



---

***Biopolímeros: Alternativa sostenible en  
el marco de la economía circular***

---

**TRABAJO FIN DE MÁSTER**

**MÁSTER EN BIOTECNOLOGÍA INDUSTRIAL Y AGROALIMENTARIA**

**DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA Y GEOLOGÍA**

**FACULTAD DE CIENCIAS EXPERIMENTALES**

**LIDIA SILVERIO RODRÍGUEZ**

**SEPTIEMBRE 2021**

**DIRECTORA: M.<sup>a</sup> DEL CARMEN VARGAS GARCÍA**

---

## **Agradecimientos**

Mi más sincero agradecimiento a mi directora y docente María del Carmen Vargas García por su profesionalidad, su tiempo, compartir sus conocimientos y aportarme tanto en estos dos años.

A mi hijo Adriel y mi marido Rubén, por su paciencia, ayuda y apoyo incondicional. A mis compañeros Pepe Guirado, Ángel Belver y Miguel Ángel Román por su interminable paciencia y escuchar mis largas charlas sobre biotecnología y microorganismos.

Por último, todo hubiera sido muy complicado para mí sin mis compañeros Maira, Alex y Javi. Nuestro trabajo en equipo y nuestros ratos de humor hicieron posible que alcanzara esta meta y todo esto fuera posible. Gracias de corazón a todas y todos.

## Índice

|  |         |
|--|---------|
| 1. Justificación.....  | pag. 3  |
| 2. Objetivo.....   | pag. 4  |
| 3. Aspectos generales.....   | pag. 4  |
| 4. Plásticos sintéticos y bioplásticos.....  | pag. 8  |
| 5. Plásticos y microorganismos.....  | pag. 9  |
| 5.1. Polímeros de producción microbiana.....                                       | pag. 9  |
| 5.2. ¿En qué consiste la degradación microbiana de plásticos?.....                 | pag. 11 |
| 5.3. Avances sobre especies microbianas implicados en la degradación plástica..... | pag. 17 |
| 6. Gestión de residuos plásticos: Aspectos legislativos.....                       | pag. 20 |
| 7. Situación actual de los biopolímeros.....                                       | pag. 22 |
| 8. Potencial de mejora: Líneas a investigar.....                                   | pag. 23 |
| 9. Conclusiones.....   | pag. 25 |
| 10. Bibliografía.....  | pag. 26 |

Glosario de siglas

| <b>SIGLAS</b> | <b>DENOMINACIÓN</b>                 |
|---------------|-------------------------------------|
| AFM           | Microscopía de fuerza atómica       |
| CPVC          | Cloruro de polivinilo clorito       |
| DSC           | Calorimetría de barrido diferencial |
| FTIR          | Espectroscopía infrarroja           |
| HDPE          | Polietileno de alta densidad        |
| LDPE          | Polietileno de baja densidad        |
| NMR           | Resonancia magnética nuclear        |
| PA            | Poliamida                           |
| PAI           | Poliamidaimida                      |
| PB            | Polibutileno                        |
| PBS           | Succinato de polibutileno           |
| PBT           | Tereftalato de polibutileno         |
| PC            | Policarbonato                       |
| PCL           | Policaprolactona                    |
| PE            | Polietileno                         |
| PEEK          | Polieterocetona                     |
| PEI           | Polieterimida                       |
| PET           | Tereftalato de polietileno          |
| PHA           | Polihidroxicanoato                  |
| PHB           | Polihidroxitirato                   |
| PI            | Poliimida                           |
| PLA           | Ácido poliláctico o polilactida     |
| PMP           | Polimetilpenteno                    |
| PP            | Polipropileno                       |
| PPO           | Óxido de polifenileno               |
| PPS           | Sulfuro de polifenileno             |
| PPSU          | Polifenil sulfona.                  |
| PS            | Poliestireno                        |
| PSU           | Polisulfona                         |
| PTFE          | Politetrafluoroetileno              |
| PU            | Poliuretano                         |
| PUR           | Poliuretano                         |
| PVA           | Polivinilo-alcohol                  |
| PVC           | Cloruro de polivinilo               |
| PVDF          | Fluoruro de polivinidideno          |
| SEM           | Microscopio electrónico de barrido  |
| XRD           | Difracción de rayos X               |

## 1. Justificación

Actualmente, el modelo de negocio de transformación de materias primas fósiles en plásticos a nivel mundial sigue en plena expansión. Entre las principales problemáticas que se han descrito asociadas a este modelo de negocio se encuentra la gestión del residuo generado, una de las menos avanzadas en remediación y prevención. La concienciación social en esta materia, así como la insostenibilidad del ritmo de vertido, ha llevado a diferentes países, entre ellos España, a legislar al respecto. En nuestro país, y con el fin de impulsar una economía circular y baja en carbono, el Gobierno de España ha aprobado el anteproyecto de ley de residuos que persigue dos objetivos fundamentales: un primero de carácter general, centrado en el establecimiento de medidas destinadas a proteger el medio ambiente y la salud humana, mediante la prevención y reducción de la generación de residuos y de sus efectos adversos en el medio ambiente, así como mediante la reducción del impacto global del uso de los recursos y la mejora de su eficiencia; y un segundo, más específico, aplicable a determinados productos de plástico, para prevenir y reducir su impacto en el medio ambiente, en particular el medio acuático, y en la salud humana que, entre otras medidas, incluye la prohibición de la venta de objetos de plástico de un solo uso a partir de julio de 2021. Dicha ley también incluye un nuevo impuesto indirecto a los envases de plástico que recaerá sobre la fabricación, importación o adquisición intracomunitaria de envases de plástico no reutilizables que vayan a ser objeto de utilización en el mercado español.

En cuanto a residuos, se marcan objetivos y medidas para fomentar su reutilización y reciclado, fijándose un calendario de implantación para nuevas recogidas separadas, aplicables desde diciembre de 2021. También se regula la eliminación de los residuos, que deberá llevarse a cabo de manera segura, y en el caso del depósito en vertedero, tras haber sido sometidos a un tratamiento previo. (MITECO, 2020a).

Para hacernos una idea de la necesidad de avanzar en gestión de residuos y producción bio-sostenible, según datos de la asociación Plastics Europe, en 2018 en Asia se produjo algo más de la mitad de los plásticos del mundo (un 51%). China, responsable del 30% de la producción mundial de plásticos, fabricó 77 kg per cápita, mientras que el resto de Asia produjo alrededor de 68 kg. Japón, que manufacturó el 4% del plástico mundial en 2018, tuvo una cuota per cápita especialmente alta, con 114 kg. Japón es el segundo país con más residuos de envases de plástico per cápita en el mundo, por detrás de Estados Unidos, según la ONU. Los países europeos y del TLCAN (Canadá, Estados Unidos y México), sólo fabricaron el 17% y el 18% del plástico mundial en 2018, respectivamente. Sin embargo, esto equivale a 111 kg por persona para la primera región y 132 kg por persona para la segunda. (Mena Roa, 2020)

Ante esta realidad y dado que, la producción mundial se ha fijado en 600 millones de toneladas para 2030, si la producción continúa al ritmo actual de crecimiento, la investigación en aras de la producción de bioplásticos y de técnicas de biodegradación de polímeros rentables y eficientes es imperiosa. La mayor parte del plástico producido

no es biodegradable, siendo el 30-50% destinado para aplicaciones de un solo uso. Esto crea un grave problema ambiental cuando los plásticos llegan al final de su ciclo de vida, lo que ha provocado que los desechos plásticos se hayan convertido en un problema cada vez más apremiante en los últimos años. Los nuevos plásticos biodegradables y la mejora en las estrategias de reciclaje, campos en los que ya se comienza a legislar, son dos aspectos prometedores para ayudar al mundo a reducir los desechos plásticos.

Pero cabría preguntarse por qué es tan complicado encontrar soluciones viables y rentables al problema del residuo generado. El problema del residuo que los plásticos plantean es su resistencia a la descomposición. La razón por la cual los plásticos tardan centenares de años en descomponerse es la fuerza de los enlaces químicos que mantienen unidas sus moléculas impidiendo, así, su degradación por microorganismos en el medio ambiente. En promedio, y dependiendo del ambiente al cual se exponga, el plástico tiene una vida media entre 100 y 600 años para descomponerse. (Samaniego, 2019). Es por todo ello que, innovaciones e investigaciones en materiales alternativos ganan importancia. Algunos de estos posibles materiales alternativos al plástico a base de petróleo son los bioplásticos, tanto si se trata de biopolímeros a base de “desechos” orgánicos, como si se investiga la producción biológica de polímeros. En este sentido, la presente revisión se centra en recopilar los avances en estudios de especies microbianas con la capacidad de producción y degradación de polímeros.

## **2. Objetivo**

La presente revisión pretende recopilar los avances establecidos, hasta el momento, en producción de bioplásticos, tanto si se trata de los biopolímeros a base de “desechos” orgánicos, como si se centra en la investigación en producción biológica de polímeros, que pudieran ser una alternativa factible a las actuales materias primas poliméricas de derivados petroquímicos. En este sentido, se plantea establecer un estado del arte en relación con el conocimiento existente hasta el momento sobre especies microbianas con capacidad de producción y degradación de polímeros, facilitando el tratamiento biológico de polímeros sintéticos como alternativa en la gestión del residuo plástico generado en la actualidad.

## **3. Aspectos generales**

Con la actual gestión de residuos plásticos procedentes del petróleo y la dependencia de recursos no renovables para su producción, el avance en el descubrimiento de nuevos polímeros y productos cuya gestión residual sea sostenible resulta imprescindible para avanzar hacia sistemas productivos que sean más respetuosos con el entorno, y permitan una mayor conservación de los recursos existentes. Así, recientes investigaciones aúnan esfuerzos en la búsqueda de materiales biodegradables,

biocompatibles, y que, además, presenten características similares a los plásticos derivados del petróleo.

La producción mundial de plástico superó los 400 millones de toneladas en 2015, y se espera que represente hasta el 20% del consumo mundial de petróleo para 2050. Como dato de referencia, baste decir que, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), según informaciones publicadas en marzo de 2021 en el marco del actual escenario COVID, el aumento de los desechos plásticos y médicos ha llegado a colapsar los sistemas de reciclaje existentes en algunos lugares. En Singapur, durante un cierre de ocho semanas, se generaron 1470 toneladas adicionales de desechos plásticos, solo a partir de envases para llevar. En Wuhan, China, los desechos médicos aumentaron seis veces a 240 toneladas por día durante la pandemia, sobrecargando la capacidad de incineración de la ciudad, situado en 49 toneladas diarias. Un solo hospital en Jordania produjo diez veces más desechos médicos por día, con solo 95 pacientes de COVID-19, de lo que normalmente produce. En Teherán, la capital iraní, los desechos médicos de los hospitales aumentaron entre el 17,6% y el 61,9% durante los primeros meses de la pandemia (de 52-74 toneladas por día a 80-110 toneladas por día). Estos simples datos ejemplifican el nivel de dependencia que tenemos con respecto a este tipo de materiales, y el retroceso que la pandemia ha supuesto en cuanto a la reducción de los niveles de utilización.

Haciendo una síntesis muy generalista, se podría afirmar que existen tres impactos externos principales asociados a la utilización de plásticos, en el nivel actual: degradación del ecosistema, especialmente en el medio marino; emisiones de combustibles fósiles y sustancias tóxicas como consecuencia de la producción y la incineración de materiales eliminados; e impactos en la salud y el medio ambiente (incluida la pérdida de biodiversidad). Por citar un ejemplo, estudios realizados en 2015 cuantificaron una contaminación estimada del hábitat marino mediterráneo entre 756 y 2969 toneladas, en la superficie marina (Cózar et al., 2015).

Los escenarios planteados en relación con la reducción de volúmenes generados de residuos plásticos son diversos. Gran parte de los esfuerzos en este sentido se han relacionado con procesos de biodegradación, y el discernimiento de los mecanismos y de los factores potencialmente influyentes, al objeto de optimizar los niveles de eficacia degradativos. Así, esta vía biológica se podría postular como una alternativa real a otros tipos de tratamientos y ofrecer una solución global a la grave situación que, en la actualidad, suponen los residuos plásticos.

Se puede definir biodegradación como la potencialidad de un material a ser degradado por un agente biológico. En otras palabras, un proceso de biodegradación sería aquel mediante el cual los enlaces químicos del material pueden ser escindidos por microorganismos y enzimas en la biosfera, quedando reducido a sus componentes básicos. Es por ello que el conocimiento de los sitios catalíticos y los mecanismos bioquímicos de las enzimas implicadas permitirían estimar el potencial de biodegradabilidad de la estructura química de un polímero determinado. Hay que tener

en cuenta, no obstante, que un material biodegradable puede o no ser susceptible de biodegradación en función de las condiciones específicas en las que se encuentre, las cuales pueden o no limitar puntualmente su biodegradación, sin por ello influir en su biodegradabilidad general (Pischedda et al., 2019).

