



Title: Evaluation of substrates for biopolymer processing

Authors: REYES-CABRERA, Estefania Guadalupe, REYES-ESPINO, Jacqueline, MURGUIA-FIERRO, Salma Veronica and PEREZ-GARCIA, Laura Andrea

Editorial label RINOE: 607-8695

VCIERMMI Control Number: 2023-02

VCIERMMI Classification (2023): 261023-0002

Pages: 15

RNA: 03-2010-032610115700-14

MARVID - Mexico

Park Pedregal Business. 3580-
Adolfo Ruiz Cortines Boulevard –
CP.01900. San Jerónimo Aculco-
Álvaro Obregón, Mexico City
Skype: MARVID-México S.C.
Phone: +52 1 55 6159 2296
E-mail: contact@marvid.org
Facebook: MARVID-México S. C.
Twitter: @Marvid_México

www.marvid.org

Holdings

Mexico	Colombia	Guatemala
Bolivia	Cameroon	Democratic
Spain	El Salvador	Republic
Ecuador	Taiwan	of Congo
Peru	Paraguay	Nicaragua

RESUMEN

Los residuos plásticos derivados del petróleo y los residuos lignocelulosicos son grandes problemáticas ambientales, la sustitución por plásticos biodegradables mediante la implementación de polímeros a base delignocelulosa representa una idea potencial para disminuir su impacto y aprovechar estos residuos disminuyendo su costo por disposición final y los daños medioambientales que genera. En este proyecto se evaluaron sustrato a base de cascaras de plátano, mango para Pseudomona, para la obtención un biopolímero con el objetivo de determinar que sustratos generan una mayor cantidad de polímeros comparando cascaras de mango, plátano y papa con medios de crecimiento conocidos.

El proceso está compuesto por un pretratamiento mecánico e hidrolisis acida, para la deslignificación de las cascaras, comparada con el medio basal y el LMC para el cultivo de pseudomona a 35°C en condiciones estériles, PH neutro y la adición de algunos elementos del medio basal, la extracción celular por centrifugación y un método de extracción del polímero a base de cloroformo. Obteniendo que el biopolímero producido en gr/L 25.86, 19.53, 6.63, 4.55, 15, para Mango, Plátano, Papa, LMC y Medio Basal, teniendo mejores rendimientos que los medios comerciales.

Introducción

La contaminación por residuos plásticos es uno de los principales problemas medioambientales, actualmente los biopolímeros presentan una alternativa muy prometedora para la sustitución de los plásticos por ser completamente biodegradables y producirse a partir de fuentes de carbono renovables, el aprovechamiento de la biomasa lignocelulósica presenta un alto potencial al ser materia prima abundante y de bajo costo. .
(Carlos, 2023)

El proyecto consiste en la combinación de la biotecnología mediante la síntesis realizada por *Pseudomonas* ante un estrés nutrimental, con la finalidad de producir un polímero de menor impacto a base de residuos lignocelulosicos.



Figura 1. Contaminación por plásticos (Silva 2016)

Pseudomonas

Las especies miembro del género *Pseudomonas* sp pertenecen al filo de las Proteobacterias, de la subclase gamma, grupo de bacterias aeróbicas Gram negativas, cuentan con una gran capacidad de adaptabilidad a distintos ambientes. (Martínez, 2008)

Su capacidad para producir y acumular pha sido altamente estudiada en distintas condiciones, principalmente la producción de PHAs de cadena media, (Carreiro 3-5) estos microorganismos crecen a pH casi neutro y en temperaturas mesofílicas, hasta 43° C. Se ha reportado que muchas especies de *Pseudomonas* crecen eficientemente en medios químicamente definidos conteniendo diferentes compuestos alifáticos (carbohidratos, ácidos grasos, ácidos dicarboxílicos y tricarboxílicos, alcoholes) y aromáticos como fuente de carbono. (III)

