

# Contaminación ambiental y bacterias productoras de plásticos biodegradables

Daniel Segura, Raúl Noguez y Guadalupe Espín

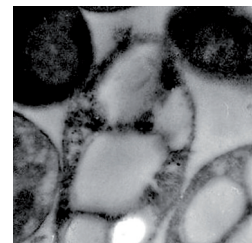
## Dimensión del problema de los desechos plásticos

La palabra plástico se refiere a ciertos tipos de materiales sintéticos obtenidos mediante fenómenos de polimerización o multiplicación artificial de los átomos de carbono en largas cadenas moleculares de compuestos orgánicos. En general, son derivados del petróleo, aunque algunos se pueden obtener a partir de otras sustancias naturales.

Algunas de las propiedades de estos compuestos que los han hecho tan ampliamente usados son: la facilidad con que pueden ser trabajados o moldeados, su impermeabilidad, su baja densidad (pesan poco con relación a su volumen), su baja conductividad eléctrica, su resistencia a la corrosión y a la intemperie, su resistencia a diversos factores químicos y biológicos, en buena medida, su bajo costo. Sin embargo, algunas de estas propiedades, que son favorables desde el punto de vista de las aplicaciones que los plásticos pueden tener, han resultado inconvenientes para el manejo de los desechos que se generan con el uso creciente de estos materiales. La basura generada por las actividades humanas hasta mediados del siglo XX consistía principalmente en desechos biodegradables o reciclables. Al incorporarse el

plástico a la vida cotidiana, una parte considerable de los desechos producidos comenzó a acumularse en el ambiente, precisamente por la resistencia de los plásticos a la corrosión, la intemperie y la degradación por microorganismos (biodegradación). Anualmente se producen varios millones de toneladas de plásticos en el mundo. En México, el consumo anual de plásticos por habitante en 2005 se estimaba en 49 kilogramos. Del total consumido, más de un millón de toneladas por año se convierten en desecho.

La degradación de los plásticos sintéticos es muy lenta. Como ejemplo, la descomposición de productos orgánicos tarda 3 ó 4 semanas, la de telas de algodón 5 meses, mientras que la del plástico puede tardar 500 años. Además, en buena medida la “degradación” de estos plásticos simplemente genera partículas de plástico más pequeñas que, a pesar de ya no ser evidentes, se acumulan en los ecosistemas. Al respecto, estudios recientes sobre la presencia de “microplásticos” o fragmentos de plástico de tamaño inferior a 5 milímetros, muchos de ellos de origen desconocido pero que probablemente provienen de la fragmentación de objetos de plástico más grandes, han demostrado que éstos se están acumulando de forma



considerable en los mares. En arena de playas y estuarios son muy abundantes los microfragmentos de acrílico, polipropileno, polietileno, poliamida (nylon), poliéster, polimetacrilato, etc. La presencia de estos plásticos en los mares es variable, pero hay reportes de abundancia de 3 a 5 kg/km<sup>2</sup>, con registros de hasta 30 kg/km<sup>2</sup>. Lo que sí es seguro es que esa cantidad aumenta considerablemente cada año. En el norte del océano Pacífico se ha determinado que la cantidad de microplásticos se ha triplicado en la última década, y cerca de la costa de Japón la cantidad se multiplica por diez cada 2 o 3 años. La existencia de residuos plásticos en los mares es más que un problema estético, pues representa un peligro para los organismos marinos que sufren daños por ingestión y atragantamiento. Se calculan en cientos de miles las muertes de mamíferos marinos al año por esta causa. En aves se determinó que 82 de 144 especies estudiadas contenían fragmentos de plástico en sus estómagos y en algunas especies hasta el 80% de los individuos los presentan. Además, se ha demostrado que los plásticos acumulan compuestos químicos tóxicos como los bifenilos policlorados, el diclorodifenil dicloroetano y los nonifenoles, que no son muy solubles en agua y por esta razón se adhieren y se acumulan en los plásticos. Así, los fragmentos de plástico funcionan como transporte de contaminantes a los mares. Se ha demostrado que organismos marinos planctónicos, animales filtradores y aquellos que se alimentan de detritos, ingieren estos plásticos y en muchos casos éstos quedan atrapados en sus tejidos. Aún no se ha determinado si de esta manera es posible que compuestos tóxicos contaminantes se bio-acumulen y entren en la cadena alimenticia, pero se piensa que es factible.