Entre los plásticos biodegradables, encontramos dos tipos fundamentales: de base biológica, y de origen fósil. El primer grupo, derivado de recursos renovables, está constituido por plásticos completamente biodegradables, identificados con polímeros naturales como almidón, celulosa y quitina. (Iannotti et al., 2018). Entre los más comunes se encuentran polihidroalcanoatos (PHA) y ácido poliláctico (PLA). El segundo grupo quedaría integrado por plásticos sintéticos de materias poliméricas no biológicas o de base fósil que, por acción de diferentes factores bióticos y abióticos, pueden ser degradados en determinadas condiciones ambientales. Entre ellos se podrían nombrar el succinato de polietileno (PES) o la policaprolactona (PCL).

Se podría hablar de un tercer tipo de polímero biodegradable, quizás el más rentable actualmente, consistente en mezclas de polímeros biodegradables por el método de, generalmente copolimerización. Por ejemplo, las mezclas de almidón y poliéster son biológicamente degradables y rentables por la naturaleza asequible y rentabilidad del almidón y, por otro lado, la facilidad de degradabilidad del poliéster por lipasas secretadas por ciertos microorganismos, como *Rhizopus arrhizus* y *R. delemar*.

En la actualidad, la producción de polímeros biosostenibles se sustenta mayoritariamente en la búsqueda de compuestos de origen orgánico y producción biológica. En este sentido, los polihidroalcanoatos (PHA) se encuentran entre los más prometedores, debido a que presentan características muy interesantes como biodegradabilidad, sostenibilidad y respeto con el medio ambiente (Salehizadeh y Van Loosdrecht, 2004).

Los PHA son polímeros de ácidos hidroxialcanoicos que algunas bacterias, arqueas y microalgas sintetizan y acumulan intracelularmente como material de reserva, para usarlo posteriormente como fuente de carbono y energía. Estos compuestos se acumulan en forma de gránulos en el citoplasma microbiano y, una vez extraídos y purificados, presentan propiedades físicas similares a los plásticos derivados del petróleo. Los plásticos preparados a partir de PHA son, por tanto, plásticos biodegradables de origen microbiano, similares a los derivados del petróleo, pero producidos a partir de fuentes de carbono renovables. Adicionalmente, muestran un gran potencial de uso en aplicaciones que van desde la manufactura de productos desechables de uso común, hasta la de productos biomédicos y farmacéuticos de alto valor añadido. Son completamente degradados a agua y dióxido de carbono en condiciones aeróbicas, y a metano bajo condiciones anaeróbicas, por microorganismos del suelo, mar, agua de lagos y aguas residuales (Khanna y Srivastava, 2005).

El conocimiento de la genómica, el metabolismo y las especies productoras de este tipo de polímeros se postula como una herramienta esencial para su avance y, en consecuencia, rentabilidad. El poli(3-hidroxitirato), conocido como polihidroxitirato



(PHB), fue el primer PHA en ser identificado en 1926. Su detección, realizada por Maurice Lemoigne, se produjo a partir de la especie *Bacillus megaterium*, en cuyo citoplasma aparecen como gránulos intracelulares (Sukan et al., 2005). En la actualidad, su síntesis se ha asociado a diferentes bacterias (Gumel et al., 2013).

Hoy en día hay aproximadamente 150 monómeros, con estructuras muy diversas, clasificados como polihidroxicanoatos. Se han documentado más de 90 géneros (Zinn y cols., 2001) y más de 300 especies de microorganismos productores de PHA, principalmente bacterias, que emplean como fuente de carbono para dicha producción sustratos que van desde carbohidratos, lípidos y proteínas, hasta compuestos aromáticos, residuos agroindustriales y gases.

En la actualidad, se está realizando un considerable esfuerzo para conocer los factores que influyen en su síntesis, para poder mejorar el rendimiento de producción y disminuir los costes, ampliando así su nivel de competitividad. Los monómeros constituyentes de PHA, como ya se ha mencionado, pueden tener estructuras muy diversas, existiendo por tanto una gran variedad de PHA. La producción de estos biopolímeros se lleva a cabo principalmente mediante procesos de fermentación en los que, de forma mayoritaria, participan bacterias que desarrollan diferentes rutas biosintéticas en función de las fuentes de carbono utilizadas. No obstante, y gracias a avances científicos y tecnológicos, el número y la variedad de microorganismos válidos para la producción de PHA está en aumento, hasta el punto de que el espectro se ha ampliado incluso a organismos superiores, tales como plantas transgénicas. En todos los casos, las propiedades de los polímeros generados los habilitan para ser utilizados en campos muy diversos, como medicina, farmacia, o la industria agroalimentaria, entre otras.

A las dificultades que se asocian a la producción competitiva de plásticos biodegradables, se unen también los problemas derivados de la gestión de su tratamiento tras finalizar su vida útil. En ese sentido, aún no es posible definir claramente si los plásticos biodegradables pueden ser una solución prometedora para resolver el problema de eliminación de residuos plásticos y el nivel de contaminación mundial que conllevan. Muchos aspectos de los plásticos biodegradables todavía están en su infancia. No hay una solución única para resolver el problema de la acumulación de este tipo de materiales en el medio ambiente, siendo, en ese aspecto, importante determinar la efectividad de estrategias que combinan soluciones. No cabe duda de que los plásticos biodegradables deberían ser parte de la solución, aunque una parte muy pequeña. El desarrollo de los plásticos biodegradables tiene una importancia estratégica en el actual escenario de conservación de la energía y reducción de emisiones, pero no se debe subestimar el efecto de este tipo de compuestos sobre la acumulación global de plástico.

Hasta ahora, las alternativas planteadas para tratar de paliar el problema derivado de la utilización masiva de plásticos combinan sistemas de producción de plásticos biodegradables que ofrezcan rendimientos similares a los actualmente existentes, considerando también en este sentido la obtención de materias primas de forma rentable y continuada, estrategias globales de gestión de los residuos de acuerdo con la

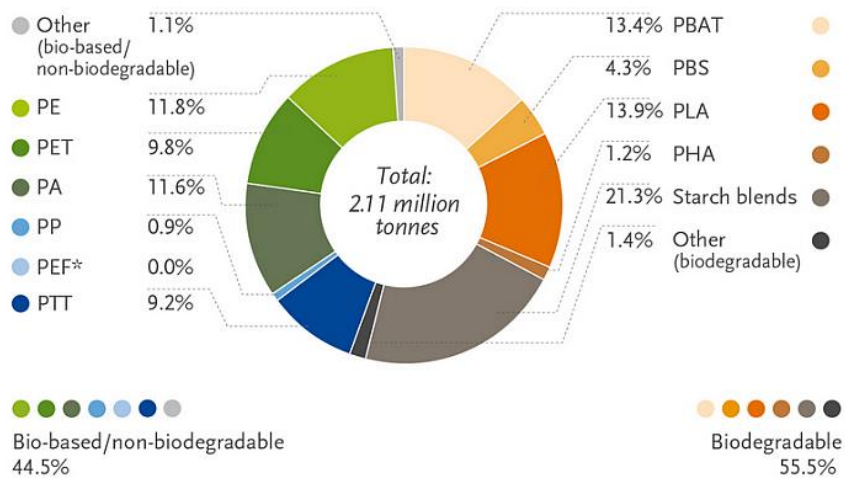
legislación existente, aunque a este respecto sería deseable un incremento de los niveles de protección medioambiental y, finalmente, el escalado a nivel industrial de los protocolos experimentales enfocados a la generación de materiales con producción de residuos finales sostenible (Shen et al., 2020).

#### 4. Plásticos sintéticos y bioplásticos

Los plásticos son materiales químicos poliméricos, sintéticos o semisintéticos, extraídos de materias primas de origen fósil o biológico. Entre los más comunes se encuentran: polietileno (PE), policaprolactona (PCL), poliuretano (PUR), polihidroxibutirato (PHB), polihidrooxialcanoato (PHA), cloruro de polivinilo (PVC), tereftalato de polietileno (PET), succinato de polibutileno (PBS), ácido poliláctico o polilactida (PLA), polipropileno (PP) y poliestireno (PS) (Muhamad et al., 2015). Los más producidos son polietileno (36%), polipropileno (21%) y polivinilcloruro (12%), además de tereftalato de polietileno, poliuretano y poliestireno, con <10% cada uno. (Geyer et al., 2017).

La mayoría de estos plásticos no son biodegradables. Aquellos que poseen base fósil, principalmente derivados del hidrocarburo y el petróleo, destacan por su alta estabilidad, consecuencia de su disposición molecular monomérica y repetitiva, la cual dificulta su susceptibilidad biodegradativa al generar resistencia al ataque microbiano. La biodegradación de plásticos implica hidrólisis enzimática y no enzimática. El tipo de organismo, la naturaleza del pretratamiento y las características de los polímeros son algunos de los factores que afectan a la eficiencia de estos procesos. Además, la movilidad, la cristalinidad, el tipo de grupos funcionales, la tactilidad, los componentes químicos, el peso molecular y los aditivos presentes en los polímeros también han de tenerse en cuenta a la hora de estimar el nivel de oposición a la acción biológica (Artham y Doble, 2007).

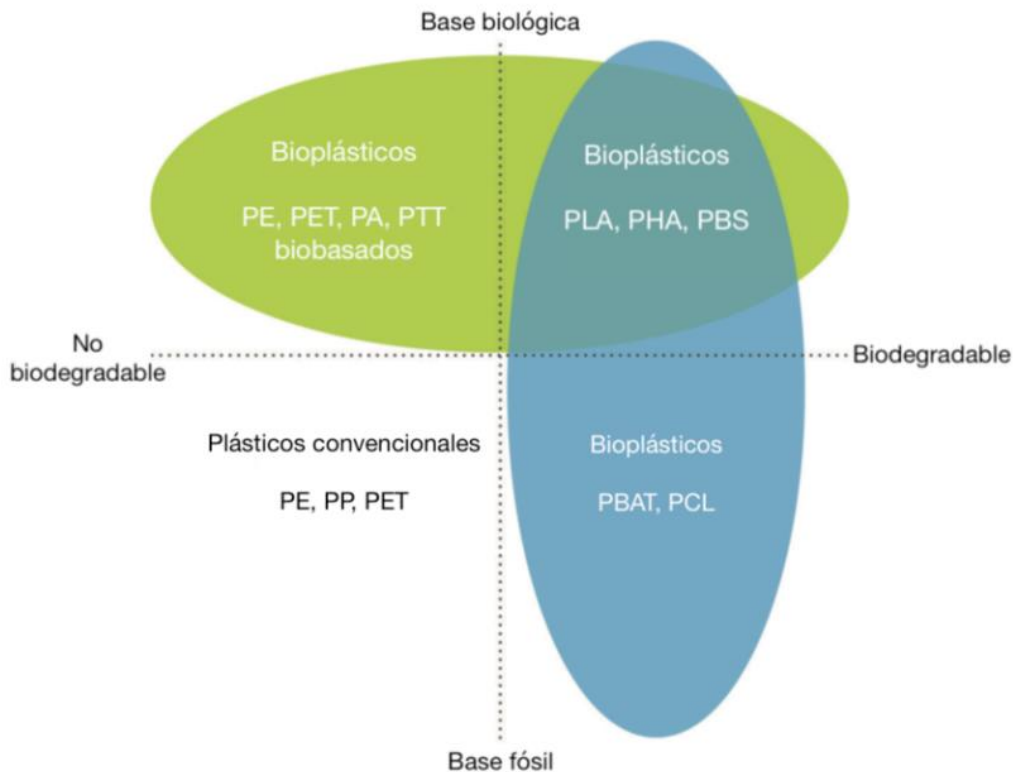
Figura 1. Capacidad de producción mundial de bioplásticos por tipo de material (2019) (European Bioplastics, nova-Institute: <https://mundoplast.com/crecimiento-mercado-bioplasticos/>).



\*PEF is currently in development and predicted to be available in commercial scale in 2023.

Polímeros biodegradables de base biológica, como la celulosa o el almidón y sus derivados, son consumidos directamente por los microorganismos a través de procesos que comienzan de forma extracelular, gracias a la acción de las enzimas extracelulares que permiten reducir su tamaño molecular a formatos con capacidad para acceder al interior celular. El proceso de degradación biológica puede realizarse tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas, lo cual supone una ventaja de cara a escalar industrialmente los procesos de biodegradabilidad plástica.

