004) se reportó que la producción de PHA por *A. faecalis* resultó optima tanto a pH neutro como a pH bajo, además, no se encontró ninguna diferencia significativa al experimentar en distintos rangos de pH. En el presente estudio se encontró también que las cepas AP21-10, AP21-14, AP21-26 y AP21-30 de

Dirección General de Investigación -DIGI-

Alcaligenes faecalis tienen mayores rendimientos al utilizar condiciones de fermentación con pH neutro.

El suero lácteo contiene concentraciones de lactosa de entre 3 y 5% dependiendo de la leche y el proceso al que fue sometida para la producción industrial de queso, asimismo conserva aproximadamente 0.9% de proteínas crudas como única fuente de nitrógeno (Khanafari et al., 2006). Koller y colaboradores (2008) utilizaron suero lácteo como sustrato para la obtención de PHA a partir de *Pseudomonas hydrogenovora* luego de optimizar las condiciones de fermentación a pH 7, temperatura de 37 °C y ajustar el contenido de carbono y nitrógeno utilizando glucosa y suero lácteo deshidratado obtuvieron resultados de hasta 1.27 g/L de PHA. Dichos valores resultaron similares a los encontrados en las cepas con mayores rendimientos AP21-03 (1.23 [0.02]), AP21-10 (1.33 [0.12]), y AP21-26 (1.36 [0.12]).

Las condiciones de fermentación probadas en esta investigación podrían ser aplicadas a escalas superiores para la producción de PHA al utilizar suero lácteo como sustrato. Sin embargo, se sugiere ajustar las concentraciones de carbono y nitrógeno para lograr mejorar los rendimientos y que sean equiparables a los obtenidos a partir de medios definidos reportados en la literatura. No obstante, los valores de rendimiento obtenidos a partir de suero lácteo no presentan grandes diferencias con otros sustratos de mayor costo por lo que podrían ser una alternativa viable para aprovechar los subproductos de desecho de la industria de los lácteos y al mismo tiempo reducir los costos de producción de los PHA.

12 Conclusiones

• Se encontró que 28 cepas de las 40 estudiadas correspondientes a *Achromobacter* sp. (DES320), *Alcaligenes faecalis* (AP21-01, AP21-10, AP21-14, AP21-26 y AP21-30), *Bacillus* sp. (DES311, DES323 y DES328), *B. cereus* (DES325), *B. idriensi* (AP21-07), *B. megaterium* (AP21-04), *B. simplex* (DES314), *B. subtilis* (DES330 y DES309), *Exiguobacterium aurantiacum* (AP21-05), *Micrococcus luteus* (DES312), *Pantoea agglomerans* (DES316), *Proteus mirabilis* (DES319), *Pseudomonas cuatrocienegasensis* (AP21-16), *Staphylococcus* sp. (DES304), *S. capitis* (AP21-

Dirección General de Investigación -DIGI-

- 03), *S. pasteuri* (DES301 y DES307) y cuatro cepas de bacilos Gram negativos (DES310, DES317, DES321 y DES327) fueron capaces de utilizar el suero lácteo para la producción de PHA.
- Se estableció que las cepas AP21-01, AP21-03, AP21-04, AP21-05, AP21-10, AP21-14, AP21-16, AP21-30, DES301, DES304, DES307, DES309, DES311, DES314, DES316, DES317, DES319, DES321, DES325, DES327, DES330 mostraron mayores rendimientos al llevar a cabo la fermentación a 37 °C y agitación de 150 RPM y que las cepas AP21-07, AP21-26, DES310, DES312, DES320, DES323 y DES328 no mostraron diferencia significativa en cuanto a su rendimiento de producción de PHA a 20 °C y a 37 °C y agitación de 150 RPM.
- Se determinó que las cepas AP21-03, AP21-04, AP21-05, AP21-07, AP21-10, AP21-14, AP21-16, AP21-26, AP21-30, DES301, DES304, DES307, DES309, DES310, DES311, DES312, DES314, DES316, DES317, DES319, DES320, DES321, DES323, DES325, DES327, DES328, DES330 muestran mayor rendimiento de producción de PHA al desarrollarse a pH 7 y agitación de 150 RPM, mientras que la cepa AP21-01 lo hace a pH 4.5 y agitación de 150 RPM.