### El reciclamiento de plásticos

Una de las estrategias que se ha venido utilizando para deshacerse de los plásticos derivados del petróleo es la incineración, pero la quema de plásticos es altamente contaminante y causa efectos negativos en el ambiente, tales

como el incremento de CO<sub>2</sub> en la atmósfera y la liberación de compuestos químicos muy peligrosos, como las dioxinas, el cloruro y el cianuro de hidrógeno. Otra estrategia es el reciclaje. Éste consiste en la recolección, acopio, reprocesamiento y remercadeo de productos plásticos que podrían ser considerados desecho.

Algunos de los inconvenientes de esta alternativa son que para su reciclamiento los plásticos deben ser manejados adecuadamente, no sólo en su recolección y procesamiento, sino en la limpieza, selección y separación adecuada de los materiales a reciclar, y esto no se da en muchos casos. Además, los artículos plásticos no pueden ser reciclados indefinidamente, sólo se pueden reciclar tantas veces como lo permitan las condiciones físicas y químicas en las que queda el material después de su procesamiento. Adicionalmente, no todos los plásticos son reciclables. Los termoplásticos en general sí lo son, mientras que los plásticos termoestables (aquellos que al ser moldeados sufren modificaciones irreversibles) no.

Otra parte de la problemática consiste en que una gran cantidad de basura, incluyendo los plásticos, es desechada en barrancas, ríos, calles, etc. Algunas estimaciones hablan hasta de un 30%. En México se estima que de los plásticos que son desechados se colecta únicamente el 12%.

### Plásticos degradables

La problemática generada por el uso indiscriminado de plásticos sintéticos y su persistencia en el ambiente ha estimulado la investigación para el desarrollo de nuevos materiales y métodos de producción que permitan generar plásticos que presenten las mismas propiedades pero que tengan un periodo de degradación más corto. Se han desarrollado cuatro tipos de plásticos degradables: los fotodegradables, los semi-biodegradables, los biodegradables sintéticos y los completamente biodegradables naturales. Los plásticos fotodegradables tienen grupos sensibles a la luz incorporados directamente al esqueleto del polímero. Después de

su exposición a la luz ultravioleta (en varias semanas o meses) la estructura polimérica puede desintegrarse en una estructura abierta que le permite ser descompuesta a partículas de plástico más pequeñas, que en algunos casos son susceptibles de degradación por bacterias. No obstante, en los rellenos sanitarios, la ausencia de luz hace que permanezcan como material no degradable. Los plásticos semi-biodegradables, tienen azúcares unidos a fragmentos cortos de polietileno. Una vez en los rellenos sanitarios, las bacterias degradan los azúcares, liberando el polietileno. Sin embargo, éste último permanece como material no degradable. Recientemente se ha desarrollado otro tipo de plástico sintético que es degradable. Este es un plástico basado en polietenol o alcohol polivinílico con estructura parecida al polietileno. La presencia de grupos hidroxilo (-OH) en este polímero lo hacen hidrofílico y, por lo tanto, soluble en agua. Por último, el cuarto tipo de plásticos son los completamente degradables naturales, entre los que se encuentran los ácidos poliláctidos, los poliésteres alifáticos, los polisacáridos y copolímeros derivados de ellos, y los polihidroxialcanoatos (PHA).

