

GESTIÓN DE RIESGOS AMBIENTALES Y CAMBIO CLIMÁTICO

Síntesis de polihidroxicanoatos a partir de *Scenedesmus acuminatus*, como alternativa a los plásticos derivados del petróleo.

Synthesize polyhydroxyalkanoates using *Scenedesmus acuminatus*, as an alternative for oil derivated plastics.

Luz Adriana Vizcaíno Rodríguez¹, Juan Luis Caro Becerra, Ramiro Lujan Godínez, Pedro Alonso Mayoral Ruiz y Michel Parra J. Guadalupe

¹Universidad Politécnica de la Zona Metropolitana de Guadalajara, México
advizcaino7@gmail.com

Recibido: 17/06/2019

Aceptado: 20/11/2019

Publicado: 27/12/2019

RESUMEN

El uso indiscriminado de plástico ocasiona problemas ambientales; se estima que el proceso de degradación requiere por lo menos de 500 años. Las estrategias para su reciclado requieren del desarrollo de tecnología y concientización de los usuarios. Las alternativas para su reemplazo con materias primas elaboradas mediante métodos biotecnológicos no son sostenibles, debido al elevado costo de producción comparado con los derivados del petróleo. Los polihidroxicanoatos (PHA) son poliésteres clasificados en función de la longitud de cadena de los ácidos grasos, y sintetizados por microorganismos con propiedades similares al polipropileno. El presente estudio tiene como objetivo evaluar el potencial que poseen las cepas de *Scenedesmus acuminatus* para producir PHA. Se estableció una cinética de crecimiento con 30 tubos de ensayo que contenían 20 mL de medio de cultivo Bold y 5 mL de cepa. Se monitoreó con una frecuencia de 72 h la producción de ácidos grasos extracelulares y la biomasa celular. La determinación de ácidos grasos se realizó con la tinción negro sudan y microscopio compuesto con objetivo de 40X. A partir de los 15 días de cultivo se observaron ácidos grasos en el sobrenadante celular. La producción de ácidos grasos fue directamente proporcional a los días de incubación y de acuerdo con la literatura los PHA's se producen en condiciones de estrés celular, cuando hay deficiencia de macronutrientes en el medio de cultivo y alta disponibilidad de fuente de carbono. *Scenedesmus* tiene la capacidad de emplear CO₂ como fuente de carbono, lo cual reduce los costos de operación.

PALABRAS CLAVE: algas, biodegradables, biomasa, bioplásticos, poliéster.

ABSTRACT

The indiscriminate use of plastic causes environmental problems; is estimated that around 500 year are required for its total degradation. The strategies for its recycle require the technology development and the users' conscience. The alternatives which are made by biotechnological methods are not sustainable, due to the elevated cost compared with oil derivate. The polihidroxicanoatos (PHA) are polyesters classified on function of the length of the acid fats chain and synthetized by microorganism with proprieties similar to the polypropylene. The present study objective is to evaluate the potential of the *Scenedesmus acuminatus* strains on the PHA production. A growing kinetics on 30 test tubes with 20 ml as Bold cultivate mean and 5 ml of strain. We monitored it a 72 hla frequency of extracellular acid fats production and cellular biomass. The acid fats presences were determinate with black sudan ink and composed microscopy at 40 X objective. From the day fifth teen on acid fats on the cellular supernatant can be seen. The acid fats were proportional to the incubation days and according to the PHA literature they are produced on cellular stress, when there is a lack of macronutrients in cultivate and high quantity

of carbon. *Scenedesmus* has the capacity to use the CO₂ as a carbon source, which reduce the operation cost.

KEYWORDS: algae, bio plastic, biodegradable, biomass, polyester.

INTRODUCCIÓN

Los polihidroxicanoatos (PHA's) son bioplásticos de origen microbiano, biopolímeros más versátiles que los plásticos derivados del petróleo; ello se debe a que son biodegradables y sintetizados a partir de fuentes renovables de energía, por lo que en un corto periodo de tiempo son reducidos a CO₂ y agua por microorganismos (Serrano *et al.*, 2011; Otero y Fernández, 2013). Por otro lado, las cualidades de las películas plásticas convencionales permiten que sean consideradas elementos indispensables en la vida cotidiana: Bajo costo, propiedades termoplásticas (alargamiento antes de la ruptura), permeabilidad al oxígeno, capacidad de funcionar como material de empaque, entre otras. Dichas propiedades las convierten en residuos difíciles de eliminar, lo cual, aunado a la gran dependencia de la sociedad actual a su empleo, ocasiona problemas de contaminación ambiental irreversibles. Actualmente se consumen 1 000 000 de bolsas por minuto, de acuerdo con Valero *et al.* (2013). Se estima una tasa de crecimiento anual de consumo de plásticos de la industria petroquímica del 9% (Arroyave *et al.*, 2013), lo cual ocasiona la contaminación visual y muerte de animales, según González *et al.* (2013) y Guzmán *et al.* (2017).

