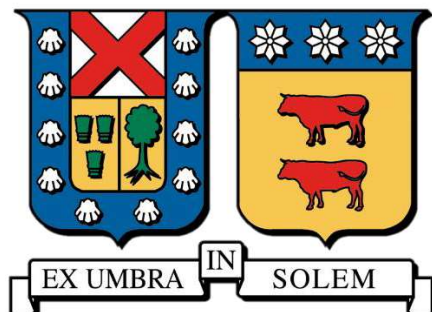


UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA  
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y AMBIENTAL



**Evaluación de la producción de  
polihidroxicanoatos a partir de residuos  
agroindustriales por las cepas *Paraburkholderia  
xenovorans* LB400, *Janthinobacterium* sp. BmR6b y  
*Pseudomonas* sp. LC43.**

**Ángela Belén González Soto**

Memoria de Titulación para optar al

Título de Ingeniero Civil Químico

Profesor Guía: Dr. Michael Seeger Pfeiffer

Profesor Guía: Dr. Ricardo Simpson Rivera

Noviembre, 2019

Valparaíso, Chile

## Resumen

Los plásticos derivados del petróleo son ampliamente utilizados en la vida moderna. El año 2017 la producción de plástico a nivel global alcanzó 348 millones de toneladas, de las cuales al menos la mitad se utilizó para aplicaciones de corto plazo, las que no poseen más de un par de semanas de uso. Debido a su baja degradabilidad son necesarios más de 500 años para su degradación total. Las cualidades que convierten a los plásticos en materiales versátiles a su vez los han convertido en fuente de peligro ambiental, esto impulsa la investigación de nuevas alternativas de consumo como los bioplásticos. Los Polihidroxialcanoatos (PHAs) son polímeros biodegradables sintetizados por diversas especies bacterianas en condiciones de limitación de nutrientes. Por sus propiedades pueden ser empleados sustituyendo a los plásticos convencionales. Sus propiedades dependen principalmente del largo de su cadena de carbono. Se clasifican en PHA de cadena corta (PHA<sub>scl</sub>) y PHA de cadena media (PHA<sub>mcl</sub>). Su costo de producción es mayor al de los plásticos convencionales, por lo que se requiere diseñar un proceso eficiente y económico de producción. La utilización de subproductos como fuente de carbono permitiría disminuir el costo final de producción. *P. xenovorans* LB400 es una bacteria modelo para estudios de biodegradación de compuestos aromáticos y además, ha sido ampliamente estudiada por su capacidad de producción de PHAs. *Janthinobacterium* sp. BmR6b fue aislada desde la rizosfera de *berberies microphylla* desde la región de Magallanes, Chile. Se clasificó por su capacidad de producción de PHB a partir de glucosa y sacarosa como fuentes de carbono. El género *Pseudomonas* ha sido ampliamente estudiado para la síntesis de PHA<sub>mcl</sub>. *Pseudomonas* sp. LC43 fue aislada desde suelos agrícolas vecinos a la ciudad de La Habana, Cuba. La Cepa LC43 fue clasificada por su capacidad de producción de PHA<sub>mcl</sub> a partir de glucosa y sacarosa como única fuente de carbono. El objetivo de este estudio es caracterizar la producción de PHAs por *Paraburkholderia xenovorans* LB400, *Janthinobacterium* sp. BmR6b y *Pseudomonas* sp. LC43 a partir de residuos agroindustriales (e.g., melaza, cáscaras de naranja, tomate de descarte). Se analizaron los genomas de las cepas BmR6b y LC43 para identificar y caracterizar los genes y vías metabólicas involucradas a la síntesis de PHAs. Además, se analizó la información obtenida con la reportada para diferentes cepas productoras de PHAs, dentro de las cuales se encuentra *P. xenovorans* LB400. Las cepas se cultivaron en medio mínimo M9 con NH<sub>4</sub>Cl como fuente de nitrógeno y melaza, cáscara de naranja y tomate de descarte como fuentes de carbono. Se evaluó la capacidad de crecimiento de las cepas y producción de PHAs. Se recolectaron muestras desde el cultivo a diferentes tiempos de crecimiento. Posteriormente, las células se liofilizaron, y la biomasa seca se sometió a propanólisis para obtener los propilésteres que se analizaron mediante GC-MS. Se observaron altos niveles de crecimiento de las tres cepas a partir de los sustratos de bajo costo utilizados. Se seleccionaron las cepas LB400 y LC43 para caracterizar su producción a partir de cáscara de naranja y tomate de descarte. La cepa LB400 acumuló hasta un 5,74 [g/L] con un 20 % de PHB a partir de tomate de descarte. Por otro lado, no se identificó producción de PHA<sub>mcl</sub> por la cepa LC43 a partir de las condiciones de cultivo analizadas en este trabajo.

## Abstract

Petroleum-derived plastics are widely used in modern life. In 2017, global plastic production was 348 million tons, of which at least half was used for short-term applications, which do not have more than a couple of weeks of use. Due to its low degradability, it takes up to 500 years for its total degradation. The qualities that make plastics versatile materials had also made them a source of environmental danger, this drives the investigation of new consumer alternatives such as bioplastics. Polyhydroxyalkanoates (PHAs) are biodegradable polymers synthesized by various bacterial species under nutrient limiting conditions. Due to their properties they can be used replacing conventional plastics. Its properties depend mainly on the length of its carbon chain. They are classified into short chain length (PHA<sub>scl</sub>) and medium chain length (PHA<sub>mcl</sub>). Its production cost is higher than of conventional plastics, so it is necessary to design an efficient and low-priced production process. The use of sub-products as a carbon source would reduce the final production cost. *P. xenovorans* LB400 is a model bacterium for biodegradation of aromatic compounds studies and has also been extensively studied for its ability to produce PHAs. *Janthinobacterium* sp. BmR6b was isolated from the rhizosphere of *berberis microphylla* from the Magallanes region, Chile. It was classified by its ability to produce PHB from glucose and sucrose as carbon sources. The genus *Pseudomonas* has been widely studied for the synthesis of PHA<sub>mcl</sub>. *Pseudomonas* sp. LC43 was isolated from neighboring agricultural soils to the city of Havana, Cuba. Strain LC43 was classified by its production capacity of PHA<sub>mcl</sub> from glucose and sucrose as the only carbon source. The objective of this study is to characterize the production of PHAs by *P. xenovorans* LB400, *Janthinobacterium* sp. BmR6b and *Pseudomonas* sp. LC43 from agroindustrial waste (e.g., molasses, orange peels, discard tomatoes). The genomes of strains BmR6b and LC43 were analyzed to identify and characterize the genes and metabolic pathways involved in the synthesis of PHAs. In addition, the information obtained with that reported for different PHA-producing strains was analyzed, including *P. xenovorans* LB400. The strains were grown in M9 minimum medium with NH<sub>4</sub>Cl as a source of nitrogen and molasses, orange peel and discarded tomato as carbon sources. The growth capacity of the strains and production of PHAs was evaluated. Samples were collected from the crop at different growth times. Subsequently, the cells were lyophilized, and the dried biomass was subjected to propanolysis to obtain the propyl esters that were analyzed by GC-MS. High levels of growth of the three strains were observed from the low cost substrates used. Strains LB400 and LC43 were selected to characterize their production from orange peel and tomato discard. The LB400 strain accumulated up to 5,74 [g/L] with 20 % PHB from discarded tomato. On the other hand, no production of PHA<sub>mcl</sub> was identified by strain LC43 from the culture conditions analyzed in this work.