

De residuos a biopolímeros: fermentación anaeróbica como ruta sostenible para la producción de polihidroxicanoatos

Rolando Calero¹, Gerardo Herrera¹

¹Universidad Estatal Península de Santa Elena, Facultad de Ciencias de la Ingeniería.

*Autor de correspondencia/ corresponding author, email: rcalero@upse.edu.ec

From waste to biopolymers: anaerobic fermentation as a sustainable pathway for polyhydroxyalkanoates production

Resumen

Los polihidroxicanoatos (PHA) son biopolímeros que han ganado relevancia por su biodegradabilidad y su potencial para reemplazar plásticos convencionales, lo que los convierte en una solución prometedora para mitigar la contaminación plástica. La producción de PHA a partir de ácidos grasos volátiles (AGV), obtenidos mediante el tratamiento anaeróbico de residuos, se presenta como una alternativa sostenible y respetuosa con el medio ambiente frente a las rutas tradicionales de producción. Este artículo analiza el tratamiento anaeróbico de diversos residuos, como glicerol, aceite de palma, bagazo de frutas y vegetales, suero de leche y melaza, con el objetivo de generar AGV. Se evalúan estos sustratos por su disponibilidad, bajo costo y compatibilidad con procesos biotecnológicos sostenibles. Además, se discuten las ventajas y limitaciones de cada sustrato, junto con las condiciones óptimas de operación para maximizar la conversión de los residuos en AGV, con implicaciones significativas para el desarrollo de biorrefinerías integradas y la valorización de residuos en la industria del PHA.

Palabras claves: ácidos grasos volátiles, polihidroxicanoatos, biomasa, biorreactores, microorganismos acidogénicos.

Abstract

Polyhydroxyalkanoates (PHAs) are types of biopolymers that are becoming important because they can break down naturally and could replace regular plastics, which makes them a hopeful way to reduce plastic waste. The production of PHAs from volatile fatty acids (VFAs), generated through anaerobic waste treatment, offers a sustainable and environmentally friendly alternative to traditional production routes. This article examines the anaerobic treatment of various waste substrates, such as glycerol, palm oil, fruit and vegetable bagasse, whey, and molasses, aiming to produce VFAs. These substrates are evaluated based on their availability, low cost, and compatibility with sustainable biotechnological processes. Furthermore, the advantages and limitations of each substrate are discussed, along with the optimal operational conditions to maximize waste conversion into VFAs. The research holds significant implications for the development of integrated biorefinery systems and waste valorization in the PHA industry.

Keywords: volatile fatty acids, polyhydroxyalkanoates, biomass, bioreactors, acidogenic microorganisms



Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial 4.0



Editado por /
Edited by:
Sebastián Ponce

Recibido /
Received:
18/10/2024

Aceptado /
Accepted:
10/12/2024

Publicado en línea /
Published online:
03/10/2025

INTRODUCCIÓN

La creciente demanda global por productos agrícolas y agroindustriales ha intensificado la generación de grandes volúmenes de aguas residuales. Estas corrientes líquidas, ricas en materia orgánica, representan un desafío ambiental significativo si no se gestionan adecuadamente. Sin embargo, en ellas se esconde un potencial económico y medioambiental considerable [1]. La valorización de estas aguas residuales, mediante procesos biológicos, se presenta como una alternativa prometedora para mitigar los impactos ambientales y generar productos de alto valor agregado [2].

La industria agroalimentaria, en particular, genera una diversidad de aguas residuales con características particulares [3]. Entre ellas se destacan los efluentes de la industria azucarera y los provenientes de la producción láctea, ricos en compuestos carbonosos complejos. Estos compuestos orgánicos pueden ser transformados por bacterias acidogénicas en ácidos grasos volátiles (AGV), como el ácido propiónico, ácido butírico y ácido valérico [4]. La generación de AGV encuentra aplicaciones en diversas industrias, desde la química hasta la farmacéutica [5]. No obstante, la implementación de tecnologías de valorización biológica actualmente se enfrenta a desafíos importantes como serían la variabilidad en la composición de las aguas residuales, la optimización de los procesos biológicos y la evaluación de la viabilidad económica [6].

Según datos de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO por sus siglas en inglés), se estima que la agroindustria genera aproximadamente el 30-40 % de todas las aguas residuales industriales a nivel mundial [7]. Lo que anualmente representa una producción de alrededor de 380 mil millones de metros cúbicos de aguas residuales agroindustriales. Por ejemplo, la industria láctea produce entre 0,2 a 10 litros de aguas residuales por litro de leche procesada con una carga orgánica típica: 2 000-5 000 mg/L de DQO (Demanda Química de Oxígeno)[8]. En la industria azucarera la producción es de aproximadamente 1 500-2 000 litros de aguas residuales por tonelada de caña procesada; lo que representa una carga orgánica de entre 1 500 a 3 000 mg/L de DQO [9]. Como último ejemplo, está la industria cárnica, que genera entre 10-20 m³ de aguas residuales por tonelada de producto con una carga orgánica de entre 2 000 a 6 000 mg/L de DQO [10].

Tomando en cuenta esta información, el impacto ambiental es inmenso ya que se estima que solo el 8 % de las aguas residuales industriales en países de bajos ingresos reciben algún tratamiento y en países de ingresos medios, este porcentaje aumenta al 28 % [11]. En la última década la generación de aguas residuales agroindustriales ha aumentado un 15-20 % debido al crecimiento de la industria [12].

Las investigaciones actuales sobre la valorización de aguas residuales agroindustriales mediante la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) abarcan un cuerpo extenso de estudios centrados en la caracterización de diversas fuentes de residuos, la identificación de cepas bacterianas acidogénicas relevantes, así como en la determinación de los factores operativos que afectan la eficiencia de producción de AGV y la selección de tecnologías de tratamiento óptimas. Asimismo, se analizan los principales desafíos y oportunidades que enfrentan estas tecnologías, destacando escenarios y proyecciones para su implementación futura. En este contexto, el propósito de esta revisión es aportar evidencia crítica y actualizada que respalde el diseño de estrategias sostenibles



orientadas a la gestión integral de aguas residuales agroindustriales y a la obtención de bioproductos de alto valor añadido.

METODOLOGÍA

Se llevó a cabo una revisión sistemática para sintetizar la evidencia científica disponible sobre la valorización de aguas residuales agroindustriales mediante la producción de ácidos grasos volátiles (AGV). Con el objetivo de responder a la pregunta de investigación: ¿Cuáles son las tecnologías y estrategias más efectivas para la producción de AGV a partir de aguas residuales agroindustriales, y cuáles son los factores que influyen en su rendimiento? Se diseñó el siguiente protocolo de investigación:

Se escogieron como criterios de inclusión estudios originales que presentaran investigaciones experimentales o de modelado relacionadas con la producción de AGV a partir de aguas residuales agroindustriales; artículos publicados en revistas científicas indexadas con disponibilidad del texto completo; estudios publicados entre 2013 y 2023 para garantizar la relevancia y actualidad de la evidencia científica y, por último, se escogieron investigaciones que evalúan tecnologías y estrategias de producción de AGV y/o los factores que afectan su rendimiento.

Como criterios de exclusión, se evitaron estudios no relacionados directamente con la producción de ácidos grasos volátiles a partir de aguas residuales; revisiones bibliográficas, opiniones de expertos, resúmenes de congresos, capítulos de libros y documentos no revisados por pares; artículos en los que no fue posible acceder al texto completo y estudios publicados antes de 2013, además de trabajos que no proporcionaban datos cuantitativos o cualitativos relevantes sobre la eficiencia o los factores que influyen en la producción de AGV.

En relación con la estrategia de búsqueda, se realizó una revisión exhaustiva en las bases de datos Scopus, Web of Science, PubMed y Google Scholar. Fueron seleccionados únicamente estudios originales derivados de investigaciones experimentales o de modelado enfocados en la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) a partir de aguas residuales de origen agroindustrial. Se estableció como criterio de inclusión que los artículos estuvieran publicados en revistas científicas indexadas, con acceso a texto completo, y que correspondieran a publicaciones de los últimos diez años. Estudios duplicados, revisiones narrativas, resúmenes sin texto completo o documentos no sometidos a revisión por pares fueron excluidos.

RESULTADOS

El estudio sobre el uso de diversas fuentes de carbono económicamente viables representa una estrategia prometedora para reducir significativamente los costos de producción de biopolímeros, en particular los polihidroxialcanoatos (PHA). La evaluación de la viabilidad económica de diferentes sustratos de carbono es un aspecto fundamental en este contexto, incluyendo fuentes como las melazas de caña de azúcar y remolacha, el suero lácteo, los aceites vegetales, los hidrolizados de almidón (maíz y tapioca), así como la celulosa y la hemicelulosa.

En general, estos sustratos requieren un proceso de acidificación para la generación de ácidos grasos volátiles (AGV), los cuales pueden ser utilizados posteriormente como precursores en la biosíntesis de PHA por diversos microorganismos, predominantemente aerobios. En este sentido, resulta fundamental un análisis detallado sobre el origen y la composición de estos sustratos, así como su impacto en los costos de producción y la eficiencia del proceso. Además, se debe considerar la evaluación del rendimiento bajo distintas condiciones operativas, las implicaciones económicas asociadas al uso de estos sustratos y la eficiencia de los métodos de recuperación empleados en la obtención de PHA.