### ¿Qué son los polihidroxialcanoatos (PHA)?

Los PHA son polímeros naturales producidos por bacterias. Son poliésteres conformados por unidades o monómeros de hidroxialcilo polimerizados en forma lineal (figura 1). Las bacterias que los producen los utilizan como reserva de nutrientes. Por ser biodegradables, por sus propiedades físicas semejantes a las de los plásticos derivados del petróleo (ya que estos polímeros presentan propiedades que van desde plásticos rígidos y quebradizos, hasta los semejantes al hule) y por ser producidos a partir de recursos renovables, los PHA han grandemente atraído la atención. El primer poliéster descrito de esta familia de compuestos, desde la década de los veinte, fue el polihidroxibutirato (PHB), pero su existencia pasó desapercibida para la mayoría de la comunidad científica has-

ta 30 años después, cuando se propuso su empleo como termoplástico biodegradable para resolver el problema de los desechos plásticos. En 1982 la compañía Imperial Chemical Industries Ltd. (ICI), en Inglaterra, comenzó el desarrollo de un poliéster termoplástico completamente biodegradable que podía ser fundido para la producción de películas plásticas, fibras, etc. Este polímero comenzó a producirse a gran escala mediante un proceso de fermentación semejante a la producción de bebidas fermentadas como la cerveza o el vino, es decir, en tanques agitados conteniendo un medio líquido adecuado para la multiplicación (crecimiento) de las bacterias productoras de PHA. El polímero se acumula en el interior de las bacterias, que en este primer proceso eran de la especie *Alcaligenes eutrophus* (llamado actualmente *Wautersia eutropha*). El producto obtenido se llamó comercialmente Biopol™, un copoliéster de hidroxibutirato e hidroxivalerato (figura 1). Este PHA presenta mejores características físicas que el PHB, pues es más flexible y resistente. Las compañías Zeneca y Monsanto también comenzaron a producir Biopol. Posteriormente, Metabolix inició la producción de diversos PHA de bacterias y de plantas transgénicas, y Procter & Gamble y la empresa japonesa Kaneka Corporation desarrollaron nuevos PHA que son producidos con el nombre de Nodax™.

### ¿Quiénes producen PHA y cómo?

Desde que Maurice Lemoigne descubrió en 1926 que la bacteria *Bacillus megaterium* produce el PHA denominado polihidroxibutirato (PHB), se han reportado más de 300 bacterias capaces de producir PHA. Estas bacterias los producen a partir de sustratos orgánicos, como carbohidratos (glucosa, sacarosa), aceites, alcoholes, ácidos orgánicos, hidrocarburos, y los acumulan en grandes cantidades dentro de la célula bacteriana en forma de gránulos (figura 2), llegando a constituir hasta 90% de la biomasa. Las bacterias productoras los usan como material de reserva que puede ser utilizado posteriormente, bajo condiciones de limitación



de nutrientes, para mantener su metabolismo. La cantidad de polímero producido y acumulado depende de la especie de bacteria y de las condiciones en las que se cultiva. Los PHA se acumulan de manera un tanto similar a la acumulación de grasas de reserva en los animales, bajo ciertas condiciones nutricionales. En general, condiciones de desbalance de nutrimentos en el caldo o medio usado para cultivar a la bacteria favorecen una alta producción. Para producir PHA son especialmente favorables condiciones de cultivo en las que hay una concentración alta de fuente de carbono (que la bacteria utilizará como materia prima para sintetizar el PHA), por ejemplo sacarosa, pero además existe una limitación para el crecimiento, como niveles de oxígeno bajos o escasez de otros nutrientes. Es decir, cuando se da de comer en exceso a la bacteria pero en forma desbalanceada, la bacteria, en vez de multiplicarse, “engorda” produciendo PHA de reserva.

### Tipos de PHA producidos por bacterias

En el caso de los PHA, los monómeros o unidades que se enlazan para formar la cadena del polímero son moléculas de diversos hidroxialcanoatos. Todos los PHA forman la misma estructura básica de poliéster con unidades de tres carbonos formando el “esqueleto” del polímero, pero difieren en el tipo de grupo alquilo que se encuentra unido al carbono número 3 de cada monómero (figura 1). A la fecha se han descubierto más de 100 monómeros diferentes en los PHA producidos por bacterias, aunque sólo unos cuantos se han producido en grandes cantidades y se han caracterizado. Como consecuencia, se sabe poco sobre las características químicas y mecánicas de muchos de los polímeros que las bacterias pueden producir. Se han encontrado PHA con monómeros rectos, ramificados, con o sin dobles enlaces y también con anillos aromáticos (figura 1).