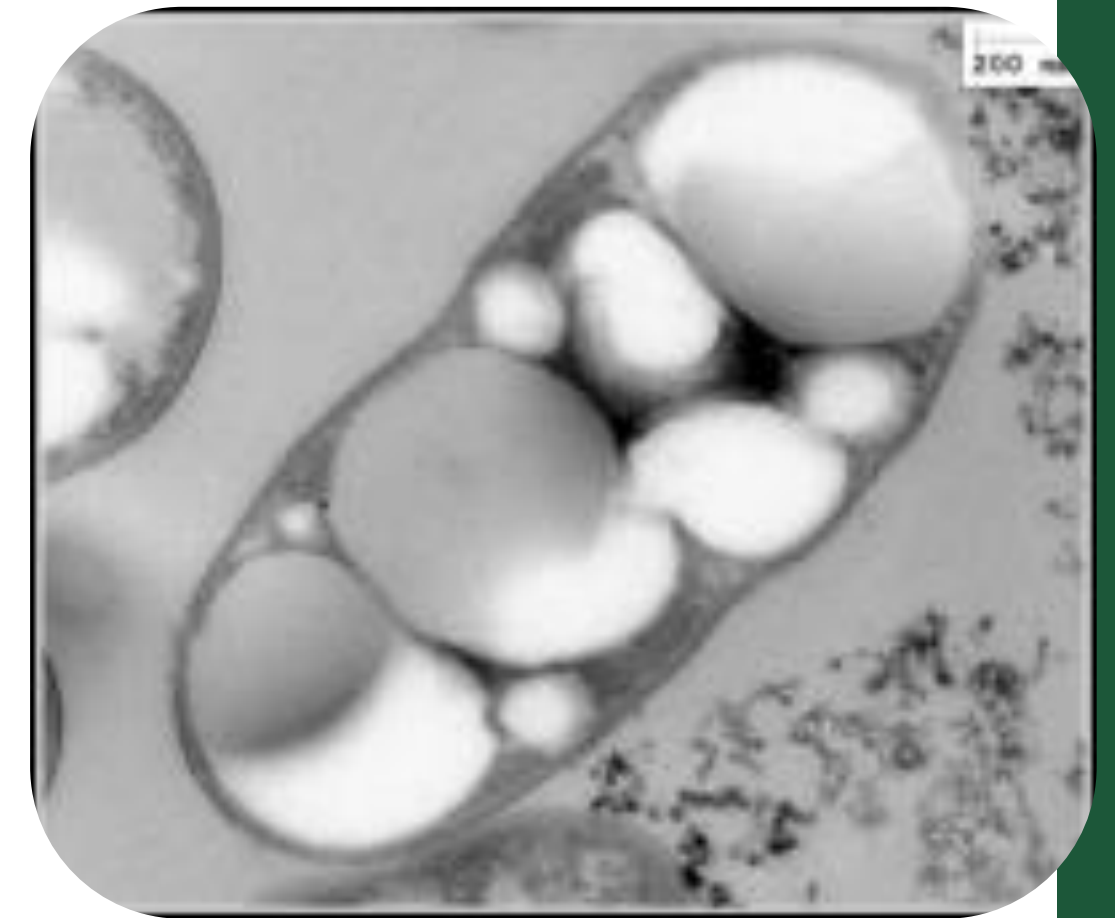


Figura 2. La bacteria *P. putida* acumulando bioplástico (Hernando 2016)

Medios de crecimiento

Entre los medios de crecimiento para pseudomona está el Agar B de King en un medio solido que permite la obtención de colonias bacterianas. Tabla 1 Dentro de los medios liquidos el medio LMC se caracteriza por aportar los nutrientes necesarios para alcanzar el crecimiento máximo de Pseudomona su composición se muestra en la Tabla 2. Mientras que un medio basa constituye medios simples que favorecen el crecimiento de bacterias no exigentes, en condiciones de estrés, cubriendo los requerimientos nutricionales mínimos mostrado en la Tabla 3. (King B Agar | Pseudomonas | Bioser, s/f)

