

# Polihidroxicanoatos (PHAs) en bacterias como alternativa ante el aumento de la contaminación ambiental: análisis metabólico y avances en la actualidad

## Polyhydroxyalkanoates (PHAs) in bacteria as an alternative to environmental pollution increase: metabolic analysis and current advances

Steven Ceciliano-Castro<sup>1</sup>, Daniela Vargas-Morera<sup>2</sup>, Roselind Vargas-Delgado<sup>3</sup>, Melany Villanueva-Ilama<sup>4</sup>, Dayana Mora-Rodríguez<sup>5</sup>

Fecha de recepción: 22 de febrero, 2023  
Fecha de aprobación: 4 de junio, 2023

Ceciliano-Castro, A; Vargas-Morera, D; Vargas-Delgado, R; Villanueva-Ilama, M; Mora-Rodríguez, D. Polihidroxicanoatos (PHAs) en bacterias como alternativa ante el aumento de la contaminación ambiental: análisis metabólico y avances en la actualidad. *Tecnología en Marcha*. Vol. 37, N° 2. Abril-Junio, 2024. Pág. 60-69.

 <https://doi.org/10.18845/tm.v37i2.6493>

- 1 Estudiante. Escuela de Biología, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica. Correo electrónico: stevenceci858@estudiantec.cr  
 <https://orcid.org/0000-0002-0478-6237>
- 2 Estudiante. Escuela de Biología, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica. Correo electrónico: daniela.vm@estudiantec.cr  
 <https://orcid.org/0000-0002-5816-3641>
- 3 Estudiante. Escuela de Biología, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica. Correo electrónico: roselind.vargas@estudiantec.cr  
 <https://orcid.org/0000-0001-7051-3563>
- 4 Estudiante. Escuela de Biología, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica. Correo electrónico: mvillanueva@estudiantec.cr  
 <https://orcid.org/0000-0002-5780-6836>
- 5 Estudiante. Escuela de Biología, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica. Correo electrónico: dayanamora1424@estudiantec.cr  
 <https://orcid.org/0000-0002-5484-6461>

## Palabras clave

Polihidroxicanoatos; plásticos; microorganismos; extracción; biorremediación.

## Resumen

Los polihidroxicanoatos (PHA), son plásticos biodegradables sintetizados por una gran variedad de microorganismos y se identifican por compartir características muy similares con los plásticos de origen petroquímico. Estos biopolímeros pueden ser aprovechados para reemplazar materiales de plástico, los mismos que actualmente representan un gran problema de contaminación ambiental al ser poco degradables. Los estudios más recientes, se enfocan en la búsqueda de estrategias de extracción de PHA, empleando la biorremediación en plásticos petroquímicos, combustibles, y en tratamiento de aguas que buscan reducir el impacto de la contaminación ambiental. Todo esto se lleva a cabo mediante reacciones químicas, que las bacterias realizan con las fuentes de carbono, generando PHA mientras se eliminan los desechos contaminantes. La biodegradabilidad es la principal ventaja de estos materiales sintetizados por medio de microorganismos, en comparación con los plásticos convencionales que no poseen esta propiedad. El objetivo de esta revisión es evidenciar la producción de polihidroxicanoatos (PHA), en bacterias como alternativa ante el aumento de la contaminación ambiental.

## Keywords

Polyhydroxyalkanoates; plastics; microorganisms; extraction; bioremediation.

## Abstract

Polyhydroxyalkanoates (PHA) are biodegradable plastics synthesized by a wide variety of microorganisms and are identified by sharing very similar characteristics with petrochemical plastics. These biopolymers can be used to replace plastic materials, the same ones that currently represent a major environmental pollution problem as they are poorly degradable. The most recent studies focus on the search for PHA extraction strategies, using bioremediation in petrochemical plastics, fuels, and in water treatment that seek to reduce the impact of environmental pollution. All this is carried out through chemical reactions that bacteria carry out with carbon sources, generating PHA while contaminating waste is eliminated. The main advantage of these compared to petroleum-derived plastics is that being produced by microorganisms. The objective of this review is to show the production of polyhydroxyalkanoates in bacteria as an alternative to the increase in environmental pollution.

## Introducción

Los plásticos son polímeros de alta demanda en las actividades diarias de la vida humana debido a sus múltiples utilidades, sin embargo, su carácter poco degradable hace que permanezcan mucho tiempo en el medio ambiente, causando problemas a los organismos vivos, al afectar los recursos naturales [1]. Para enfrentar este escenario, se han generado alternativas ambientalmente amigables para reducir su uso hasta sustituirlos. Por ello, los biopolímeros como los polihidroxicanoatos (PHA) se presentan como una opción en auge al adaptarse al principio de la sostenibilidad [2].

Los PHAs son metabolitos secundarios sintetizados y acumulados naturalmente en forma de gránulos por diversos microorganismos, a causa de un exceso de carbono o deficiencia de nutrientes [3]. Al ser biológicamente compatibles, reabsorbibles y degradables [4], sus derivados no presentan ningún efecto negativo sobre el medio ambiente.