Son especialmente interesantes los PHA que contienen grupos químicos funcionales en las cadenas laterales y que permiten llevar a cabo modificaciones químicas posteriores,

pues esto posibilita la síntesis de nuevos polímeros no naturales o semisintéticos con nuevas propiedades que permitan nuevas aplicaciones de los PHA, conservando en la mayoría de los casos su biodegradabilidad.

Los PHA pueden clasificarse en tres tipos: de cadena lateral de monómero corta (de 3 a 5 átomos de carbono), de cadena media (de 6 a 14 átomos de carbono) y de cadena larga (con más de 14 átomos de carbono). Esta longitud se refiere al tamaño de la cadena lateral de cada monómero y no al tamaño del polímero, el cual puede llegar a ser típicamente de 200 000 a 3 000 000 de daltones.

La longitud de la cadena lateral y el grupo funcional tienen una influencia considerable sobre las propiedades del polímero, como son, el punto de fusión y la cristalinidad del bioplástico, y por lo tanto determinan el tipo de procesamiento que se requiere y la aplicación final que éste puede tener.

La especie de bacteria empleada y las condiciones bajo las cuales se le cultiva, determinan la composición química del PHA producido (tipo de polímero). Dentro de esas condiciones de cultivo, la fuente de carbono presente en el caldo de cultivo es muy importante en la determinación de la composición del polímero, es decir, el tipo de polímero depende también de qué se le da de comer a la bacteria.

### Aplicaciones de los PHA

Se han encontrado aplicaciones diversas para los PHA a partir de que el Biopol se comercializó en 1982. Éste fue usado para la fabricación de botellas, fibras, rastrillos desechables y varios productos de empaquetamiento de alimentos, de aceite para motores, de shampoo y cosméticos (figura 3), cuyo principal atractivo es el de ser ambientalmente más amigables.

La mayor parte de las investigaciones sobre PHA se ha hecho con la intención de introducirlos en el mercado de los plásticos industriales de gran demanda. Sin embargo, los PHA, además de ser biodegradables y renovables, tienen características adicionales que también los ha-



Figura 2.  
Artículos producidos con el bioplástico biodegradable Biopol.

cen interesantes. Una de ellas es que no causan efectos tóxicos, son biocompatibles. Esto permite utilizarlos en la producción de materiales para aplicaciones médicas, como por ejemplo en la generación de implantes, que con el tiempo pueden ser eliminados del cuerpo espontáneamente por degradación, o implantes con fármacos encapsulados para su liberación controlada, o bien en la obtención de telas hechas con fibras de PHA para el tratamiento de heridas.

Adicionalmente se han investigado aplicaciones de los PHA en un área nueva de la medicina, la ingeniería de tejidos. La idea es generar tejidos, y potencialmente órganos, en cultivos sumergidos de células troncales totipotenciales que crecerían sobre estructuras de PHA preformadas que funcionarían como “moldes” al ser recubiertos con factores de crecimiento y morfógenos.

En la agricultura los PHA también pueden tener aplicaciones. Un ejemplo sería el de los dispositivos en los que la degradación natural de los PHA permite la liberación de compuestos químicos de manera dosificada, para aplicación de fertilizantes, fungicidas, herbicidas, etc.