Tipos de residuos para producir ácidos grasos volátiles (AGV)

Uno de los objetivos de la fermentación acidogénica de aguas residuales de diferentes fuentes es la de servir como primer escalón en el proceso de producción de PHA a partir de cultivos mixtos microbianos. Los ácidos grasos volátiles o AGV se generan en un proceso anaeróbico que implica hidrólisis y acidogénesis (esta última también se conoce como fermentación acidogénica o fermentación oscura), como se ilustra en la Figura 1. En la hidrólisis, las enzimas excretadas por los microorganismos hidrolíticos descomponen los polímeros orgánicos complejos de los residuos en monómeros orgánicos más simples. Posteriormente, los acidógenos fermentan estos monómeros en AGV principalmente, como acético, propiónico, butírico y valérico. En ambos procesos interviene un complejo consorcio de anaerobios facultativos obligados, como *Bacteroides*, *Clostridia*, *Bifidobacterium*, *streptococcus* y Enterobacteriaceae. En las últimas décadas, se han dedicado numerosos esfuerzos para maximizar la producción de AGV explorando diferentes tipos de residuos y optimizando las condiciones de funcionamiento. Ahora se sabe que es posible manipular el tipo de AGV producidos, lo que es fundamental para el rendimiento de las aplicaciones posteriores, como la producción de PHA, electricidad, biogás y eliminación biológica del fósforo y el nitrógeno de las aguas residuales [4].

Existe, por lo tanto, un potencial de generación de AGV a partir de diversos residuos sólidos y líquidos. Los lodos, los residuos alimentarios y la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos son los tres residuos sólidos más investigados, mientras que las aguas residuales generadas por las industrias agrícola, láctea, papelera y de la pasta de papel son los residuos líquidos más utilizados para la producción de AGV [13]. En estos procesos es importante que el contenido de amonio de los residuos sea inferior a 5000 mg/L para evitar la inhibición de la producción de AGV. Aparte de las características de los residuos, hay que tener en cuenta la disponibilidad y la cantidad de residuos generados para garantizar un suministro continuo y estable de residuos para producir AGV.



Figura 1. Esquema del proceso de conversión de residuos agroindustriales en ácidos grasos volátiles (AGV).



Aplicaciones de los ácidos grasos Volátiles derivados de residuos de aguas residuales

Los ácidos grasos volátiles (AGV) generados mediante la fermentación acidogénica de residuos representan un sustrato de alto valor para diversas aplicaciones industriales y ambientales [14]. Además de su aprovechamiento en la producción de bioplásticos, los AGV pueden ser utilizados en procesos de generación de bioenergía y en la eliminación biológica de nutrientes. En numerosos casos, los efluentes fermentados ricos en AGV pueden emplearse de forma directa; no obstante, ciertas aplicaciones requieren tratamientos adicionales con el fin de optimizar la eficiencia del proceso y garantizar la calidad del producto final.

Antes de que los residuos fermentados puedan utilizarse para la producción de PHA, es importante regular el contenido de amonio y fósforo, ya que un exceso de nutrientes favorecería el crecimiento de microorganismos y reduciría la conversión de AGV en PHA [15]. Se conoce que las condiciones de nitrógeno y fósforo podrían conducir a un mayor contenido y rendimiento de PHA. El exceso de nitrógeno y fósforo presente en los residuos fermentados puede eliminarse con una pérdida insignificante de AGV mediante el uso de técnicas eficaces donde los residuos fermentados deben filtrarse antes de su utilización.

La obtención de PHA obtenido mediante microorganismos puros es mayor (Tabla 1), pero se requieren condiciones de esterilización, lo que anularía el objetivo principal de reducir el costo de producción de PHA, ya que implica un aporte adicional de energía y equipos. Por el contrario, la producción de PHA mediante cultivos mixtos elimina la necesidad de esterilización y, por tanto, es una vía de producción de AGV derivados de residuos más viable económicamente. El contenido de PHA obtenido a partir de cultivos mixtos puede mejorarse optimizando las condiciones operativas del reactor de cultivo de los microorganismos acumuladores de PHA [16] mediante la alimentación del tipo de AGV adecuado y/o el ajuste fino de las condiciones de producción de PHA. Con esta estrategia, se puede lograr un contenido de PHA en un rango de 40-70 % mediante cultivos microbianos mixtos alimentados con residuos de alimentos fermentados, lodos activados con residuos fermentados, melazas de caña de azúcar fermentadas y efluentes de papeleras fermentados [17].

La longitud de la cadena de los AGV tiene una gran influencia en la composición y, por tanto, en las propiedades mecánicas y la aplicación del PHA resultante. En la producción de PHA de cultivo mixto, los ácidos acético y butírico favorecen la producción de 3-hidroxiбутирато (3HB), mientras que los ácidos propiónico y valérico promueven la síntesis de 3-hidroxiуалерато (3HV). El poli(3-hidroxiбутирато) (P(3HB)) es quebradizo y rígido, por lo que sus aplicaciones son limitadas. La incorporación de 3HV da lugar a la formación del copolímero P(3HB-co-3HV), que es más flexible y duro [18]. Además, es menos permeable al oxígeno que el polietileno y el polipropileno comerciales, lo que lo convierte en un material adecuado para el envasado de alimentos. Por lo tanto, es esencial regular la composición de AGV durante la fermentación acidogénica para facilitar la producción de PHA con las propiedades deseadas [19].

TABLA 1. Contenido máximo de polihidroxialcanoatos (PHA) (% p/p) producido por cultivos microbianos puros y mixtos utilizando ácidos grasos volátiles (AGV) derivados de diferentes residuos [4].

| Fuentes de ácidos grasos volátiles | Cultivos microbianos | Contenido de PHA en porcentaje peso |
|---|------------------------------|-------------------------------------|
| Aguas residuales de almidón fermentado | <i>Alcaligenes eutrophus</i> | 34 |
| Efluentes de aceite de palma fermentado | <i>Ralstonia eutropha</i> | >90 |
| Aguas residuales de papeleras fermentadas | Lodos activos | 48 |
| Efluente de madera fermentada | Lodos activados | 29 |
| Melaza de caña de azúcar fermentada | Lodos activados | 37-75 |
| Lodos activados de residuos fermentados | Lodos activados | 57-73 |
| Residuos de alimentos fermentados | Lodos activados | 40 |
| Residuos alimentarios fermentados y lodos de depuradora | Lodos activados | 48 |

Residuos biológicos y rutas fermentativas

La selección del sustrato desempeña un papel fundamental en la eficiencia del proceso de producción, determinando tanto la composición de los ácidos grasos volátiles (AGV) generados como las propiedades finales del polihidroxialcanoato (PHA) obtenido. La optimización de estos sustratos es, por tanto, un aspecto clave para avanzar hacia una producción de biopolímeros más sostenible y económicamente viable.

En este contexto, es esencial evaluar diversas fuentes de carbono y sus implicaciones en la fermentación anaeróbica, con el objetivo de mejorar el rendimiento del proceso y la calidad del biopolímero resultante. A continuación, se presentan algunos de los sustratos más relevantes en este ámbito:

Glicerol

El glicerol es el principal subproducto de la industria del biodiésel [20]. Dado que la producción de biodiésel ha aumentado drásticamente desde 2007 [21], el glicerol crudo generado a partir de la transesterificación del aceite vegetal también se ha producido en grandes cantidades. Publicaciones recientes [22] han descrito que la fermentación directa de biodiesel-glicerol a PHB por *Cupriavidus necator* puede llegar a una producción del biopolímero cercana al 50 % de la biomasa microbiana seca.

Las muestras de glicerol crudo provenientes de diferentes fabricantes presentan variaciones significativas en su composición, especialmente en el contenido de sales como NaCl o K₂SO₄, así como en la presencia de metanol, ácidos grasos y el pH, que depende del proceso de producción aplicado. Estos contaminantes pueden acumularse durante el curso de la fermentación, afectando potencialmente el crecimiento microbiano y la síntesis de poli(3-hidroxibutirato) (PHB) [23].



No obstante, a pesar de estas diferencias, todas las materias primas evaluadas contienen glicerol como componente principal, acompañado de cantidades residuales muy bajas de jabones y ésteres metílicos de ácidos grasos. En un estudio realizado se analizaron muestras con una composición de 40 % de glicerol y 34 % de jabones y ésteres metílicos de ácidos grasos, demostrando que estos componentes son sustratos de carbono preferidos por cepas de *Pseudomonas*, un grupo de bacterias que difiere significativamente de los típicos productores de PHA [24].

En fermentaciones de alta densidad celular, los contaminantes (NaCl o K_2SO_4), podrían acumularse hasta alcanzar concentraciones inhibitorias. Bacterias como *Paracoccus denitrificans* y *Cupriavidus necator* JMP 134, acumulan polihidroxibutirato (PHB) a partir de glicerol puro hasta un contenido del 70 % de la masa seca celular. Cuando se utilizó glicerol crudo que contenía 5,5 % de NaCl , se observó un contenido se reducía a un 48 % de PHB de una masa seca bacteriana de 50 g/L. Además, el coeficiente de rendimiento de PHB se redujo, obviamente debido a la osmorregulación. El efecto del glicerol contaminado con K_2SO_4 fue menos pronunciado.

Para examinar usos alternativos para el glicerol de desecho de biodiesel de bajo valor, se realizaron inicialmente fermentaciones a pequeña escala por *Burkholderia cepacia* en matraces agitados y se analizó la producción de PHB utilizando glicerol como fuente de carbono. Se determinaron las propiedades fisicoquímicas del PHB producido por *B. cepacia* cultivado en glicerol de grado reactivo, estableciéndose que la masa molecular disminuye cuando se utiliza glicerol como fuente de carbono. Posteriormente *B. cepacia* se utilizó para convertir biodiésel-glicerol en PHB mediante fermentación a escala de planta piloto (200 L).

Se ha observado que el uso de glicerol derivado del biodiésel como única fuente de carbono en cultivos agitados permite a *Burkholderia cepacia* producir 5.8 g/L de biomasa seca, con un contenido de poli(3-hidroxibutirato) (PHB) de hasta el 81,9 % del peso seco total. Comparada con *Escherichia coli* y diversas cepas de *Pseudomonas* cultivadas en glicerol, *B. cepacia* mostró una mayor producción de biomasa y PHA [25]. Sin embargo, un incremento en la concentración de glicerol del 3 % al 9 % (v/v) resultó en una disminución cercana al 50 % en la biomasa producida por *B. cepacia*.

