

SÍNTESE DE BIOPLÁSTICOS A PARTIR DA BIOTRANSFORMAÇÃO DE MANIPUEIRA POR *Cupriavidus necator*

Jesus, A.B; Pickaman Gutierrez, M; Silva Anias, F; Assis, D. J.

RESUMO

Este estudo avaliou a viabilidade da manipueira como fonte de carbono para a produção de polihidroxialcanoatos (PHAs) a partir de bactérias *Cupriavidus necator*. Para isso, realizou-se uma análise comparativa entre o desempenho da manipueira em sua forma bruta e hidrolisada, avaliando a influência da concentração desses substratos e da agitação sobre a produção de biomassa e PHAs. A manipueira hidrolisada foi mais eficiente, especialmente com 10% (m/v), alcançando 0,46 g/L de PHA devido à liberação de açúcares fermentescíveis durante a hidrólise. Já a manipueira bruta resultou em menor eficiência de produção de PHA, embora tenha favorecido o crescimento bacteriano. O estudo destacou que o inóculo atinge a fase exponencial em 48 horas e que a agitação a 180 rpm melhorou a dispersão dos nutrientes no meio e a interação desses com as células. Concluiu-se que a manipueira é uma fonte promissora para bioplásticos, exigindo controle da hidrólise e ajustes no processo para maximizar a eficiência.

PALAVRAS-CHAVE: Polihidroxialcanoatos. Manipueira. *Cupriavidus necator*.

INTRODUÇÃO

Os polihidroxialcanoatos (PHAs) são poliésteres microbianos acumulados intracelularmente por diversos gêneros bacterianos, geralmente sintetizados em condições de abundância de carbono e limitação de micronutrientes (PORRAS et al., 2017; ABD EL-MALEK et al., 2020). Reconhecidos por sua biodegradabilidade, biocompatibilidade e propriedades mecânicas semelhantes aos plásticos sintéticos (ANITHA e SRIVASTAVA, 2021; RIAZ et al., 2021), os PHAs têm aplicações em embalagens biodegradáveis, medicina regenerativa e engenharia de tecidos (GREENWOOD, SCHMITT e WAGSTA, 2018; PALANIKUMAR et al., 2022). Contudo, seu alto custo de produção, especialmente devido ao uso de fontes de carbono de elevado valor comercial, limita sua competitividade frente aos plásticos petroquímicos (MAHESHWARI et al., 2018; CRUTCHIK et al., 2020).

Uma alternativa promissora é a utilização de resíduos industriais como fonte de carbono, como a manipueira, líquido residual do processamento da mandioca, que pode reduzir custos e impactos ambientais (VIDHYALAK, VALLINACHIYAR e RADHIKA, 2012). Este projeto busca investigar a viabilidade da manipueira como fonte de carbono para o crescimento de *Cupriavidus necator* e a produção de PHAs, avaliando os efeitos das concentrações de manipueira e das velocidades de agitação no processo. Os objetivos incluem a caracterização química da manipueira, a aclimação bacteriana, a análise das condições ótimas para crescimento e produção de PHAs, e a caracterização térmica e estrutural dos biopolímeros obtidos.

A hipótese é que a manipueira, rica em amido e carboidratos, pode fornecer glicose para a síntese de PHAs com boas propriedades térmicas, promovendo a produção de bioplásticos de baixo custo e contribuindo para a valorização de resíduos e a sustentabilidade ambiental.

MÉTODO

A composição da manipueira foi determinada por métodos padrões: voláteis por secagem (AOAC, 1997), cinzas por incineração (AOAC, 1997), proteínas pelo método de Kjeldahl, lipídios pelo método de Bligh-Dyer e carboidratos por diferença. Os experimentos foram conduzidos utilizando manipueira bruta e hidrolisada. A manipueira hidrolisada foi preparada com solução de H_2SO_4 a 2%, ajustada para pH 7 e centrifugada (10.000 rpm, 10 min) para remoção de sólidos interferentes.

As bactérias *Cupriavidus necator* foram suspensas em caldo nutriente estéril, incubadas a 28°C por 1h e cultivadas em ágar nutriente, sendo preservadas sob refrigeração (4-8°C). O cultivo envolveu três etapas: duas pré-culturas e uma cultura final. A primeira pré-cultura utilizou caldo nutriente estéril (0,5% peptona e 0,3% extrato de carne), incubado em agitador orbital a 150 rpm e 30°C por 24h. A segunda pré-cultura foi realizada em meio mineral (MM) sem limitação de nitrogênio, inoculado com 15 mL da primeira pré-cultura, acrescido de 2% de manipueira e incubado nas mesmas condições. A cultura final, realizada em triplicata, utilizou meio mineral limitado em nitrogênio e manipueira nas concentrações de 3%, 5%, 10% e 15%, incubada a 150 rpm e 30°C até atingir a fase estacionária.