### Biodegradación de PHA

Una diferencia importante entre los plásticos obtenidos a partir de polímeros naturales y los de origen sintético es su degradabilidad. Los plásticos naturales, debido a que son producidos por seres vivos mediante reacciones enzimáticas, también son susceptibles de degradación por sistemas biológicos, ya que han estado presentes en el ambiente desde hace mucho tiempo, y así como han evolucionado organismos capaces de producirlos, también lo han hecho organismos con capacidad para aprovecharlos degradándolos para obtener energía y nutrientes. De hecho, las mismas bacterias que los producen como reserva de alimento, deben ser capaces de degradarlos eventualmente para utilizarlos, o la capacidad de sintetizarlos como material de reserva no hubiera evolucionado. Los PHA son completamente degradables, pro-

duciendo en este proceso agua y bióxido de carbono (se puede producir metano bajo ciertas condiciones), sin dejar residuos indeseables. El polímero es degradado usando primero una enzima llamada depolimerasa, que lo rompe liberando los monómeros (hidroxialcanoatos), que son moléculas que las bacterias pueden asimilar en su metabolismo.

Así como son abundantes en la naturaleza los organismos capaces de producir PHA, también lo son aquellos capaces de degradarlos. Los grupos de organismos con representantes capaces de “comer” PHA son las bacterias (Gram positivas, Gram negativas, actinobacterias) y los hongos. Estos comedores de PHA pueden obtener energía y nutrientes al degradarlos. Para esto, utilizan una enzima depolimerasa similar a la que tienen las bacterias que producen PHA, sólo que la degradación del polímero se da fuera de la célula. Así, estos microorganismos pueden utilizar los PHA que las bacterias productoras liberan al morir, o los que provengan de desechos de artículos producidos con bioplásticos.

Las especies de microorganismos capaces de descomponer estos plásticos no sólo son diversas, sino que además son muy abundantes en número en los ambientes en donde se encuentran. Por ejemplo, algunas estimaciones típicas de la cantidad de bacterias comedoras de PHA presentes en una muestra de suelo de jardín están en el rango de 300 000 a 500 000 por gramo de suelo. Además, estos organismos se han encontrado en ambientes muy diversos tales como suelos, compostas, lagos, ambientes marinos, lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales, etc. Los organismos degradadores de bioplásticos no sólo se encuentran en esos ambientes, sino que algunos estudios han demostrado que la biodegradación ocurre en varios ecosistemas: sedimentos de lagos, agua de lagos, ambientes marinos, lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales y suelo. Desde luego que los factores que influyen en la velocidad con que los bioplásticos son degradados son diversos. Entre ellos los parámetros fisicoquímicos del ambiente (pH,

temperatura, salinidad, cantidad de oxígeno), la composición del bioplástico (tipo de PHA que contiene), el procesamiento aplicado al bioplástico, y la abundancia y tipo de microorganismos degradadores presentes. Para dar una idea de la velocidad con que pueden ser degradados estos materiales, una botella de plástico enterrada en suelo o en una composta tardaría unos tres meses en degradarse.

La degradación de PHA por composteo no sólo ofrece una alternativa adicional para el manejo de residuos sólidos, especialmente para situaciones en las que el reciclamiento no es una opción viable por razones técnicas, económicas o ambientales, sino que puede también generar un producto útil como fertilizante orgánico derivado de la composta.