13 Referencias

- Aljuraifani, A. A., Berekaa, M. M., & Ghazwani, A. A. (2019). Bacterial biopolymer (polyhydroxyalkanoate) production from low-cost sustainable sources. *MicrobiologyOpen*, 8(6), e00755. https://doi.org/10.1002/mbo3.755
- Amaro, T. M., Rosa, D., Comi, G., & Iacumin, L. (2019). Prospects for the use of whey for polyhydroxyalkanoate (PHA) production. *Frontiers in microbiology*, 10, 992. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00992
- Arefin, M. A., Nabi, M. N., & McIntosh, S. (2020). Harnessing energy from Australian dairy waste: utilizing five methodologies. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, *14*(6), 1180-1196. https://doi.org/10.1002/bbb.2126
- Blessing, G. (2018). Guatemala se une a la campaña Mares Limpios. Noticias ONU. Recuperado de https://news.un.org/es/story/2018/10/1443532

Dirección General de Investigación -DIGI-

- Bosco, F., & Chiampo, F. (2010). Production of polyhydroxyalcanoates (PHAs) using milk whey and dairy wastewater activated sludge: production of bioplastics using dairy residues. *Journal of bioscience and bioengineering*, 109(4), 418-421. https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2009.10.012
- Chen, G. Q., Chen, X. Y., Wu, F. Q., & Chen, J. C. (2020). Polyhydroxyalkanoates (PHA) toward cost competitiveness and functionality. *Advanced Industrial and Engineering Polymer Research*, *3*(1), 1-7. https://doi.org/10.1016/j.aiepr.2019.11.001
- Chincholkar, S. B. & Sayyed, R. Z. (2004). Production of poly -β-hydroxy butyrate from *Alcaligenes* faecalis. Indian Journal of Microbiology 44(4), 269-272.
- Coats, E. R., Watson, B. S., & Brinkman, C. K. (2016). Polyhydroxyalkanoate synthesis by mixed microbial consortia cultured on fermented dairy manure: effect of aeration on process rates/yields and the associated microbial ecology. *Water research*, 106, 26-40. https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.09.039
- Contreras, L. (2018). Guatemala se compromete a frenar contaminación en océanos causada por desecho de material plástico. The World News. Recuperado de https://theworldnews.net/gt-news/guatemala-se-compromete-a-frenar-contaminacion-en-oceanos-causada-por-desecho-de-material-plastico
- Darshan, M. & Nishith, D. (2010). Screening of Edible Oil-Contaminated Soil for Polyhydroxyalkanoates Producing Bacterial Strains. *Journal of Life Sciences* 4(4), 37-42.
- Elbanna, K., Lütke-Eversloh, T., Jendrossek, D., Luftmann, H., & Steinbüchel, A. (2004). Studies on the biodegradability of polythioester copolymers and homopolymers by polyhydroxyalkanoate (PHA)-degrading bacteria and PHA depolymerases. *Archives of microbiology*, *182*(2), 212-225. https://doi.org/10.1007/s00203-004-0715-z
- Gopi, S., Kontopoulou, M., Ramsay, B. A., & Ramsay, J. A. (2018). Manipulating the structure of medium-chain-length polyhydroxyalkanoate (MCL-PHA) to enhance thermal properties and crystallization kinetics. *International journal of biological macromolecules*, 119, 1248-1255. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.08.016
- Gunaratne, L. M. W. K., Shanks, R. A., & Amarasinghe, G. (2004). Thermal history effects on crystallisation and melting of poly (3-hydroxybutyrate). *Thermochimica Acta*, 423(1-2), 127-135. http://doi.org/10.1016/j.tca.2004.05.003