La metodología diseñada para el reciclaje de productos plásticos derivados del petróleo no se considera efectiva, pues estos materiales destacan por su durabilidad y resistencia a la biodegradación no solo por su composición química, sino también por la aplicación de cubiertas, aditivos y pigmentos. El término biodegradable hace referencia al potencial que tienen los microorganismos para desintegrar los polímeros y reducir el tamaño de partícula de los mismos, mediante la ruptura de enlaces intermoleculares. Para el caso particular de los plásticos derivados del petróleo, debido a su insolubilidad en el agua, los microorganismos no pueden fagocitar el polímero y su degradación involucra la liberación de exo-enzimas, que degradan el polímero y producen CO₂, agua, metano y materia orgánica, con el consecuente gasto de energía.

Sin embargo, se estima que para el caso de polipropileno y polietileno este proceso puede llevar alrededor de 500 años, de acuerdo con González *et al.* (2013). Por otro lado, la incineración de los mismos genera subproductos con impacto ambiental: Ácido cianhídrico y clorhídrico con daños en la salud de las personas expuestas. Se calcula que 25 millones de toneladas de plásticos por año se acumulan en suelos y agua.

Ante esta problemática, diversos investigadores se han enfocado en el desarrollo de materias primas biodegradables para sustituir los plásticos convencionales; por ejemplo, se han empleado biopolímeros como proteínas (colágeno, queratina, gelatina); carbohidratos como el alginato, almidón, celulosa, quitina, pectina y lípidos (ceras, ácidos grasos, mono-glicéridos), sin olvidar el ácido poli-láctico y los poliésteres microbianos: PHAs (Cruz y López, 2013; Figueiredo *et al.*, 2014). Los PHA's son poliestéres intracelulares, producidos mediante procesos de fermentación microbiana; debido a su insolubilidad son almacenados en el interior de las células y en algunos casos llegan a representar hasta el 96% de la biomasa seca (Rojas, Hoyos y Mosquera, 2016). De acuerdo con la literatura, las condiciones de cultivo con alta disponibilidad de fuente de carbono, bajos niveles de nitrógeno o fósforo, favorecen la producción de PHA's. Contienen estructuras monoméricas de 3-hidroxiexanoato, 3-hidroxiocetanoato, 3-hidroxi-decanoato, y 3-hidroxi-dodecanoato. De acuerdo con la literatura, estos pueden ser sintetizados a partir de alcanos, alquenos, alcoholes y ácidos carboxílicos; cabe mencionar que la estructura monomérica tiene relación con la fuente de carbono suministrada (Vanegas y Ramírez, 2016).

En cultivos de bacterias, arqueas y microalgas, los polihidroxicanoatos son polímeros de ácidos hidroxialcanoicos que funcionan como material de reserva de carbono y energía. Se forman por la condensación del grupo carboxilo de un monómero y el grupo hidroxilo del siguiente, con la formación de un enlace éster, por acción de la enzima PHA polimerasa. Se clasifican en función de la longitud de cadena de los ácidos hidroxialcanoicos de los que están constituidos, PHA de cadena corta (PHA-scl) de tres a cinco átomos de carbono, PHA's de cadena media (PHA-mcl) conformados por monómeros de seis a 14 átomos de carbono y PHA mixtos constituidos por monómeros de cadena corta y media (Vanegas y Ramírez, 2016).

Dentro de las propiedades físicas y mecánicas de los PHA's se menciona que son termoplásticos y permiten la obtención de películas con propiedades similares a los plásticos derivados del petróleo, lo cual los hacen candidatos para su aplicación en la industria de empaques, farmacia, alimentos. Cabe mencionar que, debido su biocompatibilidad con el tejido humano, se han empleado como hilo de sutura, sistemas de liberación de fármacos, entre otras aplicaciones. Estas moléculas actualmente se comercializan y producen por fermentación a partir de la bacteria *Ralstonia eutropha* técnicamente su campo de aplicación es muy prometedor, sin embargo, es necesario disminuir los costos de producción de acuerdo con González *et al.* (2013).