### Reciclamiento de PHA

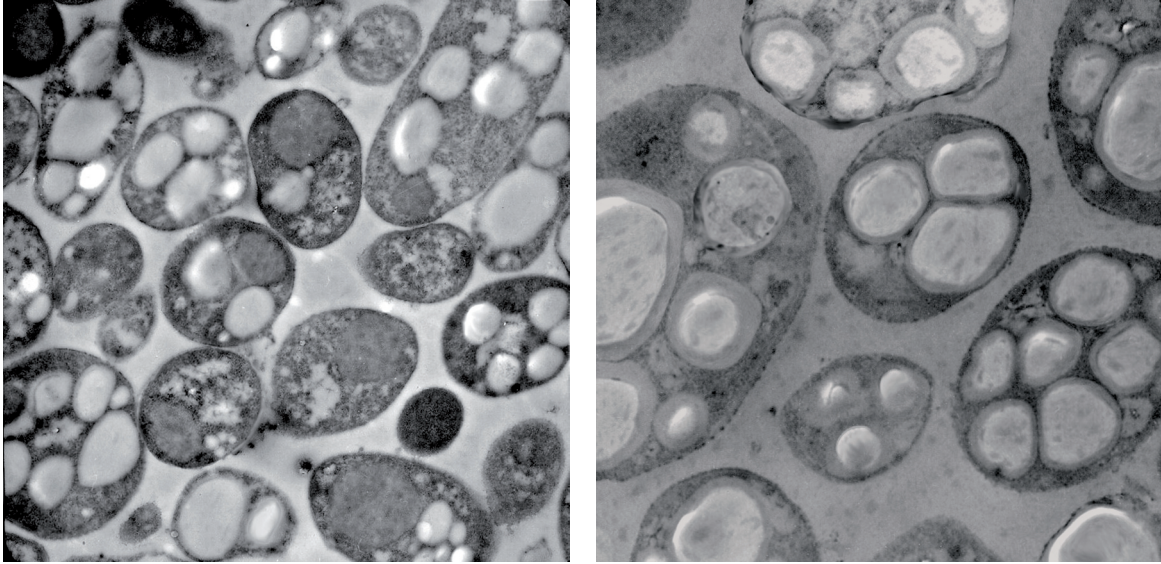
Otra ventaja de los plásticos producidos a partir de PHA consiste en que, además de poder ser sujetos a la biodegradación por composteo (reciclamiento orgánico), el material que los compone puede ser sujeto a reciclamiento mediante tratamiento térmico. Además, la presencia de PHA en mezclas con termoplásticos derivados del petróleo no afecta el proceso de reciclamiento de esos materiales, por lo que el uso más amplio de los PHA no es probable que afecte las iniciativas de reciclamiento de otros plásticos que existen actualmente

### Desventajas de los PHA

Aunque ya están siendo producidos industrialmente, uno de los problemas para el desarrollo de los polímeros biodegradables naturales como sustitutos de los plásticos convencionales, es que los plásticos derivados del petróleo son muy baratos, lo que hace que los procesos de producción de plásticos biodegradables no sean competitivos desde un punto de vista meramente económico. Para la producción de PHA se requieren grandes inversiones para los procesos de fermentación y recuperación o purificación del producto a gran escala, y los sustratos o fuentes

de nutrientes para que las bacterias produzcan PHA no son suficientemente baratos. Esto ha limitado el uso más amplio de los nuevos plásticos, al menos por el momento. Lo anterior ha impulsado el estudio de métodos que permitan abaratar los costos de producción de los PHA. Dentro de éstos se encuentran la modificación genética de cepas bacterianas, el mejoramiento de la tecnología de fermentación, la separación del producto, la utilización de materias primas más baratas y la obtención de plantas transgénicas que sintetizan PHA. En 1996 Zeneca Bioproducts y otros fabricantes, calculaban que el costo de producción de Biopol era de 16 dólares por Kg. Sin embargo, el precio de los PHA es demasiado alto comparado con un dólar por Kg de los plásticos derivados del petróleo. Para 1998 se calculaba que reduciendo los costos de producción de 2 a 5 dólares, el precio en el mercado sería de 8 dólares por Kg., produciendo unas 5000 toneladas por año. La modificación genética de las bacterias productoras de PHA también puede contribuir a disminuir costos. Al respecto, los genes que contienen la información genética para la producción de PHA fueron aislados de *Wautersia eutropha* en 1988. Esos genes se han introducido en otras bacterias que no producen PHA, como *Escherichia coli*, volviéndolas productoras. En la actualidad los genes involucrados en la síntesis de PHA de numerosas bacterias ya han sido aislados y estudiados, y esto ha ayudado a entender mejor cómo es que las bacterias producen estos polímeros. En otra aplicación de la ingeniería genética a la producción de PHA, los genes de *W. eutropha* se introdujeron a una pequeña planta llamada *Arabidopsis thaliana*, y esta planta transgénica produjo PHA en sus células hasta un 14% de su peso seco. Para producción de PHA por agricultura se está intentando generar otras especies de plantas transgénicas, como la canola, que almacena cantidades importantes de aceites y que potencialmente sería capaz de hacer una gran cantidad de PHA en su lugar, ya que los precursores de los aceites y de los PHA son los mismos. Las plantas transgénicas que sintetizan PHA podrían incrementar la producción en orden de varios millones de toneladas (acumulando de