De manera similar, estudios realizados con *Cupriavidus necator* indicaron que concentraciones elevadas de glicerol (>30 g/L) también redujeron significativamente la tasa de crecimiento específico de esta cepa. Adicionalmente, investigaciones recientes con *Pseudomonas oleovorans* y *Pseudomonas corrugata* demostraron que estas especies pueden sintetizar poli(3-hidroxibutirato) (P3HB) y polihidroxialcanoatos de longitud de cadena media (mcl-PHA) a partir de glicerol. Los mcl-PHA sintetizados estaban compuestos principalmente de ácido 3-hidroxidecanoico (C10:0; 44 ± 2 mol %) y ácido 3-hidroxidecanoico (C12:1; 31 ± 2 mol %), respectivamente, a concentraciones de glicerol de hasta el 5 % (v/v). En *P. oleovorans*, la productividad celular alcanzó un máximo del 40 % en glicerol al 5 % (v/v), mientras que en *P. corrugata* fue del 20 % con glicerol al 2 % (v/v) tras 72 horas de cultivo [26].

Es importante destacar que el aumento de la concentración de glicerol en el medio, del 1 % al 5 % (v/v), provocó una disminución significativa en la masa molar (M_n) de los polímeros, con reducciones del 61 % en el P3HB y del 72 % en el mcl-PHA. No obstante, los patrones



de crecimiento observados para *P. oleovorans* y *P. corrugata* sugieren la posibilidad de utilizarlas en cultivos mixtos para obtener mezclas naturales de P3HB y mcl-PHA.

Por otro lado, estudios con *B. cepacia* ATCC 17759 confirmaron que concentraciones de glicerol entre el 3 % y el 9 % (v/v) favorecen la producción de PHB. Sin embargo, cuando el glicerol se usó como fuente secundaria de carbono, junto con xilosa como fuente primaria, la masa molecular del PHB disminuyó, dependiendo tanto del tiempo de adición como de la concentración del glicerol [27].

El uso de la cepa *Zobellella denitrificans* para la producción de poli(3-hidroxi butirato) (PHB) ha sido objeto de estudio a partir de glicerol como única fuente de carbono [28]. Para esto se utilizó un equipo de fermentación a escala piloto (42 litros) para aumentar la alta capacidad de acumulación de PHB de esta cepa. Mediante el cultivo por lotes alimentados (Fed-Batch reactors), al principio se obtuvo una densidad celular relativamente alta ($29,9 \pm 1,3$ g/L) durante un breve periodo de fermentación (24 horas). Sin embargo, el contenido en PHB era relativamente bajo ($31,0\% \pm 4,2\%$ [peso/peso]). Posteriormente, se obtuvieron concentraciones mucho más elevadas de PHB (hasta $54,3 \pm 7,9$ g/L) y densidades celulares más altas (hasta $81,2 \pm 2,5$ g/L) mediante una optimización adicional de la alimentación por lotes en presencia de 20 g/L de NaCl, con una alimentación optimizada de glicerol y amoníaco para favorecer tanto el crecimiento celular como la acumulación de polímeros durante un periodo de 50 horas. Se alcanzó una tasa de crecimiento específico elevada (0,422/h) y un tiempo de duplicación corto (1,64 horas). El contenido máximo de PHB alcanzado fue del $66,9\% \pm 7,6\%$ del peso seco celular. La productividad volumétrica máxima de polímero fue de $1,09 \pm 0,16$ g/L/h, mientras que el coeficiente de rendimiento de sustrato fue de $0,25 \pm 0,04$ g PHB/g glicerol. La recuperación máxima de PHB ($85,0\% \pm 0,10\%$ p/p) se obtuvo tras 72 horas de extracción con cloroformo a 30 °C, logrando una pureza del polímero del $98,3\% \pm 1,3\%$.

Por último también se investigó el uso de cepas microbianas mixtas abiertas, estudiando flujos de residuos como materia prima para el proceso de producción de PHA con el fin de valorizar los residuos orgánicos y reducir los costos de producción de PHA observando el efecto de la duración de los ciclos del reactor en el proceso de enriquecimiento bacteriano haciendo énfasis en la distribución de glicerol hacia PHA y poliglucosa con dos reactores discontinuos secuenciados (Sequencing Batch Reactors, SBR) operando con el mismo tiempo de retención hidráulica y de biomasa [29]. Una longitud de ciclo corta (6 horas) favoreció la producción de poliglucosa frente a la de PHA, mientras que a una longitud de ciclo larga (24 horas) se favoreció más la de PHA. En ambas comunidades parecía dominar el mismo microorganismo, lo que sugiere una respuesta metabólica más que de competencia microbiana.

Diversos estudios han evaluado el potencial de cultivos bacterianos seleccionados para metabolizar fracciones de glicerol y metanol presentes en glicerol crudo [30]. Sin embargo, en el presente estudio se observó que el glicerol actuó como la única fuente de carbono que contribuyó a la acumulación de dos biopolímeros: polihidroxi butirato (PHB) y un biopolímero de glucosa (GB). Los resultados obtenidos muestran que el cultivo alcanzó un contenido máximo de PHB del 47 % del peso celular seco, con una productividad de 0,27 g/L-d, empleando cultivos mixtos aerobios y un sustrato de desecho real con materia orgánica compuesta por ácidos grasos no volátiles.



Cabe destacar que el uso de glicerol crudo como sustrato permite la producción de PHA sin la necesidad de etapas previas de pretratamiento. Esta característica confiere al proceso una ventaja significativa en términos de viabilidad económica, al reducir los costos operativos y mejorar la competitividad del biopolímero en el mercado.

Residuos lignocelulósicos

En la última década, ha crecido significativamente el interés en la investigación sobre el aprovechamiento de materiales de origen biológico recuperados de la biomasa residual. Este enfoque se centra en la utilización de bioproductos extraídos, recuperados y/o sintetizados para aplicaciones industriales esenciales, alineadas con los objetivos de sostenibilidad dentro de una bioeconomía futura. En particular, el uso eficiente de materias primas derivadas de la biomasa, especialmente aquellas provenientes de materiales lignocelulósicos (biomasa vegetal compuesta principalmente de celulosa, hemicelulosa y lignina), representa un área clave de innovación. Estas materias primas tienen un alto potencial para aplicaciones a gran escala, impulsadas por investigaciones orientadas al desarrollo y la implementación de biorrefinerías. Estas instalaciones multietapa y multiproducto están diseñadas para procesar materias primas específicas de origen biológico y producir productos como biopolímeros. En este contexto, diversos investigadores han estudiado los recientes avances en el uso de biomasa lignocelulósica para la producción de poli(hidroxialcanoatos) (PHA), un ejemplo destacado de esta línea de investigación [31].

Uno de los principales ámbitos industriales que genera grandes cantidades de subproductos es la industria de transformación de la madera como la celulosa y la hemicelulosa contenidas en los residuos que pueden convertirse en monómeros de azúcar C5 y C6 mediante hidrólisis en condiciones ácidas (hidrólisis ácida concentrada o diluida) o tratamiento químico y enzimático combinado. Los azúcares obtenidos pueden utilizarse como fuentes de carbono para la producción química y de biopolímeros mediante fermentación. Esta fermentación de los azúcares producidos puede llevarse a cabo simultáneamente con la hidrólisis enzimática o por separado. La principal ventaja de llevar a cabo la hidrólisis y la fermentación en operaciones unitarias separadas es que cada unidad se ejecuta en sus condiciones óptimas, mientras que los beneficios de un proceso simultáneo de hidrólisis y fermentación, aparte de la reducción de la inversión de capital, es el consumo directo de los azúcares producidos por el microorganismo fermentador y, por lo tanto, hay una inhibición insignificante de las enzimas productoras finales. Hasta ahora, la investigación se ha centrado principalmente en la producción de etanol por fermentación a partir de los compuestos del hidrolizado utilizando diversos microorganismos, como *Saccharomyces cerevisiae*, *Zymomonas mobilis* y *Escherichia coli* [32].

Otro sector industrial importante que genera grandes cantidades de residuos lignocelulósicos es la industria de la pasta y el papel. Los principales compuestos de los licores usados de las fábricas de pasta son la lignina o los lignosulfonatos, en el caso del proceso al sulfito, y los monómeros de azúcar resultantes de la descomposición de las hemicelulosas durante el proceso de digestión. Estos monómeros son principalmente azúcares C5 y C6, a saber, xilosa, arabinosa, manosa, galactosa y glucosa. También se produce acético a partir de la degradación de las hemicelulosas. La utilización del licor de sulfito usado o licor negro para la producción de productos químicos y biopolímeros no se ha estudiado en detalle. La investigación centrada en la fermentación de hidrolizados de madera para la producción química podría adaptarse en el caso de los licores usados [33].



Se ha propuesto que el carbono orgánico de las aguas residuales de la fábrica de papel se pueda fermentar para preparar un sustrato rico en AGV para el posterior enriquecimiento de la comunidad microbiana productora de PHA [34], donde las aguas residuales de las papeleras muestran las siguientes características (Tabla 2).

Tabla 2. Composición fisicoquímica de efluentes de la industria papelera: caracterización de sólidos, materia orgánica y nutrientes [34]

| Parámetro | Valor |
|---|----------------|
| Sólidos Totales Suspendedos (STS) inicial | 0,2 ± 0,02 g/L |
| Demanda Química de Oxígeno (DQO) inicial | 26,3 ± 0,3 g/L |
| Glucosa | 8 ± 1 mM |
| Ácidos grasos Volátiles (AGV) | 79 ± 4 mM |
| NH4+ | 0,47 ± 0,02 mM |

En este contexto, el uso de la cepa *Saccharophagus degradans* (ATCC 43961) ha mostrado avances significativos en la biorremediación de residuos lignocelulósicos generados por la industria tequilera, así como en su potencial aplicación para la producción de bioplásticos como productos de valor agregado [35]. La utilización de *S. degradans* resulta especialmente atractiva debido a su carácter no patógeno y a la presencia de complejos multienzimáticos altamente especializados que actúan en consorcio, permitiéndole despolimerizar y metabolizar una amplia variedad de polisacáridos complejos e insolubles (PCI). Además, estudios de identificación genómica han confirmado la presencia de tres enzimas clave involucradas en estos procesos.