Los problemas de contaminación ocasionados por el empleo de plásticos derivados del petróleo motivan el desarrollo del presente trabajo con la finalidad de establecer las bases para el diseño de un proceso sustentable y sostenible para la producción de polímeros biodegradables a partir del cultivo de algas. En este contexto el objetivo fue determinar el potencial que posee el cultivo de algas clorófitas, identificadas como *Scenedesmus acuminatus* ecotipo Cajititlán, para la producción de biopolímeros como una alternativa a la industria petroquímica y una opción para la industria de alimentos, farmacéutica y cosmética.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Politécnica de la Zona Metropolitana de Guadalajara, localizada en Jalisco, México, en colaboración con estudiantes de la carrera de Ingeniería en Biotecnología, en periodo de estancia de Investigación.

Material biológico

Se empleó una cepa de *Scenedesmus acuminatus*, la cual se aisló a partir de muestras de agua del lago Cajititlán. Las muestras se recolectaron a partir de cinco estaciones de monitoreo, por arrastre de un minuto; se empleó una red de fitoplancton con un entramado de mono-filamentos con abertura de 25 μm diámetro.

Las muestras fueron inoculadas en medio de cultivo Bold suplementado con 13 g de agar, en condiciones foto autotrófica, a temperatura de 18°C a 25°C con fotoperiodo de 12 h. A partir de colonias aisladas se transfirió a medio líquido.

Preparación de medio de cultivo Bold

Se elaboró disolviendo los siguientes componentes: KH_2PO_4 : 175 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, CaCl_2 25 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; MgSO_4 : 75 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; NaNO_3 250 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; KH_2PO_4 : 75 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; NaCl : 25 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; H_3BO_3 : 11.42 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; solución de micro elementos 1 $\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$, solución 1: 1 $\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$; solución 2: 1 $\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$. Solución de micro elementos: ZnSO_4 : 8.82 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; MnCl_2 : 1.44 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; MoO_3 0.71 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; CuSO_4 : 1.57 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$: 0.49 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Solución 1: Na_2EDTA ; 50 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; KOH : 3.1 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Solución 2: FeSO_4 ; 4.98 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; H_2SO_4 (concentrado) 1 $\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$.

Cinética de crecimiento

Se emplearon 30 tubos de ensayo con 20 mL de medio de cultivo Bold y cinco mililitros del cultivo celular; los cuales se monitorearon con frecuencia de 72 h, por triplicado para la determinación de biomasa celular y ácidos grasos extracelulares. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

Determinación de biomasa celular

Se emplearon discos de papel filtro *Whatman* grado 1, los cuales se llevaron a peso constante en un horno de secado a 80°C durante media hora. Se registró el peso inicial, posteriormente, se filtraron 25 mL del cultivo celular y se registró el peso de biomasa fresca. La muestra se conservó a 80°C durante 24 hasta peso constante y después se registró el peso final. El peso de biomasa se determinó restando el peso del papel filtro al peso total (papel y biomasa). Los resultados se graficaron en rendimiento expresado como g·L⁻¹ de cultivo.

Extracción de ácidos grasos

Mediante filtración se retiró la biomasa celular del medio de cultivo. El sobrenadante, 25 mL, se mezcló con 25 mL de dimetil-éter y se conservaron en agitación constante durante 30 minutos. Con el empleo de una pera de decantación se separó la fase oleosa. Mediante destilación con empleo de equipo *soxlet*, se recuperó la fracción oleosa. Finalmente, se determinó el volumen de aceite recuperado empleando una probeta de 25 mL.

Observación de biopolímeros

Se empleó un microscopio compuesto marca Leica con objetivo de 40 X, se empleó negro de Sudán como colorante. Se colocó 100 µL de cultivo en un portaobjetos y se fijó con calor, se añadió el colorante y se dejó en contacto durante 60 segundos; posteriormente, se enjuagó con agua destilada para eliminar el exceso de colorante y se observó en el microscopio.