Dirección General de Investigación -DIGI-

- Guzmán, C., Hurtado, A., Carreño, C., & Casos, I. (2017). Producción de polihidroxialcanoatos por bacterias halófilas nativas utilizando almidón de cáscaras de *Solanum tuberosum* L. *Scientia Agropecuaria*, 8(2), 109-118. https://doi.org10.1016/j.tca.2004.05.003
- Khanafari, A., Sepahei, A. A., & Mogharab, M. (2006). Production and recovery of poly-β-hydroxybutyrate from whey degradation by *Azotobacter*. *Journal of Environmental Health Science & Engineering*, *3*(3), 193-198.
- Kalia, V. C., Patel, S. K. S., Shanmugam, R., & Lee, J. K. (2021). Polyhydroxyalkanoates: trends and advances toward biotechnological applications. *Bioresource Technology*, 124737. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124737
- Kaur, L., Khajuria, R., Parihar, L., & Singh, G. D. (2021). Polyhydroxyalkanoates: biosynthesis to commercial production-A review. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 6(4), 1098-1106. https://doi.org/10.15414/jmbfs.2017.6.4.1098-1106
- Kesik, M., Blagodatsky, S., Papen, H., & Butterbach-Bahl, K. Effect of pH, temperature and substrate on N₂O, NO and CO₂ production by *Alcaligenes faecalis*. *Journal of Applied Microbiology*, 101(3), 655-667. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.02927.x
- Koller, M., Bona, R., Chiellini, E., Fernandes, E. G., Horvat, P., Kutschera, C., ... & Braunegg, G. (2008). Polyhydroxyalkanoate production from whey by *Pseudomonas hydrogenovora*. *Bioresource technology*, 99(11), 4854-4863.
- Koller, M. (2018). Linking food industry to "green plastics"—polyhydroxyalkanoate (PHA) biopolyesters from agro-industrial by-products for securing food safety. *Applied Food Biotechnology*, 6(1), 1-6. https://doi.org/10.22037/afb.v6i1.17979
- Kourmentza, C., Costa, J., Azevedo, Z., Servin, C., Grandfils, C., De Freitas, V., & Reis, M. A. M. (2018). *Burkholderia thailandensis* as a microbial cell factory for the bioconversion of used cooking oil to polyhydroxyalkanoates and rhamnolipids. *Bioresource technology*, 247, 829-837. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.138
- Kumar, M., Rathour, R., Singh, R., Sun, Y., Pandey, A., Gnansounou, E., Lin, K. Y. A, Tsang, D. C.
 W., & Thakur, I. S. (2020). Bacterial polyhydroxyalkanoates: Opportunities, challenges, and prospects. *Journal of Cleaner Production*, 121500. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121500

Dirección General de Investigación –DIGI-

- Kumar, P., & Kim, B. S. (2018). Valorization of polyhydroxyalkanoates production process by cosynthesis of value-added products. *Bioresource technology*, 269, 544-556. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.08.120
- Lam, W., Wang, Y., Chan, P. L., Chan, S. W., Tsang, Y. F., Chua, H., & Yu, P. H. F. (2017). Production of polyhydroxyalkanoates (PHA) using sludge from different wastewater treatment processes and the potential for medical and pharmaceutical applications. *Environmental technology*, 38(13-14), 1779-1791. https://doi.org/10.1080/09593330.2017.1316316
- Lokuruka, M. N. (2016). Overview of dairy processing and marketing in East African dairy value chains: Opportunities and challenges. *African Journal of Food Science*, *10*(11), 254-262. https://doi.org/10.5897/AJFS2016.1465
- Maheshwari, N., Kumar, M., Thakur, I. S., & Srivastava, S. (2018). Production, process optimization and molecular characterization of polyhydroxyalkanoate (PHA) by CO2 sequestering B. cereus SS105. *Bioresource technology*, 254, 75-82. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.01.002
- Mannina, G., Presti, D., Montiel-Jarillo, G., Carrera, J., & Suárez-Ojeda, M. E. (2020). Recovery of polyhydroxyalkanoates (PHAs) from wastewater: A review. *Bioresource technology*, 297, 122478. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122478
- Marjadi, D. & Dharaiya, N. (2014). Recovery and characterization of poly(3-Hydroxybutyric acid) synthesized in *Staphylococcus epidermidis*. *African Journal of Environmental Science and Technology*, 8(6), 319-329. https://doi.org/10.5897/AJEST2014.1645
- Masood, F., Yasin, T., & Hameed, A. (2015). Polyhydroxyalkanoates—what are the uses? Current challenges and perspectives. *Critical reviews in biotechnology*, *35*(4), 514-521. https://doi.org/10.3109/07388551.2014.913548
- Mohanrasu, K., Rao, R. G. R., Dinesh, G. H., Zhang, K., Prakash, G. S., Song, D. P., ... & Arun, A. (2020). Optimization of media components and culture conditions for polyhydroxyalkanoates production by *Bacillus megaterium*. *Fuel*, 271, 117522.
- Nielsen, C., Rahman, A., Rehman, A. U., Walsh, M. K., & Miller, C. D. (2017). Food waste conversion to microbial polyhydroxyalkanoates. *Microbial biotechnology*, *10*(6), 1338-1352. https://doi.org/10.1111/1751-7915.12776

