

UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y AMBIENTAL



Producción de poli(3-hidroxitirato)
por la cepa *Burkholderia xenovorans* LB400

Natalia Sofía Alvarez-Santullano González

Memoria de Titulación para optar al

Título de Ingeniero Civil Químico

Profesor Guía: Dr. Michael Seeger Pfeiffer

Profesor Guía: Dr. Ricardo Simpson Rivera

23 Noviembre, 2018

Valparaíso, Chile

RESUMEN

Los polihidroxicanoatos (PHAs) son poliésteres microbianos acumulados como inclusiones intracelulares de reserva de carbono y energía. Los PHAs poseen propiedades físico-químicas similares a los plásticos convencionales (*e.g.*, polipropileno, polietileno, poliestireno), que les permite ser utilizados como termoplásticos biodegradables y biocompatibles. Sin embargo, sus altos costos de producción han limitado su producción. La utilización de subproductos y desechos agroindustriales como sustratos se presenta como una alternativa para reducir los costos de producción. *Burkholderia xenovorans* LB400 es una bacteria modelo para la degradación de policlorobifenilos y ha sido estudiada por su capacidad para producir PHAs. En esta memoria se postuló que la cepa LB400 produce P(3HB) a partir de distintas fuentes de carbono en matraz y en un biorreactor de 3 L. El objetivo de este trabajo consistió en caracterizar la producción de P(3HB) por la cepa LB400 en presencia de glucosa, fructosa, glicerol y cáscara de naranja como fuentes de carbono en matraz y en un biorreactor de 3 L. Se determinó la capacidad de producción de PHAs por la cepa LB400 a partir de distintas fuentes de carbono mediante la técnica de tinción fluorescente con Rojo de Nilo. La identificación y cuantificación del polímero sintetizado por *B. xenovorans* LB400 se llevo a cabo mediante análisis de cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). Con el propósito de control de variables (*i.e.*, aireación, agitación) la producción de P(3HB) por *B. xenovorans* LB400 se realizó en un biorreactor de 3 L. Durante el crecimiento de la cepa LB400 en biorreactor se determinó el consumo de sustratos (*i.e.*, glucosa, cloruro de amonio), la biomasa celular, P(3HB), el oxígeno disuelto, y los gases de salida. La técnica con Rojo de Nilo permitió identificar producción de PHAs por la cepa LB400 en glucosa y cáscara de naranja. A partir de la caracterización cinética realizada en matraz se obtuvo que la cepa LB400 en presencia de glucosa, fructosa, glicerol (20 g L⁻¹) cáscara de naranja alcanzó una biomasa seca de 4,5; 1,8; 4,0 y 5,4 g L⁻¹, respectivamente. *B. xenovorans* LB400 sintetizó P(3HB) durante su crecimiento en glucosa, glicerol y cáscara de naranja como única fuente de carbono, alcanzando una acumulación de 49, 29 y 18 % en biomasa seca, respectivamente. Durante su crecimiento en glucosa en biorreactor la cepa LB400 alcanzó 4,4 g L⁻¹ de biomasa seca y una acumulación máxima de P(3HB) de 48,7% en biomasa seca al cabo de 53 h. La determinación del consumo de cloruro de amonio sugiere que el nitrógeno actuó como nutriente limitante y que la razón C:N podría controlar la síntesis de P(3HB).

ABSTRACT

Polyhydroxyalkanoates (PHAs) are biodegradable bioplastics that are synthesized by diverse bacteria and accumulated in cytoplasmic granules. PHAs have physical-chemical properties similar to conventional plastics (*e.g.*, polypropylene, polyethylene, polystyrene) that allow them to be used as biodegradable and biocompatible thermoplastics. However, their high production cost have limited the production. The use of agroindustrial by-products and waste as substrates has been studied to reduce the production cost. *Burkholderia xenovorans* LB400 is a model bacterium for studying the metabolism of aromatic compounds and is able to produce PHAs. This thesis proposes that strain LB400 produces P(3HB) from different carbon sources in flask and 3 L bioreactor. The aim of this research is to characterize the production of P(3HB) by strain LB400 from glucose, fructose, glycerol and orange peel in shake flasks and in a 3 L bioreactor. The PHAs production by strain LB400 using different carbon sources was determined by staining with Nile Red. The identification and quantification of the polymer synthesized by *B. xenovorans* LB400 was carried out by gas chromatography analysis coupled to mass spectrometry (GC-MS). To control variables (*i.e.*, aeration, agitation) the production of P(3HB) by *B. xenovorans* LB400 was studied in a 3 L bioreactor. During the growth of strain LB400 in bioreactor substrate consumption (*i.e.*, glucose, ammonium chloride), dry biomass, P(3HB) content, dissolved oxygen and outlet gases were determined. Nile Red staining allowed the identification of PHA production by strain LB400 from glucose and orange peel. Strain LB400 in the presence of glucose, fructose, glycerol (20 g L⁻¹) and orange peel reached in shake flask a dry biomass of 4.5, 1.8, 4, and 5.4 g L⁻¹, respectively. *B. xenovorans* LB400 synthesized P(3HB) from glucose, glycerol and orange peel reaching an accumulation of 49, 29 and 18% of dry biomass, respectively. During its growth on glucose in the bioreactor strain LB400 reached 4.4 g L⁻¹ of dry biomass and a maximum accumulation of P(3HB) of 48.7% dry biomass after 53 h. The complete consumption of ammonium chloride suggests that nitrogen is limiting nutrient and that the C: N ratio may control the synthesis of P (3HB).