Figura 2. Clasificación de bioplásticos según su tipo y biodegradabilidad.



## 5. Plásticos y microorganismos

### 5.1. *Polímeros de producción microbiana*

Los polihidroxicanoatos (PHA) son considerados fuertes candidatos para el reemplazo de los polímeros de origen petroquímico, ya que siendo sintetizados por microorganismos a partir de sustratos de bajo o nulo valor económico y, en general, de recursos renovables, tienen características físicas similares a las de plásticos derivados del petróleo, como polipropileno y polietileno, con la ventaja de ser degradados a dióxido de carbono y agua en condiciones aerobias, o a metano en condiciones anaerobias, en diversos hábitats.

Se encuentra mayoritariamente compuestos por ácidos hidroxialcanoicos, unidades que algunos microorganismos acumulan intracelularmente como material de reserva, para

usarlas posteriormente como fuente de carbono y energía. La polimerización se produce por acción de enzimas intracelulares, y tiene lugar mediante condensación del grupo carboxilo de un monómero con el grupo hidroxilo del siguiente, formándose un enlace éster; de ahí que se hayan llamado biopolíesteres (Urtuvia et al., 2014). La producción de los gránulos de PHA es inducida bajo condiciones de estrés para el crecimiento bacteriano. El tipo de estrés puede ser nutricional, como la limitación de fósforo, nitrógeno u oxígeno, por condiciones no óptimas de pH o por un exceso de la fuente de carbono. Los PHA son acumulados como polímeros líquidos, móviles y amorfos en forma de gránulos que se alojan en el citoplasma, rodeados de una monocapa de fosfolípidos, en la que además se incluyen enzimas polimerasas y despolimerasas.

A nivel industrial, se emplean cepas de las especies de las especies *Ralstonia eutropha*, *Alcaligenes latus*, *Azotobacter vinelandii*, *Pseudomonas oleovorans*, *Paracoccus denitrificans*, *Protomonas extorquens* y *Escherichia coli* recombinante (Lee, 1996a; Fernández et al., 2005; Arroyave et al., 2013). El microorganismo más estudiado ha sido la bacteria *Ralstonia eutropha*, debido a su capacidad para acumular grandes cantidades de polihidroxicanoatos, específicamente del tipo poli- $\beta$ -hidroxibutirato (PHB), en un porcentaje cercano al 80% del peso seco de la bacteria. Esta producción y acumulación puede llevarse a cabo en un medio simple a partir de fuentes de carbono económicas, tales como glucosa, fructosa y residuos de la industria oleica o agroindustrial, entre otras (Lee, 1996b; Priyadarshi et al., 2014).

Se podría destacar entre los inconvenientes que presentan estos biopolímeros su elevado coste de producción, tanto en el proceso de fermentación como de extracción. Dado que el proceso fermentativo de producción se podría realizar con un microorganismo o con un consorcio de éstos, se plantean problemas adicionales que encarecen los costes, como la asepsia o el establecimiento de parámetros operacionales óptimos que permitan escalar a nivel industrial la producción. En relación con los costes de extracción, estos se encuentran directamente relacionadas con el nivel de pureza exigido por el tipo de aplicación al que se destine el polímero. En ese sentido los polihidroxicanoatos pueden ser utilizados en el sector primario y, de forma concreta, en la agricultura, donde no se requiere un grado de purificación muy alto del polímero, lo cual puede facilitar el proceso de extracción y hacerlo más económico. Así, su empleo en el desarrollo de macetas biodegradables, o en la producción de tubos de irrigación y de matrices para la liberación controlada de factores de crecimiento, pesticidas y herbicidas, quedaría encuadrado en este rango de destinos menos exigentes.

Otro biopolímero de gran aplicabilidad es el ácido poliláctico (PLA), por sus propiedades termorresistentes, termoestables y biodegradables. Se utiliza para la producción de bolsas, botellas e incluso para prótesis o fibra textil. El PLA, derivado del ácido láctico, puede ser obtenido por vía química o biotecnológica. La síntesis química tiene la desventaja que el ácido láctico producido es una mezcla de isómeros dextrógiros, D(-), y levógiros, L(-), del ácido láctico, ópticamente inactivo. La producción biotecnológica está basada en la fermentación de sustratos ricos en carbohidratos por

microorganismos y tiene la ventaja de formar enantiómeros D(+) o L(+), ópticamente activos.

Los microorganismos que pueden utilizarse para la producción de ácido láctico pertenecen a los géneros *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Lactococcus*, *Vagococcus*, *Enterococcus* y *Aerococcus*. También se han utilizado especies fúngicas del género *Rhizopus*, como productoras de ácido L(+) láctico.

*Lactobacillus delbrueckii* es el microorganismo mayoritariamente utilizado en la producción industrial, ya que tiene la ventaja de consumir eficientemente glucosa y ser un microorganismo termófilo, con temperatura óptima de crecimiento en el rango de 45 a 62 °C, lo que reduce costos de enfriamiento y esterilización, así como riesgos de contaminación microbiológica en el fermentador. En medio rico en lactosa, la bacteria más utilizada es *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, que también es termófila. Otros microorganismos como *Zymomonas mobilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluiveromyces lactis* y *Escherichia coli*, han sido también utilizadas para producir ácido láctico.

En procesos industriales de producción de ácido poliláctico, los sustratos preferentes son sacarosa, proveniente de azúcar de caña y remolacha azucarera, lactosa proveniente de lactosuero, y dextrosa procedente de almidón hidrolizado (Karnaouri et al., 2020).

A pesar de los diversos estudios realizados, e incluso del desarrollo a nivel industrial de sistemas de producción de plásticos de origen biológico, se puede considerar que la producción de biopolímeros está aún en etapas muy tempranas, si el objetivo a alcanzar es la sustitución de polímeros sintéticos de base fósil por estos compuestos.

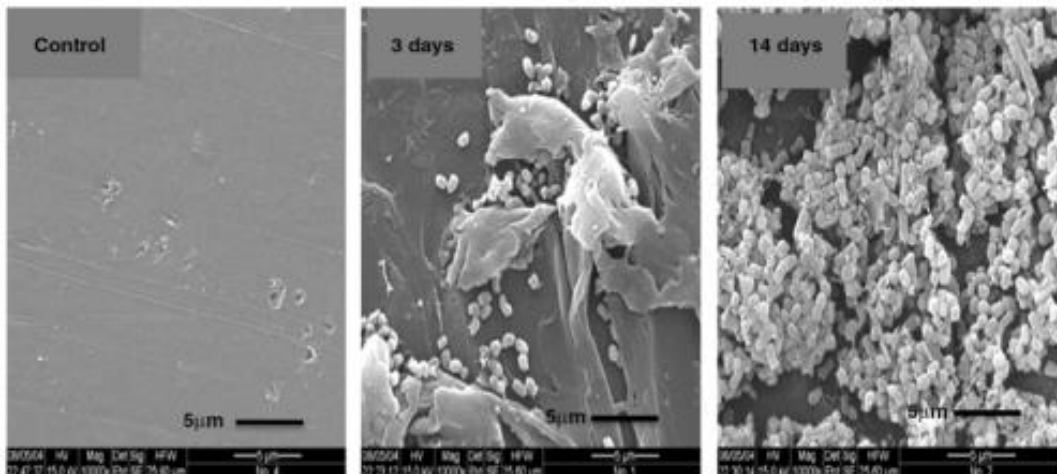
## **5.2. ¿En qué consiste la biodegradación microbiana de plásticos?**

La biodegradación microbiana de los plásticos es un fenómeno complejo. El discernimiento de los mecanismos bioquímicos implicado supone un desafío para la ciencia aplicada, existiendo una evidente necesidad de mejora en este campo. Los principales factores que condicionan la biodegradabilidad de este tipo de materiales son aquellos que limitan la accesibilidad a los microorganismos con capacidad de degradación y asimilación polimérica o, dicho de otro modo, su biodisponibilidad. Entre tales factores destacan su alto peso molecular, su estructura polimérica, el carácter hidrofóbico de la molécula o la naturaleza de tratamientos previos. También influyen factores añadidos, tales como el tipo de organismo bioasimilador, presencia de aditivos, conformación cristalina o amorfa de la cadena polimérica, que condiciona a su vez la orientación molecular y movilidad, o el tipo de grupos funcionales y sustituyentes añadidos (Min' et al., 2015).

El proceso degradativo puede implicar procesos hidrolíticos, tanto de naturaleza enzimática como no enzimática. Durante la degradación, los microorganismos secretan exoenzimas que fragmentan complejos poliméricos en moléculas más pequeñas como oligómeros y monómeros, las cuales pueden ser transportadas hasta el interior celular y metabolizadas, ya sea aeróbica o anaeróbicamente, dependiendo de la especie microbiana concreta (Ahmed et al., 2018). En cualquier caso, e independientemente del mecanismo específico por el cual tenga lugar la degradación, se dan una serie de etapas entre las que se incluyen:

- 1- Formación de la platisfera. El mecanismo de biodegradación de polímeros comienza con la adhesión de los microorganismos y la formación de biofilms en la superficie del plástico, fenómeno denominado como platisfera. Dicha formación depende de la estructura y composición de los polímeros plásticos, así como, de las condiciones ambientales (Vivi et al., 2019). La platisfera alberga comunidades microbianas distintas, entre las que diversas especies muestran capacidad para degradar los plásticos (Kirstein et al., 2019). Esta fase inicial de colonización superficial de polímeros y la posterior formación de la platisfera dan comienzo al proceso de biodeterioro, que se ve acentuado con la excreción de endo y exoenzimas por parte de los microorganismos. Entre las enzimas excretadas, destacan las exopolisacaridasas, que propician la adhesión del biofilm a la película plástica. (Sivan et al., 2006).

Figura 3. Ejemplo de formación de biofilm por *Rhodococcus ruber* C208 sobre la superficie de PET foto-oxidado con radiación UV (Dussud y Ghiglione, 2014).

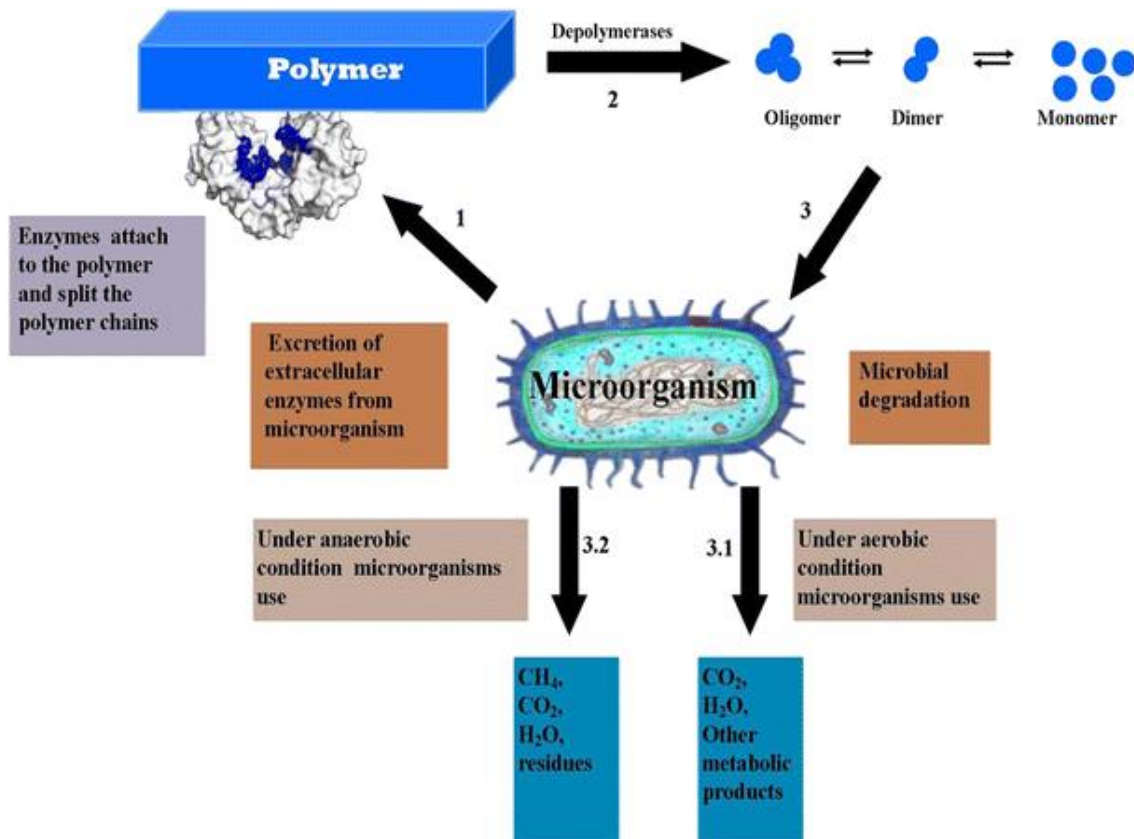


- 2- Biofragmentación. Etapa en la cual se continúa con la conversión de polímeros hasta formas más simples. El material polimérico es fragmentado mediante enzimas microbianas, descomponiéndose en oligómeros y monómeros. Estas enzimas son generalmente oxidasas (monooxigenasas y dioxigenasas), que añaden moléculas de oxígeno al esqueleto de carbono polimérico, formando compuestos con grupos

alcohol y peróxido. Los grupos carboxílicos son catalizados por lipasas y esterasas, y los grupos aminos por endopeptidasas. (Dussud y Ghiglione, 2014).