O impacto da concentração de manipueira, da hidrólise e da agitação (150 e 180 rpm) foi avaliado comparativamente, incluindo cultivos com 2% de glicose como referência.

O pH do meio foi ajustado para 7 utilizando NaOH. A biomassa foi recolhida por centrifugação (10.000 rpm, 10 min), seca a 30°C por 24h, e utilizada para construção de curvas de crescimento por densidade óptica (560 nm), correlacionadas com a concentração celular.

Para extração de PHA, a biomassa seca foi tratada com clorofórmio (0,5g de células para 50mL), aquecida a 65°C por 2h e filtrada para remoção de detritos celulares. O polímero foi depositado em placas de Petri previamente pesadas, permitindo quantificação gravimétrica após evaporação do solvente. Esses procedimentos permitiram avaliar a influência das variáveis experimentais na produção de biomassa e PHA.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

O estudo demonstrou que a manipueira apresenta composição centesimal vantajosa para uso como substrato na produção de biomassa e PHA, com alto teor de umidade ($93,36 \pm 0,35\%$), açúcares totais ($3,35 \pm 0,55\%$), proteínas ($1,87 \pm 0,16\%$), e cinzas ($1,42 \pm 0,04\%$). Esses componentes fornecem fontes acessíveis de carbono e nitrogênio, essenciais para o crescimento bacteriano.

Os ensaios iniciais com manipueira bruta, em concentrações de 3% e 5% (m/v), não resultaram em produção de PHA. Concentrações maiores, de 10% e 15% (m/v), apresentaram maior crescimento celular e pequenas quantidades de PHA (0,081 g/L e 0,137 g/L), respectivamente. Contudo, o acúmulo de PHA foi limitado, permanecendo em torno de 8%, indicando que a manipueira bruta carece de nutrientes adequados para estimular o acúmulo significativo do biopolímero, devido à limitada disponibilidade de nutrientes essenciais, como carboidratos complexos, incluindo amido, que não podem ser metabolizados diretamente pelas bactérias sem pré-tratamento.

A manipueira hidrolisada, por sua vez, mostrou resultados promissores. Ensaio com concentrações de 10% e 15% (m/v) apresentaram produção expressiva de PHA, com acúmulo de 27% e 22%, respectivamente. A hidrólise ácida permitiu a conversão de carboidratos complexos em açúcares simples, como glicose, disponibilizando nutrientes mais facilmente assimiláveis pelas bactérias. No entanto, a concentração de 15% (m/v) resultou em efeitos negativos, como inibição por excesso de substrato, o que impactou tanto o crescimento celular quanto a eficiência de produção de PHA.

Em condições de excesso de substrato, o metabolismo bacteriano pode priorizar a produção de subprodutos, como ácidos orgânicos ou álcool, para liberar o excesso de energia, reduzindo a eficiência na conversão de carbono em biomassa devido à sobrecarga das vias metabólicas.

Os experimentos também destacaram a influência de variáveis como a velocidade de agitação e a temperatura. Velocidades de agitação mais altas, 180 rpm, favoreceram o crescimento celular ao promover melhor dispersão de nutrientes e maior interação entre substrato e células bacterianas. Este comportamento foi observado tanto em concentrações menores quanto maiores de manipueira.

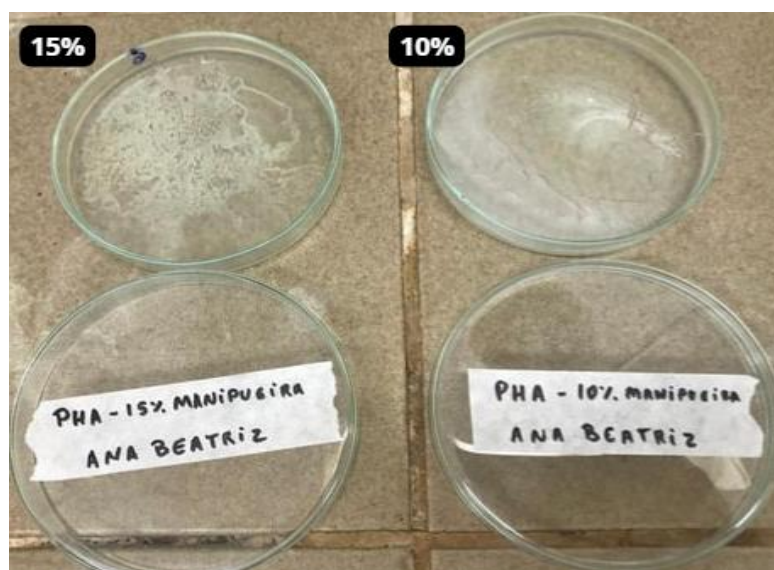
Tabela 1 – Concentração de biomassa e PHA em diferentes condições.

