



Scientia Agropecuaria

Web page: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/scientiaagrop>

Facultad de Ciencias
Agropecuarias

Universidad Nacional de
Trujillo



REVIEW

Biopolymers produced by Azotobacter: synthesis and production, physico-mechanical properties, and potential industrial applications

Biopolímeros producidos por Azotobacter: síntesis y producción, propiedades físico-mecánicas, y potenciales aplicaciones industriales

Nils Leander Huamán-Castilla^{1,2,*} ; Erik Edwin Allcca-Alca¹ ; Giovanna Judith Allcca-Alca³ ; Marcos Luis Quispe-Pérez⁴ 

¹ Escuela de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Nacional de Moquegua, Prolongación Calle Ancash s/n, Moquegua 18001. Peru.

² Instituto de Investigación para el Desarrollo del Perú (IINDEP), Laboratorio de Tecnologías Sustentables para la extracción de Compuestos de Alto Valor, Universidad Nacional de Moquegua, Prolongación Calle Ancash s/n, Moquegua 18001. Peru.

³ Escuela de Postgrado, Universidad Nacional del Altiplano, Av. Floral s/n, Puno 1153. Peru.

⁴ Escuela de Ingeniería de Minas, Universidad Nacional de Moquegua, Prolongación Calle Ancash s/n, Moquegua 18001. Peru.

* Corresponding author: nhuamanc@unam.edu.pe (N. L. Huamán-Castilla).

Received: 9 January 2021. Accepted: 30 May 2021. Published: 20 July 2021.

Abstract

Azotobacter is a type of bacterium nonpathogenic, Gram-negative with ability to synthesize simultaneously under aerobic conditions two biodegradable polymers extra and intracellular such as alginate and polyhydroxyalkanoates, respectively, whose physical, mechanical, and biodegradable properties have awoken the interest in the industry. Thus, this review compiles information on synthesis chemistry of these polymers and the genetic modification of this bacterium in order to produce a particular polymer and improve its yields. Additionally, we show that alginates obtained present a higher molecular weight, degree of acetylation and M/G ratio compared with other organic sources like seaweed; while polyhydroxyalkanoate polymers have better physical and mechanical characteristics (melting temperature, Young's modulus, elongation and glass transition temperature) compared with other synthetic polymers. These characteristics present in both polymers have allowed the development of several applications in the food, pharmaceutical, medical and agronomic industries. Finally, it is necessary to study new strategies to control the variability of the degree of acetylation and molecular weight for alginate polymers and improve the production of polyhydroxyalkanoates in order to propose new future applications in the industry.

Keywords: *Azotobacter*; polyhydroxyalkanoate (PHA); polyhydroxyvalerato (PHV); polyhydroxybutyrate (PHB); alginates (AG); polymers.

Resumen

Azotobacter es un tipo de bacteria no patógena, Gram negativa con capacidad para sintetizar simultáneamente en condiciones aerobias dos polímeros biodegradables extra e intracelulares tales como alginatos y polihidroxicanoatos respectivamente, cuyas propiedades físicas, mecánicas y biodegradables han despertado el interés en la industria. Por ello, esta revisión compila información sobre la síntesis química de estos polímeros y la modificación genética de esta bacteria con la finalidad de producir un polímero particular y mejorar sus rendimientos. Adicionalmente, mostramos que los alginatos obtenidos presentan un mayor peso molecular, grado de acetilación y relación M/G comparado con otras fuentes orgánicas como las algas marinas; mientras los polímeros de polihidroxicanoatos presentan mejores características físicas y mecánicas (temperatura de fusión, módulo de Young, elongación y temperatura de transición vítrea) comparado con otros polímeros sintéticos. Estas características presentes en ambos polímeros han permitido el desarrollo de diversas aplicaciones en la industria alimentaria, farmacéutica, médica y agronómica. Finalmente, es necesario estudiar nuevas estrategias para controlar la variabilidad del grado de acetilación y peso molecular para los polímeros de alginato y mejorar la producción de polihidroxicanoatos con la finalidad de promover nuevas futuras aplicaciones en la industria.

Palabras clave: *Azotobacter*; polihidroxicanoatos; polihidroxi butirato (PHB); polihidroxi valerato (PHV); alginato (AG); polímeros.

DOI: <https://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2021.040>

Cite this article:

Huamán-Castilla, N. L., Allcca-Alca, E. E., Allcca-Alca, G. J., & Quispe-Pérez, M. L. (2021). Biopolímeros producidos por Azotobacter: síntesis y producción, propiedades físico-mecánicas, y potenciales aplicaciones industriales. *Scientia Agropecuaria*, 12(3), 369-377.

1. Introducción

La producción de plásticos sintéticos se ha incrementado considerablemente en el mundo (~8300 millones de toneladas por año) (Geyer et al., 2017; Chamas et al., 2020). Estos plásticos sintéticos son en su mayoría polietileno, polipropileno y poliestireno, los cuales son usados como envases, embalajes, vehículos de transporte, equipos médicos e inclusive como materiales en prendas de vestir (Andrady & Neal, 2009; Geyer et al., 2017). No obstante, estos materiales en particular no son biodegradables ocasionando problemas de gestión ambiental, con daños irreversibles al medio ambiente (Scott, 2015). El carácter hidrofóbico y la ausencia de grupos funcionales en la estructura química de estos plásticos sintéticos impide su degradación por bacterias, enzimas e inclusive por otros factores tales como la temperatura ambiente, luz y el agua (Rosato et al., 1991; Alshehrei, 2017). Por ejemplo, se estima que las bolsas de plástico pueden demorar en degradarse entre 10 a 20 años, mientras que las botellas de plástico pueden demorar entre 70 y 500 años (Urbanek et al., 2018; Chamas et al., 2020). Por ello, diversos trabajos se han enfocado en promover la producción y uso de polímeros biodegradables como una alternativa para reemplazar los plásticos sintéticos y reducir los problemas de gestión ambiental.

Los polímeros biodegradables son metabolitos secundarios producidos bajo condiciones de estrés (temperatura, presión, pH entre otros) a partir de microorganismos tales como hongos y bacterias (Mohapatra et al., 2017). Estos polímeros debido a su naturaleza hidrofílica y a la presencia de grupos funcionales en su estructura química pueden hidrolizarse fácilmente a monómeros y oligómeros a través de diferentes mecanismos de degradación biológica (Nair et al., 2016), cuyo periodo de degradación es relativamente corto entre 20 y 500 días (Volova et al., 2010). Por ello, la búsqueda de nuevas fuentes naturales alternativas capaces de producir biopolímeros a bajo costo no solo con la finalidad de reemplazar a los plásticos sintéticos, sino también que permitan reducir significativamente el daño al medio ambiente es aún una tarea pendiente por resolver.

Los polihidroxialcanoatos (PHAs) y el alginato (AG) son dos polímeros biodegradables obtenidos de diferentes fuentes naturales (algas marinas y microorganismos), los cuales han ido ganando popularidad debido a sus altos rendimientos y bajos costo de producción (Yoneyama et al., 2015). Si bien, estos polímeros son resistentes, flexibles, biocompatibles, no tóxicos y biodegradables; sus excelentes propiedades viscoelásticas, estabilizantes y gelificantes permiten diferentes aplicaciones en la industria médica, farmacológica y alimentaria (Francesca, 1997; Gautam et al., 2007; García et al., 2014). Consecuentemente, el uso de ambos biopolímeros permitiría sustituir a los plásticos sintéticos, contribuyendo al desarrollo sostenible de las industrias (Vieira et al., 2011).