Por sus características de interés ambiental, se ha valorado el uso de desechos generados por las industrias como fuente de carbono para la síntesis de este biopolímero al ser más rentables y ecológicos, incluyendo aguas residuales, hidrocarburos, residuos orgánicos u otros [5]. De esta manera, su potencial como agentes biorremediadores es aún más significativo al disminuir los contaminantes que pueden perjudicar el medio ambiente.

La revisión bibliográfica realizada pretende proporcionar información acerca de la caracterización estructural del PHA, sus propiedades y métodos metabólicos realizados en bacterias que conllevan a la síntesis de dichos biopolímeros. Además, se resalta la importancia de su posible aplicación en el sector ambiental como agente purificador de desechos, al actuar sobre las principales fuentes de carbono presente en los residuos generados por la industria humana.

### **Clasificación de polihidroxicanoatos (PHA)**

Los polihidroxicanoatos (PHA), son poliésteres termoplásticos sintetizados por varios microorganismos procarióticos en condiciones de nutrición desequilibradas [4]. Estos poliésteres son biodegradables, y similares a los plásticos sintéticos en cuanto a sus propiedades materialistas [6].

Los PHAs, se clasifican tomando en cuenta la cantidad de átomos de carbono que se encuentran en el monómero incorporado en los polímeros por la longitud de su cadena: el poli (3-hidroxivalerato) y poli (3-hidroxibutirato) pertenecen al grupo de los PHAs de longitud de cadena corta (SCL), estos contienen de 1 a 5 átomos de carbono, además, se caracterizan por ser muy rígidos y carecer de propiedades mecánicas superiores [7]. Los PHAs de longitud de cadena media (MCL), contienen de 6 a 14 átomos de carbono [8], estos tienen una resistencia mecánica, temperatura de transición vítrea y cristalinidad, baja, lo que los convierte en elastoméricos, el poli (3-hidroxiocanoato) es un ejemplo de este grupo [9]. Asimismo, están los PHAs de longitud de cadena larga (LCL), estos tienen más de 14 átomos de carbono, como por ejemplo el poli(3-hidroxipentadecanoato) [8].

Esta clasificación de los PHAs como polímeros de cadena corta, media o larga están asociados con la enzima que realiza la síntesis, debido a que esta contiene una especificidad de sustrato la cual le permite actuar en monómeros que contienen distintos números de átomos de carbono [9].

Al agotarse la fuente de carbono en el medio ambiente, los PHAs actúan como compuestos que suministran almacenamiento y fuente de energía para el organismo [3]. Estos polímeros, cumplen una función importante en la protección de las células cuando estas presenta alto estrés por sal o temperatura [10]. Asimismo, tienen varias funciones relacionadas a la biodegradabilidad, biocompatibilidad, alta resistencia a la tracción y su producción a partir de diversas fuentes renovables [11], siendo estos PHAs inmunológicamente inertes [8].

Cabe resaltar que los PHAs, tienen distintas funciones según su clasificación, por ejemplo, los SCL-PHA, son empleados para generar productos de envasado de alimentos y artículos desechables mientras que, los MCL-PHA, al ser elastómeros se pueden aplicar en suturas quirúrgicas, implantes u otros objetos de interés [12].

## Propiedades fisicoquímicas de los PHAs

### Propiedades termales

Al ser parcialmente cristalinos, se utiliza la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ), y la temperatura de fusión ( $T_m$ ), para estudiar las propiedades térmicas de la fase amorfa y la fase cristalina respectivamente [13]. Se ha demostrado que la  $T_m$  de los PHAs, es directamente proporcional con el número de átomos de carbono de la cadena lateral, mientras que la  $T_g$  es inversamente proporcional, a la misma característica [14].

### Propiedades mecánicas

Esta propiedad varía dependiendo de la longitud de la cadena del polímero, para PHA de cadena corta (SCL), se establece que son frágiles y altamente cristalinos, mientras que los PHA de cadena media (MCL) son más flexibles y elásticos [14].

### Cristalinidad

Los PHA pueden cristalizar en diferentes modificaciones cristalinas, de forma similar a otros poliésteres [15]. El aumento en la longitud de las cadenas laterales puede causar una inhibición de la propiedad cristalizante, se ha reportado que dicha propiedad en MCL es más baja que en SCL [16].

### Biodegradabilidad

Los PHA son biodegradables en ambientes naturales, pero la efectividad de este proceso depende de factores como la composición de las comunidades microbianas, esto porque los microorganismos sintetizan enzimas extracelulares como PHA hidrolasas que actúan específicamente sobre el PHA y degradan el biopolímero [17]. Sumado a esto el pH, la temperatura, humedad, disponibilidad de oxígeno y nutrientes también pueden ser determinantes en este proceso [18].

## Principales rutas metabólicas para la síntesis de PHAs

Para la producción de estos biopolímeros, se activan distintas rutas metabólicas que cambian significativamente según los diferentes grupos de microorganismos. Los PHA se sintetizan en fases de crecimiento microbiano estacionarias con condiciones de crecimiento favorable, y exponenciales, en la cual presentan limitaciones de nutrientes y fuentes de carbono en exceso, lo que conduce a la síntesis y acumulación de PHA [6].