Manipueira (%)	3	5	10	15
Bruta				
Biomassa (g/L)	0,273	0,415	0,959	1,775
PHA (g/L)	-	-	0,081	0,137
Hidrolisada				
Biomassa (g/L)	-	-	1,70	0,96
PHA (g/L)	-	-	0,46	0,21

Fonte: Autoral

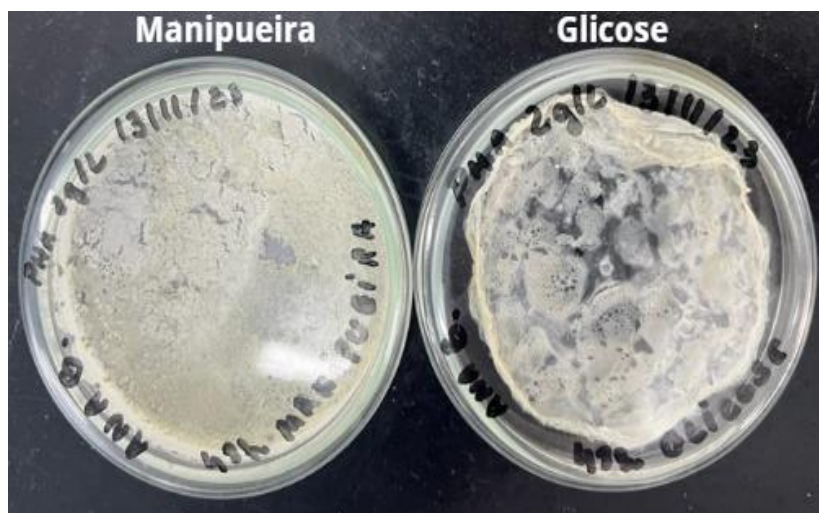
As Figuras 1 e 2 apresentam o aspecto dos PHAs produzidos em diferentes condições.

Figura 1 – Amostras de PHA produzidos com manipueira bruta.



Fonte: Autoral

Figura 2 – Amostras de PHA produzidos com 2% de manipueira e glicose



Fonte: Autoral

CONCLUSÃO

A avaliação da manipueira como fonte de carbono para a produção de PHAs por *Cupriavidus necator* demonstrou sua viabilidade, especialmente quando hidrolisada, devido à liberação de açúcares fermentescíveis que aumentam a eficiência do processo. A produção de PHA foi mais significativa com 10% (m/v) de manipueira hidrolisada, enquanto variáveis como a velocidade de agitação a 180 rpm e concentrações intermediárias foram cruciais para o crescimento celular e síntese do biopolímero. Os resultados evidenciam que a manipueira, quando pré-tratada e com condições de cultivo otimizadas, pode ser uma alternativa sustentável e econômica para a produção de bioplásticos, com potencial para integrar tecnologias competitivas no mercado.

REFERÊNCIAS

- ANITHA, N. N.; SRIVASTAVA, R. K. Microbial synthesis of polyhydroxyalkanoates (PHAs) and their applications. *Environ. Agric. Microbiol.: Apple Sustainability*, p. 151–181, 2021.
- ASSIS, D. J.; GOMES, G.V. P.; PASCOAL, D. R. C.; PINHO, L. S.; CHAVES, L. B. O.; DRUZIAN, J. I. Simultaneous biosynthesis of polyhydroxyalkanoates and extracellular

polymeric substance (EPS) from crude glycerol from biodiesel production by different bacterial strains, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 180, p. 1110–1127, 2016.

GREENWOOD, J. E.; SCHMITT, B. J.; WAGSTA, M. J. D. Experience with a synthetic bilayer Biodegradable Temporising Matrix in significant burn injury. *Burns Open*, v. 2, p. 17–34, 2018.

PORRAS, M. A.; VITALE, C.; VILLAR, M. A.; CUBITTO, M. A. Bioconversion of glycerol to poly(HB-co-HV) inexpensive medium by a *Bacillus megaterium* strain isolated from marine sediments. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 5, p. 1-9, 2017.

VIDHYALAK, S. R.; VALLINACHIYAR, C.; RADHIKA, R. Production of xanthan from agro-industrial waste. *Journal of Advanced Research*, v. 3, p. 56-59, 2012.

FOMENTO

Este trabalho foi realizado com o apoio de uma bolsa concedida pelo Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Tecnológica e Inovação (PIBITI), promovido pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).