Si bien diferentes estudios se han enfocado en determinar qué tipos de algas marinas y microorganismos pueden ser utilizadas como fuentes naturales para la producción de PHAs y AG (Rehm, 2010), son los microorganismos Gram positivos quienes presentan una serie de ventajas tales como su capacidad para sintetizar ambos polímeros

simultáneamente y según la modificación genética pueden controlar el peso molecular de estos compuestos o en su efecto producir un solo polímero en particular (Galindo et al., 2007; Rehm, 2010). *Azotobacter* es un tipo de bacteria Gram positiva presente en suelo y agua dulce, que puede sintetizar simultáneamente PHAs y AG como mecanismo de protección natural, cuyas características químicas, físicas, mecánicas y termodinámicas de ambos polímeros han mostrado cualidades particulares que pueden ser utilizadas en futuras aplicaciones en la industria (Rehm, 2010; Yoneyama et al., 2015). Por ello, esta revisión compila información sobre la síntesis de estos polímeros a partir de las especies de *Azotobacter*, luego se discuten algunas de sus propiedades físicas y mecánicas; y finalmente se presenta su potencial uso como una nueva alternativa para el sector alimentario, médico, farmacéutico y agronómico.

2. Género *Azotobacter*

A la fecha han sido identificadas 7 especies del género *Azotobacter*, un grupo de bacterias Gram negativas, no patógenas, estrictamente aerobias con una gran habilidad de fijar N₂ en el suelo y sintetizar sustancias que favorecen el crecimiento de las plantas tales como hormonas, vitaminas, aminoácidos y N₂ (Choi & Lee, 1999; Jiménez et al., 2011; Martyniuk & Martyniuk, 2003; Sumbul et al., 2020). No obstante, cada una de estas especies tienen características particulares de crecimiento que las diferencian, así como también en algunos casos difieren en la producción de algunos metabolitos (Tabla 1).

Si bien este grupo de especies es estrictamente aerobio, bajo condiciones de estrés o condiciones ambientales desfavorables (baja concentración de oxígeno) tienen la capacidad de formar quistes para entrar en un estado de reposo o inactividad (Gauri et al., 2012). La creación de este tipo de barrera defensiva permite que este tipo de microorganismos pueda generar metabolitos intra y extracelulares tales como polihidroxialcanoatos (PHA), y alginatos (AG) (Tabla 1) (Patil et al., 2020).

3. Síntesis y producción biopolímeros

Si bien las diferentes especies de *Azotobacter* tienen la capacidad de producir los biopolímeros de AG y PHA, son finalmente las especies *A. vinelandii* y *A. chroococcum* las que mayor presencia tienen en los suelos fértiles (> 80%) en comparación con las otras especies de *Azotobacter* (Aasfar et al., 2021). Por ello, el enfoque de los metabolitos extra e intracelulares producidos bajo condiciones de estrés por ambas especies de *A. vinelandii* y *A. chroococcum* son detallados a continuación.

3.1. Alginato (AG)

Bajo condiciones ambientales desfavorables, ambas especies de *A. chroococcum* y *A. vinelandii* tienen la capacidad de formar quistes con la finalidad de protegerse y entrar en un estado de reposo latente (Gawin et al., 2020). Estos quistes son capsulas compuestas por biopolímeros de AG, un tipo de metabolito extracelular, cuya estructura química presenta moléculas de ácido β -D-manurónico (M), ácido α -L-gulurónico (G) y algunos grupos acetilados (O-acetil) (Figura 1) (Castillo et al., 2013; Gawin et al., 2020).

Tabla 1
Características morfológicas básicas del género *Azotobacter*

Especie	Tamaño de célula	Condiciones normales de crecimiento	Metabolitos producidos bajo condiciones normales de crecimiento	Biopolímeros producidos bajo condiciones controladas	Fuente
<i>Azotobacter chroococcum</i>	3,0 - 7,0 µm	T°: 15 - 30 °C pH: 7 - 7,4	Aminoácidos Vitamina B2 y B3 CO ₂ NH ₃	PHA AG	(Lenart, 2012) (Chennappa et al., 2019) (Patil et al., 2020)
<i>Azotobacter vinelandii</i>	3,0 - 4,5 µm	T°: 20 - 30 °C pH: 7 - 8,5	Aminoácidos Vitamina B2 y B3 CO ₂ N ₂ NH ₄	PHA AG	(Jiménez et al., 2011) (Chennappa et al., 2019)
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	3,2 - 5,3 µm	T°: 10 - 30 °C pH: 4,9 - 5,5	Aminoácidos Vitamina B2 y B3 CO ₂ NH ₃	PHA AG	(Patil et al., 2020) (Hindersah et al., 2021) (Blunt et al., 2018)
<i>Azotobacter paspali</i>	7,0 - 11,0 µm	T°: 15 - 37 °C pH: 6,0 - 7,5	Aminoácidos Vitamina B2 y B3 CO ₂ Ácido indolacético	PHA AG	(Patil et al., 2020) (Saranraj & Sivasakthivelan, 2017)
<i>Azotobacter armeniacus</i>	5,0 - 5,7 µm	T°: 28 - 37 °C pH: 6,0 - 7,5	Aminoácidos Vitamina B2 y B3 CO ₂ NH ₃	PHA AG	(Patil et al., 2020)
<i>Azotobacter nigricans</i>	4,1 - 4,9 µm	T°: 9 - 37 °C pH: 6,0 - 7,5	Aminoácidos Vitamina B2 y B3 CO ₂ NH ₃	PHA AG	(Patil et al., 2020)
<i>Azotobacter salinestri</i>	2,0 - 4,0 µm	T°: 15 - 35 °C pH: 6,0 - 7,5	Aminoácidos Vitamina B2 y B3 CO ₂ NH ₃	PHA AG	(Patil et al., 2020)

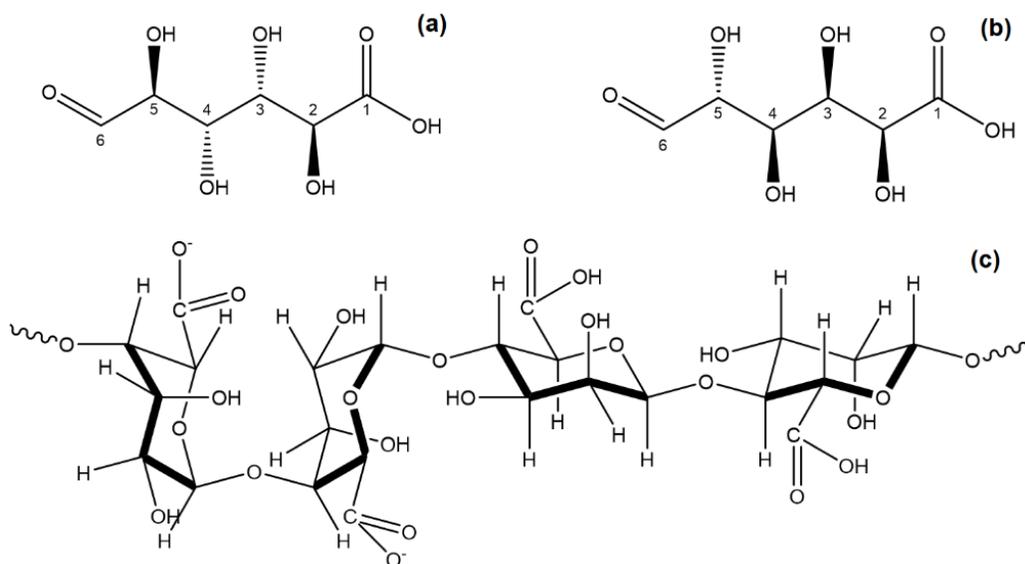


Figura 1. Estructura química del Alginato, (a) ácido manurónico (M); (b) ácido gulorónico (G); (c) estructura principal M y G.