Los PHA se pueden sintetizar completamente utilizando varios microorganismos, como bacterias gram-positivas y gram-negativas, levaduras, hongos y algas, además dicha síntesis se lleva a cabo por medio de tres principales rutas metabólicas [19].

En la ruta I, se inicia con la transformación del azúcar en acetyl-CoA, seguido de la condensación bimolecular de dos moléculas de acetyl-CoA y la formación de acetoacetyl-CoA por acción de la  $\beta$ -cetotiolasa [6]. Posteriormente, el acetoacetyl-CoA se reduce a 3-hydroxybutyryl-CoA mediante la enzima NADPH-acetoacetyl-CoA reductasa; seguido por la acción de la PHA sintasa, finalmente se reduce a los respectivos PHA al catalizar la formación de enlaces éster en 3-hydroxybutyryl-CoA para generar poli (3HB) [7]. Se informó que *Ralstonia eutropha* sintetiza PHA siguiendo esta vía [20].

La ruta II de la síntesis de PHA en los microorganismos utiliza los ácidos grasos [21]. En este proceso se lleva a cabo la  $\beta$ -oxidación de los ácidos grasos y el acil-CoA generado se encarga de sintetizar los monómeros de PHA. En esta ruta intervienen enzimas como la

3-cetoacil-CoA reductasa, epimerasa, (*R*)-enoil-CoA hidratasa/enoil-CoA hidratasa I, acil-CoA oxidasa (putativo). En este caso, la molécula de 3-hidroxiacil-CoA funciona como una molécula precursora para la síntesis de PHA [22]. Un ejemplo de microorganismo que sintetiza MCL-PHA por esta vía es *Pseudomonas putida* [23].

Finalmente, en la vía III se requiere de dos enzimas esenciales, la 3-hidroxiacil-ACP-CoA transferasa (PhaG) y la malonil-CoA-ACP transacilasa (FabD). Estas enzimas se encargan de suministrar el precursor (3-hidroxiacil-ACP), que luego se convierte en 3-hidroxiacil-CoA. En el siguiente paso, este producto es catalizado por la PHA sintasa para finalmente producir PHA [24]. Se ha encontrado que *Pseudomonas mendocina* produce PHA por medio de esta ruta [25].

## Biorremediación y reducción de producción de plásticos petroquímicos

La gestión de residuos sólidos es el principal problema para el medio ambiente a causa de los plásticos petroquímicos, producidos por sustancias mediante la refinación del petróleo y su transformación, que se requieren estrictamente como materia prima en la industria [26].

Se han implementado alternativas como los polihidroxicanoatos (PHA) en bacterias ante el aumento de la contaminación ambiental debido a sus ventajas ecológicas como ser completamente biodegradables, el cual puede ser empleado así en la industria para sustituir los plásticos petro-plásticos, debido a su claro impacto en los ecosistemas [27]. Asociado a esto, la biorremediación se presenta como una estrategia fisicoquímica innovadora para evitar el daño y la contaminación del suelo basado en la acción de estas bacterias que pueden degradar de forma natural ciertos contaminantes al metabolizarlos [28].

Las bacterias de la familia halófilas extremas, se caracterizan por su capacidad de acumular grandes cantidades de PHAs, en sustratos simples, con fuentes de carbono económicas o residuos industriales, y además de ello por ser filogenéticamente diversas incluyendo bacterias gram-positivas y gram-negativas, y alguna de ellas metanogénicas [29]. Las mismas se caracterizan, por habitar en sitios de alta salinidad con zonas que se ubican en lugares secos y calientes [29]. Ecosistemas con estas características pueden haber en cualquier punto del mundo, así que se dice, que corresponden a cosmopolitas sin cierta restricción de distribución según la especie, con algunos ejemplos de hábitats como los lagos, mares y suelos salados [30].

La salinidad en la que se desarrollan y sintetizan los PHAs, disminuye los problemas de esterilidad por las características de los contaminantes y su fuente durante el proceso de biorremediación, con una reducción de los costos de producción [31]. De esta manera, se han utilizado para generar biopolímeros, mismos que a la vez funcionan en la industria, para ejercer labores de biorremediación y restauración ecológica en ecosistemas altamente dañados. Esto gracias a su capacidad para remover residuos tóxicos de aguas residuales hipersalinas, como se presenta en fábricas de agroquímicos, farmacéuticos y extracción de petróleo [32].

La bacteria es capaz de producir PHAs como parte de su mecanismo de biorremediación al mantener intracelularmente una reserva de carbono y energía a partir de materia contaminante [33]. Además, su gran impacto ecológico se asocia con la aceleración de procesos en la industria de descontaminación debido a sus enzimas hidrolíticas, que se pueden usar como biocatalizadores, mismos que demuestran que las bacterias halófilas, son una alternativa para extraer compuestos de ambientes contaminados [34]. Las bacterias tienen el potencial de degradar hidrocarburos y materia orgánica de aguas residuales para lograr disminuir el impacto en los sitios contaminados [35], como se expone seguidamente.