Dirección General de Investigación –DIGI-

- Obruca, S., Marova, I., Melusova, S., & Mravcova, L. (2010). Production of polyhydroxyalkanoates from cheese whey employing *Bacillus megaterium* CCM 2037. *Annals of Microbiology, 61*, 947-953. https://doi.org/10.1007/s13213-011-0218-
- Pagliano, G., Galletti, P., Samorì, C., Zaghini, A., & Torri, C. (2021). Recovery of polyhydroxyalkanoates from single and mixed microbial cultures: a review. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 54. https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.624021
- Pantazaki, A. A., Papaneophytou, C. P., Pritsa, A. G., Liakopoulou-Kyriakides, M., & Kyriakidis, D. A. (2009). Production of polyhydroxyalkanoates from whey by *Thermus thermophilus* HB8. *Process Biochemistry*, 44(8), 847-853. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2009.04.002
- Pérez, R., Casal, J., Muñoz, R., & Lebrero, R. (2019). Polyhydroxyalkanoates production from methane emissions in *Sphagnum* mosses: Assessing the effect of temperature and phosphorus limitation. *Science of The Total Environment*, 688, 684-690. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.296
- Pernicova, I., Kucera, D., Nebesarova, J., Kalina, M., Novackova, I., Koller, M., & Obruca, S. (2019). Production of polyhydroxyalkanoates on waste frying oil employing selected *Halomonas* strains. *Bioresource technology*, 292, 122028. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122028
- Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo. (2018). Objetivos de Desarrollo Sostenible. Recuperado de http://www.gt.undp.org/content/guatemala/es/home/sustainable-development-goals.html
- Rathika, R., Janaki, V., Shanthi, K., & Kamala-Kannan, S. (2019). Bioconversion of agro-industrial effluents for polyhydroxyalkanoates production using *Bacillus subtilis* RS1. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 16, 5725-5734.
- Sathya, A. B., Sivasubramanian, V., Santhiagu, A., Sebastian, C., & Sivashankar, R. (2018). Production of polyhydroxyalkanoates from renewable sources using bacteria. *Journal of Polymers and the Environment*, 26(9), 3995-4012. https://doi.org/10.1007/s10924-018-1259-7
- Sharma, P. K., Munir, R. I., Blunt, W., Dartiailh, C., Cheng, J., Charles, T. C., & Levin, D. B. (2017). Synthesis and physical properties of polyhydroxyalkanoate polymers with different monomer

Dirección General de Investigación -DIGI-

- compositions by recombinant *Pseudomonas putida* LS46 expressing a novel PHA synthase (PhaC116) enzyme. *Applied Sciences*, 7(3), 242.
- Tripathi, A. D., Paul, V., Agarwal, A., Sharma, R., Hashempour-Baltork, F., Rashidi, L., & Darani, K. K. (2021). Production of polyhydroxyalkanoates using dairy processing waste-A review. *Bioresource Technology*, 124735. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124735
- Tu, W., Zhang, D., Wang, H., & Lin, Z. (2019). Polyhydroxyalkanoates (PHA) production from fermented thermal-hydrolyzed sludge by PHA-storing denitrifiers integrating PHA accumulation with nitrate removal. *Bioresource technology*, 292, 121895. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121895
- Uwineza, P. A., & Waśkiewicz, A. (2020). Recent Advances in Supercritical Fluid Extraction of Natural Bioactive Compounds from Natural Plant Materials. *Molecules*, 25(17), 3847.
- Wang, S., Chen, W., Xiang, H., Yang, J., Zhou, Z., & Zhu, M. (2016). Modification and potential application of short-chain-length polyhydroxyalkanoate (SCL-PHA). *Polymers*, 8(8), 273. https://doi.org/10.3390/polym8080273
- Wen, Q., Chen, Z., Wang, C., & Ren, N. (2012). Bulking sludge for PHA production: Energy saving and comparative storage capacity with well-settled sludge. *Journal of Environmental Sciences*, 24(10), 1744-1752. https://doi.org/10.1016/S1001-0742(11)61005-X
- Yasin, A. R., & Al-Mayaly, I. K. (2021). Study of the fermentation conditions of the Bacillus Cereus Strain ARY73 to produce polyhydroxyalkanoate (PHA) from glucose. *Journal of Ecological Engineering*, 22(8), 217-219.
- Zhang, Y., Kang, S., Allen, S., Allen, D., Gao, T., & Sillanpää, M. (2020). Atmospheric microplastics:

 A review on current status and perspectives. *Earth-Science Reviews*, 203, 103118. https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2020.103118

14 Apéndice

No aplica.