El proceso de biosíntesis de este polímero se realiza bajo condiciones limitantes en la concentración de oxígeno disuelto en el medio, esto permite que la bacteria inicie un proceso de enquistamiento con la finalidad de proteger su membrana celular con una doble capa externa rica en AG (Pacheco-Leyva et al., 2016). El proceso de biosíntesis para obtener AG se inicia con la conversión de glucosa a fructosa-6-fosfato, la cual se isomeriza a manosa 6-P,

luego es activada como GDP-manosa por la enzima GDP-manosa-pirofosforilasa. Después la enzima GDP-manosa-deshidrogenasa a través de un proceso de oxidación convierte la GPD-manosa a GPD-manurónico, el cual es polimerizado y acetilado para formar la estructura química del alginato (Figura 2) (Campos & Marti, 1996; Remminghorst & Rehm, 2006; Galindo et al., 2007; Pacheco-Leyva et al., 2016).

Si bien existen diferentes enzimas relacionadas con el proceso de biosíntesis de AG, son finalmente las enzimas GPD-manosa-deshidrogenasa y C-5 epimerasa las más importantes para la formación del polímero de AG, cuyos genes responsables para su codificación y producción se conocen como *algD* y *algE* respectivamente (Gawin et al., 2020; Hay et al., 2014).

Si bien ambas especies de *Azotobacter* producen AG, la presencia de bloques G y M, el grado de polimerización y el peso molecular son características decisivas para establecer futuras aplicaciones industriales, las cuales se pueden controlar mediante la modificación de las condiciones del medio de cultivo tales como oxígeno disuelto, agitación, temperatura y pH (Galindo et al., 2007; Gawin et al., 2020). Por ejemplo, En *A. vinelandii* las bajas concentraciones de oxígeno disuelto (< 5 mmol/g.h) permiten la obtención de AG de alto peso molecular (> 500 kDa) (Pacheco-Leyva et al., 2016); mientras que los pH menores a 5,5 en el medio de cultivo inhiben a la bacteria,

consecuentemente la producción de AG se ve afectada (Clementi et al., 1995). Adicionalmente, los incrementos en la temperatura de 25 a 35 °C favorecen la producción de AG en ~80% (Tabla 2).

Interesantemente, la modificación genética de estas especies de *Azotobacter* permite incrementar el peso molecular durante la biosíntesis de AG (Núñez et al., 2013). Por ejemplo, en *A. vinelandii* la inactivación de la actividad de la enzima alginato liasa combinado con una reducción en la concentración de oxígeno disuelto de 5 a 1% mejora la polimerización de AG, consecuentemente el peso molecular se incrementa significativamente en ~1900 kDa en comparación con las cepas naturales (680 kDa) (Trujillo-Roldán et al., 2003). Por ello, diferentes trabajos se enfocan en realizar modificaciones genéticas para mejorar su capacidad de sintetizar AG de alto peso molecular en comparación con las cepas naturales de *Azotobacter* (Tabla 3).

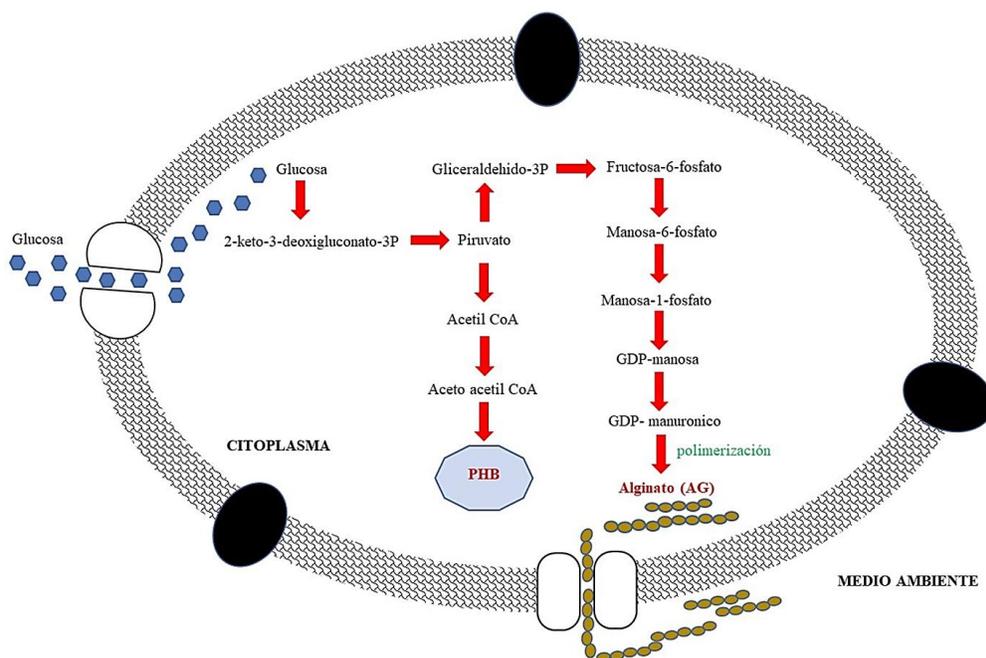


Figura 2. Diagrama del proceso de biosíntesis de Alginato y PHA.

Tabla 2

Parámetros óptimos de proceso para la obtención de AG a partir de especies de *Azotobacter*

Parámetro	Oxígeno disuelto (mmol/g.h)		Temperatura (°C)		pH	
	1 - 5	> 5 - 10	25 - 35	> 35 - 42	5 - 6,0	6,5 - 7,5
Peso molecular (kDa)	500 - 1350	480 - 870				
Rendimiento (g/L)			0,8 - 1,8	< 0,5		
Rendimiento (g/L)					0,0 - 2,0	> 2,0 - 5,0

Adaptado desde Pacheco-Leyva et al. (2016) y Clementi et al. (1995).

Tabla 3

Producción de alginato con diferentes cepas modificadas de *Azotobacter vinelandii* a 29 ± 1 °C

Identificación de la cepa modificada genéticamente	Peso molecular (kDa)	Condiciones	
		RPM	Oxígeno disuelto %
ATC9046	1900 - 770	200 - 700	1 - 5
CN26	1130 - 400	200 - 300	3
DM	1700 - 4000	200 - 300	3
Cepas no modificadas de <i>Azotobacter</i>	480 - 870	200 - 500	1 - 5

Adaptado desde Trujillo-Roldán et al. (2003); Peña et al. (2002); Flores et al. (2013); Pacheco-Leyva et al. (2016).

3.2. Síntesis y producción de polihidroxialcanoatos (PHA)
 los polihidroxialcanoatos (PHA) comprenden una familia de poliésteres biodegradables, los cuales son producidos no solo por las especies del género *Azotobacter*, sino también por una amplia variedad de microorganismos (Chen et al., 2011). Si bien la estructura química de los PHAs está definida en función de la sustitución de su cadena lateral R (Figura 3), también es posible clasificarlos en función de la longitud de su cadena como PHA de cadena corta (consta de 3-5 monómeros de carbono) y PHA de cadena larga (consta de 6-14 monómeros de carbono) (Li et al., 2016).

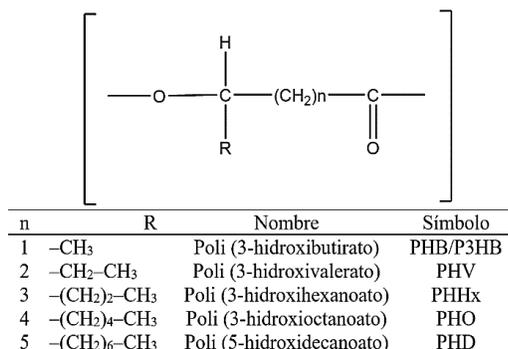


Figure 3. Estructura química de PHA.