## Producción de PHAs a partir de hidrocarburos

La biorremediación de combustibles es una solución para una de las peores contaminaciones a nivel mundial en el medio ambiente [36]. Los derrames de combustible pueden ocurrir en las actividades diarias de diversos sectores, como el transporte, zonas industriales y demás [37]. Dicho proceso, se realiza tras un análisis inicial del escenario, el tipo de hidrocarburo, del terreno, bacteria a utilizar, y por último la población afectada junto con los estudios técnicos de su alcance hidrogeológico de acuerdo al tipo de suelo [38]. Esta es una solución segura por sus ventajas ante el tratamiento de derrame de hidrocarburos para suelos y aguas contaminadas, al mantener la seguridad de los ecosistemas y la salud humana por su poca perturbación, lo que la hace ideal para el rejuvenecimiento sostenible del suelo para integrarlo al medio ambiente [39].

Se han encontrado géneros bacterianos como; el *Bacillus* y *Pseudomonas*, grandes productoras de polihidroxialcanoatos [40], capaces de actuar sobre compuestos orgánicos y generar biopolímeros [41]. *Bacillus*, se conforma de bacterias que se caracterizan por su capacidad hidrolítica con enzimas que actúan sobre hidrocarburos produciendo PHAs de forma rentable [42]. Para lograr aislar las mejores cepas de bacteria se han trabajado constantemente en técnicas fenotípicas y moleculares [43]. Las bacterias pueden utilizar distintos desechos como materia prima para producir polihidroxialcanoatos, sin embargo, los más utilizados son los de industrias lácteas, de aceites, y la agroindustria [44]. Además, pueden ser encontradas en diversos hábitats, tanto ecosistemas acuáticos como terrestres, contando así con funciones ampliamente usadas para la síntesis por su adaptabilidad a cualquier tipo de ambiente [42].

La bioacumulación, basada en la incorporación de los metales pesados al interior de las células de biomasa viva y la biosorción, en el cual los iones metálicos permanecen en la superficie celular por diferentes mecanismos, caracterizan a dichas bacterias [45]. Por ello, se establece su gran impacto positivo en la correlación existente entre industria y el medio ambiente, dado la capacidad de *Bacillus* de eliminar desechos fósiles [41].

Los métodos de extracción de estos biopolímeros se basan en procesos como la precipitación, coagulación, intercambio iónico, ósmosis inversa, adsorción así como el uso de membranas [46]. No obstante, llegan a ser tediosos y costosos, esto si se aplican en sustratos altamente contaminados en términos de reactivos químicos utilizados, y en energía requerida para aplicarlo. Es por ello que los microorganismos se han presentado como otra opción más factible, ya que pueden inmovilizar esos compuestos sólidos [47].

## Tratamiento de aguas residuales para generar PHAs

Las aguas residuales representan un problema grave para la salud de la población y el medio ambiente, al trasladar muchos tipos de contaminantes, según su origen, asociados a patógenos, metales pesados, excesos de materia orgánica, productos de cuidado personal y de limpieza, agroquímicos, medicamentos, entre muchos otros [48]. Grandes volúmenes de estos son generados diariamente debido a la degradación constante de los recursos hídricos explotados a causa del mal uso de la tierra por la expansión de actividades agrícolas, industriales o turísticas; relacionadas a estos el aumento exponencial de la población [49].

Muchos métodos han sido aplicados para el tratamiento de las aguas residuales, sin embargo, resulta complicado brindar un tratamiento adecuado debido a la naturaleza compleja de los efluentes producidos, donde los gastos son más altos que las ganancias producidas [50]. Tomando en cuenta que estas aguas negras están enriquecidas con varios nutrientes orgánicos e inorgánicos se encontró la aplicación de crecimiento bacteriano como agente purificador del agua [51]. Con la producción y extracción de PHA de dichas corrientes contaminadas como

sustrato, se destaca su aporte ambiental y la potencialidad de producción de bioplásticos, al permitir un mayor control de las biomásas con una valorización del ciclo de las aguas residuales dentro de un enfoque de economía circular [52].

Especies de bacterias como *Serratia* sp. han demostrado su potencial de eliminación de contaminantes de aguas residuales donde los PHA producidos alcanzan el 51% en el peso seco de sus células, asociado al consumo de ácidos grasos como medio metabólico principal [51]. Por su parte, *Azotobacter vinelandii* produjo hasta un 58% de PHA al utilizar aguas residuales porcinas como medio de crecimiento [53], donde sus fuentes de carbono son principalmente azúcares como la glucosa [54].

El proceso de extracción permanece como uno de los aspectos limitantes de la producción de PHA, y en aguas residuales se mantiene un consumo importante de reactivos y pretratamientos de las fuentes utilizadas para obtener un grado de pureza necesario para las industrias que lo utilizan [52]. El uso de aguas contaminadas como sustrato requiere de tratamientos previos para obtener mejores resultados de recuperación, al contener muchos tipos de sustancias sólidas que pueden afectar la calidad de los polímeros [55]. La coagulación o floculación se considera el método más apropiado para removerlos, con quitosano, haba o frijol común [56].