Recuperación de polihidroxialcanoatos (PHA s)

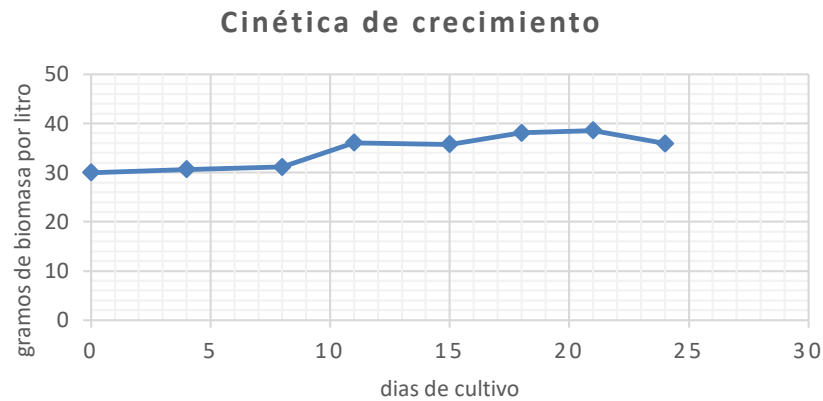
La fracción acuosa se trató con etanol al 50% y se conservó a 80°C durante cinco horas, luego el precipitado se recuperó por centrifugación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la *figura 1* puede observarse la cinética de crecimiento del cultivo celular, donde la biomasa seca se incrementó desde 30 g·L⁻¹ hasta 35.92 g·L⁻¹ en 25 días de incubación. Cuando se emplean cultivos microbianos para la síntesis de PHA's se realizan curvas de crecimiento con la finalidad de encontrar el tipo de fuente de carbono (melaza, glucosa, sacarosa, fructosa, entre otros) y la concentración ideal de la misma, pues altas concentraciones inhiben el crecimiento de microorganismos y las bajas concentraciones producen bajos rendimientos (Ohse *et al.*, 2015).

De acuerdo con Vanegas y Ramírez (2016), en un estudio realizado con *Pseudomonas fluorescens* y melaza como fuente de carbono, cuando emplearon concentraciones de 60 a 10 g·L⁻¹, la producción de PHA's se realizó durante la fase estacionaria del cultivo, cuando se estabilizó la producción de biomasa (0.46 g·L⁻¹) y resultó independiente del contenido de amonio. Cabe mencionar que el tiempo de incubación del cultivo microbiano (cinco días) fue menor respecto de la cinética realizada con el cultivo de algas.

Figura 1. Cinética de crecimiento de cultivos de *Scenedesmus acuminatus* en medio de cultivo Bold.



Fuente: Elaboración propia.

La síntesis de ácidos grasos y su exportación al medio de cultivo incrementó a partir de los 15 días de incubación; no se determinaron ácidos grasos en el cultivo celular, únicamente se recuperaron del medio de cultivo con la finalidad de emplear el cultivo celular en futuros estudios, en sistemas abiertos que permita reutilizar el cultivo. Ver figura 2.

Figura 2. Producción de biopolímeros extracelulares por *Scenedesmus acuminatus* en 24 días de cultivo.



Fuente: Elaboración propia.

El proceso de extracción de biopolímeros incluye las siguientes fases: Rompimiento celular, separación del medio de cultivo de la biomasa, recuperación del polímero y purificación del mismo. La aplicación de operaciones unitarias llega a representar el 50% del costo de producción de los PHA's, por tanto, la disminución de etapas en los procesos de obtención de los biopolímeros, así como el empleo de sustancias y procesos amigables con el medio ambiente y que garanticen la conservación de las propiedades del biopolímero, es uno de los principales retos de este tipo de tecnologías (Quines *et al.*, 2015); por lo cual, la producción a partir de *Scenedesmus* es muy atractiva pues los biopolímeros pueden recuperarse a partir del medio de cultivo.

La producción de polímeros con potencial de ser identificados como polihidroxiacanoatos fue menor respecto de la producción de aceite con rendimientos de $0.16 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ y $8.5 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$ respectivamente, recuperados solo a partir de la solución sobrenadante, con la finalidad de conservar y propagar la biomasa (figura 3).

Figura 3. De izquierda a derecha se observa el aceite y polihidroxialcanoatos (PHA's) recuperados del medio de cultivo de *Scenedesmus acuminatus*, después de 24 días de incubación.



Fuente: Elaboración propia.

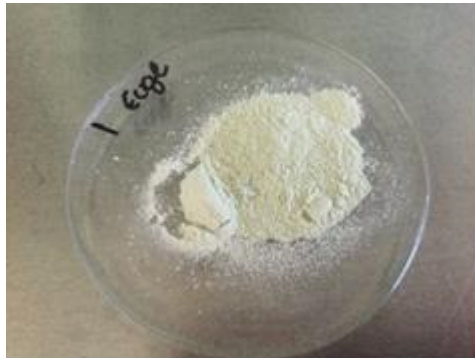
De acuerdo con Rojas, Hoyos y Mozquera (2016), a partir de cultivos de *Ralstonia eutropha*, empleando harina de yuca como fuente de carbono, se obtuvieron $0.62 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ del polímero (sin embargo, el acondicionamiento de la yuca para la obtención del jarabe de dextrosa requirió un proceso de hidrólisis enzimática que incrementa los costos de producción), comparado con los cultivos de algas que emplean CO_2 como fuente de carbono.