El proceso de biosíntesis de los polímeros de PHA inicia bajo condiciones limitantes de nutrientes y condiciones adversas en el medio de crecimiento (El-Nahrawy et al., 2018), cuyo proceso se inicia con la conversión de glucosa a piruvato y acetil-CoA para formar acetoacetil-CoA. Luego, la enzima acetoacetil-CoA reductasa convierte este compuesto en 3-hidroxi butiril-CoA, y una polimerasa permite iniciar la polimerización del PHA (Figura 2). El gen responsable de la síntesis de la molécula de ácido polihidroxi butírico es reconocido como *phbBAC*, mientras que los genes *phbP* y *phbR* permiten la polimerización de gránulos de para formar diferentes formas de PHAs (Chen et al., 2011; Fa et al., 2001; Segura et al., 2003).

El poli-3-hidroxi butirato (PHB) y el polihidroxi valerato (PHV) son probablemente los tipos más comunes de PHAs producidos de forma intracelular por ambas especies de *A. vinelandii* y *A. chroococcum* (Narendran et al., 2018; Pozo et al., 2002; Yoneyama et al., 2015). La producción de ambos polímeros, puede ser regulada en función de las condiciones del medio de cultivo (Domínguez-Díaz et al., 2015a; El-Nahrawy et al., 2018). Por ejemplo, un incremento en la temperatura de 20 a 30°C mejora en

~58% el rendimiento en la producción de PHB, mientras que las bajas concentraciones de oxígeno disuelto (< 5 mmol/g.h) permiten la obtención de PHB de alto peso molecular (~1600 kDa). Además, es importante considerar que los valores cercanos a pH: 7 mejoran los rendimientos en la producción de este polímero (Tabla 4).

Si bien el peso molecular de ambos polímeros de PHB y PHV varían considerablemente en función de las condiciones de proceso, son finalmente los polímeros de alto peso molecular los más atractivos para la industria, los cuales se pueden conseguir mediante las modificaciones genéticas de las especies de *Azotobacter* (Mok et al., 2017). Por ejemplo, el peso molecular del PHB producido por las cepas naturales de *Azotobacter* varía entre 190 - 1600 kDa, mientras que las modificaciones genéticas de estas especies permiten que los polímeros de PHB presenten altos pesos moleculares (> 2000 kDa) (He & Benson, 2016). Por ello, la modificación genética mediante el bloqueo de los genes *ptsN* y *rsmA* (genes reguladores negativos para la producción de PHB) ha permitido que las cepas modificadas de *Azotobacter* puedan producir polímeros de alto peso molecular (Domínguez-Díaz et al., 2015).

Otro aspecto importante a considerar es que las especies de *Azotobacter* pueden sintetizar simultáneamente ambos polímeros de PHAs y AG (Yoneyama et al., 2015). Por ejemplo, a 30 °C y bajas concentraciones de oxígeno (< 5 mmol/g.h) la producción de PHB es ~2 veces mayor comparada con la producción de AG (Mejía et al., 2010). Sin embargo, el solo hecho de producir ambos compuestos conlleva a un complejo proceso de purificación con la finalidad de separar ambos polímeros de PHB y AG. Por ello, diversos trabajos de investigación han demostrado que es posible bloquear los genes responsables de la producción de alginato con la finalidad de promover solo la producción de PHB o viceversa (Castillo et al., 2013; Flores et al., 2013).

4. Usos y aplicaciones tecnológicas

Si bien ambos biopolímeros de AG y PHAs son producidos simultáneamente por las especies de *Azotobacter*, la modificación genética puede permitir priorizar la producción de un compuesto en particular con la finalidad de que el proceso de extracción, purificación y comercialización sea económicamente atractivo (Jong-il Choi & Lee 1999). Entonces, según sus propiedades físicas, químicas y térmicas ambos polímeros pueden ser utilizados en sectores de la industria alimentaria, farmacéutica, médica y agronómica.

Tabla 4

Parámetros óptimos de proceso para la obtención de PHB a partir de especies de *Azotobacter*

Parámetro	Oxígeno disuelto (mmol/g.h)		Temperatura (°C)		pH	
	< 5	> 5 - 10	20 - 30	> 35 °C	1 - 5,0	6,0 - 7,0
Peso molecular (kDa)	1600	190 - 550				
Rendimiento (g/L)			2,4 - 3,8	< 0,2		
Rendimiento (g/L)					0,3 - 1,6	2,3 - 3,6

Adaptado desde Domínguez-Díaz et al. (2015); El-Nahrawy et al. (2018).

Tabla 5
Alginato y sus potenciales aplicaciones tecnológicas

Descripción	Características	Referencias
<i>Sector alimentario</i>		
Alginato	Forma geles termoestables.	(Smith & Hong-Shum, 2011)
Alginato de sodio	Forma geles estables de alta viscosidad.	(Larsen et al., 2015)
Alginato de sodio - Ca ²⁺	Forma geles que permiten atrapar físicamente moléculas de agua.	(Qin et al., 2020)
Alginato - glicerol	Películas biodegradables con alta flexibilidad y resistencia al agua.	(Parreidt et al., 2018)
Alginato de sodio - pigmentos (bixina)	Películas biodegradables resistentes con alta capacidad antioxidante para reducir la oxidación de aceites.	(de Farias et al., 2020)
Alginato de sodio	Películas biodegradables comestibles de alta resistencia para prolongar la vida útil de quesos y carnes.	(Puscaselu et al., 2020)
Alginato-almidón-PVOH - aceite esencial	Películas biodegradables activas, para prolongar la vida útil de lechugas frescas.	(Brandelero et al., 2016)
<i>Sector farmacéutico</i>		
Alginato - Ca ²⁺	Liberación controlada de drogas químicas hidrofílicas, mediante la formación de geles nanoporosos (~5nm).	(Lee et al., 2016)
Alginato - Ca ²⁺	Nano encapsulación de drogas hidrofóbicas mediante la formación de geles (~1,7 nm).	(Ahmadi et al., 2020)
Alginato - Quitosano	Nano encapsulación para la liberación controlada de curcumina, un compuesto con propiedades antiinflamatorias.	(Hernandez-Patlan et al., 2019)
Alginato - PLGA- PEG- Quitosano	Formación de geles rígidos de alta porosidad, biocompatibilidad, adhesión y excelente mineralización para la regeneración de huesos.	(Venkatesan et al., 2015)
Alginato de sodio y calcio	Formación de apósitos para absorber el exceso de líquido de la herida, mantener un ambiente fisiológicamente húmedo y minimizar las infecciones bacterianas en el sitio de la herida.	(Aderibigbe & Buyana, 2018)
Alginato	Regeneración de tejidos: vasos sanguíneos, proporcionar una liberación sostenida y localizada de heparina.	(Kim et al., 2016)
Alginato/ Ácido poliláctico	Estudios in vitro en células mesenquimales del hueso en roedores demostraron que pueden proliferarse en las estructuras diseñadas con AG.	(Hu et al., 2016)
<i>Sector agricultura</i>		
Alginato Na - Ca ²⁺	Formación de hidrogeles con alta capacidad de retención de agua y liberación de nutrientes para mejorar el crecimiento de las plantas.	(Song et al., 2020)
Alginato - Quitosano - Ca ²⁺	Formación de nanopartículas para la liberación de fertilizantes, nutrientes, pesticidas y herbicidas.	(Qu & Luo, 2020)
Alginato - lignina - orujo de olivo	Formación de hidrogeles para remover contaminantes orgánicos como 3,4 Dicloroanilina.	(Flores-Céspedes et al., 2020)
Alginato - lignosulfonato - harinas	Formación de hidrogeles para tratamiento del suelo fértil mediante la liberación controlada de agua y nutrientes.	(Song et al., 2020)
Alginato - poliácridamida	Formación de hidrogeles para una liberación controlada de fertilizantes y nutrientes.	(Al Rohily et al., 2021)

4.1. Alginatos

EL AG, un polímero de bajo costo, de naturaleza inerte, biocompatible, biodegradable y de fácil gelación ha despertado el interés de la industria alimentaria, farmacéutica y agricultura (Puscaselu et al., 2020). En particular, Las especies de *Azotobacter* producen AG acetilado de alto peso molecular, por ello tienen una mayor preferencia como estabilizante y gelificante en la industria alimentaria (Furth et al., 2007). No obstante, este polímero en particular no solo puede ser usado como ingrediente alimentario, sino también puede ser destinado como aditivos en el sector médico debido a su biocompatibilidad, baja toxicidad y bajo costo (Gregory et al., 2012), así como en la mejora de la productividad de diferentes cultivos desde un punto de vista agronómico (Tabla 5).