- 3- Mineralización. Durante las etapas anteriores se produce la liberalización de monómeros que pueden ser fácilmente asimilados por los microorganismos como fuente de carbono, lo que conduce a un aumento de la biomasa microbiana (Degli-Innocenti, 2014; Álvarez-Barragán et al., 2016; Gómez-Méndez et al., 2018). Algunos monómeros que no pueden pasar por la membrana permanecen en el exterior celular y nunca se asimilan (Kale et al., 2015). El proceso de asimilación incluye la integración de átomos en la célula microbiana para que la degradación se complete. Los metabolitos secundarios formados como resultado de la asimilación se pueden transportar fuera de la célula microbiana y pueden ser utilizados por otros microorganismos, que realizan un proceso de degradación adicional. De la degradación de metabolitos (primarios y secundarios), resulta la liberación de productos como dióxido de carbono, agua y metano ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CH}_4$ ). (Nakajima-Kambe et al., 1995).

Figura 4. Ilustración esquemática de biodegradación plástica por microorganismos (Ahmed et al., 2018).



Como se mencionado previamente, el proceso hidrolítico se ve afectado tanto por factores abióticos como bióticos. Entre los primeros, temperatura, pH, salinidad o radiaciones ultravioleta influyen sobre el grado y la velocidad de hidrólisis y, a su vez, la



tasa de hidrólisis permite incrementar la biodisponibilidad de sitios catalíticos, lo que facilita la acción microbiana sobre las cadenas poliméricas (Anjana et al., 2020).

Tabla 1. Enzimas prometedoras que degradan específicamente los materiales plásticos (Anjana et al., 2020).

| Microorganismos  | Enzimas                              | Plástico  | Referencias            |
|--|--------------------------------------|---|------------------------|
| <i>Aspergillus clavatus</i>  | Despolimerasa PHB                    | Succinato de polietileno                          | Ishii et al., 2007     |
| <i>Alcaligenes faecalis</i> AE122                                    |                                      | Poli-3-hidroxi-butarato (PHB)                     | Kita et al., 1995      |
| <i>Streptomyces</i> sp. SNG9   |                                      | PHB y poli-3-hidroxi-co-valerato 3-hidroxi (PHBV) | Mabrouk y Sabry, 2001  |
| <i>Candida antártica</i>   | Lipasa B                             | Poliuretano (PUR)                                 | Shibasaki et al., 2009 |
| <i>Ideonella sakaiensis</i>  | MHETasa y PETasa                     | Tereftalato de polietileno (PET)                  | Palm et al., 2019      |
| <i>Paraglaciicola agarilytica</i><br><i>Marinobacterium litorale</i> | Estireno monooxigenasas              | Estireno  | Pu et al., 2018        |
| <i>Penicillium</i> sp.<br><i>Geotrichum fermentan</i> WF9101         | Oxidasa, Hidrolasa y Deshidrogenasa  | Polivinilo-alcohol (PVA)                          | Kawai y Hu, 2009       |
| <i>Pestalotiopsis microspora</i>                                     | Serin hidrolasa                      | Poliéster   | Jonathan et al., 2011  |
| <i>Clorofios pseudomonas</i>   | Poliuretas                           | Poliuretano (PUR)                                 | Howard et al., 2007    |
| <i>Phanerochaete chrysosporium</i>                                   | Peroxidasas dependientes de Magnesio | Polietileno (PE)                                  | Yee et al., 2018       |
| <i>Pseudomonas protegens</i>   | Lipasa                               | Poliuretano (PUR)                                 | Hung et al., 2016      |
| <i>Sphingomonas terrae</i>   | PEG-Deshidrogenasa                   | Polietilenglicol (PEG)                            | Sugimoto et al., 2001  |
| <i>Thermobifida fusca</i>  | Hidrolasa                            | Tereftalato de polietileno (PET)                  | Muller et al., 2005    |
| <i>Bacillus cereus</i><br><i>Bacillus sphaericus</i>                 | Peroxidasa                           | Polietileno de alta y baja densidad (HDPE y LDPE) | Sudhakar et al., 2008  |

Factores bióticos como las enzimas extracelulares secretadas por microorganismos y la hidrofobicidad del material polimérico también influyen en la tasa de degradación del polímero. Las primeras resultan fundamentales en la acción degradativa. De forma concreta, los centros activos de estas enzimas determinan la capacidad de degradación del polímero (Ahmed et al., 2018). El estudio del funcionamiento de estas enzimas degradantes plásticas, el conocimiento de su estructura molecular y sus mecanismos



génicos y bioquímicos de síntesis, son el camino para alcanzar la biodegradación exitosa de polímeros sintéticos. En este sentido, por ejemplo, se ha estudiado que, para caracterizar la degradación enzimática del polietileno y el poliestireno, la enzima oxigenasa es responsable del debilitamiento molecular de la cadena de carbono, mediante un mecanismo de inducción de transición de radicales libres. El establecimiento de esta vía de asimilación ayuda a identificar el mecanismo atómico de degradación, a la vez que podría permitir la implementación de avances tecnológicos que propiciarán la degradación completa de polímeros termoestables (Xu et al., 2019).

Además de la importancia que muestran las enzimas, otro aspecto a destacar desde el punto de vista microbiano, dada la heterogeneidad de los materiales a partir de los que se producen los plásticos sintéticos, es la actuación de consorcios. En este sentido, gran parte de la eficiencia que puedan presentar los procesos de biorremediación va a estar condicionada por la capacidad de supervivencia de cada una de las especies miembros del consorcio en el entorno de actuación, el establecimiento de relaciones adecuadas entre dichos miembros y sus niveles de coordinación (Song et al., 2014). Hasta el momento, el desarrollo de consorcios microbianos mejorados genéticamente es la apuesta más eficiente. Principalmente, los esfuerzos se basan en el conocimiento de las interacciones entre individuos que generan el uso coordinado y cooperativo de sustratos, su conversión y metabolización (Jagmann y Philipp, 2014).

Tabla 2. Consorcios microbianos implicados en la biodegradación plástica (Jaiswal et al., 2020).

| Polímeros plásticos                    | Consorcio   | Referencias                         |
|--|---|-------------------------------------|
| Polietileno de baja densidad           | <i>Microbacterium paraoxidans</i><br><i>Pseudomonas aeruginosa</i>  | Rajandas et al. (2012)              |
| di- <i>n</i> -ftalato de butilo        | <i>Gordonia</i> sp.<br><i>Burkholderia</i> sp.<br><i>Achromobacter</i> sp.  | He et al. (2013)                    |
| Polilactida                            | <i>Cladosporium sphaerospermum</i><br><i>Rhodotorula mucilaginosa</i><br><i>Penicillium chrysogenum</i><br><i>Serratia marcescens</i> | Nair et al. (2016)                  |
| Polietileno de baja densidad           | <i>Enterobacter</i> sp.<br><i>Enterobacter</i> sp.<br><i>Pantoea</i> sp.  | Skariyachan et al. (2016)           |
| poliuretano                            | <i>Bacillus subtilis</i> MZA-75<br><i>Pseudomonas aeruginosa</i> MZA-85   | Shah et al. (2016)                  |
| Tazas de bebidas con ácido poliláctico | <i>Actinomadura</i><br><i>Pseudomonas geniculata</i> WS3  | Pattanasuttichonlakul et al. (2018) |
| Tereftalato de polietileno             | <i>Pseudomonas clororaphis</i><br><i>Bacillus cereus</i>  | Vague et al. (2019)                 |

En la siguiente tabla, se muestran líneas de investigación abiertas en busca de una solución integrada a la producción y gestión de residuos plásticos.

Tabla 3. Enfoques integrados para estudios de biorremediación de residuos plásticos.

| Tipo de enfoque                  | Importancia   | Aplicaciones   | Microorganismos involucrados  | Referencia   |
|----------------------------------|---|--|---|--|
| Multiómica                       | Estudio de genómica, transcriptómica, proteómica, metagenómica y metabolómica                               | Explora el papel de los genes, proteínas, metabolitos implicados en los procesos de biorremediación                              | <i>Bacillus</i> ,<br><i>Pseudomonas</i> ,<br><i>Serratia</i> ,<br><i>Sphingomonas</i> ,<br><i>Halomonas</i>                               | Preidis y Hotez, 2015;<br>Koul y Fulekar, 2003.    |
| Red de biodegradación            | Bases de datos y conjuntos de datos que decodifican información sobre biodegradación                        | Confieren conocimiento sobre compuestos químicos y metodología para la optimización de procesos de biodegradación.               | <i>Sphingobium</i> ,<br><i>Pseudomonas</i> ,<br><i>Sphingomonas</i> ,<br><i>Rhodococcus</i>   | Pérez-Pantoja et al., 2017;<br>Bhatt et al., 2019. |
| Herramientas informáticas        | Estudios estequiométricos de flujo y metabolismo de microorganismos.  | Representación matemática de reacciones celulares implicadas en la absorción compuestos contaminantes                            | <i>Pseudomonas putida</i>   | Jaiswal et al., 2020;<br>Belda et al., 2016        |
| Herramientas de edición de genes | Genoteca y mejora génica que permita la investigación de las bases genéticas del proceso de biodegradación. | Diseño de los organismos modelo para estudios de biorremediación   | <i>Flavobacterium</i> ,<br><i>Xanthomonas</i>   | Jaiswal et al., 2019;<br>Dangi et al., 2019        |
| Consorcio microbiano             | Mejorar las relaciones entre individuos del consorcio para optimizar el proceso de bio                      | Diseño, optimización y construcción de actividades sinérgicas de candidatos microbianos para aumentar la tasa de biorremediación | <i>Brevibacillus spp.</i><br><i>Vibrio spp.</i>   | Divya et al., 2015<br>Beck et al., 2016            |
| Ingeniería genética              | Incorporar la función de genes específicos de interés para el estudio de biorremediación                    | Optimización y caracterización de genes que codifican enzimas y proteínas implicadas en el proceso de biodegradación.            | <i>Comamonas acidovorans</i> ;<br><i>Microbacterium</i> ; <i>I.</i><br><i>sakaiensis</i> ;<br><i>Sphingomonas</i><br><i>bisphenolicum</i> | Pieper y Reineke (2000)<br>Sasaki et al. (2008)    |

### 5.3. Avances sobre especies microbianas implicadas en la degradación plástica

Hasta abril de 2020, el número total de especies reportadas con capacidades de degradación plástica es de 436 cepas, la primera de las cuales se describió en una publicación en 1974 (Fields et al., 1974). La mayor parte de ellas se asocian a las especies *Bacillus pumilus*, *Aspergillus fumigatus* y *Phanerochaete chrysosporium*, las cuales muestran capacidad para degradar varios tipos de plásticos. No obstante, se piensa que la cifra podría ser mayor, dado que los aditivos que se incorporan a los plásticos durante su procesado ejercen, en muchos casos, efectos inhibitorios sobre el desarrollo microbiano, lo que limitaría la acción de numerosos microorganismos (Wang et al., 2015). De todos los polímeros naturales identificados, el polihidroxibutirato (PHB) es el que puede ser degradado por un mayor número de especies, habiéndose detectado hasta el momento en torno a 126 microorganismos, tanto de carácter bacteriano como fúngico. El ácido poliláctico de polímero sintético (PLA), sensible a la acción de unos 94 microorganismos diferentes, ocupa la segunda posición en este ranking.