De acuerdo con Sassi *et al.* (2019), el perfil lipídico de ácidos grasos para cepas de *Scenedesmus acuminatus* corresponde a: Caprílico (C8:0) 0.30; Láurico (C:12:0) 0.30; Mirístico (C:14:0) 1.30; Miristoleico (C14: 1) 1.00; 9-pentadecenoico (C15:1) 0.30, Palmítico (C16:0) 38.0; Palmitoleico (C16:1) 17.60; 7,10,13-hexadecatrieno (C16:3, ω -3) 1; Estearico (C18:0), 1.1; Oleico (C18:1 ω -9), 9.20; Vaccénico (C18:1)1; Ácido linoleico (C18:2 ω -6) 19.3; Alfa linoleico (C18:3. ω -3) 6.70; Esterearidónico (C:18:4 ω -3) 0.80; Araquidónico (C:20, 0:4 ω -6), 19; el total de ω -3 fue de 8.70, el de ω -6 21.20, el ω -9 9.20. La relación de ω 6 / ω 3 fue de 2.44 y la relación PUFA/SFA de 0.73. De acuerdo con Sassi *et al.* (2019), una buena relación ω 6/ ω 3 es recomendable para la industria de alimentos porque ambos son precursores en la síntesis de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (\geq C20) PUFA.

Ello permite inferir que el cultivo de *Scenedesmus acuminatus* es una fuente renovable con gran potencial de aplicación de sus metabolitos en la industria de alimentos, pues los costos de producción son más bajos comparados con los microorganismos que requieren condiciones más estrictas de esterilidad y fuente de carbono.

La *figura 4* permite observar el biopolímero en forma de polvo; presenta una coloración blanca, ligeramente coloreado por la presencia de clorofilas tipo a, b y carotenoides presentes como subproducto en la etapa de purificación. Los resultados de la presente investigación coinciden con los reportados por Cruz y López (2013), los cuales mencionan que se pueden preparar en forma fluida o bien como polvo deshidratado. Los investigadores recomiendan su empleo en la elaboración de bolsas, pañales desechables, artículos de servicio, entre otros; sin embargo, sugieren que su empleo se ve limitado en la industria de alimentos por sus propiedades físicas y su elevado costo de producción.

Figura 4. Biopolímeros en polvo con propiedades plastificantes sintetizados a partir de cultivos de *Scenedesmus acuminatus*.



Fuente: Elaboración propia.

De acuerdo con Rojas, Hoyos y Mosquera (2016), en el 2005 la producción de un kilogramo de PHA's mediante fermentación bacteriana costaba 14 dólares más que un kilogramo de plástico convencional, lo cual representa uno de los principales retos de la aplicación de bioplásticos.

Figueiredo *et al.* (2014) reportaron el aislamiento de tres cepas microbianas con capacidad de producir PHA's a partir de lodos activados de plantas de tratamiento, identificadas como *Aeromonas sobria*, *Shingomonas paucemobilis*, *Aeromonas hydrophila*; mencionan, además, que existe una gran diversidad de microorganismos con capacidad de producir PHA's, aun cuando son pocos los microorganismos que tienen la capacidad de producirlos a gran escala y a un bajo costo.

No obstante, existe la metodología y la posibilidad de producir bioplásticos, y es necesario continuar buscando alternativas más sustentables y sostenibles. Cabe mencionar que los biopolímeros pueden procesarse con las tecnologías diseñadas para los convencionales, tales como extrusión inyección o soplado; así como también puede ser mezclado en diferentes proporciones, en función de las propiedades buscadas.

Es necesario continuar con las pruebas que permitan identificar y clasificar los biopolímeros producidos; por ello, es importante destacar que el alga en estudio *Scenedesmus acuminatus* tiene ventajas respecto de los cultivos de microorganismos convencionales, como son la factibilidad del uso de CO₂ como fuente de carbono, y la translocación de biopolímeros al medio extracelular, lo cual reduce los gastos de producción, sin olvidar el potencial que esta cepa posee para producir otras biomoléculas con aplicación en la industria de alimentos como clorofilas, antioxidantes, ácidos grasos, entre otros. También puede destacarse que la cepa corresponde a un ecotipo de la región y por ende está adaptada a vivir en las condiciones ambientales que prevalecen en Jalisco.