FORMULA	GR / L
PEPTONA	20
AGAR PURIFICADO	12
FOSFATO DIPOTÁSICO (K ₂ HPO ₄)	1.5
SULFATO DE MAGNESIO (MgSO ₄ ·7H ₂ O)	1.5

Tabla 1. Composición del agar King B

FORMULA	GR / L
EXTRACTO DE LEVADURA	1
PEPTONA	5
FOSFATO DE HIDRÓGENO DISÓDICO (NA ₂ HPO ₄ + 2 H ₂ O)	1
SULFATO DE MAGNESIO (MgSO ₄ ·7H ₂ O)	.2
GLUCOSA	10

Tabla 2. Composición del medio LMC

FORMULA	GR / L
MANITOL (SE SUSTITUYÓ POR GLUCOSA)	10
EXTRACTO DE LEVADURA	10
FOSFATO DIPOTÁSICO	.5
SULFATO DE MAGNESIO	.1
CLORURO DE SODIO	.2

Tabla 3. Composición del medio Basal

SUSTRATOS

CASCARA DE PLATANO

Es el principal subproducto del proceso industrial, la cáscara representa aproximadamente el 30% del peso del fruto. (Gómez Montaña et al., 2019)

CASCARA DE PAPA

La papa es la principal fuente de ingresos, alrededor de un cuarto de los residuos de papa generados son descartados (Sánchez, 2020)

CASCARA DE MANGO

El mango es un fruto apreciado y de elevado consumo en todo el mundo, y en México, la cáscara representa alrededor del 32% del peso total del fruto.

#2

Pretratamiento

Esta etapa se realiza con el objetivo de reducir la cristalinidad de la celulosa, romper el complejo lignina-celulosa, aumentar el área superficial del material, minimizar la presencia de sustancias que puedan dificultar las posteriores etapas y minimizar la pérdida del material original. (Antonio & Jiménez, s/f)

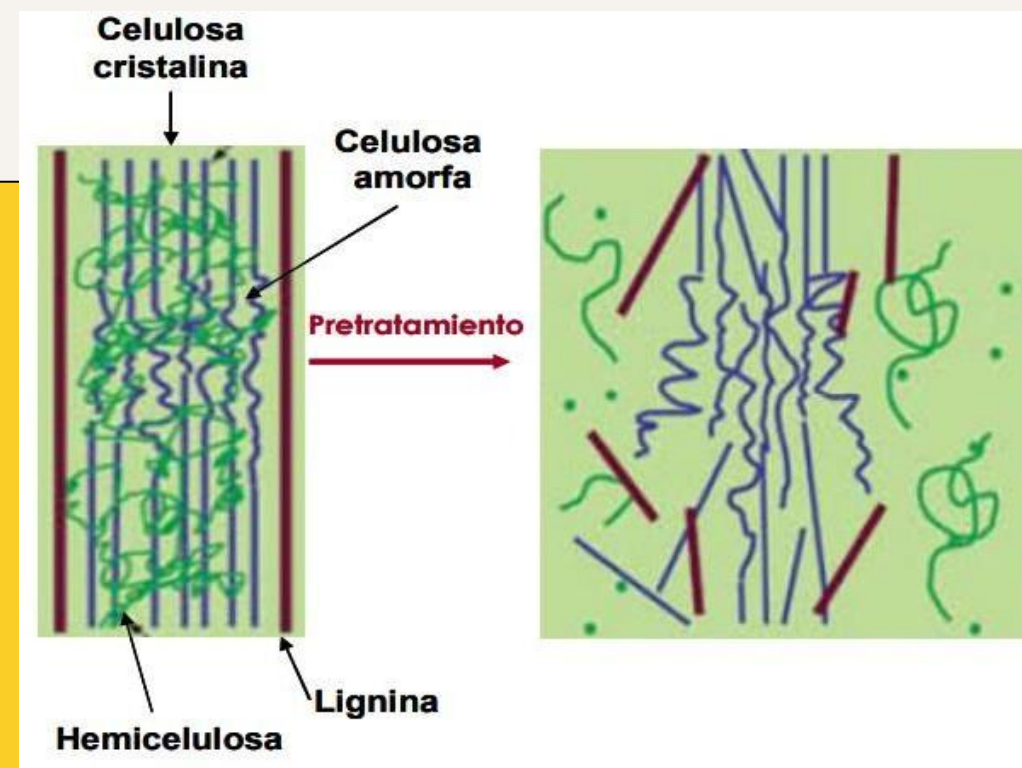


Figura 3. Ruptura de enlaces en el pretratamiento. (Galindo 2017)