**Figura 3.**

Izquierda: gránulos de PHB (color claro) en cepa no mutante de la bacteria *Azotobacter vinelandii*. Derecha: cepa mutante (sin actividad piruvato carboxilasa) de la misma bacteria. Se produce más PHB (gránulos más grandes), provocando que las bacterias aumenten de tamaño.

20 a 40% de su peso seco), comparadas con las cientos de toneladas que se pueden producir por fermentación bacteriana. Los costos de producción potencialmente pueden ser bajados hasta 0.20 dólares, entonces sería posible competir con los plásticos derivados del petróleo.

Otra área de investigación que se está desarrollando es la modificación del metabolismo de las bacterias para hacerlas mejores productoras, para lograr que produzcan polímeros diferentes, o para hacer que puedan utilizar como materia prima algunos compuestos más baratos, como son algunos desechos agroindustriales (melazas, peptona de pescado, desechos de crianza de animales, etc.).

Actualmente, son varias las industrias que producen estos plásticos utilizando bacterias modificadas genéticamente. Esto habla de que los PHA ya son productos comercialmente viables y eventualmente alcanzarán un uso más amplio.

### **Azotobacter vinelandii: una bacteria productora de PHA**

Entre las más de 300 bacterias productoras de PHA descritas, sólo algunas se han usado para producirlos. Entre las que han sido usadas están *W. eutropha*, *Alcaligenes latus*, *Pseudomonas oleovorans* y *Azotobacter vinelandii*. Estas bacterias han sido propuestas porque pueden ser cultivadas eficientemente y acumulan una gran cantidad de PHA.

*A. vinelandii* presenta algunas características interesantes para la producción de PHA. Esta bacteria puede acumular PHB hasta un 90% de su peso seco. Además de producir PHB, es capaz de sintetizar otros PHA más interesantes, como es el copolímero de hidroxibutirato e hidroxivalerato. Otra característica interesante es su capacidad para producir PHA utilizando sustratos de bajo costo, como son algunos desechos agroindustriales: melazas de caña, de remolacha, peptona de pescado y desechos de la crianza de cerdos.

La cantidad de PHA que *A. vinelandii* produce depende de diversos factores. Uno sería

la cantidad y tipo de nutrientes que la bacteria encuentra en el medio de cultivo para reproducirse y sintetizar PHA. Otro factor importante comprende los mecanismos de control presentes en *Azotobacter* que le permiten producir una cantidad adecuada de PHA, desde el punto de vista de su fisiología; y un tercer factor es la capacidad metabólica de la bacteria para utilizar los nutrientes en la síntesis del polímero. Nosotros hemos estudiado principalmente los dos últimos.

### **El control genético de la síntesis de PHA en *A. vinelandii***

Hemos estudiado los mecanismos que de *A. vinelandii* tiene para controlar la expresión de la información genética que le permite producir PHA, ya que aunque este microorganismo los sintetiza bajo muy diversas condiciones, la cantidad producida es muy variable, es decir, aunque la información genética para la producción de bioplástico está presente, ésta sólo se manifiesta bajo ciertas condiciones. Tres pasos enzimáticos permiten a la bacteria convertir en PHB a un metabolito común (acetil-coenzima A) presente en todos los seres vivos. Los genes de esta bacteria que tienen la información para producir estas enzimas fueron aislados y estudiados en nuestro laboratorio. Adicionalmente, identificamos un gene que produce una proteína denominada PhbR que está encargada de activar o “prender” la expresión de los genes de síntesis y de esta manera prende la producción de PHB. En estos estudios también hemos identificado otros genes que intervienen en el control de la cantidad de PHB que la bacteria produce. Entre ellos están los genes de un sistema de control, denominado PTS<sup>Ntr</sup>, que está formado por varias proteínas y al parecer está encargado de monitorear el estado metabólico de la bacteria, y cuando determina que hay sustratos en abundancia, permite la síntesis de PHB al activar la expresión de la proteína PhbR, que al estar presente prende los genes de síntesis, provocando así que la bacteria produzca y acumule PHB. Mediante la manipulación ge-