Se ha demostrado que *S. degradans* posee la capacidad de hidrolizar celulosa cristalina, y se ha evaluado el efecto de la lignina sobre la cinética de crecimiento, determinándose que esta influye sustancialmente al prolongar el tiempo necesario para alcanzar la fase de crecimiento exponencial, aunque sin afectar la biomasa total producida. Asimismo, se ha observado que *S. degradans* es capaz de acumular polihidroxialcanoatos (PHA) en condiciones de agotamiento de nitrógeno, alcanzando concentraciones de hasta aproximadamente 1,5 mg/mL de biomasa total.

La búsqueda constante de nuevas cepas bacterianas capaces de almacenar polihidroxialcanoatos (PHA) utilizando fuentes de carbono más económicas y renovables ha llevado a explorar entornos novedosos y diversos, como es el intestino de las termitas [36]. En este contexto, se identificaron tres cepas bacterianas aisladas del intestino de la termita superior *Macrotermes carbonarius* que demostraron capacidad de acumulación de PHA mediante estudios microscópicos y experimentos de producción. Estas cepas mostraron un 99 % de homología con *Bacillus megaterium* y *Bacillus flexus*, caracterizadas por su rápido crecimiento y mayor capacidad de acumulación de PHA.

Los análisis realizados indicaron que estas cepas eran capaces de acumular PHA durante la fase de crecimiento utilizando diversas fuentes de carbono, incluidas glucosa, fructosa, acetato sódico, valerato sódico y 1,4-butanodiol. Además, el análisis del polímero mediante cromatografía de gases reveló que estaba compuesto principalmente por poli(3-hidroxibutirato) (PHB).



La hidrólisis de celulosa mediada por rutenio en un proceso de biorrefinería podría ser considerada como una alternativa en la producción de bioplásticos a partir de biomasa celulósica [37]. Para eso estudios previos se han realizado en la obtención de poli(3-hidroxiбутirato) [P(3HB)] a partir de glucosa utilizando como fuente celulosa de residuos generado utilizando *E. coli* recombinante con rutenio como catalizador.

El empleo de lodos activados procedentes de fábricas de papel se ha identificado como una alternativa prometedora para la producción de polihidroxialcanoatos (PHA) [38]. Esta estrategia se fundamenta en la selección de organismos acumuladores de glucógeno (GAOs, por sus siglas en inglés) mediante la alternancia controlada de condiciones anaerobias y aerobias. Como parte del proceso, durante la fermentación acidogénica se aplica un pretratamiento dirigido a transformar diversos compuestos orgánicos en ácidos grasos volátiles (AGV), que sirven como sustratos ideales para la posterior síntesis de PHA.

El enriquecimiento microbiano dio como resultado un cultivo dominado por *Deffluvicoccus vanus* (56 %) y *Candidatus Competibacter phosphatis* (22 %). La optimización de la acumulación de PHA por el cultivo enriquecido de GAOs se llevó a cabo mediante experimentos por lotes. En condiciones anaerobias, la acumulación de PHA estuvo limitada por la disponibilidad de glucógeno intracelular almacenado, mientras que en condiciones aerobias se observó una producción significativa de glucógeno, alcanzando hasta el 25 % del peso seco del lodo, junto con una acumulación de PHA de hasta el 22 % del peso seco.

Posteriormente, al aplicar un periodo anaeróbico tras un periodo aeróbico inicial, el glucógeno producido se utilizó para incrementar aún más la acumulación de PHA, logrando un contenido máximo de PHA del 42 % del peso seco del lodo. El rendimiento total del proceso fue de 0.10 kg de PHA por cada kilogramo de DQO del influente tratado. Este proceso se desarrolló utilizando un ciclo "feast/famine" (festín/hambruna), que permitió el enriquecimiento y selección eficiente de cepas bacterianas acumuladoras de PHA.

Residuos municipales y lodos de depuradora

Los lodos primarios y los lodos activados por residuos (Waste Activated Sludge, WAS) generados en las plantas de tratamiento de aguas residuales municipales se han estudiado con frecuencia para la producción de AGV debido a los enormes volúmenes generados en el tratamiento biológico de aguas residuales [39].

Ambos residuos presentan un alto contenido de materia orgánica, con una DQO total que oscila entre 14 800 mg/L y 23 000 mg/L, lo que los convierte en fuentes prometedoras para la producción de AGV. No obstante, la DQO soluble de los lodos suele ser entre diez y cien veces menor que su DQO total [40], lo que limita la disponibilidad inmediata de sustratos solubles. Esta condición retrasa la producción de AGV, dado que la hidrólisis de la materia orgánica particulada en los lodos constituye el paso limitante del proceso. Por ello, se requieren mayores esfuerzos para optimizar la etapa de hidrólisis, por ejemplo, mediante la aplicación de pretratamientos específicos.

El contenido y la tasa de producción de PHA alcanzados por los lodos activados se han comparado con los resultados obtenidos mediante fermentación con cultivos puros [41]. Por ejemplo, utilizando cepas de *Ralstonia eutropha*, *Alcaligenes latus* y *E.*



coli recombinante, se reportaron contenidos de PHA del 74 %, 50 % y 76 % del peso seco celular, respectivamente [42]. Estos valores son considerablemente superiores al contenido de PHA típico obtenido por los lodos activados, que generalmente no supera el 30 % del peso seco de los lodos.

No obstante, para que la producción de PHA sea económicamente viable, es fundamental alcanzar contenidos superiores al 80 % del peso seco celular. Esto subraya la importancia de optimizar la capacidad de acumulación de PHA en los lodos activados. Aun así, estos lodos han demostrado un notable potencial en términos de tasa de producción, alcanzando 28 mg C/g SS/h (miligramos de carbono producido por gramo de sólidos suspendidos por hora), valor comparable al de los cultivos puros. Este rendimiento evidencia la viabilidad de los lodos activados como sistema alternativo para la obtención de PHA a escala industrial.

Residuos alimentarios

Los principales sustratos de carbono de bajo costo de la industria alimentaria pueden utilizarse también para producir PHA. Por ejemplo, las aguas residuales de las almazaras, las melazas, el licor de remojo de maíz, las aguas residuales amiláceas, el salvado de arroz, el salvado de trigo y el efluente de los molinos de aceite de palma. Los residuos alimentarios tienen un alto contenido en humedad y materia orgánica, por lo que serían un sustrato ideal para la digestión anaerobia. Los residuos alimentarios o de cocina son el componente dominante (22-54 %) en los enormes volúmenes de residuos sólidos urbanos y tienen una elevada DQO total en un rango de 91 000- 166 180 mg/L [43]. Los ácidos grasos volátiles generados en los pasos de la digestión anaerobia (hidrólisis, acidogénesis y acetogénesis) son sustratos críticos para los microorganismos implicados en la producción de plásticos biodegradables y bioenergía; por lo que la acidogénesis de los residuos alimentarios también puede generar subproductos valiosos como H₂ o polihidroxialcanoatos. Esto ha hecho que, en los últimos años, la valorización de los residuos alimentarios cobre impulso y pueda desempeñar un papel fundamental en la era de la bioeconomía en lo que respecta a la producción de productos químicos y biopolímeros [44].

En un resumen del flujo de residuos aptos para la producción de PHA (Tabla 3) se observa que sólo tres corrientes de residuos contienen suficiente materia orgánica (DQO) para producir 3 500 toneladas de PHA/año. La concentración de estos flujos oscila entre 1,9 y 50 kg DQO m⁻³. La producción de PHA que utiliza el flujo más grande no es útil debido a la alta dilución del sustrato y a su disponibilidad durante sólo 3 meses al año, lo que conduce a un reactor grande e improductivo. Los residuos vegetales, frutales y de jardinería son residuos sólidos y deben acidificarse antes de su uso. Esto supone un paso adicional en el proceso de producción. Dado que sólo una pequeña parte de los residuos vegetales se solubilizará, seguirá existiendo un gran problema de eliminación. El percolado de la fracción orgánica húmeda de los residuos domésticos se considera el más adecuado para la producción de PHA. Tiene una concentración muy alta de ácidos grasos volátiles, está disponible en grandes cantidades y se puede transportar fácilmente. Existen varios informes sobre la producción de ácidos grasos volátiles a partir de efluentes de molinos de aceite de palma tratados anaerómicamente y la utilización de estos ácidos orgánicos para producir PHA [4].

Tabla 3. Potencial de flujo y disponibilidad de residuos orgánicos como sustratos para la producción de polihidroxialcanoatos (PHA) [4]

| Fuente de sustrato | Flujo (m ³ h ⁻¹) | Disponibilidad (mes/año) | *DQO (kg DQO/m ³) | Capacidad (ton DQO/m ³) | Producción (ton PHA/año) |
|--------------------------------|---|--------------------------|-------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|
| Producción de fécula de patata | 300 | 12 | 2,5 | 6 750 | 2 431 |
| Azúcar de remolacha | 3 750 | 3 | 1,9 | 15 604 | 5 773 |
| Aguas residuales de cervecería | 300 | 12 | 208 | 7 358 | 2 723 |
| Hortalizas, frutas y verduras | 90 | 12 | 15 | 11 774 | 4 356 |
| Basura doméstica | 30 | 12 | 50 | 13 333 | 4 933 |

*DQO: Demanda Química de Oxígeno, PHA: polihidroxialcanoatos

En tabla anterior se muestra los valores obtenidos de Capacidad que indica la capacidad total de carga de demanda química de oxígeno (DQO) que se puede manejar o convertir en un proceso en función del volumen total de flujo del sustrato (m³) y su concentración de DQO (kg DQO/m³).