Hidrolisis

La hidrolisis es un proceso que consiste en romper los carbohidratos complejos en azúcares simples para utilizarlos como sustrato en la posterior fermentación. La celulosa se hidroliza en monosacáridos de D-glucosa, mientras que la hemicelulosa lo hace en pentosas y hexosas (manosa, glucosa, xilosa, etc.). (Oviedo, 2017)

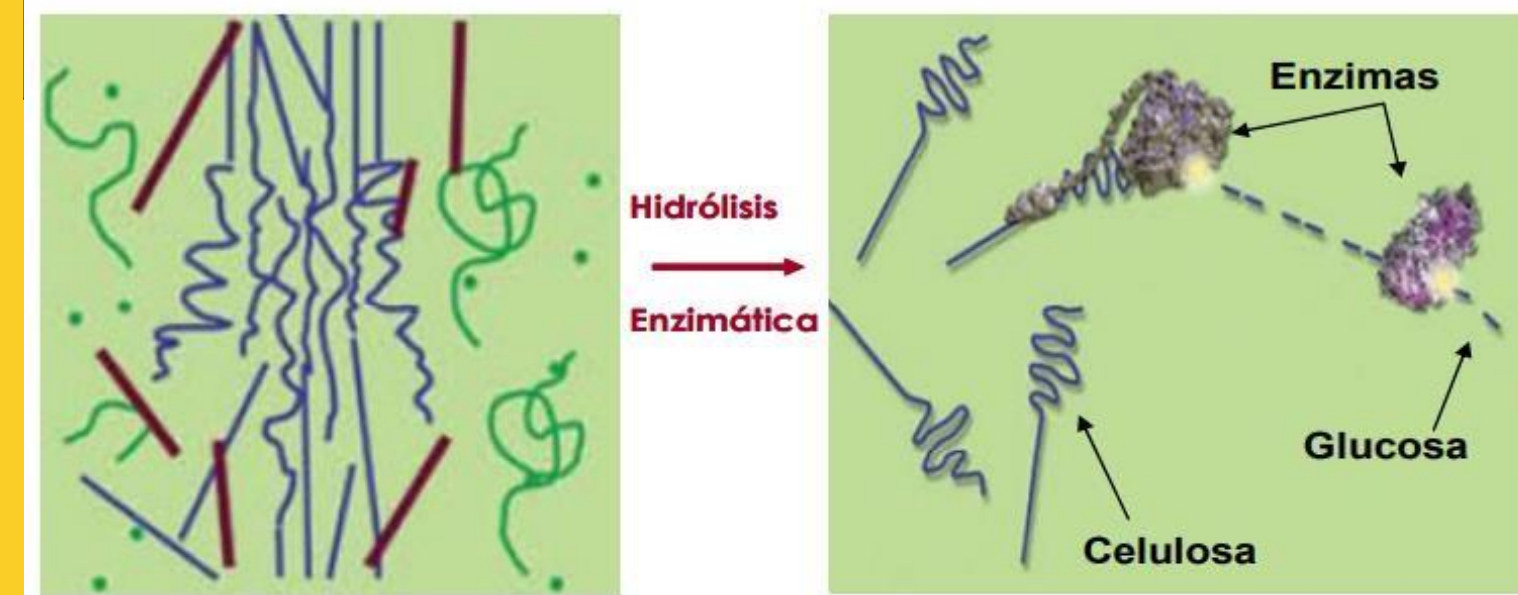


Figura 4. Ruptura de enlaces en la hidrolisis. (Galindo 2017)