Se ha encontrado que métodos como la flotación, un mecanismo fisicoquímico de separación, es ampliamente utilizado en el tratamiento de aguas residuales por su eficiencia [57], asociada a la poca cantidad de desechos producidos en comparación con otros tratamientos como los surfactantes [58]. Esta se caracteriza por ser un proceso de disrupción celular o extracción por solvente donde las células microbianas se tratan a 30°C con cloroformo durante 72hrs. Posteriormente, la mezcla se mantiene a temperatura ambiente durante 12 h para la separación de los restos celulares por autoflotación. Este método ha mostrado hasta un 85 % (p/p) de peso seco celular que alcanza concentraciones de PHA puros de hasta un 98% [53].

## Conclusión

La producción de polihidroxicanoatos destaca como una alternativa de explotación para la sustitución de plásticos petroquímicos debido a sus beneficios. Sin embargo, los desafíos para poder garantizar una producción sostenible de PHA, se encuentran en los costos de la fuente de carbono, así como la mejora de la producción y la eficiencia de extracción.

Los PHAs se pueden sintetizar utilizando varios microorganismos, recalando la acción de las bacterias, las cuales siguen distintas rutas según su sustrato. Por ejemplo, las especies de bacterias como *Serrani* sp. y *Azotobacter vinelandii*, presentan rutas metabólicas asociadas al consumo de ácidos grasos, mientras que la segunda presenta una fuente de carbono principalmente de azúcares. Esto es importante para saber qué tipo de cepas utilizar en cada tipo de sustrato específico, para obtener un mejor rendimiento en la obtención de biopolímeros.

La aplicación de subproductos de desecho generados por la contaminación se establece como el camino a seguir en los procesos de producción de PHA, directamente relacionado a una sociedad donde conforme aumenta la población los desechos generados son cada vez mayores. Utilizar fuentes de carbono como aguas residuales o hidrocarburos no sólo disminuirá los costos de producción, sino que también concluye de forma exitosa el ciclo de consumo de materiales empleados en los tratamientos de desechos o biorremediación, siendo así uno de los pilares fundamentales del cumplimiento de la economía circular.

## Referencias

- [1] L. Lebreton y A. Andrady, «Future scenarios of global plastic waste generation and disposal», *Palgrave Commun*, vol. 5, n.º 1, Art. n.º 1, ene. 2019, doi: 10.1057/s41599-018-0212-7.