4.2. Polihidroxialcanoatos (PHA)

Si bien el PHB y PHV pueden usarse en la fabricación de plásticos biodegradables para reemplazar al plástico sintético debido a su alta biodegradabilidad, así como a sus propiedades físicas y mecánicas; también estos polímeros pueden ser usados en la fabricación de dispositivos médicos debido a su biocompatibilidad y alta resistencia a temperaturas de esterilización. Adicionalmente, desde un

punto de vista agronómico, la biodegradación de estos polímeros permite no solo mejorar la flora microbiana aerobia benéfica para los cultivos sino también permiten regular el contenido de N₂ en el suelo (Tabla 6).

5. Perspectivas y desafíos

Si bien los polímeros de PHA y AG son producidos por las especies *Azotobacter*, las características físicas, químicas y mecánicas de cada polímero les confiere usos particulares en el sector alimentario, farmacéutico, médico y agronómico; esto debido a sus propiedades de biocompatibilidad, biodegradación y no toxicidad que ha permitido el desarrollo de muchos trabajos de investigación enfocados en el aprovechamiento de estos polímeros.

No obstante, durante la producción de PHAs se producen diferentes polímeros de manera simultánea entre ellos el PHB y PHV con características química y usos diferentes. Por lo tanto, es importante que desde un punto de vista de biotecnología se desarrollen nuevos estudios que permitan modificar genéticamente estas especies para la producción de un polímero en particular, con la finalidad no solo de reducir los costos de producción, sino también poder establecer nuevos parámetros de producción de estos polímeros.

Tabla 6
PHA y sus potenciales aplicaciones tecnológicas

Descripción	Características	Referencias
<i>Sector alimentario</i>		
PHB - fibra vegetal	Formación de películas biodegradables para la conservación de fruta fresca.	(Varghese et al., 2020)
PHB - PLA	Formación por extrusión de botellas biodegradables con alta resistencia mecánica.	(Plavec et al., 2020)
PHB/PHV	Formación de películas y plásticos biodegradables para envasado de alimentos.	(Folino et al., 2020)
PHB/PHV	Diseño de envases activos con compuestos antimicrobianos que permiten prolongar la vida útil de los alimentos.	(Meereboer et al., 2020)
<i>Sector farmacéutico/médico</i>		
PHB - base de cerámico	Diseño de scaffolds con una alta hidrofobicidad, rápida velocidad de degradación y resistencia.	(Soleymani Eil Bakhtiari et al., 2021)
PHB/PHV	Diseño de nano materiales para transportar drogas para el tratamiento de cáncer.	(Tebaldi et al., 2019)
PHB/PHV	Diseño de recubrimientos e implantes médicos (scaffolds) para la regeneración de nervios y arterias.	(Khosravi-Darani & Bucci, 2015)
PHA	Uso en la fabricación de dispositivos ortopédicos que permiten la regeneración de tejidos y huesos.	(Ray & Kalia, 2017)
PHA	Fabricación de fibras estériles para sutura de piel y fijación de tejido.	(Ali & Jamil, 2016)
<i>Sector agricultura</i>		
PHB	Formación de nano fibras biodegradables para liberar fertilizantes, pesticidas e insecticidas.	(Altaee et al., 2016)
PHB	Producción de PHB utilizando residuos agrícolas como el bagazo de caña de azúcar, que permite no solo reducir los costos de proceso sino también la eliminación de residuos.	(Getachew & Woldeesenbet, 2016)
PHB	Producción de PHA utilizando vinaza un residuo recalcitrante del proceso del proceso de obtención de etanol con serios problemas de gestión ambiental.	(Ventorino et al., 2019)
PHA	La producción de PHA permite a las especies de <i>Azotobacter</i> una mayor habilidad para fijar nitrógeno en el suelo.	(Sumbul et al., 2020)
PHA	Utilización de los PHAs como fuente de carbono mediante su biodegradación por bacterias aerobias, esto permite mejorar las características químicas del suelo (N ₂ y pH).	(Volova, 2015)

Con respecto a la producción de AG de fuentes bacterianas como las especies de *Azotobacter*, este proceso puede ser relativamente costoso sino se maneja a nivel industrial mediante el uso de reactores semicontinuos que controlen las condiciones del medio de cultivo. Por ello, es deseable que las futuras investigaciones se enfoquen en la modificación genética de estas especies con la finalidad de permitir que bajo condiciones normales de crecimiento puedan metabolizar estos polímeros.

Sin lugar a duda, el uso de AG y PHAs en el sector industrial puede llegar a tener diversas ventajas no solo desde un punto de vista económico sino también desde un punto de vista de cuidado del medio ambiente. Por lo tanto, el campo de desarrollo e investigación en ese sector siempre será atractivo debido al constante crecimiento de los sectores alimentario, farmacéutico, médico y agronómico.

6. Conclusiones

Los polímeros de alginato y PHAs son producidos por las especies de *Azotobacter*, cuyos genes responsables de producir estos polímeros son *algD* y *phbBAC*, respectivamente. La modificación genética permite la producción de un polímero de interés disminuyendo significativamente los costos de producción. Las características particulares de ambos polímeros permiten potenciales aplicaciones en la industria debido a su

resistencia a la deformación, viscoelasticidad y propiedades de gelificación. Además, estos polímeros presentan una alta biocompatibilidad y biodegradabilidad para futuras aplicaciones en el sector médico. Adicionalmente, ambos polímeros tienen una rápida velocidad de biodegradación a condiciones atmosféricas normales, consecuentemente son amigables con el medio ambiente.

ORCID

N. L. Huamán-castilla  <https://orcid.org/0000-0002-3748-0883>

E. E. Allcca-Alca:  <https://orcid.org/0000-0002-6116-7651>

G. Allcca-Alca:  <https://orcid.org/0000-0003-1397-9679>

M. L. Quispe-Pérez:  <https://orcid.org/0000-0002-8661-3806>

Referencias bibliográficas

- Aasfar, A., Bargaz, A., Yaakoubi, K., Hilali, A., Bennis, I., Zeroual, Y., & Meftah Kadmiri, I. (2021). Nitrogen Fixing *Azotobacter* Species as Potential Soil Biological Enhancers for Crop Nutrition and Yield Stability. *Frontiers in Microbiology*, 12, 1-19.
- Aderibigbe, B. A., & Buyana, B. (2018). Alginate in wound dressings. *Pharmaceutics*, 10(2), 1-19.
- Ahmadi, M., Madrakian, T., & Ghavami, S. (2020). Preparation and Characterization of Simvastatin Nanocapsules: Encapsulation of Hydrophobic Drugs in Calcium Alginate. *Methods in Molecular Biology*, 2125, 47-56.
- Al Rohily, K., El-Hamshary, H., Ghoneim, A., & Modaihsh, A. (2021). Controlled release of phosphorus from superabsorbent phosphate-bound alginate-graft-polyacrylamide: Resistance to soil cations and release mechanism. *ACS Omega*, 5(51), 32919-32929.
- Ali, I., & Jamil, N. (2016). Polyhydroxyalkanoates: Current applications in the medical field. *Frontiers in Biology*, 11(1), 19-27.
- Alshehri, F. (2017). Biodegradation of Synthetic and Natural Plastic by Microorganisms. *Journal of Applied & Environmental Microbiology*, 5(1), 8-19.