METODOLOGIA



Figura 5. Esquema del proceso de obtención de PHA parte I

METODOLOGIA



Figura 5. Esquema del proceso de obtención de PHA parte II

DESARROLLO

FORMULA	PESO HÚMEDO (GR)	PESO SECO (GR)	% HUMEDAD	%HUMEDAD PROMEDIO
MANGO 1	290.043	41.906	86%	88%
MANGO 2	213.000	25.780	88%	
MANGO 3	183.010	18.055	90%	
PLÁTANO 1	146.582	31.848	78%	81%
PLÁTANO 2	74.564	11.158	85%	
PLÁTANO 3	228.610	44.540	81%	
PAPA 1	98.818	6.918	93%	93%
PAPA 2	56.030	3.330	94%	
PAPA 3	74.080	6.600	91%	

Preparación de la biomasa

Se registraron tres valores de cascara sin secar (peso húmedo) y su respectivo peso seco, en base a la siguiente ecuación se realizó el cálculo del porcentaje de humedad, se promediaron estos valores por tipo de cascara para obtener un valor concreto de la humedad el cual, se comparó con los valores teóricos citados en otros proyectos.

Tabla 4. Registros de secado.

RESULTADOS

FORMULA	PESO HÚMEDO (GR)	PESO SECO (GR)	% HUMEDAD	%HUMEDAD PROMEDIO
MANGO 1	290.043	41.906	86%	88%
MANGO 2	213.000	25.780	88%	
MANGO 3	183.010	18.055	90%	
PLÁTANO 1	146.582	31.848	78%	81%
PLÁTANO 2	74.564	11.158	85%	
PLÁTANO 3	228.610	44.540	81%	
PAPA 1	98.818	6.918	93%	93%
PAPA 2	56.030	3.330	94%	
PAPA 3	74.080	6.600	91%	

Preparación de la biomasa

Se registraron tres valores de cascara sin secar (peso húmedo) y su respectivo peso seco, en base a la siguiente ecuación se realizó el cálculo del porcentaje de humedad, se promediaron estos valores por tipo de cascara para obtener un valor concreto de la humedad el cual, se comparó con los valores teóricos citados en otros proyectos.

Tabla 4. Registros de secado.

RESULTADOS

Pretratamiento

Para este procesos se utilizó un nutribullet, moliendo por separado cada tipo de cascara (mango, papa y plátano) y almacenándola en contenedores plásticos. Posterior a la molienda se procedió a eliminar las partículas de mayor tamaño con un colar y estas volvían a ser trituradas hasta alcanzar el tamaño deseado.

Hidrolisis

Para la hidrolisis se registraron los grados brix para identificar el porcentaje de azucares liberados al finalizar el proceso este se hizo únicamente para los medios en los cuales los azucares no estaban libres.

Preparación del medio

Se registró que para una solución hidrolizada de 500 ml posterior al filtrado se tenía un volumen final variable para cada uno de los sustratos los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Medios de crecimiento

Para el preinoculo se utilizó un medio conocido para su crecimiento MCL durante 24 horas a 35° tomando medidas de absorbancia en cada hora con la finalidad de identificar que pseudomona sigue en fase de crecimiento y acortar la fase de latencia. Al término del proceso se registraron los grados Brix de cada solución.

RESULTADOS

Se centrifugo cada una de las muestras a 2000 rpm durante 20 min y se retiró el sobrenadante y el soluto, este último fue extraído mediante lavados con agua destilada. El soluto extraído se secó a 60 grados durante 24 horas para la determinación del peso bacteriano total, se añadió hipoclorito de sodio a 37 grados durante 2 horas. Posteriormente se colocó a baño maría las muestras secas con cloroformo y se pesó el resultante posterior a la evaporación

SUSTRATO	SOBRENADANTE POR LITRO	PHA POR LITRO
MANGO	100 ML	25.86 GR
PLÁTANO	83 ML	19.53
PAPA	30 ML	6.63
LMC	22 ML	4.55
BASAL	55 ML	15.53

Tabla 5. Sobrenadante y PHA por litro

CONCLUSIONES

Se concluye se obtuvieron mayores cantidades de PHA a base de cascara de mango debido a que su contenido de azucres es mayor, superando la cantidad de producción del medio basal original con glucosa, se determinó que brindar los requerimientos mínimos al microorganismo permite la producción me PHA, mientras que un medio rico en nutrientes (LMC), genera una producción menor.