La dificultad a la hora de degradar un polímero depende, entre otros factores, del tipo de estructura que éste presente. Así, los que poseen estructuras cristalinas son más resistentes al ataque enzimático, ya que, el elevado nivel de ordenamiento que caracteriza a este tipo de sistemas conlleva una gran rigidez y fuerza molecular. Por el contrario, los polímeros amorfos suelen tener estructuras moleculares más aleatorias, que permiten que las cadenas de polímeros se muevan entre sí y, en consecuencia, se facilite el acceso de enzimas para descomponer las cadenas. Las opciones que la ingeniería genética proporciona en este tipo de situaciones resultan especialmente interesantes, ya que pueden incrementar la eficiencia de las enzimas en lo que respecta a su capacidad de actuación frente a estructuras cristalinas. Ejemplo de este tipo de estrategias es el de la enzima PETasa, perteneciente a la bacteria *Ideonella sakaiensis* (Yoshida et al., 2016). Mediante la mutación de dos residuos localizados en centros activos de la enzima, se logró incrementar de forma significativa la tasa de degradación del tereftalato de polietileno (PET) con estructura cristalina (Austin et al., 2018).

Otro ejemplo que ilustra el potencial de actuación para la mejora de las capacidades degradativas microbianas es el de *Bacillus pumilus*, reconocida bacteria implicada en la degradación del ácido poliláctico (PLA), una de las alternativas biodegradables al plástico sintético no biodegradable. Se detectó que *Bacillus pumilus* adaptaba su expresión enzimática en función de las condiciones ambientales. Entre las condiciones influyentes se encuentran los parámetros nutricionales del medio, de manera que, en presencia de fuentes específicas de carbono, se aumenta la tasa de degradación de PLA, mientras que las adiciones de fosfato y potasio la disminuyen. Esto sugiere que mediante la regulación de las condiciones de degradación se puede ejercer cierta regulación del proceso. (Bonifer et al., 2019).

Entre las especies fúngicas degradadoras de plástico, aquellas con capacidad para actuar sobre la policaprolactona (PCL) se encuentran en fases de estudio. El PCL es un plástico biodegradable elaborado por síntesis química a partir de derivados del petróleo crudo.

En general, muestra resistencia al agua, aceite, disolventes y cloro. Por lo tanto, tiene una amplia gama de aplicaciones. La descomposición del PCL en el medio natural es llevada a cabo por aquellos microorganismos que secretan despolimerasas extracelulares de policaprolactona (PCL), que son básicamente esterases, cutinasas y lipasas. Entre las especies fúngicas responsables de dicha degradación se encuentran *Fusarium*, *Aureobasidium*, *Cryptococcus*, *Aspergillus*, *Penicillium* y *Chaetomium*. Es destacable el descubrimiento de la enzima cutinasa extracelular de *Pseudozyma japonica-Y7-09*, la cual, es muy eficiente en la degradación de la película de PCL, alcanzando una tasa de degradación de hasta el 93,33% de PCL a 30 °C en 15 días (Abdel-Motaal et al., 2014). Mediante mejora genética, se ha conseguido expresar un sistema lipasa-cutinasa bi-funcional en *Pichia pastoris*, el cual muestra mayor nivel de actividad degradativa que cada una de las enzimas de forma individualizada, e incluso que la mezcla de ambas. Sin duda, este descubrimiento abre camino a la investigación para el desarrollo de enzimas eficientes y versátiles adaptables a diferentes ecosistemas y condiciones ambientales.

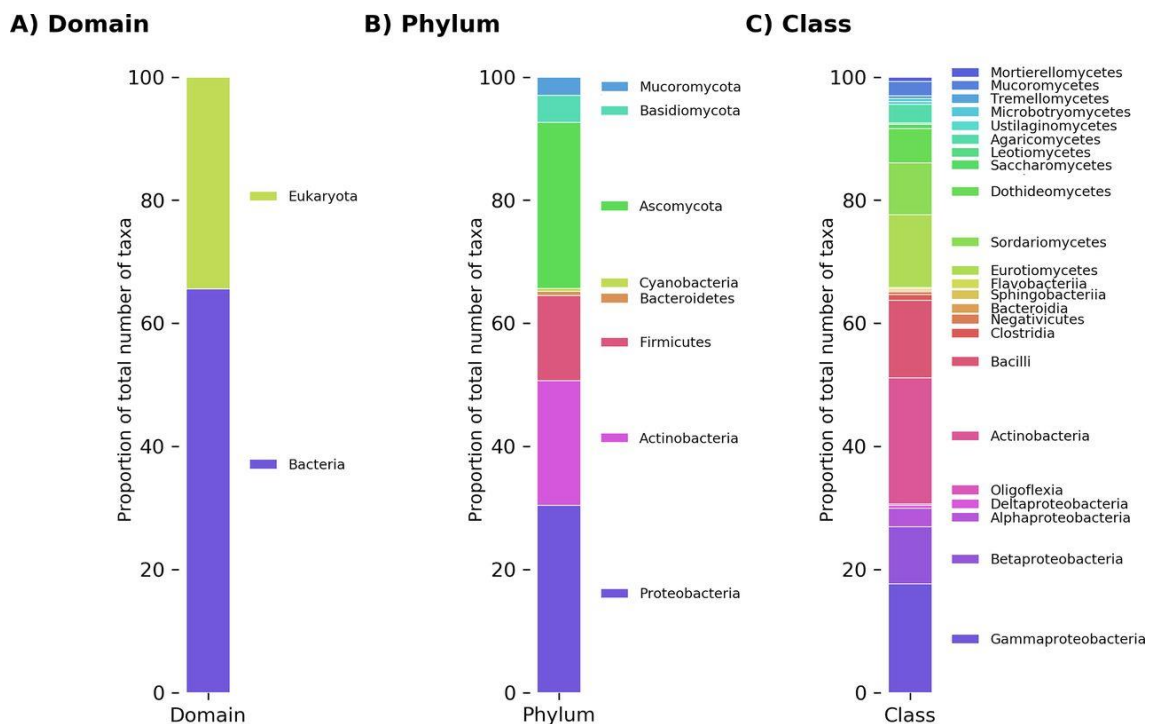
La cepa LB400 de *Burkholderia xenovorans* (anteriormente conocida como *B. fungorum*) es el mejor degradador de policloruro de bifenilo o PCB aeróbico descubierto hasta ahora, con una capacidad degradativa de hasta más de 20 tipos de PCB. Esta cepa se caracteriza por poseer un gran número de oxigenasas, y proviene de un grupo filogenético que comúnmente se aísla de las rizosferas de gramíneas y suelos con presencia de una variedad de complejos compuestos aromáticos naturales. La secuenciación del genoma completo de esta cepa, de gran tamaño con relación a las especies procariontas, 9,7 Mb, contribuye a detectar la presencia de herramientas metabólicas que expliquen su preferencia por compuestos difíciles de degradar, así como descifrar las vías que utiliza para la degradación de PCB. Así, se han descubierto tres rutas para la degradación o los intermedios de benzoato de la oxidación del bifenilo. Además de la degradación de uno de los contaminantes más difíciles de degradar, el género *Burkholderia*, al que pertenece esta cepa, también es importante para la economía de carbono del suelo, ayuda a la fijación de dióxido de carbono en las plantas, y fija nitrógeno.

El estudio de la filogenia de las especies implicadas en la degradación de materiales plásticos pone de manifiesto su carácter mayoritariamente procarionta. Concretamente, de las 436 descritas, 286 quedaron asignadas al dominio Bacteria, y sólo 150 al Eukarya. La distribución entre filos, en el caso de las bacterias, muestra un bajo grado de diversidad, con representantes de sólo cinco filos: Proteobacteria (30,4%), Actinobacteria (20,3%), Firmicutes (13,8%), Bacteroidetes (0,69%) y Cyanobacteria (0,46%). Igualmente, en el caso de las especies fúngicas, todas las especies detectadas quedaron encuadradas en sólo tres filos: Ascomycota (27,0%), Basidiomycota (4,4%) y Mucoromycota (3,0%) (Gambarini et al., 2021).

Analizando el genoma de estas especies degradadoras de plástico, se han identificado hasta la fecha 110 genes relacionados con esta actividad. La asociación de estos genes

con compuestos plásticos concretos revela como nueve de ellos están implicados en la degradación de PLA. Dichos genes han sido secuenciados a partir de los genomas de *Saccharomonospora viridis*, con actividad cutinasa, y *Paenibacillus amylolyticus*, así como una tercera bacteria sin asignación taxonómica conocida. La cutinasa de *S. viridis* ya ha sido clonada, y muestra capacidad de actuación frente, además de PLA, otros poliésteres.

Figura 5. Abundancias relativas de todos los taxones reportados para degradar los plásticos en los niveles de dominio (A), filo (B) y clase (C) (Gambarini et al., 2021).



La inclusión en las bases de datos de dominio público de las secuencias de estos genes ha permitido la identificación de hasta 16.170 genes ortólogos, incluso en especies en las que no se ha ensayado su potencial como degradadoras de materiales plásticos. De ellos, 10969 se asocian a la degradación de polihidroxibutirato (PHB), 8233 a la de tereftalato de polietileno (PET), y 6809 a la de policaprolactona (PCL). El dominio de genes relacionados con PHB puede explicarse como consecuencia de la funcionalidad energética que este polímero tiene para numerosas bacterias y la posibilidad de transmitirlos evolutivamente entre especies. En el caso de PET y PCL, con procesos degradativos más complejos que el PHB, se destaca el papel que juegan las esterasas en relación con la utilización de los mismos (Almeida et al., 2019a, 2019b). Con respecto a otros polímeros sintéticos importantes, tales como polipropileno (PP), poliestireno (PS) y cloruro de polivinilo (PVC), aún no se han descrito en literatura enzimas que participen en su procesado, lo que supone un importante reto para la ciencia en este campo concreto. En este sentido, los recursos bioinformáticos pueden ayudar a la hora de

alcanzar una mejor comprensión de los orígenes, la evolución y la distribución filogenética de los rasgos genéticos implicados en la degradación plástica, lo que puede facilitar futuros descubrimientos en esta área, incluyendo la detección de nuevos microorganismos y enzimas degradantes de plástico de especies que siguen siendo difíciles de desarrollar en el laboratorio, y genes capaces de degradar múltiples materiales plásticos (Gambarini et al., 2021).

Entre las líneas de investigación abiertas, el estudio de microorganismos incluidos en taxones anaeróbicos y extremófilos, concretamente termófilos, destaca sobremanera, dado el efecto potenciador de la biodegradación plástica de la temperatura (Ho y Pometto, 1999) y los niveles de acumulación de residuos plásticos que potencian las condiciones anaeróbicas (Ghosh et al., 2019). En relación con la influencia de la temperatura, algunos estudios confirman una degradación plástica más rápida a una temperatura superior a 50 °C (Apinya et al., 2015). Incluso, se ha comprobado como la baja estabilidad térmica de la PETasa de *I. sakaiensis* limita su capacidad para una degradación eficiente del tereftalato de polietileno (PET). En este sentido, la ingeniería genética está permitiendo el desarrollo de PETasas cada vez más termostables (Son et al., 2019).

## **6. Gestión de residuos plásticos: Aspectos legislativos**

Los materiales plásticos desempeñan un papel destacado en el modelo de Economía Circular por su capacidad para ser recuperados y reutilizados, especialmente si se tiene en cuenta la situación actual en la que el mundo avanza a un ritmo acelerado y la población mundial crece incesantemente, con una demanda de productos y recursos muy superior al que la naturaleza puede proveer. Para revertir este escenario descontrolado y transformarlo en un modelo de crecimiento sostenible, es necesario basar el sistema económico en patrones de desarrollo que, por un lado, reduzcan la cantidad de recursos empleados para generar nuevos productos y, por otro, muestren capacidad para gestionar el ingente volumen de residuos producidos. Se trata, en definitiva, de pasar de un modelo lineal, basado en usar y tirar, a un nuevo modelo de negocio basado en economía circular. La Unión Europea está apostando fuertemente por este modelo, ya que se estima que su implantación permitiría reducir los residuos urbanos hasta un 65% en 2030. Además, la mejora de los diseños y sistemas de gestión y la prolongación de la vida de los materiales plásticos puede generar nuevos empleos, reducir las emisiones de gases de efecto invernadero, y disminuir la dependencia de los combustibles fósiles.