La fórmula para calcular la capacidad en toneladas de DQO/m³ es:

$$\text{Capacidad (ton DQO)} = \text{Flujo (m}^3/\text{h)} \times \text{Disponibilidad (horas/año)} \times \text{DQO (kg/m}^3\text{)}$$

Entre las fuentes analizadas, el azúcar de remolacha mostró la mayor capacidad, alcanzando 15604 toneladas de DQO al año, debido a su alto flujo de 3750 m³/h, aunque con una disponibilidad limitada de tres meses al año. Por el contrario, los residuos de hortalizas, frutas y verduras, con una disponibilidad continua de 12 meses, registraron una capacidad de 11 774 toneladas de DQO anuales, gracias a su elevada concentración de 15 kg/m³ de DQO. Estos resultados evidencian que la combinación de flujo, disponibilidad y concentración de DQO es determinante para maximizar la capacidad de carga orgánica de los sustratos y, por ende, su potencial para ser utilizados en procesos de fermentación para la producción de PHA.

Melaza

La melaza es un subproducto viscoso obtenido de la transformación de la caña de azúcar o la remolacha azucarera en azúcar. Existen dos tipos de melazas: la melaza sulfurada y la melaza no sulfurada. La melaza sulfurada se forma durante la extracción del azúcar de la caña de azúcar verde inmadura cuando se añade dióxido de azufre como conservante durante el proceso de extracción del azúcar. La melaza no sulfurada procede de caña de azúcar madura que no requiere tratamiento con azufre [45]. La melaza de caña de azúcar se compone principalmente de sacarosa y fructosa y en la etapa previa de la producción de PHA, la fermentación acidogénica, el propionato y el valerato son los productos dominantes [46]. Es importante recordar que los productos de la fermentación acidogénica dependen de las propiedades de los bioplásticos obtenidos.



Se ha llevado a cabo una cantidad razonable de investigación sobre la utilización de melazas fermentadas para la producción de PHA. Se ha reportado que, a partir de un cultivo bacteriano mixto operado en un reactor de secuenciación discontinua (SBR) bajo un régimen de alimentación dinámica aeróbica (Aerobic Dynamic Feeding, ADF), es posible alcanzar una producción de P(3HB-co-3HV) equivalente hasta el 30 % del peso seco total de la biomasa, con una concentración máxima de 3,5 g/L. Microorganismos como *Thauera*, *Azoarcus* y *Paracoccus* se han identificado con frecuencia como productores clave de PHA [47].

Además, se ha investigado la producción de polihidroxialcanoatos (PHA) en condiciones aerobias utilizando cultivos microbianos mixtos acumuladores de glucógeno (OAG) y melaza de caña de azúcar fermentada como sustrato [48]. Los altos rendimientos de polímero y las elevadas tasas de producción obtenidas indican que el enriquecimiento de OAG podría ser una estrategia efectiva para la producción de PHA en cultivos mixtos empleando sustratos de desecho.

Residuos del proceso de fabricación de margarina.

En el proceso de la fabricación de margarina los residuos obtenidos también se constituyen en otra posibilidad de sustrato para obtener PHA. En este proceso, los aceites vegetales o las grasas animales se modifican mediante hidrogenación, reordenación y fraccionamiento, mezclándose con agua, salmuera e ingredientes en polvo. En la mezcla se incluyen aditivos (vitaminas, emulsionantes, sal, aromas) para mejorar la calidad del producto y potenciar su sabor. La mezcla es sometida a temperaturas de 50-60°C, lo que da lugar a la formación de una emulsión (margarina) que luego se pasteuriza y se envasa. Alrededor del 1 % de la producción de margarina da lugar a la generación de residuos que contienen grasa y que requieren una eliminación o tratamiento adecuados. Los residuos que contienen grasa suelen eliminarse de los efluentes acuosos producidos por la planta en un separador por gravedad [49]. Aunque su valor comercial es bajo, suele venderse a empresas de reciclaje de aceites. Los materiales que contienen grasa se han propuesto como materias primas para la producción de productos de valor añadido, concretamente polihidroxialcanoatos.

Los residuos de margarina no contienen nitrógeno y su composición principal se describe en la tabla 4:

Tabla 4. Perfil de composición de residuos generados en la producción de margarina [49]

| Componente | Porcentaje en peso |
|------------------------|--------------------|
| Ácidos grasos libres | 63,21 (± 2,01) |
| Glicerol | n.d. |
| Carbohidratos | 10,70 (± 0,81) |
| Compuestos inorgánicos | < 0,5 |
| Agua | 6,80 (± 2,97) |
| Monoacilglicerol | 0,22 (± 0,16) |
| Diacilglicerol | 2,73 (± 0,44) |
| Triacilglicerol | 16,13 (± 2,27) |



Bagazo de frutas

En un estudio reciente, se emplearon residuos de 11 tipos de alimentos, los cuales fueron previamente homogeneizados mediante batido mecánico y posteriormente diluidos para su utilización (Tabla 5). Adicionalmente, subproductos de la industria alimentaria, como el bagazo de nueve tipos de frutas—incluyendo albaricoques, cerezas y uvas—, han demostrado un alto potencial como alternativas sostenibles a los azúcares y ácidos grasos de alto costo, comúnmente utilizados como fuentes de carbono en fermentaciones bacterianas [50].

Estos residuos representan una opción viable para la producción aséptica de polihidroxialcanoatos de cadena media (mcl-PHA) a través del empleo de cultivos puros de pseudomonas, lo que abre nuevas oportunidades para el desarrollo de procesos biotecnológicos más eficientes y económicamente viables.

Tabla 5. Composición proximal de residuos alimentarios domésticos [50]

| Residuos de alimentos | Porcentaje en peso (% p/p) |
|-----------------------|----------------------------|
| Col | 17 |
| Cáscara de banano | 13,5 |
| Cáscara de naranjas | 5 |
| Esponjas vegetales | 5 |
| Peras | 7 |
| Manzanas | 8,5 |
| Apio | 5 |
| Fideos | 8 |
| Arroz cocido | 9 |
| Patatas | 17 |
| Zanahorias | 5 |

En la mayoría de los países se genera una gran cantidad de residuos de frutas provenientes del prensado de uvas y la destilación de frutas como albaricoques y cerezas. Estos residuos, conocidos como orujos o bagazos, están compuestos por pieles, pulpa, tallos y semillas, y aunque generalmente son considerados desechos sin valor, su elevado contenido de polisacáridos (celulosa, hemicelulosa, almidón y pectina) a menudo pasa desapercibido. Dichos polisacáridos pueden ser aprovechados como sustratos de carbono para la fermentación y la generación de ácidos grasos volátiles (AGV).

Como ejemplo, los análisis realizados sobre el filtrado y centrifugado del bagazo de frutas, tras la adición de agua estéril (10 g de orujo + 40 g de agua estéril), se muestran en la Tabla 6 [51]. En estos resultados se identifican los componentes aptos para la generación de AGV y su posterior uso en la producción de PHA.

Tabla 6. Perfil de composición de bagazos: azúcares, ácidos orgánicos y taninos [51]

| Componente | g/Kg |
|-------------------------------|-----------|
| Azúcares (glucosa y fructosa) | 106-164 |
| Etanol | 0-50 |
| Tartrato | 11,1-19,9 |
| Malato | 0,6-6,8 |
| Succinato | 0-0,6 |
| Lactato | 0-4,6 |
| Acetato | 0-0,3 |
| Polvo de Tanino | 0,8-7,9 |

Residuos de malta de la fabricación de la cerveza y residuos de soja

El uso de residuos agroindustriales como fuentes de carbono para la producción de bioplásticos ha sido ampliamente estudiado, destacándose los subproductos de la industria cervecera y la producción de soja. En particular, se ha investigado la aplicación de residuos semisólidos de soja (87 % de humedad) y malta molida seca como sustratos para procesos fermentativos. En un estudio, estos residuos fueron sometidos a un pretratamiento con HCl a 100 °C durante 8 horas, seguido de un proceso de centrifugación. Posteriormente, el sobrenadante fue neutralizado a pH 7 y diluido hasta un volumen final de 8 L para su utilización en la producción de biopolímeros [52].

Desde un punto de vista estequiométrico, la relación carbono/nitrógeno (C/N) de estos residuos se ha determinado en 7:1 y 8:1, respectivamente, lo que resalta su potencial como sustratos en la biosíntesis de bioplásticos, optimizando tanto el rendimiento del proceso como la composición final del polímero obtenido.

Un aspecto destacado del estudio es que, al utilizar cepas recombinantes de *A. latus* DSM 1124, se logró un rendimiento de producción de polímeros de hasta el 70 % (g de polímero/g de célula) y un peso seco celular de 32 g/L utilizando exclusivamente residuos de malta. Además, los resultados demostraron que, dependiendo del tipo de residuo alimentario empleado, es posible obtener distintos copolímeros de polihidroxialcanoato (PHA) con propiedades diferenciadas.

Residuos de café usados (borra)

La borra es el residuo de la fracción sólida derivada de las industrias del café, cuya eliminación representa un grave problema medioambiental. El hidrolizado de borra pudo ser convertido en polihidroxialcanoatos mediante acción de *Burkholderia cepacia*. La bacteria es capaz de utilizar el hidrolizado y producir copolímero de 3-hidroxi butirato y 3-hidroxi valerato. El ácido levulínico, probablemente sirve como precursor del 3HV para la biosíntesis del copolímero [53].

Suero de queso

El suero es un subproducto generado durante la producción de queso o caseína, y reviste gran importancia en la industria láctea no solo por su composición nutricional, sino



también por los elevados volúmenes producidos. Se estima que la producción mundial de suero alcanza entre 180 y 190 millones de toneladas por año, de las cuales solo alrededor del 50 % se somete a procesamiento. Aproximadamente la mitad del suero producido a nivel mundial se destina a la elaboración de diversos productos alimenticios y piensos: cerca del 50 % se emplea directamente en forma líquida, el 30 % se transforma en suero en polvo, el 15 % se procesa como lactosa —también considerada un subproducto— y el resto se utiliza para obtener concentrados de proteínas de suero [54].