Teniendo que la cantidad de PHA producido 25.86 gr, 19.53 gr ,6.63 gr, 4.55, 15.53 para los medios Mango, Plátano, Papa, LMC y Basal.

BIBLIOGRAFIA

Carlos, M. C. J. (2023). *Repositorio Institucional de la Universidad San Gregorio de Portoviejo: Uso factible del bloque sintético tipo Lego paramampostería no estructural de viviendas de interés social en la ciudad de Portoviejo*. Recuperado el 31 de agosto de 2023, de <http://repositorio.sangregorio.edu.ec/handle/123456789/3004>

Silva, Laura Álvarez da. «Bioplásticos: obtención y aplicaciones de polihidroxialcanoatos.» Trabajo Fin de Grado, Sevilla, 2016.

MARTINEZ, D. (2008) EFECTO DEL GEN *fadH1* EN LA PRODUCCION DE PHA CONTENIENDO MONOMEROS INSATURADOS POR *Pseudomonas putida* . (s/f). Recuperado el 31 de agosto de 2023, de <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8224/tesis219.pdf>

Hernando, Ana. *Una bacteria depredadora que mata para obtener bioplástico*. 28 de 11 de 2016.

King B Agar | Pseudomonas | Bioser. (s/f). Recuperado el 31 de agosto de 2023, de <https://www.bioser.com/productos/king-b-agar-260p/>

Gómez Montaña, F. J., Bolado García, V. E., Blasco López, G., Gómez Montaña, F. J., Bolado García, V. E., & Blasco López, G. (2019). Compositional and antioxidant analysis of peels from different banana varieties (*Musa spp.*) for their possible use in developing enriched flours. *Acta universitaria*, 29, 1–14. <https://doi.org/10.15174/AU.2019.2260>

BIBLIOGRAFIA

Sánchez-Castelblanco, E. M., & Heredia-Martín, J. P. (2020). Evaluation of potato peel wastes to produce amylases from bacillus amyloliquefaciens A16.

Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 44(172), 794–804. <https://doi.org/10.18257/RACCEFYN.1122>

Antonio, J., & Jiménez, P. (s/f). UNIVERSIDAD DE JAÉN FACULTAD DE CIENCIAS EXPERIMENTALES DEPARTAMENTO DE INGENIRÍA QUÍMICA, AMBIENTAL Y DE LOS MATERIALES TESIS DOCTORAL ESTUDIO DEL PRETRATAMIENTO CON AGUA CALIENTE EN FASE LÍQUIDA DE LA PAJA DE TRIGO PARA SU CONVERSIÓN BIOLÓGICA A ETANOL PRESENTADA POR.

Oviedo, U. DE. (2017). “OBTENCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE HIDROLIZADOS DE RESIDUOS DE FRUTA” TRABAJO FIN DE MASTER POR CELIA HERNÁNDEZ GALINDO.

Galindo, Cecilia Hernandez. *Obtencio de Bioetanol a partir de hisrolizados de residuos de fruta*. Master universitario de Biotecnología alimentaria, Meta, 2017.



© MARVID-Mexico
No part of this document covered by the Federal Copyright Law may be reproduced, transmitted or used in any form or medium, whether graphic, electronic or mechanical, including but not limited to the following: Citations in articles and comments Bibliographical, compilation of radio or electronic journalistic data. For the effects of articles 13, 162,163 fraction I, 164 fraction I, 168, 169,209 fraction III and other relative of the Federal Law of Copyright. Violations: Be forced to prosecute under Mexican copyright law. The use of general descriptive names, registered names, trademarks, in this publication do not imply, uniformly in the absence of a specific statement, that such names are exempt from the relevant protector in laws and regulations of Mexico and therefore free for General use of the international scientific community. VCIERMMI is part of the media of MARVID-Mexico., E: 94-443.F: 008- (www.marvid.org/booklets)