En España, el sistema de gestión de los residuos plásticos ha sido tradicionalmente obsoleto e insostenible. En pro de la adaptación a las directrices marcadas por la Unión Europea, actualmente se está desarrollando un nuevo proyecto de ley que establece limitaciones a los plásticos de un solo uso, y obliga a ofrecer información al consumidor respecto a su utilización. Complementariamente, y con la finalidad de estimular el

abandono de este tipo de envases de plástico de un solo uso, se promueve el establecimiento de un impuesto sobre los mismos. Dicho impuesto responde a las recomendaciones realizadas por la Comisión Europea, que en numerosos informes ha señalado que España cuenta con margen de actuación en materia de fiscalidad verde. Este impuesto especial, con un tipo impositivo de 0,45 €/kg de envase, será de carácter indirecto y recaerá sobre la fabricación, importación o adquisición intracomunitaria de envases de plástico no reutilizables que vayan a ser objeto de utilización en el mercado español. De acuerdo con la información correspondiente al último año disponible (2017) sobre la cantidad de envases de plástico que España puso en el mercado, se estima una recaudación cercana de 724 millones €. Se trata de un impuesto similar al que se pretende implantar en otros países de nuestro entorno, como Reino Unido o Italia.

Las directrices relativas a fechas e hitos concretos establecen que los niveles de reducción en su utilización ha de ser del 50% para 2026 y del 70% para 2030, siempre tomando como volumen de referencia los existentes en 2022. Para cumplir con estos objetivos, todos los agentes implicados en la comercialización fomentarán el uso de alternativas reutilizables o de otros materiales de naturaleza no plástica. En cualquier caso, a partir del 1 de enero de 2023, queda prohibida su distribución gratuita, debiéndose cobrar un precio por cada uno de los productos de plástico que se entregue al consumidor, diferenciándolo en el ticket de venta.

Entre las medidas contempladas para alcanzar este objetivo común, se proyecta una mejora en la preparación del residuo enfocada a su reutilización, separación y reciclado para 2025. Se imple, además, a las administraciones a realizar de forma obligatoria inversiones económicas e incentivadoras para priorizar las diferentes opciones de gestión residual.

En cuanto la gestión de residuos, el texto marca objetivos y medidas para fomentar la implementación de protocolos que los adecuen para su reutilización y reciclado, fijándose un calendario de implantación para nuevas recogidas separadas, cuya fecha se adelanta a 31 de diciembre de 2021, y plantea metas concretas en cuanto a porcentajes a alcanzar de separación selectiva en relación con los volúmenes totales generados. Así, para 2025 se fija el 55%, para 2030 el 60%, y para 2035 el 65%. Asimismo, se regula la eliminación de los residuos, que deberá llevarse a cabo de manera segura, y en el caso de depósito en vertedero, tras haber sido sometidos los residuos a un tratamiento previo.

Recientemente, y al objeto de implementar las directrices establecidas en las directivas comunitarias del Paquete de Economía Circular, el gobierno de España ha aprobado la Estrategia Española de Economía Circular (EEEC), “España Circular 2030”, así como un real decreto destinado a la mejora de la trazabilidad y el control de los traslados de residuos, tres elementos clave del Marco de Economía Circular que el Gobierno quiere usar como palanca para la recuperación económica, tras la crisis sanitaria del COVID-19.

En todas estas normativas se contempla que, para alargar la vida útil de los productos, las empresas deben fomentar el diseño, la fabricación y el uso de materiales que sean eficientes en el uso de recursos, duraderos, reparables, reutilizables y actualizables. Igualmente, se conmina a los fabricantes a promover la reutilización de los productos y la implantación de sistemas que promuevan actividades de reparación y reutilización. Esto abre una ventana a la investigación en bioplásticos y su desarrollo a escalas que puedan responder a los niveles de demanda que se esperan en los próximos años.

Un aspecto muy interesante de este anteproyecto de Ley, y de vital importancia en nuestra provincia, es la consideración de infracción muy grave el abandono, incluido el de la basura dispersa (“littering”), el vertido y la gestión incontrolada de residuos peligrosos o de cualquier otro tipo de residuos, siempre que se haya puesto en peligro grave la salud de las personas, o se haya producido un daño o deterioro grave para el medio ambiente. Cuando no se den estos últimos supuestos, se considerará infracción grave. Esto podría contribuir a la mejora del estado de nuestro entorno agrícola en cuanto a la liberación de plásticos de forma descontrolada al medio ambiente.

## **7. Situación actual de los biopolímeros**

El papel de los polímeros biodegradables de origen biológico en cuanto a su participación en las estrategias planteadas como solución al problema que representan los residuos plásticos se encuentra fuertemente influenciado por sus costes de producción y, en menor medida, por su eficiencia. En relación con el primero de estos factores, el precio, tanto las materias primas como los procesos de producción, contribuyen de forma decisiva al elevado coste que estos plásticos tienen en el mercado. No obstante, existen factores adicionales sobre los que los productores no tienen capacidad de actuación, y que pueden también influir sobre el precio final, como se demostró en el análisis de producción comparativo realizado entre polihidroxialcanoatos (PHA) y el biopolímero ácido poliláctico (PLA). En cualquier caso, el factor económico condiciona en gran medida la potencial sustitución de los polímeros sintéticos por biopolímeros, lo que fuerza a aumentar la competitividad de estos últimos por la vía de la rentabilidad (Lettner et al., 2017).

Además de la rentabilidad, es necesario igualmente optimizar alguna de las propiedades tecnológicas que muestran los biopolímeros, tales como su estabilidad térmica o su resistencia mecánica. Por otra parte, también queda mucho por discernir en cuanto a los efectos medioambientales generados por los productos de degradación.

En términos sociales, es importante el establecimiento de planes de formación dirigidos a adoctrinar a la población en cuanto a prácticas de correcto reciclado y separación, así como trabajar el etiquetado y la diferenciación del residuo en su recogida, cuestiones que, sin duda, ayudarán a concienciar a la sociedad y contribuirán a solventar los problemas generados por estos materiales.



A la hora de implementar los sistemas de gestión, es necesario tener en cuenta que la degradación de bioplásticos puede llevar asociada, en algunos casos, consecuencias no especialmente favorables. Así, la acumulación de estos productos en vertederos convencionales puede dar lugar a la producción de gases de efecto invernadero como el metano, incrementando la huella de carbono y el calentamiento global. La incineración también supone un incremento de este tipo de gases, como el dióxido de carbono. Es por ello que, el éxito en la comercialización de los bioplásticos será completo cuando se haya desarrollado un correcto sistema de gestión residual adecuado a este material biotecnológico.

El origen biológico de los biopolímeros no afecta a su durabilidad, por lo que, en principio, pueden permanecer en un determinado entorno tanto tiempo como los sintéticos. El factor diferencial reside en la actuación microbiana sobre los primeros, por lo que, para acelerar su descomposición, es vital la participación de microorganismos capaces de degradar dichos materiales. Se han evaluado en esta revisión diferentes especies implicadas y estudios a escalas de laboratorio, así como, sus diferentes resultados. Pero en la ecología del medio natural, las condiciones existentes son muy diferentes a la que se dan en condiciones de laboratorio, de manera que el proceso degradativo puede verse afectado de forma importante.

Por otro lado, actualmente, la mayoría de los bioplásticos se producen a partir de recursos renovables, como cultivos de maíz, almidón, etc. Aunque puede disminuir la necesidad de materias primas fósiles, también es un consumo de recursos forestales y agrícolas. Esto se puede traducir en que la fijación de dióxido de carbono por parte de especies vegetales se reduzca en cierta medida, con lo que la aplicación de bioplásticos de base biológica no incidiría positivamente en la reducción de gases de efecto invernadero.

Dado el alto uso de plásticos de base fósil que existe actualmente, es más que probable que, en las etapas de introducción y coexistencia en el mercado de bioplásticos degradables con plásticos de origen fósil tradicionales, una parte de los bioplásticos entren en la cadena de reciclaje de plásticos tradicionales, lo que afectará a la calidad de reciclaje de ambos, incrementando los costes de recolección y clasificación de estos materiales.

## **8. Potencial de mejora: Líneas a investigar**

Dadas las condiciones actuales, ya sean ambientales o económicas, en cuanto a producción y gestión del residuo plástico, se han ampliado las líneas de investigación en este campo, dejando una serie de caminos abiertos a avances futuros y líneas de búsquedas que integren estos materiales en la creciente tendencia a la economía circular y el abandono del sistema, ya insostenible, de la economía lineal. A continuación, se hace una reflexión sobre las tendencias a investigar encontradas tras una amplia revisión de las pautas seguidas actualmente (MITECO, 2020b).

- *Ingeniería proteica de enzimas.* La mejora de la actividad enzimática a través de estudios de ingeniería proteica, ayudando a entender las características de sus centros activos y a discernir las conformaciones moleculares de activación y desactivación, conforma una de las líneas de investigación a seguir al objeto de optimizar la degradación de polímeros sintéticos (Ma et al., 2018). Las mejoras genéticas enzimáticas y la obtención de mutantes eficientes se han mostrado como herramientas útiles en cuanto al aumento de la eficacia de degradación de la película polimérica (Wei et al., 2016).
- *Mejora de cepas microbianas.* La mejora genética de las cepas que muestran eficiencia en la formación del biofilm y en la producción de enzimas con alta actividad a temperaturas bajas, se postula como una línea de trabajo de gran interés, ya que podría influir positivamente sobre la eficacia y la rentabilidad del proceso (Huang et al., 2018; Moog et al., 2019).
- *Análisis metagenómico de las comunidades microbianas asociadas a la degradación de plásticos y de las enzimas que sintetizan.* Profundizar en este tipo de estudios puede contribuir a incrementar la diversidad de especies y enzimas implicadas en la degradación de polímeros sintéticos (Berini, 2017). En este sentido, las herramientas bioinformáticas pueden suponer un salto cualitativo en el manejo de la información generada en este tipo de estudios y, por tanto, en los beneficios que de ellos se pueden obtener (Arora y Bae, 2014; Bryant et al., 2016; Ziemert et al., 2016; Haernvall et al., 2017; Pinnell y Turner, 2019).
- *Optimizar la biodegradación de polímeros.* La aplicación de fórmulas de tratamientos químico-biológicos o de tratamientos térmicos, con el objetivo de acelerar la degradación, ya sea a nivel industrial o en diferentes ecosistemas naturales, son vías a seguir investigando y mejorando. (Shraddha, 2017; Tian et al., 2017).
- *Mejoras en las técnicas analíticas de detección de la tasa de degradación de plástico.* La técnica más habitual en la actualidad es el análisis respirométrico, fundamentado en la medición de los niveles de dióxido derivados de la acción de las comunidades microbianas que actúan sobre los polímeros plásticos. Técnicas espectroscópicas como resonancia magnética nuclear (NMR), espectroscopía infrarroja (FTIR), microscopía electrónica de barrido (SEM), difracción de rayos X (XRD), calorimetría de barrido diferencial (DSC) o microscopía de fuerza atómica (AFM) se han utilizado para medir la pérdida de peso o cambios en propiedades fisicoquímicas concretas, tales como la resistencia a la tracción.
- *Búsqueda de rutas y genes asociados a la degradación de polímeros altamente recalcitrantes.* Otros polímeros sintéticos importantes como PP, PS y PVC todavía no tienen, hasta la fecha, ninguna enzima reportada en la literatura, por lo que

aún no ha sido posible identificar genes ortólogos para estos plásticos, dejando nuevas líneas de investigación abiertas.

- *Estudios de impacto de los productos de degradación.* La degradación de bioplásticos en moléculas más pequeñas requiere una continuación en la investigación del impacto de dichas moléculas en los ecosistemas, y es necesario determinar más a fondo su papel en el cambio de las propiedades, funciones y biodiversidad del suelo. A medida que los desechos plásticos migran, los microorganismos pueden propagarse a otros ecosistemas, afectando el hábitat y la comunidad microbiana (Zettler et al., 2013).

## 9. Conclusiones

1. Durabilidad y biodegradabilidad de los bioplásticos son factores primordiales para ser considerados una solución al actual problema de gestión residual de plásticos. El consumo de recursos naturales y agrícolas para la producción de ciertos tipos de bioplásticos, así como, el problema de escalado industrial de procesos de producción microbiológica de polímeros, se presentan como dos grandes hándicaps en un escenario futuro de producción de bioplásticos como alternativa a los actuales polímeros de base fósil.
2. El uso de bioplásticos como alternativa al problema de consumo de recursos fósiles y problema medioambiental del residuo generado, sería no concluyente.
3. Los avances establecidos hasta ahora parecen concluir que no existe una solución única para resolver el problema de la gestión de residuos plásticos, sino que ha de plantearse un escenario de múltiples factores para alcanzar el éxito en este campo.