En la Unión Europea se produce un total de 40 millones de toneladas/año de lactosuero; el excedente anual de lactosuero es de 13 millones de toneladas, que contienen unas 619 250 toneladas de lactosa. En la actualidad, este excedente no se utiliza para la producción de lactosa, por lo que su eliminación representa un grave problema desde el punto de vista económico. Su uso como medio de fermentación puede ser ventajoso no sólo para el medio ambiente, sino también para una economía sostenible [55].

En los últimos años, el suero de queso ha sido empleado en diversas bioconversiones, destacándose como un sustrato versátil para aplicaciones industriales y biotecnológicas. Entre sus usos, se incluyen la producción de biomasa microbiana como suplemento alimenticio para animales, la generación de biogás a través de bacterias metanogénicas anaerobias, y la producción de bioetanol mediante *Kluyveromyces marxianus* o cepas recombinantes de *Saccharomyces cerevisiae*. Además, el suero de queso hidrolizado, rico en lactosa, se ha utilizado para la síntesis de edulcorantes y suplementos dietéticos [56].

En la actualidad puede ser interesante considerar la posibilidad de utilizar el suero de queso debido a las nuevas demandas como síntesis de bioplásticos (polihidroxialcanoato PHA) y otros usos.

El lactosuero representa entre el 80 y el 90 % del volumen de leche procesada, donde sólo la mitad de este suero se convierte en productos útiles para el consumo animal y humano, mientras que el resto se elimina como residuo causando graves problemas medioambientales debido a su elevada demanda química de oxígeno (DQO entre 50 y 70 g L⁻¹) derivada de su alto contenido en lactosa (70-75 %) y proteínas solubles (10-15 %). Suele mezclarse con el agua de lavado del vertido del lactosuero en pequeñas industrias dando lugar a un efluente que contiene alrededor de 2 a 4 g DQO L⁻¹ requiriendo un tratamiento previo al vertido generalmente costoso que obliga a buscar una alternativa más barata en pequeñas industrias.

Varias bacterias, como *Paracoccus hydrogenovora*, *Hydrogenophaga pseudoflava* y *Haloferax mediterranei* presentan limitaciones en la producción de PHA a partir de lactosuero; sin embargo, se han reportado mejoras significativas mediante la coalimentación con pentanoato y la utilización de cultivos mixtos [57]. Estudios previos han demostrado la viabilidad del lactosuero como sustrato para la obtención de PHA y ácidos grasos volátiles (AGV) bajo condiciones controladas, lo que evidencia su potencial como materia prima para procesos de valorización biotecnológica [58].

La aplicación de un enfoque de tres etapas para la producción de polihidroxialcanoatos (PHA) ha demostrado ser una estrategia efectiva, en la cual se emplean cultivos microbianos mixtos en combinación con sustratos de bajo costo, como el suero de



queso y la melaza de caña de azúcar. Estos subproductos agroindustriales han sido utilizados como fuentes de carbono en el desarrollo de modelos y estrategias de producción optimizadas para este biopolímero [59].

Durante la fase acidogénica, la composición del sustrato influye significativamente en el perfil de los productos fermentativos, determinando la proporción de los ácidos grasos volátiles (AGV) generados. Se ha observado que el suero de queso favorece la producción de acetato y butirato, mientras que la melaza de caña de azúcar promueve la formación de propionato y valerato como metabolitos predominantes.

En las etapas posteriores del proceso, las condiciones de cultivo y la selección de microorganismos enriquecidos en PHA están directamente influenciadas por estas diferencias en la composición de los AGV. La concentración final del polímero obtenido depende de la proporción de monómeros de 3-hidroxibutirato (HB) y 3-hidroxivalerato (HV) generados en la fase acidogénica, lo que resalta la importancia del control de la fermentación inicial para la optimización del rendimiento y la composición del biopolímero.

Los resultados muestran que los cultivos seleccionados alcanzan un máximo de producción de PHA del 56 % al utilizar melaza de caña y del 65 % cuando se emplea suero de queso.

Residuos del aceite de palma

La industria del aceite de palma genera una gran cantidad de residuos provenientes de los molinos de procesamiento, incluyendo cáscaras, fibras y efluentes. Estos materiales residuales, abundantes y renovables, tienen el potencial de ser utilizados como biomasa para la producción de combustibles alternativos, electricidad o bioplásticos.

Los residuos lignocelulósicos derivados de estos procesos contienen altas proporciones de celulosa (50 %), hemicelulosa (25 %) y lignina (25 %). Los componentes holocelulósicos (celulosa y hemicelulosa) pueden transformarse en azúcares fermentables, que constituyen recursos renovables clave para aplicaciones industriales [60]. Específicamente, la hemicelulosa y la celulosa pueden hidrolizarse en xilosa y glucosa mediante tratamientos ácidos y procesos de sacarificación enzimática. Por otro lado, la lignina puede eliminarse eficientemente mediante pretratamientos químicos o térmicos.

La sacarificación enzimática ofrece un control más preciso sobre la degradación de la celulosa en glucosa, mientras que los tratamientos ácidos pueden generar subproductos adicionales. Para optimizar estos procesos, es posible aplicar pretratamientos físicos y químicos que incrementen la producción de enzimas celulíticas por parte de hongos y bacterias. Estos pretratamientos promueven una mayor conversión de celulosa en azúcares fermentables.

Estudios recientes sobre la bioconversión de residuos de palma en azúcares han demostrado que esta biomasa es una materia prima adecuada para procesos de fermentación industrial, destacándose como una opción viable para la producción de PHA.

Además de la biomasa sólida, la industria del aceite de palma genera grandes volúmenes de efluentes líquidos, denominados efluentes de molino de aceite de palma (Palm Oil



Mill Effluent, POME). Estos efluentes se caracterizan por una elevada demanda química de oxígeno (DQO), con valores que pueden alcanzar hasta 8 000 mg/L. Durante etapas del proceso como la esterilización de racimos de fruta fresca, la clarificación del aceite y las operaciones de hidrociclón, el POME puede producir ácidos grasos volátiles (AGV) con concentraciones de hasta 15 300 mg/L [61].

Debido a su alto contenido orgánico, el POME debe ser pretratado antes de su disposición final en el medio ambiente. Para reducir la DQO desde aproximadamente 50 kg/m³ hasta 0,1 kg/m³, la digestión anaerobia se utiliza comúnmente como tratamiento primario [62]. Durante la primera etapa de este proceso, bacterias acidogénicas descomponen el aceite residual y los materiales lignocelulósicos presentes en el POME, generando ácidos orgánicos.

Estudios recientes han demostrado que los ácidos orgánicos obtenidos a partir de POME clarificado pueden emplearse como sustratos para la producción de PHA, y su calidad es comparable a la de los ácidos orgánicos de origen comercial. Por ejemplo, cepas bacterianas como *Rhodobacter sphaeroides*, *Cupriavidus necator* ATCC 17699 y *Comamonas sp.* EB172 han logrado transformar eficazmente estos ácidos orgánicos en polímeros PHA [63].

Asimismo, se ha informado sobre la producción de PHA utilizando cultivos microbianos mixtos en un proceso de fermentación en dos etapas: la fermentación anaeróbica acidogénica y la acumulación aeróbica de PHA [64]. Al alimentar a estos cultivos con AGV derivados del POME fermentado anaeróbicamente, se alcanzó una alta acumulación de PHA, con un contenido máximo del 40 % del peso celular seco, acompañado de una eliminación superior al 80 % de la DQO.

La acumulación de PHA utilizando cultivos microbianos mixtos presenta varios retos, como la selección de consorcios microbianos adecuados con capacidad para una elevada acumulación de PHA y el desarrollo de operaciones de bajo coste de unidades de procesamiento aguas abajo. El procesamiento posterior es el paso para la extracción y purificación del PHA acumulado intracelularmente. El método de recuperación de PHA depende de los cultivos microbianos mixtos con acumulación de PHA. Así, el cultivo mixto en POME ha permitido una producción significativa de PHA, pero puede aumentar la complejidad de la recuperación del PHA de las células. Por otro lado, es necesario controlar los tipos de biopolímeros producidos por la población microbiana. Además, la estrategia de fermentación debe centrarse en optimizar el contenido de PHA y la productividad volumétrica [63]. La estrategia propuesta no sólo debería reducir los costos globales de producción de PHA, sino también ayudar a resolver los problemas de gestión de residuos en la industria del aceite de palma.

CONCLUSIONES

La valorización de biomasa, especialmente de aquellas fuentes ricas en carbono, representa una oportunidad inigualable para transitar hacia una economía más sostenible y circular. Esta revisión sistemática ha evidenciado un creciente interés en el desarrollo de tecnologías innovadoras para transformar la biomasa en productos de alto valor agregado. Sin embargo, persisten desafíos relacionados con la heterogeneidad de las fuentes, la optimización de procesos y la escalabilidad. Las perspectivas futuras apuntan



hacia un panorama prometedor, con el surgimiento de nuevas tecnologías, la integración de biorrefinerías y el desarrollo de biomateriales avanzados. La bioeconomía circular, combinada con otras tecnologías emergentes, permitirá una utilización más eficiente de la biomasa y una reducción significativa de las emisiones de gases de efecto invernadero. En conclusión, la valorización de biomasa es un campo en constante evolución que requiere de una mayor inversión en investigación y desarrollo para aprovechar todo su potencial y contribuir a un futuro más sostenible. En lo que se refiere a los ácidos grasos volátiles, todavía se requiere más investigación y desarrollo para explorar nuevas tecnologías para producir polihidroxialcanoatos con calidad consistente a partir del tratamiento de aguas residuales utilizando AGV para asegurar sostenibilidad en los procesos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad Estatal Península de Santa Elena por permitirnos realizar este trabajo de investigación.

CONTRIBUCIONES DE LOS AUTORES

Diseño y conceptualización: Rolando Calero y Gerardo Herrera.

Redacción del artículo: Rolando Calero.

Todos los autores han leído y aprobado el manuscrito final y consienten en su publicación.