- [2] T. Pittmann y H. Steinmetz, «Polyhydroxyalkanoate Production on Waste Water Treatment Plants: Process Scheme, Operating Conditions and Potential Analysis for German and European Municipal Waste Water Treatment Plants», *Bioengineering (Basel)*, vol. 4, n.º 2, p. 54, jun. 2017, doi: 10.3390/bioengineering4020054.
- [3] A. B. Akinmulewo y O. C. Nwinyi, «Polyhydroxyalkanoate: a biodegradable polymer (a mini review)», *J. Phys.: Conf. Ser.*, vol. 1378, n.º 4, p. 042007, dic. 2019, doi: 10.1088/1742-6596/1378/4/042007.
- [4] S. Riaz, K. Y. Rhee, y S. J. Park, «Polyhydroxyalkanoates (PHAs): Biopolymers for Biofuel and Biorefineries», *Polymers*, vol. 13, n.º 2, Art. n.º 2, ene. 2021, doi: 10.3390/polym13020253.
- [5] R. G. Saratale *et al.*, «A comprehensive overview and recent advances on polyhydroxyalkanoates (PHA) production using various organic waste streams», *Bioresource technology*, vol. 325, p. 124685, 2021.
- [6] S. Behera, M. Priyadarshane, Vandana, y S. Das, «Polyhydroxyalkanoates, the bioplastics of microbial origin: Properties, biochemical synthesis, and their applications», *Chemosphere*, vol. 294, p. 133723, may 2022, doi: 10.1016/j.chemosphere.2022.133723.
- [7] V. Sharma, R. Sehgal, y R. Gupta, «Polyhydroxyalkanoate (PHA): Properties and Modifications», *Polymer*, vol. 212, p. 123161, ene. 2021, doi: 10.1016/j.polymer.2020.123161.
- [8] B. Bhattacharyya, H. T. Behera, A. Mojumdar, V. Raina, y L. Ray, «Polyhydroxyalkanoates: Resources, Demands and Sustainability», en *Soil Microenvironment for Bioremediation and Polymer Production*, John Wiley & Sons, Ltd, 2019, pp. 253-270. doi: 10.1002/9781119592129.ch14.
- [9] R. Dwivedi, R. Pandey, S. Kumar, y D. Mehrotra, «Poly hydroxyalkanoates (PHA): Role in bone scaffolds», *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, vol. 10, n.º 1, pp. 389-392, ene. 2020, doi: 10.1016/j.jobcr.2019.10.004.
- [10] R. Mitra, T. Xu, H. Xiang, y J. Han, «Current developments on polyhydroxyalkanoates synthesis by using halophiles as a promising cell factory», *Microbial Cell Factories*, vol. 19, n.º 1, p. 86, abr. 2020, doi: 10.1186/s12934-020-01342-z.
- [11] P. Tyagi y A. Sharma, «Utilization of crude paper industry effluent for Polyhydroxyalkanoate (PHA) production», *Environmental Technology & Innovation*, vol. 23, p. 101692, ago. 2021, doi: 10.1016/j.eti.2021.101692.
- [12] C. Kourmentza *et al.*, «Recent Advances and Challenges towards Sustainable Polyhydroxyalkanoate (PHA) Production», *Bioengineering*, vol. 4, n.º 2, Art. n.º 2, jun. 2017, doi: 10.3390/bioengineering4020055.
- [13] M. E. Grigore, R. M. Grigorescu, L. Iancu, R.-M. Ion, C. Zaharia, y E. R. Andrei, «Methods of synthesis, properties and biomedical applications of polyhydroxyalkanoates: a review», *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, vol. 30, n.º 9, pp. 695-712, jun. 2019, doi: 10.1080/09205063.2019.1605866.
- [14] S. Gopi, M. Kontopoulou, B. A. Ramsay, y J. A. Ramsay, «Manipulating the structure of medium-chain-length polyhydroxyalkanoate (MCL-PHA) to enhance thermal properties and crystallization kinetics», *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 119, pp. 1248-1255, nov. 2018, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.08.016.
- [15] M. Eesaee, P. Ghassemi, D. D. Nguyen, S. Thomas, S. Elkoun, y P. Nguyen-Tri, «Morphology and crystallization behaviour of polyhydroxyalkanoates-based blends and composites: A review», *Biochemical Engineering Journal*, p. 108588, ago. 2022, doi: 10.1016/j.bej.2022.108588.
- [16] C. Sanhueza, F. Acevedo, S. Rocha, P. Villegas, M. Seeger, y R. Navia, «Polyhydroxyalkanoates as biomaterial for electrospun scaffolds», *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 124, pp. 102-110, mar. 2019, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.11.068.
- [17] L. S. Dilkes-Hoffman, P. A. Lant, B. Laycock, y S. Pratt, «The rate of biodegradation of PHA bioplastics in the marine environment: A meta-study», *Marine Pollution Bulletin*, vol. 142, pp. 15-24, may 2019, doi: 10.1016/j.marpolbul.2019.03.020.
- [18] M. Fernandes, A. Salvador, M. M. Alves, y A. A. Vicente, «Factors affecting polyhydroxyalkanoates biodegradation in soil», *Polymer Degradation and Stability*, vol. 182, p. 109408, dic. 2020, doi: 10.1016/j.polyimdegradstab.2020.109408.
- [19] N. n. n. Anitha y R. K. Srivastava, «Microbial Synthesis of Polyhydroxyalkanoates (PHAs) and Their Applications», en *Environmental and Agricultural Microbiology*, John Wiley & Sons, Ltd, 2021, pp. 151-181. doi: 10.1002/9781119525899.ch7.
- [20] M. Raberg, E. Volodina, K. Lin, y A. Steinbüchel, «Ralstonia eutropha H16 in progress: Applications beside PHAs and establishment as production platform by advanced genetic tools», *Critical Reviews in Biotechnology*, vol. 38, n.º 4, pp. 494-510, may 2018, doi: 10.1080/07388551.2017.1369933.
- [21] S. Chavan, B. Yadav, R. D. Tyagi, y P. Drogui, «A review on production of polyhydroxyalkanoate (PHA) biopolyesters by thermophilic microbes using waste feedstocks», *Bioresource Technology*, vol. 341, p. 125900, dic. 2021, doi: 10.1016/j.biortech.2021.125900.