## 10. Bibliografía

- Abdel-Motaal, F.F., El-Sayed, M.A., El-Zayat, S.A., Ito, S.I. 2014. Biodegradation of poly ( $\epsilon$ -caprolactone) (PCL) film and foam plastic by *Pseudozyma japonica* sp. nov., a novel cutinolytic ustilaginomycetous yeast species. *3 Biotech*, 4: 507-512.
- Ahmed, T., Shahid, M., Azeem, F., Rasul, I., Ali Shah, A., Noman, M., Hameed, A., Manzoor, N., Manzoor, I., Muhammad, S. 2018. Biodegradation of plastics: Current scenario and future prospects for environmental safety. *Environmental Science and Pollution Research*, 25: 7287–7298.
- Almeida, B.C., Figueiredo, P., Carvalho, A.T. 2019b. Polycaprolactone enzymatic hydrolysis: A mechanistic study. *ACS Omega*, 4: 6769–6774.
- Almeida, E.L., Carrillo Rincón, A.F. Jackson, S.A., Dobson, A.D. 2019a. In silico screening and heterologous expression of a polyethylene terephthalate hydrolase (PETase)-like enzyme (SM14est) with polycaprolactone (PCL)-degrading activity, from the marine sponge-derived strain *Streptomyces* sp. SM14. *Frontiers in Microbiology*, 10: 2187.
- Álvarez-Barragán, J., Domínguez-Malfavón, L., Vargas-Suárez, M., González-Hernández, R., Aguilar-Osorio, G., Loza-Tavera, H. 2016. Biodegradative activities of selected environmental fungi on a polyester polyurethane varnish and polyether polyurethane foams. *Applied and Environmental Microbiology*, 82: 5225-5235.
- Anjana, G.K., Hinduja, M., Sujitha, K., Dharani, G. 2020. Review on plastic wastes in marine environment—Biodegradation and biotechnological solutions. *Marine Pollution Bulletin*, 150: 110733.
- Apinya, T., Sombatsompop, N., Prapagdee, B. 2015. Election of a *Pseudonocardia* sp. RM423 that accelerates the biodegradation of poly (lactic) acid in submerged cultures and in soil microcosms. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 99: 23–30.
- Arora, P.K., Bae, H. 2014. Integration of bioinformatics to biodegradation. *Biological Procedures Online*, 16: 1-10.
- Arroyave, A.L.; Cardona, M. y Agudelo, L.M. 2013. Identificación de cepas nativas con potencial para obtención de polihidroxialcanoatos (PHA's) en lodos activados. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. 2, 69- 76
- Artham, T., Doble, M. 2007. Biodegradation of aliphatic and aromatic polycarbonates. *Macromolecular Bioscience*, 8: 14-24.
- Austin, H.P., Allen, M.D., Donohoe, B.S., Rorrer, N.A., Kearns, F.L., Silveira, R.L., Pollard, B.C., Dominick, G., Duman, R., El Omari, K., Mykhaylyl, V., Wagner, A., Michener, W.E., Amore, A., Skaf, M.S., Crowley, M.F., Thorne, A.W., Johnson, C.W., Woodcock, H.L., McGeehan, J.E., Beckham, G.T. 2018. Characterization and engineering of a plastic-degrading aromatic polyesterase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115: E4350–E4357.
- Beck, A.E., Hunt, K.A., Bernstein, H.C., Carlson, R.P. 2016. Interpreting and designing microbial communities for bioprocess applications, from components to interactions to emergent

- properties. En: Eckert, C.A., Trinh, C.T. (Eds.). *Biotechnology for Biofuel Production and Optimization*. Elsevier, Amsterdam, Países Bajos, pp. 407-432.
- Belda, E., Van Heck, R.G., Lopez-Sanchez M.J., Cruveiller S., Barbe V., Fraser C., Klenk, H.P., Petersen, J., Morgat, A., Nickel, P.I., Vallenet D., Rouy, Z., Sekowska, A., Martins dos Santos, V.A., de Lorenzo, V., Danchin, A., Médigue, C. 2016. The revisited genome of *Pseudomonas putida* KT2440 enlightens its value as a robust metabolic chassis. *Environmental Microbiology*, 18: 3403-3424.
- Berini, F., Casciello, C., Marcone, G.L., Marinelli, F. 2017. Metagenomics: Novel enzymes from non-culturable microbes. *FEMS Microbiology Letters*, 364: fnx211.
- Bhatt, P., Pal, K., Bhandari, G., Barh, A. 2019. Modelling of the methyl halide biodegradation in bacteria and its effect on environmental systems. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 158: 88-100.
- Bonifer, K.S., Wen, X., Hasim, S., Phillips, E.K., Dunlap, R.N., Gann, E.R., DeBruyn, J.M., Reynolds, T.B. 2019. *Bacillus pumilus* B12 degrades polylactic acid and degradation is affected by changing nutrient conditions. *Frontiers in Microbiology*, 10: 2548.
- Bryant, J.A., Clemente, T.M., Viviani, D.A., Fong, A.A., Thomas, K.A., Kemp, P., Karl, D.M., White, A.E., DeLong, E.F. 2016. Diversity and activity of communities inhabiting plastic debris in the North Pacific Gyre. *MSystems*, 1: e00024-16.
- Cózar, A., Sanz-Martín, M., Martí, E., González-Gordillo, J.I., Ubeda, B., Gálvez, J.A., Irigoien, X., Duarte, C.M. 2015. Plastic accumulation in the Mediterranean Sea. *PLoS One*, 10: e0121762.
- Dangi, A.K., Sharma, B., Hill, R.T., Shukla, P. 2019. Bioremediation through microbes: systems biology and metabolic engineering approach. *Critical Reviews in Biotechnology*, 39: 79-98.
- Degli-Innocenti, F. 2014. Biodegradation of plastics and ecotoxicity testing: When should it be done. *Frontiers in Microbiology*, 5: 475.
- Divya, M., Aanand, S., Srinivasan, A., Ahilan, B. 2015. Bioremediation—An eco-friendly tool for effluent treatment: A review. *International Journal of Applied Research*, 1: 530-537.
- Dussud, C., Ghiglione, J.F. 2014. Bacterial degradation of synthetic plastics. *CIESM Workshop Monographs*, 46: 49-54.
- Fernández, P.; Ortiz, F.L. y España, J.E. 2005. Caracterización de poli-(hidroxibutirato - co-hidroxivalerato) sintetizado por una cepa silvestre de *Bacillus mycoides*, FLB2. *Revista centro de estudios en salud* 1 (6), 1-10.
- Fields, R.D., Rodríguez, F., Finn, R.K. 1974. Microbial degradation of polyesters: Polycaprolactone degraded by *P. pullulans*. *Journal of Applied Polymer Science*, 18: 3571-3579.
- Gambarini, V., Pantos, O., Kingsbury, J.M., Weaver, L., Handley, K.M., Lear, G. 2021. Phylogenetic distribution of plastic-degrading microorganisms. *MSystems*, 6: e01112-20.
- Geyer, R., Jambeck, J.R., Law, K.L. 2017. Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances*, 3: e1700782.

- Ghosh, A., Sarkar, J.P., Das, B. 2019. Effect of physical presence of waste plastics in the degradation of municipal solid waste in landfill. En: Ghosh, S.K. (Ed.). *Waste Valorisation and Recycling*, Springer Nature, Singapur, Singapur, pp 93–103.
- Gómez-Méndez, L.D., Moreno-Bayona, D.A., Poutou-Piñales, R.A., Salcedo-Reyes, J.C., Pedroza-Rodríguez, A.M., Vargas, A., Bogoya, J.M. (2018). Biodeterioration of plasma pretreated LDPE sheets by *Pleurotus ostreatus*. *PLoS One*, 13: e0203786.
- Gumel, A.M., Anuar, M.S.M., Chisti, Y. 2013. Recent advances in the production, recovery and applications of polyhydroxyalkanoates. *Journal of Polymer and the Environment*, 21: 580–605.
- Haernvall, K., Zitzenbacher, S., Wallig, K., Yamamoto, M., Schick, M.B., Ribitsch, D., Guebitz, G.M. 2017. Hydrolysis of ionic phthalic acid based polyesters by wastewater microorganisms and their enzymes. *Environmental Science and Technology*, 51: 4596-4605.
- He, Z., Xiao, H., Tang, L., Min, H., Lu, Z. 2013. Biodegradation of di-n-butyl phthalate by a stable bacterial consortium, HD-1, enriched from activate sludge. *Bioresource Technology*, 18: 526-532.
- Ho, K.L.G., Pometto, A.L. 1999. Temperature effects on soil mineralization of polylactic acid plastic in laboratory respirometers. *Journal of Environmental Polymer Degradation*, 7: 101–108.
- Howard, G.T., Mackie, R.I., Cann, I.K., Ohene-Adjei, S., Aboudehen, K.S., Duos, B.G., Childers, G.W. 2007. Effect of insertional mutations in the pueA and pueB genes encoding two polyurethanases in *Pseudomonas chlororaphis* contained within a gene cluster. *Journal of Applied Microbiology*, 103: 2074-2083.
- Huang, X., Cao, L., Qin, Z., Li, S., Kong, W., Liu, Y. 2018. Tat-independent secretion of polyethylene terephthalate hydrolase petase in *Bacillus subtilis* 168 mediated by its native signal peptide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66: 13217–13227.
- Hung, C.S., Zingarelli, S., Nadeau, L.J., Biffinger, J.C., Drake, C.A., Crouch, A.L., Barlow, D.E., Russell, J.R., Crookes-Goodson, W.J. 2016. Carbon catabolite repression and imbranil polyurethane degradation in *Pseudomonas protegens* strain Pf-5. *Applied and Environmental Microbiology*, 82: 6080-6090.
- Iannotti, G., Fair, N., Tempesta, M., Neibling, H., Hsieh, F.H., Mueller, R. 2018. Studies on the environmental degradation of starch-based plastics. En: Barenberg, S.A., Brash, J.L., Narayan, R., Redpath, A.E. (Eds.). *Degradable Materials: Perspectives, Issues, and Opportunities*. CRC Press, Boca Raton, EE.UU., pp. 425-446.
- Ishii, N., Inoue, Y., Shimada, K., Tezuka, Y., Mitomo, H., Kasuya, K. 2007. Fungal degradation of poly (ethylene succinate). *Polymer Degradation and Stability*, 92: Pages 44-52.
- Jagmann, N., Philipp, B. 2014. Design of synthetic microbial communities for biotechnological production processes. *Journal of Biotechnology*, 184: 209-218.
- Jaiswal, S., Sharma, B., Shukla, P. 2020. Integrated approaches in microbial degradation of plastics. *Environmental Technology and Innovation*, 17: 100567.
- Jaiswal, S., Singh, D.K., Shukla, P. 2019. Gene editing and systems biology tools for pesticide bioremediation: A review. *Frontiers in Microbiology*, 10: 87.

- Jonathan, R.R., Huang, J., Anand, P., Kucera, K., Amanda, G.S., Kathleen, W.D., Hickman, D., Jee, J., Kimovec, F.M., Koppstein, D., Marks, D.H., Mittermiller, P.A., Nunez, S.J., Santiago, M., Townes, M.A., Vishnevetsky, M., Williams, N.E., Nunez-Vargas, M.P., Lori-Ann, B., Bascom-Slack, C., Strobel, S.A. 2011. Biodegradation of polyester polyurethane by endophytic fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 77: 6076-6084.
- Kale, S.K., Deshmukh, A.G., Dudhare, M.S., Patil, V.B. 2015. Microbial degradation of plastic: A review. *Journal of Biochemical Technology*, 6: 952-961.
- Karnaouri, A., Asimakopoulou, G., Kalogiannis, K.G., Lappas, A., Topakas, E. 2020. Efficient D-lactic acid production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* through conversion of organosolv pretreated lignocellulosic biomass. *Biomass and Bioenergy*, 140: 105672.
- Kawai, F., Hu, X. 2009. Biochemistry of microbial polyvinyl alcohol degradation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 84: 227-237.
- Khanna, S., Srivastava, A.K. 2005. Recent advances in microbial polyhydroxyalkanoates. *Process Biochemistry*, 40: 607-619.
- Kirstein, I.V., Wichels, A., Gullans, E., Krohne, G., Gerdts, G. 2019. The plastisphere-Uncovering tightly attached plastic "specific" microorganisms. *PLoS One*, 14: e0215859.
- Kita, K., Ishimaru, K., Teraoka, M., Yanase, H., Kato, N. 1995. Properties of poly(3-hydroxybutyrate) depolymerase from a marine bacterium, *Alcaligenes faecalis* AE122. *Applied and Environmental Microbiology*, 61: 1727-1730.
- Koul, S., Fulekar, M.H. 2003. Petrochemical industrial waste: Bioremediation techniques. An overview. *International Journal of Advancements in Research and Technology*, 2: 211-257.
- Lee, S.Y. 1996a. Plastic bacteria? Progress and prospects for polyhydroxyalkanoate production in bacteria. *Trends in Biotechnology*, 14: 431-438.
- Lee, S.Y. 1996b. Bacterial polyhydroxyalkanoates. *Biotechnology and Bioengineering*, 49: 1-14.
- Lettner, M., Schöggel, J.P., Stern, T. 2017. Factors influencing the market diffusion of bio-based plastics: Results of four comparative scenario analyses. *Journal of Cleaner Production*, 157: 289-298.
- Ma, Y., Yao, M., Li, B., Ding, M., He, B., Chen, S., Zhou, X., Yuan, Y. 2018. Enhanced poly (ethylene terephthalate) hydrolase activity by protein engineering. *Engineering*, 4: 888-893.
- Mabrouk, M., Sabry, S. 2001. Degradation of poly (3-hydroxybutyrate) and its copolymer poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) by a marine *Streptomyces* sp SNG9. *Microbiological Research*, 156: 323-335.
- Mena Roa, M. 2020. ¿Quién produce más plástico en el mundo? World Economic Forum. Disponible en: <https://es.weforum.org/agenda/2020/06/quien-produce-mas-plastico-en-el-mundo/> (Último acceso: 7 de agosto de 2021).
- Min, T.T., Spiridonova, R.R., Agzamov, R.Z., Kochnev, A.M., Sirotkin, A.S. 2015. Improving the compatibility and assessing the biodegradation of polymer composites of low-density polyethylene and polyamide-6. *International Polymer Science and Technology*, 42: 51-56.