Dirección General de Investigación -DIGI-

15 Aspectos éticos y legales

No aplica

16 Vinculación

Actividades realizadas:

Unidad de Vinculación y Gestión de Recursos –UVIGER-, Facultad de Agronomía, Laboratorio de diagnóstico fitopatológico.

Utilización de instalaciones de laboratorio para realizar parte experimental del proyecto.

Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social

Trámite y obtención de licencia para compra y uso de precursores y sustancias Químicas controladas.

Unidad de Investigaciones en Toxicología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia - USAC-.

Almacenamiento de reactivos químicos controlados.

Laboratorio de Análisis Fisicoquímicos y Microbiológicos –LAFYN- de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

Solicitud de realización de parte experimental del proyecto en las instalaciones del laboratorio.

Coordinadora de estudiantes de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Dirección General de Investigación - DIGI-

Se solicitaron permisos para el ingreso al edificio T-12, de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

Secretaría Adjunta, Director de la Escuela de Química Biológica y Jefe del Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

Autorización y apertura del edificio T-12 e ingreso a los laboratorios de Microbiología de la Escuela de Química Biológica.

Se logró además del ingreso al edificio la obtención de medios de cultivo y cepas de las bacterias del proyecto para continuar con la fase experimental.

17 Estrategia de difusión, divulgación y protección intelectual

Presentación en eventos nacionales e internacionales.

Participación en el taller virtual "Bioprospección de la Diversidad en Guatemala" organizado por el Departamento de Microbiología, Escuela de Química Biológica, Universidad de San Carlos de Guatemala con las ponencia "Biopolímeros microbianos" y "Una alternativa a los plásticos derivados del petróleo, producción y cuantificación de PHA de bacterias aisladas de hábitats salinos en Guatemala en medios químicamente definidos y residuos agrícolas" En el marco de la Microbiología Industrial y de los proyectos relacionados con el potencial biotecnológico de la diversidad nativa, cofinanciados por la Dirección General de Investigación de la Universidad de San Carlos de Guatemala, durante los años 2020, 2021 y 2022, dirigido a estudiantes del curso Microbiología Industrial y a profesionales Químicos Biólogos. Realizado el 20 de Abril de 2022.

Participación en la organización del taller virtual "Bioprospección de la Biodiversidad en Guatemala". Departamento de Microbiología, Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. En el marco de la Microbiología

Dirección General de Investigación - DIGI-

Industrial y de los proyectos relacionados con el potencial biotecnológico de la diversidad nativa, cofinanciados por la Dirección General de Investigación de la Universidad de San Carlos de Guatemala, durante los años 2020, 2021 y 2022, Realizado el 20 de Abril de 2022.

Participación en la "Segunda Semana Latinoamericana de la Calidad en Salud" con la conferencia "Una alternativa a los plásticos derivados del petróleo" organizada por la Confederación Latinoamericana de Bioquímica Clínica (Colabiocli).7 de Abril de 2022.

Participación en la Noche Iberoamericana de los Investigadores llevada a cabo por la Organización de Estados Iberoamericanos para la Educación, la Ciencia y la Cultura (OEI) con la conferencia "Diversidad y bioprospección de hongos anamorfos en Guatemala (Fase III): Producción de amilasas y celulásas utilizando residuos agrícolas". Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación —Digi-. Realizada del 30 de Septiembre al 1 de Octubre.

Publicación en Revista indexada.

Figueroa, R., Morales, O., Álvarez, G., María Bran. (2022). Producción de plásticos biodegradables a partir de bacterias de hábitats salinos aisladas de la Laguna de Ayarza. *Ciencia, Tecnología y Salud*, *9*(2),189-198. https://doi.org/10.36829/63CTS.v9i2.1368

18 Aporte de la propuesta de investigación a los ODS:

En el año 2015, los Estados Miembros de la ONU entre los que se encuentra Guatemala se comprometieron a poner fin a la pobreza, proteger al planeta y garantizar que todas las personas gocen de paz y prosperidad a través de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS). Entre estos objetivos

Dirección General de Investigación -DIGI-

se encuentra el de vida submarina, en este se menciona que la fauna de los océanos y demás cuerpos de agua son el sustento para aproximadamente 3000 millones de personas. Sin embargo, la contaminación de dichos recursos hídricos ha afectado a plantas y animales, principalmente por la acumulación de CO₂ que acidifica los océanos y también por la generación de microplásticos que pueden acumularse en los tejidos de los animales y provocar efectos tóxicos (Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo [PNUD], 2018).