- Altaee, N., El-Hiti, G. A., Fahdil, A., Sudesh, K., & Yousif, E. (2016). Biodegradation of different formulations of polyhydroxybutyrate films in soil. *SpringerPlus*, 5(1), 2-12.
- Andrady, A. L., & Neal, M. A. (2009). Applications and societal benefits of plastics. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 1977-1984.
- Gregory, S. K. (2012). *Hydrogels and Their Mechanical Properties*. In: *Engineering Biomaterials for Regenerative Medicine: Novel Technologies for Clinical Applications*. (S. K. Bhatia (ed.); 1st ed.). Springer. New York. Pp. 127-140.
- Blunt, W., Sparling, R., Gapes, D. J., Levin, D. B., & Cicek, N. (2018). The role of dissolved oxygen content as a modulator of microbial polyhydroxyalkanoate synthesis. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 34(8), 1-12.
- Brandelero, R. P. H., Brandelero, E. M., & Almeida, F. M. de. (2016). Biodegradable films of starch/PVOH/alginate in packaging systems for minimally processed lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Ciência e Agrotecnologia*, 40(5), 510-521.
- Campos, A., & Marti, J. M. (1996). Characterization of the gene coding for GDP-mannose dehydrogenase (algD) from *Azotobacter vinelandii*. *J Bacteriol*, 178(7), 1793-1799.
- Castillo, T., Heinzle, E., Peifer, S., Schneider, K., & Peña M, C. F. (2013). Oxygen supply strongly influences metabolic fluxes, the production of poly(3-hydroxybutyrate) and alginate, and the degree of acetylation of alginate in *Azotobacter vinelandii*. *Process Biochemistry*, 48(7), 995-1003.
- Chamas, A., Moon, H., Zheng, J., Qiu, Y., Tabassum, T., et al. (2020). Degradation Rates of Plastics in the Environment. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 8(9), 3494-3511.
- Chen, G. Q., Wu, Q., Jung, Y. K., & Lee, S. Y. (2011). *PHA/PHB*. In: *Comprehensive Biotechnology* (M. Moo-Young (ed.) 2nd ed.). Elsevier B.V. Massachusetts. Pp. 217-227.
- Chennappa, G., Udaykumar, N., Vidya, M., Nagaraja, H., Amaresh, Y. S., & Sreenivasa, M. Y. (2019). *Azotobacter-a natural resource for bioremediation of toxic pesticides in soil ecosystems*. In: *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering: Microbial Biotechnology in Agro-environmental Sustainability* (J. S. Singh and D.P. Singh (eds) 1st ed.). Elsevier B.V. Pp. 267-279.
- Choi, J., & Lee, S. Y. (1999). Factors affecting the economics of polyhydroxyalkanoate production by bacterial fermentation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 51(1), 13-21.
- Clementi, F., Fantozzi, P., Mancini, F., & Moresi, M. (1995). Optimal conditions for alginate production by *Azotobacter vinelandii*. *Enzyme and Microbial Technology*, 17(11), 983-988.
- de Farias, Y. B., Coutinho, A. K., Assis, R. Q., & Rios, A. de O. (2020). Biodegradable sodium alginate films incorporated with norbixin salts. *Journal of Food Process Engineering*, 43(2), 1-11.
- Dominguez-Díaz, M., Meneses-Acosta, A., Romo-Uribe, A., Peña, C., Segura, D., & Espin, G. (2015). Thermo-mechanical properties, microstructure and biocompatibility in poly-β-hydroxybutyrate (PHB) produced by OP and OPN strains of *Azotobacter vinelandii*. *European Polymer Journal*, 63, 101-112.
- El-Nahrawy, S., Abd El-Kodoos, R. Y., Belal, E.-S. B., & El-Shouny, W. (2018). Production of poly-β-hydroxybutyrate (PHB) by *Azospirillum* and *Rhizobium* sp. *Environment, Biodiversity and Soil Security*, 2(2018), 1-25.
- Fa, S., Silberschmidt, D., Rehm, B., Pettinari, M. J., Va, G. J., Me, B. S., Qui, D. De, & Mu, D.-. (2001). Poly (3-Hydroxybutyrate) Synthesis Genes in *Azotobacter* sp. *Appl Environ Microbiol*, 67(11), 5331-5334.
- Fertah, M., Belfkira, A., Dahmane, E. montassir, Taourite, M., & Brouillette, F. (2017). Extraction and characterization of sodium alginate from Moroccan *Laminaria digitata* brown seaweed. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S3707-S3714.
- Flores-Céspedes, F., Villafranca-Sánchez, M., & Fernández-Pérez, M. (2020). Alginate-based hydrogels modified with olive pomace and lignin to removal organic pollutants from aqueous solutions. *International Journal of Biological Macromolecules*, 153, 883-891.
- Flores, C., Moreno, S., Espin, G., Peña, C., & Galindo, E. (2013). Expression of alginases and alginate polymerase genes in response to oxygen, and their relationship with the alginate molecular weight in *Azotobacter vinelandii*. *Enzyme and Microbial Technology*, 53(2), 85-91.
- Folino, A., Karageorgiou, A., Calabrò, P. S., & Komilis, D. (2020). Biodegradation of wasted bioplastics in natural and industrial environments: A review. *Sustainability (Switzerland)*, 12(15), 1-37.
- Francesca, C. (1997). Alginate Production by *Azotobacter vinelandii*. *Critical Reviews in Biotechnology*, 17(4), 327-361.
- Furth, M. E., Atala, A., & Van Dyke, M. E. (2007). Smart biomaterials design for tissue engineering and regenerative medicine. *Biomaterials*, 28(34), 5068-5073.
- Galindo, E., Peña, C., Núñez, C., Segura, D., & Espin, G. (2007). Molecular and bioengineering strategies to improve alginate and polyhydroxyalkanoate production by *Azotobacter vinelandii*. *Microbial Cell Factories*, 6, 1-16.