MITECO. 2020a. Información pública del anteproyecto de ley de residuos y suelos contaminados. Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico. Disponible en: <https://www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/participacion-publica/Residuos%202020%20anteproyecto%20de%20ley%20de%20residuos%20y%20suelos%20contaminados.aspx> (Último acceso: 7 de agosto de 2021).

MITECO. 2020b Arranca la tramitación del anteproyecto de Ley de Residuos para impulsar una economía circular, mejorar la gestión de residuos en España y luchar contra la contaminación. Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico Disponible en: <https://www.miteco.gob.es/es/prensa/ultimas-noticias/arranca-la-tramitaci%C3%B3n-del-anteproyecto-de-ley-de-residuos-para-impulsar-una-econom%C3%ADa-circular-mejorar-la-gesti%C3%B3n-de-residuos-en-esp%C3%B1a-y-luchar/tcm:30-509531> (último acceso: 7 de agosto de 2021).

Moog, D. Schmitt, J., Senger, J., Zarzycki, J., Rexer, K.H., Linne, U., Erb, T., Maier, U.G. 2019. Using a marine microalga as a chassis for polyethylene terephthalate (PET) degradation. *Microbial Cell Factories*, 18: 171.

Muhamad, W.N.A.W., Othman, R., Shaharuddin, R.I., Irani, M.S. 2015. Microorganism as plastic biodegradation agent towards sustainable environment. *Advances in Environmental Biology*, 9: 8-14.

Muller, R.J., Schrader, H., Profe, J., Dresler, K., Deckwer, W.D. 2005. Enzymatic degradation of PET: rapid hydrolyse using a hydrolase from *T. fusca*. *Macromolecular Rapid Communications*, 26: 1400-1405.

Nair, N.R., Sekhar, V.C., Nampoothiri, K.M. 2016. Augmentation of a microbial consortium for enhanced polylactide (PLA) degradation. *Indian Journal of Microbiology*, 56: 59-63.

Nakajima-Kambe, T., Onuma, F., Kimpara, N., Nakahara, T. 1995. Isolation and characterization of a bacterium which utilizes polyester polyurethane as a sole carbon and nitrogen source. *FEMS Microbiology Letters*, 129: 39-42.

Palm, G.J., Reisky, L., Bottcher, D., Muller, H., Michels, A.P., Walczak, M.C., Berndt, L., Weiss, M.S., Bornscheuer, U.T., Weber, G. 2019. Structure of the plastic-degrading *Ideonella sakaiensis* MHETase bound to a substrate. *Nature Communications*, 1717, 1-10.

Pattanasuttichonlakul, W., Sombatsompop, N., Prapagdee, B. 2018. Accelerating biodegradation of PLA using microbial consortium from dairy wastewater sludge combined with PLA-degrading bacterium. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 132: 74-83.

Pérez-Pantoja, D., Donoso, R., Junca, H., González, B., Pieper, D.H. 2017. Phylogenomics of aerobic bacterial degradation of aromatics. En: De Lorenzo, V. (Ed.). *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology. Functional Genomics (The Paradigms)*, Springer-Verlag, Berlín, Alemania, pp. 1355-1397.

Pieper, D.H., Reineke, W. 2000. Engineering bacteria for bioremediation. *Current Opinion in Biotechnology*, 11: 262-270.

Pinnell, L.J., Turner, J.W. 2019. Shotgun metagenomics reveals the benthic microbial community response to plastic and bioplastic in a coastal marine environment. *Frontiers in Microbiology*, 10: 1252.



- Pischedda, A., Tosin, M., Degli-Innocenti, F. 2019. Biodegradation of plastics in soil: The effect of temperature. *Polymer Degradation and Stability*, 170: 109017.
- Preidis, G.A., Hotez, P.J., 2015. The newest “omics”—metagenomics and metabolomics—enter the battle against the neglected tropical diseases. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 9: e0003382.
- Priyadarshi, S., Shukla, A., Bhaskarrao, B. 2014. Polyhydroxyalkanoates: Role of *Ralstonia eutropha*. *International Journal of Biomedical and Advance Research*, 5.
- Pu, W., Cui, C., Guo, C., Wu, Z.L. 2018. Characterization of two styrene monooxygenases from marine microbes. *Enzyme and Microbial Technology*, 112: 29-34.
- Rajandas H., Parimannan S., Sathasivam K., Ravichandran M., Yin L.S., 2012. A novel FTIR-ATR spectroscopy-based technique for the estimation of low-density polyethylene biodegradation. *Polymer Testing*, 31: 1094-1099.
- Salehizadeh, H., Van Loosdrecht, M.C.M. 2004. Production of polyhydroxyalkanoates by mixed culture: Recent trends and biotechnological importance. *Biotechnology Advances*, 22: 261-79.
- Samaniego, J.M. 2019. Biopolímeros: Una alternativa a los plásticos derivados del petróleo. Cultura Científica. Disponible en: <https://culturacientifica.utpl.edu.ec/?p=3658> (Último acceso: 7 de agosto de 2021).
- Sasaki, M., Tsuchido, T., Matsumura, Y. 2008. Molecular cloning and characterization of cytochrome P450 and ferredoxin genes involved in bisphenol A degradation in *Sphingomonas bisphenolicum* strain AO1. *Journal of Applied Microbiology*, 105: 1158-1169.
- Shah, Z., Gulzar, M., Hasan, F., Shah, A.A. 2016. Degradation of polyester polyurethane by an indigenously developed consortium of *Pseudomonas* and *Bacillus* species isolated from soil. *Polymer Degradation and Stability*, 134: 349-356.
- Shraddha, A., Srivastava, P., Singh, P., Tiwary, D., Mishra, P.K. 2017. Biodegradation of thermally treated high-density polyethylene (HDPE) by *Klebsiella pneumoniae* CH001. 3 *Biotech*, 7: 1-10.
- Shen, M., Song, B., Zeng, G., Zhang, Y., Huang, W., Wen, X., Tang, W. 2020. Are biodegradable plastics a promising solution to solve the global plastic pollution? *Environmental Pollution*, 263: 114469.
- Shibasaki, S., Kawabata, A., Tanino, T., Kondo, A., Ueda, M., Tanaka, M. 2009. Evaluation of the biodegradability of polyurethane and its derivatives by using lipase-displaying arming yeast *Biocontrol Science*, 14: 171-175.
- Sivan, A., Szanto, M., Pavlov, V. 2006. Biofilm development of the polyethylene-degrading bacterium *Rhodococcus ruber*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 72: 346-352.
- Skariyachan, S., Manjunatha, V., Sultana, S., Jois, C., Bai, V., Vasist, K.S. 2016. Novel bacterial consortia isolated from plastic garbage processing areas demonstrated enhanced degradation for low density polyethylene. *Environmental Science and Pollution Research*, 23: 18307-18319.

- Son, H.F., Cho, I.J., Joo, S., Seo, H., Sagong, H.Y., Choi, S.Y., Lee, S.Y., Kim, K.J. 2019. Rational protein engineering of thermo-stable PETase from *Ideonella sakaiensis* for highly efficient PET degradation. *ACS Catalysis*, 9: 3519–3526.
- Song, H., Ding, M.Z., Jia, X.Q., Ma, Q., Yuan, Y.J. 2014. Synthetic microbial consortia: From systematic analysis to construction and applications. *Chemical Society Reviews*, 43: 6954-6981.
- Sudhakar, M., Doble, M., Murthy, P.S., Venkatesan, R. 2008. Marine microbe-mediated biodegradation of low- and high-density polyethylenes. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 61: 203-213.
- Sugimoto, M., Tanabe, M., Hataya, M., Enokibara, S., Duine, J.A., Kawai, F. 2001. The first step in polyethylene glycol degradation by *Sphingomonas* proceeds via a flavoprotein alcohol dehydrogenase containing Flavin Adenine Dinucleotide. *Journal of Bacteriology*, 183: 6694-6698.
- Sukan, A. Roy, I., Keshavarz, T. 2005. Agro-industrial waste materials as substrates for the production of poly (3-hydroxybutyric acid). *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 5: 229-240.
- Tian, L., Kolvenbach, B., Corvini, N., Wang, S., Tavanie, N., Wang, L., Ma, Y., Scheu, S., Corvini, P.F.X., Ji, R. 2017. Mineralisation of <sup>14</sup>C-labelled polystyrene plastics by *Penicillium variabile* after ozonation pre-treatment. *New Biotechnology*, 38: 101-105.
- Urtuvia, V., Villegas, P., González, M., Seeger, M. 2014. Bacterial production of the biodegradable plastics polyhydroxyalkanoates. *International Journal of Biological Macromolecules*, 70: 208-213.
- Vague, M., Chan, G., Roberts, C., Swartz, N.A., Mellies, J.L. 2019. *Pseudomonas* isolates degrade and form biofilms on polyethylene terephthalate (PET) plastic. *BioRxiv*. 647321.
- Vivi, V.K., Martins-Franchetti, S.M., Attili-Angelis, D. 2019. Biodegradation of PCL and PVC: *Chaetomium globosum* (ATCC 16021) activity. *Folia Microbiologica*, 64: 1-7.
- Wang, H., Wei, D., Zheng, A., Xiao, H. 2015. Soil burial biodegradation of antimicrobial biodegradable PBAT films. *Polymer Degradation and Stability*, 116: 14–22.
- Wei, R., Oeser, T., Schmidt, J., Meier, R., Barth, M., Then, J., Zimmermann, W. 2016. Engineered bacterial polyester hydrolases efficiently degrade polyethylene terephthalate due to relieved product inhibition. *Biotechnology and Bioengineering*, 113: 1658-1665.
- Xu, J., Li, Q., Zhou, Y., Liu, Y., Luo, Y. 2019. Texture discrimination-enforced matching cost computation and smoothness-weighted cost regularization for stereo matching. *Journal of Electronic Imaging*, 28: 053025.
- Yee, K.L., Jansen, L.E., Lajoie, C.A., Penner, M.H., Morse, L., Kelly C.J., 2018. Furfural and 5-hydroxymethyl-furfural degradation using recombinant manganese peroxidase. *Enzyme and Microbial Technology*, 108: 59-65.
- Yoshida, S., Hiraga, K., Tajehana, T., Taniguchi, I., Yamaji, H., Maeda, Y., Toyohara, K., Miyamoto, K., Kimura, Y., Oda, K. 2016. A bacterium that degrades and assimilates poly (ethylene terephthalate). *Science* 351: 1196–1199.

Zettler, E.R., Mincer, T.J., Amaral-Zettler, L.A. 2013. Life in the “plastisphere”: Microbial communities on plastic marine debris. *Environmental Science and Technology*, 47: 7137–7146.

Ziemert, N., Alanjary, M., Weber, T. 2016. The evolution of genome mining in microbes—A review. *Natural Product Reports*, 33: 988-1005.