- [22] M. Palencia, T. A. Lerma, V. Garcés, M. A. Mora, J. M. Martínez, y S. L. Palencia, «Chapter 6 - Polymer biosynthesis and biotransformations», en *Eco-friendly Functional Polymers*, M. Palencia, T. A. Lerma, V. Garcés, M. A. Mora, J. M. Martínez, y S. L. Palencia, Eds. Elsevier, 2021, pp. 89-104. doi: 10.1016/B978-0-12-821842-6.00029-4.
- [23] S. H. Mohammad y B. Bhukya, «Biotransformation of toxic lignin and aromatic compounds of lignocellulosic feedstock into eco-friendly biopolymers by *Pseudomonas putida* KT2440», *Bioresource Technology*, vol. 363, p. 128001, nov. 2022, doi: 10.1016/j.biortech.2022.128001.
- [24] X. Zhang, Y. Lin, Q. Wu, Y. Wang, y G.-Q. Chen, «Synthetic Biology and Genome-Editing Tools for Improving PHA Metabolic Engineering», *Trends in Biotechnology*, vol. 38, n.º 7, pp. 689-700, jul. 2020, doi: 10.1016/j.tibtech.2019.10.006.
- [25] F. Zhao *et al.*, «Metabolic engineering of *Pseudomonas mendocina* NK-01 for enhanced production of medium-chain-length polyhydroxyalkanoates with enriched content of the dominant monomer», *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 154, pp. 1596-1605, jul. 2020, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.11.044.
- [26] H.-K. Lee, S. Chang, W. Park, T.-J. Kim, S. Park, y H. Jeon, «Effective treatment of uranium-contaminated soil-washing effluent using precipitation/flocculation process for water reuse and solid waste disposal», *Journal of Water Process Engineering*, vol. 48, p. 102890, ago. 2022, doi: 10.1016/j.jwpe.2022.102890.
- [27] D. Kucera *et al.*, «Characterization of the promising poly(3-hydroxybutyrate) producing halophilic bacterium *Halomonas halophila*», *Bioresource Technology*, vol. 256, pp. 552-556, may 2018, doi: 10.1016/j.biortech.2018.02.062.
- [28] I. Ihsanullah, A. Jamal, M. Ilyas, M. Zubair, G. Khan, y M. A. Atieh, «Bioremediation of dyes: Current status and prospects», *Journal of Water Process Engineering*, vol. 38, p. 101680, dic. 2020, doi: 10.1016/j.jwpe.2020.101680.
- [29] G. Gecim, G. Aydin, T. Tavsanoğlu, E. Erkoç, y A. Kalemtaş, «Review on extraction of polyhydroxyalkanoates and astaxanthin from food and beverage processing wastewater», *Journal of Water Process Engineering*, vol. 40, p. 101775, abr. 2021, doi: 10.1016/j.jwpe.2020.101775.
- [30] S. F. Corsino, M. Capodici, M. Torregrossa, y G. Viviani, «A comprehensive comparison between halophilic granular and flocculent sludge in withstanding short and long-term salinity fluctuations», *Journal of Water Process Engineering*, vol. 22, pp. 265-275, abr. 2018, doi: 10.1016/j.jwpe.2018.02.013.
- [31] W. T. Pecher *et al.*, «Effects of road salt on microbial communities: Halophiles as biomarkers of road salt pollution», *PLOS ONE*, vol. 14, n.º 9, p. e0221355, sep. 2019, doi: 10.1371/journal.pone.0221355.
- [32] F. L. Martínez, «Caracterización genética y bioquímica de microorganismos relacionados al metabolismo del litio en aguas y suelos del NOA», mar. 2019, Accedido: 4 de octubre de 2022. [En línea]. Disponible en: <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/80288>
- [33] A.-D.-P. Flores Vásquez, E.-I. Idrogo, y C. R. Carreño Farfán, «Rendimiento de polihidroxialcanoatos (PHA) en microorganismos halófilos aislados de salinas», *Revista Peruana de Biología*, vol. 25, n.º 2, pp. 153-160, abr. 2018, doi: 10.15381/rpb.v25i2.14249.
- [34] F. A. El-malek, A. Farag, S. Omar, y H. Khairy, «Polyhydroxyalkanoates (PHA) from *Halomonas pacifica* ASL10 and *Halomonas salifodiane* ASL11 isolated from Mariout salt lakes», *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 161, pp. 1318-1328, oct. 2020, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.07.258.
- [35] M. T. Jamal y A. Pugazhendi, «Degradation of petroleum hydrocarbons and treatment of refinery wastewater under saline condition by a halophilic bacterial consortium enriched from marine environment (Red Sea), Jeddah, Saudi Arabia», *3 Biotech*, vol. 8, n.º 6, p. 276, may 2018, doi: 10.1007/s13205-018-1296-x.
- [36] V. R. Ribeiro *et al.*, «The use of microalgae-microbial fuel cells in wastewater bioremediation and bioelectricity generation», *Journal of Water Process Engineering*, vol. 48, p. 102882, ago. 2022, doi: 10.1016/j.jwpe.2022.102882.
- [37] P. R. Sreedevi, K. Suresh, y G. Jiang, «Bacterial bioremediation of heavy metals in wastewater: A review of processes and applications», *Journal of Water Process Engineering*, vol. 48, p. 102884, ago. 2022, doi: 10.1016/j.jwpe.2022.102884.
- [38] V. K. Nguyen, D. D. Nguyen, M.-G. Ha, y H. Y. Kang, «Potential of versatile bacteria isolated from activated sludge for the bioremediation of arsenic and antimony», *Journal of Water Process Engineering*, vol. 39, p. 101890, feb. 2021, doi: 10.1016/j.jwpe.2020.101890.
- [39] P. Bhatt, A. Sharma, E. R. Rene, A. J. Kumar, W. Zhang, y S. Chen, «Bioremediation of fipronil using *Bacillus* sp. FA3: Mechanism, kinetics and resource recovery potential from contaminated environments», *Journal of Water Process Engineering*, vol. 39, p. 101712, feb. 2021, doi: 10.1016/j.jwpe.2020.101712.