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores manifiestan que no hay conflicto de interés en esta investigación y que no ha habido financiación externa para esta investigación. No existe ningún interés financiero que declarar.

REFERENCIAS

- [1] Güleç, F., & Okolie, J. A. (2024). Decarbonising bioenergy through biomass utilisation in chemical looping combustion and gasification: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 22(1), 121–147. <https://doi.org/10.1007/s10311-023-01656-5>
- [2] Wijerathna, P. A. K. C., Udayagee, K. P. P., Idroos, F. S., & Manage, P. M. (2023). Waste biomass valorization and its application in the environment. In D. B. Pal & A. K. Tiwari (Eds.), *Sustainable valorization of agriculture & food waste biomass: Application in bioenergy & useful chemicals* (pp. 1–28). Springer Nature Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-99-0526-3_1
- [3] Fernández, F. J., Castro, M. C., Villaseñor, J., & Rodríguez, L. (2011). Agro-food wastewaters as external carbon source to enhance biological phosphorus removal. *Chemical Engineering Journal*, 166(2), 559–567. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2010.11.023>
- [4] Lee, W. S., Chua, A. S. M., Yeoh, H. K., & Ngoh, G. C. (2014). A review of the production and applications of waste-derived volatile fatty acids. *Chemical Engineering Journal*, 235, 83–99. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.09.002>
- [5] Atasoy, M., Owusu-Agyeman, I., Plaza, E., & Cetecioglu, Z. (2018). Bio-based volatile fatty acid production and recovery from waste streams: Current status and future challenges. *Bioresource technology*, 268, 773–786. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.07.042>
- [6] Puyol, D., Batstone, D. J., Hülsen, T., Astals, S., Peces, M., & Krömer, J. O. (2017). Resource recovery from wastewater by biological technologies: opportunities, challenges, and prospects. *Frontiers in microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02106>
- [7] Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2020). *The state of food and agriculture 2020: Overcoming water challenges in agriculture*. FAO. <https://doi.org/10.4060/cb1447en>
- [8] Sarkar, B., Chakrabarti, P. P., Vijaykumar, A., & Kale, V. (2006). Wastewater treatment in dairy industries—possibility of reuse. *Desalination*, 195(1–3), 141–152. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2005.11.015>
- [9] Sahu, O. (2018). Assessment of sugarcane industry: Suitability for production, consumption, and utilization. *Annals of Agrarian Science*, 16(4), 389–395. <https://doi.org/10.1016/j.aasci.2018.08.001>
- [10] Bustillo-Lecompte, C. F., & Mehrvar, M. (2015). Slaughterhouse wastewater characteristics, treatment, and management in the meat processing industry: A review on trends and advances. *Journal of environmental management*, 161. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.07.008>
- [11] WWAP (United Nations World Water Assessment Programme). (2022). *The United Nations World Water Development Report 2022: Groundwater: Making the Invisible Visible*. UNESCO. <https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000380721>
- [12] Dutta, A., & Sarkar, S. (2015). Sequencing batch reactor for wastewater treatment: recent advances. *Current Pollution Reports*, 1, 177–190. <https://link.springer.com/article/10.1007/S40726-015-0016-Y>
- [13] Battista, F., Strazzer, G., Valentino, F., Gottardo, M., Villano, M., Matos, M., Silva, F., Reis, M. A. M., MataÁlvarez, J., Astals, J., Dosta, J., Jones, R. J., MassanetNicolau, J., Guwy, A., Pavan, P., Bolzonella, D., & Majone, M. (2022). *New insights in food waste, sewage sludge and green waste anaerobic fermentation for shortchain volatile fatty acids production: A review*. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 10(5), 108319. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.108319>
- [14] Ramos-Suarez, M., Zhang, Y., & Outram, V. (2021). Current perspectives on acidogenic fermentation to produce volatile fatty acids from waste. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 20(2), 439–478. <https://link.springer.com/article/10.1007/S11157-021-09566-0>
- [15] Albuquerque, M. G. E., Eiroa, M., Torres, C., Nunes, B. R., & Reis, M. A. M. (2007). Strategies for the development of a side stream process for polyhydroxyalkanoate (PHA) production from sugar cane molasses. *Journal of biotechnology*, 130(4), 411–421. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2007.05.011>
- [16] Albuquerque, M. G. E., Torres, C. A. V., & Reis, M. A. M. (2010). Polyhydroxyalkanoate (PHA) production by a mixed microbial culture using sugar molasses: effect of the influent substrate concentration on culture selection. *Water research*, 44(11), 3419–3433. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.03.021>



- [17] Rodrigues, A. M., Franca, R. D. G., Dionísio, M., Sevrin, C., Grandfils, C., Reis, M. A., & Lourenço, N. D. (2022). Polyhydroxyalkanoates from a mixed microbial culture: extraction optimization and polymer characterization. *Polymers*, 14(11), 2155. <https://doi.org/10.3390/polym14112155>
- [18] Eraslan, K., Aversa, C., Nofar, M., Barletta, M., Gisario, A., Salehiyan, R., & Goksu, Y. A. (2022). Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate)(PHBH): Synthesis, properties, and applications-A review. *European Polymer Journal*, 167, 111044. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2022.111044>
- [19] Saratale, R. G., Cho, S.-K., Saratale, G. D., Kumar, M., Bharagava, R. N., Varjani, S., Kadam, A. A., Ghodake, G. S., Palem, R. R., Mulla, S. I., Kim, D.-S., & Shin, H.-S. (2021). An overview of recent advancements in microbial polyhydroxyalkanoates (PHA) production from dark fermentation acidogenic effluents: A path to an integrated bio-refinery. *Polymers*, 13(24), 4297. <https://doi.org/10.3390/polym13244297>
- [20] Aljaafari, A., Fattah, I. M. R., Jahiril, M. I., Gu, Y., Mahlia, T. M. I., Islam, M. A., & Islam, M. S. (2022). Biodiesel emissions: a state-of-the-art review on health and environmental impacts. *Energies*, 15(18), 6854. <https://doi.org/10.3390/en15186854>
- [21] Kośmider, A., Leja, K., & Czaczyk, K. (2011). Improved utilization of crude glycerol by-product from biodiesel production. *Biodiesel—quality, emissions and by-products*, 19, 341-365.
- [22] Changmai, B., Vanlalveni, C., Ingle, A. P., Bhagat, R., & Rokhum, S. L. (2020). Widely used catalysts in biodiesel production: a review. *RSC advances*, 10(68). <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2020/ra/d0ra07931f>
- [23] Mothes, G., Schnorpfel, C., & Ackermann, J. U. (2007). Production of PHB from crude glycerol. *Engineering in Life Sciences*, 7(5), 475–479. <https://doi.org/10.1002/elsc.200620210>
- [24] Leiva-Candia, D. E., Tsakona, S., Kopsahelis, N., Garcia, I. L., Papanikolaou, S., Dorado, M. P., & Koutinas, A. A. (2015). Biorefining of by-product streams from sunflower-based biodiesel production plants for integrated synthesis of microbial oil and value-added co-products. *Bioresource Technology*, 190, 57-65. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.03.114>
- [25] Cavalheiro, J. M. B. T., Raposo, R. S., de Almeida, M. C. M. D., Cesário, M. T., Sevrin, C., Grandfils, C., & da Fonseca, M. M. R. (2012). Effect of cultivation parameters on the production of poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate) and poly(3-hydroxybutyrate-4-hydroxybutyrate-3-hydroxyvalerate) by *Cupriavidus necator* using waste glycerol. *Bioresource Technology*, 111, 391–397. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.01.176>
- [26] Reddy, V. U. N., Ramanaih, S. V., Venkateswar Reddy, M., & Chang, Y.-C. (2022). Review of the developments of bacterial medium-chain-length polyhydroxyalkanoates (mcl-PHAs). *Bioengineering*, 9(5), 225. <https://doi.org/10.3390/bioengineering9050225>
- [27] Zhu, C., Nomura, C. T., Perrotta, J. A., Stipanovic, A. J., & Nakas, J. P. (2009). Production and characterization of poly-3-hydroxybutyrate from biodiesel-glycerol by *Burkholderia cepacia* ATCC 17759. *Biotechnology Progress*, 25(6), 1230–1236. <https://doi.org/10.1002/btpr.355>
- [28] Ibrahim, M. H. A., & Steinbüchel, A. (2010). *Zobellella denitrificans* strain MW1, a newly isolated bacterium suitable for poly(3-hydroxybutyrate) production from glycerol. *Journal of Applied Microbiology*, 108(1), 214–225. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04413.x>
- [29] Moralejo-Gárate, H., Mar'atusalihah, E., Kleerebezem, R., & Loosdrecht, M. C. M. van. (2011). Microbial community engineering for biopolymer production from glycerol. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 92(3), 631–639. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3359-3>
- [30] Moita, R., Freches, A., & Lemos, P. C. (2014). Crude glycerol as feedstock for polyhydroxyalkanoates production by mixed microbial cultures. *Water Research*, 58, 9–20. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.03.066>
- [31] Dietrich, K., Dumont, M.-J., Del Río, L. F., & Orsat, V. (2019). Sustainable PHA production in integrated lignocellulose biorefineries. *New Biotechnology*, 49, 161–168. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2018.11.004>
- [32] Lau, M. W., Gunawan, C., Balan, V., & Dale, B. E. (2010). Comparing the fermentation performance of *Escherichia coli* K011, *Saccharomyces cerevisiae* 424A(LNH-ST) and *Zymomonas mobilis* AX101 for cellulosic ethanol production. *Biotechnology for Biofuels*, 3, 11. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-3-11>
- [33] Koutinas, A. A., Vlysidis, A., Pleissner, D., Kopsahelis, N., Lopez Garcia, I., Kookos, I. K., Papanikolaou, S., Kwan, T. H., & Lin, C. S. K. (2014). Valorization of industrial waste and by-product streams via fermentation for the production of chemicals and biopolymers. *Chemical Society Reviews*, 43(8), 2587–2627. <https://doi.org/10.1039/C3CS60293A>