El aprovechamiento de los desechos de la industria láctica a través de las cepas nativas de bacterias para la producción de polihidroxialcanoatos facilitará el alcanzar la meta propuesta en los ODS para el año 2030. Esto se lograría ya que los PHA pueden sustituir a los plásticos sintéticos que son los principales causantes del deterioro ambiental y se asocian directamente con la reducción de la vida submarina. Esta investigación también está relacionada con los ODS de aguas limpias y saneamiento y el de acción por el clima debido a que la disminución de la necesidad de plásticos tendría un impacto positivo en la cantidad de desechos que son vertidos a los recursos hídricos, asimismo las emisiones de gases de efecto invernadero generados por los procesos de producción de derivados del petróleo e incineración de este tipo de productos serían menores (PNUD, 2018).

Esta investigación también ayudará a cumplir los objetivos de la campaña "Mares Limpios" propuesta por la Organización de las Naciones Unidas la cual busca promover el derecho a un medio ambiente saludable, incluyendo océanos libres de plástico. Asimismo, también se ayudará a cumplir las disposiciones gubernamentales de Guatemala ya que a través del Acuerdo Gubernativo 189-2019 se están haciendo esfuerzos para prohibir el uso y distribución de bolsas plásticas de un solo uso y de distintos utensilios como pajillas, platos y vasos elaborados con plásticos sintéticos. En este sentido los PHA podrían ser una alternativa que reduzca paulatinamente la necesidad de este tipo de productos (Blessing, 2018; Contreras, 2018).

Finalmente, la utilización de residuos de la industria de lácteos para la producción de polihidroxialcanoatos podrá contribuir a cumplir con los compromisos que ha adquirido Guatemala respecto frenar la contaminación causada por los plásticos petroquímicos. La generación a nivel local

Dirección General de Investigación –DIGI-

utilizando suero lácteo de PHA también puede disminuir los costos de producción de los bioplásticos lo que permitirá que estos sean más accesibles y capaces de sustituir a los polímeros elaborados a base de derivados del petróleo.

Dirección General de Investigación - DIGI-

19 Orden de pago final

Nombres y apellidos	Categoría (investigador /auxiliar)	Registro de personal	Procede pago de mes (Sí / No)	Firma
Ricardo Andrés Figueroa Ceballos	Investigador	20151723	Si	A June

20 Declaración del Coordinador(a) del proyecto de investigación

El Coordinador de proyecto de investigación con base en el *Reglamento para el desarrollo de los proyectos de investigación financiados por medio del Fondo de Investigación*, artículos 13 y 20, deja constancia que el personal contratado para el proyecto de investigación que coordina ha cumplido a satisfacción con la entrega de informes individuales por lo que es procedente hacer efectivo el pago correspondiente.

Lcda. María del Carmen Bran González Nombre del coordinador del proyecto de investigación	Maria del Gamen Bay	
Trompte del coordinador del projecto de investigación		
Fecha: 30 de enero de 2023		

Dirección General de Investigación – DIGI-

21 Aval del Director(a) del instituto, centro o departamento de investigación o Coordinador de investigación del centro regional universitario

De conformidad con el artículo 13 y 19 del *Reglamento para el desarrollo de los proyectos de investigación financiados por medio del Fondo de Investigación* otorgo el aval al presente informe mensual de las actividades realizadas en el proyecto (escriba el nombre del proyecto de investigación) en mi calidad de (indique: Director del instituto, centro o departamento de investigación o Coordinador de investigación del centro regional universitario), mismo que ha sido revisado y cumple su ejecución de acuerdo a lo planificado.

Vo.Bo. Dra. María Eunice Enríquez Cotton Firma

Fecha: 30 de enero de 2023

22 Visado de la Dirección General de Investigación

Vo.Bo. M.Sc. Andrea Rodas

Fecha: 30 de enero de 2023

Vo.Bo. Ing. Rufino Salazar Coordinador General de Programas Universitarios de Investigación

Fecha: 30 de enero de 2023