- [40] K. Priyanka, M. Umesh, B. Thazeem, y K. Preethi, «Polyhydroxyalkanoate biosynthesis and characterization from optimized medium utilizing distillery effluent using *Bacillus endophyticus* MTCC 9021: a statistical approach», *Biocatalysis and Biotransformation*, vol. 39, n.º 1, pp. 16-28, ene. 2021, doi: 10.1080/10242422.2020.1789112.
- [41] S. H. Kee *et al.*, «A review on biorefining of palm oil and sugar cane agro-industrial residues by bacteria into commercially viable bioplastics and biosurfactants», *Fuel*, vol. 321, p. 124039, ago. 2022, doi: 10.1016/j.fuel.2022.124039.
- [42] S. Mohapatra *et al.*, «Bacillus and biopolymer: Prospects and challenges», *Biochemistry and Biophysics Reports*, vol. 12, pp. 206-213, dic. 2017, doi: 10.1016/j.bbrep.2017.10.001.
- [43] E. M. da S. Montenegro, G. S. Delabary, M. A. C. da Silva, F. D. Andreote, y A. O. de S. Lima, «Molecular Diagnostic for Prospecting Polyhydroxyalkanoate-Producing Bacteria», *Bioengineering (Basel)*, vol. 4, n.º 2, p. E52, may 2017, doi: 10.3390/bioengineering4020052.
- [44] A. J. Cal *et al.*, «Production of polyhydroxyalkanoate copolymers containing 4-hydroxybutyrate in engineered *Bacillus megaterium*», *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 168, pp. 86-92, ene. 2021, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.12.015.
- [45] A. Fakhar *et al.*, «Heavy metal remediation and resistance mechanism of *Aeromonas*, *Bacillus*, and *Pseudomonas*: A review», *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, vol. 52, n.º 11, pp. 1868-1914, jun. 2022, doi: 10.1080/10643389.2020.1863112.
- [46] H. S. Al-Battashi *et al.*, «Lignocellulosic biomass (LCB): a potential alternative biorefinery feedstock for polyhydroxyalkanoates production», *Rev Environ Sci Biotechnol*, vol. 18, n.º 1, pp. 183-205, mar. 2019, doi: 10.1007/s11157-018-09488-4.
- [47] J. Y. Boey, L. Mohamad, Y. S. Khok, G. S. Tay, y S. Baidurah, «A Review of the Applications and Biodegradation of Polyhydroxyalkanoates and Poly(lactic acid) and Its Composites», *Polymers*, vol. 13, n.º 10, Art. n.º 10, ene. 2021, doi: 10.3390/polym13101544.
- [48] N. Ungureanu, V. Vlăduț, y G. Voicu, «Water Scarcity and Wastewater Reuse in Crop Irrigation», *Sustainability*, vol. 12, n.º 21, Art. n.º 21, ene. 2020, doi: 10.3390/su12219055.
- [49] M. J. López-Serrano, J. F. Velasco-Muñoz, J. A. Aznar-Sánchez, y I. M. Román-Sánchez, «Sustainable Use of Wastewater in Agriculture: A Bibliometric Analysis of Worldwide Research», *Sustainability*, vol. 12, n.º 21, Art. n.º 21, ene. 2020, doi: 10.3390/su12218948.
- [50] G. Crini y E. Lichtfouse, «Advantages and disadvantages of techniques used for wastewater treatment», *Environ Chem Lett*, vol. 17, n.º 1, pp. 145-155, mar. 2019, doi: 10.1007/s10311-018-0785-9.
- [51] A. Gupta, M. Kumar, y I. S. Thakur, «Analysis and optimization of process parameters for production of polyhydroxyalkanoates along with wastewater treatment by *Serratia* sp. ISTVKR1», *Bioresource Technology*, vol. 242, pp. 55-59, oct. 2017, doi: 10.1016/j.biortech.2017.03.110.
- [52] S. Palmieri *et al.*, «Effects of different pre-treatments on the properties of polyhydroxyalkanoates extracted from sidestreams of a municipal wastewater treatment plant», *Science of The Total Environment*, vol. 801, p. 149633, 2021.
- [53] M. Kumar *et al.*, «Bacterial polyhydroxyalkanoates: Opportunities, challenges, and prospects», *Journal of Cleaner Production*, vol. 263, p. 121500, 2020.
- [54] P.-S. Mok, J.-A. Chuah, N. Najimudin, P.-W.-Y. Liew, B.-C. Jong, y K. Sudesh, «In Vivo Characterization and Application of the PHA Synthase from *Azotobacter vinelandii* for the Biosynthesis of Polyhydroxyalkanoate Containing 4-Hydroxybutyrate», *Polymers (Basel)*, vol. 13, n.º 10, p. 1576, may 2021, doi: 10.3390/polym13101576.
- [55] D. Meng *et al.*, «Production of polyhydroxyalkanoates from propylene oxide saponification wastewater residual sludge using volatile fatty acids and bacterial community succession», *Bioresource Technology*, vol. 329, p. 124912, 2021.
- [56] A. D. Tripathi *et al.*, «Production of polyhydroxyalkanoates using dairy processing waste—a review», *Bioresource Technology*, vol. 326, p. 124735, 2021.
- [57] G. Mannina, D. Presti, G. Montiel-Jarillo, J. Carrera, y M. E. Suárez-Ojeda, «Recovery of polyhydroxyalkanoates (PHAs) from wastewater: A review», *Bioresource technology*, vol. 297, p. 122478, 2020.
- [58] G. Pagliano, P. Galletti, C. Samori, A. Zaghini, y C. Torri, «Recovery of Polyhydroxyalkanoates From Single and Mixed Microbial Cultures: A Review», *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, vol. 9, 2021, Accedido: 6 de octubre de 2022. [En línea]. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fbioe.2021.624021>