nética de estos sistemas de control que tiene la bacteria, es posible mejorar genéticamente la producción de PHA, como lo ilustra el caso de una mutante que construimos y que carece de una proteína del sistema PTS<sup>Ntr</sup>, la proteína IIAN<sup>Ntr</sup>, la cual produce una mayor cantidad de polímero.

### Modificaciones metabólicas que afectan la producción de PHA en *A. vinelandii*

*Azotobacter*, además de producir PHA, sintetiza otro polímero de interés industrial, el polisacárido alginato. Si bien la producción de alginato resulta interesante en sí misma, es inconveniente cuando se piensa en la producción de PHA. El alginato, además de dificultar la separación de las células para obtener los PHA, pues hace viscosos y espesos los cultivos, compite con la síntesis de PHA por el sustrato que se suministra al medio. Esto afecta el rendimiento de bioplástico que se obtiene. Mediante la modificación genética de la bacteria, generando mutantes incapaces de producir alginato, se logró incrementar considerablemente la producción de PHA.

Otro ejemplo que ilustra cómo la modificación del metabolismo de *Azotobacter* puede permitir una mayor disponibilidad del sustrato para la producción de PHA, se encuentra en una cepa obtenida también mediante modificación genética, y en la que se inactivó el gene de la piruvato carboxilasa. Esta enzima interviene en el metabolismo de *Azotobacter*, produciendo una molécula llamada oxaloacetato, que es capaz de reaccionar posteriormente con acetil-coenzima A. El acetil-coenzima A es la molécula que la bacteria utiliza para producir PHA, de modo que en la mutante, al producirse una menor cantidad de oxaloacetato, se tiene disponible una mayor cantidad de moléculas de acetil-coenzima A para hacer PHA. En la figura 2 se observa la diferencia en la capacidad de acumulación de PHA (gránulos) entre la mutante y la cepa original, lo que incluso afecta el tamaño de las células de la bacteria modificada.

Como se ve, el conocimiento de la forma en que la síntesis de PHB está relacionada con otros aspectos del metabolismo, la manera en que *Azotobacter* controla la cantidad de PHA producida, así como el momento en que lo hace, pueden ayudar a diseñar estrategias para lograr que esta bacteria sea una mejor productora de PHA. Adicionalmente, la información generada puede tener aplicación para el mejoramiento de otras bacterias productoras de PHA, con el objetivo de hacer la producción de bioplásticos más factible. ●

### Bibliografía

- Aldor, I. S. y J. D. Keasling, "Process design for microbial plastic factories: metabolic engineering of polyhydroxyalkanoates", en *Current Opinion in Biotechnology*, 14, 2003.
- Choi, J. y S. Y. Lee, "Factors affecting the economics of polyhydroxyalkanoate production by bacterial fermentation", en *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 51, 1999.
- Cristán-Frías, A., I. Ize-Lema y A. Gavilán-García, "La situación de los envases de plástico en México", en *Gaceta Ecológica*, 69, 2003.
- Lenz, R. W. y R. H. Marchessault, "Bacterial polyesters: biosynthesis, biodegradable plastics and biotechnology", en *Biomacromolecules*, 6, 2005.
- Moore, C. J. *et al.*, "A comparison of plastic and plankton in the north pacific central gyre", en *Marine Pollution Bulletin*, 42, 2001.
- Song, C. *et al.*, "The biodegradation of poly(3-hydroxybutyrate-co-3hydroxivalerato) (PHB/V) and (PHB/V)-degrading microorganisms in soil", en *Polym. Adv Technol.*, 14, 2003.