- [34] Jiang, Y., Marang, L., Tamis, J., van Loosdrecht, M. C. M., Dijkman, H., & Kleerebezem, R. (2012). Waste to resource: Converting paper mill wastewater to bioplastic. *Water Research*, 46(17), 112. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.07.028>
- [35] Alva Munoz, L. E., & Riley, M. R. (2008). Utilization of cellulosic waste from tequila bagasse and production of polyhydroxyalkanoate (PHA) bioplastics by *Saccharophagus degradans*. *Biotechnology and Bioengineering*, 99(4), 882–894. <https://doi.org/10.1002/bit.21854>
- [36] Tay, B. Y., Lokesh, B. E., Lee, C. Y., & Sudesh, K. (2010). Polyhydroxyalkanoate (PHA) accumulating bacteria from the gut of higher termite *Macrotermes carbonarius* (Blattodea: Termitidae). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-0264-3>
- [37] Nduko, J. M., Suzuki, W., Matsumoto, K., Kobayashi, H., Ooi, T., Fukuoka, A., & Taguchi, S. (2012). Polyhydroxyalkanoates production from cellulose hydrolysate in *Escherichia coli* L55218 with superior resistance to 5-hydroxymethylfurfural. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 113(1), 51–53. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2011.08.021>
- [38] Tamis, J., Mulders, M., Dijkman, H., Rozendal, R., van Loosdrecht, M. C. M., & Kleerebezem, R. (2018). Pilot-scale polyhydroxyalkanoate production from paper mill wastewater: Process characteristics and identification of bottlenecks for full-scale implementation. *Journal of Environmental Engineering*, 144(10), 0401810. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)EE.1943-7870.0001444](https://doi.org/10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0001444)
- [39] Jiang, S., Chen, Y., Zhou, Q., & Gu, G. (2007). Biological short-chain fatty acids (SCFAs) production from waste-activated sludge affected by surfactant. *Water Research*, 41(14), 3112–3120. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.03.039>
- [40] Ji, Z., Chen, G., & Chen, Y. (2010). Effects of waste activated sludge and surfactant addition on primary sludge hydrolysis and short-chain fatty acids accumulation. *Bioresource Technology*, 101(10), 3457–3464. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.12.117>
- [41] Koller, M. (2018). A review on established and emerging fermentation schemes for microbial production of polyhydroxyalkanoate (PHA) biopolyesters. *Fermentation*, 4(2), 30. <https://doi.org/10.3390/fermentation4020030>
- [42] Thirumala, M., & Reddy, S. V. (2012). Production of PHA by recombinant organisms. *International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research*, 1(2), 40–62. <https://www.ijlbrp.com/uploadfiles/20150413044915354.20230301094258.pdf?utm>
- [43] De La Rubia, M. A., Raposo, F., Rincón, B., & Borja, R. (2009). Evaluation of the hydrolytic–acidogenic step of a two-stage mesophilic anaerobic digestion process of sunflower oil cake. *Bioresource Technology*, 100(18), 4133–4138. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.04.001>
- [44] Chen, Y.-J., Tsai, P.-C., Hsu, C.-H., & Lee, C.-Y. (2014). Critical residues of class II PHA synthase for expanding the substrate specificity and enhancing the biosynthesis of polyhydroxyalkanoate. *Enzyme and Microbial Technology*, 61–62. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2014.01.005>
- [45] Akaraonye, E., Keshavarz, T., & Roy, I. (2010). Production of polyhydroxyalkanoates: The future green materials of choice. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 85(6), 732–743. <https://doi.org/10.1002/jctb.2392>
- [46] Duque, A. F., Oliveira, C. S. S., Carmo, I. T. D., Gouveia, A. R., Pardelha, F., Ramos, A. M., & Reis, M. A. M. (2014). Response of a three-stage process for PHA production by mixed microbial cultures to feedstock shift: Impact on polymer composition. *New Biotechnology*, 31(4), 276–288. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2013.10.010>
- [47] Albuquerque, M. G. E., Carvalho, G., Kragelund, C., Silva, A. F., Barreto Crespo, M. T., Reis, M. A. M., & Nielsen, P. H. (2013). Link between microbial composition and carbon substrate-uptake preferences in a PHA-storing community. *The ISME Journal*, 7(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.74>
- [48] Bengtsson, S., Pisco, A. R., Reis, M. A. M., & Lemos, P. C. (2010). Production of polyhydroxyalkanoates from fermented sugar cane molasses by a mixed culture enriched in glycogen accumulating organisms. *Journal of Biotechnology*, 145(3), 253–263. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2009.11.016>
- [49] Morais, C., Freitas, F., Cruz, M. V., Paiva, A., Dionísio, M., & Reis, M. A. M. (2014). Conversion of fat-containing waste from the margarine manufacturing process into bacterial polyhydroxyalkanoates. *International Journal of Biological Macromolecules*, 71, 68–73. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.04.044>

- [50] Bisht, T. S., Sharma, S. K., Rawat, L., Chakraborty, B., & Yadav, V. (2020). A novel approach towards the fruit specific waste minimization and utilization: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 9(1), 712–722. www.phytojournal.com/archives/2020.v9.i1.10532/a-novel-approach-towards-the-fruit-specific-waste-minimization-and-utilization-a-review
- [51] Follonier, S., Goyder, M. S., Silvestri, A.-C., Crelier, S., Kalman, F., Riesen, R., & Zinn, M. (2014). Fruit pomace and waste frying oil as sustainable resources for the bioproduction of medium-chain-length polyhydroxyalkanoates. *International Journal of Biological Macromolecules*, 71, 42–52. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.05.061>
- [52] Wong, A. L., Chua, H., Lo, W. H., & Yu, P. H. F. (2000). Synthesis of bioplastics from food industry wastes with activated sludge biomass. *Water Science and Technology*, 41(12), 55–59. <https://doi.org/10.2166/wst.2000.0239>
- [53] Obruca, S., Benesova, P., Petrik, S., Oborna, J., Prikryl, R., & Marova, I. (2014). Production of polyhydroxyalkanoates using hydrolysate of spent coffee grounds. *Process Biochemistry*, 49(9), 1409–1414. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.05.013>
- [54] Mollea, C., Marmo, L., & Bosco, F. (2013). Valorisation of cheese whey, a by-product from the dairy industry. In I. Muzzalupo (Ed.), *Food industry. IntechOpen*. <https://doi.org/10.5772/53159>
- [55] Klai, N., Yadav, B., El Hachimi, O., Pandey, A., Sellamuthu, B., & Tyagi, R. D. (2021). Agro-industrial waste valorization for biopolymer production and life-cycle assessment toward circular bioeconomy. In A. Pandey, R. D. Tyagi, & S. Varjani (Eds.), *Biomass, biofuels, biochemicals* (pp. 515–555). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821878-5.00007-6>
- [56] Aldana, A. S. (2022). *Aplicaciones y tecnologías utilizadas para el aprovechamiento del suero lácteo, la producción del suero en solvo, derivados y sus aplicaciones en la industria en general de alimentos* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD)]. Repositorio Institucional UNAD. <https://core.ac.uk/reader/533907960>
- [57] Mitra, R., Xu, T., Xiang, H., & Han, J. (2020). Current developments on polyhydroxyalkanoates synthesis by using halophiles as a promising cell factory. *Microbial Cell Factories*, 19. <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01342-z>
- [58] Horvat, P., Muhr, A., Salerno, A., Brauneegg, G., Koller, M., Casella, S., Reiterer, A., & Chiellini, E. (2012). Whey lactose as a raw material for microbial production of biodegradable polyesters. In E. Chiellini (Ed.), *Polyester* (pp. 51–92). InTech. <https://library.oapen.org/handle/20.500.12657/49047>
- [59] Carvalho, G., Pedras, I., Karst, S. M., Oliveira, C. S., Duque, A. F., Nielsen, P. H., & Reis, M. A. (2018). Functional redundancy ensures performance robustness in 3-stage PHA-producing mixed cultures under variable feed operation. *New biotechnology*, 40. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2017.08.007>
- [60] Saadon, S. Z. A. H., Osman, N. B., & Yusup, S. (2022). Pretreatment of fiber-based biomass material for lignin extraction. In S. Yusup & N. A. Rashidi (Eds.), *Value-chain of biofuels* (pp. 105–135). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824388-6.00024-5>
- [61] Ahmed, Y., Yaakob, Z., Akhtar, P., & Sopian, K. (2015). Production of biogas and performance evaluation of existing treatment processes in palm oil mill effluent (POME). *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 42, 1260–1278. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.10.073>
- [62] Amaral, A. R., Bernar, L. P., Ferreira, C. C., Pereira, A. M., Dos Santos, W. G., Pereira, L. M., Santos, M. C., Assunção, F. P. d. C., Mendonça, N. M., Pereira, J. A. R., da Mota, S. A. P., Mâncio, A. d. A., Junior, S. D., Borges, L. E. P., Machado, N. T., & de Castro, D. A. R. (2023). Economic Analysis of Thermal–Catalytic Process of Palm Oil (*Elaeis guineensis*, Jacq) and Soap Phase Residue from Neutralization Process of Palm Oil (*Elaeis guineensis*, Jacq). *Energies*, 16(1), 492. <https://doi.org/10.3390/en16010492>
- [63] Hassan, M. A., Yee, L. N., Yee, P. L., Ariffin, H., Raha, A. R., Shirai, Y., & Sudesh, K. (2013). Sustainable production of polyhydroxyalkanoates from renewable oil-palm biomass. *Biomass and Bioenergy*, 50, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.10.014>
- [64] Salmiati, U., Ujang, Z., Salim, M. R., Md Din, M. F., & Ahmad, M. A. (2007). Intracellular biopolymer productions using mixed microbial cultures from fermented POME. *Water Science and Technology*, 56(8), 179–185. <https://doi.org/10.2166/wst.2007.687>