- García, A., Segura, D., Espín, G., Galindo, E., Castillo, T., & Peña, C. (2014a). High production of poly-β-hydroxybutyrate (PHB) by an *Azotobacter vinelandii* mutant altered in PHB regulation using a fed-batch fermentation process. *Biochemical Engineering Journal*, 82, 117-123.
- García, A., Castillo, T., Ramos, D., Ahumada-Manuel, C. L., Núñez, C., Galindo, E., Buchs, J., & Peña, C. (2020). Molecular weight and viscosifying power of alginates produced by mutant strains of *Azotobacter vinelandii* under microaerophilic conditions. *Biotechnology Reports*, 26, 1-12.
- Gauri, S. S., Mandal, S. M., & Pati, B. R. (2012). Impact of *Azotobacter* exopolysaccharides on sustainable agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 95(2), 331-338.
- Gautam, R., Bassi, A. S., & Yanful, E. K. (2007). A Review of Biodegradation of Synthetic Plastic and Foams. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 141(109), 315-323.
- Gawin, A., Tietze, L., Aarstad, O. A., Aachmann, F. L., Brautaset, T., & Ertesvåg, H. (2020). Functional characterization of three *Azotobacter chroococcum* alginate-modifying enzymes related to the *Azotobacter vinelandii* AlgE mannuronan C-5-epimerase family. *Scientific Reports*, 10(1), 1-14.
- Getachew, A., & Woldesenbet, F. (2016). Production of biodegradable plastic by polyhydroxybutyrate (PHB) accumulating bacteria using low cost agricultural waste material. *BMC Research Notes*, 9(1), 1-9.
- Geyer, R., Jambeck, J. R., & Law, K. L. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances*, 3(7), 25-29.
- Hassett, D. J., & Hassett, D. J. (1996). Anaerobic Production of Alginate by *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology*, 178(24), 7322-7325.
- Hay, I. D., Wang, Y., Moradali, M. F., Rehman, Z. U., & Rehm, B. H. A. (2014). Genetics and regulation of bacterial alginate production. *Environmental Microbiology*, 16(10), 2997-3011.
- He, W., & Benson, R. (2016). *Polymeric Biomaterials*. In: *Applied Plastics Engineering Handbook Processing, Materials, and Applications* (M. Kutz (ed.) 2nd ed.). Elsevier B.V. Massachusetts. Pp. 145-164.
- Hernandez-Patlan, D., Solis-Cruz, B., Cano-Vega, M. A., Beyssac, E., Garrait, G., Hernandez-Velasco, X., Lopez-Arellano, R., Tellez, G., & Rivera-Rodriguez, G. R. (2019). Development of Chitosan and Alginate Nanocapsules to Increase the Solubility, Permeability and Stability of Curcumin. *Journal of Pharmaceutical Innovation*, 14(2), 132-140.
- Hindersah, R., Kamaluddin, N. N., Samanta, S., Banerjee, S., & Sarkar, S. (2021). Role and perspective of *Azotobacter* in crops production. *Sains Tanah*, 17(2), 170-179.
- Hu, Y., Ma, S., Yang, Z., Zhou, W., Du, Z., Huang, J., Yi, H., & Wang, C. (2016). Facile fabrication of poly(L-lactic acid) microsphere-incorporated calcium alginate/hydroxyapatite porous scaffolds based on Pickering emulsion templates. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 140, 382-291.
- Jiménez, D. J., Montaña, J. S., & Martínez, M. (2011). Characterization of free nitrogen fixing bacteria of the genus *Azotobacter* in organic vegetable-grown colombian soils. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42, 846-858.
- Khosravi-Darani, K., & Bucci, D. Z. (2015). Application of poly(hydroxyalkanoate) in food packaging: Improvements by nanotechnology. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 29(2), 275-285.
- Kim, H., Park, H., Lee, J. W., & Lee, K. Y. (2016). Magnetic field-responsive release of transforming growth factor beta 1 from heparin-modified alginate ferrogels. *Carbohydrate Polymers*, 151, 467-473.
- Kong, H. (2000). Isolation and characterization of alginate from hong kong brown seaweed. an evaluation of the potential use of the extracted alginate as food ingredient. University of Hong Kong. China.
- Larsen, B. E., Bjørnstad, J., Pettersen, E. O., Tønnesen, H. H., & Melvik, J. E. (2015). Rheological characterization of an injectable alginate gel system. *BMC Biotechnology*, 15(1), 1-12.
- Lee, K. Y., & Mooney, D. J. (2012). Alginate: Properties and biomedical applications. *Progress in Polymer Science (Oxford)*, 37(1), 106-126.
- Lee, S., Kim, Y.-C., & Park, J.-H. (2016). Zein-alginate based oral drug delivery systems: Protection and release of therapeutic proteins. *International Journal of Pharmaceutics*, 515(1-2), 300-306.
- Lenart, A. (2012). Occurrence, characteristics, and genetic diversity of *Azotobacter chroococcum* in various soils of Southern Poland. *Polish Journal of Environmental Studies*, 21(2), 415-424.
- Li, Z., Yang, J., & Loh, X. J. (2016). Polyhydroxyalkanoates: Opening doors for a sustainable future. *NPG Asia Materials*, 8(4), 1-20.
- Lorbeer, A. J., Charoensiddhi, S., Lahnstein, J., Lars, C., Franco, C. M. M., Bulone, V., & Zhang, W. (2017). Sequential extraction and characterization of fucoidans and alginates from *Ecklonia radiata*, *Macrocystis pyrifera*, *Durvillaea potatorum*, and *Seirococcus axillaris*. *Journal of Applied Phycology*, 29(3), 1515-1526.
- Martyniuk, S., & Martyniuk, M. (2003). Occurrence of *Azotobacter* spp. in some Polish soils. *Polish Journal of Environmental Studies*, 12(3), 371-374.
- Meereboer, K. W., Misra, M., & Mohanty, A. K. (2020). Review of recent advances in the biodegradability of polyhydroxyalkanoate (PHA) bioplastics and their composites. *Green Chemistry*, 22(17), 5519-5558.