CONCLUSIONES

Se demostró que la cepa de *Scenedesmus acuminatus* ecotipo Cajititlán tiene un gran potencial de aplicación en la producción de biopolímeros. Las condiciones de cultivo ensayadas favorecieron la producción de polihidroxialcanoatos y aceite. Es necesario continuar con las pruebas para determinar las propiedades de los PHA's producidos, así como establecer diseños experimentales con bajos niveles de fosfato en el medio de cultivo para promover el estrés celular e incrementar los rendimientos de PHA's.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arroyave, R.A. L., Cardona, B.M., Agudelo, E. y Lina, M. (2013). Identificación de cepas nativas con potencial para obtención de polihidroxicanoatos -(PHAS) en Lodos Activados. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 11(1), 69-76. <https://n9.cl/lijk>
- Cruz, R. y López, A. (2013). Biopolímeros y su integración con polímeros convencionales como alternativa de empaque de alimentos. *Temas selectos de Ingeniería de los Alimentos*, 7(2), 42-52.
- Figueiredo, V.B., Campos, I., Sousa, S., Silva, R. da, y Druzian, I. (2014). Produção e caracterização de polihidroxicanoatos obtidos por fermentação da glicerina bruta residual do biodiesel. *Química Nova*, 37(7), 1111-1117. <https://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20140183>
- González, Y., Meza, J.C., González, O., y Córdova, J.A. (2012). Síntesis y biodegradación de polihidroxicanoatos: plásticos de origen microbiano. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 29(1),77-115. <https://n9.cl/ltkh>
- Guzmán, C., Hurtado, A., Carreño, C. y Casos, I. (2017). Producción de polihidroxicanoatos por bacterias halófilas nativas utilizando almidón de cáscaras de *Solanum tuberosum* L. *Scientia Agropecuaria*, 8(2), 109-118. <https://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2017.02.03>
- Ohse, S., Bianchini, D.R., Ávila, R. Gordo, C.R., Badiale, E.F. y Roberto, C.P.C. (2015). Lipid content and fatty acid profiles in ten species of microalge. *IDESSIA*, 33(1), 93-101. <https://n9.cl/ct8g>
- Otero, I. y Fernández, P. (2013). Bioprospección de bacterias productoras de polihidroxicanoatos (PHA'S) en el Departamento de Nariño. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 11(1), 12-20. <https://n9.cl/rr2fm>
- Quines, K.M., Schmidt, M., Zanfonato, K., Schmidell, W. y Aragão, M.F. (2015). Métodos de extração de Poli-Hidroxicanoatos a partir de biomassa bacteriana. *Química Nova*, 38(9), 1207-1218. <https://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20150129>
- Rojas, E., Hoyos, J.L. y Mosquera, S.A. (2016). Producción de polihidroxicanoatos (PHAs) a partir de *Ralstonia eutropha* en un medio con harina de yuca como fuente de carbono. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 14(1), 19-26. [https://dx.doi.org/10.18684/BSAA\(14\)19-26](https://dx.doi.org/10.18684/BSAA(14)19-26)
- Sassi, K., Kardinele B., Silva, J. da, Calixto, C., Sassi, R. y Sassi, C. (2019). Metabolites of interest for food technology produced by microalgae from the Northeast Brazil. *Revista Ciência Agronômica*, 50(1), 54-65. <https://dx.doi.org/10.5935/1806-6690.20190007>
- Serrano, J., Sastoque, L. A., Montoya, D. y Moreno, N. (2011). Análisis de las polihidroxicanoato sintasas (PhaC1 y PhaC2) en una cepa de *Pseudomonas fluorescens* IBUN S1602, aislada en suelos colombianos. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 13(2), 84-96. <https://n9.cl/anc05>
- Valero, M.F., Ortegón, Y. y Uscategui, Y. (2013). Biopolímeros: Avances y Perspectivas. *Dyna*, 80(181), 171-180. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/dyna/article/view/20642/45329>
- Vanegas, D.M. y Ramírez, M.E. (2016). Correlación del Crecimiento de *Pseudomonas fluorescens* en la Producción de Polihidroxicanoatos de Cadena Media (PHA_{MCL}) mediante Modelos Primarios de Gompertz, Logístico y Baranyi. *Información tecnológica*, 27(2), 87-96. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642016000200011>