- Mejía, M. Á., Segura, D., Espín, G., Galindo, E., & Peña, C. (2010). Two-stage fermentation process for alginate production by *Azotobacter vinelandii* mutant altered in poly- β -hydroxybutyrate (PHB) synthesis. *Journal of Applied Microbiology*, 108(1), 55-61.
- Mohapatra, S., Maity, S., Dash, H. R., Das, S., Pattnaik, S., Rath, C. C., & Samantaray, D. (2017). *Bacillus* and biopolymer: Prospects and challenges. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 12, 206-213.
- Mok, P. S., Sudesh, K., Liew, P. W. Y., Jong, B. C., & Najmudin, N. (2017). Characterisation of polyhydroxyalkanoate production by mutant *Azotobacter vinelandii*. *Malaysian Applied Biology*, 46(1), 93-100.
- Nagarajan, A., & Zackaria, A. (2016). Mini review on Alginate: Scope and Future perspectives. *Journal of Algal Biomass Utilization*, 7(1), 45-55.
- Nair, N. R., Sekhar, V. C., Nampoothiri, K. M., & Pandey, A. (2016). *Biodegradation of Biopolymers*. In: Current Developments in Biotechnology and Bioengineering: Production, Isolation and Purification of Industrial Products (A. Pandey, S. Negi, C. R. Soccol (eds); 1st ed.). Elsevier B.V. Massachusetts. Pp. 739-755.
- Narendran, R., Maleeka Begum, S. F., & Ayyappadasan, G. (2018). Production and optimization of polyhydroxy butyrate (phb) from *azotobacter chroococcum* (a3) strain for scale up using central composite design. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology & Environmental Sciences*, 20(4), 1294-1305.
- Núñez, C., Peña, C., Kloeckner, W., Hernández-Eligio, A., Bogachev, A. V., Moreno, S., ... & Espín, G. (2013). Alginate synthesis in *Azotobacter vinelandii* is increased by reducing the intracellular production of ubiquinone. *Applied microbiology and biotechnology*, 97(6), 2503-2512.
- Owlia, P., Nosrati, R., Saderi, H., Olamaee, M., Rasooli, I., & Akhavan Tehrani, A. (2012). Correlation between nitrogen fixation rate and alginate productivity of an indigenous *Azotobacter vinelandii* from Iran. *Iranian Journal of Microbiology*, 4(3), 153-159.
- Pacheco-Leyva, I., Guevara Pezoa, F., & Díaz-Barrera, A. (2016). Alginate biosynthesis in *azotobacter vinelandii*: Overview of molecular mechanisms in connection with the oxygen availability. *International Journal of Polymer Science*, 2016, 11-13.
- Parreidt, T. S., Müller, K., & Schmid, M. (2018). Alginate-based edible films and coatings for food packaging applications. *Foods*, 7(10), 1-38.
- Patil, S. V., Mohite, B. V., Patil, C. D., Koli, S. H., Borase, H. P., & Patil, V. S. (2020). *Azotobacter*. In: Beneficial Microbes in Agro-Ecology (N. Amaranas, M. S. Kumar, K. Annapurja, K. Kumar, A. Sankaranarayanan (eds); 1st ed.). Elsevier B.V. Massachusetts. Pp. 397-426.
- Peña, C., Campos, N., & Galindo, E. (1997). Changes in alginate molecular mass distributions, broth viscosity and morphology of *Azotobacter vinelandii* cultured in shake flasks. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 48(4), 510-515.
- Peña, C., Miranda, L., Segura, D., Nunez, C., Espin, G., & Galindo, E. (2002). Alginate production by *Azotobacter vinelandii* mutants altered in poly-beta-hydroxybutyrate and alginate biosynthesis. *Microbial Biotechnology*, 29(2), 209-213.
- Plackett, D., & Siró, I. (2011). *Polyhydroxyalkanoates (PHAs) for food packaging*. In: Multifunctional and Nanoreinforced Polymers for Food Packaging (J. M. Lagarón (ed.); 1a ed.). Elsevier B.V. Massachusetts. Pp. 498-526.
- Plavec, R., Hlaváčková, S., Omaničková, L., Feranc, J., Vanovčanová, Z., Tomanová, K., Bočkář, J., Kruželák, J., Medlenová, E., Gálisová, I., Danišová, L., Příklad, R., Figalla, S., Melčová, V., & Alexy, P. (2020). Recycling possibilities of bioplastics based on PLA/PHB blends. *Polymer Testing*, 92, 106880.
- Pozo, C., Martínez-Toledo, M. V., Rodelas, B., & González-López, J. (2002). Effects of culture conditions on the production of polyhydroxyalkanoates by *Azotobacter chroococcum* H23 in media containing a high concentration of alpechin (wastewater from olive oil mills) as primary carbon source. *Journal of Biotechnology*, 97(2), 125-131.
- Puscaselu, R. G., Lobiuc, A., Dimian, M., & Covasa, M. (2020). Alginate: From food industry to biomedical applications and management of metabolic disorders. *Polymers*, 12(10), 1-30.
- Qin, Y., Zhang, G., & Chen, H. (2020). The applications of alginate in functional food products. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, 3(1), 1-9.
- Qu, B., & Luo, Y. (2020). Chitosan-based hydrogel beads: Preparations, modifications and applications in food and agriculture sectors - A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 152, 437-448.
- Ray, S., & Kalia, V. C. (2017). Biomedical Applications of Polyhydroxyalkanoates. *Indian Journal of Microbiology*, 57(3), 261-269.
- Rehm, B. H. A. (2010). Bacterial polymers: biosynthesis, modifications and applications. *Nature Reviews. Microbiology*, 8(8), 578-592.
- Remminghorst, U., & Rehm, B. H. A. (2006). Alg44, a unique protein required for alginate biosynthesis in *Pseudomonas aeruginosa*. *FEBS Letters*, 580(16), 3883-3888.
- Rosato, D. V., Di Mattia, D. P., Rosato, D. V., Rosato, D. V., Di Mattia, D. P., & Rosato, D. V. (1991). *The Structure and Basic Properties of Plastics*. In: Designing with Plastics and Composites: A Handbook (D. Rosato (ed.); 1st ed.). Springer. Netherlands. Pp. 61-123.
- Saranraj, P., & Sivasakthivelan, P. (2017). Biological nitrogen fixation by *azotobacter* sp. - a review. *Asian Journal of Multidisciplinary Research*, 3(5), 1274-1284.
- Savenkova, L., Gercberga, Z., Nikolaeva, V., Dzene, A., Bibers, I., & Kalnin, M. (2000). Mechanical properties and biodegradation characteristics of PHB-based films. *Process Biochemistry*, 35(6), 573-579.
- Scott, G. (2015). *Polymers in Modern life*. In: Polymers and the Environment (G. Scott (ed.); 1st ed.). RCA Publishing. Londres. Pp. 1-18.
- Segura, D., Cruz, T., & Espín, G. (2003). Encystment and alkyresorcinol production by *Azotobacter vinelandii* strains impaired in poly-beta-hydroxybutyrate synthesis. *Archives of Microbiology*, 179(6), 437-443.
- Smith, J., & Hong-Shum, L. (2011). *Food Additives Data Book*. Wiley-Blackwell Science Ltd.
- Soleymani Eil Bakhtiari, S., Karbasi, S., & Toloue, E. B. (2021). Modified poly(3-hydroxybutyrate)-based scaffolds in tissue engineering applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 166, 986-998.
- Song, B., Liang, H., Sun, R., Peng, P., Jiang, Y., & She, D. (2020). Hydrogel synthesis based on lignin/sodium alginate and application in agriculture. *International Journal of Biological Macromolecules*, 144, 219-230.
- Sumbul, A., Ansari, R. A., Rizvi, R., & Mahmood, I. (2020). *Azotobacter*: A potential bio-fertilizer for soil and plant health management. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(12), 3634-3640. 4
- Tebaldi, M. L., Maia, A. L. C., Poletto, F., de Andrade, F. V., & Soares, D. C. F. (2019). Poly(-3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHBV): Current advances in synthesis methodologies, antitumor applications and biocompatibility. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 51, 115-126.
- Trujillo-Roldán, M., Moreno, S., Segura, D., Galindo, E., & Espín, G. (2003). Alginate production by an *Azotobacter vinelandii* mutant unable to produce alginate lyase. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 60(6), 733-737.
- Urbanek, A. K., Rymowicz, W., & Mirończuk, A. M. (2018). Degradation of plastics and plastic-degrading bacteria in cold marine habitats. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(18), 7669-7678.
- Urtuvia, V., Maturana, N., Acevedo, F., Peña, C., & Díaz-Barrera, A. (2017). Bacterial alginate production: an overview of its biosynthesis and potential industrial production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(11).
- Van De Velde, K., & Kiekens, P. (2002). Biopolymers: Overview of several properties and consequences on their applications. *Polymer Testing*, 21(4), 433-442.
- Varghese, S. A., Pulikkalparambil, H., Rangappa, S. M., Siengchin, S., & Parameswaranpillai, J. (2020). Novel biodegradable polymer films based on poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) and Ceiba pentandra natural fibers for packaging applications. *Food Packaging and Shelf Life*, 25, 100538.
- Venkatesan, J., Bhatnagar, I., Manivasagan, P., Kang, K. H., & Kim, S. K. (2015). Alginate composites for bone tissue engineering: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72, 269-281.
- Ventorino, V., Nicolaus, B., Di Donato, P., Pagliano, G., Poli, A., Robertiello, A., Iavarone, V., & Pepe, O. (2019). Bioprospecting of exopolysaccharide-producing bacteria from different natural ecosystems for biopolymer synthesis from vinasse. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 6(1), 1-9.
- Vieira, M. G. A., Da Silva, M. A., Dos Santos, L. O., & Beppu, M. M. (2011). Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. *European Polymer Journal*, 47(3), 254-263.
- Volova, T. G. (2015). Biodegradation of Polyhydroxyalkanoates in Natural Soils. *Journal of Siberian Federal University. Biology*, 8(2), 152-167.
- Volova, T. G., Gladyshev, M. I., Trusova, M. Y., & Zhila, N. O. (2010). Degradation of polyhydroxyalkanoates in eutrophic reservoir. *Polymer Degradation and Stability*, 64(July), 1294-1301.
- Yoneyama, F., Yamamoto, M., Hashimoto, W., & Murata, K. (2015). Production of polyhydroxybutyrate and alginate from glycerol by *azotobacter vinelandii* under nitrogen-free conditions. *Bioengineered*, 6(4), 209-217.